

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
«ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»**



**Навчально-науковий інститут природокористування
Кафедра екології та технологій
захисту навколишнього середовища**

І.І. Клімкіна, В.В. Федотов

**ЦИТОЛОГІЯ З ОСНОВАМИ ГІСТОЛОГІЇ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

до виконання лабораторних робіт для студентів освітньо-професійної програми
«Біологія» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
зі спеціальності 091 «Біологія»

Дніпро
НТУ «ДП»
2020

Цитологія з основами гістології. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів освітньо-професійної програми «Біологія» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 091 «Біологія» [Текст] / І.І. Клімкіна, В.В. Федотов; НТУ «Дніпровська політехніка». — Дніпро: НТУ «ДП», 2020. — 49 с.

Автори:

І.І. Клімкіна, канд. біол. наук, доц.;

В.В. Федотов, ас.

Затверджено методичною комісією зі спеціальності 091 «Біологія» (протокол № 6 від 05.10.2020 р.) за поданням кафедри екології та технологій захисту навколишнього середовища (протокол № 1 від 08.09.2020 р.).

Методичні матеріали призначені для підготовки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Цитологія з основами гістології» студентами освітньо-професійної програми «Біологія» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 091 «Біологія».

Відповідальний за випуск завідувач кафедри екології та технологій захисту навколишнього середовища, д-р техн. наук, проф. А.В. Павличенко

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Дані методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Цитологія з основами гістології» призначаються студентам спеціальності 091 «Біологія». Методичні рекомендації призначені для закріплення теоретичних знань, набутих студентами в лекційному курсі.

Методичні рекомендації включають лабораторну роботу, текст якої викладено за типовою структурною схемою – тема, мета роботи, подання теоретичних положень за темою, завдання для самостійного виконання та питання для самоконтролю.

В результаті вивчення курсу студенти повинні:

- *знати* про клітинні та неклітинні форми життя, будову та функції прокариотичних й еукаріотичних клітин; хімічну організацію клітин; обмін речовин і перетворення енергії в клітині; типи розмноження та особливості розвитку живих організмів в онтогенезі; різноманіття тваринного та рослинного світу; біологічні та екологічні особливості і групи тварин і рослин; реакції живих організмів різного рівня організації на вплив факторів навколишнього середовища тощо;

– *вміти*: розпізнавати і розуміти відмінності у будові та функціонуванні прокариотичних та еукаріотичних клітин; розуміти особливості організації та функціонування неклітинних форм життя; розуміти поняття і вміти пояснювати особливості мікроскопічної та субмікроскопічної будови, закономірностей розвитку, регенераторних можливостей клітин, тканин та органів тваринного організму; розуміти принцип поєднання структури і функції органел, клітин і тканин; розуміти та вміти визначати морфологічні особливості ембріогенезу; розрізняти гістологічні особливості будови тканин та органів тваринного та рослинного організму.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Тема: Світловий мікроскоп: будова, принцип роботи, правила експлуатації.

Мета роботи: Ознайомитись з принципом роботи, будовою, різновидами та правилами експлуатації мікроскопів.

Матеріали й обладнання: мікроскопи типу МБР-1 або «Біолам», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, предметні й покривні скельця, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода; готові препарати біологічного матеріалу.

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 розрізнявальної здатності людського ока.

Мікроскоп біологічний робочий МБР-1 (рис. 1.1, А). Мікроскоп цієї марки широко використовується у навчальних, біологічних і медичних лабораторіях. Він дає збільшення від 56 до 1350 разів.

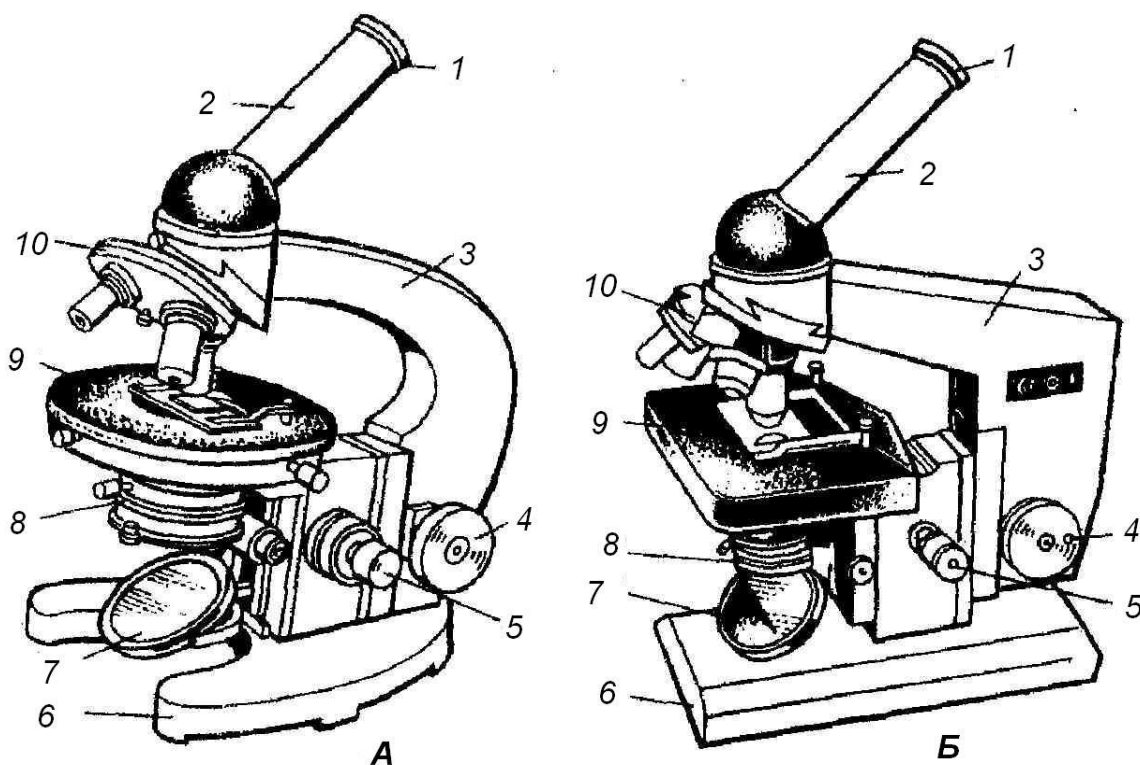


Рис. 1.1. Світлові мікроскопи, будова:

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



А



Б

Рис. 1.2. Зовнішній вигляд світлових мікроскопів:
А – МБР-1; Б – «Біолам»

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.

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 утвинчують 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 використовують об'єктиви х8 або х10 і х40.

Якість об'єктива визначає його *розрізнявальну 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, *розрізнявальна* здатність ока людини дорівнює 150 мкм. Природно, чим більша розрізнявальна здатність об'єктива, тим чіткіше видно дрібніші елементи спостережуваного об'єкта. Для об'єктива x8 розрізнявальна здатність дорівнює 1,68 мкм, для об'єктива x40 – 0,52, для об'єктива x90 – 0,27 мкм. Величину розрізнявальної здатності позначено на кожному об'єктиві. На показник розрізнявальної здатності впливає діаметр фронтальної лінзи – чим він менший, тим більша її розрізнявальна здатність.

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: x7, x10, x15.

Для визначення *загального збільшення* мікроскопа необхідно помножити збільшення об'єктива на збільшення окуляра (наприклад, 90x10).

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 використовують 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 налаштування, 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'єтивів. 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 нарізкою, й зубчастим колесом – гвинтом грубого налаштування.

Гвинт грубого налаштування 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. 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»).
2. Засвоїти найважливіші правила роботи з мікроскопом.

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 увігнутих 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 досліджуваній 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 клеммами.

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

Контрольні питання

1. У чому полягає принцип роботи світлового мікроскопа?
2. Які існують різновиди мікроскопів?
3. Від яких частин оптичної системи залежить виявлення дрібних деталей структури об'єкта?
4. Чому не можна, дивлячись в окуляр мікроскопа, обертати гвинт грубого налаштування від себе (опускати об'єктив)?
5. Як можна перейти від малого збільшення мікроскопа до великого?
6. За яких умов та з якою метою і яким чином використовують мікрогвинт у мікроскопі?
7. Яким чином готують мікроскоп до зберігання після закінчення роботи?

Додаткові питання для самостійного вивчення

1. Розрізнявальна здатність оптичного пристрою.
2. Корисне і некорисне збільшення.
3. Кутовий розмір об'єктів, що ми бачимо.
4. Трансмісійний електронний мікроскоп.
5. Скануючий електронний мікроскоп.
6. Роботи А. Левенгука.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

Тема: Виготовлення тимчасових препаратів для мікроскопічного дослідження.

Мета роботи: Засвоїти методику виготовлення тимчасових біологічних препаратів.

Матеріали й обладнання: мікроскопи типу МБР-1 або «Біолам», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, предметні й покривні скельця, препарувальна голка, пінцет, скляна паличка, фільтрувальний папір, дистильована вода; біологічний матеріал: вегетативні органи рослин (стебло, листок герані, фіалки тощо).

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*.

Завдання

1. Оволодіти методикою виготовлення тимчасових біологічних препаратів.

3. Вивчити правила замальовування досліджуваних біологічних об'єктів.

Порядок виконання роботи

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.

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 доповнюють пояснювальними написами (рис. 2.1).

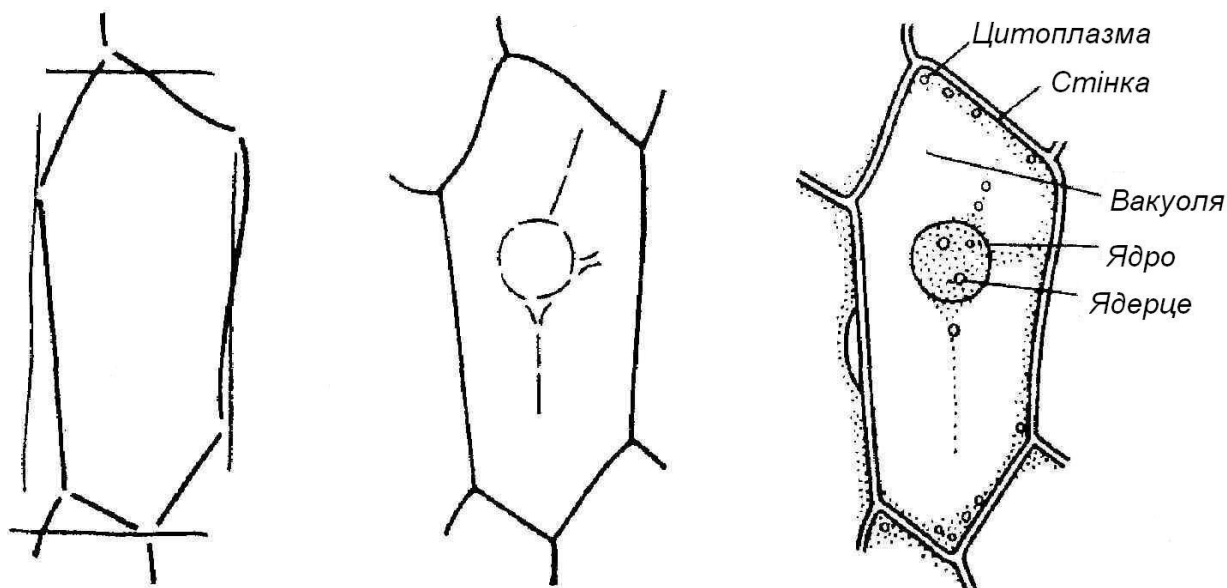


Рис. 2.1. Послідовні етапи побудови рисунка біологічного об'єкта

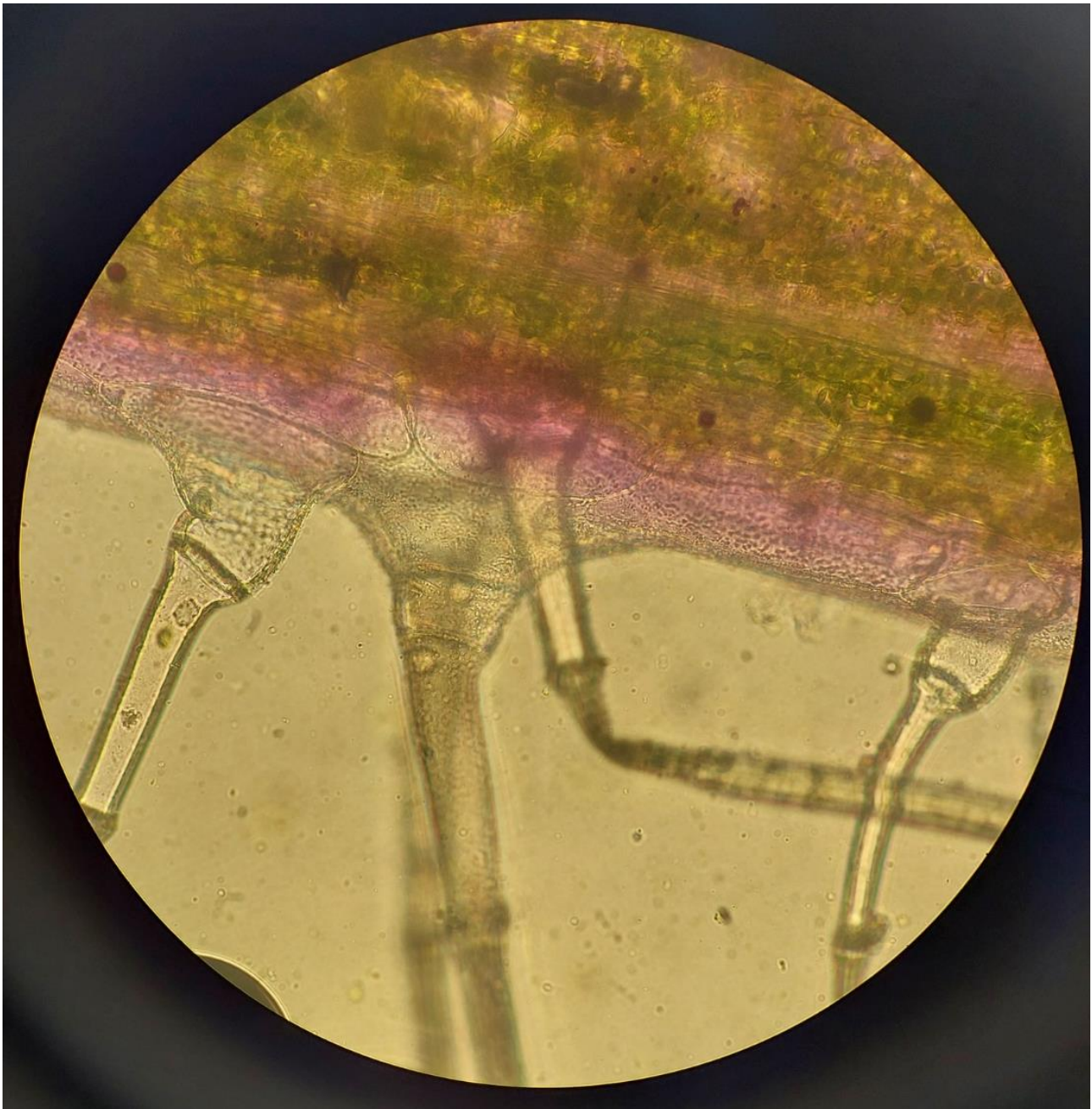
При вивченні мікроскопічної будови органів рослин великого значення набуває вміння виконувати *схематичний* рисунок. На ньому елементи тканин наносять у вигляді умовних позначок, без вимальовування окремих клітин. При цьому неухильно дотримуються пропорцій між розмірами окремих тканин. Схема може бути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

На рис. 2.2 тимчасовий препарат клітин листа з ворсинками традесканції.

Додаткові питання для самостійного вивчення (відповіді слід написати у зошиті):

1. Різновиди мікропрепаратів.
2. Технологія виготовлення постійних препаратів.
3. Виготовлення мікрорізів на мікротомі.



**Рис. 2.2 Тимчасовий препарат клітин листа з ворсинками традесканції.
Мікрофотографія x400**

Контрольні питання

1. Чим відрізняється тимчасовий біологічний препарат від постійного?
2. Для чого потрібне покривне скельце при мікроскопічному дослідженні біооб'єктів?
3. Чому предметні й покривні стекла для мікроскопічного дослідження обов'язково повинні бути певної товщини?
4. Чи можна постійний біологічний препарат класти на предметний столик мікроскопа покривним склом униз?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

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», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, 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).

Будову клітин вивчає наука цитологія, підґрунтям якої є *клітинна теорія*:

- клітина – основна структурно-функціональна і генетична одиниця живих організмів, найменша одиниця живого;
- клітини всіх одноклітинних і багатоклітинних організмів схожі за будовою, хімічним складом і найважливішими виявами процесів життєдіяльності;
- кожна нова клітина утворюється в результаті поділу материнської клітини;
- клітини багатоклітинних організмів спеціалізовані: вони виконують різні функції і утворюють тканини.

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 нуклеїді (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 мкм (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 вакуоль, 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 концентричними 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.

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. 3.1, Б).

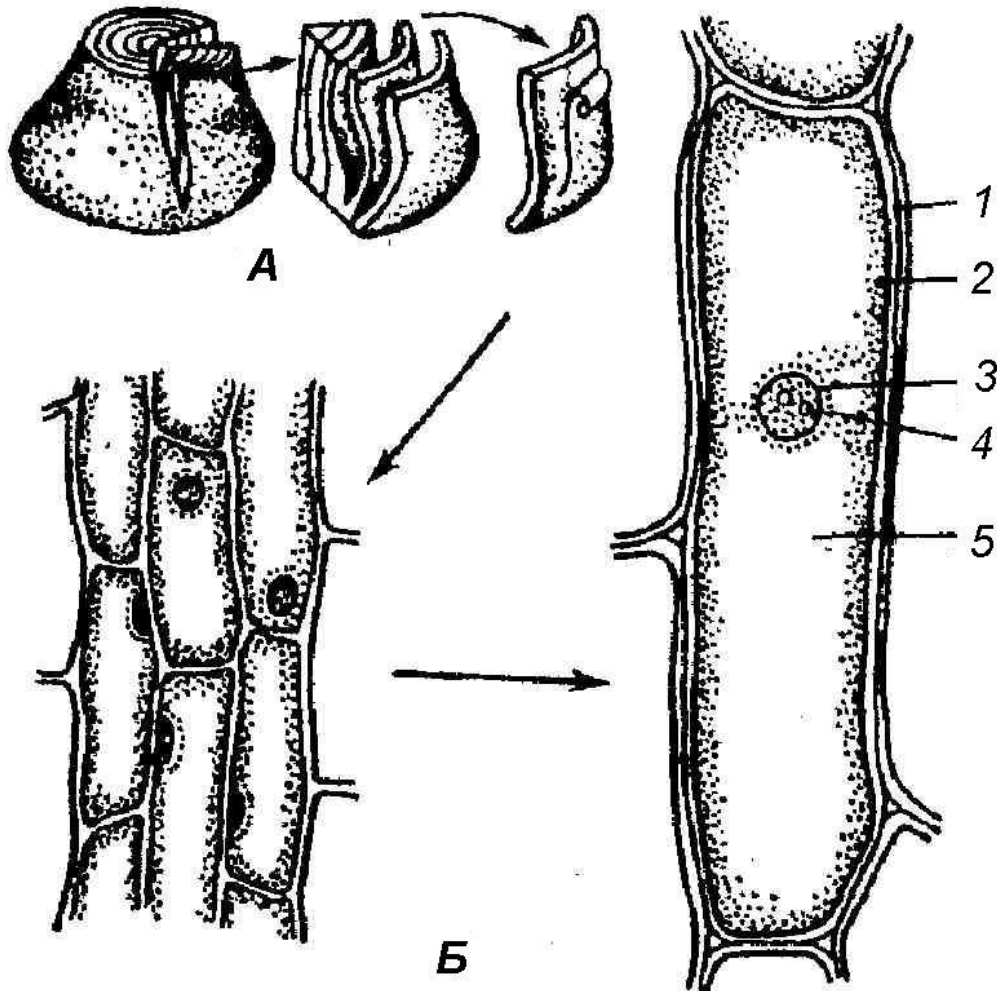


Рис. 3.1. Епідерма соковитої луски цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.):
 А – зняття епідерми; Б – клітини епідерми соковитої луски (праворуч – при великому збільшенні, ліворуч – при малому): 1 – стінка клітини, 2 – цитоплазма, 3 – ядро, 4 – ядерце, 5 – вакуоля

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.

На рис. 3.2 наведений приклад схематичного зображення рослинної клітини.



Рис. 3.2. Схематичне зображення рослинної клітини

На рис. 3.3 наведений препарат соковитої луски цибулі у розчині люголю.



Рис. 3.3 Препарат соковитої луски цибулі у розчині люголю.
Мікрофотографія x200

Питання для самостійного вивчення:

1. Основні положення клітинної теорії.
2. Цитоплазма. Цитоплазматична мембрана.
3. Клітинна стінка.
4. Ендоплазматична сітка.
5. Рибосоми.
6. Апарат Гольджі.
7. Лізосоми.
8. Вакуоль.
9. Мітохондрії.
10. Функції ядра та його будова.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

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», мікроскоп Olympus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, 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 моху мніуму (*Mnium cuspidatum* Hedw.), листки моху мніуму, витримані на світлі й знебарвлені спиртом; у разі відсутності моху мніуму 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 моху мніуму.
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 моху мніуму, 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. 4.1, А, Б).

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.4.1, В). Після нанесення на препарат кількох крапель розчину йоду в йодиді калію хлоропласти стають більш помітними (рис. 4.1, 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.

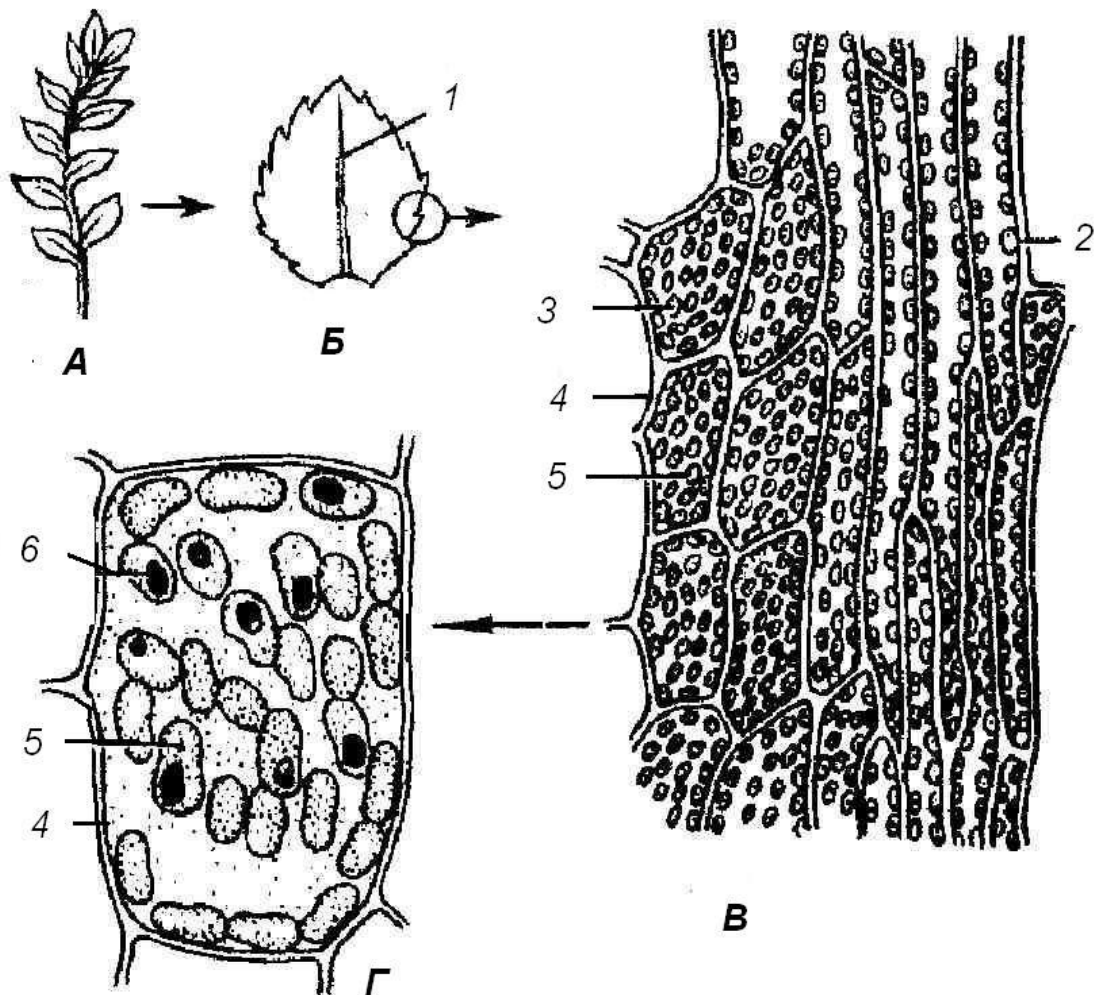


Рис. 4.1. Листок моху мніуму (*Mnium cuspidatum* Hedw.):

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

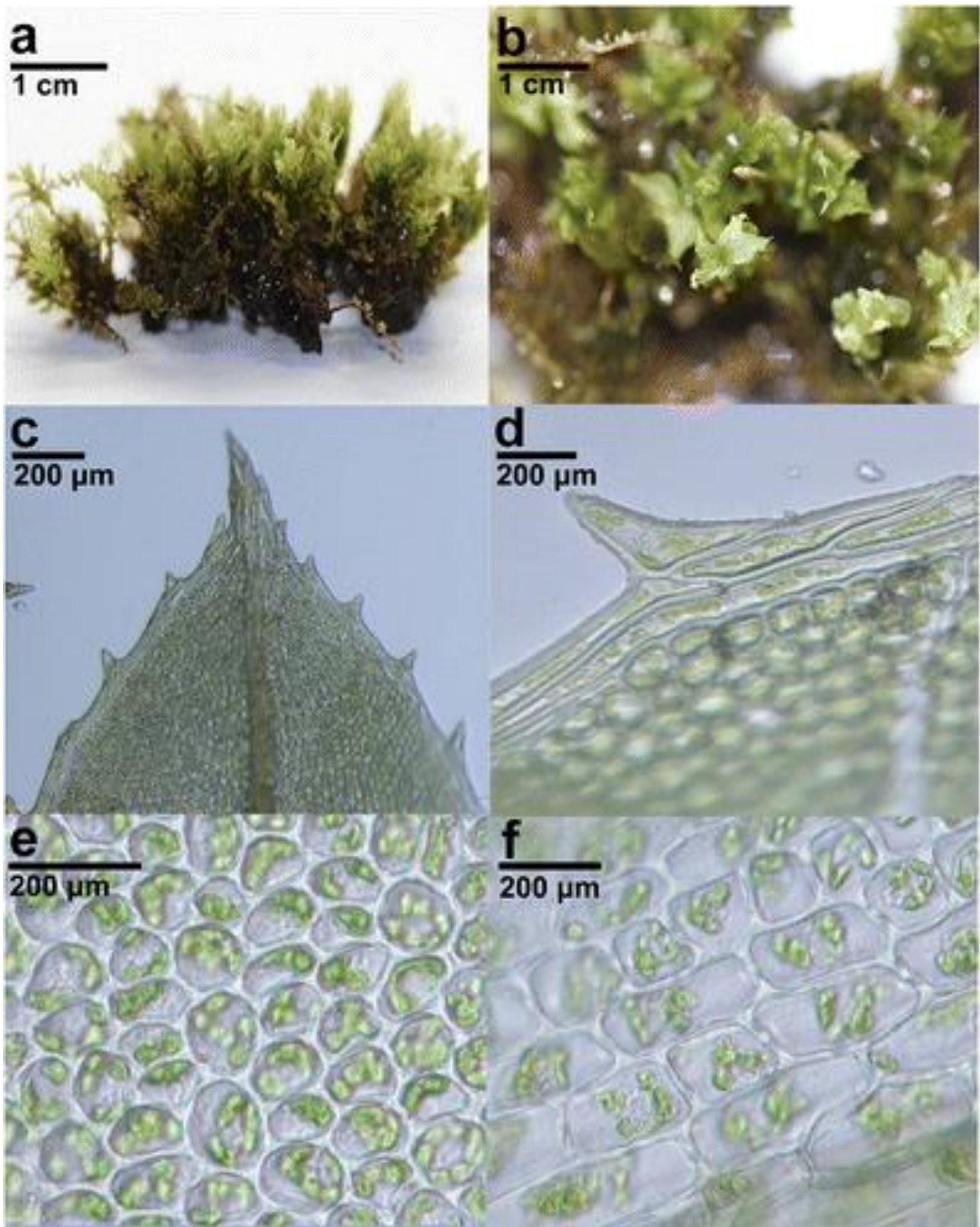
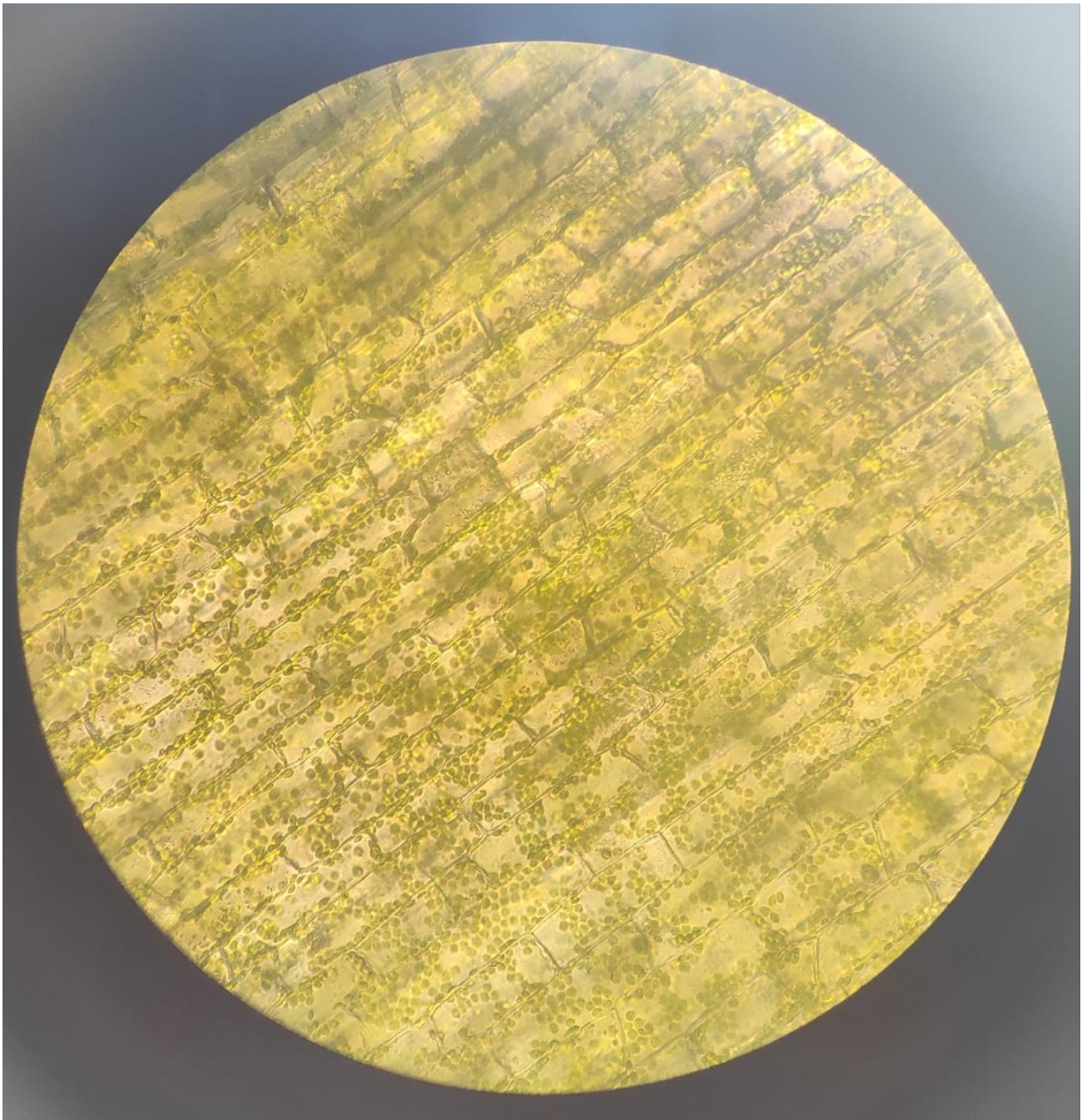


Рис. 4.2. Листок моху мніуму (*Mnium cuspidatum* Hedw.) під мікроскопом

На рис. 4.3 наведені хлоропласти в клітинах листа валіснерії. Мікрофотографія x200



**Рис. 4.3. Хлоропласти в клітинах листа валіснерії.
Мікрофотографія x200**

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 № 5

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», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, 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. 5.1).

У клітинах м'якоті зрілих плодів ядер не видно, їх можна виявити тільки після спеціального фарбування.

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

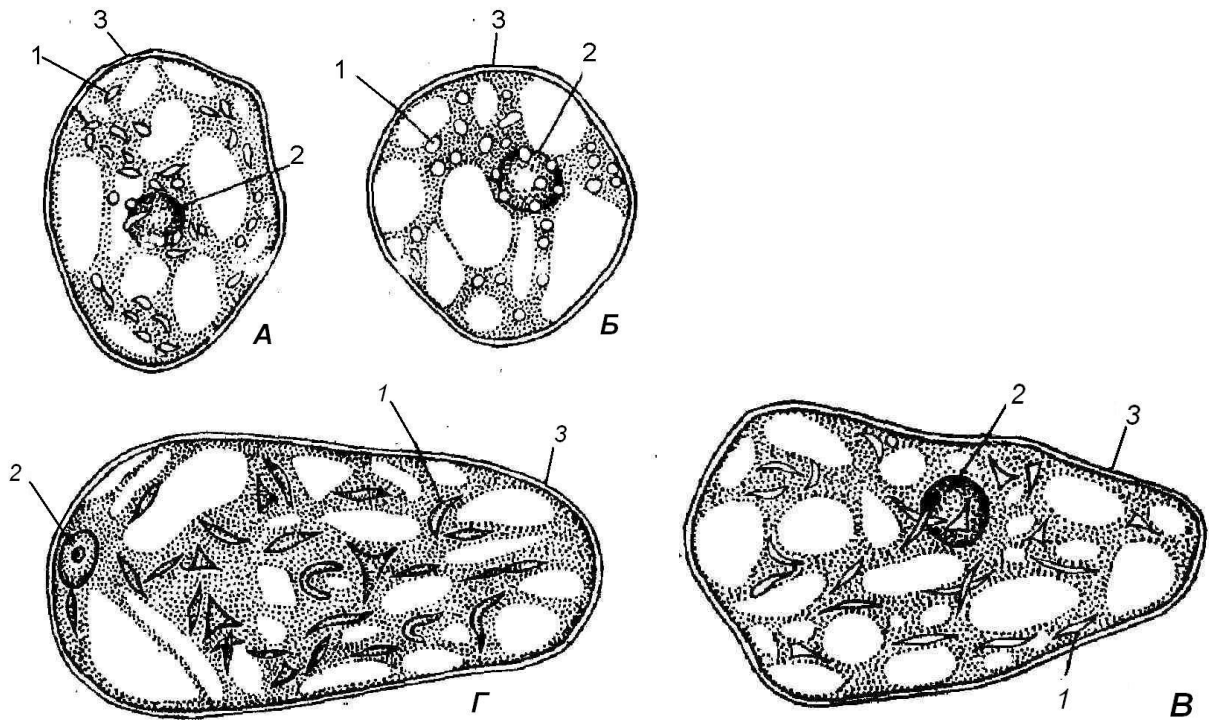


Рис. 5.1. Клітини м'якоті зрілих плодів:

A – 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

На рис. 5.2. наведений препарат клітин плоду шипшини, а на рис. 5.3 - препарат клітин плоду червоного перцю.

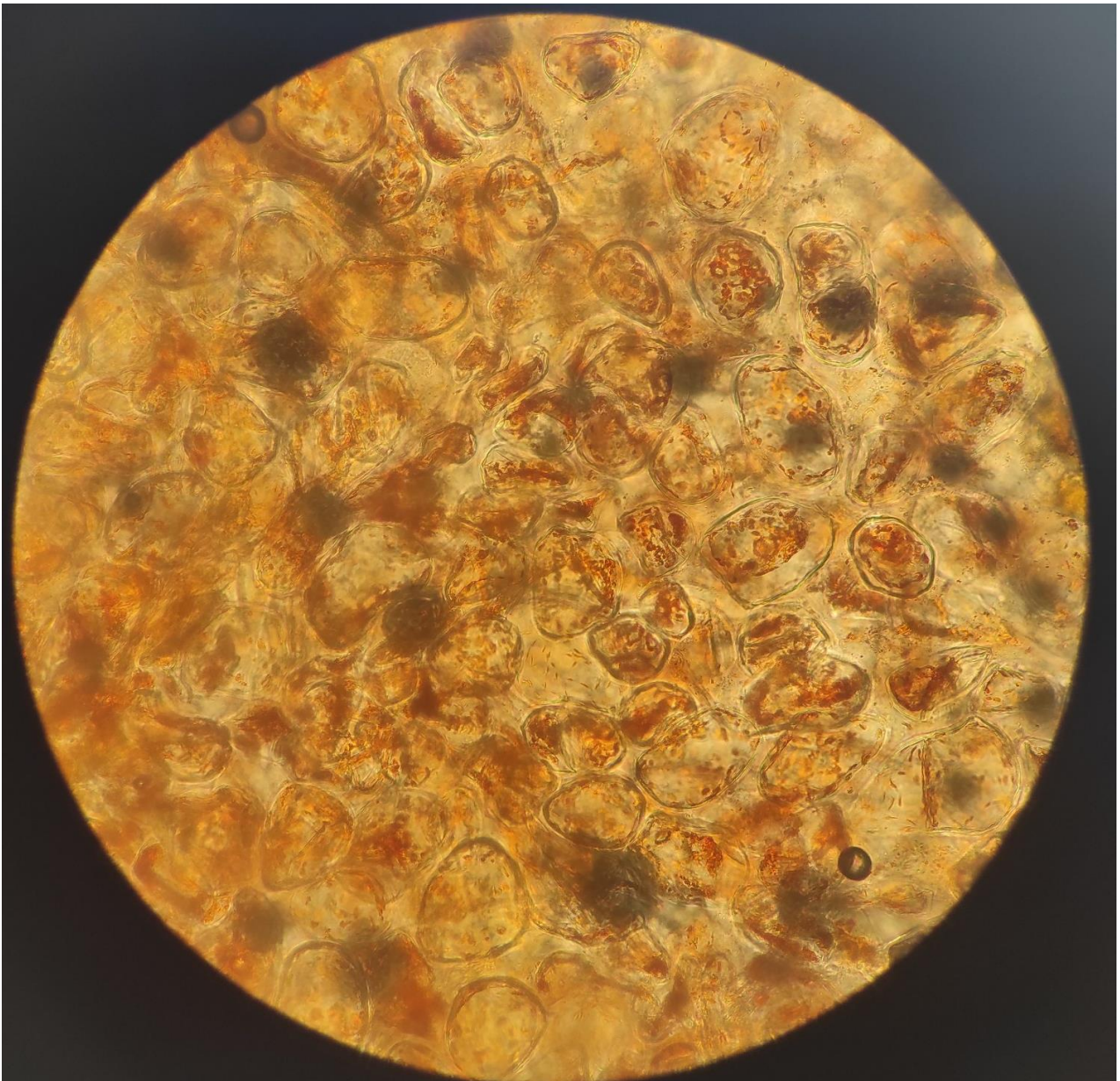


Рис. 5.2. Препарат клітин плоду шипшини. Мікрофотографія x200

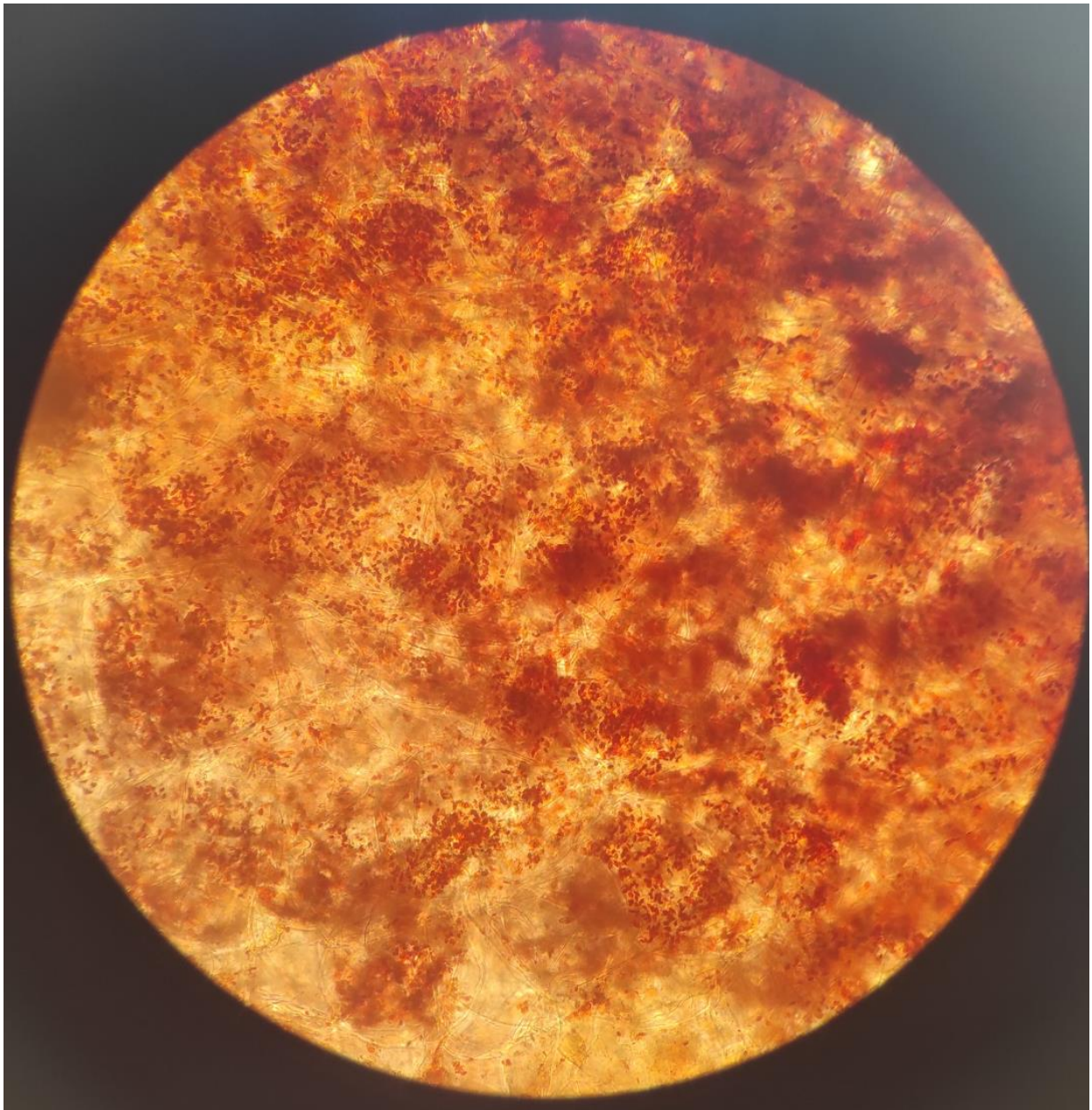


Рис. 5.3. Препарат клітин плоду шипшини. Мікрофотографія x200

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 № 6

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», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, 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. 6.1).

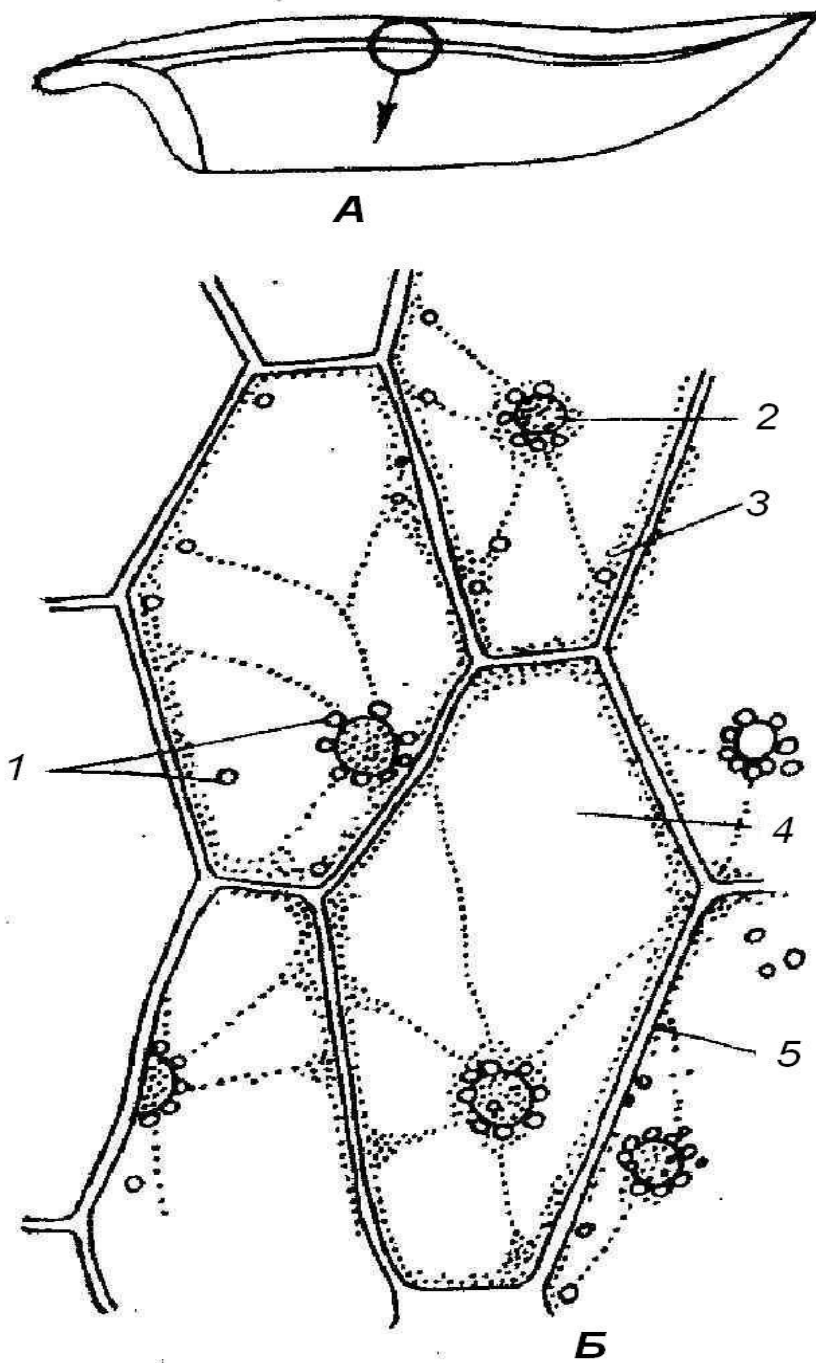


Рис. 6.1. Епідерма листка традесканції зеленої (*Tradescantia viridis* Hort. ex Gentil):

A – зняття епідерми; *Б* – клітини епідерми:

1 – лейкопласти, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – вакуоля, 5 – стінка клітини

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

На рис. 6.2 наведені лейкопласти в клітинах листа традесканції.



**Рис. 6.2. Лейкопласти в клітинах листа традесканції.
Мікрофотографія x400**

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 № 7

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», мікроскоп Olympus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, 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. 7.1). Хромосоми в ядрі великою мірою деконденсовані, а тому фарбування їх не виявляє.

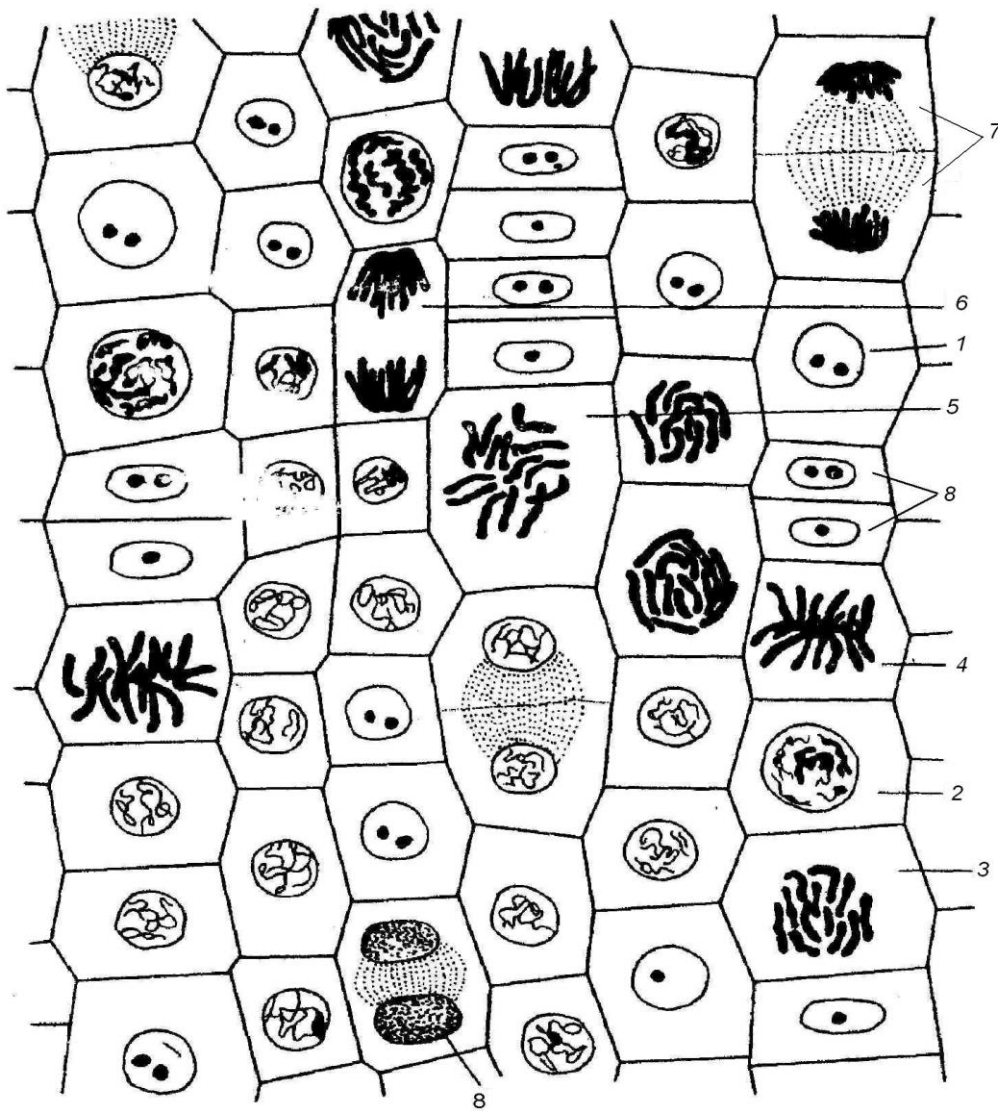


Рис. 7.1. Мітотичний цикл у клітинах кінчика кореня цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.):

1 – інтерфаза; 2, 3 – профаза; 4, 5 – метафаза; 6 – анафаза; 7, 8 – телофаза (8 – цитокінез)

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. 7.1). 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.

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 утворюються 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 утворюють поперечну перегородку, яка розмежує 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.).

На рис. 7.2 зображений Мітотичний цикл у клітинах кінчика кореня цибулі ріпчастої (*Allium* сера L.) під мікроскопом.

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 хромосом 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.

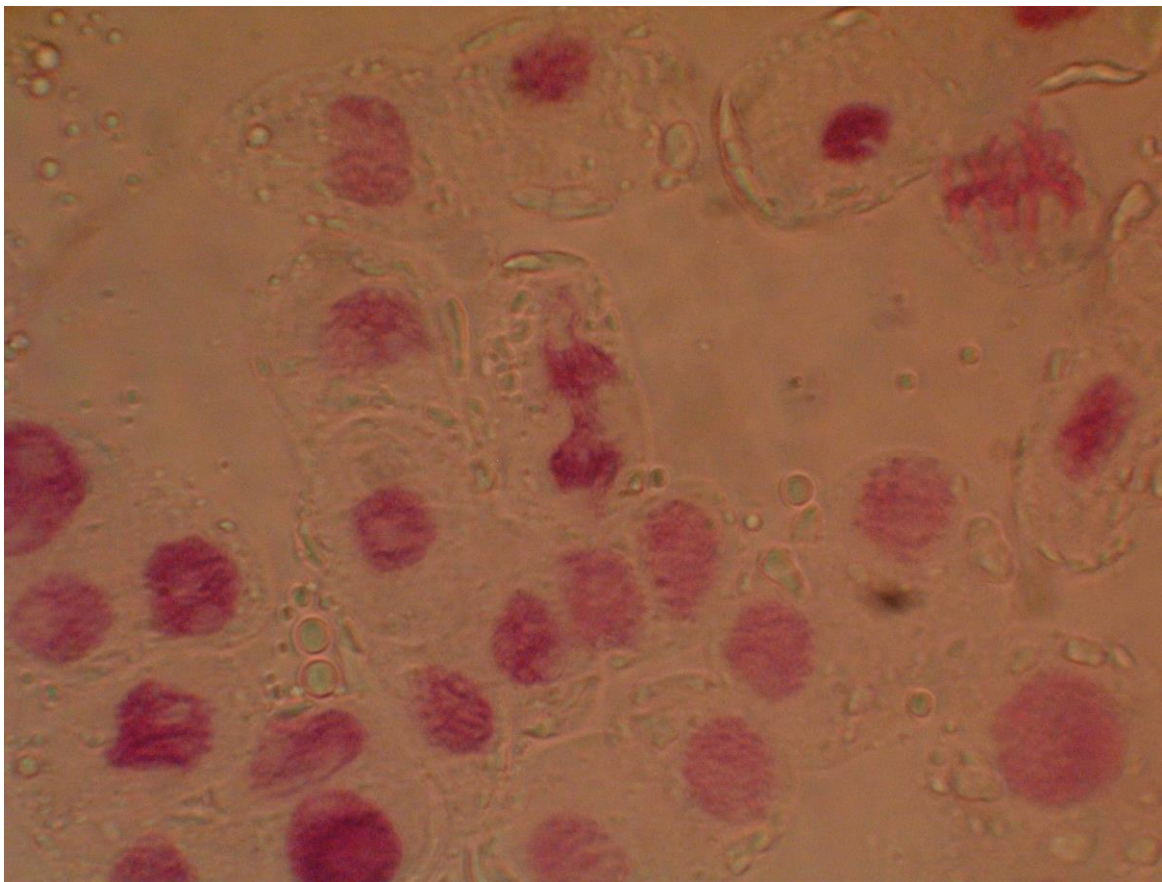
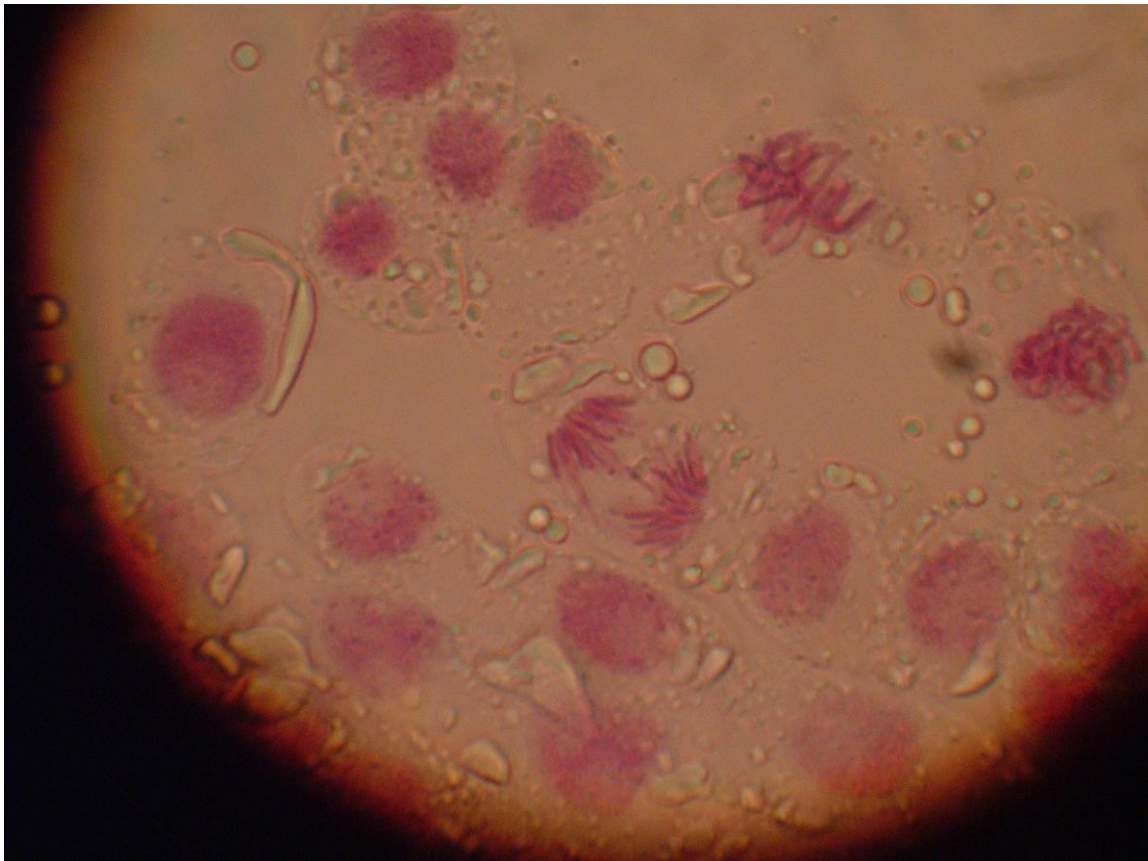


Рис. 7.2. Мітотичний цикл у клітинах кінчика кореня цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.) під мікроскопом

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

Тема: Внутрішнє середовище організму. Функція та цитологія крові людини.

Мета роботи: Ознайомитися з функціями тканинної рідини, лімфи і крові, що складають внутрішнє середовище організму, особливостями формених елементів крові; розглянути під мікроскопом препарати крові людини, визначити в них еритроцити, лейкоцити і тромбоцити; вивчити принципи виділення груп крові і переливання крові.

Матеріали й обладнання: Мікроскопи типу МБР-1 або «Біолам», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta, препарати крові людини, ящірок та жаб, кольорові малюнки і фотографії елементів крові в нормі та патології.

Клітини організму потребують постійного притоку поживних речовин і кисню, а також безперервного видалення продуктів їх життєдіяльності. У вищих тварин і людини *внутрішнє рідке середовище організму* утворене *кров'ю, тканинною рідиною (плазмою) і лімфою*. Воно зберігає відносну незмінність свого складу – фізичних і хімічних властивостей (*гомеостаз*), що забезпечує стійкість усіх функцій організму.

Кров – рідка сполучна тканина, непрозора рідина червоного кольору, в'язкість якої в чотири-п'ять разів більше в'язкості води. Вона має слаболужну реакцію. В організмі дорослої людини міститься близько 5 л крові, що становить 7-8% маси тіла.

Рідка частина крові – *плазма*, проходить крізь стінки найтонших кровоносних судин – капілярів, і утворює міжклітинну, або *тканинну*, рідину. Ця рідина омиває всі клітини тіла, віддає їм поживні речовини і забирає продукти обміну речовин. В організмі людини тканинної рідини до 20 л. Велика частина цієї рідини повертається в кровоносні капіляри, а менша, проникаючи в закриті з одного кінця лімфатичні капіляри, утворює *лімфу*.

Лімфа по лімфатичних судинах збирається до грудного протоку і через нього потрапляє в кров. Лімфа очищає організм від речовин, які не можуть всмоктатися прямо в кров. Ці «надлишки» збираються в лімфу, а потім разом з нею вливаються в кров'яне русло. У лімфі міститься велика кількість *лімфоцитів* – білих кров'яних клітин особливого типу, які знешкоджують мікроорганізми і ракові клітини.

Кров забезпечує життєдіяльність організму і виконує наступні важливі *функції*:

- 1) **живильну** – переносить від органів травлення до всіх клітин тіла поживні речовини;
- 2) **видільну** – виносить від клітин і тканин організму до видільних органів продукти розпаду і окислення;
- 3) **дихальну** – доставляє клітинам кисень і забирає від них вуглекислий газ;
- 4) **захисну** – знешкоджує шкідливі мікроорганізми та різні отруйні продукти;
- 5) **регуляторну** – переносить гормони, що регулюють обмін речовин і роботу різних органів.

Всі ці функції часто об'єднують загальною назвою – транспортна функція крові. Крім того, кров підтримує постійність внутрішнього середовища організму – температуру, сольовий склад, реакцію середовища і т.п.

Більше половини обсягу крові (55-60%) займає *плазма*, решту становлять *формені елементи крові*, або кров'яні тільця, – *еритроцити*, *лейкоцити* і *тромбоцити*.

Еритроцити, або червоні кров'яні тільця, – клітини крові, які містять кров'яний пігмент – *гемоглобін*. У більшості хребетних тварин в еритроцитах є ядро, але у людини та інших ссавців еритроцити без'ядерні. Форма еритроцитів – диск з увігнутою серединою. Діаметр еритроцитів людини становить 7-8 мкм, в 1 мм³ крові їх міститься 4,5-6 млн. (табл. 8.1).

Таблиця 8.1. Формені елементи крові

Формені елементи	Наявність ядра	Число в 1 мм ³ крові	Функція
Еритроцити	немає	4,5-6 млн.	перенос кисню
Лейкоцити	є	5-8 тис.	захисна
Тромбоцити	немає	200-400 тис.	згортання крові

Еритроцити протягом усього життя людини утворюються в червоному кістковому мозку і постійно руйнуються в печінці і селезінці. Кількість еритроцитів в організмі є більш-менш постійною величиною. Тривалість їх життя – 3-4 місяці.

Функція еритроцитів полягає в перенесенні кисню і частково вуглекислого газу. Цю функцію еритроцити виконують завдяки наявності в них гемоглобіну – білкової речовини, пов'язаної з атомом заліза. У 100 мл крові людини міститься в середньому людини 14 г гемоглобіну.

При зменшеній кількості еритроцитів в крові або гемоглобіну в еритроцитах у людини розвивається *недокрів'я*: кров погано насичується киснем, тому органи і тканини отримують недостатню його кількість (*гіпоксія*).

Лейкоцити, або білі кров'яні тільця, – клітини діаметром 8-30 мкм, непостійної форми. Вони мають ядро, занурене в безбарвну цитоплазму. Нормальна кількість лейкоцитів у крові – до 6-8 тис. в 1 мм³ (табл. 1). За будовою лейкоцити поділяють на кілька груп, кожна з яких виконує певні функції. Лейкоцити живуть кілька днів. Нові лейкоцити безперервно утворюються в червоному кістковому мозку, в лімфатичних вузлах і селезінці, а руйнуються в печінці і селезінці.

Основна функція лейкоцитів – захисна. Лейкоцити не тільки разносяться потоком крові, а й здатні до самостійного пересування з допомогою псевдоніжок. Проникаючи крізь стінки капілярів, лейкоцити рухаються до скупчення хвороботворних мікробів в тканини і за допомогою псевдоніжок захоплюють і перетравлюють їх. Це явище отримало назву «фагоцитоз» і було відкрито І. І. Мечниковим у 1882 році.

Фагоцитарна здатність лейкоцитів надзвичайно важлива, оскільки захищає організм від інфекції. Але в певних випадках ця властивість лейкоцитів

може бути шкідливою, наприклад, при пересадці органів. Лейкоцити реагують на пересадження органів так само, як і на хвороботворні мікроорганізми, тому фагоцитують і руйнують їх. Щоб уникнути небажаної реакції лейкоцитів, фагоцитоз пригнічують спеціальними речовинами.

Тромбоцити, або кров'яні пластинки, – безбарвні клітини розміром 2-4 мкм, кількість яких становить 200-400 тис. в 1 мм³ крові (табл. 1). Утворюються вони в кістковому мозку. У людини і ссавців вони не мають ядер і тим відрізняється від пластинок низьких хребетних. Тромбоцити дуже тендітні, легко руйнуються при пошкодженні кровоносних судин або при зіткненні крові з повітрям. При цьому з них виділяється особлива речовина тромбопластин, яке сприяє згортанню крові.

Лейкоцити бувають зернисті (*гранулоцити*) і незернисті (*агранулоцити*). Гранулоцити за особливостями зернистості в їхніх цитоплазмах діляться на *еозинофіли*, *базофіли* і *нейтрофіли*. До агранулоцитів відносяться *моноцити* і *лімфоцити* (табл. 2).

Еозинофіли складають 1-4% всіх лейкоцитів. Зернистість в їх цитоплазмах забарвлюється кислими фарбами (еозин).

Базофіли (0-0,5% всіх лейкоцитів) містять гранули, які фарбуються основними фарбами (метиленової синню та ін.).

Нейтрофіли становлять 60-70% всіх лейкоцитів і мають розмір 12-20 мкм. Зернистість в їх цитоплазмі фарбується нейтральними фарбами. Діляться на мієлоцити, юні та паличкоядерні форми.

Лімфоцити (25-28% лейкоцитів) мають розмір від 7-9 до 12-15 мкм. Ядро кругле, найчастіше розташовується центрально.

Моноцити – найбільші клітини крові (12-20 мкм). Їх вміст у крові 4-8%.

Нормальне відсоткове співвідношення між окремими видами лейкоцитів носить назву *лейкоцитарної формули*. Її прийнято записувати у вигляді таблиці (табл. 8.2). В даній таблиці мієлоцити, паличкоядерні та юні нейтрофіли розташовані ліворуч від сегментоядерних, тому при збільшенні кількості молодих форм говорять про «зсув вліво» формули крові.

Таблиця 8. 2. Лейкоцитарна формула, %

Кров здорової людини	Базо-філи	Еозино-філи	Миєло-цити	Нейтрофіли			Лімфо-цити	Моно-цити
				юні	палич-коядер-ні	сегмен-тоядерні		
	0,5	2-4	-	-	2-4	55-70	25-35	3-6

Завдання

1. Розглянути під мікроскопом готові препарати крові людини, а також рептилій і земноводних, наданих викладачем.

2. Спочатку дослідити препарати при малому збільшенні (x40), потім при великому (x90) із застосуванням імерсійного масла.

3. Знайти формені елементи крові та замалювати їх.

4. Вивчити особливості клітин крові людини та різних тварин за наочним матеріалом.

Визначення груп крові

У 1901 р. австрійський учений Карл Ландштейнер встановив, що при змішуванні різної крові еритроцити можуть легко склеюватися між собою. Цей процес отримав назву *аглютинація*. Склеєні еритроцити не здатні переносити кисень і закупорюють дрібні судини, вони швидко руйнуються, виділяють фактори згортання, в результаті кров згортається прямо всередині судин.

На поверхні еритроцитів є особливі білки – *аглютиногени*, які існують у двох видах – *A* і *B*. У різних людей вони зустрічаються у різних комбінаціях: тільки *A*, тільки *B* або *A + B* одночасно; а буває, що ці білки на еритроцитах відсутні. Склеюванню еритроцитів сприяють спеціальні речовини, розчинені в плазмі крові, – *аглютиніни*. Їх теж два види, і позначаються вони літерами грецького алфавіту α й β .

Таким чином, у конкретної людини може бути одна з чотирьох комбінацій аглютиногенів і аглютинінів. Кожну з них визначили як *групу крові*, а всі разом вони складають систему АВО (вимовляється «а-бе-нуль»):

I (0) група. Аглютиногенів на еритроцитах немає; у плазмі крові містяться аглютиніни обох видів – α и β .

II (A) група. Еритроцити несуть аглютиногени *A*; у плазмі розчинені аглютиніни β .

III (B) група. Навпаки: аглютиногени *B* сусідять з безпечними для їх еритроцитів аглютинінами α .

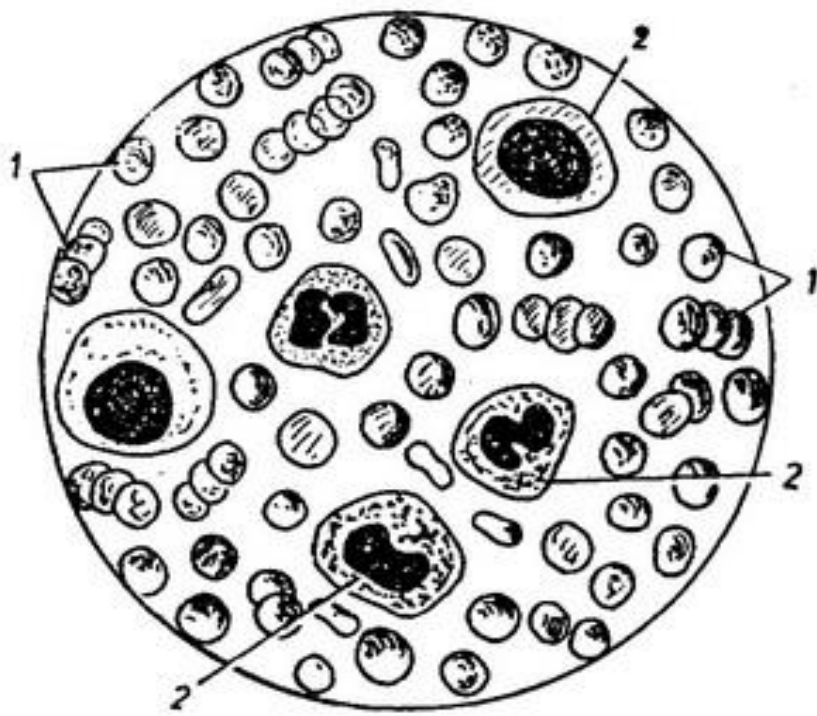
IV (AB) група. Еритроцити несуть обидва аглютиногени – *A* і *B*; у плазмі крові немає аглютинінів.

Перша група крові зустрічається у 40-50% людей, друга – у 30-40%, третя – у 10-20%, а володарі четвертої становлять лише 5%.

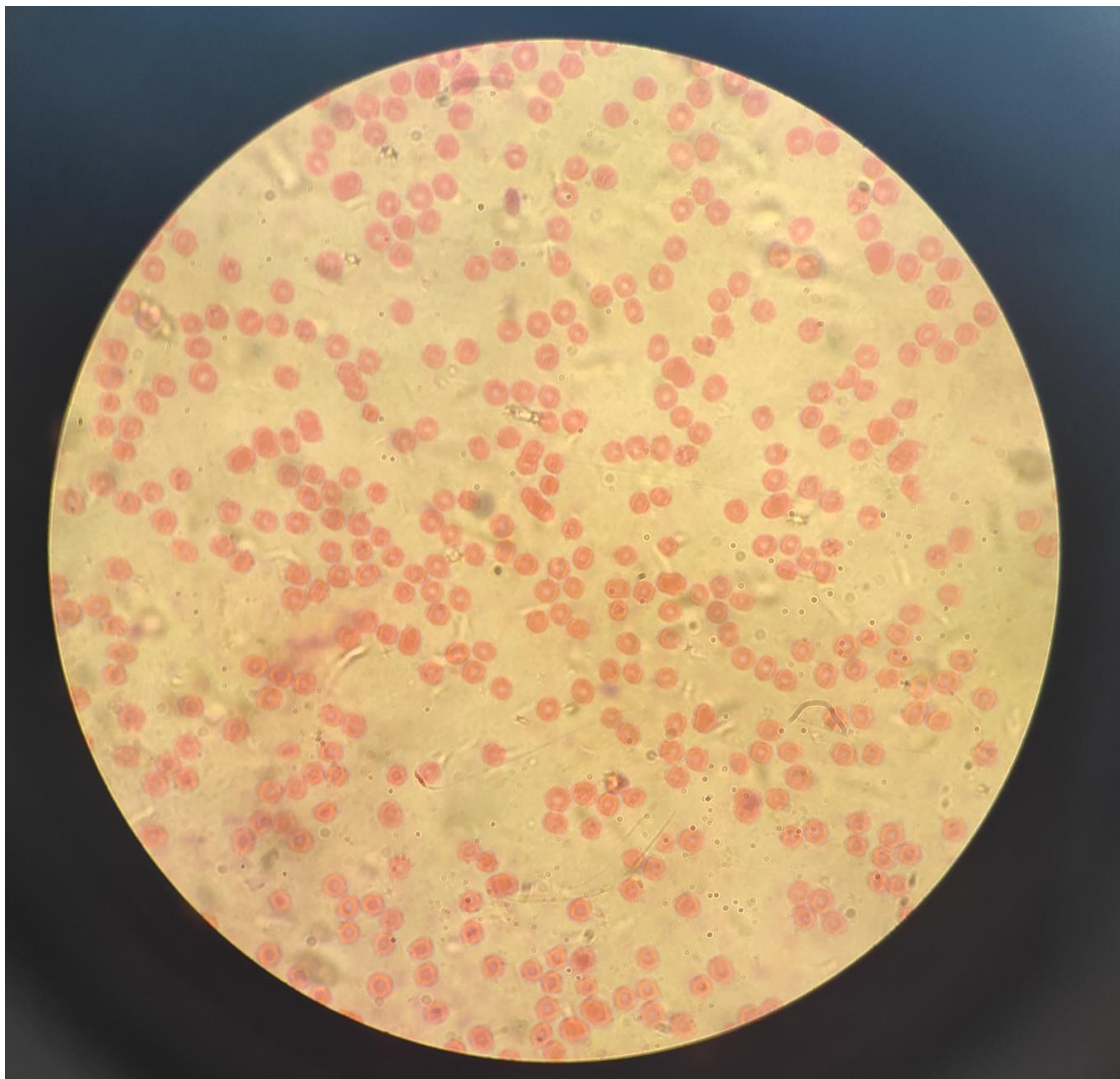
У людини в крові не можуть одночасно бути присутнім однойменні аглютиноген й аглютинін, тому еритроцити не склеюються. Аглютинація можлива лише при переливанні чужорідної крові, еритроцити якої містять однойменні з аглютинінами крові хворого аглютиногени.

Щоб уникнути склеювання еритроцитів, людям з першою групою крові потрібно переливати кров тільки тієї ж першої групи. Кров першої групи можна переливати всім, так як її еритроцити взагалі не містять аглютиногенів. Тому власники крові першої групи називаються *універсальними донорами* (люди, у яких беруть кров для переливання). Людям з четвертою групою крові можна переливати кров усіх груп, тому що в їх крові немає аглютинінів, які викликають склеювання еритроцитів. Вони є *універсальними реципієнтами* (люди, яким переливають кров). Володарям другої і третьої груп можна переливати кров своєї групи, а також першої. При цьому донорські аглютиніни не призводять до склеювання еритроцитів реципієнта, оскільки в перелитій кількості крові їх для цього занадто мало.

На рис. 8.1 та 8.2 зображені крапля крові під мікроскопом та фракції крові.



А)



Б)

Рис. 8.1. Крапля крові під мікроскопом:
 А) схематично; Б) фото; 1 - еритроцити; 2 – лейкоцити

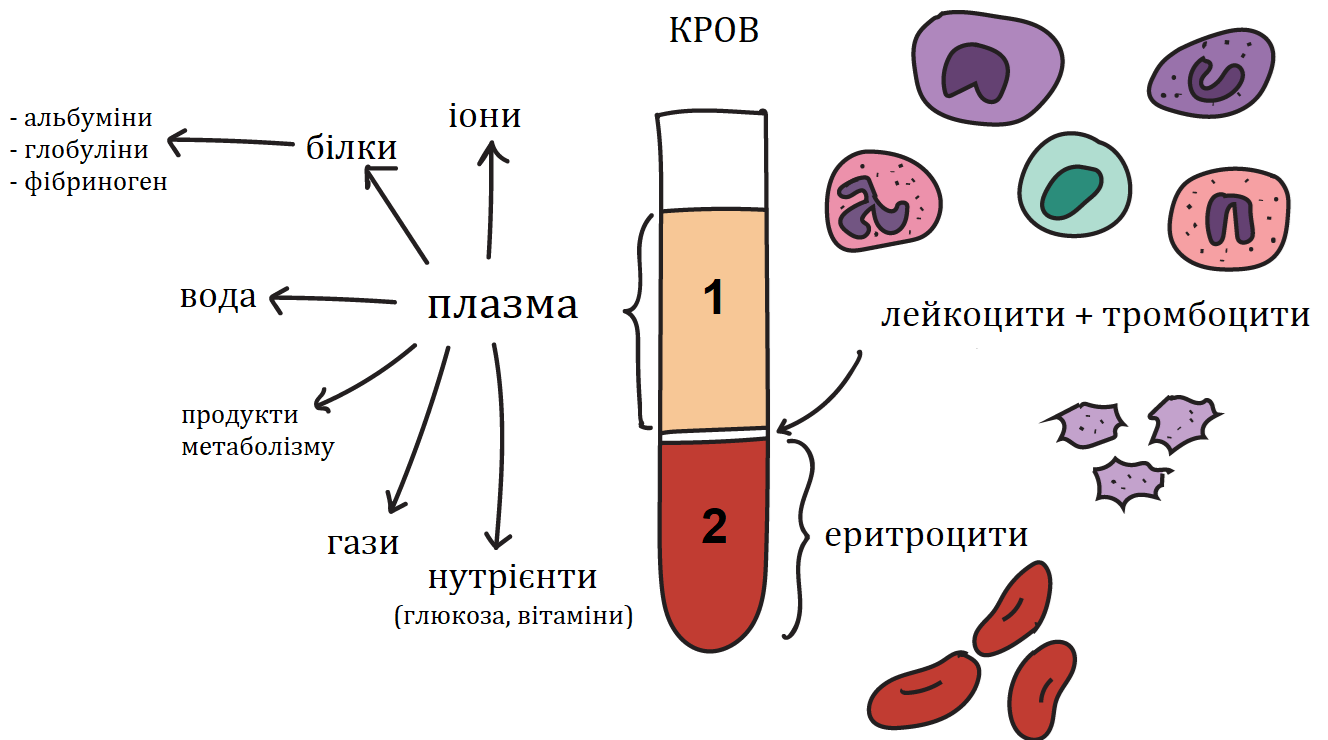


Рис 8.2. Фракції крові: 1 - плазма крові; 2 – формені елементи крові

Контрольні питання

1. Які формені елементи містяться в крові людини і яка їхня фізіологічна роль?
2. На які групи діляться лейкоцити та які їхні функції в організмі?
3. Що являє собою лейкоцитарна формула і яке її практичне значення?
4. Який загальний вміст гемоглобіну в крові людини?
5. За яким принципом заснована методика визначення груп крові?
6. В чому полягає принцип сумісності груп крові? Наведіть відповідну схему сумісності груп крові.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

Тема: Порівняльна характеристика тканин людини.

Мета роботи: Вивчити будову й функції епітеліальної, нервової, м'язової і сполучної тканин людини.

Матеріали і обладнання: мікроскопи МБР-1 або «Біолам», мікроскоп Olimpus CX41 та цифрова насадка до нього, набір постійних гістологічних навчальних препаратів Singenta.

Тканини - подібні за будовою й функціями та спільним походженням клітини разом з міжклітинною речовиною. Диференціація та спеціалізація клітин генетично закладені в організмі.

Відмінність тканини тварин і людини від тканин рослин:

- тканини тварин і людини мають міжклітинну речовину (продукт виділення самих клітин);
- тканини тварин і людини утворюються із зародкових листків.

Основні типи тканин людини: епітеліальна, нервова, м'язова і тканини внутрішнього середовища (сполучна тканина).

Тканини мають спеціалізовану будову для виконання різних функцій, містять різну кількість міжклітинної речовини, відрізняються характеристикою міжклітинної речовини.

В утворенні органа беруть участь усі чотири типи тканин, але визначальною для його діяльності є одна з них. Так у кістках такою тканиною є сполучна кісткова, у серці — посмугована серцева м'язова, у мозку – нервова, у залозах – залозистий епітелій, у шкірі – покривний епітелій, у скелетних м'язах – скелетна посмугована м'язова, у гортані - хрящова сполучна тканина тощо.

Різноманітність тканин в організмі людини зумовлена їхнім розташуванням та функціональним призначенням.

Завдання:

Заповніть таблицю 9.1, базуючись на теоретичному і практичному матеріалі, що був наданий на лекційних і практичних заняттях

Таблиця 9.1 – Порівняльна характеристика тканин людини

Тканина	Особливості будови	Розміщення	Функції	Малюнок препарату з позначеннями
Одношаровий війчастий епітелій				
Одношаровий покривний епітелій				
Багатошаровий покривний епітелій				
Гладенька м'язова тканина				
Посмугована скелетна м'язова тканина				
Посмугована серцева м'язова тканина				
Пухка волокниста сполучна тканина				
Щільна волокниста сполучна тканина				
Жирова тканина				
Кісткова тканина				
Хрящова тканина				
Кров				
Лімфа				
Нервова тканина				

Контрольні питання

1. В чому полягає сутність поняття «тканина»?
2. Які існують типи тканин людини?
3. На які типи поділяють сполучну тканину людини?
4. Які є види м'язової тканини? У чому їх подібність і відмінність?
5. Які основні властивості має нервова тканина?
6. З яких клітин складається нервова тканина?
7. Що таке лімфа і плазма крові?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10

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 плазмолізмом, 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.

На рис. 10.1 представлена схема послідовних стадій плазмолізу від нормальної тургесцентної клітини до максимального зморщення протопласту всередині клітини.

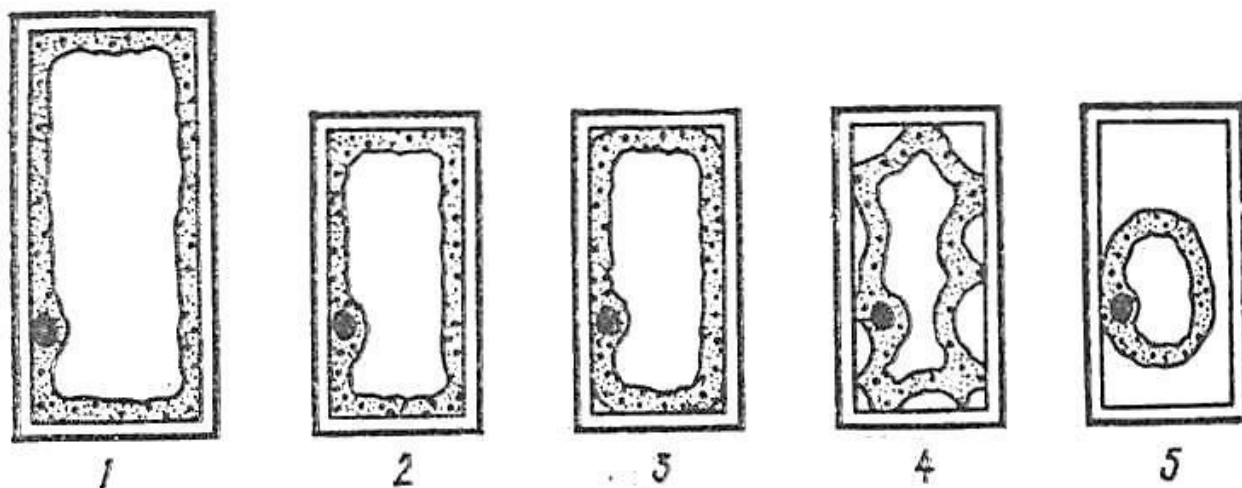


Рис. 10.1. Послідовні стадії плазмолізу:

1 – тургесцентна клітина; 2 – загальне зкорочення клітини; 3 –кутовий плазмоліз; 4 – увігнутий плазмоліз; 5 – опуклий плазмоліз.

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

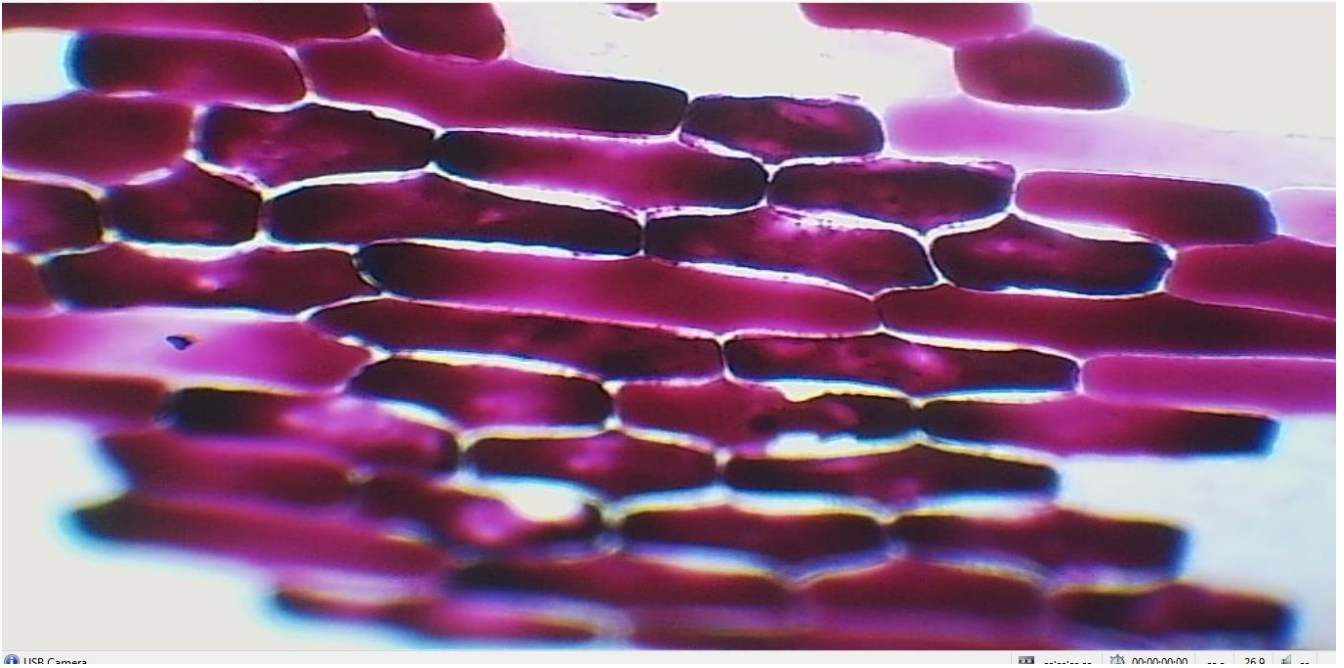


Рис. 10.4. Плазмолізовані клітини соковитої луски цибулі (вода виходить з клітин). Мікрофотографія x200

Контрольні питання

1. Що означає «напівпроникність» клітинної мембрани?
2. Чим відрізняється осмос від дифузії речовин?
3. Яким чином клітина стає плазмолізованою?
4. Що являю собою тургор клітини?
5. Чи може витримати тваринна клітина високий осмотичний тиск?
6. Чим відрізняється гіпертонічний розчин від гіпо- й ізотонічного?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Луцик О.Д., Іванова А.Й., Кабак К.С., Чайковський Ю.Б., Гістологія людини. Підручник. Київ „Книга-плюс”, 2003. –с. 592.
2. Чайковський Ю.Б., Дельцова О.І., Геращенко С.Б. Практикум з гістології, цитології та ембріології. Навчальний посібник. Київ-Івано-Франківськ, 2000.
3. Під ред. Е.Ф.Барінова, Ю.Б.Чайковського. Практикум з цитології, ембріології та загальної гістології. Навчальний посібник. Київ: ЦМК ВМО МОЗ України, 2000.
4. Держинський М.Е., Скрипник Н.В., Островська Г.В., Гарматіна С.М., Пазюк Л.М., Бузинська Н.О., Варенюк І.М., Пустовалов А.С., Вороніна О.К.. Загальна цитологія та гістологія.– Київ: ВПЦ "Київський університет", 2010.– 575 с.
5. Держинський М.Е., Скрипник Н.В., Гарматіна С.М., Островська Г.В., Варенюк І.М., Пустовалов А.С., Вороніна О.К., Пазюк Л.М., Бузинська Н.О. Загальна цитологія.– Київ: ВПЦ "Київський університет", 2006.– 272 с.
6. Держинський М.Е., Гарматіна С.М., Данілова О.В., Пазюк Л.М. Навчальний посібник до лабораторних занять з курсу "Загальна цитологія та гістологія".– К.: ВПЦ "Київський університет", 2002.– 288 с.
7. Волков К.С., Пасечко Н.В. Ультраструктура клітин і тканин (навчальний посібник – атлас з цитології і загальної гістології) – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997.
8. Держинський М.Е., Пазюк Л.М., Варенюк І.М., Вороніна О.К.. Альбом для лабораторних занять з курсу "Загальна цитологія".– Київ: Фітосоціоцентр, 2011.– 81 с.
9. Новак В.П., Бичков Ю.П., Пилипенко М.Ю. Цитологія, гістологія, ембріологія: Підручник. – Київ, 2008. –511 с.
10. Новак В.П., Мельниченко А.П. Цитологія, гістологія, ембріологія: Навчальний посібник. – Біла Церква, 2005. –256 с.
11. Новак В.П., Пилипенко М.Ю., Бичков Ю.П. Цитологія, гістологія, ембріологія. – К.: Віра-Р, 2001. – 388 с.

ЗМІСТ

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ.....	3
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1	4
Світловий мікроскоп: будова, принцип роботи, правила експлуатації.	4
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2	10
Виготовлення тимчасових препаратів для мікроскопічного дослідження.	10
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3	13
Вивчення будови рослинної клітини.....	13
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4	18
Дослідження форми і функцій клітин зеленого листка рослини та біологічної ролі хлоропластів.....	18
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5	22
Вивчення будови і функцій хромопластів у клітинах рослинних організмів.....	22
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6	26
Дослідження будови і функцій лейкопластів у рослинних клітинах.....	26
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7	29
Спостереження за процесами мітозу в клітинах кореневої меристеми рослин.	29
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8	33
Внутрішнє середовище організму. Функція та цитологія крові людини.	33
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9	39
Порівняльна характеристика тканин людини.	39
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10	42
Вивчення процесу осмосу в рослинних клітинах.	42
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	46

Клімкіна Ірина Іванівна
Федотов В'ячеслав Вікторович

ЦИТОЛОГІЯ З ОСНОВАМИ ГІСТОЛОГІЇ
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до виконання лабораторних робіт з
для студентів спеціальності 091 «Біологія»

Друкується в редакційній обробці авторів

Національний технічний університет «Дніпровська політехніка»
49005, м. Дніпро, просп. Д. Яворницького, 19