

## Z PRAKTYKI LABORATORYJNEJ

G. ZAKRZEWSKA

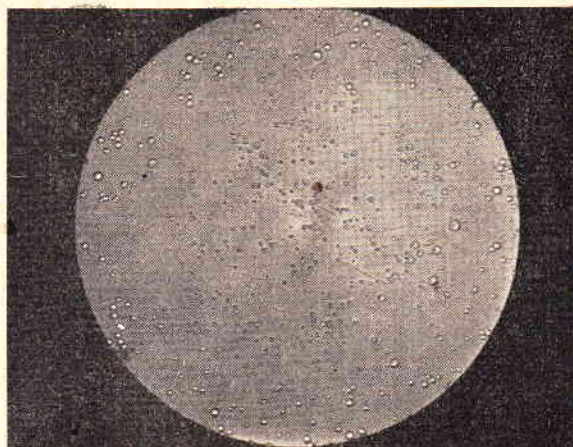
### ZASTOSOWANIE MIKROSKOPU FAZOWO KONTRASTOWEGO DO OCENY PLEMNİKÓW W NASIENIU ROZCIEŃCZONYM MLEKIEM

Z Pracowni Fiziologii Rozrodu Instytutu Zootechniki — Kraków  
oraz  
z Katedry Zoohigieny Wyższej Szkoły Rolniczej — Kraków  
Kierownik: Prof. dr WŁADYSŁAW BIELAŃSKI

Istnieje szereg obiektów, między innymi żywe komórki, których przepuszczalność dla fal świetlnych jest praktycznie ta sama. Obrazy takich obiektów obserwowane w mikroskopie nie wykazują żadnych kontrastów i dlatego szczegóły struktur są dla oka niewidoczne. Nie absorbujące światła obiekty nie zmieniają amplitudy fal przechodzącego światła, wywierają jednak pewien wpływ na fazę ich ruchu. Preparaty takie nazywamy fazowymi. Oko ludzkie, ani klisza fotograficzna nie rejestrują tych zmian fazowych. W roku 1935 F. Zernike opublikował zasadę kontrastu faz, która umożliwiła wprowadzenie nowego rodzaju obserwacji mikroskopowych. Metoda kontrastu fazowego pozwala na dokładne oddanie ubogich w kontrasty obiektów i ich struktur. Szczegóły strukturalne preparatów są przy tym wyraźnie ciemno zaznaczone, a tło obrazu jest jasne. Może też być odwrotnie. Preparat jest tym wyraźniejszy i bardziej kontrastowy im więcej zmienia amplitudę fal świetlnych. W rzeczywistości nie istnieją czyste preparaty fazowe, ani też czyste amplitudowe tylko kombinacje jednych i drugich. Zależnie od tego, czy w preparacie dominuje charakter amplitudowy, czy też fazowy, preparat wykazuje mniejszy lub większy kontrast w stosunku do tła. Istota kontrastu fazowego polega na przemianie tych niewidocznych różnic faz przechodzących promieni świetlnych na widoczne różnice amplitud. Za pomocą odpowiednich urządzeń uzyskujemy więc to, że preparat fazowy zachowuje się tak, jakby był preparatem amplitudowym. Oprócz specjalnych obiektów, posiadających płytki fazowe, do wykonania tego zakłócenia ruchu fal świetlnych konieczny jest kondensator z pierścieniową przesłoną. Obraz uzyskany pod mikroskopem fazowo-kontrastowym odpowiada mniej więcej barwionemu preparatowi. Odkrycie to od kilkunastu lat oddaje ogromne usługi naukom przyrodniczym i znajduje bardzo szerokie zastosowanie, jednak w praktyce weterynaryjnej i zootechnicznej jest mało znane, a rzadziej jeszcze stosowane.

Na podstawie badań nasienia przy pomocy mikroskopu fazowo kontrastowego Morris (1950) wprowadził uzupełnienia w dotychczas stosowanej ocenie morfologicznej plemników buhaja, opierając się głównie na strukturze

główki, widocznej dobrze przy użyciu kontrastu fazowego. W związku z coraz szerszym zastosowaniem rozcieńczalników z żółtkiem (Phillips, Lardy 1940) i mlekiem (Michajłow 1949), wyloniły się nowe trudności w badaniu i ocenie ruchu plemników, tym bardziej, że rozcieńczalnik mlekowy ostatnio w praktyce wypiera inne. Najłatwiej ocenić nasienie nierozcieńczone, o średniej koncentracji plemników (do 500.000 w 1 mm<sup>3</sup>), albo rozcieńczone rozcieńczalnikami przezroczystymi, jak np. roztwór wodny glukozy lub cytrynianu sodu. Natomiast właściwa ocena nasienia rozcieńczonego mlekiem, które czasem zawiera więcej kropeł tłuszczu, niż plemników, jest trudna i niewłaściwa. Przy wysokich rozcieńczeniach mlekiem niezupełnie odwirowanym kuleczki tłuszczu,



Fot. nr 1 — Nasienie buhaja rozcieńczone mlekiem oglądane pod mikroskopem zwykłym. Powiększenie ok. 400 ×. (Mikroskop Zeissa „Lumipan“ Ok. 10 ×; Obj. 40 ×; 0,65; 0,17).



Fot. nr 2 — Nasienie buhaja rozcieńczone mlekiem oglądane pod mikroskopem z urządzeniem fazowo kontrastowym. Powiększenie ok. 400 ×. (Mikroskop Zeissa „Lumipan“ Ok. 10 ×; Obj. Ph 40 ×; 0,65; 0,17; przesłona pierścieniowa).

czu tak zaciemniają obraz, że tylko od czasu do czasu ukazują się poruszające plemniki. Trudności te usuwa zastosowanie urządzenia fazowo-kontrastowego, które daje znacznie wyraźniejszy obraz, ułatwia obserwację i mniej męczy wzrok przy długim mikroskopowaniu.

Na fotografii nr 1, na pierwszym planie są widoczne różnej wielkości kule tłuszczu, natomiast bardzo mało wyraźne są plemniki. Przy zastosowaniu fazowego kontrastu (fotografia nr 2) kule tłuszczu inaczej załamują i przepuszczają światło, a inaczej plemniki dzięki czemu łatwiej je od siebie odróżnić. Krople tłuszczu w stosunku do tła są dużo jaśniejsze i świecą, a plemniki są szare i matowe.

#### Piśmiennictwo

1) Ballerini L.: Elementary Theory of the Phase-Contrast Microscope. Galileo News, 1, 1948. 2) Filutowicz A., Kuź-Jowicz A.: Mikroskopia i mikrofotografia. Warszawa 1951. 3) Ganzen G., Rominger A., Michel K.: Fazowo-kontrastna mikroskopia w medycynie. Moskwa 1955. 4) Michajłow N. N.: Moločnyje rozbawiteli spermy żywotnych. Kottowodstwo 6, 1949. 5) Morris P. G. D.: Examination of Bull Semen with the Ordinary and Phase Contrast Microscopes. Brit. Vet. Jour. Vol. 106, nr 3, 1950. 6) Phillips P. H.: A Yolk-Buffer Parabulum for the Preservation of Bull Semen. J. Dairy Sci. Vol. 23, 1940. 7) Pieńkowski S.: Fizyka doświadczalna, t. III, Optyka Warszawa 1956. 8) Richter F.: Eine einfache Erklärung des Phasenkontrast Mikroskops. Optik 2, 1947. 9) Zernike F.: Das Phasenkontrastverfahren bei der mikroskopischen Beobachtung. Phys. Zschr. 36, 1935. 10) Zernike F.: Phase-contrast a new Method for Microscopic Observation of Transparent Objects. Physica 9, 1942.

#### Г. ЗАКШЕВСКАЯ

### ПРИМЕНЕНИЕ ФАЗОВО-КОНТРАСТНОГО МИКРОСКОПА ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМИЕВ В СЕМЕНИ РАЗБАВЛЕННОЙ МОЛОКОМ

Излагается основные сведения о фазово-контрастной микроскопии и ее применению в морфологических исследованиях живчиков и в оценке их подвижности в семени в разбавленной молоком и желтком куриного яйца. Шарики жира молока в обыкновенном микроскопе более темные чем слабо видимые особенно в больших разведениях живчики. В фазово-контрастном микроскопе шарики жира светлые, блестящие а живчики серые и отчетливо видимые.

#### G. ZAKRZEWSKA

### THE PHASE — CONTRAST MICROSCOPE FOR THE EXAMINATION OF MOTILITY OF SPERMATOZOA IN A SEMEM DILUTED WITH MILK

#### Summary

A general description of the phase-contrast optics and of an adaptation of the phase-contrast microscope for the examination of motility of spermatozoa in semen diluted with milk and egg-yolk. Routine examination by the use of the simple microscope reveals granules of fat as darker objects than are the spermatozoa. In high dilutions the spermatozoa are not easily distinguished. The phase-contrast microscope shows the fat globules as bright and shining object and the spermatozoa are distinctly seen.

## COLLOQUIUM MEDICUM

### Pytanie Nr 2.

Postanowienie § 10 załącznika Nr 6 (o badaniu na włośnię) do rozporz. Ministerstwa Rolnictwa z dnia 29.I.1929 (poz. 305), o urzędowym badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa, określa:

„jeżeli oglądacz wykryje włośnię, lub twory podobne do włośni, to winien wszystkie pobrane z podejrzanej świni, lub mięsa próbki i wszystkie z nich sporządzone preparaty przesłać natychmiast właściwemu lek. wet. oznaczając dokładnie w preparatach podejrzane miejsca i podając nazwisko i miejsce zamieszkania posiadacza“. Natomiast § 11 — postanawia, iż: „lekarz wet. winien przesłać próbki i preparaty zbadać niezwłocznie i o wyniku badania zawiadomić natychmiast oglądacza i właściwą władzę gminną“. Nie ma jednak w przepisach obowiązujących żadnej wzmianki, — jak należy postąpić, — jeżeli włośnię wykryje lek. wet. wyznaczony w obwodzie?

Czy ma postąpić, podobnie jak oglądacz i przedłożyć pow. lek. wet. pobrane próbki mięsa i sporządzone preparaty do sprawdzenia, oprócz pisemnego zawiadomienia do Prez. P.R.N. — Z. Wet.? Jak ma postąpić organ urz. badania zwierz. rz. i mięsa (lekarz wet. wzgl. oglądacz.) w wypadku nieobecności pow. lek. wet., ponieważ preparaty na ściskaczu ulegają już po kilkunastu godzinach wyschnięciu a obraz pod mikroskopem staje się mniej wyraźny, o wiele bliedszy, jaśniejszy, a próba mięsa ulega również wyschnięciu. Ponadto, przy sporządzaniu nowych preparatów (§ 7) w wypadku np. małej ilości włośni, — działanie rozcieńzonego ługu potasowego zwłaszcza na włośnię zwapniałe powoduje również obraz mniej wyraźny, bliedzy i jakby zatarty. Tymczasem posiadaczowi ubitej świni należałoby jak najwcześniej podać wynik badania mięsa.

Dr Mieczysław Beltowski

## RECENZJE I BIBLIOGRAFIA

**ZYGMUNT LOREC, MICHAŁ ZIELIŃSKI.** Choroby ryb w akwarium. Spółdzielnia Inwalidów „Akwarium“ Warszawa str. 37, rys. 24 cena zł 6.

Z początkiem bieżącego roku na półkach księgarskich ukazała się broszura o wyżej podanym tytule napisana przy współudziale znanego długoletniego hodowcy ryb akwaryjnych Z. Loreca.

Dzielnko opisuje szereg najważniejszych schorzeń występujących wśród ryb akwaryjnych łącznie z poda-

niem sposobów stosowania środków zapobiegawczych i leczniczych. Wydawnictwo to, mimo swych skromnych ram, jest naprawdę pracą pionierską. Nie miało ono dotąd odpowiednika w tym zakresie w polskiej literaturze fachowej, a poważny brak jakichkolwiek znajomości tej dziedziny odczuwają szczególnie początkujący miłośnicy akwariów.

Równoległe z rozwijającą się hodowlą rybek akwaryjnych i pomyślną aklimatyzacją coraz to nowych