



# 1<sup>ste</sup> Ba Biologie - Het gebruik van de microscoop

Stefanie Lahaye, Inge Van Dyck en Niko Celis

Academiejaar 2014-2015

# Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	i
Formulier veiligheid en basisvaardigheden	ii
1 Inleiding	1
2 Vaktermen	2
3 De microscoop	5
4 De loep (stereoscopische microscoop)	13
5 De gestandaardiseerde wetenschappelijke tekening	14
6 De microscoop in gebruik	17
7 De binoculaire loep in gebruik	22
8 Een dierlijke cel is zelden alleen	22
9 Verslag: gebruik van de microscoop	26

Ondergetekende ..... (voornaam en naam),

Verklaart 'Hoofdstuk 1: Veiligheid en basisvaardigheden' uit 'Experimentele vaardigheden 1' (Geuens *et al.*, 2011) grondig te hebben doorgenomen en deze richtlijnen om veilig en verantwoord te werken in een laboratoriumomgeving te zullen volgen en toepassen tijdens het practicum ..... in de ..... (jaar) Bachelor ..... (studierichting).

Voor akkoord (handtekening en datum),

.....

.....

# 1 Inleiding

Deze praktijksessie heeft tot doel dat je het gebruik van de microscoop en de binoculaire loep onder de knie krijgt. Sommigen zullen al eerder met een microscoop of binoculaire loep gewerkt hebben en beschikken dus al over enige ervaring. Anderen zullen vandaag voor het eerst met dit optisch materiaal aan de slag gaan. Je zal gedurende je studietijd voor verschillende vakken met één of beide toestellen moeten werken. Beide toestellen zijn op het eerste zicht vrij eenvoudig te bedienen, toch is enige kennis van zaken nodig opdat het bekomen beeld ook effectief optimaal zou zijn. Het is makkelijk om “een” beeld te bekomen, maar dit beeld is zeker niet altijd van de beste kwaliteit. Voor heel wat preparaten is het echter nodig om de microscoop ten volste te benutten om alle structuren duidelijk te kunnen waarnemen.

Vandaag krijg je de kans om je volledig in te werken in het gebruik van de microscoop. Gebruik deze kans ten volste, je zal immers nog vele jaren kunnen profiteren wanneer je meteen van bij het begin leert om het volste uit je optisch materiaal te halen!

## 1.1 Uitrusting

In het laboratorium beschik je over een binoculaire loep, een binoculair microscoop, draagglazen, dekglasjes en eventueel een dissectiebakje. Omwille van je verantwoordelijkheid over het (dure) materiaal, krijg je tijdens de practica een vaste plaats. **Kijk altijd in het begin van het practicum na of het materiaal dat je zal gebruiken volledig en onbeschadigd is. Mocht dit niet zo zijn, laat dit dan weten aan één van de begeleiders bij de start van het practicum.**

## 1.2 Enkele regels waar we ons aan houden

Een goede werksfeer is onontbeerlijk om naar behoren te kunnen presteren. Wij zullen er alles aan doen om in het practicum een ongedwongen leeromgeving te scheppen, maar dat kan alleen als we een aantal afspraken over gedragsregels en discipline maken waaraan ieder zich houdt. **Neem ook grondig 'Hoofdstuk 1: Veiligheid in het laboratorium' uit 'Experimentele vaardigheden 1' door. Bezorg bij aanvang van het practicum het formulier op pagina ii ingevuld en ondertekend terug bij de practicumbegeleiding.**

- Je bent op tijd. Het practicum begint met enkele praktische richtlijnen. Laatkomers zullen dit missen, want dan gaat de deur dicht en moet je buiten wachten tot de inleidingsles achter de rug is.
- Orde en veiligheid! Jassen horen niet op tafel tussen de microscopen en tassen mogen de vrije doorgang niet belemmeren. Hang daarom jassen deftig aan de rugleuning van je stoel en plaats tassen of zakken onder de tafel. Houdt ook laden en kasten gesloten.
- Er is ruimte om te discussiëren over het onderwerp van het practicum, maar denk eraan dit niet te luidruchtig te doen en binnen het team te houden.
- In de practicumzaal krijg je na de eerste oefening een vaste plaats toegewezen, die je het hele semester aanhoudt. Bij deze plaats hoort een vaste set toestellen en preparaten. Je bent verantwoordelijk voor de dure uitrusting die je onder je hoede krijgt. Elke beschadiging moet je onmiddellijk melden aan de begeleiders. Controleer dus, voor je aan het practicum begint, of de toestellen en het materiaal in orde zijn. Zo niet, meld dit aan de begeleiders.
- Er wordt niet gegeten of gedronken (ook geen water!) in de microscopiezaal. Je bent vrij over je tijd en kiest dan ook zelf wanneer en hoe vaak je een pauze wenst te nemen, maar zorg er wel voor dat je de gevraagde opdracht binnen de opgegeven tijd hebt afgerond.
- Microscopische preparaten worden aangeboden in speciale genummerde mappen of dozen. Jij en je medestudenten die hetzelfde materiaal gebruiken dragen samen de verantwoordelijkheid voor dit materiaal. Wie het laatst klaar is, controleert de inhoud en de positie van de verschillende preparaten. Bij het einde van het practicum laat je de map of doos op je plaats liggen. Kijk goed na dat alle preparaten op de juiste plaats teruggeplaatst zijn. Vaak blijven preparaten onder een

microscopie liggen waardoor ze verloren kunnen gaan. De begeleiders zullen langskomen om de mappen of dozen te controleren en op te halen. Indien er mappen of dozen zijn waarin preparaten beschadigd zijn, ontbreken of niet op de juiste plaats zijn teruggelegd wordt dit genoteerd. De map moet horizontaal worden gedragen om niet het risico te lopen dat alle preparaten er uit vallen!

- Verlaat het practicum niet alvorens je tekeningen of verslag in het team-mapje gestoken te hebben, tenzij anders gespecificeerd. Dit mapje dient afgegeven te worden aan de begeleiders bij het einde van de praktijk sessie.
- Papier en slijpselafval horen thuis in de vaste vuilbakken. Organisch afval wordt gedumpt in de speciaal daarvoor voorziene witte vuilzak.
- Scalpels en andere scherpe voorwerpen worden afzonderlijk weggegooid in de daarvoor voorziene kleine gele bakjes. Loop niet rond met een scalpel. Wees voorzichtig met scherp dissectiemateriaal, een ongeluk is snel gebeurd!
- Water nemen en spoelen gebeurt uitsluitend in de daartoe voorziene spoelruimte met inox spoelbakken. De spoelbakjes aan de microscopietafels mogen niet worden gebruikt. Laat na gebruik ook deze bakken netjes achter.
- Zorg ervoor dat op het einde van het practicum de tafeloppervlakken schoon zijn. Plaats de stoelen terug onder de tafels.

## 2 Vaktermen

Elk vakgebied heeft een vakjargon dat veelal overlapt of samenhangt met andere. Het gebruik van dit jargon maakt dat er sneller of specifieker over bepaalde facetten kan gecommuniceerd worden. Om deze “nieuwe” vocabulaire aan te leren, maak je er best een gewoonte van om voor elke nieuwe term je automatisch de vraag te stellen wat die betekent. Hier volgen een aantal termen en begrippen die dikwijls terugkomen in practica dierkunde, plantkunde en/of fysiologie.

**Tabel 2.1:** Richting aanduidende termen met hun betekenis en de taal waaruit ze werden afgeleid.

Richting aanduidende term	Betekenis	Afleiding vanuit het Grieks (G) of Latijn (L)
craniaal	naar de kop toe	G: kranion = schedel
rostraal	naar de kop toe	L: rostrum = bek, snavel
caudaal	naar de staart toe	L: cauda = staart
dorsaal	naar de rug toe	L: dorsum = rug
ventraal	naar de buik toe	L: ventrum = buik
lateraal	naar de zijkant toe	L: latus = zijkant
mediaal	naar de middellijn toe	L: medium = midden
mediaan	op de middellijn	L: medium = midden
distaal	verwijderd van	L: distare = ver afstaan van
proximaal	in de onmiddellijke nabijheid van een genoemd referentiepunt	L: proximus = naast
superior	bovenaan	L: superior = boven
inferior	onderaan	L: inferior = onder
posterior	achteraan	L: posterior = achter
anterior	vooraan	L: anterior = vooraan

## 2.1 Doorsneden

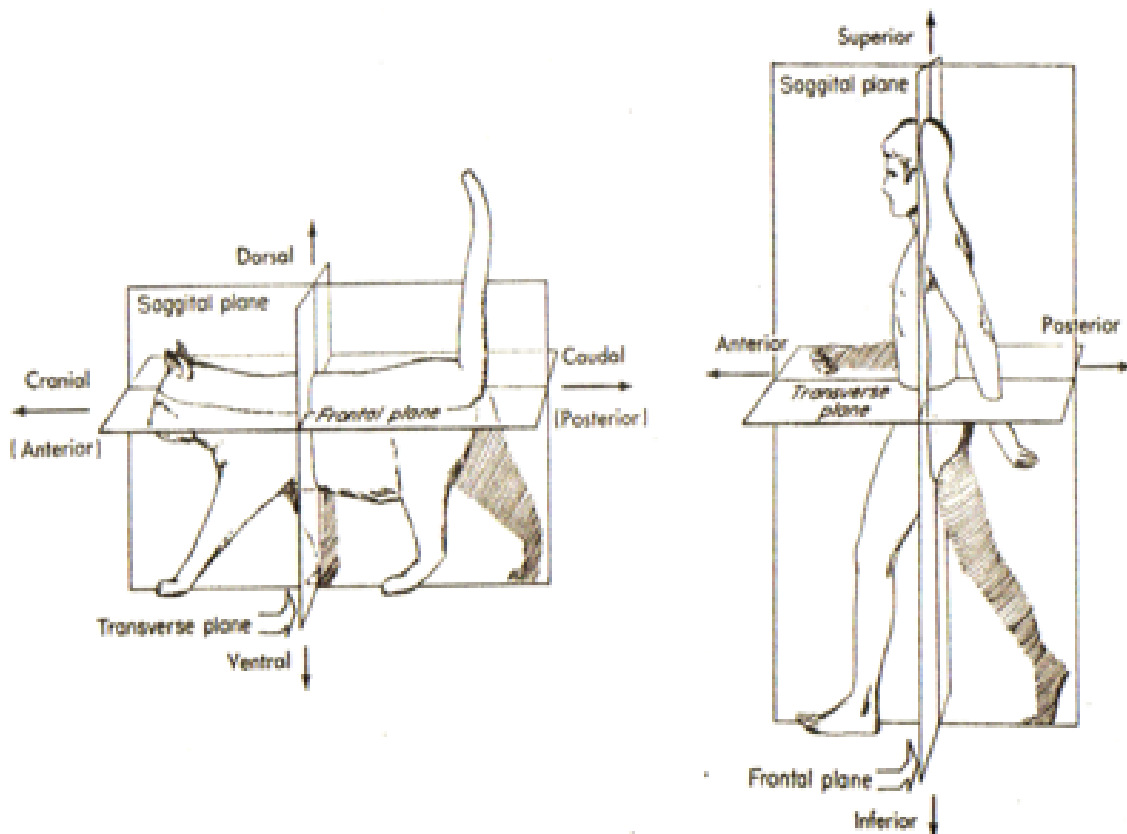
Aangezien dierlijke organismen een complexere bouwvorm hebben dan planten is het ook logisch dat de terminologie voor dieren en planten qua benamingen van doorsneden specifiek is. Hieronder volgt een overzicht van de belangrijkste doorsneden die we kunnen onderscheiden:

### 2.1.1 Dierlijke doorsneden

**Tabel 2.2:** Oriëntatie van de verschillende doorsneden zoals ook weergegeven op Figuur 2.1.

longitudinale doorsneden	L: longus = lang
sagitale doorsneden	L: sagita = pijl, as
mediosagitale doorsneden	L: medium = midden
parasagitale doorsneden	G: para = naast
frontale doorsneden	L: frons = voorhoofd
transversale of dwarse doorsneden	L: transversus = dwars door

De termen “links” en “rechts” refereren naar de eigen linker- en rechterzijde van het dier, onafhankelijk van de gezichtshoek van de waarnemer.



**Figuur 2.1:** Schematische voorstelling van enkele belangrijke richtingaanduidende termen en doorsnede type.




### 2.1.2 Plantaardige doorsneden

Over het algemeen zijn de meeste plantaardige structuren ongeveer cilindervormig.


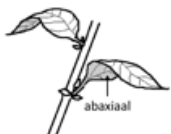
In de meeste gevallen zijn de preparaten dwarse doorsneden van plantendelen. De coupes kunnen echter ook volgens andere vlakken gesneden zijn. Aangezien het om cilindervormige structuren gaat zoals bijvoorbeeld stengels, kunnen naast dwarse doorsneden, overlangse doorsneden worden gemaakt. Er bestaan twee types van overlangse doorsneden, namelijk de radiale doorsnede (volgens de radius of straal, dus doorheen het middelpunt) en de tangentiale doorsnede (loodrecht op de radius, evenwijdig met de lengterichting van het gesneden voorwerp).

Bladeren zijn meestal niet cilindervormig, maar hebben een meer afgeplatte vorm. Op een dwarse doorsnede van deze preparaten kunnen we wel boven- en onderzijde aanduiden nl de adaxiale en abaxiale zijde.

**Tabel 2.3:** Overzicht van de verschillende doorsneden van plantaardige organen.

dwarse			
overlangse	radiaal	volgens de radius of straal, dus doorheen het middelpunt	
	tangentiaal	loodrecht op de radius, evenwijdig met de lengterichting van het gesneden voorwerp	

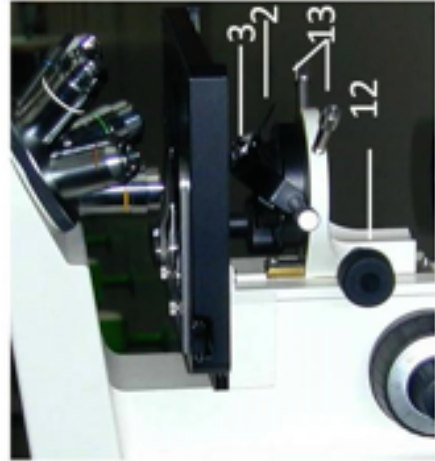
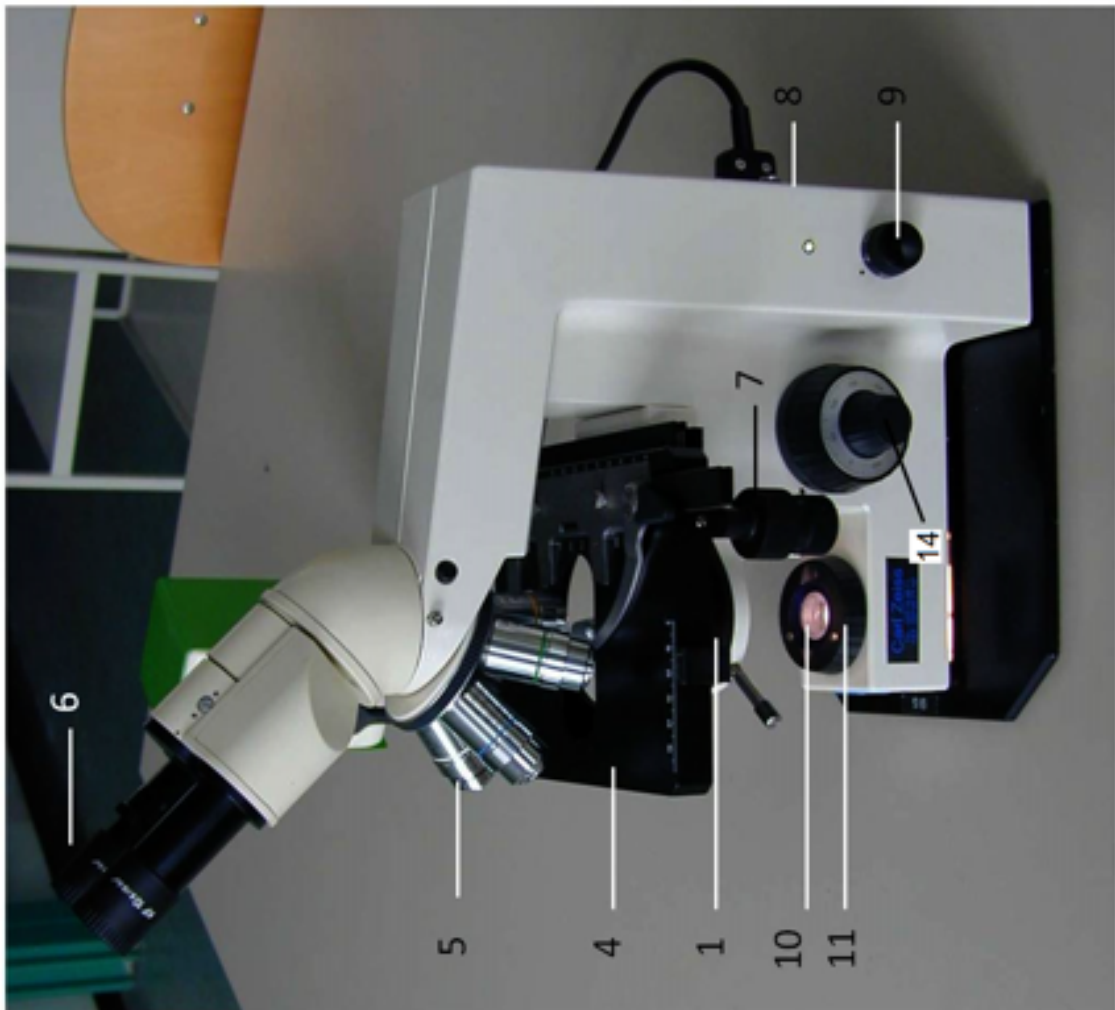
**Tabel 2.4:** Overzicht van de oriëntatie van een blad.

adaxiaal	naar de hoofdas (=stengel) toegekeerd (=bovenzijde van een blad)	
abaxiaal	van de hoofdas (=stengel) weggekeerd (=onderzijde van een blad)	

### 3 De microscoop

#### 3.1 Onderdelen van de microscoop

- 1: condensor
- 2: iris – of condensordiafragma
- 3: klaplens
- 4: voorwerptafel
- 5: objectief
- 6: oculair
- 7: co-axiale instelschroeven  
(= kruisschroeven)
- 8: netschakelaar
- 9: potentiometer
- 10: lichtbron
- 11: velddiafragma
- 12: hoogteregeling condensor
- 13: regelschroeven condensor
- 14: schroeven (micro- en macroschroef)



Figuur 3.1: Onderdelen van de microscoop.



De microscoop bestaat uit een mechanisch gedeelte, een optisch gedeelte en een verlichtingsapparaat. Het optische deel bestaat hierbij in hoofdzaak uit **drie lenzensystemen**:

1. condensorlenzen (1)
2. objectieven of voorwerplenzen (5)
3. oculairen of ooglenzen (6)

Verder hebben we de netschakelaar achteraan (8). Zijdelings kan de lichtintensiteit geregeld worden met de potentiometerknop (9). Een blauwe filter zet het gele kunstlicht van de lichtbron (10) om in een type "daglicht" dat meer kortere golflengten bevat (meer blauw). De lichtbron is voorzien van een velddiafragma (11).

### 3.1.1 Mechanisch gedeelte

Het statief rust op een zware **voet** om aan het toestel een grotere stabiliteit te verlenen. Het statief draagt de **tubus** en de **voorwerptafel** (4). De tubus is schuin gericht om de houding tijdens het waarnemen te vergemakkelijken. In de bovenste opening van elke tubus bevindt zich het **oculair** of ooglens (6). In de **revolver** (of objectiefhouder) aan het onder einde van de tubus kunnen **vijf objectieven** of voorwerplenzen (5) worden geschroefd. Door draaien van de revolver worden de objectieven om beurt in de optische as gebracht, zodat zeer snel verschillende vergrotingen kunnen gekozen worden.

Het preparaat wordt op de **voorwerptafel** vastgeklemd met de **voorwerpklemmen**. **Zorg er voor dat je preparaat volledig naar achteren geplaatst is.** Met behulp van de **kruisschroeven (of coaxiale instelschroeven)**, (7) wordt het preparaat boven de centrale opening van de voorwerptafel geschoven, zodat het waar te nemen voorwerp van onderen belicht wordt. De twee schroeven van de kruistafel laten toe het preparaat langzaam in twee richtingen loodrecht op elkaar te bewegen, waardoor het methodisch afzoeken van het preparaat aanzienlijk vergemakkelijkt wordt. Voor elke richting is er een millimeterindeling met nonius: een interessant detail in het preparaat kan bijgevolg gemerkt en later onmiddellijk weergevonden worden. Belangrijk hierbij is dan wel dat het preparaat steeds op een zelfde manier wordt aangebracht. Zorg er steeds voor dat het dekglasje (zie later) bovenaan ligt en dat het aangebrachte label leesbaar wordt weergegeven. Voor organismen met een duidelijke oriëntatie (bv. duidelijke dorsale of ventrale zijde) kan het handig zijn om het preparaat ook zo te oriënteren dat de dorsale zijde bovenaan in beeld wordt gebracht. Denk er hierbij aan dat beelden horizontaal worden gespiegeld in de microscoop.

De **scherpstelling** gebeurt door middel van de 2 schroeven die zich aan de basis van het statief bevinden (14). Door middel van deze schroeven wordt de voorwerptafel in de richting van de optische as bewogen, waardoor het te onderzoeken object nauwkeurig in het brandpunt van de gebruikte optiek wordt geplaatst (*cfr.* de voorwerptafel wordt op en neer bewogen). De grote schroef geeft een grote verplaatsing en dus grove scherpstelling, de kleine schroef geeft een minimale verplaatsing en dient voor de fijne scherpstelling.

Onder de voorwerptafel bevindt zich een **condensor** (1). Deze bevat een **klaplens** (3) die is samengesteld uit twee lenzen. De klaplens moet er voor zorgen dat de lichtstralen op het te onderzoeken voorwerp concentreren. De klaplens wordt vanaf het gebruik van objectief 10x voorgeklapt. De condensor is tevens ook nog uitgerust met een **irisdiafragma** (2) (*cfr.* condensordiafragma of apertuurdiafragma), dat kan geopend of gesloten worden; hiermee kan de grootte van de lichtbundel die op het preparaat valt geregeld worden en zal zorgen voor een bepaalde scherptediepte van het preparaat.

### 3.1.2 Objectieven (5)

Een **objectief (5)** is een systeem van verscheidene samengestelde lenzen, dat een vergroot, doch omgekeerd beeld van het voorwerp vormt. De lens naar het voorwerp toegekeerd noemt men de frontlens van het objectief. Men onderscheidt de z.g. "**droge objectieven**" en de "**olie-immersieobjectieven**".

Bij de droge objectieven bevindt zich lucht tussen de frontlens en het voorwerp, bij de olie-immersieobjectieven heeft men immersieolie als medium tussen frontlens en voorwerp.

Objectieven waarbij olie als medium wordt gebruikt, zijn speciaal hiervoor geconstrueerd. Een modern olie-immersieobjectief is voorzien van een verende frontlens. In de revolver van de microscoop die in de microscopiezaal staan zijn vijf objectieven geschroefd: **vier droge objectieven** met een eigen vergroting van 2,5 x, 10 x, 20 x en 40 x en **één olie-immersieobjectief** met een eigen vergroting van 100 x.

De belangrijkste eigenschappen van het objectief worden op de huls gegrift. Behalve het merk en het serienummer worden vermeld:

- de eigen vergroting: dit is 2,5 x, 10 x, 20 x, 40 x en 100 x
- de numerieke apertuur: een getal tussen 0,10 en 1,30
- de tubuslengte waarop het objectief is afgestemd (160 mm)
- de dikte van het dekglas
- "Oil" of "HI" als kenteken op een olie-immersieobjectief

**Voor het practicum is voor jullie enkel de eigen vergroting van de lens belangrijk.**

### 3.1.3 Oculairen (6)

Oculairen (6) zijn opgebouwd uit twee lenzen: een onderste collectorlens en een bovenste ooglenzen. Het oculair vergroot het beeld gevormd door het objectief en zet het om in een virtueel beeld. Een oculair is dus in feite niets anders dan een vergrootglas waarmee je het beeld, gevormd door het objectief, bekijkt.

*De **totale vergroting** van de microscoop is het product van de eigen vergroting van het objectief en de eigen vergroting van het oculair. Dit product moet, wil je met een optimale vergroting werken, liggen tussen 500 tot 1000x de waarde van de numerieke apertuur: dit wordt de **nuttige vergroting** genoemd.*

De gebruikte microscopen zijn standaard uitgerust met een oculair **met eigen vergroting 10 x** en zijn tweeogig: **je bekijkt het preparaat met beide ogen tegelijk**. Hiertoe regel je eerst de afstand tussen de oculairen zo dat die overeenkomt met je eigen pupilafstand. Met beide ogen kijken vraagt in het begin wel enige oefening (controleer voortdurend of je dit wel werkelijk doet), maar eens onder de knie is deze manier van microscoperen veel minder vermoeiend voor de ogen.

Wie geen oogcorrectie nodig heeft, zorgt ervoor dat de **regelstreep** van het verstelbare linker oculair op nul staat. Brilldragers werken best zonder bril om het zogenaamde 'sleutelgateffect' te vermijden. Je kan een correctie aanbrengen voor je oogafwijking met het regelbare linker oculair. Stel hiertoe scherp d.m.v. scherpstelknoppen, terwijl je enkel met je rechter oog door het vast rechter oculair kijkt. Corrigeer daarna de scherpte voor het linkeroog door het linker regelbare oculair bij te stellen terwijl je het rechter oog gesloten houdt en zonder nog aan de coaxiale knoppen te komen.

### 3.1.4 Verlichtingsapparaat (10)

Met de gewone microscoop gebruik je doorvallend licht: het licht van de lichtbron (10) wordt langs onderen door het preparaat gestuurd. Het uiteindelijke beeld is dus in feite niets anders dan een door het voorwerp gewijzigd beeld van de lichtbron.

Meestal reken je ook de condensor (1), met ingebouwd irisdiagram (2), tot het verlichtingsapparaat. Met het irisdiagram regel je de doormeter van de invallende lichtbundel. De condensor, die verticaal verplaatsbaar is, convergeert het licht op het voorwerp. De **klaplens** van de condensor (3) doet de lichtbundel nog sterker convergeren en wordt ingeschakeld **vanaf vergroting 10 x**.

Voor een goede beeldvorming moet de lichtbron "gecentreerd" zijn, die in de optische as liggen. Kijk hiervoor ook naar stap 10 onder punt 3.3 op pagina 8.

## 3.2 Beeldvorming in de microscoop

Wat betreft het proces van beeldvorming in de microscoop wordt verwezen naar de lessen fysica.

De bedoeling van een microscoop is details zichtbaar te maken, die met het blote oog niet kunnen worden waargenomen. **Je dient steeds indachtig te zijn dat "vergroten" niet noodzakelijk synoniem is met "meer detail zien"**: details die niet in het objectiefbeeld voorhanden zijn, kunnen niet door het oculair te voorschijn worden getoverd. Je kan dit vergelijken met het steeds maar verder vergroten van een foto: de details hangen af van de resolutie van het oorspronkelijke beeld. Je krijgt niet meer detail door te vergroten, integendeel, op de duur wordt het beeld onduidelijk. Analoog hiermee wordt de hoeveelheid details, die je kan waarnemen met de microscoop, bepaald door de kwaliteit van het objectief, en de wijze van beeldvorming door het objectief. Men spreekt van het **oplossend vermogen**. Het oplossend vermogen is de minimale afstand, waarbij men twee punten nog als afzonderlijk kan onderscheiden.

## 3.3 Gebruik van de microscoop

Behandel de microscoop met zachtheid. Het is een duur precisietoestel dat aan jouw zorgen wordt toevertrouwd.

Zijn de lenzen zuiver? Ontstoffen en ontvetten van de lenzen alleen met speciaal lenspapier! Raadpleeg de begeleiders.

**Volg nauwkeurig onderstaande richtlijnen en sla geen stap over. Oefen je grondig in deze werkwijze tijdens het eerste practicum en wees vooral niet te vlug tevreden van jezelf en van het bekomen beeld. Werken met een microscoop moet een automatisme worden, zoals het schakelen bij autorijden. Van de beheersing van deze techniek hangt het succes van je volgende oefeningen af.**

1. Zet de verlichting aan met de **netschakelaar** (8) achteraan. Aan de rechterzijde brandt er nu een groen lichtje. Om verblinding te voorkomen start je best met een lage lichtintensiteit (potentiometer op 2 à 3). Indien je de potentiometer op een hogere stand moet zetten om een goed beeld te bekomen, is waarschijnlijk een andere instelling slecht afgesteld.
2. Draai met de grote instellingsknop (14) de voorwerptafel (4) in haar laagste stand.
3. Leg nu pas het preparaat (met het dekglasje en dus de tekst op het etiket naar boven) op de kruistafel en klem vast. Let hierbij op dat het preparaat helemaal in het metalen houdertje past (zo ver mogelijk naar achter doorschuiven!). Centreer het object met behulp van de kruistafel (7) in de lichtstraal.
4. Breng het zwakste objectief (2.5 x) in de optische as door aan de revolver te draaien (5). Kom hiervoor niet aan de objectieven, maar gebruik de rubberen ring. Indien je de de objectieven vastneemt om de revolver door te klikken, loop je het risico dat je objectieflenzen losdraaien. Indien dit gebeurt, moet je onmiddellijk de objectieflens terug goed vastdraaien of je zal geen scherp beeld kunnen krijgen. **Je start altijd met de kleinste vergroting!** Bij de microscopen in de zaal, is dat steeds het objectief 2.5 x.
5. Breng nu de voorwerptafel in de hoogste stand (met knop 14), je kijkt hierbij zijdelings naar en niet door de microscoop. **Nooit de voorwerptafel omhoogdraaien, terwijl je door het oculair kijkt!**
6. Kijk nu door de oculairen (6) en pas eventueel de afstand van de oculairen aan aan je pupilafstand. Draai met de macroschroef (14) de voorwerptafel (4) langzaam naar beneden tot een ongeveer scherp beeld verkregen wordt. Gebruik nu de microschoef (14) voor fijnregeling. Bril dragers kunnen nu corrigeren voor eventuele afwijkingen met het regelbare linker oculair. **Kijk steeds met allebei je ogen!**
7. Alvorens een sterkere vergroting te gebruiken, **plaats het te bekijken detail in het midden van het beeldveld**. Dit doe je door aan de kruisschroeven (7) te draaien. Je verandert niets aan je scherpstelling bij 2.5 x.

8. Om met sterkere vergroting te kijken, draai je het volgende objectief (de op één na kleinste vergroting) voor de opening **tot het inklikt** en stel scherp met de fijnregeling (14). Als je beeld bij 2.5x scherp was, is slechts een kleine aanpassing nodig. **Draai niet meer aan de macroschroef.**
9. Een maximale prestatie van de microscoop wordt bereikt wanneer alle optische delen (= alle lenzen) in de optimale stand staan en optimaal belicht worden. Zeker bij vergrotingen groter dan 10x is dit een noodzaak!
10. **Köhlerse belichting** (zie verder ook nog stap 11 en 12 op volgende pagina!) Een praktische uitvoering werd op het eind van de 19de eeuw ontworpen door Köhler en is nu de regel bij alle microscopen (Köhlerse belichting). Met behulp van deze uitvoering zorg je ervoor dat de lichtbron gecentreerd is, en dus in de optische as ligt zodat je een goede beeldvorming krijgt. In principe doe je dit telkens je van vergroting verandert. In de praktijk doe je dit telkens bij het begin van het practicum en bij 10x objectiefvergroting.
  - (a) Stel het preparaat scherp (zie hierboven in stap 1 - 9). Blijf verder van de micro- en macrometerschroeven af!!
  - (b) Zorg ervoor dat de condensor (1) volledig bovenaan staat en klap de klaplens (3) voor.
  - (c) Schuif het condensordiafragma (2) volledig open.
  - (d) Draai het velddiafragma (11) dicht. In beeld verschijnt nu een lichtcirkeltje.
  - (e) Centreer dit cirkeltje aan de hand van de regelschroeven (13).
  - (f) Laat de condensor nu zakken door te draaien aan de hoogteregelingsschroef van de condensor (12), tot je een scherp zeshoekje krijgt.
  - (g) Draai het velddiafragma (11) open tot de randen van de zeshoek net buiten beeld vallen.

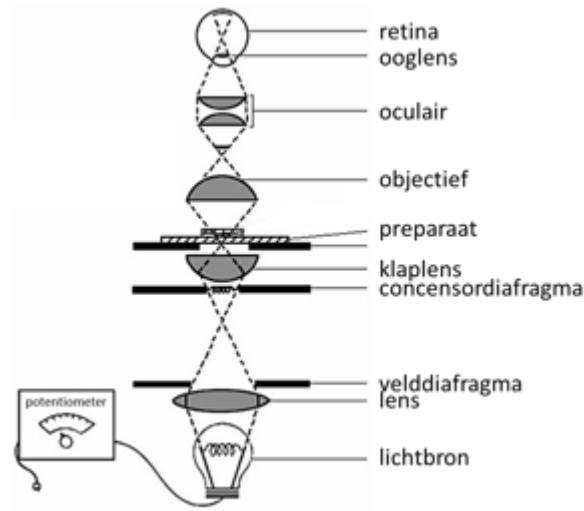
**De invallende lichtstralen op de verschillende lenzen worden weergegeven in Figuur 3.2.**

**Let op!!! De lichtintensiteit wordt niet met het diafragma maar wel met de potentiometer (9) van de lampvoeding geregeld!**

11. Je kan nu progressief verder vergroten naar objectief 20x en 40x. Herhaal hiervoor telkens de stappen 9 en 10. Loopt het mis, dan begin je de procedure helemaal van voren af aan, bij de kleinste vergroting. Let er hierbij verder op dat de lensdiameter van het objectief verkleint bij sterkere vergrotingen waardoor minder licht zal invallen. Het zal dan waarschijnlijk ook nodig zijn om de lichtintensiteit tijdens het hele proces van uitvergroten aan te passen. **Gebruik het olie-immersieobjectief onder geen voorwaarde!** Hiervoor moet na scherpstelling op 10x40 een speciale procedure worden gevolgd (zie punt 3.4).
12. Na gebruik, draai de zwakste vergroting voor, draai de voorwerptafel naar beneden, verwijder het preparaat en reinig de voorwerptafel. Plaats de microscoop terug in de kast. **Laat de microscoplamp niet onnodig branden. Zet ook het lampje uit als je pauze neemt!**

**Draai nooit aan de macroschroef bij sterke vergroting.**

**Leer gedurende het waarnemen voortdurend met de fijnstelling werken, om goed alle details te zien. Dit is vooral belangrijk bij grote vergrotingen, waar de dieptescherpte klein is, en je het preparaat niet in één keer over heel zijn dikte scherp kan zien.**



**Figuur 3.2:** Detail lenzensysteem van de microscoop.

### 3.4 Instelling ban het olie-immersieobjectief

De volgorde der handelingen moet strikt nageleefd worden om beschadigingen van het objectief en van het preparaat te verhinderen.

1. Zoek het preparaat af met een zwakke vergroting en plaats het te onderzoeken detail in het centrum van het beeldveld. Vergroot progressief tot op 10x40; centreer telkens het te onderzoeken detail en stel scherp.
2. Verdraai de revolver in een stand tussen het immersieobjectief (100x) en het vorige, zwakkere objectief.
3. Breng met behulp van een glazen staafje of pipet **één (en slechts één) druppeltje** immersieolie aan op de uitgezochte plaats van het preparaat.
4. Draai het immersieobjectief in het oliedruppeltje.
5. Kijkend door het oculair scherpstellen **met de fijnregeling**. Pas de belichting aan met het diafragma. **Draai NOOIT aan de grove instelling.**
6. Na gebruik, draai in **uurwerkwijzerzin** onmiddellijk het zwakste objectief voor en verwijder dan eerst het preparaat. **Let op! De 40x lens mag niet in de immersieolie worden gedraaid.** Gebeurt dit per ongeluk toch, reinig ze dan onmiddellijk grondig.
7. Reinig onmiddellijk de frontlens van het objectief met een in alcohol gedompeld lenspapiertje; waarna je deze eveneens direct daarna droogwrijft! Sterk vervuilde lenzen met ingedroogde olie worden gereinigd met xylol; raadpleeg hiervoor de begeleiders. De frontlenzen zijn aan elkaar gecementeerd; xylolresten kunnen het cement oplossen; de kleinste verschuiving van deze lenzen maakt het objectief onbruikbaar. Wees zuinig met xylol: het kan immers het insluitmiddel van het preparaat oplossen.

Reinig het dekglas van het preparaat met alcohol.

Was steeds uw handen, wanneer je met xylol in aanraking bent geweest of wanneer je huid in contact is geweest met immersieolie. In bepaalde omstandigheden kunnen deze producten kankerwekkend zijn.

### 3.5 Waar zit het vuil

Tijdens het bekijken van microscopische preparaten kan het gebeuren dat er vlekken of vegen zichtbaar worden. Soms kunnen deze deel uitmaken van het te bekijken onderwerp, maar veelal zijn ze het resultaat van onzuiverheden. Om uit te zoeken wat de oorzaak van deze vlekken kan zijn volg je de volgende stappen:

1. Draai eerst aan het oculair (6), het onderdeel van de microscoop, dat het meest onderhevig is aan vuil of andere (bv. make-up). Draaien de eerder geobserveerde onzuiverheden mee, dan dien je het oculair voorzichtig te reinigen met het in het labo aanwezige speciale papieren lensdoekjes. Let er hierbij weer op de glazen onderdelen van de lens niet aan te raken met je vingers.
2. Beweeg het preparaat. Bewegen de onzuiverheden mee reinig dan het preparaat voorzichtig opdat het niet breekt. Je kan een stukje gewoon papier van de rol gebruiken.
3. Blijft het beeld troebel, dan zitten er meer dan waarschijnlijk onzuiverheden op het objectief (5). Om het desbetreffende objectief te reinigen maak je gebruik van een vochtig lenzendoekje of watje.
4. Zijn de onzuiverheden nog niet verdwenen, roep dan één van de begeleiders.

### 3.6 Wees zorgzaam voor je microscoop

Plaats of verplaats de microscoop zachtjes, zonder stoten.

Raak de lenzen niet aan met je vingers; zweet is een vijand van de lenzen, evenals adem. Reinig regelmatig (na één uur gebruik) de ooglenzen van de oculairs met een zachte doek.

Mors nooit vloeistoffen, zoals alcohol en zuren, op je microscoop. Wrijf deze in voorkomend geval onmiddellijk af.

Als je microscoop niet werkt zoals gewoonlijk of abnormaliteiten vertoont, wend je tot de begeleiders. Forceer nooit enig deel van de microscoop.

### 3.7 FAQ: een probleem, wat nu?

Indien je bovenstaande stappen goed gevolgd hebt, maar je krijgt niet de gewenste beeldkwaliteit, kan je je tot de begeleiders wenden. In sommige gevallen zal het echter druk zijn in het practicum en om onnodige wachttijden te vermijden, kan je mogelijk hier de oplossing voor je probleem zelf terugvinden.

- **Het lampje brandt niet**

Het zou kunnen dat het lampje of de zekering stuk is. Wend je hiervoor tot de begeleiders. Check echter eerst volgende mogelijkheden: i) Vaak is echter de stroomaansluiting niet meer goed aangesloten. Check achteraan of de stroomkabel nog goed is aangesloten en of er een slecht contact is. ii) Het is ook mogelijk dat de stroom van de microscopietafels nog niet aanstaat. In dat geval zullen alle studenten aan de betreffende tafel geen licht hebben. Vraag aan de begeleiders om de stroom op te zetten.

- **Ik zie quasi niets (bv. enkel een donker of licht vlak)**

Studenten hebben vaak de neiging om een probleem ivm de belichting enkel aan te pakken door de lichtintensiteit (knop 9) te verhogen. Er zijn echter tal van andere en betere mogelijkheden om problemen met lichtintensiteit op te lossen. Check volgende mogelijkheden: i) Is het objectief (5) goed vastgedraaid in de revolver of is het losgekomen? Indien het is losgekomen, draai het terug goed vast. ii) Is de revolver in de juiste positie gedraaid? Indien het objectief (5) niet goed vastklikt, zal het invallende licht gestopt worden, waardoor je natuurlijk niets kan zien. iii) Heb je het onderwerp van het preparaat centraal geplaatst met de kruisschroeven (7)? Indien bv. enkel het label van het microscopisch preparaat centraal zichtbaar is, zie je niet het gewenste onderwerp. iv) Als het irisdiafragma (2) of velddiafragma (11) volledig toe staan, kan er maar heel weinig licht van de lichtbron invallen. Pas de instelling van één of beide diafragma's aan om de hoeveelheid invallend licht te optimaliseren.

- **Er zijn veel donkere vlekken zichtbaar**

Dit probleem komt voornamelijk bij grotere vergrotingen, bv. 40x. Gebruik het irisdiafragma (2) om het contrast te optimaliseren. Vaak zal met een andere instelling de ruis zo goed als volledig verdwijnen zodat een mooi beeld bekomen wordt.

- **Onderdelen van mijn microscoop zitten “los”**

Meestal gaat het hierbij over het condensorsysteem (1, 2, 3) wat is losgekomen. Draai de condensor helemaal naar beneden (schroef 12). Je kan het condensorsysteem nu met twee handen vastnemen onder de voorwerptafel. Je zal de cirkelvormige uitsparing zien waarin het condensorsysteem normaal vastgeklikt zit. Achteraan zie je twee korte pinnen. Deze kan je induwen, waardoor ze normaal gezien het condensorsysteem vastgeklikt houden. Je zal het condensorsysteem terug moeten vastklikken. Neem het met beide handen vast. Kantel het een beetje (achterkant naar beneden, tegen de twee korte pinnen aan). Beweeg de twee pinnen naar binnen door er met het condensorsysteem tegenaan te duwen en klik het condensorsysteem met een C-vormige beweging terug vast. Plaats de condensor met schroef 12 terug in positie.

- **Ik kan niet het hele preparaat bekijken**

Soms kan je problemen ondervinden ivm de mogelijkheden om de voorwerptafel heen en weer te schuiven. Indien je niet het hele preparaat kan aflopen door de kruisschroeven (7) heen en weer te bewegen, heb je het preparaat waarschijnlijk niet goed aangebracht. Controleer of het preparaat helemaal achteraan in de ijzeren onder is vastgeklikt (volledig in de hoek links achteraan).

Het kan ook zijn dat het onderwerp op het preparaat te groot is om het in zijn geheel te bekijken. De minimale vergroting van de microscoop is (10x van het oculair + 2.5x van het objectief = ) 25 keer groter dan het oorspronkelijke onderwerp. Indien je een groter onderwerp toch in één keer wil bekijken, zal je gebruik moeten maken van de binoculaire loop (zie punt 4 op de volgende pagina).

- **Wat is de vergroting van de microscoop?**

Alle microscopen zijn uitgerust met oculair met vergroting 10x. De vergroting van het objectief selecteer je zelf (2.5x, 10x, 20x of 40x). De gebruikte vergroting is dus: oculair x objectief (bv. 10x2.5). Het is hierbij belangrijk om volgorde oculair-objectief in acht te houden!

- **Het onderwerp wat ik wil bekijken is niet helemaal scherp**

Met een microscoop bekijk je onderwerpen met een vergroting van 10x2.5 tot en met 10x40. Het bestudeerde onderwerp wordt dus 25 tot 400 maal uitvergroot. Bedenk steeds dat een microscopisch preparaat – hoe dun het ook is – nog steeds een 3D structuur heeft. Het is dan ook mogelijk dat je bij een grote vergroting (bv. 10x40) niet alle lagen van de 3D structuur tegelijkertijd scherp kan zien. Het dieptezicht neemt immers af met toenemende vergroting. In dat geval zal je door fijne bewegingen met de fijnregeling van de scherpstelling (knop 14) de verschillende “lagen” van het preparaat moeten doorscannen. Je gaat dus als het ware de scherpstelling continu aanpassen om het geheel in afzonderlijke stappen scherp te bekijken.

## 4 De loep (stereoscopische microscoop)

Een loep is een instrument dat gebruikt wordt om voorwerpen te bekijken die te klein zijn om nauwkeurig met het blote oog bekeken te worden, maar te groot om microscopisch onderzoek toe te laten.

### 4.1 Bijzonderheden over het instrument

De stereoscopische microscoop is in principe gebouwd zoals een gewoon microscoop (een figuur van de loep incl. de verschillende onderdelen vind je in je kastje op de bovenste lade).

Het voornaamste verschil - behalve structuurdetails - bestaat erin dat dit toestel twee gescheiden optische assen heeft, die convergeren in het vlak van het voorwerp. Met de zoomknop kan er zowel in stappen als continu gezoomd worden (van 0,65x tot 5x). Door gebruik te maken van een zwakke eigen vergroting, overzie je een groot gezichtsveld met grote dieptescherpte, waardoor een stereoscopisch effect ontstaat. Tevens is de werkafstand, d.i. de afstand tussen het voorwerp en de objectieven, veel groter dan bij een microscoop.

Door zijn constructie is men echter beperkt in vergrotingsmogelijkheden. Hoe sterker je vergroot, hoe kleiner het gezichtsveld, hoe geringer de dieptescherpte en hoe zwakker de lichtsterkte, zodat tenslotte het stereoscopisch effect verloren gaat. Vergrotingen 100x zijn nog nauwelijks bruikbaar.

**Naargelang het voorwerp doorzichtig is of ondoorzichtig werk je met doorvallend of opvallend licht.**

### 4.2 Gebruik van de loep

#### Voor het bekijken van bv. microscopische preparaten (op een draagglas)

Om doorzichtige voorwerpen te bekijken (bv. microscopisch preparaat op draagglas) richt je de lichtbundel van de lamp loodrecht op de opstelling. Met behulp van een spiegel wordt het licht langs onder op het voorwerp gericht (cfr. bij een microscoop staat de lichtbron ook onderaan!!).

#### Voor het bekijken van bv. dissectie

Om ondoorzichtige voorwerpen te bekijken (bv. dissectie, gefixeerd exemplaar, ...) moet het licht rechtstreeks invallen op het te bekijken onderwerp. Richt de lichtbundel van de lamp direct op het voorwerp.

#### Stappen voor het gebruik van de loep

1. Het te bekijken voorwerp wordt op de voorwerptafel geplaatst.
2. Het lampje wordt met de hand in de juiste posities gebracht (zie hierboven). Indien dit stroef verloopt, kan opzij een platte knop losgedraaid worden. Neem eventueel het lampje langs boven vast (waar de stroomdraad toekomt) om makkelijker te kunnen richten. **Pas op:** het lampje en ijzeren omhulsel worden vrij snel heet. Zet het lampje altijd zo snel mogelijk in de juiste positie!!!!
3. Met de zoomknop (4, geribbelde rand) draai je de objectieven voor; je stelt scherp met de macroschroef (5, gladde rand). Merk op dat er geen microschoef is. De vergroting van de objectieven staat genoteerd op de zoomknop. De vergroting van het oculair is net zoals bij de microscopen telkens 10x.
4. Het is belangrijk dat je de afstand tussen de twee oculairtubussen zo regelt dat hij gelijk is aan de pupillenafstand, zodat je met beide ogen tegelijk één beeld ziet in een cirkelrond gezichtsveld. **Dubbelbeelden** kunnen ontstaan doordat de afstand tussen de oculairs niet aangepast is aan de pupillenafstand.



### 4.3 Belangrijke extra info en FAQ

De loep is voorzien van een verhoogd element om microscopische preparaten op te plaatsen. **Pas op:** dit blok staat niet vast en kan vallen indien je de loep niet voorzichtig hanteert wanneer je ze uit of in de kastjes plaatst. Wees steeds voorzichtig zodat je beschadigingen voorkomt.

#### Problemen met scherpstellen?

Scherpstellen kan soms moeilijk zijn met de loep. Indien het maximale bereik van de scherpstelling je niet toelaat om het onderwerp daadwerkelijk scherp te zien, zal je de volledige loep verticaal moeten verplaatsen langsheen het statief. Op die manier kan je het bereik van de scherpstelling aanpassen. De loep kan verticaal op het statief verplaatst worden: hiertoe draai je de fixatiekleem (2) achteraan los. Hou daarbij steeds het toestel stevig vast, door het onderaan met je hand te steunen. Ook moet de veiligheidsring (6) mee worden verplaatst.

#### Problemen met positioneren dissectiebak?

Het verhoogd element aan de voet van de loep kan je ook weglaten. Op die manier krijg je plaats om je dissectiebak onder de loep te plaatsen. Let wel op dat je dissectiebak voldoende stabiel staat zodat de bak niet omkipt! Eventueel kan je de loep ook in een horizontaal vlak rond het statief bewegen. Dit kan handig zijn wanneer de voet van het statief in de weg staat. Pas wel op want de stabiliteit van het toestel vermindert wanneer deze instellingen gebruikt worden.

**Wat is de vergroting van de binoculaire loep?** Alle loepes zijn uitgerust met oculair met vergroting 10x. De vergroting van het objectief selecteer je zelf (0.65x tot 5x). De gebruikte vergroting is dus: oculair x objectief (bv. 10x0.65). Het is hierbij belangrijk om volgorde oculair-objectief in acht te houden!

**Pas op:** Schokken kunnen onherstelbare schade aanbrengen aan het toestel

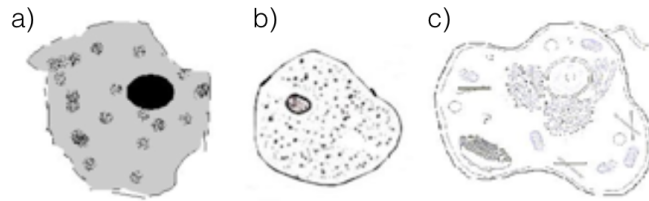
## 5 De gestandaardiseerde wetenschappelijke tekening

In essentie impliceert het maken van een correct wetenschappelijke tekening dat er zowel met een **wetenschappelijk oog** naar het onderwerp dient gekeken te worden alsook dat bevindingen op een verantwoorde wijze grafisch vertaald worden in een tekening. Het communiceren over vormen en anatomische structuren gaat immers veelal makkelijker met figuren dan in woorden. Ook al is het zeer eenvoudig om het bestudeerde onderwerp te digitaliseren, toch kiezen we hier bewust voor het maken van tekeningen. Tijdens het zelfstandig maken van zulk een tekening zal de student immers stilstaan bij aspecten die bij het maken van een digitale kopie niet aan het licht zouden komen.

Daar het voor wetenschappers in opleiding veelal moeilijk is een duidelijk beeld te vormen over wat nu juist verwacht wordt van een wetenschappelijke tekening, lichten we deze materie hieronder verder toe aan de hand van enkele aanwijzingen, suggesties en voorbeelden. Houd echter in het achterhoofd dat in essentie de bedoeling is de **werkelijkheid zo nauwkeurig mogelijk weer te geven**, maar eveneens **alle 'ruis' weg te laten**. Dat kan alleen als je voldoende theoretische achtergrondkennis hebt en/of weet wat de waargenomen structuren betekenen. Pas dan kan je de werkelijkheid gaan interpreteren en alleen dat weergeven dat biologische informatie inhoudt.

**Een eenvoudig voorbeeld:** een geïsoleerde dierlijke cel zien we onder de microscoop als een afgeijnd klompje met een welbepaalde vorm, vol grovere en fijnere korreltjes en middenin een donker contrasterende kern. Beginnelingen gaan de omtrek van de cel aarzelend met haperende lijntjes aangeven, hebben de neiging de korreling weer te geven als puntjes, vlekjes, geschaduwde zones of zelfs met arcering, en de kern als een zwart ingekleurde bol of een soort donker wolkje. Fout dus. Een dierlijke cel is begrensd door een plasmamembraan en daar zitten geen zichtbare gaatjes in, dus weergeven door een vloeiend doorlopende lijn. De cel zelf bestaat uit cytoplasma waarin massa's organellen voorkomen die echter met een lichtmicroscoop niet te onderscheiden zijn: het heeft dan ook geen enkele zin die cel te gaan inkleuren. De kern heeft een grotere affiniteit voor kleurstoffen, omdat het chromatine kleurt, vandaar dat ze contrasteert. Maar wie goed observeert zal merken dat deze kern niet optisch zwart is, maar chromatinekorreltjes heeft en soms een duidelijk afgetekend kernlichaampje (nucleolus): als we detail van de kern willen weergeven, dan tekenen we de chromatinekorreltjes en de nucleolus. Het spreekt voor zich dat je een cel enkel op deze manier kan weergeven, als je al weet hoe een cel is

opgebouwd Anderzijds bestaat de neiging het te goed te willen voorstellen en vanuit je theoretische kennis er een en ander bij te tekenen, zoals bv. organellen, die met lichtmicroscopische vergroting onmogelijk herkenbaar zijn. Ook fout dus.



**Figuur 5.1:** Weergave van een cel: a) gemaakt met onvoldoende achtergrondkennis (bv grote openingen in celmembraan en onnodig inkleuren), b) een meer wetenschappelijke benadering, al mag de inkleuring van het cytoplasma weggelaten worden c) te veel detail met structuren die niet zichtbaar zijn met een gewone lichtmicroscop.

Een heel dilemma dus, in praktijk vaak vertaald als het nogal paradoxale: "Tekenen slechts wat je ziet, tekenen niet wat je niet ziet, maar je moet wel alles gezien hebben dat er te zien kan zijn". Vandaar dat meestal de goede raad wordt gegeven: 'Indien je bepaalde bijzonderheden niet ziet, vraag uitleg of noteer op je tekening "niet gezien"'. Laat dit wel eerst verifiëren door een begeleider.

Hieronder volgen **enkele vuistregels, die je bij het maken van een wetenschappelijke tekening kunnen helpen**, de rest komt al doende.

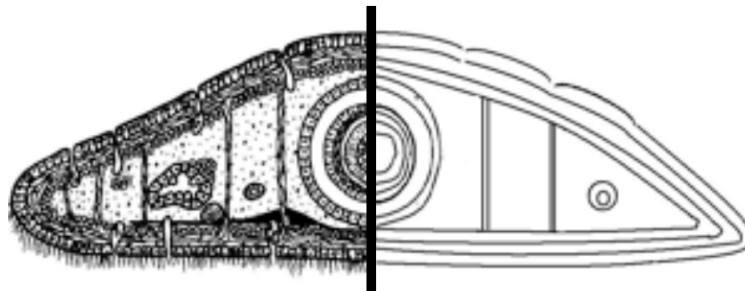
- Je tekent enkel op blanco (dus zonder lijntjes of ruitjes) A4 pagina's.
- Vooraleer details te tekenen, schets een algemene bladindeling en let op de **verhoudingen** van het organisme.
- Teken **voldoende groot**, met **enkelvoudige lijnen**, zonder schaduwen. Is het toch nodig een deel bijzonder te benadrukken, gebruik dan een andere lijndikte.
- Het is niet nodig herhaalde structuren volledig te tekenen. Omlijn liever hun algemene vorm en teken een beperkte zone nauwkeurig en gedetailleerd (zie bv. figuur 5.2).
- Alle structuren worden met een horizontale lijn aangewezen (teken deze best met een liniaal). Let er hierbij op dat verschillende lijnen elkaar niet kruisen.
- Gebruik potloden met een scherpe punt.
- **Vermijd:**
  - Onzuivere, gebroken lijnen
  - Onnodige lijnen of lijnen zonder betekenis
  - Te groot geschreven termen; de tekening mag niet verdwijnen onder een tekst.
  - Te schematische tekeningen
  - Artistieke interpretaties

**HET IS BELANGRIJK TE VERMELDEN DAT DE TEKENINGEN DIE OPGENOMEN ZIJN IN DE PRAKTIJKHANDLEIDINGEN DIENEN OM DE PREPARATEN TE LEREN INTERPRETEREN EN DUS NIET NOODZAKELIJK VOORBEELDEN ZIJN VAN GOEDE WETENSCHAPPELIJKE TEKENINGEN!!!**

Een wetenschappelijke tekening heeft een heel specifieke **hoofding**. Vermeld bij elke tekening:

- **Naam en plaatsnummer**
- **Systematische positie en volledige wetenschappelijke naam:** Phylum, (Subphylum), Classis, (Ordo), Species
- **Vergroting:** vermeld deze in de hoofding. Ze is als volgt opgebouwd: Y x Z waarbij Y de vergroting van het oculair is (bij alle microscopen en binoculaire loepes in de microscopiezaal is dit de vergroting 10x) en Z de vergroting van het objectief die je zelf selecteerde (microscop: 2,5; 10; 20 of 40, binoculaire loep: 0.65 x – 4.5 x). Indien er geen vergroting gebruikt werd noteer je dit ook.
- **Titel:** de titel moet specifiek zijn. Geef in de titel weer welk organisme bestudeerd werd en wat er specifiek bestudeerd werd van dit organisme (bv. welke soort, welk stelsel, welk geslacht, welke leeftijd (volwassen-larve-jong, ...))
- **Geslacht** (seks): vermeld in de hoofding of in de titel wat het geslacht is indien je structuren tekent die tot het voortplantingsstelsel behoren.
- **Aangezicht:** vermeld in de hoofding of in de titel wat het aangezicht is. Bij een microscopische coupe is dit de doorsnede (dwars, overlangs, ...) of de vermelding "overzicht" indien er geen snede gemaakt werd. Bij een dissectie is dit het zicht (dorsaal, ventraal, lateraal ...).
- **Oriëntatie:** geef op de tekening aan hoe het organisme georiënteerd moet worden m.b.v. volgende aanduidingen: dorsaal/ventraal, rostraal/caudaal, ... Schrijf deze aanduidingen op de tekening op de juiste plaats. Doe dit ook als de oriëntatie vanzelfsprekend lijkt!

Tenslotte: Niet iedereen heeft evenveel tekentalent. Een tekening, die een weerslag is van je werkzaamheid tijdens het practicum en van je inzicht in het bestudeerde organisme, wordt daarom beoordeeld naar de volledigheid, de nauwkeurigheid en de juistheid van de inhoud, eerder dan naar de kunstzinnigheid.



**Figuur 5.2:** Schematische weergave herhaalde structuren, hier voor een bilateraal symmetrisch organisme. Let erop dat de omtreklijnen van belangrijke lagen/structuren wel volledig zijn weergegeven! Eventueel kan je ook een deel in de tekening omkaderen (gebruik een latje!). Je kan dan enkel de delen binnen dat kader in detail tekenen OF je kan het kader elders op je blad uitvergroot opnieuw tekenen om kleine structuren duidelijker weer te geven (vermeld eventueel de nieuwe vergroting van de microscoop bij het kader). Vergeet bij beide types van aanpak ook niet om telkens de omtreklijnen of contourlijnen in het hele organisme weer te geven.

## 6 De microscoop in gebruik

### 6.1 Inleiding

De uitvinding van de microscoop stelde natuurwetenschappers in staat om structuren die te klein zijn om waar te nemen met het blote oog alsnog te observeren. De informatie die hierdoor aan het licht kwam stelde wetenschappers in staat om fundamentele theorieën op te stellen die van belang zijn voor het begrijpen van vele biologische processen. Niettegenstaande de microscoop hierdoor één van de standaarduitrustingen is binnen o.a. biologische, geologische, biochemische alsook criminologische labo's, toch wordt dit apparaat nog te vaak foutief gebruikt. Daarom halen we hieronder enkele punten aan die belangrijk zijn voor een goed gebruik van dit toestel. Hiervoor zullen we starten met het benoemen van de verschillende onderdelen, waarna enkele oefeningen zullen volgen om te komen tot een optimale beeldvorming.

### 6.2 Gebruik van de microscoop

Niettegenstaande voor sommige het gebruik van de microscoop reeds gekend is (of werd gezien tijdens een eerder opleidingsonderdeel), staan we hier toch stil bij het optimale gebruik van dit toestel. De belangrijkste doelstelling voor deze sessie is het optimaal leren gebruiken van de microscoop. Deze vaardigheid zal je doorheen je opleiding voor verschillende vakken nodig hebben. **Ga er dus zeker niet te licht overheen.**

#### Opdracht 1

Lees aandachtig je tekst over onderdelen van en werken met een microscoop, neem je toestel voor je en maak je vertrouwd met de namen en functies van de verschillende onderdelen. Overloop het volledige stappenplan “3.3: Gebruik van de microscoop”. Je gebruikt hiervoor het voorbeeldpreparaat waarop de letters “**Fa**” geschreven staan of een preparaat naar keuze. Aarzel niet om de begeleiders om hulp te vragen bij problemen. Let vooral op de volgende punten:

- Het correct positioneren van het preparaat op de voorwerptafel (o.a. hoogte van de voorwerptafel, boven – onder en correct gebruik klem)
- Het voorzetten van het juiste objectief (progressief van 2.5 x naar 40 x)
- Het zoeken en centreren van het onderwerp
- Het afstellen van het oculair (pupilafstand en oogcorrectie)
- Gebruik klaplens
- Gebruik condensor

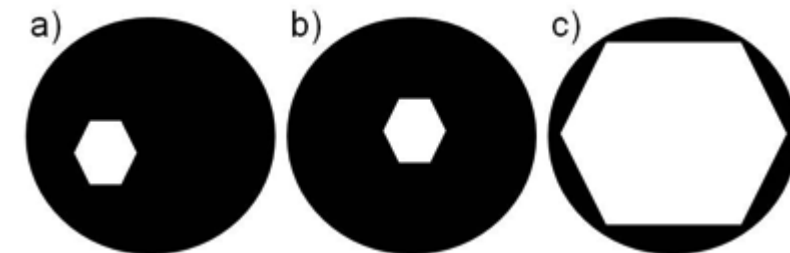
### 6.3 Controleren van de microscoop

Een eerste en cruciale stap bij het bekomen van een perfect microscopisch beeld bestaat erin na te gaan of je microscoop zowel proper is alsook goed is afgesteld. Onzuiverheden bevinden zich meestal ter hoogte van de oculairen (nr. 6 op afbeelding microscoop). Het voorkomen van deze beeldverstorende verontreiniging kan eenvoudig worden nagegaan door te draaien aan de afzonderlijke oculairen. Partikels die mee bewegen duiden op de aanwezigheid van vuil en vragen om een reiniging. Doe dit met een zachte doek.

Lichtmicroscopen werken op basis van licht en het bekomen van een ideaal beeld hangt dan ook vaak samen met het juiste gebruik en afstelling van de lichtbron. Het bekomen van wat wij een “goed” beeld noemen binnen deze opleiding vereist een gecentreerde lichtbundel die loodrecht op het onderwerp invalt. Deze randvoorwaarden kunnen bekomen worden door het juist afstellen van de condensor. Onder normale omstandigheden zou de lichtbundel steeds gecentreerd moeten staan. Toch loont het de moeite om dit bij de start van het practicum steeds te verifiëren. In theorie doe je dit telkens je van vergroting verandert. In de praktijk doe je dit telkens bij het begin van het practicum en bij 10 x objectiefvergroting.

## Opdracht 2: werkwijze condensor afstellen

Stel een willekeurig preparaat scherp. Blijf hierna van de micro- en macrometerschroeven af! Zorg ervoor dat de condensor volledig bovenaan staat (met behulp van knop 12). Zet het condensordiafragma open via het schuivertje (2). Draai het velddiafragma (11) onderaan dicht. In beeld verschijnt nu een lichtcirkel of veelhoek. Centreer dit cirkeltje aan de hand van de twee zilveren regelschroeven tot je het beeld uit Figuur 6.1b krijgt. Je gebruikt hiervoor de twee lange zilveren hendels (13). Het kan zijn dat de condensor al meteen juist staat. Indien je echter het beeld uit Figuur 6.1a krijgt (nu of bij een later gebruik) moet je dus eerst het zeshoekje centreren. Een handige controle is te kijken of alle zes de hoekpunten van je velddiafragma gelijktijdig de rand van je gezichtsveld raken bij het opendraaien van het condensordiafragma (Figuur 6.1c).



**Figuur 6.1:** Köhlerse afstelling van de condensor met: a) ontregelde condensor, b) gecentreerde lichtbundel, c) controle van de gecentreerde lichtbundel.

Voor het **afstellen van de hoogte van de condensor** doe je het volgende: je gecentreerde condensor staat nog volledig bovenaan waarbij het condensordiafragma (2) volledig open staat. Verklein het velddiafragma (11) zodat de zeshoekige lichtbundel net binnen het beeld valt. Laat de condensor nu zakken met knop 12, tot je een scherp zeshoekje krijgt. Draai het velddiafragma (11) open tot de randen van de zeshoek net buiten beeld vallen.

Het afstellen van de opening van het condensordiafragma is een ander verhaal. Deze hangt af van preparaat specifieke eigenschappen en de gewenste eigenschappen van het beeld. Hieronder volgen enkele oefeningen om je hier in bij te schaven.

*N.B. De hierboven beschreven stappen vloeien voort uit de door August Köhler beschreven theorie en praktijk inzake de optimale instelling van de lichtmicroscop. Deze optimale instelling geldt niet alleen voor bovengenoemde microscop, maar in feite voor elke microscop. Verder zijn er verschillende webapplicaties die je meer vertrouwd maken met deze instellingen.*

## 6.4 Inleidende oefeningen

### Opdracht 3 (in verslag)

Plaats het oefenvoorwerp (letterpreparaat Fa) zó op je voorwerptafel (het moet helemaal achteraan in de houder passen) dat het in een normale leespositie staat. Stel scherp (kleinste vergroting) en vergelijk nu de oriëntatie van het verkregen beeld met deze van het voorwerp. Rapporteer je bevinding. Verklaar wat er gebeurt indien je het voorwerp naar links verplaatst (door voorwerptafel te verplaatsen).

Volg strikt de richtlijnen voor het werken met een microscoop (punt 3.3). Gebruik nu het oefenpreparaat om je vertrouwd te maken met de handelingen van scherpstellen, progressief vergroten (immersieobjectief 100x niet gebruiken!) en aanpassen lichtintensiteit. Ga het effect na van openen en sluiten van: (1) het velddiafragma, (2) het condensordiafragma, (3) het op en neer verplaatsen van de condensor, (4) het al dan niet voorklappen van de klaplens. Let hierbij vooral op een correcte instelling van de verlichting. Geef enerzijds weer wat de functies zijn van deze verschillende onderdelen/handelingen en schets ook hoe je al deze mogelijkheden zal gebruiken naarmate je steeds grotere vergrotingen gebruikt? Geef een korte neerslag in je schriftelijk verslag (max. 1p).

## 6.5 Meten van objecten onder de microscoop

### Opdracht 4 (in verslag)

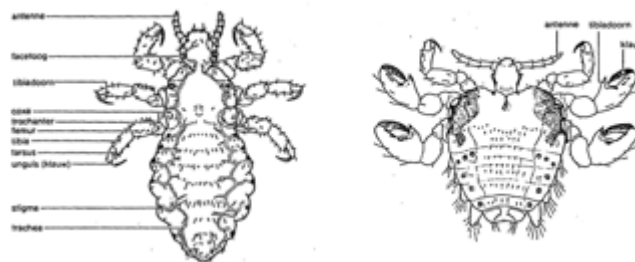
Het is belangrijk altijd een idee te hebben over de grootte (orde van grootte) van een bepaald organisme, of delen ervan. Hiervoor maakt men veelal gebruik van relatieve maten. Belangrijk hierbij is dat je eerst voor de verschillende vergrotingen nagaat hoe groot het resulterende gezichtsveld is. Gebruik hiervoor de voorziene doorzichtige slide met de meetlat (*cfr.* millimeterpapier) die in je preparatenmap te vinden is. Bekijk bij de verschillende objectiefvergrotingen hoeveel millimeter je kan zien in het gezichtsveld van de microscoop. Geef je waarnemingen weer in een overzichtelijke tabel.

**Tabel 6.1:** Grootte van het gezichtsveld in mm voor verschillende objectieven.

Objectief	Gezichtsveld (in mm)
2.5 x	
10 x	
20 x	
40 x	

Evalueer hierna de dimensie van de letter a op het voorbeeldpreparaat (*i.e.* gebruik ratio's t.o.v. het totale gezichtsveld). Je kent immers de grootte (in mm) van het gezichtsveld vanuit de tabel. De grootte van de letter kan je schatten door te bepalen hoeveel van het gezichtsveld door de letter wordt ingenomen. Deze methode kan je gebruiken tijdens de rest van je practica. Het gezichtsveld zal immers steeds hetzelfde zijn bij dezelfde objectiefvergroting zodat je makkelijk de grootte kan afleiden van eender welke structuur die je met de microscoop bekijkt. **Let op:** hoe groot is één vakje op het preparaat met de meetlat (*cfr.* millimeterpapier)???

### Opdracht 5 (in verslag)



**Figuur 6.2:** links) *Pediculus humanus capitalis*, rechts) *Phthirus pubis*.

Na het maken van deze eerste oefeningen kunnen we een stap verder gaan. Tijdens deze practica dierkunde zullen we op verschillende momenten stilstaan bij parasieten van de mens. Zo zullen we tijdens de oefening rond de Arthropoda kijken naar luizen (Ordo Anoplura). Afhankelijk van de bron en/of soortconcept herkennen we twee tot drie soorten luizen die als ectoparasiet leven op de mens. Wetenschappelijk onderzoek naar de ontstaansgeschiedenis van deze soorten heeft ons heel wat bijgeleerd over de evolutie van de mens (bv. het ontstaan van de naakte mens of het tijdstip waarop mensen zich gingen kleden). Twee soorten leven op het haar van de mens: de hoofdluiz (*Pediculus humanus*) en de schaamluiz (*Phthirus pubis*). Beide soorten hebben zich aangepast aan hun habitat. *Pediculus* vind je voornamelijk terug ter hoogte van het hoofdhaar, daar waar *Phthirus pubis* terug te

vinden is ter hoogte van o.a. de schaamstreek, oksels, buik en baard. Figuur 6.2a en b geven een voorstelling van beide soorten.

Maak een preparaat van een hoofdhaar en een baard- of okselhaar. Gebruik Tabel 6.2 als leidraad voor het maken van een goed preparaat. Evalueer de dikte van beide types haar. Tracht dit te linken aan de morfologie van beide soorten luizen (op basis van de figuren). Schrijf je bevindingen neer.

## 6.6 Verschillen tussen plantencel en dierlijke cel

Planten- en dierencellen hebben heel wat gemeen. Toch zijn er enkele belangrijke verschillen. We bekijken hier een vertegenwoordiger van beide a.d.h.v. eigen gemaakte preparaten zoals verduidelijkt in Tabel 6.2. Belangrijk hierbij is stil te staan bij waar nu de grote verschillen zitten tussen beide rijken (Regnum Animalia en Regnum Plantae).

### Opdracht 6 (in verslag)

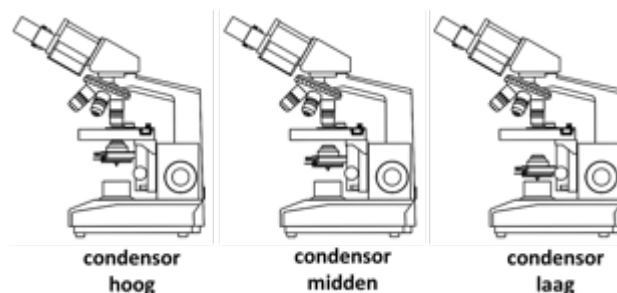
Je bestudeert een typische **levende plantencel** door een preparaat te maken van de ui (Phylum: Embryophyta, Classis: Spermatopsida, Species: *Allium cepa*). Ondertussen blijf je ervaring opdoen met de microscoop.

- Maak een preparaat van de epidermis van de ui en observeer een individuele cel.
- **Teken** een cel, let op de eigenschappen van de wetenschappelijke tekening!
- Evalueer de grootte van een gemiddelde epidermiscel van de ui en de dikte van de celwand

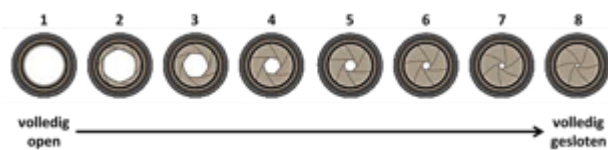
Als **voorbeeld van een dierlijke cel** bestuderen we een preparaat van je eigen wangepitheelcellen. Schraap hiertoe met je vingertop of een stomp voorwerp langs de binnenkant van je wang en druk dit schraapsel op een voorwerpglaasje, voeg een druppel water toe en bedek met een dekglasje. Zorg er altijd voor geen luchtbellens in te sluiten. Bekijk bij 10x2.5, zoek de cellen en vergroot ze stelselmatig. Zoek één of enkele geïsoleerde, duidelijk gekernde cellen op en tracht er een zo goed mogelijk beeld van te bekomen bij 10x40. Deze kleurloze doorschijnende cel vraagt een prima **afstelling van de belichting** om een goed microscopisch beeld te verkrijgen. (denk aan intensiteit, positie condensor, diafragma, klaplens). Eens scherpgesteld ga je het effect van het diafragma na: wat gebeurt er als je het volledig opendraait? Vernauw het progressief terwijl je blijft kijken en zonder nog aan de scherpteregeling te komen.

*N.B. Wangepitheelcellen maken deel uit van het weefsel dat je mondholte aflies. Dergelijke oppervlakken bedekkende weefsels noemt men epithelen. Dit wangepitheel is tegen een en ander bestand: als je praat, glijden je tanden er voortdurend tegen aan en tijdens het kauwen staat het aan sterke wrijving bloot. Het bestaat uit meerdere lagen cellen. Onderaan worden voortdurend nieuwe cellen gevormd. Aan het oppervlak van het weefsel platten de cellen sterk af, ze degenereren en schilferen af. Zo wordt het wangepitheel voortdurend vernieuwd om gelijke tred te houden met de slijtage.*

Teken een of enkele cellen (let op de vereisten van een wetenschappelijke tekening! Zie onder hoofdstuk 5). Vermeld de gekozen stand van condensor (hiermee bedoelen we hoe hoog de condensor staat tov de voorwerptafel; Figuur 6.3) en optimale diafragmaopening (helemaal open helemaal gesloten; Figuur 6.4).



**Figuur 6.3:** Verschillende posities van de condensor t.o.v. de voorwerptafel.



**Figuur 6.4:** Verschillende openingen van het diafragma van volledig open (links) tot volledig gesloten (rechts).

Evalueer opnieuw de grootte van een cel en celkern.

- Hoe verklaar je de aanwezigheid van dergelijke cellen in je mondholte?
- Waarom hebben sommige cellen een kern, andere niet?
- Som de belangrijkste verschillen op tussen dierlijke en plantaardige cellen.

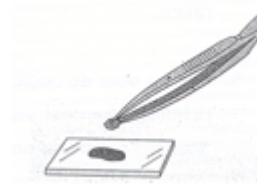
Misschien moet je hiervoor in gedachten wel even teruggaan naar je eerste lessen plantkunde en vergelijken met wat je vernam bij het hoorcollege over de dierlijke cel. Gebruik eventueel bijkomende bronnen om de vraag op te lossen (bv. PC's in de practicumzaal of in de bibliotheek tegenover de practicumzaal).

**Tabel 6.2:** Preparaten maken.

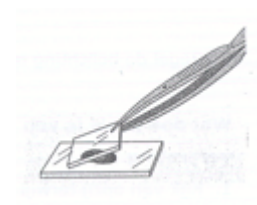
Neem een proper voorwerpglas bij de randen vast. Leg met een pipet een druppel vloeistof op het voorwerpglas (welke vloeistof je moet gebruiken, is aangegeven bij de opdracht)



Breng het voorwerp met een pincet in de druppel vloeistof.



Neem een proper dekglasje met de zijkanten vast tussen duim en wijsvinger of met een pincet. Zet het dekglasje schuin tegen de druppel en laat voorzichtig zakken.



Zuig de overtollige vloeistof met een filtreerpapier weg.





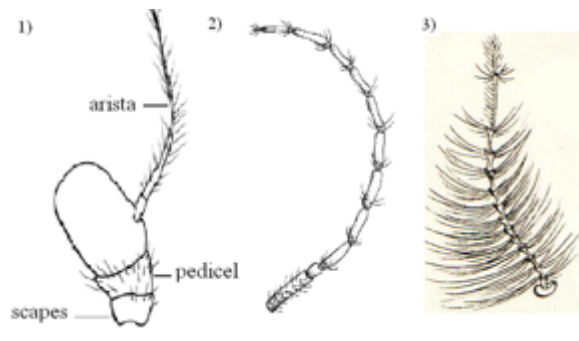
## 7 De binoculaire loep in gebruik

Neem de nota's over de werking van de binoculaire loep door en zorg dat je de verschillende onderdelen correct weet te gebruiken.

### Opdracht 7 (in verslag)

In het verdere verloop van je opleiding zal je nog in contact komen met de Diptera, insecten met twee vleugels waarbij de oorspronkelijke achtervleugels zijn omgevormd in halters. Deze Ordo kan onderverdeeld worden in de “echte” vliegen en dazen (subordo Brachycera) en de muggen (subordo Nematocera). Niettegenstaande ieder van ons verschillende vertegenwoordigers van beide groeperingen makkelijk op zicht kan herkennen, toch is die vaak niet zo eenvoudig. Een traditioneel kenmerk om de “vliegen” van de “muggen” te onderscheiden vinden we op de antenna. Diptera hebben antenna die bestaan uit drie delen: een basale scapes gevolgd door een pedicel en flagellum. Deze laatste kan éénledig zijn en een gesel (of arista) dragen zoals bij de meeste Brachycera of bestaan uit meerdere sterk gelijkende leden, zoals bij de Nematocera. Het is ook aan deze conventionele opdeling dat de Brachycera (Gr “brakhýs” = kort en “kèras” hoorn) en Nematocera (Gr. “nématos” = draad) hun naam danken. Bekijk ook Figuur 7.1 om de verschillen te leren herkennen.

Bekijk de aanwezige dipteer onder de binoculaire loep en bepaal of we hier met een vertegenwoordiger van de Nematocera dan wel met een Brachycera te maken hebben.



**Figuur 7.1:** Antenna bij de Diptera met 1) Brachycera en 2 - 3) twee types Nematocera.

## 8 Een dierlijke cel is zelden alleen

### Opdracht 8 (in verslag)

Dieren zijn meercellige organismen. Hun cellen zijn gespecialiseerd en, op de eenvoudigste vormen (de sponzen) na, georganiseerd in weefsels. Om de cellen te kunnen bestuderen moeten er microscopische preparaten van worden gemaakt. De mogelijkheden van een tijdelijk, onbehandeld preparaat zijn beperkt. Meestal moet het dier of dierlijk weefsel een aantal behandelingen ondergaan, zoals ontwateren, kleuren, fixeren en inbedden, voor er coupes van kunnen worden gemaakt. Dat inbedden is noodzakelijk omdat, in tegenstelling tot plantenmateriaal, dierlijke cellen en weefsels weke structuren zijn, die rechtstreeks snijden niet toelaten.

Kleuren van een preparaat heeft niet enkel tot doel het contrast te vergroten, men probeert vooral differentieel te kleuren: bv. spieren een andere kleur te geven dan bindweefsel. Dit is mogelijk doordat weefsels in samenstelling verschillen en daardoor chemisch verschillend interageren met de kleurstof. Naargelang de gebruikte kleurtechnieken kunnen twee preparaten van hetzelfde onderwerp er dus erg verschillend uitzien. Bovendien bestaat er heel wat variatie in het dierenrijk en zijn geen twee dieren,

ook van dezelfde soort, echt gelijk. Daarom zal een willekeurig preparaat min of meer afwijken van het ideale voorbeeld.

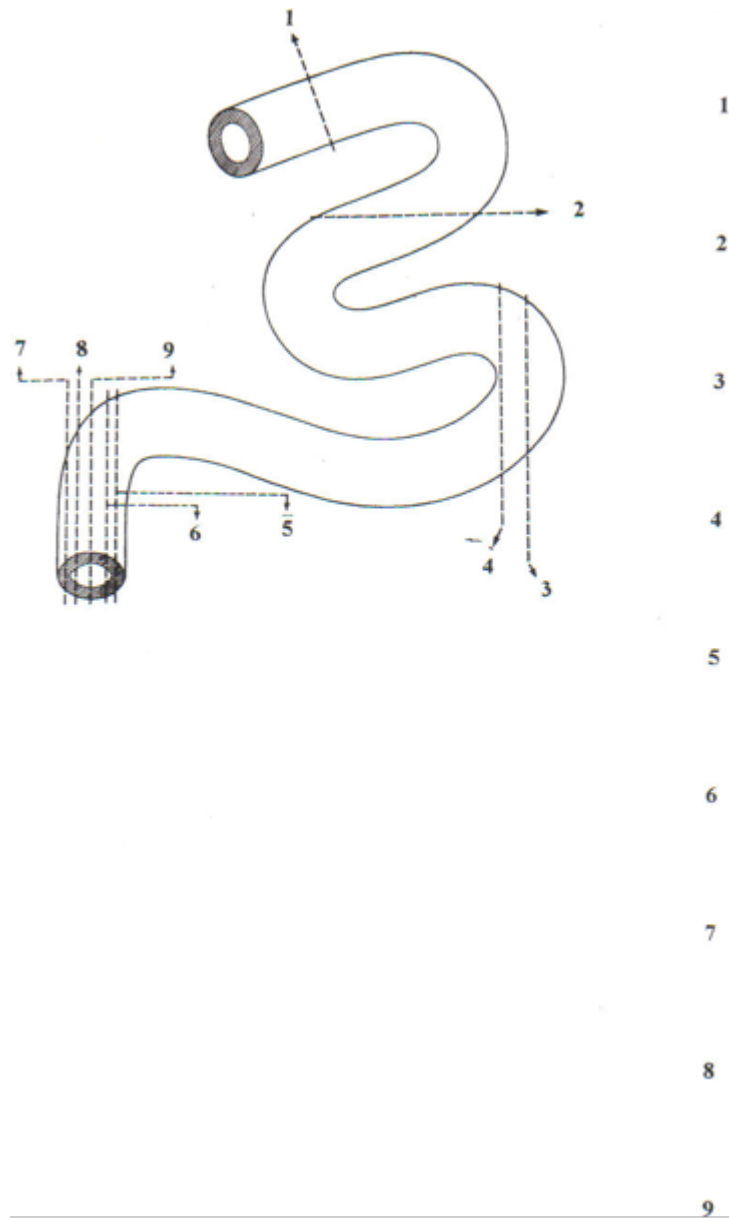
We moeten dus bij de interpretatie van ons beeld in gedachten houden dat de cel of structuur die we op een preparaat waarnemen er behoorlijk anders kan uitzien dan haar natuurlijke levende tegenhanger.

Je beschikt over 2 verschillend gekleurde preparaten van eenzelfde dier, een grote leverbot of *Fasciola hepatica* (een parasiet van de lever van runderen en schapen). Bekijk ze beide met de loop. Het gaat natuurlijk nog niet over de anatomie van dit dier, dat komt later. Wel ga je samen met je 'map-partner' uitzoeken welke verschillen en overeenkomsten er zijn tussen beide preparaten: zijn op beide preparaten dezelfde structuren te zien? Zijn bepaalde structuren anders ingekleurd? Zijn de preparaten even duidelijk, ..... Noteer je besluit.

### **Opdracht 9 (in verslag)**

Vele organismen zijn **te groot** om hun anatomie te bestuderen door eenvoudige doorlichting, maar dan ook weer te klein om te worden gedissecteed. Daarom worden er **coupes** van gemaakt: het organisme wordt als het ware in vele schijfjes gesneden, die elk afzonderlijk kunnen worden bestudeerd om er uiteindelijk weer een globaal beeld van te reconstrueren. Meestal werkt men met dwarse doorsneden (loodrecht op het bilaterale symmetrievlak) of overlangse (ook: sagitale) doorsneden (doorheen het bilaterale symmetrievlak of evenwijdig eraan) (zie figuur in hoofdstuk 2). Dieren en dierlijke structuren kunnen vaak afgeleid worden van **buisvormige structuren**: de worm-vorm, darm, streng, vaten, afvoergangen en kanalen. Het is daarom nodig doorsneden doorheen buisvormige structuren te kunnen interpreteren.

Kijk naar de oefening in Figuur 8.1 op pagina 24 en geef grafisch weer hoe de verschillende coupes eruit zouden zien in een tweedimensionale ruimte.

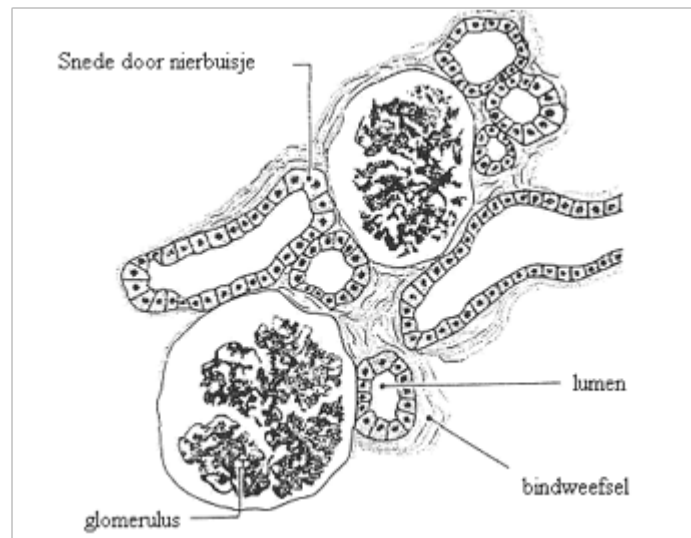


**Figuur 8.1:** Doorsnedes interpreteren.

### Opdracht 10

Met in het achterhoofd hoe cellen en weefsels worden verwerkt tot een microscopisch preparaat, moet je je waarnemingen correct kunnen interpreteren en weergeven in een tekening (bekijk de instructies voor de wetenschappelijke tekening onder hoofdstuk 5).

In de nierschors zoek je een mooi voorbeeld van een dwarse doorsnede door een nierbuisje, opgebouwd uit kubische cellen. Je maakt **een correcte wetenschappelijke tekening** van een drietal aanliggende cellen die deel uitmaken van de wand van het nierbuisje en die zichtbaar zijn op de doorsnede door het nierbuisje (Figuur 8.2; wat voor type snede is dit? Is het aangezicht dan dwars of overlangs?) (Phylum: Chordata, Classis: Mammalia, Species: ongekend).



**Figuur 8.2:** Kubische aanliggende cellen rond het lumen op de dwarse doorsnede door het nierbuisje.

*N.B. Nieren filteren de lichaamsvochten. Op een doorgesneden nier herken je een buitenste zone, de nierschors en het centraler gelegen niermerg. Een nier is samengesteld uit massa's nierbuisjes of nefronen, die zich uitstrekken van nierschors tot niermerg. In de nierschors hebben de buisjes en dikke wand van kubische cellen en kennen een sterk kronkelend verloop, in het niermerg zijn ze grotendeels dunwandig en lopen parallel aan elkaar.*

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

## 9 Verslag: gebruik van de microscoop

**Opdracht 3:** bevindingen gebruik microscoop (max. 1p)

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 4:** afmetingen interpreteren

Objectief	Gezichtsveld (in mm)
2.5 x	
10 x	
20 x	
40 x	

Dimensie van de letter a op het voorbeeldpreparaat: .....

**Opdracht 5:** Evalueer de dikte van beide types haar. Tracht dit te linken aan de morfologie van beide soorten luizen (op basis van de figuren). Schrijf je bevindingen neer.

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 6:** Tekening 1

Uitzonderlijk werd de hoofding voor je klaargezet zodat je deze enkel nog dient aan te vullen. Voor verdere tekeningen zaal je deze zelf volledig moeten geven.

Phylum: .....

Classis: .....

Species: .....

Aangezicht: (niet mogelijk te bepalen voor dit type preparaat)

Oriëntatie: (normaal op de tekening te schrijven, maar niet te bepalen voor dit type preparaat)

Vergroting: .....

Titel: .....

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 6:** Tekening 2



Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 6:** Plantencel en dierlijke cel

Grootte uiencel (lengte): .....

Dikte celwand uiencel: .....

Grootte wangepitheelcel (diameter): .....

Grootte celkern wangepitheelcel: .....

Stand condensor: .....

Stand condensordiafragma: .....

Verklaring aanwezigheid cellen: .....

.....

Kern of geen kern? .....

.....

.....

Plantencel versus dierlijke cel:

**Opdracht 7:** Diptera

Soort 1: .....

Soort 2: .....

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 8:** Kleuringen. Noteer je bevindingen bij het vergelijken van beide preparaten van *Fasciola hepatica*.

--

**Opdracht 9:** coupes interpreteren.

Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6
Nr. 7	Nr. 8	Nr. 9

Naam: .....

Plaatsnr.: .....

---

**Opdracht 10:** Tekening 3 aanliggende cellen.