



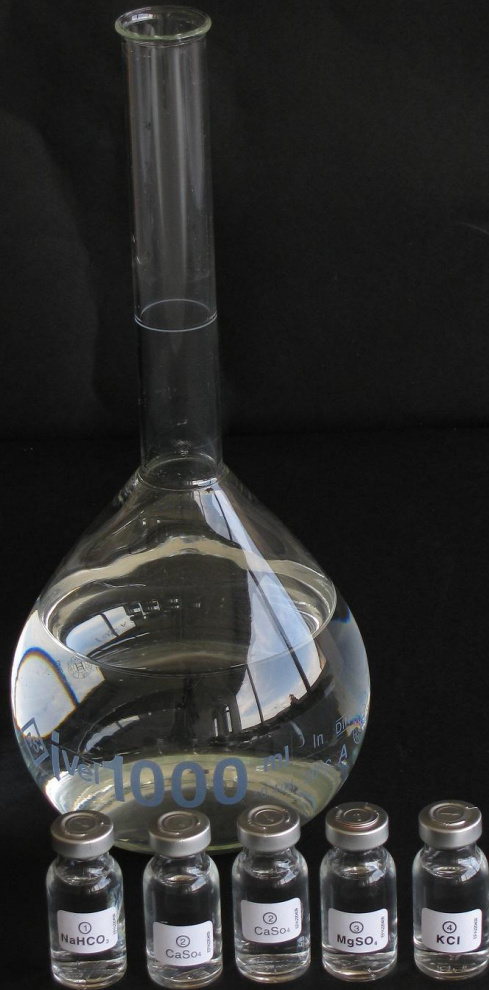
THAMNOTOXKIT F

Procedura testu

1

PRZYGOTOWANIE STANDARDOWEJ POŻYWKI

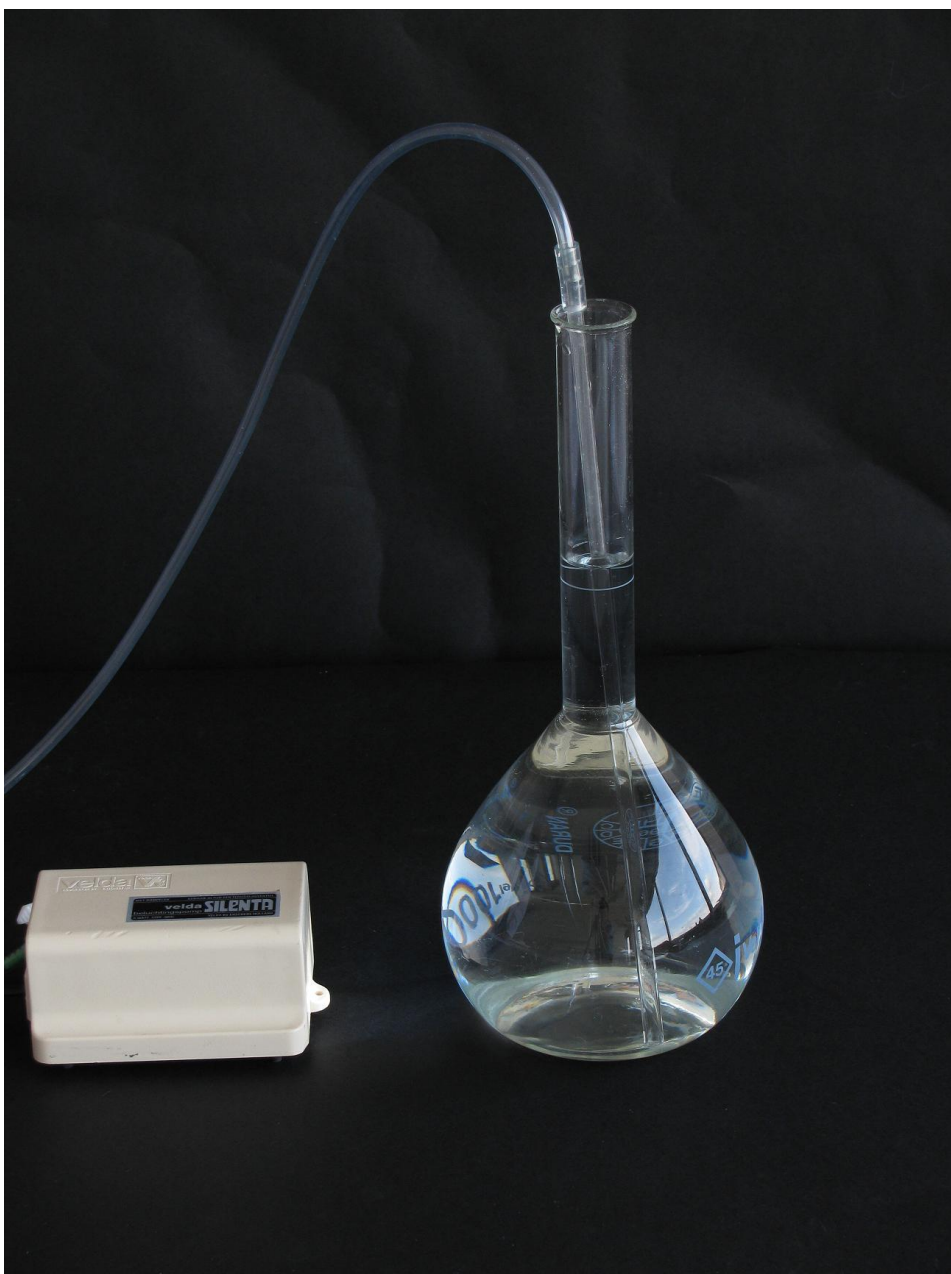
- KOLBKA MIAROWA (1 LITR)
- 5 FIOLEK ZE SKONCENTROWANYMI ROZTWORAMI SOLI
- DESTYLOWANA (lub dejonizowana) WODA





2

WLAĆ ZAWARTOŚĆ 5 FIOLEK
ZE SKONCENTROWANYMI ROZTWORAMI
SOLI DO \pm 800 ML WODY
DESTYLOWANEJ,
W KOLBCE MIAROWEJ 1 LITR

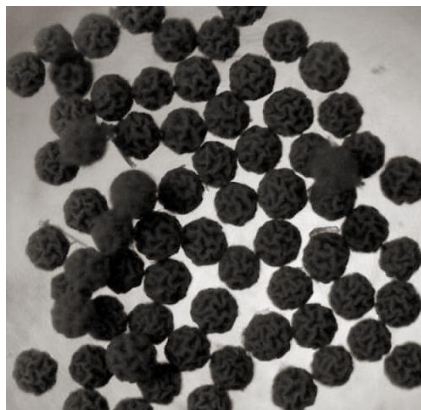


3

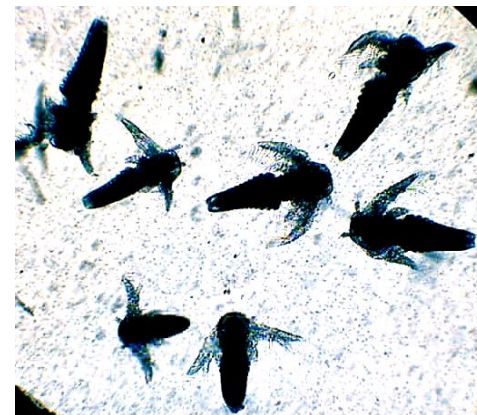
- UZUPEŁNIĆ KOLBKĘ DO LINII 1 LITR
- NAPOWIETRZAĆ PRZEZ CO NAJMNIJ 15 MINUT



Probówka z cystami
Thamnocephalus platyurus



Cysty
Thamnocephalus platyurus

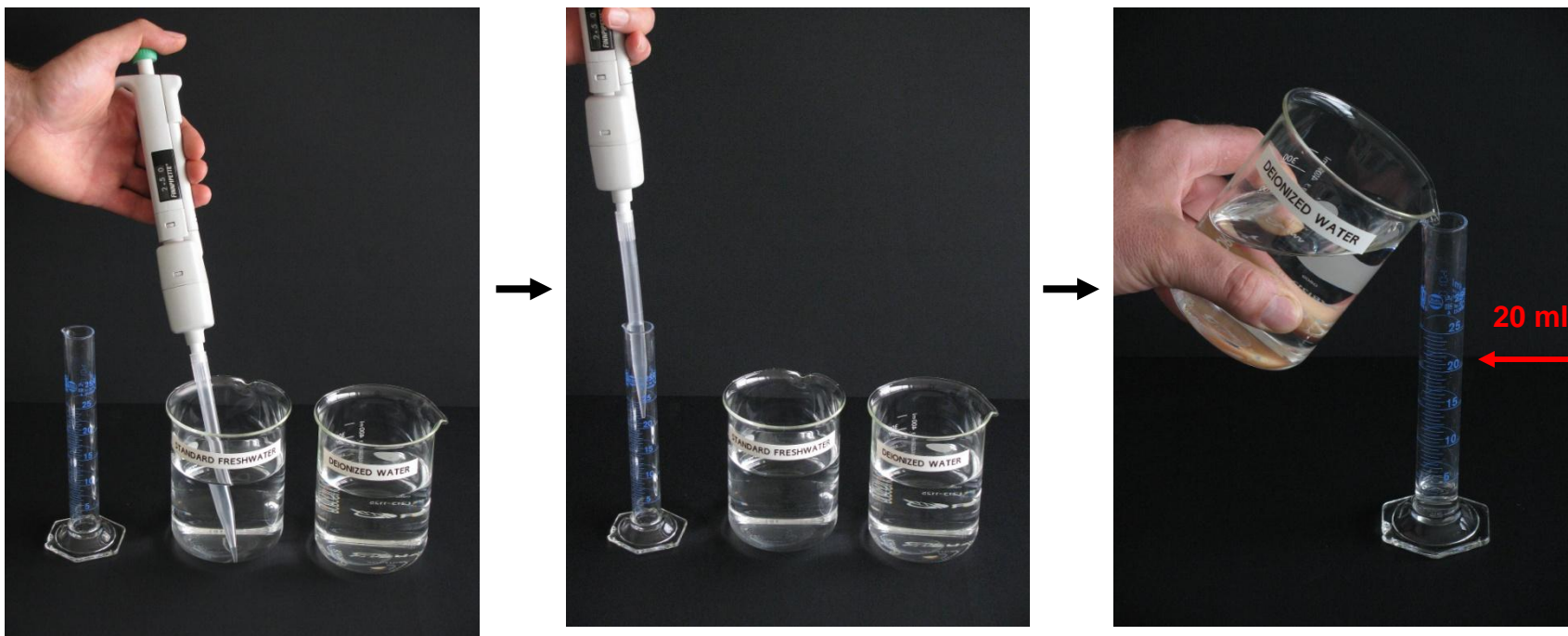


Larwy
Thamnocephalus platyurus

4

WYLĘG Z CYST

WYLĘG Z CYST POWINIEN BYĆ ROZPOCZĘTY 20-22 GODZINY
PRZED ROZPOCZĘCIEM TESTU TOKSYCZNOŚCI



5

1. NAWADNIANIE CYST

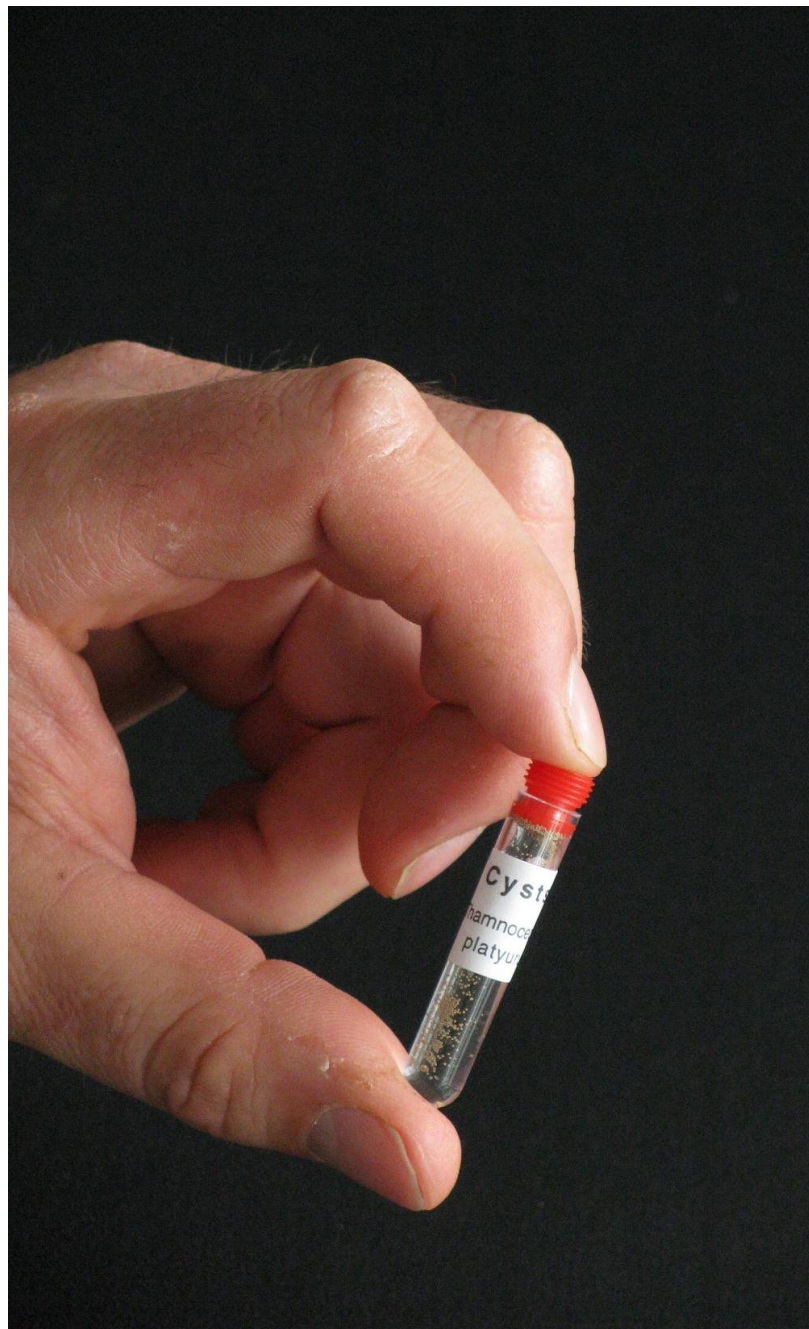
PRZYGOTOWAĆ 20 ML "POŻYWKI DO WYLĘGU" (=ROZCIEŃCZONA STANDARDOWA POŻYWKA)
PRZEZ PODANIE 2,5 ML STANDARDOWEJ POŻYWKI DO MIAROWEGO CYLINDRA 25 ML
I DODANIE WODY DEJONIZOWANEJ DO LINII 20 ML



6

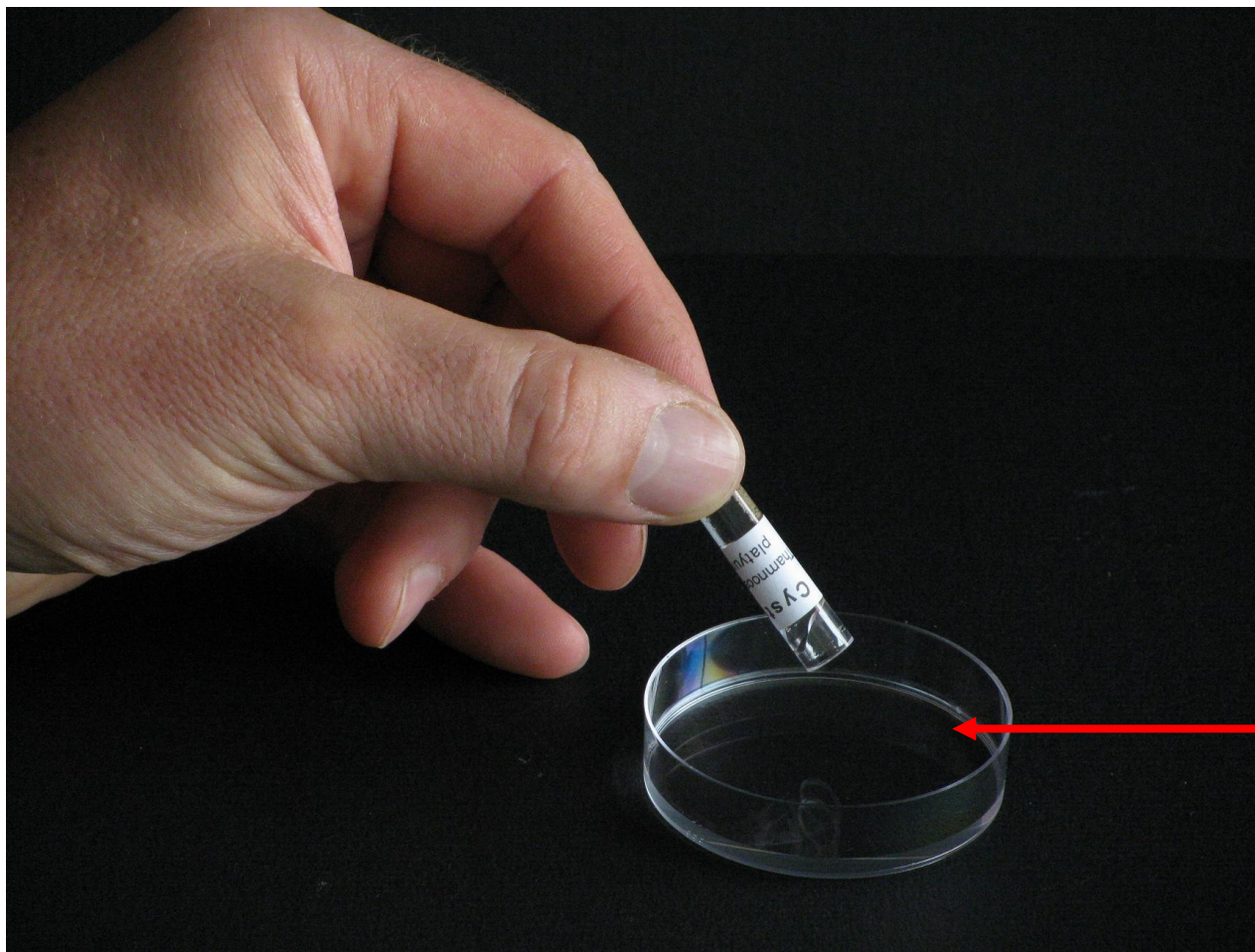
OTWORZYĆ PROBÓWKĘ Z CYSTAMI
I NAPEŁNIĆ JĄ POŻYWKĄ DO
WYLEGU

(około 1 ml)



7

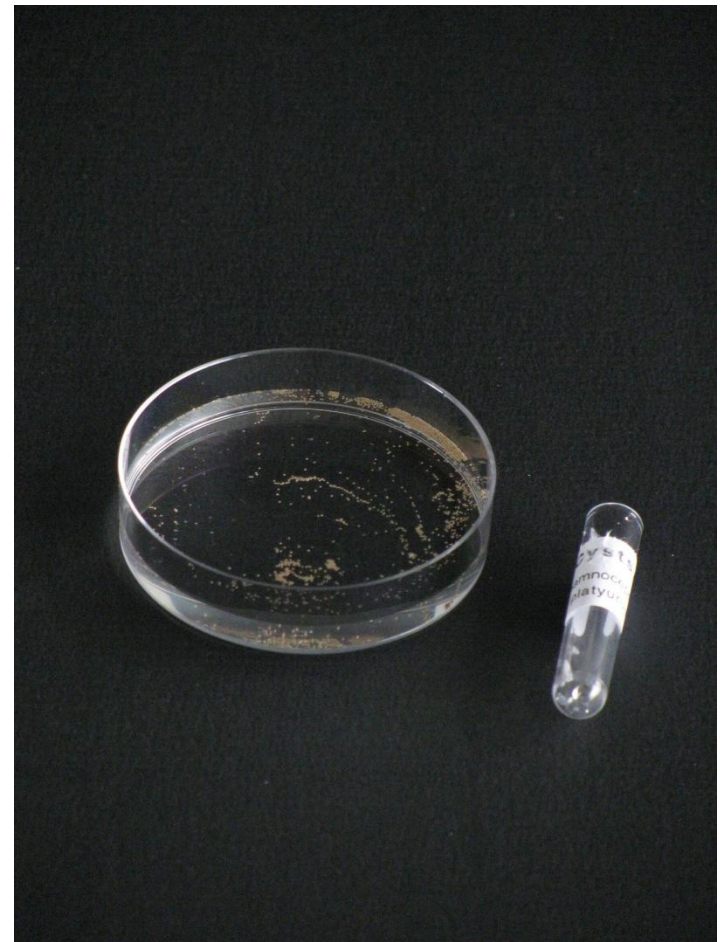
- ZAMKNAĆ PROBÓWKĘ ZATYCZKĄ
- WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ W REGULARNYCH ODSTĘPACH CZASU W CIĄGU 30 MINUT



8

2. PRZENOSZENIE UWODNIONYCH CYST NA SZALKĘ DO WYLĘGU

PRZELAĆ ZAWARTOŚĆ FIOLI Z UWODNIONYMI CYSTAMI NA SZALKĘ DO WYLĘGU



9

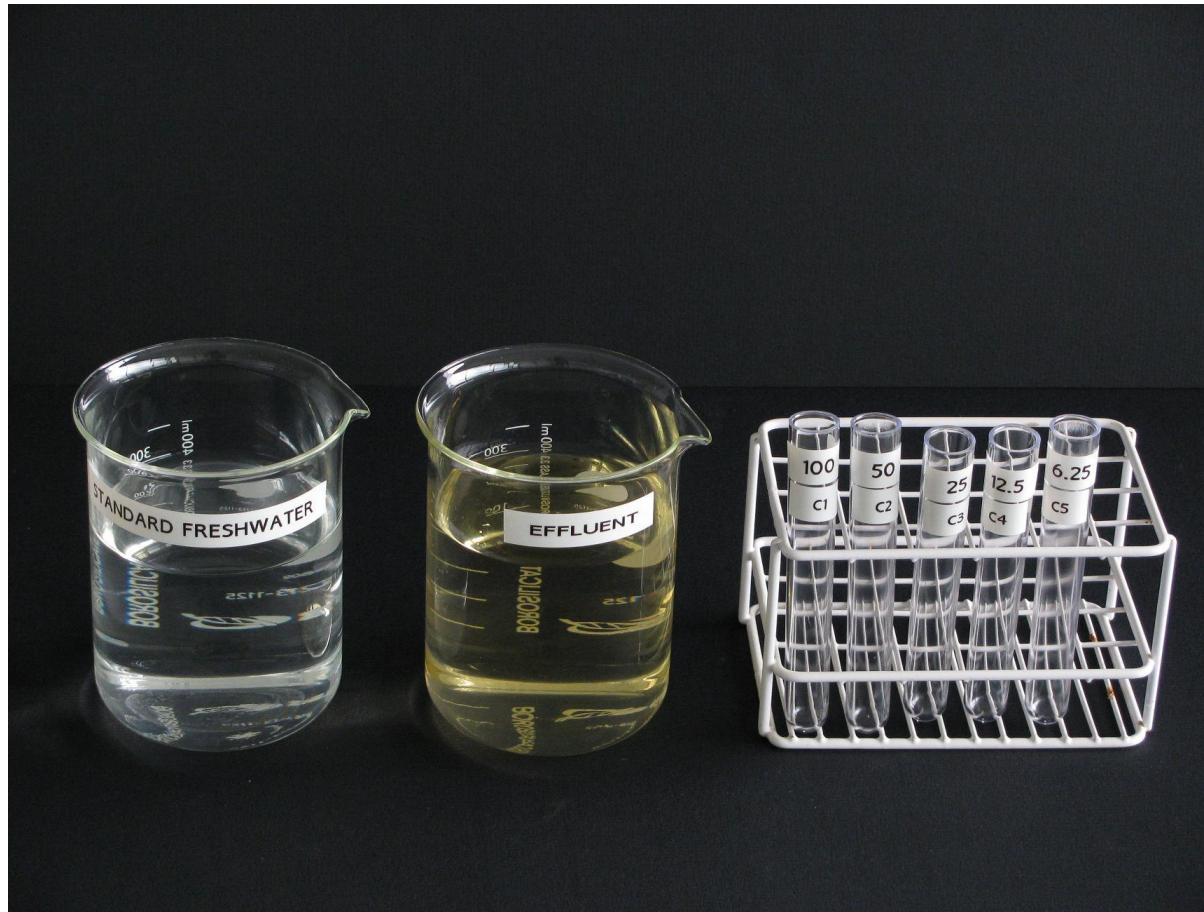
- UPEWNIĆ SIĘ, ŻE WSZYSTKIE CYSTY ZOSTAŁY PRZENIESIONE POPRZECZ WYPŁUKANIE PROBÓWKI POŻYWKĄ DO WYLĘGU
- DODAĆ 10 ML POŻYWKI DO WYLĘGU DO SZALKI DO WYLĘGU I DELIKATNIE ZAMIESZAĆ PRZECZ ZAWIROWANIE W CELU RÓWNOMIERNEGO ROZŁOŻENIA CYST



10

INKUBACJA CYST

INKUBOWAĆ SZALKĘ PETRI'EGO
PRZEZ 20-22 GODZINY W
TEMPERATURZE 25 °C W
CIĄGŁYM OŚWIETLENIU MIN.
3000 – 4 000 LUX



11

PRZYGOTOWANIE ROZCIEŃCZEŃ SUBSTANCJI TOKSYCZNEJ (np. ścieki)

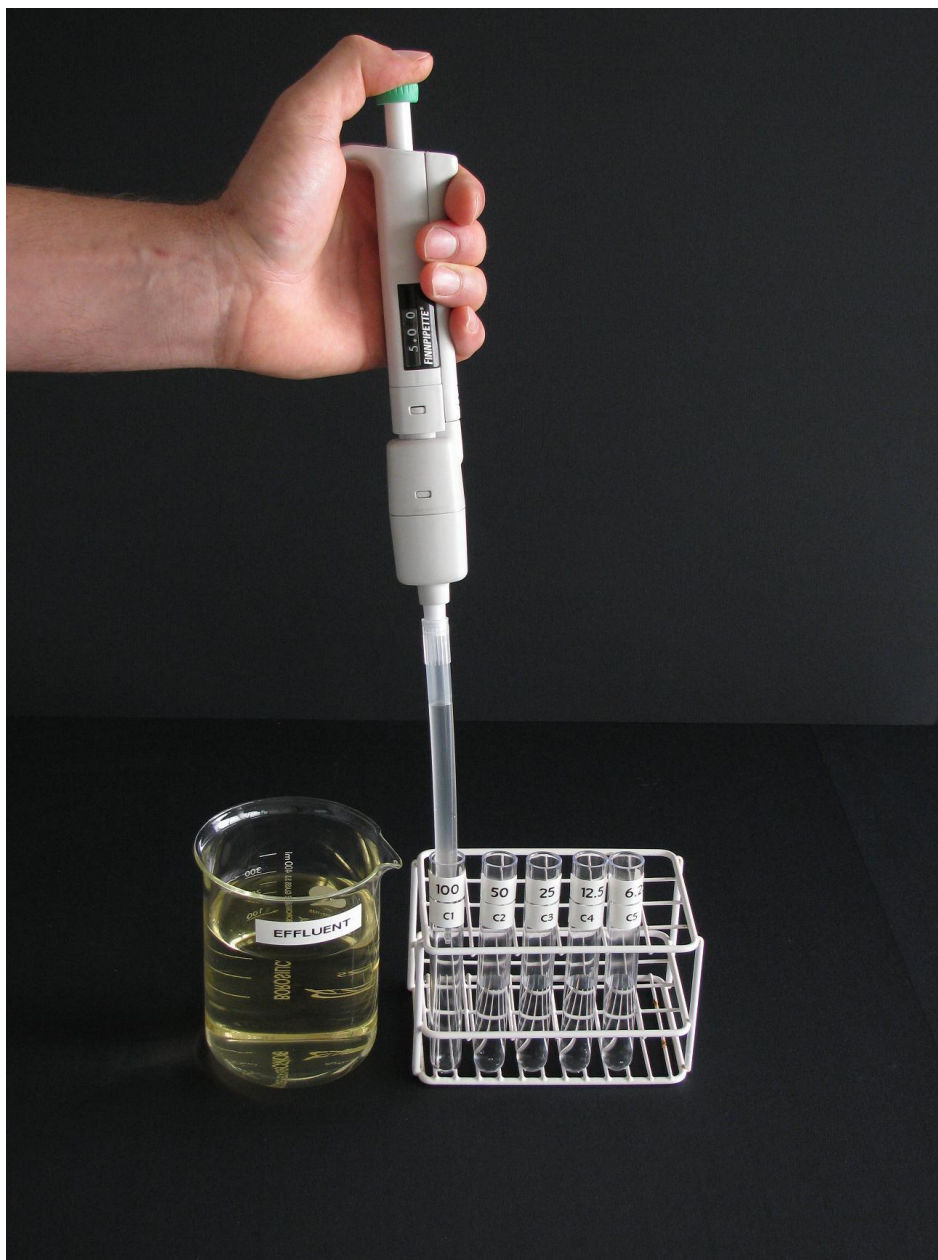
- PRZYGOTOWAĆ 5 PROBÓWEK 10-15 ML I OZNAKOWAĆ JE

C1 (100), **C2** (50), **C3** (25), **C4** (12.5), AND **C5** (6.25)



12

- DODAC 5 ML STANDARDOWEJ POZYWKI DO PROBÓWEK C2, C3, C4, C5



13

DODAC 5 ML PRÓBK I ŚCIEKÓW DO
PROBÓWKI C1 (= 100% próbki)



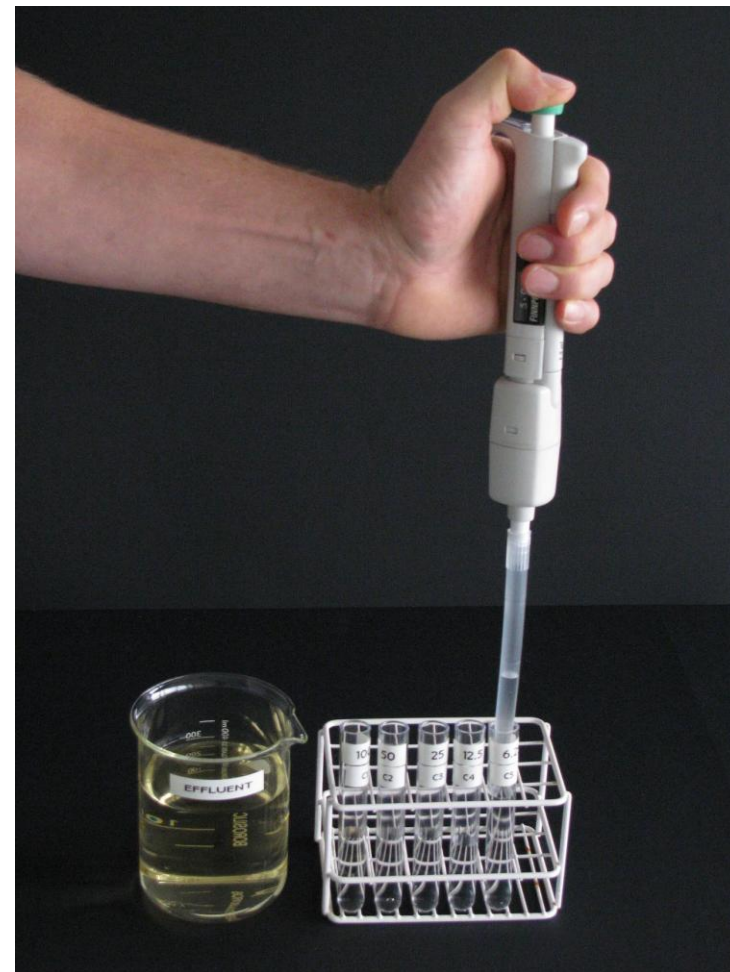
14

- DODAĆ 5 ML ŚCIEKÓW DO PROBÓWKI C2
- WYMIESZAĆ ZAWARTOŚĆ PROBÓWKI C2
(= 50% rozcieńczenie) PRZEZ PIPETOWANIE



15

- PRZENIEŚĆ 5 ML Z PROBÓWKI C2 DO PROBÓWKI C3
- WYMIESZAĆ ZAWARTOŚĆ PROBÓWKI C3 (= 25% rozcieńczenie) PRZEZ PIPETOWANIE



16

POWTÓRZYĆ TE KROKI DLA NASTĘPNYCH ROZCIEŃCZEŃ:

- * 5 ML Z PROBÓWKI C3 DO PROBÓWKI C4 (= 12,5% rozcieńczenie)
- * 5 ML Z PROBÓWKI C4 DO PROBÓWKI C5 (= 6,25% rozcieńczenie)

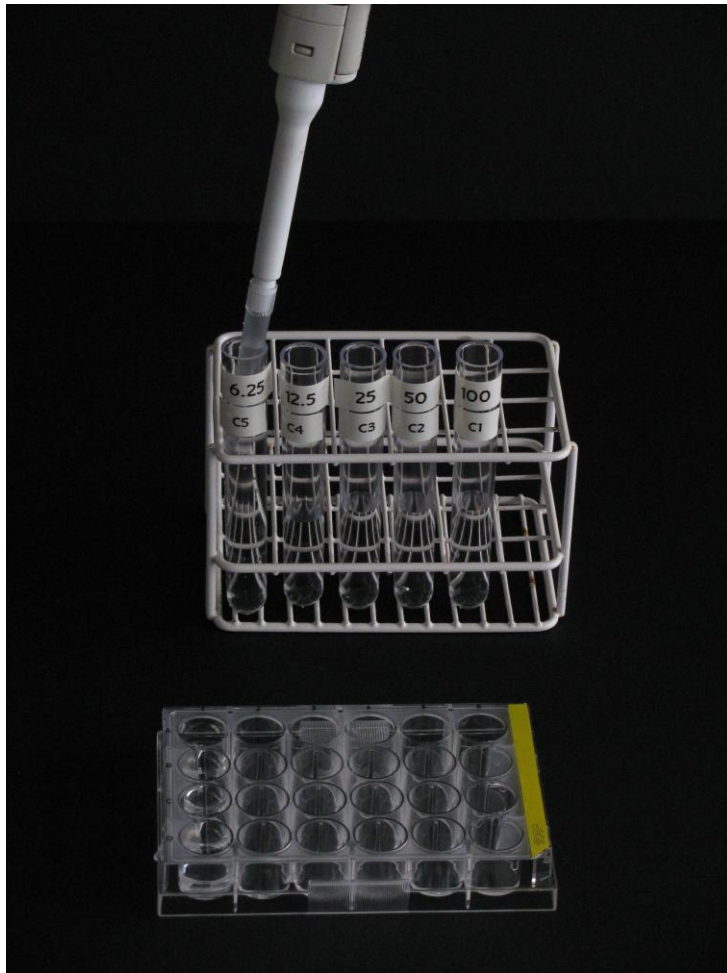


17

NAPEŁNIANIE PŁYTKI TESTOWEJ

KONTROLE

DODACĆ 1 ML STANDARDOWEJ POZYWKI DO KAŻDEGO DOŁKA W KOLUMNIE 1
(DOŁKI A1, B1, C1, D1)



18

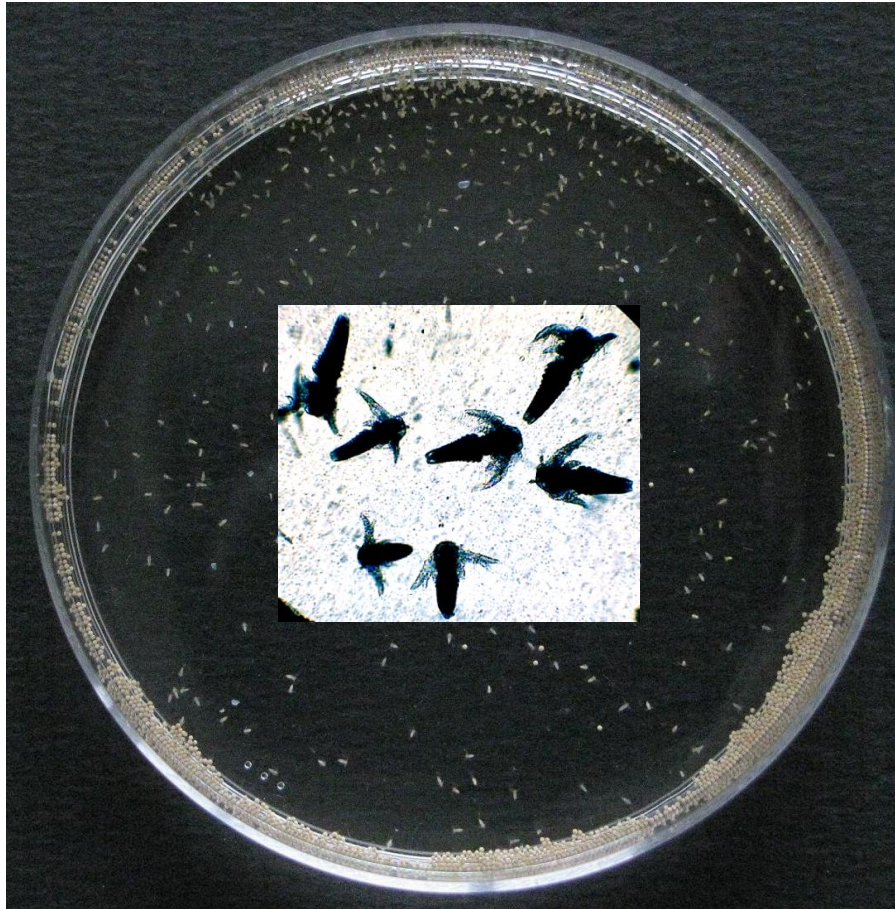
ROZCIĘCZENIA SUBSTANCJI TOKSYCZNYCH

PRZENIEŚĆ 1 ML Z 5 PROBÓWEK TESTOWYCH DO KAŻDEGO DOŁKA W KOLUMNIE 2
(DOŁKI A2, B2, C2, D2)



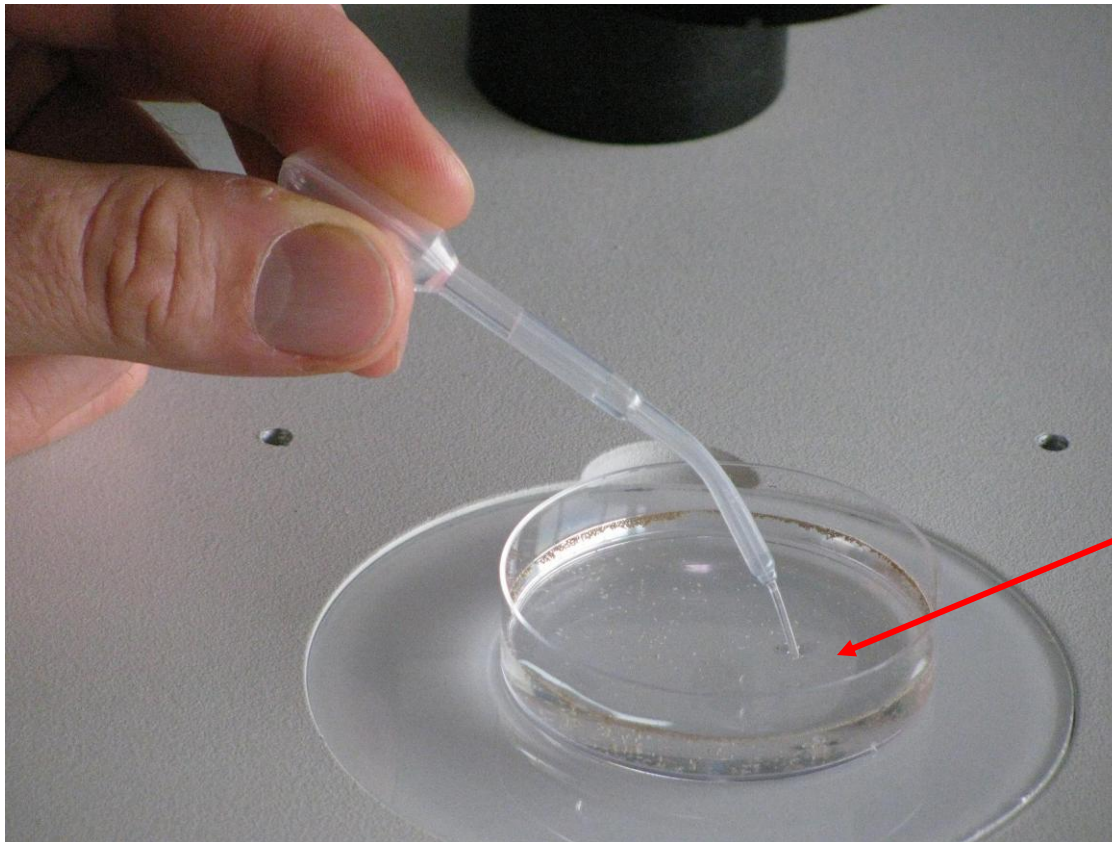
19

POWTÓRZYĆ TĄ PROCEDURĘ Z PROBÓWKAMI 4, 3, 2 I 1 ABY NAPEŁNIĆ DOŁKI W KOLUMNACH 3, 4, 5 I 6 ODPOWIEDNIO



20

**PRZENOSZENIE FORM LARWALNYCH Z SZALKI DO WYLĘGU DO
DOŁKÓW TESTOWYCH**

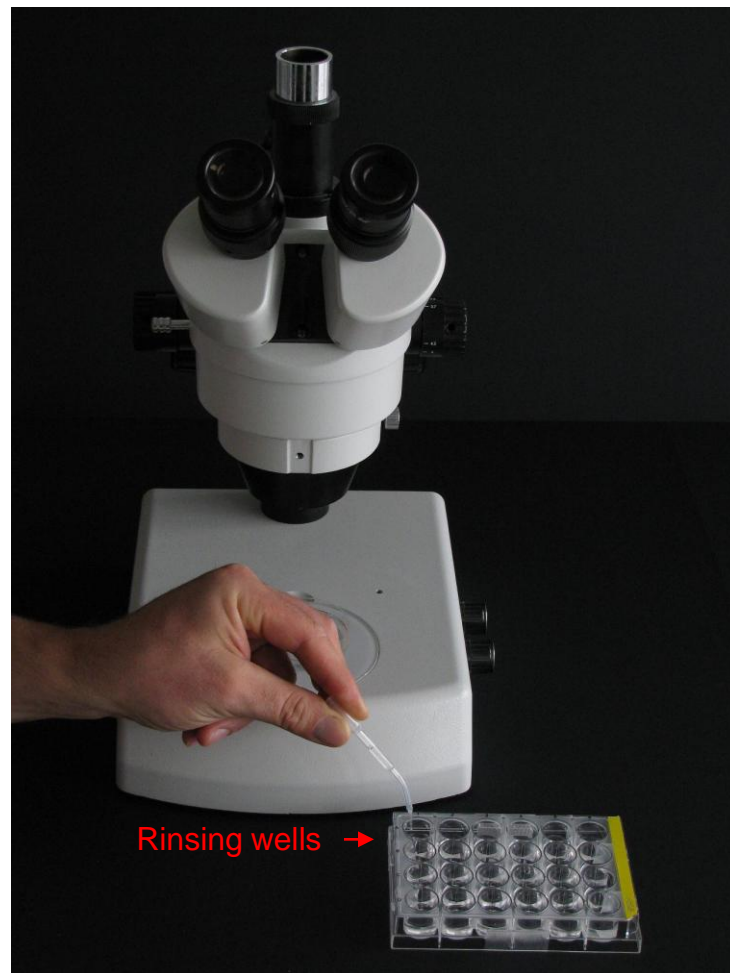


21

- UMIEŚCIĆ SZALKĘ DO WYLĘGU NA STOLIKU MIKROSKOPU
- UCHWYCIĆ MIKROPIPETĘ JAK OŁÓWEK PALCAMI WSKAZUJĄCYM I KCIUKIEM W CELU KONTROLI CIŚNIENIA W ZBIORNICZKU PIPETY
- ŚCISNAĆ ZBIORNICZEK PIPETY DELIKATNIE, ABY ZAPEWNIĆ ODPOWIEDNIE ZASYSANIE W CELU POBRANIA LARW



22



PRZENIEŚĆ OKOŁO 50 LARW Z **SZALKI DO WYLĘGU** DO KAŻDEGO **DOŁKA DO PŁUKANIA** W
NASTĘPUJĄCEJ KOLEJNOŚCI: A1 (kontrola), A2, A3, A4, A5 I A6 (= wzrastające stężenia substancji
toksycznej)



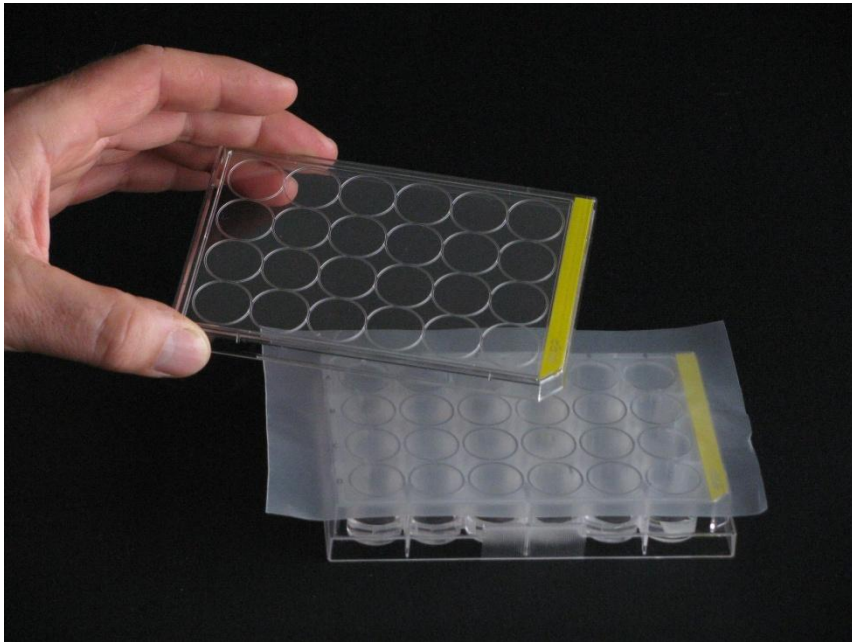
23

- UMIEŚCIĆ PŁYTKĘ WIELODOŁKOWĄ NA STOLIKU MIKROSKOPU
- PRZENIEŚĆ 10 LARW Z DOŁKA DO PŁUKANIA A1 DO 3 POZOSTAŁYCH DOŁKÓW W KOLUMNIE 1 (DOŁKI B1, C1 I C1 = kontrole)



24

POWTARZAĆ PRZENOSZENIE 10 LARW Z
DOŁKÓW DO PŁUKANIA OD A2 DO A6
DO 3 DOŁKÓW W KOLUMNACH OD 2 DO 6
(w tej kolejności, tj. od najniższego do
najwyższego stężenia substancji toksycznej)



25

UMIEŚCIĆ PASEK PARAFILMU NA WIERZCHU PŁYTKI WIELODOŁKOWEJ I POŁOŻYĆ POKRYWKĘ



26

UMIEŚCIĆ PŁYTKĘ WIELODOŁKOWĄ W
INKUBATORZE W 25 °C, W CIEMNOŚCI,
NA 24 GODZINY

27

OBLICZANIE WYNIKU

- UMIEŚCIĆ PŁYTKĘ WIELODOŁKOWĄ NA STOLIKU MIKROSKOPU
- W DOŁKACH RZĘDÓW B, C I D ZLICZYĆ UŚMIERCONE LARWY W KAŻDYM DOŁKU
- ZAPISAĆ WYNIKI NA KARCIE WYNIKU
- OBLICZYĆ 24h LC50 PRZY UŻYCIU ODPOWIEDNIEGO PROGRAMU

