МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ГІРНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

БІОЛОГІЯ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

до виконання лабораторних робіт з дисципліни
студентами напряму підготовки
6.04010601 Екологія та охорона навколишнього
середовища

ЧАСТИНА І

Дніпропетровськ
2011

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ГІРНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

ГІРНИЧИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра екології

БІОЛОГІЯ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

до виконання лабораторних робіт з дисципліни
студентами напряму підготовки
6.04010601 Екологія та охорона навколишнього
середовища

ЧАСТИНА І

Дніпропетровськ
НГУ
2011

Біологія. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни студентами напряму підготовки 6.04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища [Текст] / І.І. Клімкіна, В.В. Федотов. – Д.: Національний гірничий університет, 2011. – 42 с.

Автори:
І.І. Клімкіна, канд. біол. наук, доц. (загальні положення, роботи 1, 5 – 10, 11, 12, 14);
В.В. Федотов, асист. (роботи 2 – 4, 8, 13).

Затверджено методичною комісією напряму підготовки 0708 Екологія (протокол № 4 від 11.04.2011) за поданням кафедри екології (протокол № 10 від 04.04.2011).

У методичних рекомендаціях подано короткі відомості про загальні й окремі закономірності життя у всіх його проявах та на всіх рівнях біологічної організації. Ці рекомендації розкривають основні методологічні напрями біологічних досліджень, які можуть бути застосовані до вирішення таких важливих науково-прикладних завдань сучасності, як охорона довкілля, раціональне використання природних ресурсів, збереження різноманітності біологічних видів, моніторинг навколишнього середовища тощо. В основу першої частини лабораторного практикуму з біології покладено цитологічні методи досліджень. Навички, яких набувають студенти, засвоюючи розглянутий матеріал, можуть бути корисними для діагностики стану довкілля методами біоіндикації в умовах техногенно навантажених ландшафтів, для визначення ступеня біологічної трансформації внаслідок техногенезу, а також при дослідженні адаптивних можливостей живих організмів. Рекомендації адресовано студентам відповідного напряму підготовки.

Відповідальна за випуск завідувач кафедри екології,
д-р біол. наук, проф. А.І. Горова.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Дані методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біологія» призначаються студентам напряму підготовки 6.04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища.

Набуття практичних навичок біологічних досліджень – це необхідна складова підготовки майбутнього фахівця-еколога і наукового дослідника. Саме ці дослідження є базовими для виявлення та усунення негативних наслідків впливу людини на природу, створення умов раціонального використання резервів біосфери, розв`язання питань гармонізації взаємовідносин суспільства і природи.

Методичні рекомендації містять стислий огляд теоретичного матеріалу, перелік відповідних його розділам лабораторних робіт, контрольних завдань, питання для самоконтролю, довідковий матеріал у вигляді схем, рисунків, таблиць, список рекомендованої літератури. Їх метою є практичне закріплення знань з лекційного курсу даної дисципліни.

Проведення лабораторних робіт допоможе студентам в усвідомленні й розробці екологічних підходів до питань збереження довкілля з урахуванням здатності природи до самовідновлення.

Лабораторний практикум з біології для студентів-екологів охоплює 56 аудиторних годин, розподілених порівну між двома семестрами. Дані методичні рекомендації (частина I) розглядають матеріал перших 14 занять.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Тема: **Будова світлового мікроскопа. Виготовлення тимчасових препаратів для мікроскопічного дослідження.**

Мета роботи: Ознайомитись з принципом роботи, будовою, різновидами та правилами експлуатації мікроскопів; засвоїти методику виготовлення тимчасових біологічних препаратів.

Матеріали й обладнання: мікроскопи типу МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні скельця, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода; біологічний матеріал: вегетативні органи рослин (стебло, листок герані, фіалки тощо).

Будова мікроскопа

Світловий (біологічний) мікроскоп – це оптичний прилад, за допомогою якого можна одержати збільшене обернене зображення досліджуваного об'єкта й розглянути дрібні деталі його будови, розміри яких перебувають далеко за межами розрізнювальної здатності людського ока.

Будова й експлуатація світлового мікроскопа досить прості. Однак невправне або неуважне користування приладом може спричинити його псування. Тому необхідно добре засвоїти, з яких частин складається мікроскоп,

знати їхнє призначення та неухильно дотримуватися правил роботи з цим апаратом.

Мікроскоп біологічний робочий МБР-1 (рис. 1, *А).* Мікроскоп цієї марки широко використовується у навчальних, біологічних і медичних лабораторіях. Він дає збільшення від 56 до 1350 разів.

У мікроскопі виділяють дві системи: оптичну й механічну. До оптичної системи відносять об'єктиви, окуляри й освітлювальний пристрій.

Об'єктив – одна з найважливіших частин мікроскопа. За його допомогою одержують збільшене дійсне, але обернене зображення об'єкта й виявляють тонкі деталі його структури. Він визначає *корисне збільшення* об'єкта, тобто таке, при якому можна виявити нові деталі його будови. *Некорисним* вважають збільшення, при якому розміри об'єкта зростають у сотні й більше разів, але при цьому не виявляються нові деталі його будови.

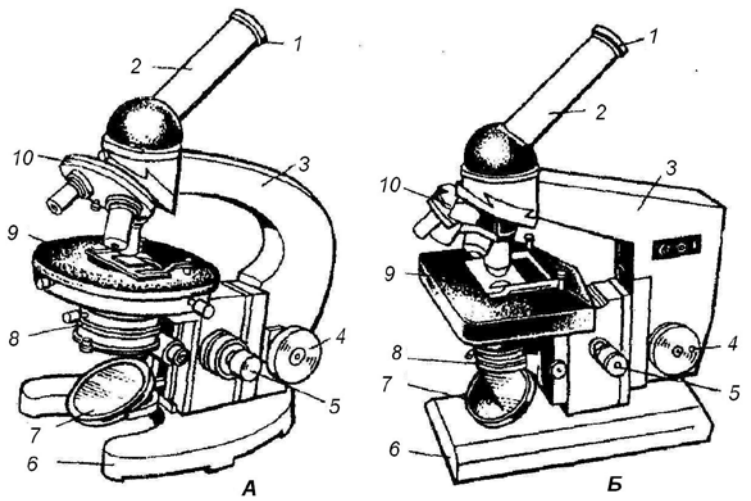

Рис. 1. Світлові мікроскопи:
А – МБР-1; *Б* – «Біолам»: 1 – окуляр, 2 – тубус, 3 – тубусотримач, 4 – гвинт грубого налаштування, 5 – гвинт тонкого налаштування, 6 – підставка, 7 – дзеркало, 8 – конденсор й ірисова діафрагма, 9 – предметний столик, 10 – револьвер з об'єктивами

Об'єктив складається з металевого циліндра та вмонтованих у нього лінз, кількість яких може бути різною. Першу лінзу, повернуту до препарата, називають *фронтальною.* У верхній частині об'єктива є гвинтова нарізь, за допомогою якої його угвинчують у гніздо револьвера. Збільшення об'єктива позначене на ньому цифрами. Мікроскоп МБР-1 укомплектований трьома об'єктивами: х8, х40, х90, мікроскоп «Біолам» – п’ятьма: х10, х20, х40, х60, х90. Для навчальних потреб частіше використають об'єктиви х8 або х10 і х40.

Якість об'єктива визначає його *розрізнювальну здатність.* Так, неозброєним оком людина може розрізнити дві дуже близько розташовані лінії або дві крапки лише в тому випадку, якщо відстань між ними буде не меншою 0,15 мм (150 мкм). Якщо ж ця відстань менша, то дві лінії або дві крапки зливаються в одну, Таким чином, *розрізнювальна* здатність ока людини дорівнює 150 мкм. Природно, чим більша розрізнювальна здатність об'єктива, тим чіткіше видно дрібніші елементи спостережуваного об'єкта. Для об'єктива х8 розрізнювальна здатність дорівнює 1,68 мкм, для об'єктива х40 – 0,52, для об'єктива х90 – 0,27 мкм. Величину розрізнювальної здатності позначено на кожному об'єктиві. На показник розрізнювальної здатності впливає діаметр фронтальної лінзи – чим він менший, тим більша її розрізнювальна здатність.

Варто пам'ятати про необхідність дбайливого та обережного використання об'єктивів. Особливо це стосується об'єктивів великого збільшення, оскільки в них *робоча відстань,* тобто дистанція від покривного скла до фронтальної лінзи, вимірюється десятими частками міліметра. Робоча відстань при застосуванні об'єктива х8 дорівнює 13,8 мм, об'єктива х40 – 0,6, об'єктива х90 – 0,12 мм. Об'єктив малого збільшення передбачає максимальну робочу відстань і найбільше поле зору.

Якість зображення, особливо при використанні об'єктивів значного збільшення, залежить також від товщини предметного й покривного стекол. Нормальна товщина предметного скла 1,2 мм, покривного – 0,17 мм.

Окуляр, подібно до лупи, дає пряме, уявне збільшене зображення спостережуваного об'єкта, створене об'єктивом. Цей засіб не виявляє нових деталей будови, а тому його збільшення *уявне*. Окуляр має простішу будову, ніж об'єктив. Він складається з двох – трьох лінз, умонтованих у металевий циліндр. Між лінзами розташована постійна діафрагма, яка визначає межі поля зору. Нижня лінза фокусує побудоване об'єктивом зображення об'єкта дослідження у площині діафрагми, а верхня служить безпосередньо для спостереження. Здатність окулярів до збільшення позначається на них такими цифрами: х7, х10, х15.

Для визначення *загального збільшення* мікроскопа необхідно помножити збільшення об'єктива на збільшення окуляра (наприклад, 90х10).

Освітлювальний пристрій складається із дзеркала і конденсора, обладнаного ірисовою діафрагмою, що розташовані під предметним столиком. Цей пристрій призначається для освітлення об'єкта пучком світла.

Дзеркало служить для спрямування пучка світла через конденсор та отвір предметного столика на об'єкт. Воно має дві поверхні: плоску й увігнуту. У навчальних лабораторіях з розсіяним освітленням звичайно використають увігнуту поверхню дзеркала. Дзеркало закріплене на штативі таким чином, що воно може обертатися у двох взаємно перпендикулярних площинах.

Конденсор складається із двох – трьох лінз, укладених у металевий циліндр. При підніманні або опусканні його за допомогою спеціального гвинта відповідно конденсується або розсіюється світло, що падає від дзеркала на об'єкт.

Ірисова діафрагма розташована між дзеркалом і конденсором. Вона служить для зміни діаметра світлового потоку, спрямованого дзеркалом через конденсор на об'єкт відповідно до діаметра фронтальної лінзи об'єктива, і складається з тонких металевих пластинок. За допомогою важільця їх можна або з'єднувати, повністю закриваючи нижню лінзу конденсора, або розводити, збільшуючи потік світла.

Механічна система мікроскопа складається з підставки, коробки, обладнаної гвинтом тонкого налаштування, тубусотримача, гвинта грубого налаштування, кронштейна конденсора, гвинта переміщення конденсора, револьвера й предметного столика.

Коробка з механізмом тонкого налаштовування, побудована за принципом взаємодіючих шестерень, прикріплена до підставки нерухомо.

Гвинт тонкого налаштування використовується для незначного (на мікрометри) переміщення тубусотримача, а отже, й об'єктива. Повний оберт мікрогвинта пересуває тубусотримач на 100 мкм, а поворот на одну поділку опускає або піднімає тубусотримач на 2 мкм.

Щоб уникнути псування мікрогвинтового механізму, дозволяється рухати мікрогвинт в один бік *не більше ніж на половину оберта*.

Тубус, або *труба,* являє собою циліндр, у який зверху вставляють окуляр. Тубус рухомо з'єднується з головкою тубусотримача й фіксується стопорним гвинтом у певному положенні. Послабивши стопорний гвинт, тубус можна зняти.

Револьвер призначено для швидкої зміни об'єктивів. Центроване положення об'єктива забезпечує засувка, розташована всередині револьвера.

Тубусотримач служить для кріплення тубуса й револьвера. У сучасних мікроскопах з похилим тубусом тубусотримач рухомо з'єднується з коробкою мікрогвинта за допомогою рейки, оснащеної гребінцевою наріззю, й зубчастим колесом – гвинтом грубого налаштування.

Гвинт грубого налаштовування використовують для значного переміщення тубусотримача, а отже й об'єктива з метою фокусування об'єкта при малому збільшенні.

Предметний столик слугує для розташування на ньому досліджуваного препарата. Посередині столика є круглий отвір, у який входить фронтальна лінза конденсора. У приладі МБР-1 предметний столик круглий, а на ньому розміщено рухомий диск. Його можна обертати навколо осі й пересувати у двох взаємно перпендикулярних напрямках за допомогою двох гвинтів, розташованих праворуч і ліворуч від столика. Такі переміщення дозволяють центрувати потрібні місця досліджуваного об'єкта, що дуже важливо, коли працюють із об'єктивом великого збільшення. Стопорний гвинт дозволяє фіксувати диск у певному положенні. На столику є дві пружні клеми – затискачі, що закріплюють препарат.

Завдання

1. Ознайомитися з будовою біологічного мікроскопа (МБР-1 або «Біолам»). Засвоїти найважливіші правила роботи з мікроскопом.
2. Оволодіти методикою виготовлення тимчасових біологічних препаратів.
3. Вивчити правила замальовування досліджуваних біологічних об’єктів.

Порядок виконання роботи

Правила роботи з біологічними мікроскопами

Для успішного дослідження біологічних об’єктів необхідно послідовно виконати передбачені методикою операції, дотримуючись спеціальних правил роботи з мікроскопом.

1. З мікроскопом працюють тільки сидячи. Висота стільця повинна бути такою, щоб можна було дивитися в окуляр, сидячи прямо, не згинаючись і не підводячись.

2. Відкривають повністю діафрагму, піднімають конденсор у крайнє верхнє положення, щоб його фронтальна лінза перебувала на одному рівні з предметним столиком. Якщо столик не відцентровано, то його пересувають за допомогою гвинтів таким чином, щоб лінза конденсора потрапила в центр отвору столика.

3. Ставлять об'єктив х8 або х10 у робоче положення – на відстань 1 см від предметного столика. Роботу з мікроскопом *завжди починають із малого збільшення.*

4. Дивлячись лівим оком в окуляр і користуючись увігнутим дзеркалом, направляють світло від вікна (але не пряме сонячне) або від електричної лампи (якщо вона не матова, то в кільце під конденсором вкладають матове скло) в об'єктив та максимально й рівномірно висвітлюють поле зору.

5. Кладуть препарат на предметний столик так, щоб досліджуваний об'єкт перебував під об'єктивом, і, *дивлячись збоку,* опускають об'єктив за допомогою гвинта грубого наведення до тих пір, поки відстань між фронтальною лінзою об'єктива й препаратом не стане 4 – 5 мм.

6. Дивлячись лівим оком в окуляр і обертаючи гвинт грубого налаштування на себе, *плавно піднімають* об'єктив до положення, при якому добре видно зображення об'єкта. Пересуваючи препарат рукою, знаходять потрібне місце, розташовують його в центрі поля зору й закріплюють препарат клемами.

Не можна дивитися в окуляр і опускати об'єктив, обертаючи гвинт грубого налаштування від себе, бо при цьому фронтальна лінза може роздавити покривне скельце й на ній з'являться подряпини.

7. Для більшої чіткості зображення необхідно зіставити діаметри пучка світла, що потрапляє в об'єктив, і фронтальної лінзи об'єктива. З цією метою виймають окуляр і, дивлячись у тубус, повільно закривають отвір діафрагми доти, поки її краї не з'являться на межі вихідної зіниці об'єктива.

При занадто сильному освітленні збільшують контрастність зображення, опускаючи конденсор.

8. Для вивчення якої-небудь ділянки об'єкта при *великому збільшенні* переміщують її в центр поля зору, *рухаючи препарат рукою.* Після цього повертають револьвер так, щоб об'єктив х40 перейшов у робоче положення *(об'єктив не піднімати!).* За допомогою *мікрогвинта* отримують чітке зображення об'єкта. На коробці мікрогвинтового механізму є дві риски, а на мікрогвинті – помітка у вигляді крапки. Вона має бути між рисками. Якщо крапка виходить за межі рисок, то її необхідно встановити в нормальне положення.

При недотриманні цього правила мікрогвинт може припинити свою дію. Тоді його повертають у нормальне положення, прокрутивши в протилежний бік.

9. Для великого збільшення препарат можна рухати, *тільки переміщаючи столик* мікроскопа.

10. Після закінчення дослідження з великим збільшенням повертають револьвер, встановлюють мале збільшення і знімають препарат. *Не можна виймати препарат з-під об'єктива х40,* оскільки його робоча відстань дорівнює 0,6 мм, а тому переміщуючи скло, можна легко зіпсувати фронтальну лінзу.

Догляд за мікроскопом

Тільки при дотриманні правил роботи з мікроскопом він буде добре працювати багато років. Особливо ретельно стежать за чистотою оптичної частини: об'єктивів, окулярів, конденсора, дзеркала. Пил з них змахують спеціальною щіточкою, що входить у комплектацію приладу, а потім протирають чистою бавовняною ганчірочкою, яку зберігають у закритому місці.

Зовсім недопустимо протирати лінзи пальцями, випадковими клаптиками паперу або ганчірками.

Під час роботи лінзи оберігають від механічних ушкоджень і контакту з рідинами, особливо кислотами, реактивами й барвниками, що застосовуються для виготовлення біологічних препаратів.

Якщо рухи механічних частин мікроскопа вимагають певних зусиль, необхідно з'ясувати причину неполадки й усунути її.

Закінчивши роботу, чистою ганчіркою протирають усі частини мікроскопа, накривають його поліетиленовим мішком і ставлять у шафу. Переносять мікроскоп двома руками: однією утримують тубусотримач, другою – підставку.

Виготовлення тимчасових біологічних препаратів

При виготовленні *тимчасових* препаратів досліджуваний об'єкт поміщають на предметне скло в краплю води або гліцерину, розчину реактиву або барвника й накривають покривним скельцем. Такий препарат зберігають не більше місяця.

Препарати, які можна зберігати більш тривалий термін, називають *постійними.*

Окремі органи рослин, наприклад спори, листки деяких видів та інше, можна розглядати за допомогою біологічного мікроскопа цілими, без попереднього виготовлення зрізів. Однак число об'єктів, які можна вивчати таким чином, невелике. Частіше доводиться робити зрізи органів, які підлягають дослідженню. Їх виготовляють зі свіжих або фіксованих у спирті чи формаліні елементів рослин.

Тимчасові препарати готують, дотримуючись такої послідовності операцій:

1) миють і ретельно витирають предметне й покривне стекла. Щоб не зламати дуже тендітне покривне скло, його обполіскують у воді, розміщують у

складці рушника між великим і вказівним пальцями правої руки й обережно витирають круговими рухами пальців;

2) наносять на предметне скло краплю рідини (вода, гліцерин, розчин реактиву або барвника);

3) роблять зріз досліджуваного органа за допомогою леза або скальпеля;

4) вибравши найтонший зріз, кладуть його на предметне скло в краплю рідини;

5) закривають зріз покривним склом так, щоб під нього не потрапило повітря, для чого беруть його двома пальцями за грані, наближують нижню грань до краю краплі рідини й плавно опускають;

6) якщо рідини багато й вона виливається з-під покривного скельця, надлишок її видаляють шматочком фільтрувального паперу, а коли під покривним скельцем залишилися заповнені повітрям місця, то додають рідину, помістивши її краплю поруч із краєм скельця.

Замальовування біологічного об’єкта

Після вивчення мікроскопічної будови об'єктів їх замальовують. Рисунок виконують від руки. *Детальний* рисунок повинен бути гранично точним, чітким, але без випадкових подробиць. Засобами зображення можуть бути тільки лінії й крапки. Виконують рисунок простим олівцем середньої м'якості. За манерою зображення він нагадує креслярський ескіз.

Рисунок необхідно зробити такої величини, щоб на ньому можна було показати всі необхідні деталі. Пропорції між загальним розміром рисунка і розміром його деталей мають бути збережені. Рисунок постачають пояснювальними написами (рис. 2).

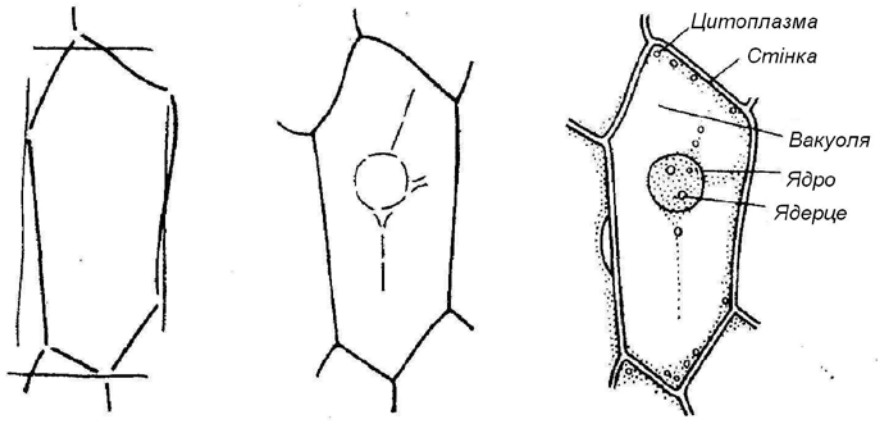

Рис. 2. Послідовні етапи побудови рисунка біологічного об’єкта

При вивченні мікроскопічної будови органів рослин великого значення набуває вміння виконувати *схематичний* рисунок. На ньому елементи тканин наносять у вигляді умовних позначок, без вимальовування окремих клітин. При цьому неухильно дотримуються пропорцій між розмірами окремих тканин. Схема може бути деталізована рисунками невеликих фрагментів тканини.

Рисунок – це не тільки звітний матеріал про виконану роботу, але й метод дослідження. У процесі замальовування препарат аналізують більш уважно й докладно. Завдання студента полягає в тому, щоб навчитися розрізняти деталі будови об’єкта, постійно порівнювати їх між собою.

Контрольні питання

1. У чому полягає принцип роботи світлового мікроскопа?
2. Які існують різновиди мікроскопів?
2. Що являє собою розрізнювальна здатність мікроскопа?
4. Від яких частин оптичної системи залежить виявлення дрібних деталей структури об'єкта (корисне збільшення)?
5. Яка межа розрізнювальної здатності мікроскопа МБР-1?
6. Чи змінюється робоча відстань при зміні об'єктивів у мікроскопі?
7. Як правильно належить дивитися в окуляр мікроскопа?
8. Чому не можна, дивлячись в окуляр мікроскопа, обертати гвинт грубого налаштовування від себе (опускати об'єктив)?
9. Як можна перейти від малого збільшення мікроскопа до великого?
10. За яких умов та з якою метою і яким чином використовують мікрогвинт у мікроскопі?
11. Яким чином готують мікроскоп до зберігання після закінчення роботи?
12. Для чого потрібне покривне скельце при мікроскопічному дослідженні біооб’єктів?
13. Чому предметні й покривні стекла для мікроскопічного дослідження обов'язково повинні бути певної товщини?
14. Чи можна постійний біологічний препарат класти на предметний столик мікроскопа покривним склом униз?
15. Чим відрізняється тимчасовий біологічний препарат від постійного?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

Тема: **Вивчення будови рослинної клітини.**

Мета роботи: Ознайомитись із будовою клітин еукаріотів; вивчити основні особливості будови рослинної клітини на прикладі клітин епідерми соковитої луски цибулі; відзначити основні відмінності в будові рослинних і тваринних клітин.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні скельця, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI); біологічний матеріал: соковита луска цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*).

Клітина (*cellula*, *cytus*) – основна структурно-функціональна одиниця всіх живих організмів, елементарна жива система; що може існувати як окремий організм (бактерії, найпростіші, водорості, гриби) або в складі тканин

багатоклітинних тварин, рослин, грибів. Лише віруси являють собою позаклітинні форми життя (акаріоти).

Вміст клітин являє собою протоплазму. У кожній клітині наявний генетичний апарат. У клітинах еукаріотів він міститься в ядрі, відділеному мембраною від цитоплазми, а в клітинах прокаріотів, позбавлених оформленого ядра, – у нуклеоїді (нуклеарній зоні). Клітини еукаріотів здатні до самовідтворення шляхом мітозу; статеві клітини утворюються внаслідок мейозу.

Розміри клітин варіюються від 0,1 мкм (деякі бактерії) до 155 мм (яйце страуса в шкаралупі); діаметр більшості еукаріотичних клітин перебуває в межах 10 – 100 мкм. Численні функції клітин здійснюються за допомогою спеціалізованих внутрішньоклітинних структур – органел. Універсальними органелами еукаріотичних клітин у ядрі виступають хромосоми, у цитоплазмі – рибосоми, мітохондрії, ендоплазматична мережа, комплекс Гольджі, лізосоми, клітинна мембрана. У багатьох клітинах присутні також мембранні структури, що сприяють підтриманню форми клітини, це мікротрубочки, мікрофіламенти та ін.

Клітини рослин поверх клітинної мембрани, як правило, покриті твердою клітинною стінкою. Стінка має пори, через які за допомогою виростів цитоплазми сусідні клітини з'єднуються одна з одною. Крім того, рослинні клітини містять пластиди й велику вакуолю, яка в зрілих клітинах займає центральне положення.

Зручним об’єктом для вивчення будови рослинної клітини є епідерма соковитої луски цибулі ріпчастої.

Цибуля ріпчаста (*Allium cepa L.*) – це дво- або трирічна однодольна трав'яниста рослина сімейства цибулевих, у якої відкриті соковиті луски розміщуються концентричнми шарами.

Від моменту дозрівання цибулини протягом усього зимового періоду, коли воно зберігається, соковиті луски поступово відмирають і підсихають. Поживні речовини з них переводяться рослинами всередину цибулини і витрачаються на зріст молодих бруньок-зачатків. У міру витрати поживних речовин верхні соковиті луски стають усе тоншими і врешті-решт перетворюються на сухі. Зріла цибулина являє собою живу рослину, що перебуває в стані спокою. Ця здатність переходити в стан спокою за несприятливих зовнішніх умов – дуже цінна природна особливість даної рослини.

Завдання

1. Виготовити тимчасовий біологічний препарат епідерми соковитої луски цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*).

2. Виявити й розглянути при малому збільшенні ділянку епідерми, яка складається з одного шару клітин та має добре помітні ядра.

3. Вивчити будову клітини при великому збільшенні спочатку в краплі води, а потім у розчині йоду в йодиді калію.

4. Замалювати одну – дві клітини препарату й позначити їхні основні частини.

Порядок виконання роботи

Виготовлення тимчасового препарату

Щоб виготовити препарат, пінцетом або препарувальною голкою знімають епідерму з увігнутої поверхні соковитої луски цибулі ріпчастої (рис. 3, *А*), поміщають її в краплю води на предметне скло зовнішнім боком догори й накривають покривним скельцем. Епідерма з увігнутої сторони луски має у своєму складі дуже великі клітини, які зазвичай не входять у поле зору мікроскопа при великому збільшенні.

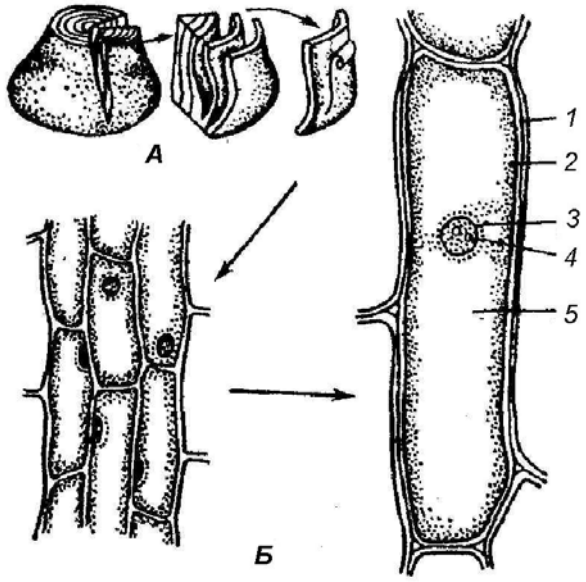

Рис. 3. Епідерма соковитої луски цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*): *А* – зняття епідерми; *Б* – клітини епідерми соковитої луски (праворуч – при великому збільшенні, ліворуч – при малому): 1 – стінка клітини, 2 – цитоплазма, 3 – ядро, 4 – ядерце, 5 – вакуоля

Пересуваючи препарат, при малому збільшенні знаходять ділянку з одного шару клітин, де добре помітні ядра й цитоплазма. Вибрану ділянку об'єкта поміщають у центр поля зору й вивчають уже при великому збільшенні. На препараті, поміщеному в краплю води, добре видно світлі *стінки клітин*, у яких іноді помітні непотовщені місця – *пори.* Усередині кожної клітини в безбарвній зернистій цитоплазмі можна спостерігати *ядро* з одним – двома *ядерцями.* У більш молодих клітинах ядро перебуває в центральній частині, воно оточене цитоплазмою, що розходиться тяжами до стінок. Між тяжами цитоплазми розташовані *вакуолі,* заповнені *клітинним соком.* У зрілих клітинах ядро лежить у пристінному шарі цитоплазми, а всю центральну частину займає велика вакуоля (рис. 3, *Б*).

Після закінчення спостережень будови клітин соковитої луски цибулі в краплі води необхідно зафарбувати препарат. Реакцію проводять, не знімаючи препарат зі столика мікроскопа. Для цього сухою скляною паличкою беруть невелику краплю реактиву I_2/KI й наносять її на предметне скло біля правого

краю покривного скельця, а з лівого боку кладуть фільтрувальний папір. Папір усмоктує воду з-під покривного скла, а на її місце проникає реактив. Унаслідок реакції білки цитоплазми забарвлюються в жовтий колір, а білки ядра – у темно-жовтий. Вакуолі являють собою більш світлі плями. Стінки клітин залишаються безбарвними.

Вивчивши будову клітин, необхідно замалювати одну – дві з них, дотримуючись пропорцій у розмірах елементів і зробити позначення: стінка клітини, цитоплазма, вакуолі, ядро, ядерце.

Контрольні питання

1. Які органели становлять субмікроскопічну структуру цитоплазми і ядра клітини?
2. Які компоненти клітини можна розглянути через світловий мікроскоп?
3. Як побудована цитоплазматична мембрана рослинної і тваринної клітин?
4. Назвіть особливості будови клітинної стінки рослинної клітини.
5. Які органели клітини покриті однією мембраною, які – двома?
6. Яким чином здійснюється зв'язок між клітинами?
7. У яких органелах клітини відбувається утворення АТФ?
8. У яких органелах клітини відбувається синтез ДНК, іРНК, білків?
9. У яких двох станах можуть перебувати хромосоми в клітині?
10. Яка різниця між гаплоїдним й диплоїдним наборами хромосом у клітинах?
11. Яким чином здійснюється зв'язок між ядром і цитоплазмою в клітині?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

***Тема*: Спостереження руху цитоплазми у живих рослинних і тваринних клітинах.**

Мета роботи: Дослідити рух цитоплазми в рослинних і тваринних клітинах; поглибити знання про подразливість живих організмів.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, піпетка, термометр, дистильована вода, порошкоподібний кармін; біологічний матеріал: пагони елодеї канадської (*Elodea canadensis Michx.*) і листки валіснерії спіральної (*Vallisneria spiralis*), листки традесканції віргінської (*Tradescantia virginiana L.*, 1753), культура інфузорії-туфельки (*Paramecium Caudatum*).

Невід'ємною ознакою життя є рух, зумовлений подразливістю і чутливістю живої речовини. Подразливість властива всім організмам – від найпростіших до людини. Подразливість живих клітин зумовлює також і цитоплазматичний рух.

Розрізняють рух цитоплазми *струмочковий* і *коловий*, або *обертальний*. При першому – цитоплазма рухається у клітині окремими струмочками в різних напрямках; при другому – її переміщення відбувається в пристінному шарі клітини в одному напрямку. Рух цитоплазми дуже повільний, а тому під мікроскопом непомітний. Лише в клітинах деяких рослин і тварин він доступний для спостереження.

Дуже зручним об'єктом для вивчення *колового* руху цитоплазми є листки елодеї канадської. Вони тоненькі, прозорі, складаються лише з двох шарів клітин. Про рух цитоплазми в клітинах елодеї можна судити з переміщення зелених хлоропластів, що підхоплюються течією. Крім елодеї, для цієї мети можна використати валіснерію спіральну. Але в неї листки товщі, ніж в елодеї, тому слід брати шматочки молодих частин листка і готувати препарат звичайним способом.

Струмочковий рух цитоплазми зручно спостерігати у волосках тичинок традесканції віргінської. Волоски мають у своєму складі один ряд клітин з фіолетовим соком. Рух дрібних безбарвних зерняток (лейкопластів) показує напрямок струмочків цитоплазми.

Для спостереження руху цитоплазми в тваринній клітині найзручнішим об'єктом є інфузорія-туфелька, у тілі якої добре видно переміщення травних вакуоль.

Слід зауважити, що вищезазначені вищі водні рослини – елодея канадська та валіснерія спіральна, широко застосовуються як біоіндикатори для виявлення антропогенного забруднення водного середовища, а також при розробці токсикологічних нормативів.

Завдання

1. Приготувати тимчасовий препарат живої інфузорії-туфельки і розглянути рух цитоплазми в її тілі.
2. Розглянути рух цитоплазми в клітинах листка елодеї канадської і валіснерії спіральної, взятих з води кімнатної температури.
3. Дослідити рух цитоплазми в клітинах листка елодеї канадської і валіснерії спіральної на механічне, температурне й хімічне подразнення.

Порядок виконання роботи

Отримання культури з інфузоріями-туфельками

Культури інфузорії-туфельки заготовлюють за 2 – 3 тижні до лабораторного заняття. Щоб одержати культури туфельки на сінному відварі, близько 10 г сухого сіна кип'ятять півгодини у півлітровій колбі. Буру рідину розливають у 2 – 3 банки й розбавляють водою до кольору рідкого чаю. Через 3 – 4 дні на поверхні настою утворюється тонка плівка сінних бактерій, які є найкращим поживним середовищем для туфельки. В отримане культурне середовище піпеткою вносять із старого акваріума або з банки із ставковою

водою туфельок. Через 6 – 8 днів культура кишітиме цими організмами. Швидкість розвитку сінних бактерій залежить від температури приміщення. При звичайній кімнатній температурі культура буде насичена туфельками вже через 15 – 20 днів.

Виготовлення препарату з інфузоріями-туфельками

За 20 хвилин до спостереження в чашечку з культурою інфузорії-туфельки додають порошкоподібний кармін або синю туш. Це дозволить полегшити спостереження руху травних вакуоль у тілі організмів.

Краплю культури з туфельками наносять на предметне скло і накривають покривним скельцем таким чином, щоб усередині препарату не залишилось бульбашок повітря. Воду, що виступила на краях покривного скельця, вибирають смужкою фільтрувального паперу. Виготовлений препарат розглядають спочатку при малому збільшенні мікроскопа. У полі зору видно туфельки, які швидко рухаються у всіх напрямках. Стежачи за переміщенням окремої туфельки, можна помітити заглибину на боці її тіла, в якій міститься ротовий отвір. Щоб розглянути рух травних вакуоль у тілі туфельки, треба перевести мікроскоп на велике збільшення. Перед цим слід відтягнути фільтрувальним папером воду з-під покривного скельця, щоб воно притискувало туфельки і тим самим уповільнювало їх рух.

В інфузорії-туфельки спостерігається поділ цитоплазми на шари. Основна її маса – зерниста ендоплазма, яка перебуває в стані постійного колового руху (циклозу).

Поверхневий шар цитоплазми являє собою еластичну оболонку, або пелікулу. Травна вакуоля, що не має власної мембрани, формується із заковтнутих частинок поживи. Підхоплена циклозом ендоплазми, вона рухається по тілу туфельки, здійснюючи велике коло (іноді додатково й мале). Спочатку прямує до заднього, трохи витягненого й загостреного кінця тіла, потім повертає і по його спинній стороні рухається вперед, біля закругленого переднього кінця знову повертає і переміщується по черевній стороні.

Коли поживи достатньо, то після відокремлення однієї вакуолі в клітині формується друга і т. д. Часто можна бачити, як у тілі туфельки циркулює кілька травних вакуоль. Для спостереження цього процесу, який свідчить про циркуляцію цитоплазми, не треба багато часу. У звичайних умовах вакуолі утворюються приблизно протягом 1 хв.

Виготовлення препарату клітин елодеї канадської та валіснерії спіральної

Пінцетом необхідно відірвати від пагона елодеї свіжий зелений листок і перенести його на предметне скло в краплю води (листок має лежати своїм морфологічно верхнім боком догори), накрити чистим покривним скельцем. Щоб у препарат не потрапили бульбашки повітря, слід злегка натиснути на

скельце. Листок має лежати під склом в одній площині. Так само готують препарат з листка валіснерії.

При малому збільшенні мікроскопа листок елодеї має вигляд великої зеленої пластинки, яка складається з прямокутних клітин, трохи витягнутих у напрямку поздовжньої осі листка. Посередині пластинки проходить жилка вужчих видовжених клітин з блідо-зеленим вмістом. Уздовж країв пластинки видно також видовжені вузькі блідо-зелені клітини.

Для спостереження руху цитоплазми треба знайти паренхімні клітини, помістити їх у центр поля зору мікроскопа й перевести його на велике збільшення. Слід мати на увазі, що рух цитоплазми може початися через деякий час після виготовлення препарату, тому спостерігати треба протягом 5 – 7 хв.

Дослідження руху цитоплазми внаслідок дії підвищеної температури й хімічних подразників

Щоб дослідити вплив підвищеної температури й хімічних подразників на рух цитоплазми в клітинах, треба за 3 – 4 години до спостережень покласти пагіни елодеї канадської і листки валіснерії спіральної в дві посудини з водою кімнатної температури. Потім одну посудину нагріти до 37 ° С й освітлювати електричною лампою, а в другу додати етиловий спирт (5 – 6 крапель на склянку води).

Необхідно приготувати три препарати на одному предметному склі:

1) препарат листка елодеї (валіснерії), проколотий препарувальною голкою, в краплі води;

2) препарат листка елодеї (валіснерії), витриманий при підвищеній температурі (37 ° С) й освітлений лампою;

3) препарат листка елодеї (валіснерії) в краплі води з додаванням спирту.

Препарати, розміщені на предметному склі, досліджують по черзі під мікроскопом при великому збільшенні, пересуваючи предметне скло. Спостереження порівнюють з контрольним препаратом (листок елодеї (валіснерії), поміщений у воду кімнатної температури), на якому рух цитоплазми, зазвичай, непомітний. Це пояснюється тим, що рослини перебувають у стані спокою.

На препараті, приготованому із наколеного голкою листка, добре помітний коловий рух цитоплазми. Сильна механічна дія порушує стан спокою клітин. При великому збільшенні мікроскопа видно, як рухаються підхоплені течією цитоплазми хлорофілові зерна. Вони прямують уздовж стінок, зокрема з повздовжньої переходять на поперечну, потім знову на повздовжню і т. д. В одних клітинах цитоплазма описує коло в одному напрямку, а в інших – у протилежному.

Рух цитоплазми в клітинах також спостерігають у досліді з використанням хімічного подразника і середовища з підвищеною температурою.

Оформлення результатів спостережень

У робочому зошиті замальовують інфузорію-туфельку, клітину елодеї канадської та валіснерії спіральної, позначаючи стрілками рух цитоплазми в них.

Узагальнюючи матеріал, необхідно зробити висновок про те, що подразливість є невід'ємною властивістю життя. Щоб установити, чи живий організм, насамперед перевіряють наявність його реакції на подразнення. На конкретних прикладах руху цитоплазми в клітинах інфузорії-туфельок, елодеї та валіснерії роблять висновок, що рухи також є основною властивістю всіх живих організмів. Завдяки рухові й подразливості організми пристосовуються до мінливих умов життя, перебувають у постійному зв'язку з навколишнім середовищем.

Контрольні питання

1. Назвіть основні властивості життя.
2. Які бувають типи цитоплазматичного руху в клітинах живих організмів?
3. Яким чином змінюється здатність цитоплазми до руху в разі механічного, температурного і хімічного подразнення клітини?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

Тема: **Вивчення процесу осмосу в рослинних клітинах.**

Мета роботи: Ознайомитись з основними механізмами переміщення поживних речовин і води через плазматичну мембрану; дослідити явище осмосу, плазмолізу й тургору в рослинних клітинах.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин сахарози – 1 М; біологічний матеріал: соковита луска цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*).

Осморегуляція – це механізм, за допомогою якого рослини й тварини підтримують постійність концентрацій розчинених речовин у рідинах внутрішнього середовища. Рідини живих організмів поділяються на внутрішньоклітинні й позаклітинні. Наприклад, рослинна рідина, яка перебуває у вакуолях клітин, є внутрішньоклітинною, а та, що оточує клітини кори стебла або кореня, – позаклітинною. У багатоклітинних тварин внутрішньоклітинна рідина розподілена досить рівномірно, а позаклітинна являє собою плазму крові й тканинну рідину.

Для нормальної метаболічної активності клітин дуже важливо, щоб склад перелічених рідин залишався постійним. Слово «осморегуляція» означає не просто підтримання водного балансу в організмі, а й регуляцію складу рідких середовищ організму, які у всіх випадках являють собою розчини різної

концентрації. Тканини рослин містять більше води, ніж тканини тварин, тому функціонування рослинної клітини, як і всієї рослини в цілому, залежить від того, наскільки стійкі параметри навколишнього середовища.

Щоб зрозуміти, яким чином підтримується водний режим рослин, потрібно насамперед розібратися в таких фізичних процесах як осмос і дифузія. Як відомо, процес поширення частинок речовини в певному середовищі за рахунок теплового руху, що зумовлює вирівнювання їхньої концентрації, називається *дифузією*.

Осмос являє собою процес переміщення молекул води через плазматичну мембрану проти градієнта концентрації. Якщо клітина перебуває в контакті з *гіпертонічним* розчином, тобто більш концентрованим, ніж власний вміст клітини, то вода починає виходити з неї шляхом осмосу через плазматичну мембрану. Спочатку вода виходить з цитоплазми, а потім – з вакуолі й тонопласта. Протопласт, тобто живий вміст клітини, оточений клітинною стінкою, зморщується й зрештою відстає від клітинної стінки. Такий процес називається плазмолізом, а про подібну клітину кажуть, що вона *плазмолізована***.** При плазмолізі протопласт перестає тиснути на клітинну стінку й клітина стає в'ялою. Вода виходить із протопласта доти, поки його вміст не набуває тієї самої концентрації, що й навколишній розчин. Після цього клітина перестає зморщуватися далі.

Процес плазмолізу може бути зворотним, якщо клітина не зазнає якихось стійких ушкоджень. Якщо плазмолізовану клітину помістити в чисту воду або розчин з більш низькою концентрацією (тобто *гіпотонічний*), вода починає надходити в клітину шляхом осмосу. В міру того як збільшується об'єм тонопласта, він починає давити на клітинну стінку й розтягує її. Клітинна стінка досить тверда, тому тиск усередині клітини зростає дуже швидко. Тиск з боку протопласта на клітинну стінку, називається *тургорним*. При поступовому збільшенні тургорного тиску, коли вода надходить у клітину за рахунок осмосу, вона стає *тургоресцентною*.

Тургорний тиск – не потенційний, а реальний, і можливий він тільки за наявності клітинної стінки. У тваринних клітинах немає клітинних стінок, а плазматичні мембрани занадто ніжні, щоб захистити клітину від набрякання й розриву під дією розчину більш високої концентрації (*гіпертонічного*).

Завдання

1. Дослідити явище осмосу й плазмолізу в рослинних клітинах.
2. Простежити динаміку розвитку плазмолізу і деплазмолізу.
3. Дослідити здатність рослинних клітин до тургору.

Порядок виконання роботи

Приготувати препарат епідерми соковитої луски цибулі ріпчастої, як це описано в роботі № 2. Розглянути спочатку препарат, поміщений у воду, потім

– у краплю розчину сахарози. Спостерігають процес розвитку плазмолізу в динаміці: через 1, 2, 5, 10 і 15 хв при великому збільшенні мікроскопа.

Проконтролювати зворотність процесу, капнувши 1 – 2 краплі дистильованої води на предметне скло поряд з препаратом, відтягаючи розчин сахарози з протилежного боку фільтрувальним папером доти, поки він повністю не заміниться на воду. Розглянути препарат у динаміці через 1, 2, 5, 10 і 15 хв при великому збільшенні мікроскопа.

У кінці спостережень необхідно замалювати препарат, описати особливості динаміки його змін.

Контрольні питання

1. Які особливості будови клітин еукаріотів?
2. Назвіть основні постулати клітинної теорії.
3. У чому полягають особливості рідинно-мозаїчної моделі будови клітинної мембрани?
4. Що означає «напівпроникність» клітинної мембрани?
5. Чим відрізняється осмос від дифузії речовин?
6. Яким чином клітина стає плазмолізованою?
7. Що являю собою тургор клітини?
8. Чи може витримати тваринна клітина високий осмотичний тиск?
9. Чим відрізняється гіпертонічний розчин від гіпо- й ізотонічного?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

Тема: **Дослідження форми і функцій клітин зеленого листка рослини та біологічної ролі хлоропластів.**

Мета роботи: Вивчити основні форми клітин листка рослини, будову й функції хлоропластів, їхню роль у фотосинтезі.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI), спирт 96 %; біологічний матеріал: пагони мохів мній (*Mnium cuspidatum Hedw.*), листки мохів мній, витримані на світлі й знебарвлені спиртом; у разі відсутності мохів мній можна використати листки елодеї *(Elodea canadensis Michx.)*.

Усі клітини рослин за формою поділяються на *паренхімні* й *прозенхімні*.

Паренхімні клітини мають однакові розміри у всіх напрямках простору, тобто вони не бувають довшими від потроєного розміру власної товщини. Розміри їх варіюють від 10 до 500 мкм і більше.

Прозенхімні клітини мають видовжену форму, а їхня довжина більша від потроєного розміру товщини. Часто ці клітини мають загострені кінці, а також товсті, переважно здерев'янілі оболонки. З них переважно формуються провідні

й механічні тканини рослини. Довжина таких клітин перебуває в межах приблизно від 1 до 100 мм.

Завдання

1. Приготувати препарат листка мохів мній.
2. Розглянути загальну будову листка при малому збільшенні. Замалювати його контури й середню жилку.
3. Розглянути край листка при великому збільшенні. Знайти в ньому паренхімні й прозенхімні клітини.
4. Дослідити вміст клітин, знайти хлоропласти й виявити в них первинний (фотосинтетичний) крохмаль.
5. Замалювати п'ять – шість прозенхімних і паренхімних клітин із хлоропластами, а також одну клітину із хлоропластами й первинним крохмалем у ній, зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Щоб приготувати препарат, пінцетом відривають листок мохів мній, обполіскують його, потім поміщають у краплю води на предметне скло й накривають покривним скельцем.

Розглядають препарат спочатку при малому, потім при великому збільшенні. Пластинка листка в основному складається з одного шару *паренхімних* (*ізодіаметричних*) клітин. Кілька рядів клітин по краях листка й клітини його середньої жилки мають подовжену форму. Це *прозенхімні клітини*. У середній жилці листка клітини розташовані в кілька рядів у товщину й виконують провідну функцію. По краях листка помітні одноклітинні зубчики (рис. 4, *А*, *Б*).

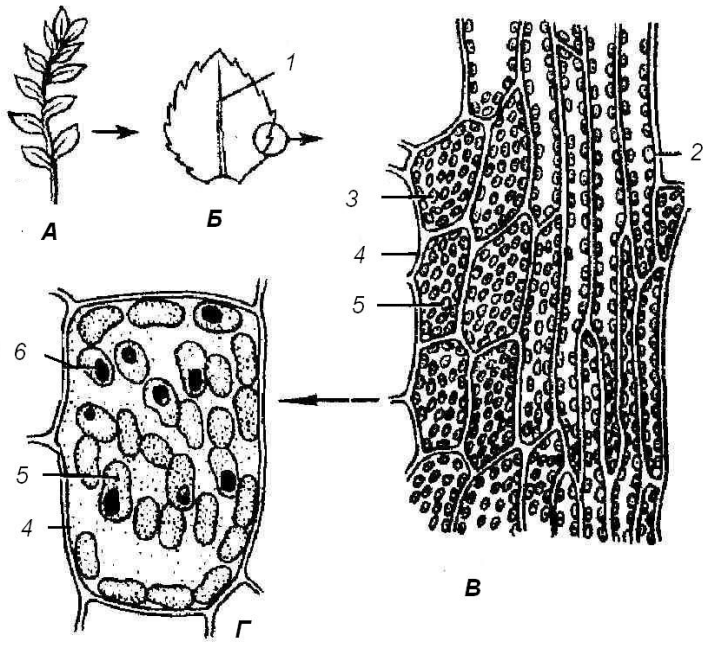

Рис. 4. Листок мохів мній (*Mnium cuspidatum Hedw.*):
А, *Б* – при малому збільшенні;
В – край листка при великому збільшенні;
Г – клітина листка в розчині йоду в йодиді калію:
1 – жилка,
2 – прозенхімна клітина, 3 – паренхімна клітина,
4 – стінка клітини,
5 – хлоропласт,
6 – первинний крохмаль

Усі клітини листка заповнені *хлоропластами.*

Замальовують при малому збільшенні загальні контури листка й позначають його середню жилку.

При великому збільшенні розглядають більш детально групу прозенхімних і паренхімних клітин на краю листка біля одного із зубчиків (рис. 4, *В*). Після нанесення на препарат кількох крапель розчину йоду в йодиді калію хлоропласти стають більш помітними (рис. 4, *Г*). Звертають увагу на овальну форму хлоропластів, відзначаючи, що деякі з них витягнуті з перетяжкою посередині – ці хлоропласти перебувають у стані поділу.

Замальовують при великому збільшенні п'ять – шість клітин краю листка й роблять позначення паренхімної, прозенхімної клітин, стінки клітини, хлоропластів.

Контрольні питання

1. До яких двох типів за формою можна віднести всю різноманітність рослинних клітин?
2. Яка форма і субмікроскопічна будова хлоропластів рослин?
3. Однією або двома мембранами оточений хлоропласт рослинної клітини?
4. Що являє собою строма, тилакоїди, грани в клітині? Яку структуру вони мають?
5. Які пігменти містяться в хлоропластах і яку функцію вони виконують?
6. Запишіть загальну формулу фотосинтезу рослин і поясніть її.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

Тема: **Вивчення будови і функцій хромопластів у клітинах рослинних організмів.**

Мета роботи: Вивчити будову й розглянути функції хромопластів на прикладі клітин м'якоті зрілих плодів.

Матеріали і обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, дистильована вода, біологічний матеріал: свіжі або фіксовані 2 – 3%-м розчином формаліну зрілі плоди шипшини собачої *(Rosa canina L.),* перцю стручкового *(Capsicum annuum L.),* горобини звичайної *(Sorbus aucuparia L.),* конвалії звичайної *(Convallaria majalis L.),* глоду червоного *(Crataegus sanguinea Pall.).*

Хромопласти (від грец. *chromos* – забарвлений) являють собою пластиди, забарвлені в жовтий, червоний або помаранчевий колір. Забарвлення хромопластів пояснюється накопиченням в них каротиноїдів і залежить від двох пігментів: оранжевого – каротину і жовтого – ксантофілу. Хромопласти мають різну форму: кулясту, тригранну, колоподібну, місяцеподібну.

Хромопласти містяться в клітинах віночків квіток, які мають червоне, оранжеве або жовте забарвлення, наприклад, у квасолі, соняшника, жовтого

люпину. Вони надають відповідного забарвлення плодам шипшини, червоного перцю, горобини. У першому випадку вони слугують для приваблення комах – запилювачів квіток, а в другому привертають увагу тварин (наприклад, птахів), які сприяють поширенню плодів і насіння. Хромопласти надають оранжевого кольору кореням овочевої моркви, забарвлюють у жовтий, а іноді в червоний колір осіннє листя.

Завдання

1. Приготувати препарати клітин з м'якоті плодів двох – трьох рослин.
2. Дослідити вміст клітин при великому збільшенні й розглянути форму хромопластів.
3. Замалювати одну – дві клітини м'якоті плодів кожного виду рослин та зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Вістрям голки надривають шкірочку зрілого плода й дістають невелику кількість м'якоті. Це легко вдається, оскільки в зрілих плодах відбулася *природна мацерація* (роз'єднання) клітин. М'якоть переносять на предметне скло в краплю води, обережно розрівнюють і накривають покривним скельцем.

При малому збільшенні знаходять ділянку з вільно розташованими клітинами, а при великому збільшенні досліджують їх. Клітини мають округлу форму. Стінки їх дуже тонкі. Усередині клітин добре видно скупчення *хромопластів.* У плодах *горобини й глоду* хромопласти витягнуті, злегка вигнуті, із загостреними кінцями, а в клітинах плодів *шипшини* й *перцю червоного* вони овальні, у клітинах плода *конвалії* – більш-менш кулясті (рис. 5). У клітинах м'якоті зрілих плодів ядер не видно, їх можна виявити тільки після спеціального фарбування.

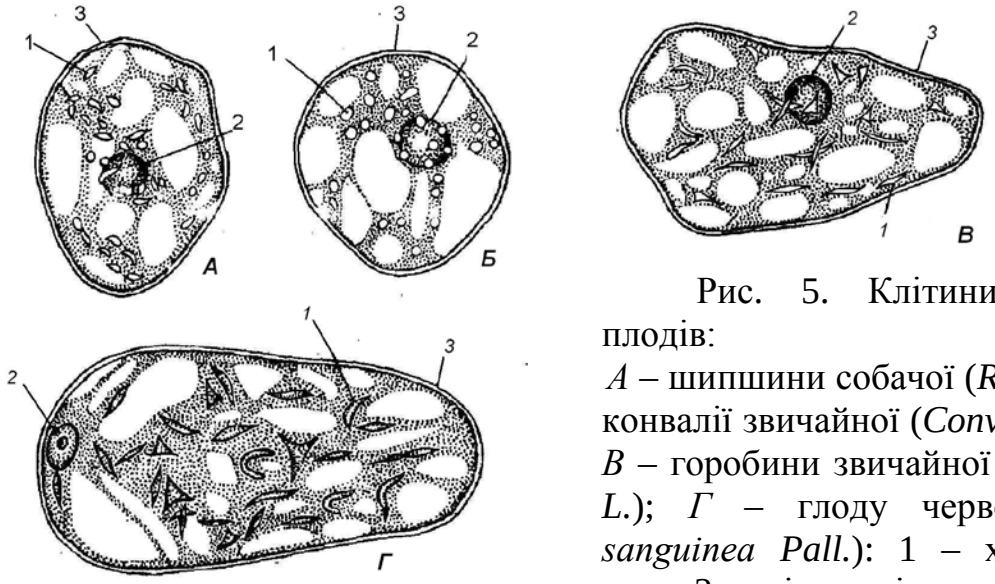

Рис. 5. Клітини м'якоті зрілих плодів:
А – шипшини собачої (*Rosa canina L.)*; *Б* – конвалії звичайної (*Convallaria majalis L.*); *В* – горобини звичайної (*Sorbus aucuparia L.*); *Г* – глоду червоного (*Crataegus sanguinea Pall.*): 1 – хромопласти, 2 – ядро, 3 – стінка клітини

При великому збільшенні замальовують клітини плодів двох – трьох видів рослин і роблять такі позначення: стінка клітини, хромопласти, ядро.

Контрольні питання

1. У клітинах яких органів рослин найчастіше можна виявити хромопласти?
2. Яким пігментами насичені хромопласти?
3. Яких типів бувають хромопласти?
4. Яке походження хромопластів?
5. Що являє собою природна й штучна мацерація рослинних клітин?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

Тема: **Дослідження будови і функцій лейкопластів у рослинних клітинах.**

Мета роботи: Вивчити будову та функції лейкопластів рослинних клітин на прикладі епідерми листка традесканції зеленої (*Tradescantia viridis Hort. ex Gentil).*

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода; біологічний матеріал: пагони традесканції зеленої.

Лейкопласти – це безбарвні пластиди, присутні в клітинах рослин. Вони мають кулясту або видовжену форму й розміщуються групами біля клітинного ядра, а також в усій клітинній протоплазмі. Перебуваючи в клітинах коренів, бульб, насінин та інших органів, лейкопласти виступають центрами утворення вторинного крохмалю з цукру, який надходить з листків рослини.

Лейкопласти поділяють на такі види: *амілопласти* (результат синтезу вторинного крохмалю), *протопласти* (утворення запасних білків), *оліпласти* накопичення жирних олій).

Завдання

1. Приготувати препарат нижньої епідерми листка традесканції.
2. Розглянути при великому збільшенні вміст клітин, знайти в них ядро й лейкопласти.
3. Замалювати одну – дві клітини й зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Для приготування препарату зривають листок із пагона традесканції зеленої, обертають його навколо вказівного пальця лівої руки так, щоб нижній його бік фіолетового кольору був повернений назовні. Правою рукою за допомогою голки надривають епідерму над середньою жилкою ближче до

основи листка й пінцетом знімають її шматочок. При цьому мимоволі захоплюють і частину м'якоті листка, у той же час як завжди можна знайти тонку ділянку на його периферії, що має тільки один ряд клітин епідерми.

Зірваний шматочок кладуть на предметне скло в краплю води зовнішнім боком нагору й накривають покривним скельцем.

При малому збільшенні розглядають витягнуті клітини, що мають форму шестикутників, вони безбарвні чи забарвлені в блідо-фіолетовий або червоний колір завдяки присутності у вакуолях пігменту *антоціану.* Пересуваючи препарат, знаходять клітину з добре помітним ядром. При великому збільшенні видно, що воно оточене дрібними безбарвними кулястими елементами. Це безбарвні пластиди – лейкопласти (рис. 6).

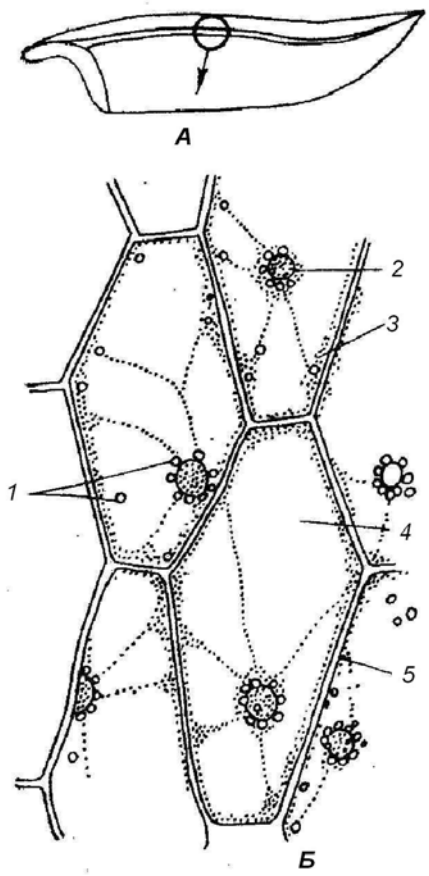

Рис. 6. Епідерма листка традесканції зеленої (*Tradescantia viridis Hort. ex Gentil)*: *А* – зняття епідерми; *Б* – клітини епідерми: 1 – лейкопласти, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – вакуоля, 5 – стінка клітини

Замальовують клітини епідерми традесканції зеленої, позначаючи стінку клітини, ядро, лейкопласти, цитоплазму, вакуолю.

Контрольні питання

1. Які пластиди містяться в клітинах зелених рослин?
2. Чи помітні пластиди рослинних клітин під світловим мікроскопом?
3. Яке походження пластидів у рослинних клітинах?
4. На які три групи за функціями поділяють лейкопласти?
5. Яка особливість властива лейкопластам у клітинах епідерми рослин?
6. У чому полягає відмінність між клітинами рослин і тварин?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

Тема: **Дослідження утворення крохмальних зерен у плодах і запасних органах рослин.**

Мета роботи: Вивчити особливості накопичення крохмалю як головного резервного полісахариду рослинних клітин.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI); біологічний матеріал: бульба картоплі (*Solanum tuberosum L.*), попередньо змочені зернівки пшениці м'якої (*Triticum aestivum L.*), кукурудзи цукрової (*Zea mays L.*), вівса посівного (*Avena sativa L.*), рису посівного (*Oryza sativa L.*), плоди гречки посівної (*Fagopyrum sagittatum Gilib*).

Завдяки процесу фотосинтезу в хлоропластах зелених рослин утворюється *первинний* (фотосинтетичний) крохмаль, який має вигляд дрібних крупинок. Однак у такій формі він не накопичується. За допомогою ферментів первинний крохмаль розщеплюється до глюкози, яка транспортується з листка рослини та йде на побудову нових органів або відкладається в запас. *Вторинне* перетворення цукру в крохмаль відбувається вже в лейкопластах (амілопластах), де утворюються *прості, напівскладні* або *складні зерна* вторинного крохмалю. Якщо в лейкопласті є тільки одна «крапка» (так званий формувальний центр), навколо якої відкладаються шари крохмалю, то виникає *просте* зерно (рис. 7, *А,* 1), якщо дві й більше, то *складне* (рис. 7, *А,* 2), що ніби зосереджує кілька простих. *Напівскладне* зерно утворюється у тому випадку, коли крохмаль спочатку відкладається навколо кількох формувальних центрів, а потім після об'єднання простих зерен навколо них виникають спільні шари (рис. 7, *А,* 3).

Видима шаруватість крохмальних зерен викликана неоднаковим гідратуванням (обводненням) шарів крохмалю і може бути різною. Так, розташування шарів може бути *концентричним* (рис. 7, *Б, Д*) або *ексцентричним* (рис. 7, *А,* 1). В останньому випадку формувальний центр розміщується не в центрі зерна, а зсунутий убік.

Вторинний крохмаль – це запасний продукт. Він накопичується в спеціалізованих органах: кореневищах, бульбах, насінні, плодах. Кожному виду рослин властива специфічна форма крохмальних зерен.

Завдання

1. Дослідити особливості утворення й перерозподіл крохмалю в клітинах вищих рослин.

2. Виготовити й розглянути препарати крохмальних зерен картоплі (*Solanum tuberosum L.*), зернівок пшениці м'якої (*Triticum aestivum L.*), кукурудзи цукрової (*Zea mays L.*), вівса посівного (*Avena sativa L.*), рису посівного (*Oryza sativa L.*), плодів гречки посівної (*Fagopyrum sagittatum Gilib*).

3. Провести реакцію на крохмаль розчином йоду в йодиді калію.

4. Виявити видові відмінності у формі, розмірі та в структурі крохмальних зерен.

5. Замалювати крохмальні зерна зазначених вище рослин при великому збільшенні, зберігаючи пропорції між ними; зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

При вивченні крохмальних зерен ***картоплі*** відрізають маленький шматочок бульби й роблять ним мазок на предметному склі в краплі води. При цьому зі зруйнованих клітин у воду попадають крохмальні зерна, внаслідок чого вона мутніє. Краплю накривають покривним скельцем і розглядають за допомогою мікроскопа спочатку при малому збільшенні, а потім при великому. У другому випадку добре видно овальні та яйцеподібні безбарвні крохмальні зерна з ексцентричною шаруватістю (рис. 7, *А*, 1). При розгляді шаруватості варто прикрити діафрагму конденсора й злегка повернути мікрометричний гвинт. Серед численних простих крохмальних зерен картоплі зрідка вдається знайти складні й напівскладні. Необхідно замалювати кілька крохмальних зерен і зробити належні позначення.

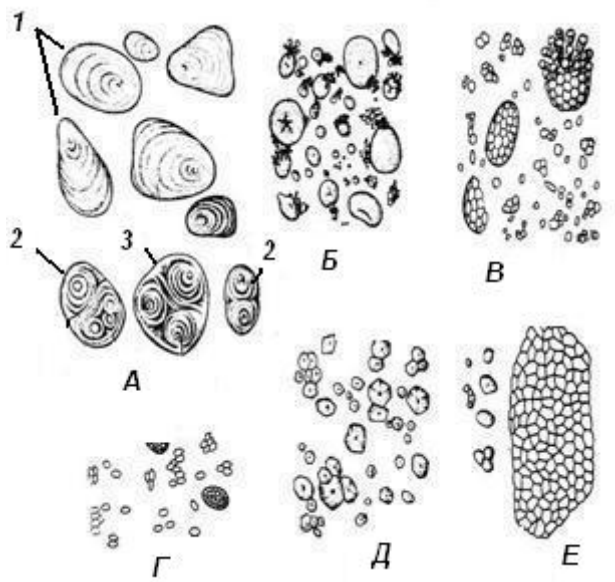

Рис. 7. Крохмальні зерна різних видів рослин:

А – картопля (*Solanum tuberosum L.*); *Б* – пшениця м'яка (*Triticum aestivum L.*); *В* – овес посівний (*Avena sativa L.*); *Г* – рис посівний (*Oryza sativa L.*); *Д* – кукурудза цукрова (*Zea mays L.*); *Е* – гречка посівна (*Fagopyrum sagittatum Gilib*): 1 – просте крохмальне зерно, 2 – складне, 3 – напівскладне

Реактивом для виявлення крохмалю служить слабкий розчин йоду в йодиді калію. Реакцію здійснюють, не знімаючи препарат з предметного столика мікроскопа. Дивлячись у мікроскоп, спостерігають, як крохмальні зерна поступово набувають кольору від блідо-синього до темно-синього і чорного.

Крохмальні зерна ***пшениці*** можна розглянути в пшеничному борошні, але краще взяти їх з ендосперму попередньо змоченої набряклої зернівки. Розрізавши зернівку, підхоплюють кінчиком голки невелику кількість ендосперму й переносять його в краплю води на предметне скло. Потім накривають покривним скельцем і розглядають при великому збільшенні. У

полі зору мікроскопа видно округлі й овальні крохмальні зерна двох розмірів (рис. 7, *Б*). При цьому більші з них характеризуються ледь помітною концентричною шаруватістю, а дрібні чіткої шаруватості не мають. Крім того, в препараті можуть спостерігатися також і залишки зруйнованих стінок клітин. Необхідно замалювати кілька крохмальних зерен пшениці, зіставляючи їх за розміром з більш великими крохмальними зернами картоплі.

Крохмальні зерна ***вівса*** також беруть з ендосперму набряклої зернівки. При великому збільшенні добре видно великі овальні складні крохмальні зерна, що містять велику кількість багатогранних простих зерен (рис. 7, *В*). Видно також уламки зруйнованих складних крохмальних зерен. Шаруватість зерен відсутня. Необхідно замалювати одне – два складних крохмальних зерна й кілька простих.

Препарат крохмальних зерен ***кукурудзи*** готують так само, як і пшениці. У кукурудзи крохмальні зерна прості, багатогранні, зі згладженими кутами. У їхньому центрі видно тріщину, що за формою нагадує штрих, галочку або зірочку (рис. 7, *Д*). Необхідно замалювати кілька зерен і зробити необхідні позначення.

Крохмальні зерна ***рису*** витягають із зернівки аналогічним способом, готуючи з них препарат. Звертають увагу на те, що в рисі овальні складні крохмальні зерна утворюються з дуже дрібних гранчастих простих (рис. 7, *Г*). Видно також уламки складних зерен. Необхідно замалювати одне – два складних зерна і кілька простих.

Крохмальні зерна ***гречки*** витягають з набряклої зернівки або використовують гречане борошно. Препарат виготовляють таким самим способом, як попередні. При великому збільшенні видно, що крохмальні зерна цієї культури дуже дрібні, мають неправильну форму. У полі зору мікроскопа вони виявляються або поодинці, або у вигляді скупчень (рис. 7, *Е*). Іноді такі великі скупчення приймають за складні крохмальні зерна. Шаруватість крохмальних зерен гречки непомітна. У деяких з них у центрі видно тріщину. Необхідно замалювати кілька простих поодиноких крохмальних зерен та одне зі скупчень.

Контрольні питання

1. Який крохмаль у клітинах рослин називають первинним, а який – вторинним?
2. Дайте загальну характеристику процесу фотосинтезу.
3. У чому полягає різниця між простим, напівскладним і складним крохмальними зернами?
4. Як утворюються в рослинних клітинах прості крохмальні зерна і як – складні?
5. Чим можна пояснити шаруватість крохмальних зерен?
6. Яким чином за формою крохмальних зерен можна визначити, до якого виду рослин вони належать?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

***Тема*. Дослідження процесів накопичення рослинами запасних білків у формі алейронових зерен.**

Мета роботи: Вивчити утворення та функції запасних білків рослин на прикладі клітин ендосперму зернини пшениці й сім'ядоль квасолі.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI), гліцерин; біологічний матеріал: зернини пшениці твердої *(Triticum durum Desf.),* попередньо змочені й зафіксовані в спирті, змочене у воді насіння квасолі звичайної *(Phaseolus vulgaris L.).*

Алейронові зерна (від греч. *áleuron* – борошно) – це білкові утворення в насінні рослин (в ендоспермі або в сім'ядолях), що мають вигляд безбарвних округлих зерен. Вони служать запасним живильним матеріалом, який використовується зародком під час проростання насіння. Алейронові зерна виникають із вакуоль протоплазми, у яких втрата води при дозріванні насінин приводить до виділення білків у твердому стані. Розрізняють алейронові зерна *прості* (дрібні зернятка однорідної структури) і *складні*, усередині яких перебувають *білкові кристали*, а також кулясті включення – *глобоїди*, що містять запасний фосфор. На відміну від справжніх кристалів *кристали білка* набухають у воді, слабких кислотах і в лугах, можуть фарбуватись барвниками. При насиченні клітини водою алейронові зерна розчиняються. Подібно до крохмальних зерен, кожний вид рослин має алейронові зерна певної структури.

У багатьох рослинах (наприклад, у винограді) в алейронових зернах трапляються кристали щавлевокислого кальцію. Складні алейронові зерна можна побачити в маслянистому насінні, наприклад у рицині, хрестоцвітних, прості – у круп’яних, наприклад у насінні злаків.

Запасні білки – *прості*, на відміну від *складних конституційних,* які утворюють основу протопласта (живої частини клітини).

Завдання

1. Приготувати препарат поперечного зрізу зернини пшениці твердої в краплі реактиву (йоду в йодиді калію).
2. Знайти при малому, а потім при великому збільшенні алейроновий шар і розглянути в ньому алейронові зерна.
3. Замалювати кілька клітин алейронового шару, а також три – чотири клітини ендосперму із крохмалем, спермодермію (у насінній шкірці) і сухий оплодень (покрив зернини). Зробити потрібні позначення.
4. Приготувати препарат поперечного зрізу сім'ядолі квасолі звичайної, подіявши на нього краплею розчину йоду в йодиді калію.
5. Розглянути при великому збільшенні вміст клітин, зокрема алейронові й крохмальні зерна.

6. Замалювати одну – дві клітини і зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Дослідження алейронового шару ендосперму зернини пшениці твердої

Для приготування препарату на предметне скло наносять краплю реактиву. Потім роблять поперечні зрізи зернини пшениці, за допомогою щіточки або пінцета переносять два – три зрізи на предметне скло й накривають покривним скельцем.

При малому збільшенні знаходять тонку ділянку зрізу, на якому видно золотаву смужку клітин алейронового шару, розташованого відразу ж під спермодерміем й оплоднем. Унаслідок реакції з йодом білок набуває жовтого забарвлення. При великому збільшенні видно, що клітини алейронового шару щільно зімкнуті, мають кубічну форму й заповнені дрібними алейроновими зернами. При застосуванні імерсійного об'єктива зі збільшенням окуляра х15 й об'єктива х90 можна побачити, що всередині алейронових зерен, незважаючи на їхній малий розмір, є включення. Отже, алейронові зерна пшениці відносяться до складних. Іноді в центрі клітини помітне ядро (рис. 8).

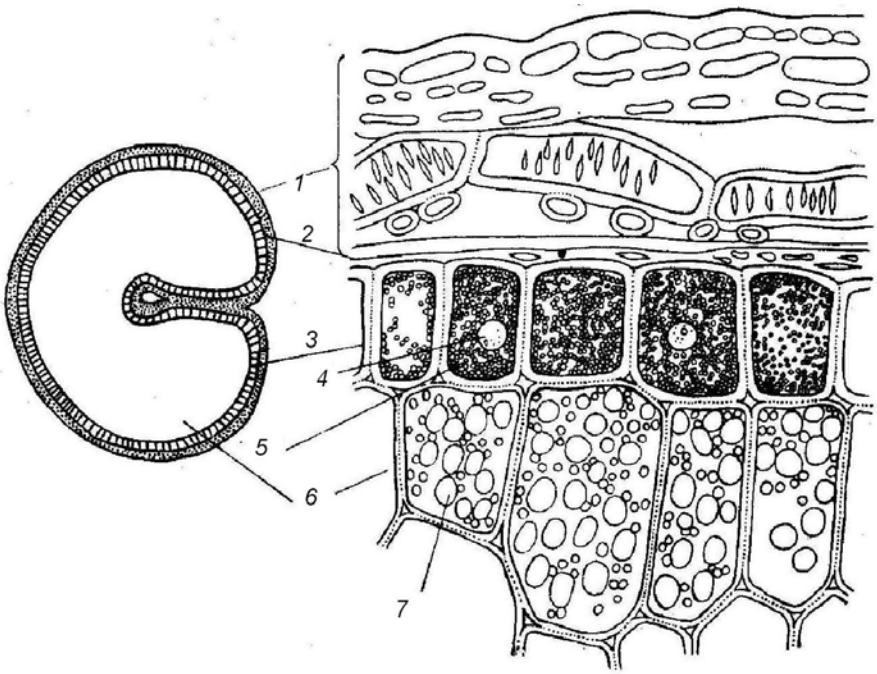

Рис. 8. Зернина пшениці твердої (*Triticum durum Desf.)* на поперечному розрізі:
1 – оплодень;
2 – спермодермій;
3 – алейроновий шар;
4 – ядро;
5 – алейронові зерна;
6 – клітини ендосперму з крохмальними зернами;
7 – крохмальні зерна

Найбільшу кількість запасного білка містять зернини твердої пшениці. Цим пояснюють їхню високу технологічну властивість. Нижче, у клітинах ендосперму зернини видно крохмальні зерна.

Замальовують кілька клітин алейронового шару, спермодермій, що злипся із сухим оплоднем, і клітини ендосперму із крохмальними зернами та роблять необхідні позначення.

Розгляд алейронових і крохмальних зерен у сім'ядолях квасолі звичайної

Препарат готують із тонкого зрізу сім'ядолі квасолі, помістивши його на предметне скло в краплю реактиву з додаванням краплі гліцерину. Знаходять при малому збільшенні тонку ділянку зрізу. При великому збільшенні видно, що сім'ядоля квасолі має у свєму складі великі паренхімні клітини з невеликим міжклітинним простором. Усередині клітин добре помітні великі овальні крохмальні зерна з розгалуженою тріщиною в середині й між ними, це золотаво-жовті прості алейронові зерна (рис. 9).

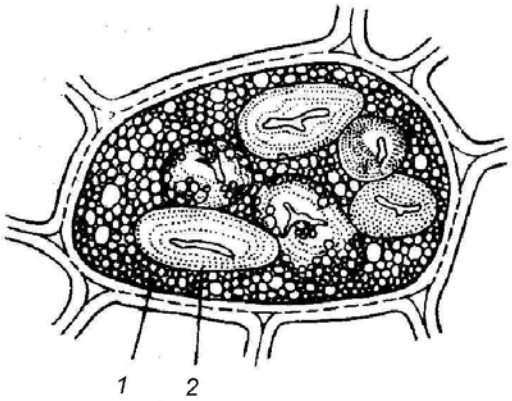

Рис. 9. Клітина сім'ядолі квасолі *(Phaseolus vulgaris L.)*:
1 – прості алейронові зерна,
2 – крохмальне зерно

Замальовують одну – дві клітини й роблять позначення алейронових і крохмальних зерен.

Контрольні питання

1. У чому полягає відмінність між запасними і конституційними білками рослин?
2. Яким чином утворюються в рослинах алейронові зерна?
3. У чому полягає відмінність простих алейронових зерен від складних?
4. У яких частинах рослинної клітини локалізується запасний білок?
5. У яких органах рослини накопичується запасний білок?
6. Що відбувається з алейроновими зернами при збагаченні рослинної клітини водою?
7. Чи вважають структуру алейронових зерен їхньою видовою ознакою?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10

***Тема*. Вивчення запасної ролі полісахариду інуліну в клітинах рослинних організмів.**

Мета роботи: Дослідити запасні функції рослинних вуглеводів у клітинах бульби топінамбура, або земляної груші (*Helianthus tuberosus L.*).

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI), гліцерин;

біологічний матеріал: шматочки бульби топінамбура, що витримані в 96 %-му розчині етилового спирту протягом семи – десяти днів.

Полісахарид *інулін* $(C_6H_{10}O_5)_n$ перебуває у формі колоїдного розчину в клітинній рідині запасливих органів рослин головним чином сімейства складноцвітних, а також дзвоникових, лілейних і фіалкових.

Подібно до крохмалю, інулін служить запасним вуглеводом. У бульбах і коріннях жоржини, нарциса, гіацинта, цикорію та земляної груші (топінамбура) вміст інуліну сягає 10 – 12 % (до 60 % від вмісту сухої речовини).

Цей вуглевод легко засвоюється організмом людини, у зв'язку з чим його застосовують у медицині як замінник крохмалю й цукру при цукровому діабеті. До того ж він являє собою вихідний матеріал для промислового одержання фруктози. Добувають інулін із цикорію або з топінамбура.

Для виявлення інуліну використовують 96 %-й розчин етилового спирту, який швидко зневоднює клітини. При цьому інулін утворює *сферокристали.* Вони швидко розростаються і згодом захоплюють кілька клітин (рис. 10). Стінки цих клітин стають помітними у сферокристалі, коли використовують мікрогвинт мікроскопа.

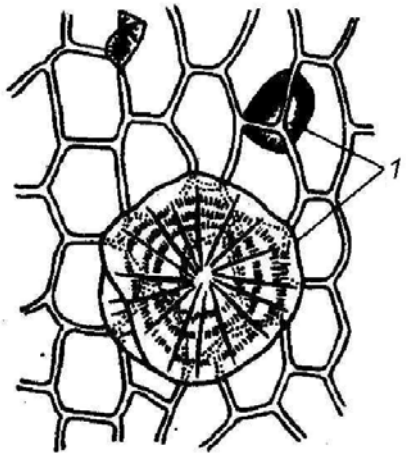

Рис. 10. Клітини бульби топінамбура (земляної груші), (*Helianthus tuberosus L.*): 1 – сферокристал

Завдання

1. Приготувати препарат зрізу бульби топінамбура в краплі гліцерину.
2. Знайти при малому збільшенні найбільш тонку ділянку зрізу, що містить сферокристали інуліну, і розглянути їх при великому збільшенні.
3. Замалювати кілька клітин бульби топінамбура зі сферокристалами й зробити необхідні позначення.

Порядок виконання роботи

Щоб виготовити препарат, роблять кілька зрізів бульби топінамбура, найтонший з них поміщають на предметне скло в краплю гліцерину й накривають покривним скельцем. У гліцерині інулін не розчиняється, а у воді

він легко розчинний, тому для приготування препарату не можна використовувати воду.

При малому збільшенні знаходять найбільш тонке місце зрізу й вивчають один зі сферокристалів. Замальовують кілька клітин зі сферокристалами й роблять позначення сферокристалу й стінки клітини.

Контрольні питання

1. Чи однаковий розмір вакуолей у молодих, зрілих і старих клітинах рослин?
2. Що являє собою клітинний сік, який його склад?
3. Які пігменти входять до складу пластид, а які – до клітинного соку рослин?
4. Чому крохмаль, що має таку саму хімічну формулу, що й інулін, не накопичується в клітинному соку?
5. Яким чином можна виявити в рослинній клітині інулін?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11

Тема: **Спостереження за процесами мітозу в клітинах кореневої меристеми рослин.**

Мета роботи: Вивчити основні фази мітотичного циклу й мітозу в клітинах кінчика кореня цибулі; ознайомитися з відмінностями між процесами мітозу і мейозу, а також з можливими патологіями процесів мітозу внаслідок негативної дії факторів навколишнього середовища.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла; біологічний матеріал: постійний мікропрепарат повздовжнього зрізу кінчика кореня цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*).

Ріст рослин відбувається головним чином за рахунок збільшення числа клітин у зростаючих органах. *Мітоз* – основний спосіб поділу соматичних клітин. Він являє собою складову частину мітотичного циклу, через який проходить кожна клітина від одного поділу до наступного. *Мітотичний цикл* складається з інтерфази й мітозу, що тісно пов'язані між собою.

Інтерфаза – найбільш тривалий етап мітотичного циклу. У цій фазі відбуваються важливі біохімічні процеси, що готують клітину до поділу: реплікація ДНК, нагромадження речовин та енергії. В інтерфазі розрізняють три періоди: *пресинтетичний* – G_1 (ріст клітини й підготовка до подвоєння ДНК), *синтетичний* – S (реплікація молекул ДНК) і *постсинтетичний* – G_2 (підготовка до побудови веретена поділу й нагромадження енергії).

Мітоз, у свою чергу, поділяють на чотири фази: *профазу, метафазу, анафазу* й *телофазу*. Наприкінці телофази в зоні екваторіальної пластинки формується клітинна стінка, що ділить цитоплазму на дві рівні частини, тобто відбувається *цитокінез*. При мітозі генетична інформація рівномірно

розподіляється між двома новими клітинами – кожна з них одержує число хромосом, яке дорівнює числу хромосом вихідної клітини.

Завдання

1. На постійному препараті кінчика кореня цибулі знайти при великому збільшенні клітини в стані інтерфази, а також у фазах мітозу: профазі, метафазі, анафазі, телофазі.

2. Замалювати й позначити клітини в інтерфазі й на різних фазах мітозу. Можна замалювати дві – три клітини, що перебувають у найбільш тривалих фазах.

Порядок виконання роботи

Послідовні зміни структури ядра при мітозі спостерігають на постійному препараті клітин кінчика кореня цибулі звичайної. Клітини меристематичної тканини перебувають у різних фазах поділу. В *інтерфазі* ядро відносно велике, з добре помітними одним або двома ядерцями й слабкозернистою структурою (рис. 11). Хромосоми в ядрі великою мірою деконденсовані, а тому фарбування їх не виявляє.

На початку *профази* ядро збільшується й у ньому чітко помітні заплутані в клубок хромосоми, що почали конденсуватися. До кінця профази хромосоми коротшають, причому іноді помітно, що вони складаються із двох *хроматид,* з'єднаних у зоні *первинної перетяжки,* де перебуває *центромера* (пластинчаста структура, що має форму диска). Ядерна оболонка і ядерця до цього моменту, як правило, дезінтегруються.

На початку *метафази* хромосоми досягають максимальної конденсації й пересуваються до екваторіальної пластинки клітини. У клітині формується *веретено поділу*, що складається з опорних і *тягових ниток.* Опорні нитки йдуть від одного полюса клітини до іншого, а тягові з’єднують центромери хромосом з полюсами. Однак нитки веретена поділу не завжди помітні, оскільки ядерний барвник їх не зафарбовує. Найбільш характерним для метафази виявляється розташування центромер хромосом, прикріплених до ниток веретена, у площині екваторіальної пластинки клітини. *Плечі* хромосом можуть займати вище або нижче положення. На препаратах збоку (з екватора) можна побачити клітину в метафазі, коли добре помітно веретено поділу, але число хромосом підрахувати важко; а зверху (з полюса), коли добре видно форму хромосом і легко підрахувати їхнє число, але при цьому веретена поділу не видно (рис. 11, 4). Другий випадок частіше має місце на поперечних зрізах.

В *анафазі* відбувається поділ центромери, а хроматиди розходяться до полюсів унаслідок скорочення тягових ниток і подовження опорних ниток веретена поділу. Кожна хроматида побудована й функціонує як повноцінна хромосома. Отже, на кожному полюсі виявляється стільки хромосом, скільки їх було у вихідній клітині.

Рис. 11. Мітотичний цикл у клітинах кінчика кореня цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.)*:
1 – інтерфаза;
2, 3 – профаза;
4, 5 – метафаза;
6 – анафаза;
7, 8 – телофаза
(8 – цитокінез)

Під час *телофази* спостерігається процес, протилежний тому, що відбувався в профазі: хромосоми деконденсуються, веретено поділу руйнується, а ядерна оболонка і ядерця відновлюються. На початку телофази хромосоми мають вигляд двох темних згустків на полюсах клітини, на їх місці до кінця фази утворяться два нових ядра. Одночасно в зоні екваторіальної пластинки клітини з'являються вертикальні волокна *(фрагмопласт).* У центрі фрагмопласта накопичуються бульбашки Гольджі, що містять пектинові речовини. Розростаючись, вони утворять поперечну перегородку, яка розмежовує обидві клітини, – *клітинну пластинку.* На ній по обидва боки формуються первинні стінки, далі відбувається *цитокінез*, і на цьому мітоз завершується.

Фази мітотичного циклу замальовують відповідно до послідовності, яка спостерігається в клітині, що ділиться.

Слід зауважити, що внаслідок негативної дії факторів навколишнього середовища (іонізуюче випромінювання, застосування пестицидів, дія мітотичних отрут, токсинів, вірусних інфекцій тощо) нормальний хід мітозу може змінюватись. При цьому можливі пошкодження структури хромосом

(фрагментація, утворення мостів, мікроядер) і мітотичного апарату (порушення процесів поділу центріолей, денатурація білків веретена поділу та ін.).

Контрольні питання

1. Що являє собою мітотичний цикл, у яких клітинах він має місце та з яких двох фаз складається?
2. На які періоди поділяють інтерфазу мітотичного циклу клітин і які процеси характерні для кожного з них?
3. Що таке мітоз клітин і з яких фаз він складається?
4. Яка будова хромосоми в метафазі мітотичного циклу клітин?
5. Яка біологічна сутність процесів мітозу та мейозу в клітинах? У чому полягає принципова відмінність мейозу від мітозу?
6. У якій фазі мейозу відбувається кросинговер та який біологічний зміст цього процесу?
7. Яка різниця між анафазою мітозу й анафазою першого поділу мейозу?
8. Чи можуть фактори навколишнього середовища змінювати нормальний перебіг мітозу в клітинах? Наведіть приклади.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12

Тема: **Дослідження мікроядер у соматичних клітинах живих організмів.**

Мета роботи: Ознайомитись з механізмом утворення мікроядер в соматичних клітинах рослин і тварин унаслідок дії мутагенів довкілля; дослідити мікроядра в епітеліоцитах порожнини рота людини та еритроцитах крові жаби зеленої (*Bufo viridis Lauvert*, 1768) і ящірки кримської (*Podarcis fanlice Pallau*, 1831), а також у диференційованих клітинах кореня цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*).

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні стекла, імерсійне масло; біологічний матеріал: постійні препарати клітин слизової оболонки порожнини рота людини й крові жаби зеленої та ящірки кримської, а також диференційованих клітин кореня цибулі ріпчастої.

Мікроядра (МЯ) – це вторинні ядра, що утворюються під час телофази з хроматину, що затримався в анафазі внаслідок хромосомних ушкоджень або дисфункції веретена поділу. У першому випадку мікроядра містять ацентричні фрагменти, у другому – цілісну хромосому.

Чисельність МЯ свідчить про ступінь забруднення навколишнього середовища мутагенами. Частота виникнення МЯ збігається з частотою аберацій хромосом, оскільки перші є наслідком останніх, але технологія аналізу мікроядер значно простіша. Їх можна спостерігати в клітинах, що перебувають в інтерфазі (рис. 12). Тому для аналізу частоти появи мікроядер досить одержати мазки клітин досліджуваної біотканини, а потім, після їх відповідного фарбування, підрахувати кількість клітин, що містять МЯ.

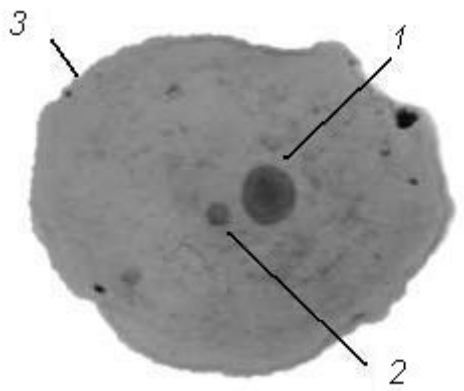

Рис. 12. Клітина слизової оболонки порожнини рота людини з мікроядром:
1 – ядро, 2 – мікроядро, 3 – клітинна оболонка

Об'єктами МЯ-тестування можуть бути як рослинні клітини (корінці кінських бобів, мейотичні клітини традесканцій та ін.), так і клітини найрізноманітніших представників тваринного світу – мишей, мавп, щурів, собак, мангустів, риб, жаб та інших безхвостих амфібій, мідій, морських їжаків тощо. Застосування МЯ-тесту в дослідженнях клітин ембріонів, сперматидіїв та ооцитів надзвичайно важливе для складання прогнозів можливих спадкових наслідків для живих організмів. Цей тест використовується також для визначення стану лейкоцитів крові, клітин селезінки, первинних культур клітин, еритроцитів, клітин кісткового мозку.

З метою біоіндикації довкілля та визначення цитогенетичного статусу індивіда набуло значного поширення вивчення рівня мікроядер в епітеліальних клітинах людини. Такі клітини можна отримати з внутрішньої поверхні щоки, клітини бронхів (при дослідженні мокротиння), сечового міхура (під час дослідженні сечі), з волосяних фолікулів, які легко видаляються висмикненням кількох волосин.

МЯ-тестування стану клітин досить об’єктивно відображає рівень хронічного мутагенного впливу на організми і цей метод широко використовується в натурних дослідженнях при здійснені цитогенетичного моніторингу стану довкілля.

Завдання

1. Використовуючи постійні препарати дослідити будову клітин слизової оболонки порожнини рота людини, еритроцитів амфібій і плазунів, а також диференційованих клітин кореня цибулі ріпчастої.
2. Визначити наявність мікроядер у досліджуваних соматичних клітинах.
3. Замалювати результати спостережень, зробити відповідні позначення й висновки.

Порядок виконання роботи

Аналізувати препарати необхідно за допомогою мікроскопа МБР-1 або «Біолам». Клітини слизової оболонки порожнини рота людини, а також диференційовані клітини кореня цибулі ріпчастої спостерігають із

застосуванням окуляра і об'єктива зі збільшенням х10 та х60, еритроцити амфібій і плазунів – х10 й х90 відповідно.

МЯ спостерігають у цитоплазмі інтерфазних клітин. Такі клітини повинні бути добре розправлені. МЯ мають чітку межу, забарвлені в той самий колір, що і ядро, розташовані на відстані не більше двох діаметрів від ядра, їхні розміри становлять від 1/5 до 1/20 діаметра ядра (рис. 12).

Досліджені клітини необхідно замалювати, позначивши ядро, мікроядро, оболонку, клітинну стінку (для рослинної клітини); зробити відповідні висновки.

Контрольні питання

1. Унаслідок яких процесів у соматичних клітинах рослин і тварин утворюються МЯ?
2. У яких клітинах можна спостерігати МЯ?
3. Чим відрізняються еритроцити амфібій і плазунів від еритроцитів ссавців?
4. Які функції виконують клітини слизової оболонки порожнини рота людини та еритроцити тварин?
5. Чим відрізняються диференційовані клітини рослин і тварин від інших?
6. Яка різниця між мікроядром і звичайним ядром клітини?
7. Які наслідки для здоров'я людини може мати утворення великої кількості МЯ в її соматичних клітинах?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13

Тема: **Дослідження будови, форми і функцій пилкових зерен покритонасінних рослин.**

Мета роботи: Ознайомитись з будовою, утворенням і функціями пилкового зерна квіткових рослин; вивчити особливості стерилізації статевих клітин чоловічого гаметофіту внаслідок негативної дії факторів довкілля.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, розчин йоду в йодиді калію (I_2/KI); біологічний матеріал: тичинки із квіток бавовника трав'янистого (*Gossypium herbaceum L.*), алтеї лікарської (*Althaea officinalis L.*), мальви Ліннея (*Malva Linnaei M.F.Ray*); фіксовані в 90 – 96 %-му розчині спирту.

Пилкові зерна – це чоловічі гаметофіти рослини. Вони складаються з двох клітин, що містять гаплоїдний набір хромосом – вегетативної (з неї розвивається пилкова трубка) та генеративної (дає початок розвитку сперміїв). Кожне пилкове зерно вкрите подвійною оболонкою, зовнішньою та внутрішньою. Міцна оболонка захищає клітини протягом усього шляху їхнього переміщення від тичинки однієї квітки до маточки іншої. Наука, що вивчає пилок, називається *палінологією*.

Унаслідок дії мутагенів навколишнього середовища (іонізуюче випромінювання, вплив поліциклічних ароматичних вуглеводнів, діоксинів, пестицидів, важких металів тощо) спостерігається збільшення кількості *стерильних* (нежиттєздатних, на відміну від *фертильних*, – життєздатних) пилкових зерен. Клітини фертильного й стерильного пилку мають у своєму складі різну кількість крохмалю. Фертильні пилкові зерна повністю заповнені крохмалем, а стерильні – можуть не містити його взагалі або мають сліди цієї речовини.

Завдання

1. Приготувати два препарати пилку: у повітрі (без покривного скельця) і в розчині йоду в йодиді калію.
2. Розглянути обидва препарати при малому збільшенні, відзначивши особливості середовищ, у які поміщено пилкові зерна.
3. Дослідити будову пилку при великому збільшенні.
4. Замалювати зерна пилку різних рослин і зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Пилок бавовника або мальви збирають улітку. Тичинки із квіток, що розкрилися, поміщають у баночки з 90 – 96 %-м розчином етилового спирту. Пилок осідає на дно баночки, звідки його легко можна дістати піпеткою.

Для дослідження готують тимчасовий препарат. На середину предметного скла піпеткою наносять краплю спирту з пилком. На об’єкт за допомогою скляної палички наносять краплю I_2/KI й накривають покривним скельцем.

Препарат поміщають на предметний столик підготовленого до роботи мікроскопа й досліджують. При малому збільшенні добре видно великі кулясті зерна пилку з шиловидними виростами на поверхні. При великому збільшенні й переміщенні тубуса за допомогою мікрогвинта зерна пилку розглядають у різних площинах, наприклад, його поверхню.

На поверхні пилкового зерна добре видно вирости його стінки. Ближче до периферії вони здаються подовженими й загостреними, а ближче до центра – кулястими. Крім виростів, на поверхні розташовані пори *(апертури),* через які в період проростання пилка виходять пилкові трубки (рис. 13).

Злегка опустивши тубус за допомогою мікрогвинта, можна побачити густий темний внутрішній вміст зерна пилку й дві його стінки: внутрішню тонку – *інтину* й зовнішню товсту із шиловидними виростами й порами – *екзину*.

Після детального дослідження при великому збільшенні замальовують одне пилкове зерно й позначають екзину, шиповидні вирости, пору, інтину, внутрішній вміст.

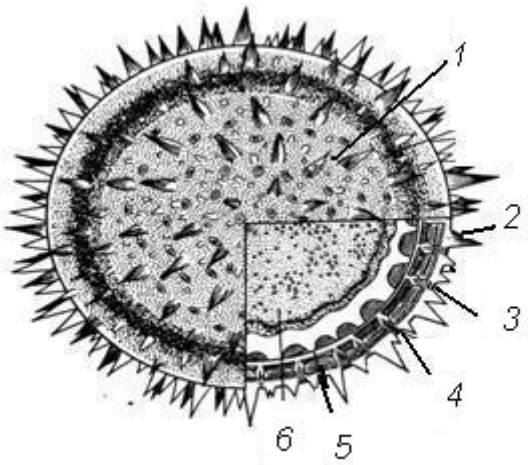

Рис. 13. Зерно пилку мальви Ліннея (*Malva Linnaei M.F.Ray*), частину зерна подано в оптичному розрізі: 1, 4 – пора (1 – вид зверху, 4 – вид збоку); 2 – шиловидний виріст; 3 – екзина; 5 – інтина; 6 – внутрішній вміст

Належить замалювати основні типи пилкових зерен досліджуваних рослин, дотримуючись пропорцій у їхніх розмірах (рис. 14). Зробити потрібні позначення.

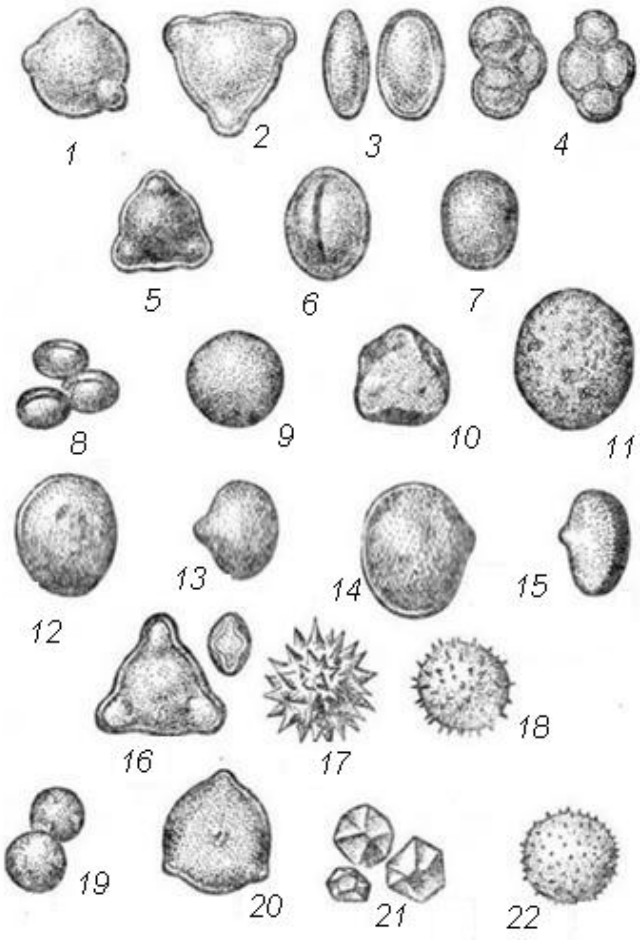

Рис. 14. Квітковий пилок різних рослин: 1 – біла акація (*Robinia pseudoacacia L.*); 2 – глід червоний *(Crataegus sanguinea Pall.)*; 3 – волошка синя (*Centaurea cyanus L.*); 4 – верес звичайний (*Calluna vulgaris L.*); 5 – вишня звичайна (*Prunus cerasus L.*); 6 – гречка посівна (*Fagopyrum sagittatum Gilib*); 7 – гірчиця чорна (*Brassica nigra L.*); 8 – верба біла (*Salix alba L.*); 9 – капуста городня (*Brassica oleracea L.*); 10 – липа серцелиста (*Tilia cordata Mill.*); 11 – кукурудза цукрова (*Zea mays L.*); 12 – конюшина біла (*Trifolium repens L.*); 13 – конюшина рожева (*Trifolium hybridum L.*); 14 – конюшина лугова (*Trifolium pratense L.*); 15 – люцерна посівна (*Medicago sativa L.*); 16 – малина звичайна (*Rubus idaeus L.*); 17 – маргаритка багаторічна (*Bellis perennis*) *L.*; 18 – мальва Ліннея (*Malva Linnaei M.F. Ray*); 19 – мак-самосів (*Papaver rhoeas L.*); 20 – огірок звичайний (*Cucumis sativus L.*); 21 – кульбаба звичайна (*Taraxacum officinale F.H. Wigg.*); 22 – соняшник однолітній або олійний (*Helianthus annuus L.*)

Контрольні питання

1. Назвіть основні етапи мікроспорогенезу рослин.
2. Що являє собою пилкове зерно рослини?
3. Які особливості будови пилкового зерна рослин?

4. Які функції виконує пилкова трубка?

5. Яким чином можна пояснити фертильність і стерильність пилку рослин?

6. Чим відрізняються стерильні пилкові зерна від фертильних?

7. У чому полягає суть подвійного запліднення квіткових рослин?

8. Назвіть основні форми розмноження рослин.

9. Охарактеризуйте основні типи запилення рослин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14

Тема: **Дослідження утворення кристалів оксалату кальцію (CaC_2O_4) в клітинах рослин.**

Мета роботи: Вивчити біологічну роль та утворення в клітині кристалів оксалату кальцію й продуктів вторинного обміну речовин у рослинах.

Матеріали й обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», предметні й покривні стекла, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода, гліцерин; біологічний матеріал: шматочки сухої луски цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*), прокип'ячені у воді, а потім витримані 10 – 15 днів у водному розчині гліцерину; черешки листків щавлю кислого або звичайного *(Rumex acetosa L.),* бегонії бульбочкової *(Begonia tuberosa Hort.*); кореневище купини лікарської *(Polygonatum odoratum (Mill.) Druce).*

Щавлева кислота – один з токсичних продуктів життєдіяльності клітин. Нейтралізація її відбувається при взаємодії з іонами кальцію, внаслідок чого утворюється нерозчинна сіль – оксалат кальцію. Ця сполука відкладається головним чином у старих клітинах рослин, або в клітинах, що відмирають. Оксалат кальцію може мати вигляд одиничних кристалів різноманітної форми, зрощених кристалів – друз, або кристалів, зібраних у пачку, – рафід (рис. 15).

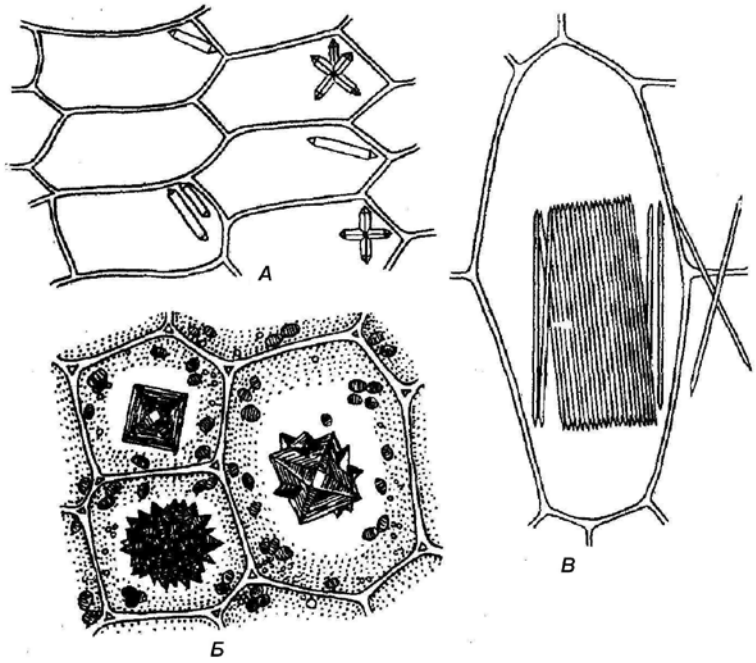

Рис. 15. Клітини різних рослин із кристалами оксалату кальцію:
А – одиничні й хрестоподібні кристали в клітинах сухої луски цибулі ріпчастої (*Allium cepa L.*);
Б – послідовні стадії формування друз у клітинах черешка листка бегонії бульбочкової *(Begonia tuberosa Hort.*);
В – рафіда в клітині кореневища купини лікарської (*Polygonatum odoratum (Mill.) Druce*)

Особливо багато кристалів оксалату кальцію утворюється в корі дерев, листках, які відмирають, у лусці цибулі.

Як правило, друзи входять до складу дводольних рослин, а рафіди – однодольних.

Завдання

1. Приготувати препарат сухої луски цибулі й при малому збільшенні виявити клітини з поодинокими паличковидними й хрестоподібними кристалами оксалату кальцію. Розглянути їх при великому збільшенні та замалювати кілька клітин з кристалами. Зробити відповідні позначення.

2. Приготувати препарат поперечного зрізу черешка листка щавлю. Знайти при малому збільшенні й розглянути при великому збільшенні одну клітину з друзами. Замалювати її та зробити необхідні позначення.

3. Приготувати препарат поздовжнього зрізу кореневища купини. Знайти при малому збільшенні клітину з рафідом. При великому збільшенні розглянути й замалювати її, зробити відповідні позначення.

Порядок виконання роботи

Готують передбачені завданням препарати. Розглядають і замальовують клітини з поодинокими паличковидними й попарно зрощеними (хрестоподібними) кристалами оксалату кальцію в сухій лусці *цибулі*, із друзами – у черешку листка *щавлю* й з рафідом – у кореневищі *купини.* Роблять позначення.

Контрольні питання

1. Яка біологічна суть утворення кристалів оксалату кальцію в клітинах рослин?

2. У клітинах яких органів або їхніх частин можна спостерігати скупчення кристалів оксалату кальцію?

3. Яка форма кристалів оксалату кальцію властива дводольним рослинам, а яка – однодольним?

4. Яку роль відіграють продукти вторинного обміну речовин у житті рослин?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Грин, Н. Биология [Текст]: пер. с англ.; в 3 т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор. – М.: Мир, 1990.

2. Кемп, П. Введение в біологію [Текст]: пер. с англ. / П. Кемп, К. Армс. – М.: Мир, 1988. – 671 с.

3. Биологический энциклопедический словарь [Текст] / под ред. М.С. Гилярова. – М.: Сов. энциклопедия, 1989. – 863 с.

4. Методичні вказівки до виконання лабораторної роботи «Мікроскопічні методи дослідження» для студентів напряму 0708 Екологія [Текст] / Т.І. Долгова, В.В. Федотов. – Д.: Національна гірнича академія України, 2001. – 11 с.

5. Чуйкин, А.Е. Общая биология [Текст]: учеб. для студ. вузов / А.Е. Чуйкин. – С.Пб.: Политехника, 2004. – 670 с.

ЗМІСТ

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ…… 3
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1. Будова світлового мікроскопа. Виготовлення тимчасових препаратів для мікроскопічного дослідження…... 3
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2. Вивчення будови рослинної клітини…… 10
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3. Спостереження руху цитоплазми у живих рослинних і тваринних клітинах……... 13
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4. Вивчення процесу осмосу в рослинних клітинах……... 17
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5. Дослідження форми і функцій клітин зеленого листка та біологічної ролі хлоропластів…… 19
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6. Вивчення будови і функцій хромопластів у клітинах рослинних організмів…….…… 21
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7. Дослідження будови і функцій лейкопластів у рослинних клітинах…… 23
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8. Дослідження утворення крохмальних зерен у плодах і запасних органах рослин……... 25
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9. Дослідження процесів накопичення рослинами запасних білків у формі алейронових зерен…… 28
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10. Вивчення запасної ролі полісахариду інуліну в клітинах рослинних організмів…… 30
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11. Спостереження за процесами мітозу в клітинах кореневої меристеми рослин……. 32
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12. Дослідження мікроядер у соматичних клітинах живих організмів…… 35
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13. Дослідження будови, форми та функцій пилкових зерен покритонасінних рослин…… 37
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14. Дослідження утворення кристалів оксалату кальцію (CaC_2O_4) в клітинах рослин…… 40

Клімкіна Ірина Іванівна
Федотов В’ячеслав Вікторович

БІОЛОГІЯ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ З ДИСЦИПЛІНИ
СТУДЕНТАМИ НАПРЯМУ ПІДГОТОВКИ
6.04010601 ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО
СЕРЕДОВИЩА
ЧАСТИНА І

Редактор О.Н. Ільченко

Підписано до друку 18.04.2011. Формат 30х42/4.
Папір офсетний. Ризографія. Ум. друк. арк. 2,3.
Обл.-вид. арк. 3,0. Тираж 100 прим. Зам №

Національний гірничий університет
49005, Дніпропетровськ, просп. К. Маркса, 19.