

КАБИНЕТ 1. БОТАНИКА (24 балла).**ЗАДАНИЕ 1 (10 баллов). Изучение кариотипа цветкового растения.**

Изучение кариотипа растений (числа, формы и размеров хромосом) широко используется при проведении научных исследований в различных областях биологии и, в частности, в систематике растений. Данные о кариотипах различных таксонов имеют важное значение при установлении филогенетических связей между различными систематическими группами, выяснении их возможного происхождения и направлений эволюции, диагностике морфологически сходных видов и т.д.

Для хромосомного анализа используются интенсивно делящиеся клетки (меристематические ткани, эндосперм, микроспороциты и пыльцевые зерна), взятые у растений, находящихся в оптимальных условиях развития. Для изучения хромосом на стадии митоза используется меристематическая ткань молодых быстро растущих корней, стеблевая меристема конусов нарастания почек или меристема зачатков листьев.

Наиболее удобным материалом является меристема точки роста корня. Клетки меристемы корня крупнее, чем в меристеме стебля и листа, и метафазные хромосомы располагаются более свободно, что облегчает их изучение и подсчет. Определенная ориентация веретен митотических делений в корневой меристеме (параллельно продольной оси корешка) облегчает ориентировку объекта при изготовлении препарата. Корешки легче получить в любое время года из проросших семян или тронувшихся в рост луковиц.

Для хромосомного анализа часто готовят не микротомные срезы, а так называемые давленные препараты, содержащие монослой неповрежденных клеток. Методы приготовления таких препаратов получили название экспресс-методов из-за быстроты их приготовления (по сравнению с микротомными). При соответствующей обработке исходного материала они более удобны для кариологического анализа, так как позволяют изучать клетки целиком, без разрезания.

Изготовление давленных препаратов, содержащих монослой клеток, проводится в несколько основных этапов:

- 1) отбор и подготовка материала для исследования;
- 2) предфиксационная обработка (предобработка) живых объектов веществами, действующими на процесс митоза. Для этого меристематические клетки подвергают воздействию химических (колхицин, оксихинолин и др.) или физических (холодовая обработка) факторов, которые способствуют получению максимального количества клеток на стадии метафазы митоза, способствуют

лучшему разбросу хромосом, что облегчает их подсчет и изучение их морфологии;

- 3) фиксация;
- 4) мацерация (разрушение межклеточных пектиновых веществ, соединяющих клетки);
- 5) окрашивание;
- 6) раздавливание (получение монослоя клеток) и изучение кариотипа.

Вам предлагается выполнить заключительный, 6-ой этап, который будет включать приготовление давленного препарата и подсчет числа хромосом у предложенного Вам объекта.

При выполнении работы будьте осторожны и не допускайте попадания реактивов на кожу и одежду. Использованные предметные и покровные стекла, растительный материал складывайте в чашку Петри для грязной посуды, которая находится на Вашем столе.

Ход работы:

1. Приготовление монослоя клеток (раздавливание).

Хорошее качество препарата достигается получением монослоя клеток на предметном стекле. Для этого используют минимальный объем меристематической ткани (1–2 мм³). Раздавливание объекта производится в 45%-й уксусной кислоте. Все препаровальные работы с окрашенным материалом проводят на предметном стекле быстро, чтобы не допустить подсыхания объекта.

– Тщательно протрите предметное и покровное стекло с помощью сухого бинта (стекло должно быть чистое и прозрачное). Даже небольшой отпечаток пальца или пыль отрицательно сказывается на качестве препарата.

– Аккуратно достаньте иглой один окрашенный корешок из пробирки, поместите его в каплю уксусной кислоты на предметное стекло.

– Лезвием бритвы отрежьте апикальную зону деления (около 1 мм длиной), выделяющуюся от других зон корня более интенсивной, темной окраской, а все остальное удалите с предметного стекла кончиком фильтровальной бумаги. При необходимости добавьте еще одну небольшую каплю уксусной кислоты. Предметное стекло накройте покровным стеклом.

Раздавливание проводят в два этапа.

Вначале добиваются распределения клеток в монослой, надавливая кончиком спички сверху на покровное стекло и слегка расплющивая кусочек ткани, а затем легким постукиванием по покровному стеклу добиваются расхождения клеток. При этом на месте кусочка под покровным стеклом должно образоваться окрашенное пятно. Далее добиваются распластывания клеток между предметным и покровным стеклами. Для этого покровное стекло накрывают полоской фильтровальной бумаги, сложенной в несколько раз, и производят надавливание спичкой, начиная от центра, к периферии препарата,

затем придавливают стекло пальцем. Эта процедура способствует распластыванию клеток и хорошему разбросу хромосом. **Важно, чтобы при этих процедурах покровное стекло не двигалось, в противном случае клетки слипаются и сморщиваются.** Выступившие за границы покровного стекла излишки уксусной кислоты промокают фильтровальной бумагой.

2. Микроскопирование полученного препарата.

Для начального микроскопирования препаратов используют микроскоп с объективом «x10» и «x40» и искусственный осветитель, который должен быть включен на момент микроскопирования.

Расположите препарат на предметном столике микроскопа. Затем, глядя в окуляр, с помощью макровинта осторожно опускайте **объектив «x10»** до появления в поле зрения окрашенных клеток препарата. С помощью микровинта добейтесь максимальной четкости изображения. Далее для работы используйте поочередно объективы «x10» и «x40». Двигая предметный столик, найдите неразрушенные клетки которые на момент фиксации находились в стадии метафазы, с хорошо спирализованными, неперекрывающимися и имеющими хороший разброс хромосомами. Поместите одну из таких клеток в центр поля зрения микроскопа. Переведите микроскоп на малое увеличение (объектив «x10») и макровинтом дополнительно немного поднимите тубус микроскопа.

Дальнейшее микроскопирование проводится с помощью иммерсионной системы, для чего на предметное стекло в центр исследуемого препарата нанесите небольшую каплю иммерсионного масла и расположите препарат на предметном столике микроскопа. **Аккуратно** переведите микроскоп на увеличение «x100», так, чтобы при этом не коснуться капли масла. С помощью макровинта **ОСТОРОЖНО**, чтобы не раздавить стекло, опустите иммерсионный объектив «x100» таким образом, чтобы дотронуться до поверхности иммерсионного масла на покровном стекле. Затем, глядя в окуляр, медленно поднимайте объектив вверх с помощью макровинта до появления в поле зрения окрашенных клеток. С помощью **микровинта** добейтесь максимальной четкости изображения. Двигая предметный столик, найдите выбранную для изучения клетку.

Рассмотрите полученный давленный препарат, подсчитайте число хромосом у изучаемого объекта. Для получения точного результата лучше проанализировать 3–5 метафазных пластинок.

Запишите значение установленного диплоидного числа хромосом в квадрат — место для ответа:

$2n=$

ЗАДАНИЕ 2 (10 баллов). Изучение анатомического строения стебля хвоща.

Особенности анатомического строения стебля и веточек у хвощей широко используются для их диагностики, т.к. морфологические признаки у различных видов могут быть довольно сходными. Наиболее важными деталями анатомии побега являются количество ребрышек, степень выраженности и строение механической ткани, проводящих пучков, центральной и валлекулярных полостей, эпидермиса. Эти и другие признаки у некоторых видов различны у «весенних» и «летних» побегов, кроме того, количественные признаки (число ребрышек, каринальных полостей и т.д.) несколько варьируют в зависимости от возраста и местообитания растения.

Вам даны фрагменты стебля одного из видов хвощей. Приготовьте временный препарат его поперечного среза в области междоузлия. В стеблях хвощей содержится кремнезем, что несколько затрудняет приготовление препаратов.

Ход работы:

Для приготовления среза стебель помещают в оправку, зажав между двух половинок сердцевинки бузины. Оправку берут в руку, зажимая между большим и указательным пальцами, так, чтобы верхний конец оказался на уровне указательного пальца, а большой палец был несколько ниже. Бритву берут в другую руку и делают несколько поперечных срезов (каждый срез лучше готовить одним плавным скользящим движением). Поперечные срезы необходимо делать строго перпендикулярно к оси стебля. Кончиком иглы их помещают на предметное стекло в каплю воды.

Среди полученных поперечных срезов должны быть как цельные, захватывающие весь стебель (для изучения общего плана строения), так и сегменты, включающие проводящий пучок и периферические ткани (эти срезы должны быть возможно более тонкими, так как составляющие их элементы довольно мелкие).

2.1. (3 балла). Рассмотрите полученные срезы на малом увеличении микроскопа не накрывая их покровным стеклом. Из приготовленных срезов выберите лучшие. Остальные срезы и остатки бузины удалите с помощью иглы и фильтровальной бумаги. После этого накройте приготовленный препарат покровным стеклом. При необходимости добавьте каплю воды.

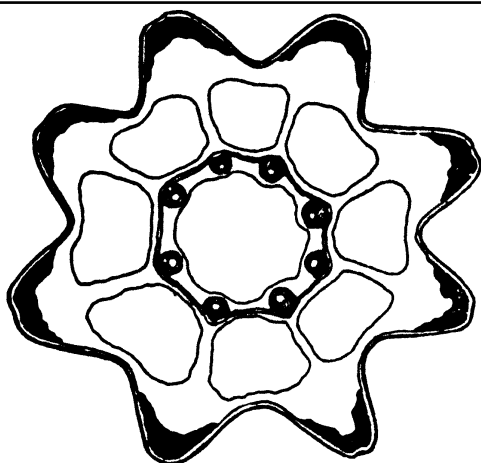
Когда препарат будет готов, поднимите руку – преподаватель оценит качество приготовления среза и выставит оценку.

Оценка за срез:

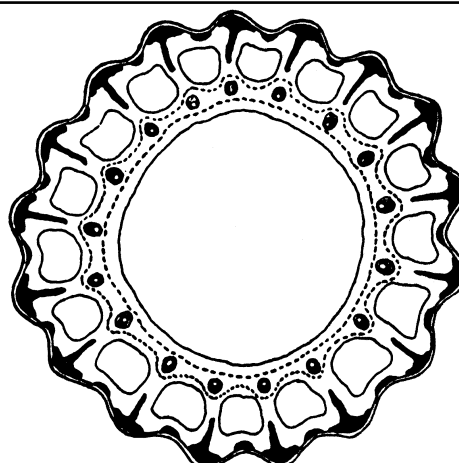
2.2. (4 балла). Изучите полученный препарат под микроскопом. Сравните его с представленными ниже рисунками строения стебля у различных видов хвощей. К какому виду относится приготовленный вами препарат стебля хвоща. Запишите данные Вашего определения.

Приготовленный препарат
соответствует рисунку под номером:

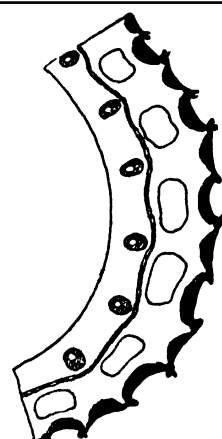
и относится к виду:



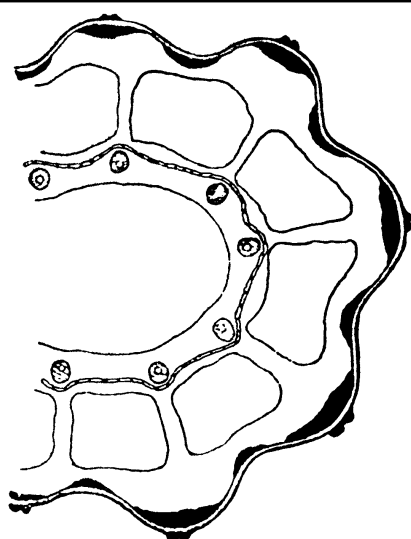
№ 1. Хвощ болотный



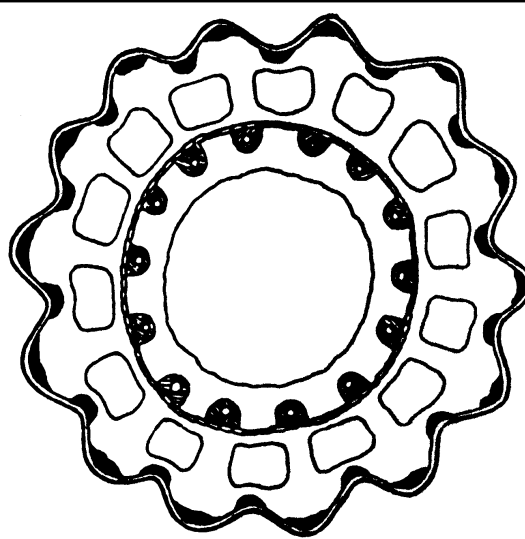
№ 2. Хвощ зимующий



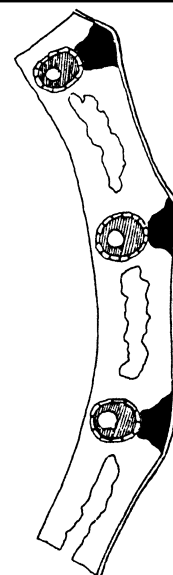
№ 3. Хвощ
лесной



№ 4. Хвощ луговой

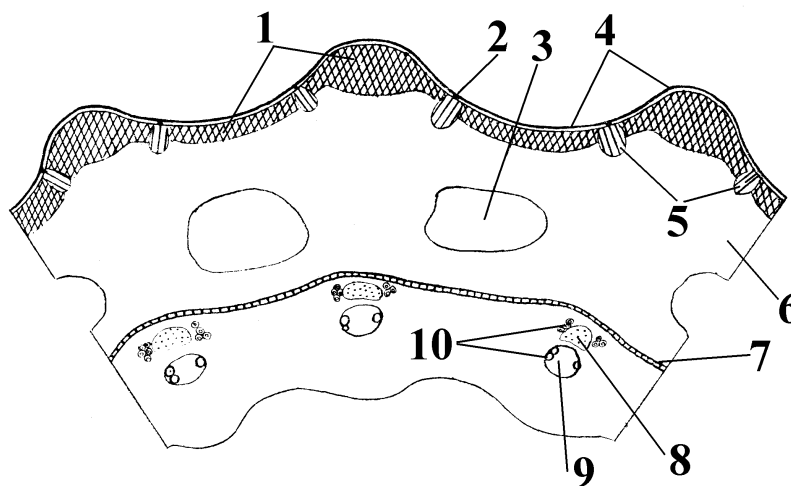


№ 5. Хвощ полевой



**№ 6. Хвощ
топяной**

2.3. (3 балла, по 0,3 за позицию). На представленном ниже схематическом рисунке анатомического строения стебля одного из видов хвоща под номерами 1–5 обозначены различные структуры, некоторые из которых можно увидеть и на Вашем препарате. Запишите, как они называются.



№ 1 _____

№ 2 _____

№ 3 _____

№ 4 _____

№ 5 _____

№ 6 _____

№ 7 _____

№ 8 _____

№ 9 _____

№ 10 _____

ЗАДАНИЕ 3 (4 балла). Определение систематической принадлежности растения с использованием дихотомических определительных ключей.

С помощью «Определителя» определите систематическую принадлежность предложенного Вам растения. Для определения используйте, лупу, биноклярный микроскоп, препаровальные иглы. Правила определения растений с помощью дихотомических ключей стандартны и изложены на страницах 8–9 «Определителя», морфологические термины – на страницах 8–15.

Результаты определения (**латинские** названия семейства, рода и вида к которому относится определяемое растение) внесите в предложенную ниже таблицу.

Семейство	<i>1 балла</i>
Род	<i>1 балла</i>
Вид	<i>2 балла</i>