

Конспект занятий семинарского типа к тематическому блоку «Основы ботанической микротехники. Строение растительной клетки».

Цель: Ознакомиться с устройством микроскопа и основными приемами работы с ним. Научиться готовить временные микропрепараты. Научиться различать на микропрепаратах отдельные части клетки.

Формируемые компетенции - ОК-1; ОК-5; ОК-8; ОПК- 1; ОПК-2; ПК-14; ПК-21.

Основные вопросы, предлагаемые для обсуждения.

1. Какие методы используются для изучения анатомии растений?
2. Что такое клетка?
3. Что такое протопласт?
4. Назовите органоиды протопласта. Какие из них видны в световой микроскоп?
5. Что относится к производным протопласта? Их роль в жизнедеятельности клетки.
6. Перечислите отличия растительной и животной клеток.

Основные этапы работы на занятии:

Инструкция по технике безопасности на лабораторно-практических занятиях по ботанике

1. На занятия приходите в белых халатах и колпаках (косынках). Волосы должны быть тщательно убраны.
2. При работе в лаборатории необходимо быть особенно внимательным, и соблюдать исключительную осторожность. Недостаточное знакомство с приборами и свойствами веществ, неаккуратность и отступление от указанных правил могут повлечь за собой тяжелые последствия (порезы, ожоги, слепоту и т.д.).
3. Опыты всегда нужно делать с такими количествами (или концентрациями) веществ и в такой последовательности и условиях, которые записаны в методических указаниях.
4. При разбавлении крепких кислот, особенно серной, надо вливать кислоту в воду, а не наоборот и пользоваться при этом толстостенной или фарфоровой посудой.
5. Если на лицо или руки попадут брызги жидкости, надо тотчас же смыть их водой и вытереть полотенцем. Брызги крепкой кислоты следует смыть большим количеством воды, после чего промыть пораженное место слабым раствором соды. Щелочь следует смывать водой до тех пор, пока участки кожи, на которые она попала, не перестанут быть скользкими.
6. При работе со спиртовыми горелками не допускать перегрева резервуара, не зажигать горелку, наклоняя ее ко второй горячей; не доливать горячее в спиртовку, не погасив ее.
7. При нагревании жидкости в пробирках наполнять их не более чем на 1/3 объема пробирки. Нагревание пробирки проводить равномерно во избежание выброса.
8. Во время нагревания в пробирках жидкостей или твердых тел пользоваться зажимами. Не направлять отверстие пробирки на себя или соседей, так как при выбросе могут быть ожоги! После окончания нагревания погасить горелку колпачком! Не задувать!
9. Соблюдать осторожности при работе с бритвами, лезвиями! Использовать их только для приготовления срезов!

10. При приготовлении микропрепаратов не проводить качественных реакций и окрашивания препаратов на весу. Для этого необходимо положить предметное стекло с объектом на стол.

11. Не оставлять реактивы открытыми!

12. После работы с ядовитыми растениями тщательно вымыть руки!

13. При попадании в глаза частиц ядовитых растений тщательно промыть глаза водой.

14. Не определять вкуса ядовитых растений!

15. Во время занятий в лаборатории категорически запрещается принимать пищу!

16. По окончании работы убрать рабочее место и сдать его дежурному.

Материал курса ботаники включает в себя лекции, лабораторно-практические занятия и самостоятельную внеаудиторную работу студентов. На лабораторно-практические занятия студенты должны приходиться подготовленными. Вопросы для подготовки к занятиям вывешены на стенде. При подготовке к занятиям студенты обязаны использовать лекционный материал, материал учебника и дополнительную литературу. Перед началом каждого занятия проводится тест-контроль по теме занятия.

Темы самостоятельных внеаудиторных работ студентов и график их выполнения вывешены на стенде. Самостоятельные внеаудиторные работы выполняются в тетради для самостоятельных внеаудиторных работ и сдаются на проверку преподавателю не позднее указанного в плане срока. При выполнении самостоятельных внеаудиторных работ студенты должны использовать, помимо учебника, дополнительную литературу. На кафедре имеется библиотека по ботанике. Студенты могут приходиться в свободное от занятий время и пользоваться этой библиотекой (книги выдаются в лаборантской под студенческий, выносить книги с кафедры запрещается).

Пропущенные лабораторно-практические занятия отрабатываются согласно графику отработок кафедры не позднее 2 недель с момента пропуска занятия. График отработок вывешен на стенде. Отработки проводятся по предварительной записи и при наличии разрешения деканата.

2. Показать основные части микроскопа: механическую, оптическую, осветительную.

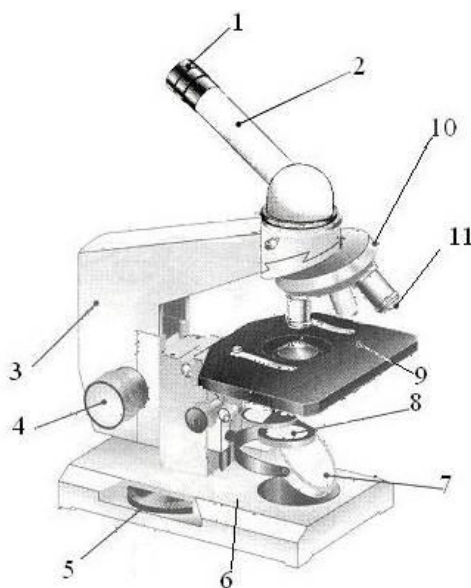


Рис. 1. Строение микроскопа БИОЛАМ. 1 – окуляр, 2 – тубус, 3 – тубусодержатель, 4 – макрометрический винт, 5 – микрометрический винт, 6 – подошва, 7 – зеркало, 8 – конденсор, 9 – предметный столик, 10 – револьвер, 11 – объектив.

3. Разобрать правила работы с микроскопом БИОЛАМ.

Правила работы с микроскопом БИОЛАМ.

При переносе микроскоп следует брать правой рукой за ручку штатива и поддерживать его снизу левой рукой!

Установить микроскоп так, чтобы его зеркало находилось против источника света.

ОБРАТИТЬ внимание на то, что изучение любого объекта начинается с малого увеличения!

С помощью макрометрического винта (вращением на себя) приподнять на 1- 1,5 см тубусодержатель. Поворачивая револьвер, поставить объектив 8х в рабочее положение. Открыть полностью диафрагму. Поднять конденсор до уровня предметного столика.

В микроскоп смотрят левым глазом, не закрывая при этом правый. Качество изображения в микроскопе в значительной степени зависит от освещения. Для этого используют зеркало микроскопа. Поворачивая зеркало, поставить его под таким углом к источнику света, чтобы отраженные лучи прошли через отверстие в предметном столике и системы линз микроскопа. Правильная установка зеркала дает ровное яркое освещение поля зрения микроскопа. Работу с микроскопом всегда начинают с малого увеличения. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы объект находился как раз под объективом. Для фиксации микропрепарата предметное стекло прижать клеммой. Опустить с помощью макровинта тубусодержатель так, чтобы объектив почти касался препарата, затем, медленно вращая макровинт на себя, поднимать тубусодержатель, глядя в окуляр, пока не появится изображение. Оно должно появиться, когда объектив будет отстоять от препарата примерно на 1-1,5 см.

С помощью макровинта установить фокусное расстояние для получения наиболее четкого изображения в микроскопе.

Перед переводом микроскопа на большое увеличение выбрать нужное место среза, поставив его в центр поля зрения и только после этого перевести на большое увеличение, осторожно вращая револьвер до щелчка. Изображение на большом увеличении микроскопа получается на расстоянии объектива от препарата на 1-2 мм. Более четкое изображение на большом увеличении можно получить, вращая микрометрический винт (вращать не более 1/2 оборота в ту и в другую сторону).

Изучая микропрепарат при большом увеличении, левую руку все время следует держать на рукоятке макровинта, чтобы фокусировать необходимую часть поля зрения.

После окончания работы нужно перевести микроскоп на малое увеличение и убрать микропрепарат. **СНИМАТЬ МИКРОПРЕПАРАТ ИЗ-ПОД ОБЪЕКТИВА 40X СТРОГО ЗАПРЕЩАЕТСЯ**, так как можно повредить фронтальную линзу объектива. После работы микроскоп следует закрыть чехлом для защиты от пыли.

4. Объяснить, как готовятся временные микропрепараты.

Объект, подлежащий микроскопическому исследованию, должен быть очень тонок и прозрачен. При изучении анатомического строения органов чаще всего делают тонкие срезы бритвой. Бритва должна быть очень острой. Срезы органов делают в зависимости от цели исследования в разных направлениях. С осевых органов чаще всего делают

поперечные срезы, бритва должна быть направлена строго перпендикулярно к продольной оси органа. Иногда необходимо сделать тангентальный срез (параллельно поверхности органа) или радиальный срез по радиусу осевого органа.

Объект необходимо взять в левую руку так, чтобы он возвышался над уровнем пальцев на 3-4 мм. Правой рукой держат безопасную бритву, зажимая ее большим пальцем сверху, а указательным и средним снизу в этом же месте, оставляя свободным лезвие, обращенное влево. Перед изготовлением среза поверхность объекта, с которой предполагается делать срез, должна быть выровнена. Бритву смачивают в воде и делают срез одним скользящим движением бритвы вкось слева направо по направлению к себе. Не обязательно делать срез через весь орган, а достаточно срезать узкую полоску, проходящую через наружные и внутренние ткани органа. При этом наиболее тонкие и ровные срезы получаются, если срез начинают не от края объекта, а от его середины.

Рекомендуется сразу делать несколько срезов и сбрасывать их в чашку Петри с водой. Тонкие и ровные срезы будут плавать горизонтально, а неудачные – под углом. Самые тонкие ровные срезы переносят (лучше акварельной кисточкой) на предметное стекло и, в случае, необходимости, обрабатывают реактивами.

Реактивы, содержащие кислоту, во избежание порчи микроскопа после прокрашивания среза снимают ленточкой фильтровальной бумаги, и перемещают препарат в каплю воды.

На середину предметного стекла пипеткой наносят 2-3 капли воды, и при помощи препаровальной иглы переносят в нее наиболее тонкие срезы. После этого их закрывают покровным стеклом. Опускать его следует осторожно, расположив предварительно под углом 45° к предметному стеклу, и прикоснувшись нижним краем к воде. Если под покровное стекло на объект попали пузырьки воздуха, то не следует нажимать на стекло сверху, а необходимо приподнять покровное стекло и вновь опустить его, добиваясь, чтобы не было пузырьков воздуха на объекте. После этого надо удалить избыток воды кусочком фильтровальной бумаги. Если под покровным стеклом не все пространство занято водой, то ее необходимо осторожно добавить пипеткой, не снимая покровного стекла. Приготовленный микропрепарат помещают на предметный столик и приступают к его изучению. В процессе работы **необходимо** следить, **чтобы срезы постоянно находились в жидкой среде**, иначе ткани исследуемого объекта высыхают и деформируются.

Для работы с препаратом в течение нескольких дней вместо воды под покровное стекло наносят глицерин (он не высыхает).

Качественные реакции, применяющиеся для определения тканей и клеточных структур при изучении анатомии растений:

1. Для определения содержания крахмала используют слабый раствор йода в йодистом калии, он образует комплексное соединение с крахмалом сине-фиолетового цвета
2. Реактивом на жиры и жироподобные вещества является жирорастворимый краситель судан-III, который поглощается жирами и окрашивает их в оранжевый цвет.
3. Характерными реакциями на белок являются:
 - 1) биуретовая реакция – под воздействием водного раствора медного купороса и едкой щелочи белки окрашиваются в фиолетовый цвет,
 - 2) ксантопротеиновая реакция – под воздействием крепкой азотной кислоты белок желтеет, желтизна усиливается до оранжевого цвета.

4. Реактивом на клетчатку является хлор-цинк-йод. Хлор-цинк окрашивает клетчатку, йод окрашивает крахмал в сине-фиолетовый цвет.
5. Для обнаружения лигнина используются:
 - 1) флороглюцин и концентрированная серная (соляная) кислота. Пропитанные лигнином клеточные стенки окрашиваются реактивом в малиново-красный цвет.
 - 2) 1% раствор марганцово-кислого калия с аммиаком и 10% раствором соляной кислоты (реакция Меуле). На срез наносят 1% раствор марганцово-кислого калия. После пятиминутной выдержки и удаления краски наносят каплю соляной кислоты (10%), и после обесцвечивания среза – каплю аммиака (лигнин окрашивается в красный цвет).
5. ***Продемонстрировать и объяснить, как зарисовать временные препараты, обозначать рисунки и подписывать их согласно требованиям оформления альбома.***

Правила оформления лабораторной работы

Необходимым элементом микроскопического изучения объекта является его зарисовка в альбом. Это делают для того, чтобы лучше понять и закрепить в памяти строение объекта, форму отдельных структур, их взаимное расположение.

Для выполнения зарисовок необходимо иметь **альбом** (оптимальный формат 30x21 см) и карандаши (простой и цветные).

Поскольку рисование на занятиях по биологии не самоцель, а метод изучения объекта, при зарисовке следует придерживаться ряда правил.

1. На правой стороне альбома записать тему и цель лабораторной работы.
2. Рисовать можно только на одной стороне листа простым карандашом.
3. Рисунок должен быть умеренно крупным, детали хорошо различимы.
4. Главные требования к рисунку – правильное отображение формы, соотношение размеров отдельных частей и целого.
5. Сначала рисуется общий контур объекта, затем внутри него намечают контуры других деталей, после этого четко прорисовывают их.
6. При зарисовке микропрепаратов надо стараться не отрывать глаз от микроскопа, переключая внимание с объекта на видимый другим глазом рисунок.
7. На каждом рисунке необходимо дать обозначение частей зарисованного объекта. Все подписи должны быть красивыми и грамотными. К отдельным частям объекта ставят стрелочки и против каждой пишут название или указывают число. В последнем случае рядом делают сноску, расшифровывающую цифровое обозначение.
8. На левой стороне листа пишутся выводы по теме занятия.

6. Рассмотреть этапы самостоятельной работы

Задание 1. Устройство микроскопа и основные приемы работы с ним.

Рассмотреть основные системы микроскопа: механическую, оптическую и осветительную. Записать в альбом названия их частей и правила работы с микроскопом.

Задание 2. Клетки кожицы лука (*Allium cepa* L.).

Приготовить временный микропрепарат кожицы лука. Для этого отделить от луковицы мясистую чешуйку. На внутренней ее стороне находится тонкая пленка. Снять ее пинцетом и отрезать кусочек размером в 3-4 кв. мм. Положить этот кусочек на

предметное стекло, капнуть пипеткой каплю раствора йода на пленку и накрыть покровным стеклом.

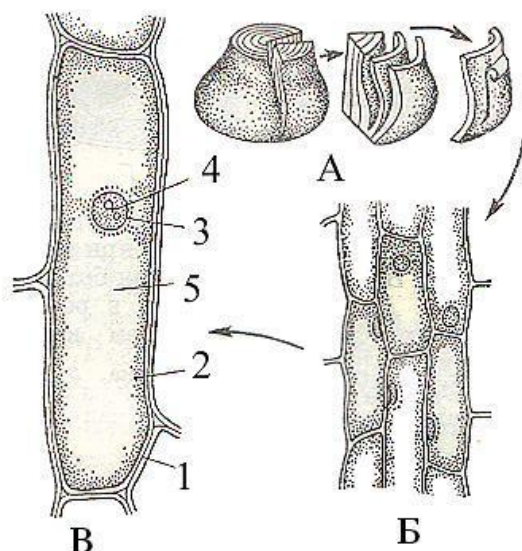


Рис. 2. Строение клеток кожицы лука

А - луковица лука; Б - клетки эпидермы; В - отдельная клетка.

1 – клеточная стенка, 2 - цитоплазма, 3 - ядро, 4 - ядрышко, 5 – вакуоль с клеточным соком.

Рассмотреть препарат при малом увеличении микроскопа. На препарате видна группа вытянутых клеток. Крупные округлые ядра в клетках окрашены в желто-коричневый цвет. Перевести микроскоп на большое увеличение, и найти стенку клетки. При внимательном рассмотрении видна зернистая структура цитоплазмы. Неокрашенные пустоты в цитоплазме представляют собой вакуоли (рис. 2).

Зарисовать несколько клеток, пользуясь рис. 2, и сделать обозначения клеточной стенки, цитоплазмы, ядра с ядрышком, вакуоли с клеточным соком.

Вопросы для самоконтроля

1. Устройство микроскопа и правила работы с ним.
2. Что такое фокусное расстояние?
3. Как правильно приготовить временный микропрепарат?
4. Какие реактивы используются для окрашивания растительных объектов?
5. Какие структуры растительной клетки видны в световой микроскоп?
6. Какими растительные клетки бывают по форме?