

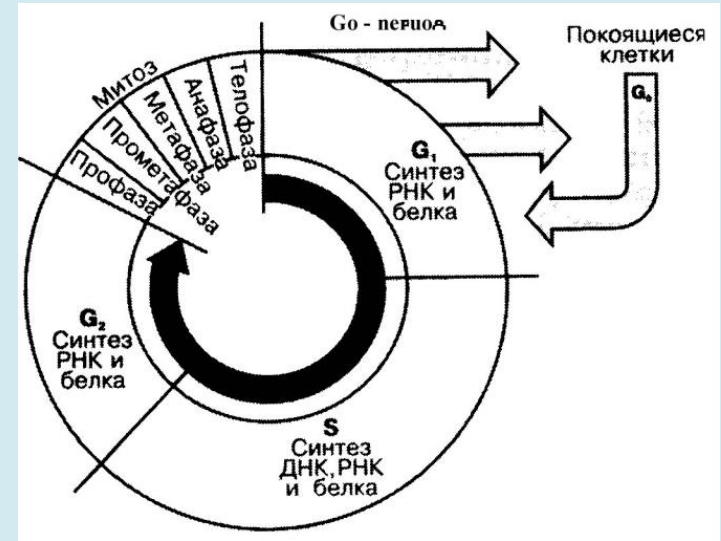


Исследовательский подход при изучении митотического и мейотического деления клеток

Александр Валерьевич Мерщиев,
к.б.н.

Поведение хромосом при митотическом делении в клетках растений

- Митоз служит механизмом размножения, при котором возникает потомство, генетически идентичное родителям. Как правило, митоз является основой бесполого размножения. Однако следует помнить, что у растений половые клетки на гаметофите также возникают митозом.
- Лабораторное изучение митоза позволяет наблюдать поведение хромосом во время его фаз и глубже понять биологическое значение этого вида деления клеток:
 1. Митотическое деление клеток приводит к увеличению их числа, обеспечивая процессы роста функционирующего многоклеточного организма.
 2. Митоз обеспечивает замещение клеток истощенных или поврежденных тканей.
 3. При этом процессе в ряду поколений сохраняется постоянный набор хромосом.

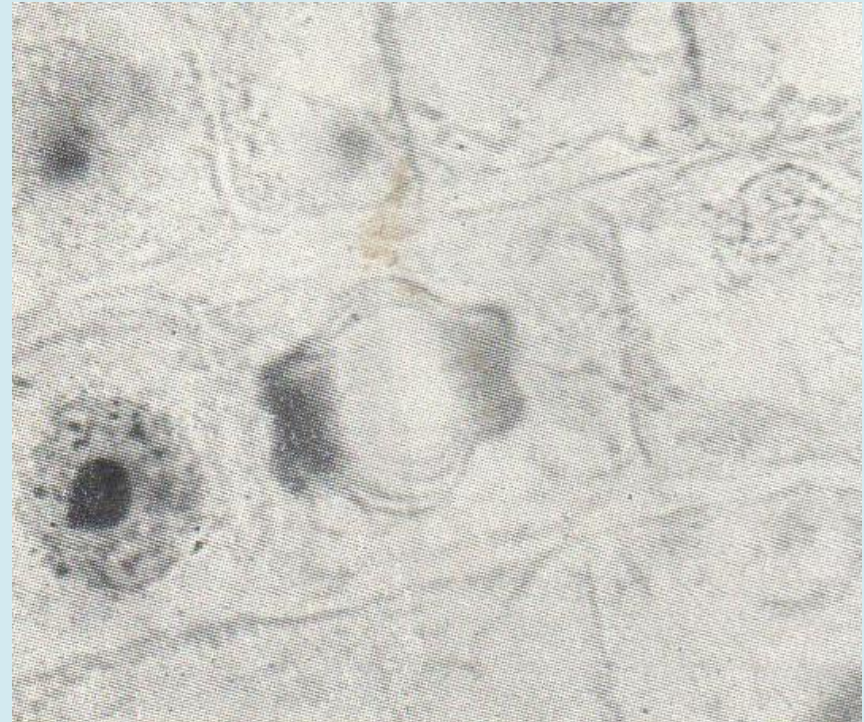


Методические примечания по наблюдению митоза

- В клетках высших растений отсутствуют центриоли, поэтому в них видны только хромосомы.
- В клетке в состоянии интерфазы хорошо различимо ядро, ядрышко, гранулы хроматина.
- В профазе видны хромосомы, образующие плотный, а затем рыхлый клубок (в поздней фазе).
- В метафазе хромосомы расположены в плоскости экватора клетки.
- В анафазе происходит отщепление хроматид друг от друга и расхождение их к полюсам, в результате чего в клетке видны две группы дочерних хромосом, имеющие вид звезды.
- Телофаза продолжается до полной реконструкции ядра. Удобнее наблюдать раннюю телофазу.

Методические примечания по наблюдению митоза

- Цитокинез лучше рассматривать на специальных препаратах.
- В растительных клетках формируется не перетяжка цитоплазмы, а перегородка, которая возникает за счет остатков нитей веретена (фрагмопласта) от центра к периферии клетки



Приготовление временных микропрепаратов

Из растительных объектов удобны:

- корешки лука репчатого (*Allium cepa*),
- гороха посевного (*Pisum sativum*),
- бобов конских (*Vicia faba*)
- фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*).
- Для этого нужно прорастить луковицу или семена бобовых до появления корешков длиной около 1 см.
- Приготовление препаратов желательно проводить утром, поскольку в это время клетки наиболее митотически активны.

Приготовление временных микропрепаратов

1. На предметном стекле с помощью препаровальной иглы или лезвия отделите самый кончик корня.
2. Нанесите на него несколько капель красителя (ацеторсеина, ацетокармина, метиленового синего или синих чернил). Окрашивание и фиксация длятся 5 – 10 мин.
3. Проведите мацерацию (размягчение) тканей, для чего препарат слегка подогрейте на спиртовке (но не до кипячения!). Проверяйте нужную степень нагревания осторожным прикосновением стекла к руке: оно должно быть тёплым. Повторите операцию 2 – 3 раза. Если краска испарится, её нужно добавить.
4. Накройте окрашенный корешок покровным стеклом и умеренно сильно надавите большим пальцем для распределения клеток тонким слоем (можно рекомендовать затем слегка покатавать карандаш по стеклу). Если из-под стекла выступит избыток краски, удалите его фильтровальной бумагой или салфеткой.

Приготовление красителей

- **Приготовление ацетокармина (уксуснокислого кармина).**

В колбу с обратным холодильником (можно заменить воронкой) налейте 45 г ледяной уксусной кислоты, прибавьте 55 мл дистиллированной воды и прокипятите в течение часа. После отстаивания, раствор профильтруйте. Оставшийся на фильтре кармин можно использовать повторно.

- **Приготовление метиленового синего.**

К 5 мл насыщенного спиртового раствора метиленового синего прибавьте 195 мл дистиллированной воды и хорошо перемешайте. В аптеках метиленовый синий (метиленовая синька, медицинская синька) может продаваться как порошок, как 1%-ный спиртовой раствор в стеклянных флаконах объемом 10-15 мл и как 1%-ный раствор, разведенный 25%-ным раствором глюкозы, в ампулах по 20 или 50 мл. Последняя форма для цитологических целей не годится.

- **Приготовление ацетоорсеина.**

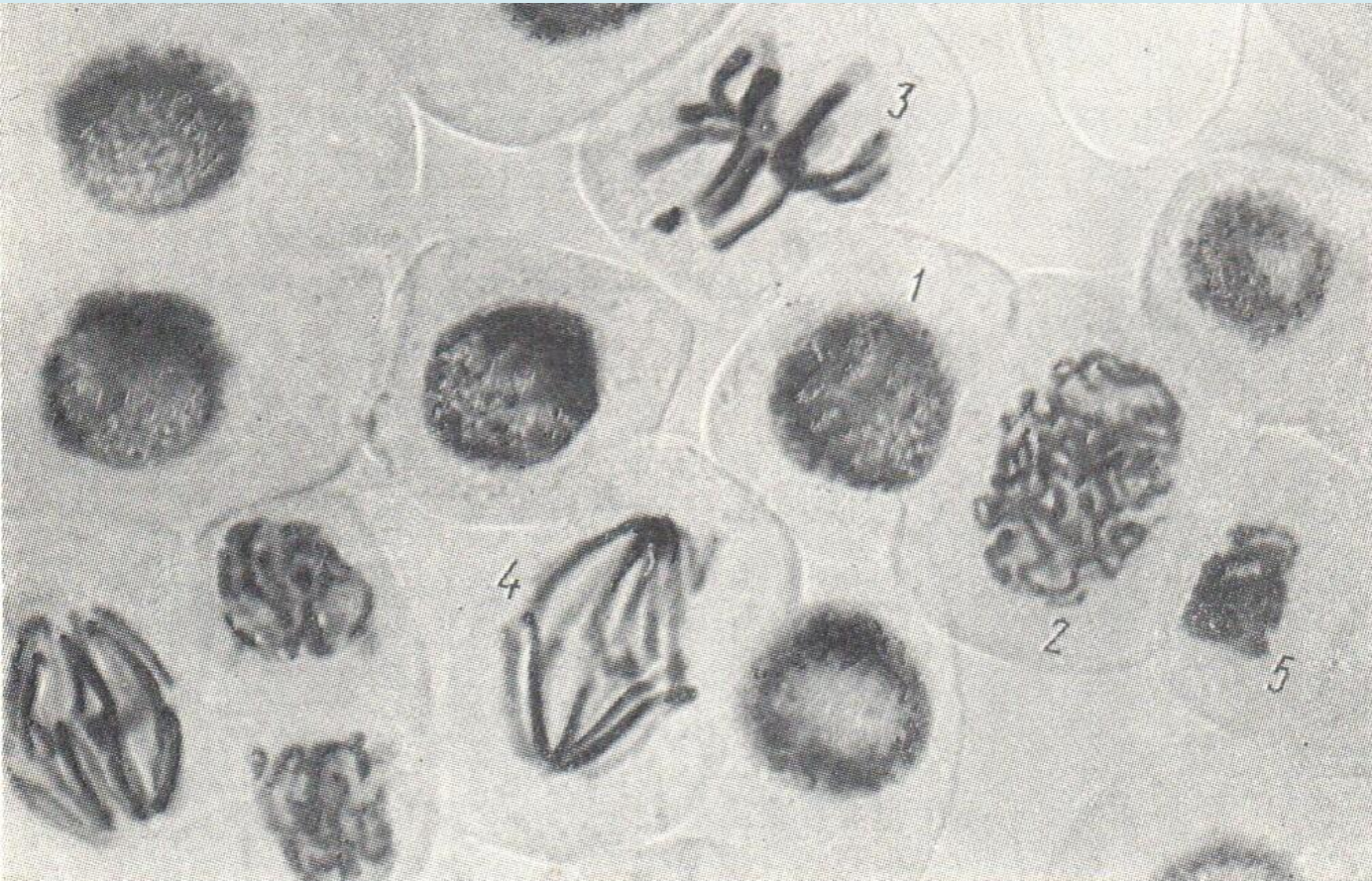
Соедините 4 г орсеина (порошок) с 90 мл ледяной (безводной) уксусной кислотой, нагреть до кипения (повторить 15 раз), добавить 110 мл дистиллированной воды и довести до кипения еще раз (повторить 15 раз). Охладить, профильтровать. Получается 2%-ный раствор ацетоорсеина



Ход работы

1. Настройте микроскоп. Столик должен быть опущен, свет сфокусирован в окуляре, диафрагма полностью открыта, установлено малое увеличение (4X10).
2. Разместите микропрепарат на предметном столике и поднимите его.
3. Глядя в окуляр, медленно с помощью макровинта опускайте столик до появления чёткого изображения.
4. Рассмотрите микропрепарат. Найдите ядра клеток с различными стадиями митоза.
5. Рассмотрите ядра клеток при большом увеличении (10X10). Зарисуйте их в соответствующих ячейках таблицы.
6. Подсчитайте число хромосом на метафазных пластинках. Укажите в таблице число хромосом в диплоидном наборе.
7. Сделайте описание процессов, происходящих в клетках в разные фазы митотического деления.

Поведение хромосом при митотическом делении в клетках растений



Митоз в клетках кончика
корешка боба

(*Vicia faba*):

1 – интерфаза;

2 – профаза;

3 – метафаза;

4 – анафаза,

5 – телофаза

Оформление результатов

Фаза митоза	Рисунок	Процессы в клетке
Профаза		
Метафаза		
Анафаза		
Телофаза		

Выводы

- Сделайте выводы:
- 1. Какие фазы митоза удалось наблюдать.
- 2. По какому главному признаку удалось распознать фазы митоза.
- 3. Сколько хромосом в диплоидном наборе у исследованного организма.

Поведение хромосом при мейотическом делении в клетках растений

- Биологическое значение мейоза:
 1. Благодаря редукции числа хромосом в результате мейоза в ряду поколений при половом размножении обеспечивается постоянство числа хромосом.
 2. Независимое распределение хромосом обеспечивает рекомбинацию генов, относящихся к одной группе сцепления (находящихся в одной хромосоме).
 3. Кроссинговер в профазе I мейоза обеспечивает рекомбинацию генов, относящихся к одной группе сцепления (находящихся в одной хромосоме).
 4. Случайное сочетание гамет при оплодотворении вкупе с вышеперечисленными процессами способствует генетической изменчивости.
- Мейоз состоит из двух последовательных делений, первое из которых называется редукционным, а второе – эквационным.

Методические примечания по наблюдению мейоза

Для приготовления цитологических препаратов в этом случае можно использовать пыльники многих растений: лука, ржи, лилии, традесканции, конских бобов.

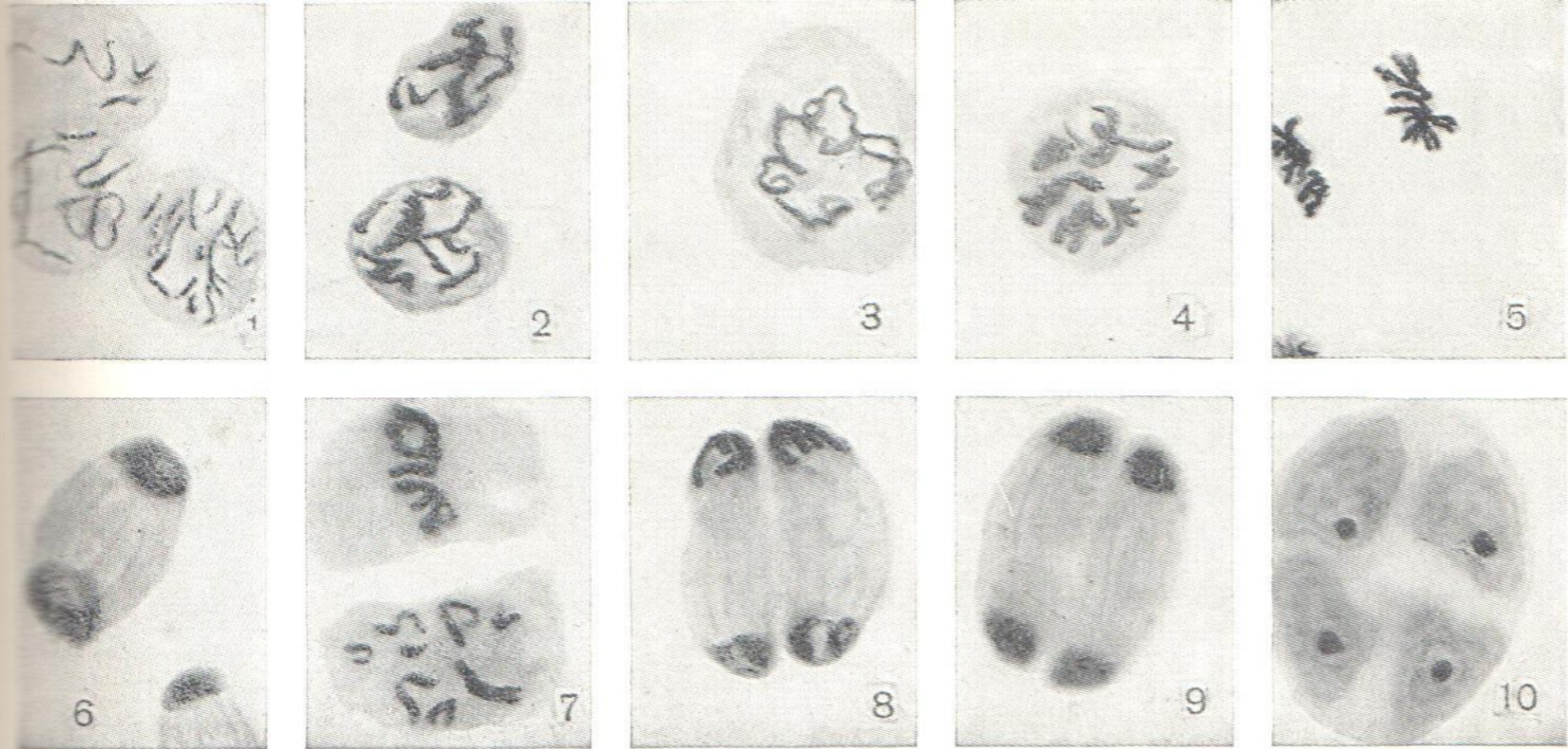
Материал для фиксации следует брать с учётом его биологии, то есть в то время, когда идёт мейоз в пыльниках. Например, у лука и лилии мейоз в пыльниках идёт в ещё не распустившемся бутоне, у ржи — в то время, когда колос находится ещё в трубке.

Число хромосом в диплоидном наборе

- у лука репчатого (*Allium cepa*) составляет 16,
- у ржи (*Secale cereale*) – 14,
- у традесканции (*Tradescantia virginiana*) – 24,
- у лилейных (*Lilium sp.*) – 24,
- у томата (*Lycopersicon esculentum*) – 24,
- у картофеля (*Solanum tuberosum*) – 48 (тетраплоид; у диких форм – 24).

Ход работы

1. Настройте микроскоп. Столик должен быть опущен, свет сфокусирован в окуляре, диафрагма полностью открыта, установлено малое увеличение (4X10).
2. Разместите микропрепарат на предметном столике и поднимите его.
3. Глядя в окуляр, медленно с помощью макровинта опускайте столик до появления чёткого изображения.
4. Рассмотрите микропрепарат. Найдите ядра клеток с различными стадиями мейоза. Видны разные стадии и фазы мейоза на срезах пыльников. Встречается асинхронность в стадиях в соседних гнездах одного пыльника.
5. Рассмотрите ядра клеток при большом увеличении (10X10 и более). Настройте чёткость изображения с помощью микровинта. Зарисуйте ядра клеток в соответствующих ячейках таблицы.
6. Подсчитайте число хромосом на метафазных пластинках.
7. Сделайте описание процессов, происходящих в клетках в разные фазы мейотического деления.
8. Укажите в таблице число хромосом и молекул ДНК на каждой стадии мейоза для этого вида растений.



Микрофотографии стадий мейоза в пыльниках лука (*Allium cepa*):

1 – 3 – профаза I (1 – лептотема, 2 – пахитема, 3 – диплотема); 4 – метафаза I; 5 – анафаза I;
6 – телофаза I; 7 – метафаза II; 8 – анафаза II; 9 – телофаза II; 10 – тетрада пыльцы

Оформление результатов

Фаза митоза	Рисунок	Процессы в клетке, количество хромосом и ДНК
Профаза I: лептотена		
Профаза I: зиготена		
Профаза I: пахитена		
Профаза I: диплотена		
Профаза I: диакинез		
Метафаза I		
Анафаза I		
Телофаза I		
Профаза II		
Метафаза II		
Анафаза II		
Телофаза II		

Сделайте выводы:

1. Какие фазы мейоза удалось наблюдать.
2. По какому главному признаку удалось распознать фазы митоза.
3. Сколько хромосом в диплоидном наборе и молекул ДНК в начале деления у исследованного организма.