

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування

Навчально-науковий інститут будівництва та архітектури
Кафедра водопостачання, водовідведення та бурової справи

03-06-161М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних робіт та самостійної роботи
з навчальної дисципліни «Біологія клітини»
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за
спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія»
денної і заочної форм навчання

Рекомендовано
науково-методичною
радою з якості ННІБА
Протокол № 4 від 21.01.2025 р.

Рівне – 2025

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт та самостійної роботи з навчальної дисципліни «Біологія клітини» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної і заочної форм навчання / Бедункова О. О., Грицина О. О., – Рівне : НУВГП, 2025. – 54 с.

Укладачі: Бедункова О. О., д.б.н, професор, професор кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи; Грицина О. О., к.т.н., доцент, доцент кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Відповідальний за випуск: Мартинов С. Ю., д.т.н., професор, завідувач кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Керівник групи забезпечення
спеціальності 162
«Біотехнології та біоінженерія»

Грицина О. О.

© О. О. Бедункова,
О. О. Грицина, 2025
© Національний університет
водного господарства та
природокористування, 2025

ЗМІСТ

	<i>стор</i>
Вступ.....	3
<i>Лабораторна робота №1</i> Будова та принцип роботи світлового мікроскопа.....	4
<i>Лабораторна робота №2</i> Тимчасові препарати та методика їх виготовлення. Вимірювання об'єктів під мікроскопом.....	12
<i>Лабораторна робота №3</i> Будова рослинної клітини.....	16
<i>Лабораторна робота №4</i> Цитологічні особливості покривної тканини рослин.....	20
<i>Лабораторна робота №5</i> Будова тваринної клітини.....	23
<i>Лабораторна робота №6</i> Будова клітин прокариотів.....	27
<i>Лабораторна робота №7</i> Осмотичні властивості клітини та механізм надходження води в клітину.....	31
<i>Лабораторна робота №8</i> Захисні механізми клітин: ферментативне розщеплення перекису водню.....	38
<i>Лабораторна робота №9</i> Мітоз як тип поділу клітини.....	42
<i>Лабораторна робота №10</i> Мейоз як тип поділу клітини.....	47
<i>Лабораторна робота №11</i> Ротаційний рух цитоплазми.....	50
Рекомендована література.....	54

ВСТУП

Цикл лабораторних робіт для освоєння дисципліни «Біологія клітини» спрямовано на вивчення основних закономірностей організації та функціонування клітин. До кожної лабораторної роботи наведені питання для самопідготовки, призначені розширити знання студентів за відповідною темою та перелік питань для самоконтролю, виконання яких дозволить підвищити рівень підготовки студентів при вивченні дисципліни.

Лабораторна робота № 1

Будова та принцип роботи світлового мікроскопа

Мета роботи: *Ознайомитися з пристроєм, принципом роботи та основними технічними характеристиками світлового мікроскопа. Набути навички роботи зі світловим мікроскопом.*

Питання для самопідготовки:

1. *Історія винайдення мікроскопу*
2. *Становлення та основні положення клітинної теорії*
3. *Цитологія як експериментальна наука*
4. *Мікроскопія та існуючі види мікроскопів*
5. *Методи візуалізації у мікроскопії*

Основні поняття

Світлова мікроскопія, це основний метод дослідження клітин та тканин, що здійснюється за допомогою світлових мікроскопів різних конструкцій, у яких для освітлення об'єкта використовуються промені видимого спектру

Біологічний мікроскоп – головний прилад біології, призначений для вивчення мікроскопічних біологічних об'єктів та для відеомікроскопії високої роздільної здатності. Мікроскоп є оптичною системою, що складається з конденсора, об'єктиву та окуляра, суворо центрована та закріплена на механічній частині (статині зі штативом). Пучок світла від джерела освітлення збирається в конденсорі та прямує на об'єкт. Пройшовши через об'єкт, промені світла потрапляють у систему лінз об'єктиву; де будується первинне зображення. За допомогою лінз окулярів зображення збільшується (рис. 1.1).

Основна частина мікроскопа – його оптичний вузол. Він складається з освітлювальної системи (конденсора та освітлювача), об'єктивів, розташованих у револьвері тубуса та окулярів. Усі частини оптичного вузла суворо центровані.

Освітлювач знаходиться в основі мікроскопа і має колекторну лінзу, яка спрямовує світло на конденсор. В

освітлювачі знаходиться ірисова польова діафрагма, вона служить для налаштування розміру освітленого поля та регулює контраст зображення. Лампа має трансформатор і регулятор яскравості для обмеження освітленості. Після закінчення роботи з мікроскопом регулятор яскравості слід перевести в положення "нуль".

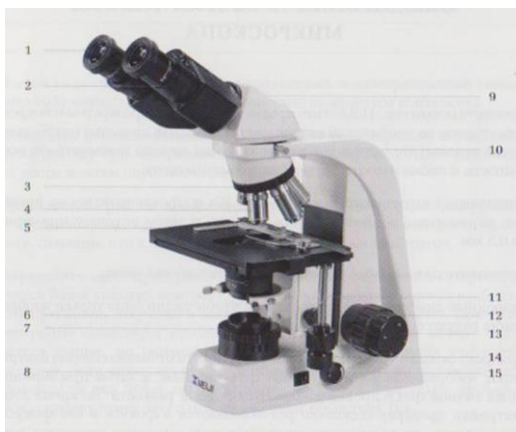


Рис. 1.1. Основні частини біологічного мікроскопа:

1 – окуляр; 2 – діоптрійний пристрій; 3 – револьвер; 4 – об'єктиви; 5 – предметний столик; 6 – освітлювач; 7 – польова діафрагма освітлювача; 8 – станина мікроскопа; 9 –бінокулярна насадка; 10 - штатив мікроскопа; 11 – регулятор переміщення конденсора; 12- Гвинт грубого фокусування; 13 – гвинт точного фокусування; 14 – коаксіальні рукоятки переміщення столика; 15 – регулятор яскравості; 16 – конденсор; 17 – центрувальні гвинти конденсора; 18 – апертурна діафрагма конденсора; 19 – тримач світлофільтрів.

Конденсор – багатолінзовий пристрій призначений для збору та направлення світлових променів від джерела світла на препарат. Конденсор має ірисову апертурну діафрагму, яку відкривають відповідно до числової апертурою робочого об'єктиву. Вона призначена для налаштування розмаїття препарату. Конденсор переміщують вгору або вниз за допомогою регулятора висоти конденсора, забезпечуючи його фокусування. Відмітимо, що висота переміщення конденсора змінюється у невеликому діапазоні (не більше 1 мм).

Якщо конденсор опущений занадто низько, знижується роздільна здатність мікроскопу, деталі препарату стають розмитими, а краї змащеними. Це пояснюється тим, що при опусканні конденсора площину, на яку фокусується світло, виявляється нижче, світло розсіюється сильніше, проходячи через препарат під різними кутами, що затіняє краї зору. Правильне положення конденсора – 0,5 мм нижче максимально можливого верхнього становища. До конденсора прикріплений висувний тримач світлофільтру.

Світлофільтри поділяються на кольорові, білі, матові та прозорі. В залежності від типу лампи розжарювання використовують різні світлофільтри. Для підвищення контрастності досліджуваного препарату також застосовують світлофільтри додаткового кольору до забарвлення структури, що вивчається, яка внаслідок цього виглядає чорною. Наприклад, для червоних структур використовують зелений фільтр, для синіх – жовтий. При роботі з малими збільшенням можна застосовувати матові світлофільтри. Будь-який додатковий елемент в оптичному ході променів поглинає світло, тому світлофільтри використовують лише тоді, коли в них є нагальна потреба.

Конденсор забезпечений двома центрувальними гвинтами («ластівчин хвіст»), що дозволяють виводити зображення при налаштуванні світла в центр поля зору. Центрувальні гвинти слід повертати дуже повільно і обережно, вони дуже чутливі до обертання. Поруч із центрувальними гвинтами має гвинт фіксації конденсора в мікроскопі.

Об'єктив – багатолінзова система, головна складова частина оптичного вузла мікроскопа, що визначає його основні можливості. Об'єктив будує первинне, геометрично подібне до об'єкта зображення, яке збільшується за допомогою лінз окулярів. Об'єктив «дозволяє» структуру, тобто виявляє подробиці, недоступні для ока людини. Основні параметри об'єктивів встановлюються загальновизнаним світовим стандартом DIN (Deutsche Industrial Norman). Цей стандарт визначає довжину тубуса (160 мм), висоту об'єктива (45мм),

кодування у вигляді кольорової смужки навколо об'єктива (жовта – x10; зелена – x20; синя – x40; біла – x100). Тубус – це відстань від верхньої лінзи окуляра до площини зіниці об'єктива.

Об'єктиви розташовані в револьвері, тубусі. Револьвер повертають як за годинниковою стрілкою, так і у протилежному напрямі. Кожен об'єктив має такі характеристики:

- 1) кривизну чи площинність поля зору;
- 2) збільшення та роздільну здатність;
- 3) корекцію кольору.

Кривизна об'єктива – це частина поля зору, яка знаходиться у фокусі. За цієї характеристики об'єктиви поділяються на ахроматичні, при використанні яких у фокусі виявляється 2/3 поля зору. Напівпланооб'єктиви – 80% поля зору у фокусі. Планооб'єктиви – 100% поля зору у фокусі.

Збільшення – вказано на оправі об'єктива. Об'єктиви малого збільшення (x8 і x10) мають максимальну робочу відстань та велике поле зору, тому дослідження препарату починають із невеликого збільшення.

Роздільна здатність об'єктива - здатність давати роздільне зображення двох сусідніх елементів препарату чи величина найменшого діаметра видимих частинок або це найменша відстань між двома елементами препарату.

Роздільна здатність (α) залежить від числової апертури об'єктива (NA) та довжини хвилі світла, що застосовується для освітлення об'єкта (λ) та визначається за формулою:

$$\alpha = \frac{\lambda}{NA} \quad (1.1)$$

При бічному освітленні об'єкта (ефект Тіндалля: у темній кімнаті при бічному освітленні в промені світла видно порошинки), роздільна здатність підвищується:

$$\alpha = \frac{\lambda}{2NA} \quad (1.2)$$

Числова чи нумерична апертура (NA) характеризує світло збиральну здатність об'єктива і визначається за формулою:

$$NA = n \cdot \sin \beta \quad (1.3)$$

де n – показник заломлення середовища між фронтальною лінзою об'єктива та покривним склом, β – половина апертурного кута конуса променів, що виходить із точки об'єкта та обмеженого входною зіницею об'єктива. Значення числової (нумеричної) апертури постійно для об'єктиву та зазначено на його оправі.

Оскільки показник заломлення повітря дорівнює 1,0, то NA у сухих об'єктивів дорівнює значенню синуса кута β (наприклад, $\beta=400$, $\sin 400=0,64$ та $NA=0,64$). Чим вище значення NA , тим краще роздільна здатність об'єктиву

Роздільна здатність об'єктива залежить також і від довжини хвилі світла, що використовується для освітлення об'єкта. Зазвичай у світлових мікроскопах використовуються джерела освітлення у видимій частині спектру (0,4-0,7 мкм) освітлені звичайним світлом ($\lambda=0,55$ мкм) та використання об'єктиву з апертурою $NA=1,4$ найменший діаметр видимих частинок становить 0,88 мкм. Зменшити довжину хвилі можна за допомогою світлофільтрів синьо-фіолетового кольору, короткохвильової частини видимого спектру. При освітленні через синій світлофільтр ($\lambda=0,47$ мкм) можна побачити частинки величиною 0,33 мкм.

Зазвичай у світлових мікроскопах використовуються джерела освітлення видимої області спектру (0,35–0,75 мкм), тому максимальна роздільна здатність мікроскопа у разі може бути вище 0,2-0,35 мкм. Світловий мікроскоп, як допоміжний прилад до нашого ока, підвищує роздільна здатність його приблизно в 1500-2000 разів (неозброєне око людини має роздільну здатність близько 0,1 мм, що дорівнює 100 мкм). Отже, при використанні видимої області світла 0,2 мкм є межею роздільної здатності світлового мікроскопа.

Корекція кольору. Об'єктиви можуть мати недоліки (аберації). Хроматична аберація викликана тим, що фіолетова частина світлового спектру переломлюється сильніше, ніж червона, тому зображення, створене променями однієї довжини хвилі, не збігається із зображенням, створеним променями з іншою довжиною хвилі, в результаті зображення виходить

забарвленим. За світлокореції (виправлення хроматичної аберації) об'єктиви поділяються на ахроматичні, напівпохроматичні (флюоритові) та апохроматичні. У ахроматів виправлена хроматична аберація для двох крайніх довжин хвиль (червоного та фіолетового кольорів), тобто фокус для цих променів зводиться в одну точку.

У флюоритових об'єктивах використовується спеціальне скло, яке зводить всі області спектру ближче до одного фокусу. У апохроматів – виправлена аберація для трьох основних кольорів (червоний, зелений, синій), що зводить всі інші області спектру практично до однакового фокусу. Ці об'єктиви мають набагато кращу якість зображення.

Об'єктиви поділяються на «сухі» та імерсійні.

Імерсійні об'єктиви мають вищу нумеричну апертуру (1,25-1,4), ніж сухі, оскільки показник заломлення рідин більше 1,0; вода має показник заломлення – 1,33, імерсійна олія – 1,52. Слід відзначити, що показник заломлення імерсійної олії близький до показником заломлення скла ($n = 1,52$), тому при використанні олії створюється гомогенна система, що зменшує розсіювання променів і збільшує чіткість зображення. Імерсійна олія дозволяє збільшити апертуру об'єктива, що, у свою чергу, підвищує роздільну здатність мікроскопа. Олійно-імерсійні об'єктиви мають літерні позначення (МІ, ОМ та ін.) і опоясані темною смужкою.

Окуляри. Окуляри мають збільшення, яке становить частину загального збільшення мікроскопа. Ще одна характеристика окуляра – винос вихідної зіниці: відстань від останньої поверхні окуляра до площини зображення, яке з'являється у мікроскопі (від 15мм до 24мм).

Загальне збільшення мікроскопа отримують, помножуючи збільшення об'єктива на збільшення окуляра, з урахуванням збільшення, що дається біокулярою насадкою. Найбільше корисне збільшення, що отримується в мікроскопі, не має перевищувати значення отвору ($1000 \times NA$ використовуваного об'єктива). Отже, при об'єктиві $\times 90$, що має числову апертуру $NA=1,25$, максимальне корисне збільшення не більше 1250;

розділивши цю величину на 90 отримують збільшення для окуляра (не більше 13). Застосування сильніших окулярів погіршує зображення.

Бінокулярна насадка служить для спостереження об'єктів одночасно двома очима. Бінокулярна насадка дозволяє налаштувати відстань, в межах від 53 мм до 75 мм, для встановлення його по очах спостерігача.

Крім того, бінокулярна насадка на лівому окулярі забезпечена діоптрійним пристроєм, для наведення на різкість у межах ± 5 діоптрій. Власне збільшення насадки (без окулярів) $\times 1,5$. При користуванні бінокулярною насадкою та визначення загального збільшення мікроскопа необхідно помножити збільшення об'єктива на збільшення окуляра, та власне збільшення насадки ($\times 1,5$). Якщо на насадці немає маркування, то за умовчанням прийнято, що її збільшення дорівнює $\times 10$.

Правила роботи з мікроскопом:

1. Переміщують мікроскоп двома руками, міцно взявши на штатив, піднімаючи його від поверхні та переставляючи на потрібне місце.

2. Встановлюють мікроскоп на робоче місце штативом до себе навпроти грудей.

3. Знімають чохол із мікроскопа. Відразу перевіряють положення ручок мікроскопа. Переконаються, що регулятор яскравості світла та тумблер вимикання живлення знаходяться у вимкненому положенні.

4. Польову діафрагму конденсора та апертурну діафрагму конденсора повністю відчиняють.

5. Починають роботу із малого збільшення. Переміщують об'єктиви за допомогою револьверного пристрою за годинниковою та проти годинникової стрілки.

6. Під час роботи з малим збільшенням об'єктиву ($\times 10$) користуються гвинтом грубого налаштування, розташованим ближче до штатива мікроскопа.

7. При використанні великого збільшення фокусування препарату проводять гвинтом точного налаштування.

8. Під час роботи з мікроскопом важливо засвоїти два поняття: парфокальність та центрування. Парфокальність – збереження препарату різким під час переходу від одного об'єктиву до іншого. При цьому гвинт точного фокусування препарату не повертають більш ніж $\frac{1}{4}$ повного обороту. Центрування – збереження деталі препарату у центрі поля зору мікроскопа у разі підвищення.

9. Регулятором налаштування висоти конденсора піднімають його в максимальне верхнє становище.

10. Приєднують кабель живлення одним кінцем до мікроскопа, іншим до заземленої розетки. Фіксатор залишають на кабелі.

11. Предметне скло із препаратом розміщують на предметний столик мікроскопа, злегка відвівши затискач в нижній правий кут металевої рамки препаратів.

12. Предметний столик піднімають на відстань 1-1,5 см від об'єктиву малого збільшення гвинтом грубого фокусування.

13. Вмикають перемикач живлення. Плавно переводять регулятор яскравості світла з нульового положення у початкове.

14. Налаштовують фокусування препарату за допомогою грубого гвинта. Дивлячись в окуляр правим оком і закривши ліве, за допомогою гвинта точного фокусування коригують різкість. Коли препарат буде у фокусі, відкрити ліве око і з за допомогою діоптрійного налаштування на лівому окулярі знову налаштувати фокусування. Тепер мікроскоп налаштований для роботи із конкретним користувачем.

15. Препарат прибирають із предметного столика лише з-під малого збільшення. Для цього переводять револьвер мікроскопа назад у робоче положення об'єктива $\times 10$. Гвинтом грубого фокусування опускають предметний столик, злегка відводять затискач і рухом від себе плавно видаляють препарат, не зачіпаючи лінз мікроскопа. Коаксіальними гвинтами переміщення препарату поєднують грані столика між собою.

16. Повністю відкривають апертурну діафрагму конденсора та польову діафрагму освітлювача.

17. Регулятор яскравості переводять у положення вимкнено, вимикають перемикач живлення мікроскопа.

18. Від'єднують мережний кабель, акуратно його згортають і скріплюють фіксатором.

19. Закривають мікроскоп чохлам.

Завдання: 1) Засвоїти правила поведінки та правила роботи з мікроскопом; 2) Ознайомитись із механічною, освітлювальною та оптичною частиною мікроскопа.

Питання для самоконтролю:

1. Як влаштований оптичний вузол мікроскопа?
2. Що являють собою об'єктиви, і які функції у мікроскопі вони виконують? Які характеристики має об'єктив?
3. Що таке роздільна здатність об'єктива, як її розрахувати, від чого вона залежить?
4. Чим відрізняються сухі та імерсійні об'єктиви?
5. Яке призначення окулярів?
5. Як визначається загальне збільшення мікроскопа?
6. Які основні характеристики має мікроскоп?

Лабораторна робота № 2

***Тимчасові препарати та методика їх виготовлення.
Вимірювання об'єктів під мікроскопом***

Мета роботи: Оволодіти методикою приготування тимчасових препаратів. Ознайомитись з приладами і принципами вимірювання об'єктів під мікроскопом.

Питання для самопідготовки:

1. Основні методи фіксації та фарбування клітин чи тканин.
2. Найбільш поширені види маркерів (барвників), що застосовуються під час підготовки тимчасових препаратів.
3. Характеристики та параметри об'єктів, які можна виміряти за допомогою мікроскопа.

4. Способи оцінки якості виготовлених тимчасових препаратів.
5. Програми та галузі застосування методики вимірювання об'єктів під мікроскопом у біології.

Основні поняття

Приготування мікропрепарату - один із обов'язкових видів умінь, що необхідні при вивченні дисципліни «Біологія клітини». Тимчасові препарати об'єктів не зберігаються довго і після мікроскопії об'єкт змивається із предметного скла.

Порядок приготування тимчасового препарату наступний:

1. Беруть предметне скло і, тримаючи його за бічні грані, кладуть на стіл.
2. У центрі скла розміщують об'єкт дослідження (тонкі волокна вати, волосина тощо).
3. У піпетку набирають трохи води зі стаканчика та наносять на препарат 1-2 краплі.
4. Тримаючи покривне скельце за бічні грані, накривають їм зверху предметне скло (рис. 2.1).

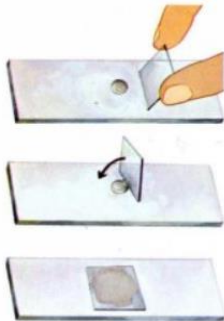


Рис. 2.1. Етапи приготування мікропрепарату: покриття об'єкта покривним скельцем

5. Якщо рідини багато, і вона витікає з під покривного скельця, її видаляють за допомогою фільтрувального паперу. Якщо ж під покривним склом залишилися місця, заповнені повітрям, додають рідину, помістивши її краплю поруч із краєм

покривного скельця, а з протилежного боку фільтрувальний папір.

6. Препарат готовий.

7. Препарат розміщують на предметному столику мікроскопа і розглядають спочатку за малого, а потім за великого збільшення.

Вимірювання мікроскопічних об'єктів здійснюють за допомогою спеціальних лінійок-окуляр-мікрометра та об'єкт-мікрометра. Шкала окуляр-мікрометра має довжину 0,5 чи 0,1 см і розділена відповідно на 50 чи 100 частин. Окуляр-мікрометр або вставляють в окуляр, або він буває вмонтований у спеціальний вимірювальний окуляр. Обертаючи окуляр, підводять вимірюваний об'єкт під шкалу окуляр-мікрометра та вимірюють об'єкт. Проте ціна поділу окуляр-мікрометра буває різною залежно від того, з яким об'єктивом розглядають об'єкт. Для того щоб визначити ціну поділки окуляр-мікрометра при різних об'єктивах та окулярах, користуються спеціальною лінійкою – так званим об'єкт-мікрометром. Об'єкт-мікрометр вмонтований у металеву оправу. Шкала його має довжину 1 мм та розділена на 100 частин. Інтервали між поділками зазвичай дорівнюють 0,01 мм, тобто 10 мікрометрів (скорочене позначення мкм) - це ціна однієї поділки об'єкт-мікрометра.

Ціну поділки окуляр-мікрометра визначають за формулою:

$$Z = \frac{m}{N} \cdot 10 \quad (2.1)$$

де: Z – ціна поділки, мкм; m – число поділок об'єкт-мікрометра; N – число поділок окуляр-мікрометра.

Для цього на столик мікроскопа поміщають об'єкт-мікрометр – лінійку і, пересуваючи об'єкт-мікрометр гвинтами предметного столика, домагаються збігу одного зі штрихів шкали об'єкт-мікрометра зі штрихом окуляр-мікрометра (рис. 2.2).

Отримані при різних оптичних комбінаціях дані заносять у таблицю (табл. 2.1).

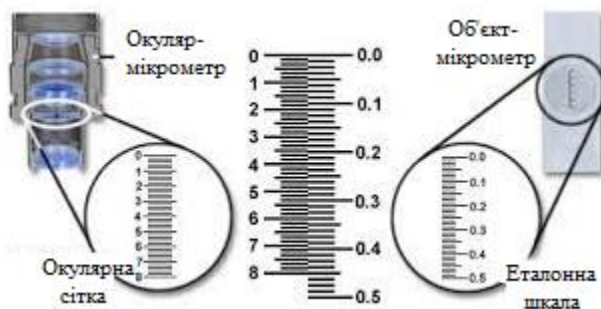


Рис. 2.2. Співставлення шкали в окуляр-мікрометрі зі шкалою об'єкт-мікрометра

У прикладі на рис. 2.2 – 8 повних поділів шкали окуляра відповідають 0,45 мм. Таким чином, кожен повний поділ шкали окуляра дорівнює 0,056 мм або 56 мкм.

Таблиця 2.1

Ціна поділки окуляр-мікрометра за різних оптичних комбінацій

Збільшення об'єктива	Число поділок		Ціна поділки, мкм
	Окуляр- мікрометра (N)	Об'єкт- мікрометра (m)	
X8			
X10			
X20			
X40			

На готових препаратах проводять вимірювання довжини, і ширини клітин різних ділянок препарату. Для цього отриману величину об'єктів у поділках шкали окуляр-мікрометра множать на числове значення ціни поділи та отримують величину об'єкта в мкм.

Завдання: 1) виготовити тимчасовий препарат з волосини; 2) визначити ціну поділки окуляр-мікрометра при малому та великому збільшенні об'єктива, результати представити у вигляді таблиці 2.1; 3) виміряти товщину волосини.

Питання для самоконтролю:

1. Що таке тимчасові препарати і які матеріали використовуються для їх створення?
2. Які особливості підготовки біологічних об'єктів перед створенням тимчасових препаратів?
3. Якою є формула визначення ціни поділки окуляр-мікрометра?
4. Чи буде відрізнятись фактичний розмір одного і того ж об'єкта при різних збільшеннях окуляра мікроскопа?
5. Яким чином проводиться вимірювання об'єктів під мікроскопом та які інструменти використовуються?
6. Як вимірюється об'єкт під мікроскопом?
7. Як визначається ціна поділки окуляр-мікрометра?

Лабораторна робота № 3

Будова рослинної клітини

Мета роботи: 1) ознайомитись з будовою рослинної клітини; 2) виготовити тимчасові препарати для розгляду будови клітин різних тканин і різних видів рослин; 3) окреслити відмінності в будові клітин різних типів тканин рослинного організму.

Питання для самопідготовки:

1. Транспорт речовин усередині клітини та через клітинну мембрану.
2. Поняття та види транспірації. Фактори, що впливають на інтенсивність процесу транспірації.
3. Особливості клітинного дихання і молекули, що використовуються для виділення енергії.
4. Біологічне значення ендоцитозу та екзоцитозу, їх роль у метаболізмі клітини.
5. Взаємодії клітин у багатоклітинних організмах, формування тканин та органів.
6. Методи та прилади, що використовуються для вивчення клітин та їх структури у лабораторних дослідженнях.

Основні поняття

Рослинні клітини мають унікальну будову, яка відрізняється від тваринних клітин (рис. 3.1).

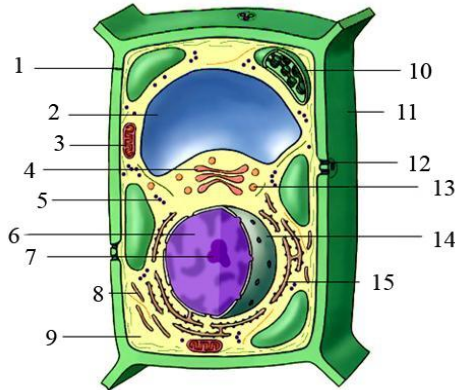


Рис. 3.1. Схема загальної будови рослинної клітини:

- 1 - клітинна оболонка; 2 - вакуоля; 3 - мітохондрії; 4 - апарат Гольджі;
5 - рибосоми; 6 - ядро; 7 - ядерце; 8 - гладка ендоплазматична сітка;
9 - цитоплазма; 10 - хлоропласти; 11 - плазматична мембрана;
12 - плазмодесми; 13 - лізосоми; 14 - оболонка ядра;
15 - гранулярна ендоплазматична сітка

Основні компоненти та структурні особливості рослинної клітини представлені:

Клітинна стінка (целюлозна стінка) – жорстка, нееластична оболонка, що оточує клітину. Вона складається переважно з целюлози і надає рослинній клітині форму та захист. Клітинна стінка забезпечує опору та оберігає клітину від механічних пошкоджень.

Цитоплазма. Усередині клітини знаходиться желатиноподібна маса, яка називається цитоплазмою. У ній розміщуються органели, метаболічні процеси та багато іншого.

Ядро. Ядро рослинної клітини містить генетичну інформацію у вигляді ДНК і управляє безліччю клітинних функцій, таких як поділ клітин та синтез білків.

Хлоропласти – органели, у яких здійснюється фотосинтез. Вони містять хлорофіл, пігмент, що дозволяє рослинам перетворювати сонячну енергію на хімічну енергію та виробляти органічні сполуки.

Мітохондрії. Мітохондрії у рослинних клітинах відповідають за виробництво енергії в процесі клітинного дихання. Вони перетворюють органічні молекули (наприклад, глюкозу) на аденозинтрифосфат (АТФ), основне джерело енергії для клітин.

Вакуоль. У рослинних клітинах зазвичай є одна велика вакуоль, заповнена водою та розчиненими речовинами. Вакуоль виконує функції зберігання води, регулювання осмотичного тиску та зберігання різних речовин, таких як пігменти та токсини.

Ендоплазматична сітка та апарат Гольджі. Ці органели відповідальні за синтез та транспортування білків та ліпідів усередині клітини.

Рибосоми. Рибосоми служать для синтезу білків у клітині.

Мікротрубочки та мікрофіламенти. Елементи цитоскелета, які забезпечують структурну підтримку та можуть брати участь у русі всередині клітини.

Пероксисоми. Органели, що беруть участь у різних метаболічних процесах, включаючи руйнування шкідливих речовин та утилізацію перекису водню.

Рослинні клітини можуть також містити різні інші органели, залежно від їхнього типу та функцій. Це базова будова рослинної клітини, і різні типи рослин можуть мати деякі особливості або спеціалізації в структурі клітин, залежно від їх потреб та функцій.

Для приготування тимчасового препарату і розгляду рослинних клітин, найпростіше для початку є використання м'ясистої частини цибулини ріпчастої. Для цього з випуклої сторони вирізатють в радіальному напрямку невеликий кусочок. Потім препарувальною голочкою або пінцетом відділяють кусочок шкірочки в декілька квадратних міліметрів. Наносять на предметне скельце і виготовляють тимчасовий

препарат. Спочатку шкірочку цибулини розглядають під малим, а потім під великим збільшенням.

Шкірочка цибулини являє собою покривну тканину, яка складається з шару продовгуватих клітин щільно прилягаючих одна до одної. Після розгляду препарату в такому стані, його зафарбовують розчином йоду в йодистому калії.

Для розгляду клітин інших рослин використовують свіжий листок елодеї канадської або валіснерії. Їх розміщують нижньою частиною на предметне скло в краплю води. Накривають покривним скельцем. Спочатку препарат розглядають при малому, а потім при великому збільшенні. При великому збільшенні можна помітити хлорофілові зерна округлої або овальної форми. В крайніх клітинах листка, де мало хлорофілових зерен і вони маленькі, можна помітити також вакуолю, ядро і цитоплазму.

Виготовлення зрізу з нижньої частини листової пластини кімнатних рослин дозволяє розглянути на тимчасовому препараті особливі типи клітин епідерми клітин – продихи, що беруть участь у процесі транспірації.

Завдання: 1) приготувати препарати: зі шкірочки м'ясистої частини цибулини, листочка водної рослини елодеї чи валіснерії, листочка традесканції; 2) роздивитись приготовлені препарати під мікроскопом при малому та великому збільшенні; 3) замалювати розглянуті клітини з позначенням їх складових частин і органів.

Питання для самоконтролю:

1. Назвіть основні складові частини рослинної клітини.
3. Яка будова і основні фізіологічні функції цитоплазми і клітинної оболонки.
4. Будова і функції ядра.
6. Будова та функції хлоропластів та лейкопластів.
8. Чим заповнена вакуоля рослинної клітини?
9. Назвіть органели та включення цитоплазми.

Лабораторна робота № 4

Цитологічні особливості покривної тканини рослин

Мета роботи: 1) ознайомитись з будовою і функціями покривної тканини рослин; 2) виготовити тимчасові препарати для розгляду будови продихів рослин.

Питання для самопідготовки:

1. Транспірація та газообмін рослин
2. Явище плазмолізу та деплазмолізу
3. Виділення продуктів метаболізму рослинами
4. Механізми ураження рослин хвороботворними вірусами
5. Терморегуляція рослин

Основні поняття

Епідерма – первинна покривна тканина вищих рослин. Вона складається з одного шару клітин, що розташовані на поверхні тіла рослини. Клітини епідерми щільно зімкнуті одна з одною (без міжклітинників), а їх клітинні стінки, що звернені до довкілля є потовщеними. Зовні епідерма покрита неклітинним шаром – кутикулою. Кутикула складається з воскоподібних речовин та відіграє важливу роль у захисті рослини від зайвого випаровування. У складі епідерми також можна зустріти різноманітні волоски (трихоми). Трихоми можуть бути одноклітинними або багатоклітинними, простими (у вигляді простої волосинки) або складної форми (розгалужені, зірчасті, Т-подібні тощо). Важливою частиною епідерми є продихи. Продихи складаються з двох замикаючих клітин зазвичай бобовидної форми, між якими знаходиться продихова щілина, здатна відкриватися і закриватися (рис. 4.1). Продихи виконують дві важливі функції – регулюють інтенсивність випаровування, а також крізь продихову щілину здійснюється газообмін рослини із зовнішнім середовищем. Слід зазначити, що епідерма – це "прозора" тканина, оскільки в основних клітинах епідерми відсутні хлоропласти.

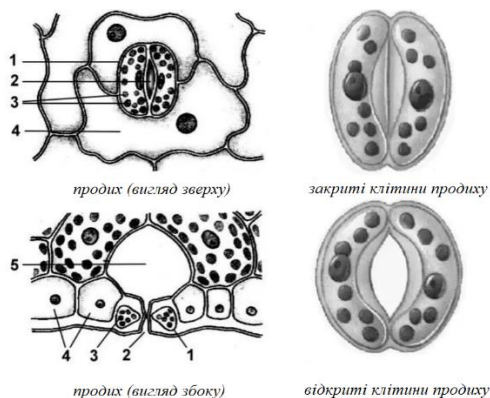


Рис. 4.1. Будова продихового апарату: 1 – зімкнені клітини; 2 – продихова щілина; 3 – хлоропласти; 4 – епідермальні клітини; 5 – міжклітинник

Однак у замикаючих клітинах продихів хлоропласти є, вони необхідні для їх роботи з закривання та відкривання продихів. Клітини епідерми, які прилягають до клітин, що замикають, називаються побічними. За їх числом, орієнтацією та взаємним розташуванням виділяють різні типи продихового апарату. Так, наприклад, розрізняють парацитний, діацитний, анізотичний, антомоцитний та безліч інших типів продихових апаратів (рис. 4.2).

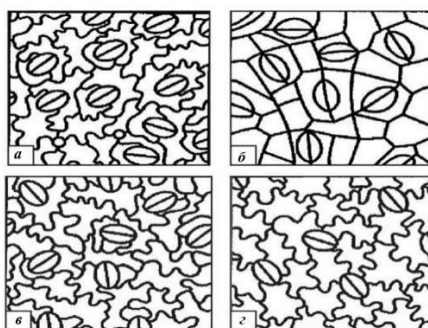


Рис. 4.2. Основні типи продихових апаратів: а – діацитний; б – парацитний; в – анізотичний; г – антомоцитний

Вторинна покривна тканина вищих рослин – це корок. Корковий шар зазвичай утворюється на вторинно потовщених стеблах і коренях вищих рослин. Крок (вона ж феллема), утворюється в результаті роботи так званого коркового камбію (або феллогену). У фелогені клітини діляться і відкладаються назовні, їх клітинні стінки товщають і суберинізуються (опробковковують). Суберин – це речовина непроникна для води та повітря, отже, внутрішній вміст клітин незабаром відмирає. В результаті пробковий шар складається з мертвих клітин і є газо-і водонепроникною покривною тканиною.

Спостереження за продишним апаратом під мікроскопом проводять за допомогою зрізу з нижньої частини листа рослини. Зріз розміщують на предметне скло у краплину 5-% розчину гліцерину, накривають покривним скельцем і відразу починають спостерігати під мікроскопом. Спостерігати явище *плазмолізу* можливо як у зімкнених клітин продихів, так і в решті клітин епідермісу. Через втрату води продишні щілини будуть закриватись. Через деякий час (15 хв.) з огляду на те, що гліцерин починає проникати крізь плазмалему до цитоплазми, відбудеться *деплазмоліз* та продиши відкриються. Після цього заміняють гліцерин на воду, для чого поруч із покривним скельцем наносять краплину води, з іншої сторони смужками фільтрувального паперу відтягують гліцерин. При цьому дифузія води в клітини посилюється, внаслідок чого продиши відкриваються ще ширше.

Для вимірювання кількості продихів та розміру їх випаровуючої поверхні перед початком роботи за допомогою об'єктивного мікрометра встановлюють ціну поділки окулярного мікрометра. Окулярним мікрометром вимірюють довжину та ширину продихів. Площу випаровуючого отвору продихів встановлюють з наближенням до площі прямокутника. Потім визначають площу всього поля зору або його частини (квадрату, прямокутника в окулярному мікрометрі). Підраховують на цій ділянці кількість продихів та їх площу, а потім результати перераховують за пропорцією та виражають у шт. та мм^2 на площу 1 мм^2 листка рослини.

Завдання: 1) виконати зріз нижньої частини листка традесканції, приготувати тимчасовий препарат та розглянути в мікроскоп, замалювати продихи у відкритому та закритому вигляді, пояснити причини продихових змін; 2) провести визначення кількості та площі продихів із перерахунком на площу 1 мм² листка рослини.

Питання для самоконтролю:

1. У чому особливості будови замикаючих клітин продихів?
2. Опишіть механізм відкривання та закривання продихів.
3. Що відбувається з продихами з розчині гліцерину?
4. Який спосіб підрахунку розмірів та кількості продихів вам відомий?

Лабораторна робота № 5

Будова тваринної клітини

Мета роботи: ознайомитись з принциповою схемою будови і функціями структурних компонентів тваринної клітини, навчитись виготовляти препарати для розгляду тваринної клітини.

Питання для самопідготовки:

1. Роль мітохондрій у процесі енергетичного обміну у клітині.
2. Будова цитоскелету, його участь у підтримці форми клітини та русі.
3. Реакції клітини на внутрішню рівновагу та взаємодію з навколишнім середовищем.

Основні поняття

Структурні компоненти тваринної клітини та їх функції мають багато спільного з рослинною клітиною, при чому існують певні особливості, що принципово відрізняють тваринну клітину від рослинної (рис. 5.1).

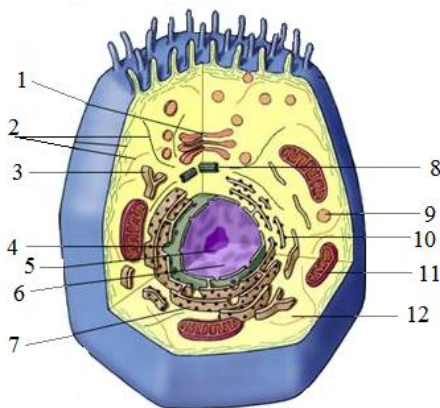


Рис. 5.1. Схема загальної будови тваринної клітини:

1 - апарат Гольджі; 2 – цитоскелет; 3 - гладка ендоплазматична сітка; 4 – оболонка ядра; 5 – ядерце; 6 – ядро; 7 – гранулярна ендоплазматична сітка; 8 – мікроворсинки; 9 – плазматична мембрана; 10 – центріолі; 11 – лізосоми; 12 – рибосоми; 13 – мітохондрії; 14 – цитоплазма

Клітинна (цитоплазматична) мембрана - молекулярна структура, що складається з білків і ліпідів (від грец. *lipos* - жир), причому молекули ліпідів утворюють подвійний шар, в який занурені молекули білків.

Зовнішня мембрана оточує клітину, відокремлюючи її внутрішній вміст зовнішнього середовища. Вона виконує захисну та рецепторну функції та забезпечує вибіркового транспорт речовин у клітину та з неї.

Внутрішньоклітинні мембрани входять до складу мембранних органел, поділяючи клітину на відсіки, в яких підтримуються необхідні умови для перебігу різних біохімічних процесів.

Ядро - округле утворення, що містить спадковий (генетичний) матеріал - хромосоми (від др.-грецьк. *chroma* - фарба і *soma* - тіло). Оточено ядерною оболонкою, що складається з двох шарів цитоплазматичної мембрани, розділених проміжком. Функція ядра - зберігання та передача спадкової інформації.

Цитоплазма (від грец. kytos - клітка і plasma - вміст) - це внутрішнє середовище клітини, що складається з напіврідкого вмісту - цитозолу, або гіалоплазми, в якому розташовані органоїди та включення.

Гіалоплазма є середовищем всіх клітинних процесів - хімічних реакцій і транспорту речовин.

Ендоплазматична сітка (ЕПС) (від др.-грец. endon - всередині і plasma - вміст) - система оточених мембраною порожнин і каналців, сполучена з простором між двома ядерними мембранами. Розрізняють два види ЕПС - гладку і шорстку (на поверхні шорстких мембран розташовуються численні рибосоми). У відсіках гладкої ЕПС здійснюється синтез жирів та вуглеводів, у відсіках шорсткої - синтез білків. На каналцях ЕПС ці речовини транспортуються в ті частини клітини, де є в них потреба, або накопичуються.

ЕПС синтезує всі компоненти клітинних мембран - мембранні ліпіди та мембранні білки - і шляхом самозборки збільшує свою поверхню, а потім у вигляді мембранних бульбашок посилає фрагменти мембран в інші частини мембранної системи.

Апарат (комплекс) Гольджі є стопкою сплоснених, оточених мембраною цистерн і пов'язаних з ними бульбашок. Названий на ім'я італійського вченого Камілло Гольджі, який вперше виявив і описав цю структуру. Зазвичай розташовується біля ядра.

В апараті Гольджі відбувається модифікація речовин, синтезованих ЕПС, наприклад з білкових молекул синтезуються активні молекули ферментів і гормонів. Пухирці з модифікованими речовинами відшнуровуються від цистерн і транспортуються по клітині або виділяються назовні. Лізосоми також утворюються в апараті Гольджі.

Лізосоми (від др.-грец. lysis - розчинення і soma - тіло) - це дрібні бульбашки, оточені одним шаром мембрани. Усередині них підтримується кисле середовище та містяться травні ферменти. Лізосоми беруть участь у внутрішньоклітинному травленні.

Великих вакуолей (лат. *vacuus* - порожній), як у рослинній клітині, у тваринній не буває. Але у клітин, здатних до фагоцитозу (наприклад, у клітин найпростіших і фагоцитів багатоклітинних тварин) можуть утворюватися одномоembrанні невеликі бульбашки - травні вакуолі: вони формуються з бульбашок поглиненою клітиною частки і лізосом, що зливаються з ними. У травних вакуолях відбувається перетравлення вмісту - розщеплення до речовин, які клітина здатна використовувати для потреб метаболізму.

Ще один вид вакуолей, притаманних тварин клітин, - це скорочувальні вакуолі. Вони відповідають за виділення із клітини надлишку води (осморегуляції) та неперетравлених залишків їжі.

Мітохондрії (від др.-грец. *mitos* - «нитка» і *chondrion* - зернятко) - круглі або овальні тільця, оточені двома шарами мембрани. Зовнішня мембрана гладка, а внутрішня утворює складки, які збільшують площу цієї мембрани.

Мітохондрії забезпечують клітину енергією. Вони відповідають за клітинне дихання: на внутрішній мембрані мітохондрій розташовуються дихальні ферменти та відбуваються процеси окислення багатих на енергію органічних речовин.

Рибосоми (від назви цукру «рибоза», залишки якого входять до складу цього організму, та ін.-грец. *soma* - тіло) - найдрібніші органіди, що видно тільки в електронний мікроскоп. Кожна рибосома складається з двох частин: великої та малої субодиниць. Рибосоми беруть участь у синтезі білка.

Клітинний центр або центріолі (від лат. *centrum* - серединна точка і зменш. суфікса *-ol*, букв. - маленький центр), - два циліндрики з мікротрубочок, розташовані перпендикулярно один до одного. Грає найважливішу роль у клітинному розподілі, беручи участь у формуванні веретена поділу.

Одним із варіантів вивчення будови тваринної клітини є приготування мазків слизової оболонки ротової порожнини. Для цього, за допомогою стерильної ватної палички беруть з внутрішньої сторони правої і лівої щоки м'який шкребок з

наступним нанесенням мазку на предметне скло. Мазок фіксують впродовж 5 хв. за допомогою етанолу, промивають та проводять фарбування метиленовим синім впродовж 15 хв. Після повторного промивання мазки аналізують за допомогою світлового мікроскопу при збільшенні 7 х 60.

Завдання: 1) виготовити препарати (мазки) для розгляду будови слизового епітелію ротової порожнини людини; 2) провести порівняння будови тваринної та рослинної клітини, результати представити в табличній формі.

Питання для самоконтролю:

1. Які органи присутні у тваринній клітині та які функції вони виконують?
2. Які структури складають клітинну мембрану і як вони забезпечують її функції?
3. Що таке ендоплазматичний ретикулум і яка його роль у синтезі білків?
4. Які функції виконує апарат Гольджі у тваринній клітині?
5. Що таке лізосоми, і які завдання вони виконують у розпаді та переробці клітинних компонентів?
6. Що є ядро клітини, і як воно регулює клітинні процеси?
7. Які функції виконує рибосома у тваринній клітині?

Лабораторна робота № 6

Будова клітин прокаріотів

Мета роботи: Ознайомитися з пристроєм, принципом роботи та основними технічними характеристиками світлового мікроскопа. Набути навички роботи зі світловим мікроскопом.

Питання для самопідготовки:

1. Хімічний склад клітин прокаріотів
2. Розміри та форми бактеріальних клітин
3. Умови існування бактерій і синьо-зелених водоростей

Основні поняття

Клітини за особливостями організації ділять на два типи: прокаріотичні (клітини бактерій та синьо-зелених водоростей) та еукаріотичні (клітини рослин, тварин і грибів). В основу такого поділу покладено організацію ядра. Прокаріотичні клітини не містять оформленого ядра, так що генетичний матеріал як ДНК не обмежений від цитоплазми оболонкою. Генетичний апарат представлений ДНК – єдиною кільцевою хромосомою, яка позбавлена основних білків (гістонів).

Нуклеоїд розташовується в клітині поблизу цитоплазматичної мембрани і прикріплений до неї в декількох місцях. Крім основної молекули ДНК, бактеріальна клітина може містити плазмідні – кільцеві дволанцюжкові молекули ДНК, що містять всього кілька тисяч пар нуклеотидів і розмножуються незалежно від основної молекули ДНК.

Клітини прокаріотичного типу відрізняються від еукаріотичних ще й розмірами, відсутністю спеціалізованих внутрішніх мембранних структур: пластид, мітохондрій, лізосом, ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі та ін. (рис. 6.1).

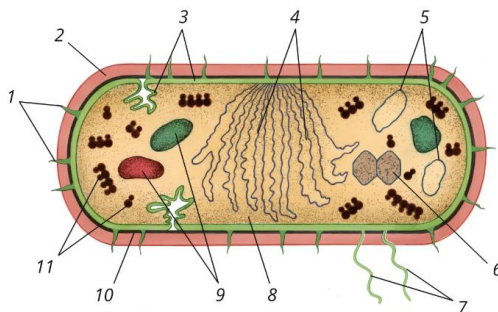


Рис. 6.1. Схема будови бактеріальної клітини:

- 1 – пілі; 2 – слизова капсула; 3 – цитоплазматична мембрана;
4 – геномна ДНК (нуклеоїд); 5 – плазмідні; 6 – карбоксисоми; 7 – джгутики;
8 – цитоплазма; 9 – включення запасних речовин; 10 – клітинна стінка;
11 – рибосоми**

Плазматична мембрана бактерій має схожість з цитоплазматичною мембраною еукаріотів, але позбавлена

холестеролу, містить більше білків і фосфоліпіди одного лише типу.

Структури, розташовані зовні від плазматичної мембрани (клітинна стінка, капсула, слизовий чохол, джгутики, злодійки), називають поверхневими. Склад та організація клітинної стінки є основою для поділу бактерій на таксономічні групи: грам-позитивні та грам-негативні бактерії. До складу клітинної стінки можуть входити муреїн, близький за складом до хітину, полісахариди, білки та ліпіди. Функції клітинної стінки дуже складні. Вона здатна регулювати обмін між клітиною та навколишнім середовищем. Усередині стінки та на її поверхні знаходяться ферменти, здатні розщеплювати полімерні сполуки до низкомолекулярних, які потім через цитоплазматичну мембрану надходять всередину клітини. Тут же знаходяться ферменти, що синтезують позаклітинні полісахариди. Часто клітинна стінка буває одягнена слизовою капсулою або чохлом. На клітинній поверхні багатьох бактерій є джгутики, завдяки яким клітини переміщуються в рідкому середовищі. Їх основу становить фібрилярний білок флагеллін.

Внутрішній простір прокаріотичної клітини займає цитоплазма. У фотосинтезуючих прокаріотів є інтрацитоплазматичні мембрани, які в процесі свого розвитку можуть зростатися або стикатися з плазматичною мембраною. Іноді є мембрани, що оточують газові вакуолі, включення сірки, пігменти, але вони відрізняються від цитоплазматичної.

До немембранних органоїдів прокаріотичної клітини відносять рибосоми з константою седиментації 70S, що здійснюють білковий синтез. Вони утворені двома субодинами: великою і малою, що мають константи седиментації 50S та 30S відповідно.

Для розгляду під мікроскопом бактеріальної клітини готують тимчасовий препарат бактерій. Для цього за 3-5 днів поміщають у колбу на 100 мл невелику кількість подрібненого матеріалу (м'ясо, риба, білок яйця та ін.), додавши на кінчику скальпеля трохи крейди. Перемішуючи, заливають водопровідною водою на 2/3 об'єму. Колбу з настоєм

витримують у термостаті при 25–28 °С або у теплому приміщенні у темряві 3-5 днів. Каплю настою, що містить різноманітні бактерії, поміщають на предметне скло. Після цього препарат закривають покривним склом і розглядають під мікроскопом.

Для розгляду синьо-зелених водоростей (ціанобактерій) проводять гідробіологічний відбір проб води на відкритій водоймі, що знаходиться в фазі активного «цвітіння». Краплю води зі стаканчика планктонної сітки Апштейна розміщують на предметному склі та розглядають під мікроскопом. Відібрані зразки води з представниками синьо-зелених водоростей можливо зберігати тривалий час, провівши їх фіксування за допомогою формаліну.

Завдання: 1) ознайомитись з будовою гетеротрофної бактерії та ціанобактерії за допомогою приготованих тимчасових препаратів; 2) провести ідентифікацію структурних компонентів клітин на розглянутих препаратах, зробити відповідні рисунки.

Питання для самоконтролю:

1. Чим прокаріотична клітина відрізняється від еукаріотичної?
2. Які основні компоненти складають клітинну стінку бактерій? Яка роль капсули у деяких прокаріотів?
3. Що таке травна вакуоля і де вона виявляється у прокаріотичній клітині?
4. Яка функція хвоста (флагеля) у бактерій?
5. Які структури беруть участь у передачі генетичної інформації у прокаріотичній клітині?
6. Яка роль рибосом у прокаріотичній клітині?
7. Які фактори сприяють адаптації бактерій до різних умов середовища?
8. Які структури забезпечують бактеріям здатність до руху?

Лабораторна робота № 7

Осмотичні властивості клітини та механізм надходження води в клітину

Мета роботи: Ознайомитися з явищами осмосу, потенціального осмотичного і тургорного тиску, плазмолізом і смоктальною силою рослинних клітин і визначити в рослинних клітинах потенціальний осмотичний тиск і смоктальну силу.

Питання для самопідготовки:

1. Механізми транспорту крізь клітинну мембрану.
2. Роль напівпроникних мембран у процесі осмосу.
3. Різновиди осмотичних середовищ (гіпоосмотичне, гіперосмотичне, ізоосмотичне).

Основні поняття

Вибірковість транспорту речовин крізь мембрану вважається однією з ознак життя на клітинному рівні. Дифузію води крізь напівпроникну мембрану із розчину з низькою концентрацією розчиненої речовини до розчину з високою концентрацією розчиненої речовини називають **осмосом**.

Вибірковість транспорту крізь проникну мембрану призводить до виникнення в клітині осмотичних явищ. **Осмотичними** називають явища, що відбуваються в системі з двох розчинів, які розділені напівпроникною мембраною. У рослинній клітині роль напівпроникних плівок виконують: плазмалема – мембрана, що розділяє цитоплазму та зовнішньоклітинне середовище, і тонопласт – мембрана, що розділяє цитоплазму і клітинний сік (вміст вакуолі рослинної клітини).

В вакуолях концентрація клітинного соку завжди більша концентрації ґрунтового розчину, тому вода прямує всередину кореня (в клітину).

Надходження води в вакуолю клітини і збільшення її розмірів призводить до появи гідростатичного тиску її на цитоплазму і оболонку. Цей гідростатичний тиск називають **тургорним тиском** (Т). Таким чином, **тургор** – стан внутрішнього напруження клітини, який обумовлений високим

вмістом води та зростаючим тиском вмісту клітини на її оболонку.

Еластично розтягнута тиском клітинного соку оболонка клітини діє в протилежному напрямку на вміст клітини (W), при цьому тиск оболонки і тургорний тиск завжди рівні, але з протилежними знаками.

Однією з властивостей клітин є їх *тургесцентність*, тобто обмежене розтягування целюлозної оболонки клітини. При надходженні води в клітину вона буде збільшуватись і розтягуватись до якоїсь визначеної межі. Потім при найбільшому об'ємі клітини протилежний тиск розтягнутої оболонки врівноважує внутрішній гідростатичний тиск клітинного соку, і надходження води в клітину припиняється.

Максимально можливий гідростатичний тиск клітинного соку на оболонку при повному насиченні клітини водою називається *потенціальним осмотичним тиском* або *осмотичним потенціалом* (P).

При повному насиченні клітини водою осмотичний потенціал проявляється у вигляді гідростатичного тургорного тиску, який в свою чергу, врівноважується протилежним тиском розтягнутої клітинної оболонки (W). В такому стані ($P=T=W$), надходження води в клітину припиняється, так як клітинна оболонка розтягнута повністю і розтягуватись далі не може.

Але в наземних рослин внаслідок постійних втрат води на випаровування (транспірацію), клітина майже ніколи не буває в стані повного насичення, тому тургорний тиск не досягає своєї повної величини, тобто T завжди менше P . При такому стані клітина здатна всмоктувати в себе воду і збільшуватись в об'ємі. Чим менше клітина насичена водою, тим більша різниця між P і T , тим з більшою силою клітина може всмоктувати воду.

Таким чином, *смоктальна сила клітини* (S) являється різницею між осмотичним і тургорним тиском:

$$S = P - T$$

Рух води від однієї клітини до іншої відбувається також внаслідок різниці в смоктальній силі цих клітин. Наприклад, по мірі віддаленості від корневих волосків до провідних судин

кореня смоктальна сила клітин послідовно росте, в результаті чого вода рухається по клітинах осмотично від корневих волосків до судин в центрі кореня. Таким же чином рухається вода по клітинах хлорофілонової паренхіми від судин до міжклітинних порожнин листка, де вона випаровується. Але по судинах кореня, стебла і листка вода рухається вже не внаслідок осмосу, а як по порожніх трубках, підкоряючись законам гідродинаміки.

При мінімальному об'ємі клітини її сік не буде тиснути на цитоплазму і оболонку, тургор в ній буде відсутнім ($T=0$), а смоктальна сила - максимальною ($S=P$). При найбільшому об'ємі клітини її оболонка буде гранично розтягнута, клітина воду всмоктувати не може, тургор буде найбільший ($P-T$), а смоктальна сила відсутня ($S=0$). В проміжних станах клітини $S=P-T$. Чим менше клітина насичена водою, тим менше її об'єм і тургор і тим більше смоктальна сила.

Якщо осмотичний тиск внутрішнього розчину більший ніж тиск зовнішньої рідини, розчин називають *гіпертонічним*, якщо менший – *гіпотонічним*, якщо рівний – *ізотонічним*. В цьому значенні термін "осмотичний тиск" сміливо можна замінити на "концентрація осмотично активної речовини".

При дії на клітину гіпертонічного розчину швидкість дифузії води з клітинного соку буде перевищувати швидкість дифузії води до клітини з зовнішнього розчину. Внаслідок втрат клітиною води об'єм клітинного соку зменшується, тургор знижується. Зменшення об'єму клітинної вакуолі супроводжується відділенням цитоплазми від оболонки. В процесі *плазмолізу* протопласт втрачає воду, зменшується в розмірах та відстає від клітинної стінки.

Залежно від в'язкості цитоплазми, від різниці між осмотичним тиском клітини та зовнішнього розчину, а отже, від швидкості та ступені втрат води цитоплазмою розрізняють плазмоліз *вишуканий*, *ввігнутий*, *судомний* та *ковпчковий* (рис. 7.1).

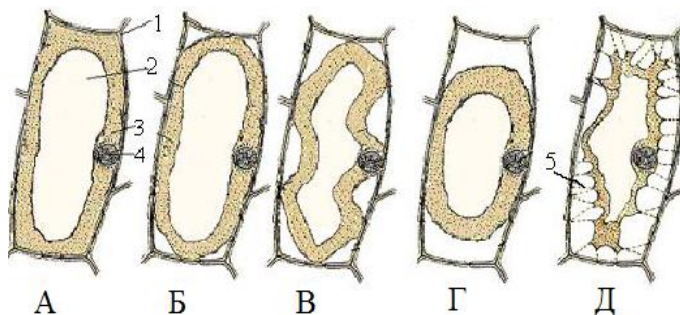


Рис. 7.1. Плазмоліз рослинної клітини: А - клітина в стані тургору; Б - кутовий; В - ввігнутий; Г - випуклий; Д - судомний; 1 - оболонка; 2 - вакуоль; 3 - цитоплазма; 4 - ядро; 5 - нитки Гехта

Плазмолізовані клітини, як правило, лишаються живими, особливо, якщо клітина провела у стані плазмолізу нетривалий час. При розміщенні живої плазмолізованої клітини у воді або гіпотонічному розчині відбувається **деплазмоліз** - клітина повертається у стан тургору та набуває нормального вигляду.

Для визначення потенціального осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу до чашки Петрі наливають воду і розчин NaCl різної концентрації за схемою: 1 чашка - 0,1н NaCl; 2 чашка - 0,2н NaCl; 3 чашка - 0,3н NaCl; 4 чашка - 0,4н NaCl; 5 чашка - 0,5н NaCl; 6 чашка - 0,6н NaCl; 7 чашка - дистильована вода (H₂O); №8 чашка - 1н NaCl.

До чашок 1-8 розмішують по одному листочку елодеї.

Паралельно готують тонкі (мікроскопічні) зрізи кореня столового буряка площею 2 - 4 мм² і розмешують у чашки 1-6.

Чрез 10-15 хвилин спостерігають явище тургору на об'єктах, які були поміщені в чашку 7 (вода) і явище плазмолізу на об'єктах поміщених в чашку 8 (1н NaCl). Листочки елодеї розглядають під мікроскопом в тому середовищі, в якому вони знаходились. Для цього листя, яке було у воді, переносять на предметне скло разом з краплиною води, а те що було в 1н NaCl - з краплиною розчину 1н NaCl. Потім накривають покривним скельцем і розглядають під мікроскопом.

Через 15-20 хвилин проводять розгляд клітин листка елодеї і зрізів столового буряка в чашках 1-6. Розгляд їх під мікроскопом (можна на одному склі) проводять у краплини того ж розчину, в якому вони знаходились. При високих концентраціях розчинів (0,5-0,6н) в клітинах проходить сильний плазмоліз, а при низьких (0,1н) - клітини залишаються без змін. знаходять таку концентрацію розчину, при якій тільки починається плазмоліз, тобто коли тільки починається слабо помітне відставання протоплазми від оболонки в кутках клітин. Це буде ізотонічна концентрація розчину, при якій розчин солі має однаковий тиск з осмотичним тиском клітинного соку об'єкту, що розглядається.

Спостереження за плазмолізом в елодеї і столового буряка записують в наступній формі:

Концентрація розчину	Плазмоліз		Ізотонічна концентрація	
	елодея	буряк	елодея	буряк
0,1н	немає			
0,2н	немає			
0,3н	немає		0,35	
0,4н	слабкий			
0,5н	сильний			
0,6н	сильний			

Потенціальний осмотичний тиск розраховують за формулою:

$$P = \frac{R \cdot T \cdot i}{V}$$

де: Р - осмотичний тиск, в Па (в паскалях); R - універсальна газова постійна, в системі СІ рівна $8,31 \cdot 10^3$ Дж/Кмоль; Т - абсолютна температура по Кальвіну, рівна ($273^\circ + t^\circ\text{C}$), наприклад, $273 + 17 = 290^\circ\text{K}$ (17°C – температура в приміщенні); V - об'єм води (в літрах), в якій треба розчинити грам-молекулу NaCl, щоб отримати ізотонічну концентрацію. Він рівний 1/К (К - ізотонічна концентрація).

2. Визначення смоктальної сили по зміні довжини смужок рослинної тканини в розчинах різної концентрації

1. Після того, як приготували мікроскопічні зрізи кореня столового буряка і поклали їх в розчини, нарізаємо 8 смужок з кореня столового буряка перерізом 2х2 мм і довжиною 4-5 см. Смужки повинні бути строго однакової довжини. Для цього кожну з них слід покласти на міліметровий папір або лінійку, виміряти їх довжину і відрізати.

2. В дві чашки Петрі (№1-6), куди поклали зрізи столового буряка і листки елодеї, кладемо по смужці кореня столового буряка.

3. Через 25 хвилин витримування смужок в розчинах (чашки №1-6) вимірюємо знову їх довжину, попередньо легенько осушивши їх фільтрувальним папером.

4. Спостереження записуємо в наступній формі:

Концентрація розчину	Довжина смужок (см)	Ізотонічна концентрація
0,1 н	стала довше	
0,2 н	стала довше	
0,3 н	стала коротше	0,25
0,4 н	стала коротше	
0,5 н	стала коротше	
0,6 н	стала коротше	

Необхідно знову знайти ізотонічну концентрацію розчину (концентрація при якій смужка залишалась без змін).

5. Вираховують смоктальну силу клітин кореня столового буряка по формулі:

$$S = \frac{R \cdot T \cdot i}{V} = \frac{8,3 \cdot 10^3 (273+17) \cdot 1,5}{4} =$$

де S – смоктальна сила, в Па.

6. Визначити тургорний тиск в коренях столового буряка по формулі: $T = P - S$.

Завдання: Провести експеримент для визначення осмотичного тиску рослинних клітин (наприклад, клітинних клітин) у різних осмотичних середовищах (гіпоосмотичне, ізоосмотичне, гіперосмотичне). Виміряти зміни об'єму клітин за допомогою мікроскопа і проаналізувати, описавши, як різні концентрації солей у середовищі впливають на тургор клітин.

Питання для самоконтролю:

1. *Що таке осмос і як він відрізняється від дифузії?*
2. *Які мембрани забезпечують функцію напівпроникних у рослинній клітині?*
3. *Що таке тургорний тиск і як він виникає в рослинних клітинах?*
4. *Яке значення має осмотичний потенціал для клітин?*
5. *Як зміни в концентрації розчиненої речовини впливають на об'єм клітини?*
6. *Що таке смотальна сила клітини і як вона використана?*
7. *Які дослідження мають дію гіпертонічного розчину на клітинну структуру?*
8. *Як відбувається плазмоліз і які його різновиди?*
9. *Яким чином рух води в рослинах пов'язаний з осмотичними процесами?*
10. *Що таке гіпертонічні, гіпотонічні та ізотонічні розчини, і як вони впливають на клітини?*
11. *Яка роль плазмалемі та тонопласту в осмотичних процесах клітин?*
12. *Яким чином гідростатичний тиск у вакуолі впливає на форму та стан клітини?*

Лабораторна робота № 8

Захисні механізми клітин: ферментативне розщеплення перекису водню

Мета роботи: Дослідити механізми захисту клітин від окисного стресу, зокрема роль ферментів у процесі розщеплення перекису водню (H_2O_2), який є токсичним побічним продуктом метаболізму

Питання для самопідготовки:

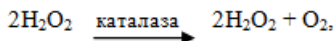
1. Роль перекису водню в клітинних процесах.
2. Участь ферментів у розщепленні перекису водню.
3. Фактори впливу на активність каталази та пероксидази.
4. Наслідки для клітин у разі недостатності ферментів.

Основні поняття

У клітинах різних організмів відбуваються численні метаболічні процеси, внаслідок яких утворюються різноманітні побічні продукти. Однією з таких токсичних сполук є перекис водню (H_2O_2), який може завдати серйозної шкоди клітинним структурам, включаючи білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти. Високі рівні H_2O_2 призводять до окислювального стресу, який може спричинити загибель клітин або порушення їхньої функції.

Для захисту від негативного впливу перекису водню клітини наділені ферментативними механізмами. Найважливішими ферментами, які беруть участь у розщепленні перекису водню, є каталаза та пероксидаза.

Каталаза (від грецьк. *καταλύω* - «руйную») – фермент, який призводить до розщеплення перекису водню на воду та молекулярний кисень:



а також окислює при наявності перекису водню низькомолекулярні спирти і нітриту, і бере таким чином участь у процесі клітинного дихання.

Каталаза функціонує з дуже великою швидкістю: при 0°C одна молекула каталази розкладає за 1 с до 40 000 молекул перекису водню. Локалізується каталаза в клітинах (в мікротільцях клітин).

Каталазну активність виявлено у всіх облигатних та факультативних аеробних прокаріот.

Перекис водню є і в ґрунті, де його також розкладає фермент каталаза мікроорганізмів. Різні ґрунти мають різну каталазну активність, що залежить від умов, в яких знаходяться ґрунти (клімат, температура, вологість ґрунту, характер рослинності і т. д.).

Якісною реакцією біологічної активності ґрунту, яка вказує на родючість ґрунту, нарівні з іншими характерними реакціями, є каталазна активність ґрунту, що вказує на здатність ґрунту розкласти перекис водню.

Слід сказати, що фермент каталаза містить в своєму складі органічну сполуку заліза, яка входить в склад гемоглобіну крові. Значить, можна спробувати створити неорганічну модель каталази, підібравши речовини, що будуть її нагадувати, наприклад комплексну сполуку іона міді з аміаком. Моделювання ферментативного каталізу - перспективний шлях розвитку хімічної технології найближчого майбутнього.

Цей процес відбувається дуже швидко, що дозволяє клітинам швидко знизити концентрацію токсичного H_2O_2 до безпечних рівнів.

Пероксидаза також розщеплює перекис водню, але, на відміну від каталази, вона може використовувати H_2O_2 для окислення інших субстратів, таких як феноли, амінокислоти та інші органічні сполуки. Це забезпечує не лише детоксикацію H_2O_2 , а й підтримку окислювально-відновних реакцій у клітинах.

Обидва ферменти діють у тісному зв'язку з іншими захисними механізмами клітини. Наприклад, антиоксиданти, такі як вітамін С і вітамін Е, допомагають нейтралізувати вільні радикали, які можуть утворюватися внаслідок окислювального стресу.

При дослідженні ферментативного розщеплення перекису водню рослинними і тваринними клітинами:

1. Приготуйте тимчасовий препарат листка елодеї і розгляньте його при малому збільшенні мікроскопа. З однієї сторони накривного скла капніть піпеткою 1-2 краплі розчину перекису водню, з іншої сторони прикладіть фільтрувальний папір, щоб під накривне скельце попав розчин H_2O_2 . Уважно спостерігайте в мікроскоп, що буде відбуватися, коли клітини елодеї зіткнуться з розчином перекису водню. Поясніть побачене явище.

2. В пробірки положіть по маленькому кусочку (величиною з горошину) сирої і вареної картоплі, сирого і вареного м'яса, сирих і варених легень, сирих і варених нирок і т.д.

В кожену пробірку піпеткою додайте 8-10 крапель розчину перекису водню, результати спостережень занотуйте по формі:

№ з/п	Об'єкт	Явища, які спостерігаються при дії перекису водню	Пояснення спостережень і висновки
1	Сира картопля		
2	Варена картопля		
3	Сире м'ясо		
4	Варене м'ясо		
5	Сирі легені		
6	Варені легені		
7	Сирі нирки		
8	Варені нирки		

При дослідженні дії неорганічної моделі каталази:

1. До 0,5 мл розчину сульфату міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) долийте декілька крапель розчину перекису водню (H_2O_2). Що спостерігаєте?

2. В другу пробірку налейте 0,5 мл розчину сульфату міді і додайте 5-10 крапель розчину аміаку. Що свідчить про хімічну реакцію між сульфатом міді і аміаком?

3. В пробірку з тільки що отриманим аміаком міді прилийте (обережно) декілька крапель перекису водню. Яке явище ви спостерігаєте на цей раз?

4. Дайте пояснення, - що спільного між дією перекису водню каталази і аміаку міді? Чим відрізняється фермент від його неорганічної моделі?

Для визначення каталазної активності ґрунту:

Метод визначення каталазної активності ґрунту полягає у встановленні кількості молекулярного кисню, який виділяється при розпаді перекису водню у процесі взаємодії його з ґрунтом (газометричний спосіб). Для цього:

1. Наважку ґрунту (1г) розміщують у колбу з об'ємом 100 мл.

2. На дно колби за допомогою пінцета ставлять маленький стаканчик з 5 мл 3%-го розчину перекису водню. Колбу щільно закривають каучуковим корком із скляною трубкою, яка приєднана до вимірювальної бюретки гумовим шлангом.

3. Початок досліду відмічають за секундоміром у той момент, коли стаканчик з перекисом падає і вміст колби струшують.

4. Кисень, що виділяється, витісняє з бюретки воду, рівень якої відмічають через 0,5; 1; 1,5 та 2 хв. Активність каталази виражають в мілілітрах O_2 , що виділився за 1 хвилину на 1 г ґрунту.

Про екологічний стан досліджуваного ґрунту судять за оціночною шкалою:

Ступінь збагаченості ґрунтів	Каталаза, мл O_2 /г /хв.
1. Дуже бідна	менше 1
2. Бідна	1 – 3
3. Середня збагаченість	3 – 10
4. Збагачена	10 – 30
5. Дуже збагачена	більше 30

Завдання: 1) Спостерігати реакцію живих та відмерлих рослинних і тваринних клітин на дію перекису водню. Дати

пояснення; 2) Змодельовати неорганічну модель каталази та дослідити механізм її дії; 3) Провести оцінку екологічного стану ґрунтів різних типів за їх каталазою активністю.

Питання для самоконтролю:

1. *Яке значення має перекис водню (H_2O_2) в метаболічних процесах клітин?*
2. *Які негативні ефекти можуть підвищити високий рівень H_2O_2 у клітинах?*
3. *Які ферменти беруть участь у розщепленні перекису води? Яка їхня основна функція?*
4. *Яким чином каталаза розщеплює перекис водню, і які продукти залишаються в результаті цього процесу?*
5. *Як впливає температурний фактор на швидкість розщеплення перекису водню?*
6. *Яка роль каталази в мікроорганізмах, що живуть у ґрунті?*
7. *Як каталазна активність ґрунту може вказувати на його родючість?*
8. *Які органічні сполуки виходять до складу каталази, і як це пов'язано з гемоглобіном?*
9. *Які функції виконує пероксидаза, і чим вона відрізняється від каталази?*
10. *Яка роль антиоксидантів, таких як вітамін С і вітамін Е, у захисті клітин від окислювального стресу?*

Лабораторна робота № 9

Мітоз як тип поділу клітин

Мета роботи: З'ясувати роль мітозу у забезпеченні росту, розвитку та регенерації організмів. Навчитися розпізнавати фази мітозу (профаза, метафаза, анафаза, телофаза). Вдосконалити навички мікроскопії та роботи з біологічними препаратами.

Питання для самопідготовки:

1. *Структура клітини: ядро, цитоплазма, мембрана, органели.*
2. *ДНК як носій спадкової інформації, ген, хромосома, каріотип*
3. *Основи процесу реплікації ДНК*
4. *Роль ядра та хромосом у збереженні й передачі генетичної інформації*
5. *Наслідки порушень прямого поділу клітин*

Основні поняття

У багатоклітинному організмі є різні види клітин, які складають тканини. Мітоз – головний механізм поділу практично всіх еукаріотів, тобто клітин, в яких є ядро. Існують також клітини, які діляться мейозом.

Мітоз – це процес поділу клітини, який забезпечує рівномірний розподіл генетичного матеріалу між дочірніми клітинами. Він є основною формою клітинного поділу у еукаріотів, що відповідає за ріст, відновлення та репарацію тканин. У періоді існування клітини, або клітинному циклі, можна виділити два періоди. Мітоз – це другий період, у який клітина ділиться. Більшу частину клітинного циклу займає перший період – *інтерфаза*. Під час інтерфази відбувається зростання клітини, синтез білка та інших органічних речовин клітини, утворення органел.

Під час інтерфази йде активний синтез та накопичення необхідних для поділу клітини речовин. Інтерфаза поділяється на три фази:

G1-фаза (пресинтетична) – клітина росте, здійснюється синтез органічних речовин та утворення органодів.

S-фаза (синтетична) – реплікація ДНК (створення двох дочірніх молекул ДНК на основі батьківської молекули ДНК). Дві копії однієї молекули ДНК називають сестринськими хроматидами. Обидві сестринські хроматиди, доки вони з'єднані центроміром, становлять репліковану хромосому. Після поділу хроматид під час поділу клітини їх називають дочірніми хромосомами. Тобто хроматиди – половинки реплікованих хромосом, які у процесі поділу стають автономними

структурами і перетворюються на хромосоми. Таким чином, кожна хромосома являє собою одну молекулу ДНК, або, перед розподілом клітини, дві абсолютно ідентичні один одному копії однієї молекули ДНК.

G2-фаза (постсинтетична) – клітина готується до поділу: синтезуються білки, накопичується запас багатих на енергію речовин (АТФ та глюкози).

Коли ці процеси завершено, клітина входить у стадію поділу, звану митозом.

Мітоз поділяється на чотири фази (спочатку в клітинах набір хромосом $2n2c$):

Профаза ($2n4c$) – спіралізація хромосом, руйнування оболонки ядра, утворення веретена поділу.

Метафаза ($2n4c$) – прикріплення хромосом до ниток веретена поділу; Хромосоми утворюють екваторіальну (метафазну) платівку.

Анафаза ($4n4c$) – центроміри сестринських хроматид поділяються, нитки веретена коротшають, в результаті дочірні хроматиди розходяться до протилежних полюсів. Такий рух триває доти, доки хроматиди, які стали самостійними хромосомами, не досягнуть полюсів.

Телофаза ($2n2c$) – деспіралізація хромосом; утворення ядерної оболонки; розподіл цитоплазми (цитокінез).

Деякі клітини вступають у G_0 -фазу (фазу спокою), в рамках якої вони перебувають у стані спокою і не діляться, але здатні виконувати свої основні функції.

Мітоз потрібен для того, щоб рівномірно розподілити хромосоми у клітинах, що утворюються, у кожній їх має бути рівно 46. Якщо в клітинах виявиться 45 або 47 хромосом, вони загинуть. Також завдяки мітозу ростуть тканини та органи, відбувається регенерація.

З метою ознайомлення з процесом каріокінетичного поділу (мітозу) рослинної клітини, вивчають препарат корінців цибулі. Для отримання корінців цибулі треба помістити цибулину у банку з водою таким чином, щоб нижня третина

цибулини була занурена у воду. Через кілька днів відростають невеликі корінці, придатні для фіксації.

Кінчик корінця цибулі фіксують або осмієм по Макарову, або сумішшю Сан-Феліче або Буена. Роблять поздовжні зрізи завтовшки 4-5 μ . Фарбують залізним гематоксиліном.

При малому збільшенні мікроскопа можна бачити, що корінець складається з трьох відмінних основних зон. Сама кінцева частина утворена чохликом, на поверхні якого розташовані клітини, що відмирають і злущуються. Чохлик прикриває собою верхівку кореня, яка називається точкою росту; за нею слідує власне корінь із клітинами, витягнутими по довгій осі корінця. Поділ клітин відбувається лише у другій зоні – у точці зростання кореня.

Розглядати препарат потрібно за великого збільшення. У полі зору завжди будуть видні клітини, що не діляться, і клітини на різних стадіях поділу. Повільно пересуваючи препарат під мікроскопом, можна знайти усі стадії мітозу. Їх треба вивчити та замалювати у порядку послідовності проходження фаз мітозу в живій клітині.

Завдання: 1) Підготувати мікропрепарат корінця цибулі для дослідження фаз мітозу; 2) Розглянути підготовлені зразки під мікроскопом, знайти та замалювати клітини на різних стадіях мітозу (профаза, метафаза, анафаза, телофаза).

Питання для самоконтролю:

1. *Що відбувається з хромосомами під час профазі мітозу?*
2. *Як розташовуються хромосоми в клітині під час метафазі?*
3. *У чому полягає процес розходження хроматид у анафазі?*
4. *Які основні зміни відбуваються у клітині під час телофазі?*
5. *Як мітоз забезпечує генетичну стабільність дочірніх клітин?*
6. *Чим відрізняється мітоз у рослинних клітинах від мітозу в тваринних?*
7. *Чому інтерфазу не вважають частиною мітозу?*

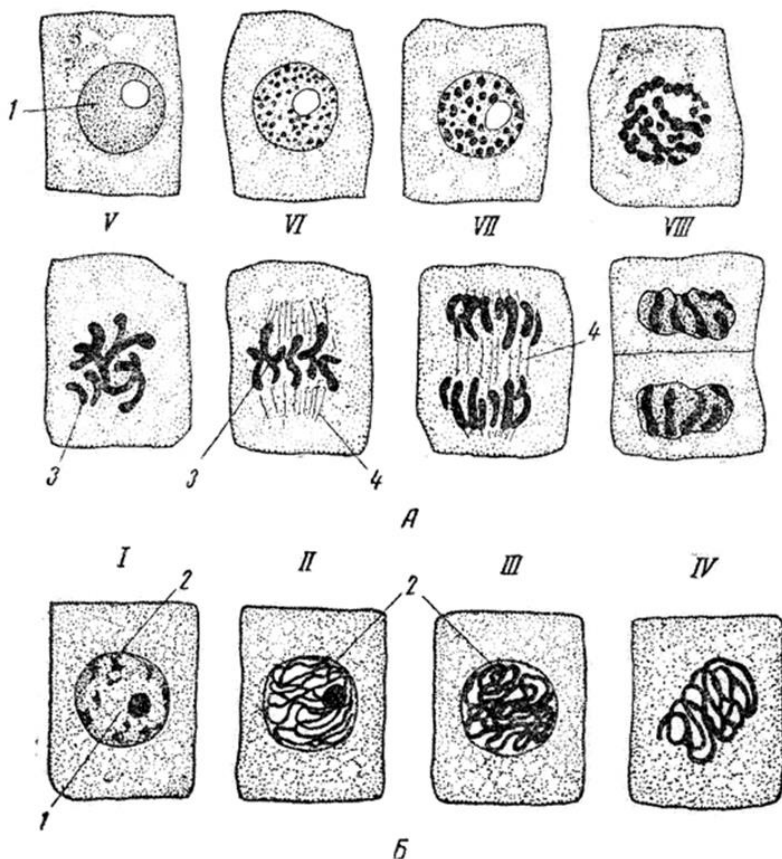


Рис. Мітоз. Клітини корінця цибулі.

А – фіксація за методом Макарова: I - клітина, що не ділиться;
 II-IV – послідовні етапи профази; V, VI – метафаза; VII –
 анафаза; VIII – телофаза. Б - фіксація сумішшю Сан-Феліче: I-
 IV – послідовні етапи профази: 1 - ядро з ядерцем, 2-хроматин,
 3-хромосоми, 4-веретено поділу

Лабораторна робота № 10

Мейоз як тип поділу клітин

Мета роботи: Вивчити сутність і механізм мейозу як типу клітинного поділу. Ознайомитися з фазами мейозу I і мейозу II, а також їх морфологічними особливостями. З'ясувати значення мейозу для утворення гамет та забезпечення генетичної різноманітності організмів.

Питання для самопідготовки:

1. Генетична рекомбінація, і її роль в еволюції
2. Кон'югація гомологічних хромосом
3. Суть та біологічне значення кросинговеру

Основні поняття

Другий спосіб поділу еукаріотичної клітини – мейоз. Це процес поділу клітини, під час якого виходять дочірні клітини – гамети. У чоловіків це сперматозоїд, а у жінок – яйцеклітина. Гамети одержують лише половину генетичної інформації батьківської клітини. Інша назва мейозу – *редукційний поділ*, тому що число хромосом зменшується вдвічі.

Потім гамети можуть поєднуватися, утворюючи нову клітину, що поєднує генетичну інформацію обох клітин-батьків, – *зиготу*. Процес злиття статевих клітин називається *заплідненням*. Із зиготи сформується новий організм. Кожна гамета людини містить 23 хромосоми – гаплоїдний набір (n). Коли гамети поєднуються, виходить зигота з 46 хромосомами – диплоїдний набір ($2n$).

Під час мейозу одна клітина із 46 хромосомами ділиться двічі. Перший поділ називається мейоз I, другий поділ – мейоз II. Інтерфаза між двома етапами поділу мейозу настільки короткочасна, що практично непомітна, і в ній не відбувається подвоєння ДНК. У результаті утворюються чотири дочірні клітини, кожна із 23 хромосомами.

Мейоз I поділяється на чотири фази, аналогічні фазам мітозу (спочатку в клітинах набір хромосом $2n2c$):

Профаза I ($2n4c$) – займає 90% часу. Відбувається скручування молекул ДНК та утворення реплікованих хромосом. Кожна хромосома складається із двох сестринських хроматид. Відбувається кон'югація хромосом: гомологічні репліковані хромосоми зближуються, зв'язуються і утворюють біваленти (зошити), у кожному біваленті – чотири сестринські хроматиди (від грец. Tetra – чотири). Потім відбувається кросинговер – обмін ділянками між гомологічними хромосомами. Розчиняється ядерна оболонка. Руйнуються ядерця. Формується веретено поділу.

Метафаза I ($2n4c$) – біваленти вишиковуються на екваторі клітини, при цьому орієнтація центроміру до полюсів є абсолютно випадковою.

Анафаза I (хромосомний набір до кінця анафази: у полюсів – $1n2c$, у клітині – $2n4c$) – гомологічні репліковані хромосоми відходять до різних полюсів. За рахунок випадкової орієнтації центромір розподіл хромосом до полюсів також випадково, оскільки нитки веретена прикріплюються довільно.

Телофаза I ($1n2c$) – відбувається деспіралізація хромосом. Якщо інтерфаза між розподілами тривала, може утворитися нова ядерна оболонка.

Мейоз II поділяється на чотири такі ж фази:

Профаза II ($1n2c$) – формується нове веретено поділу, ядерна мембрана розчиняється, якщо утворювалася в телофазі I.

Метафаза II ($1n2c$) – репліковані хромосоми вишиковуються в екваторіальній частині клітини, а нитки веретена прикріплюються до центромірів.

Анафаза II (хромосомний набір у кожного полюса – $1n1c$, у клітині – $2n2c$) – центроміри розщеплюються, дворохроматидні репліковані хромосоми поділяються, і тепер до кожного полюса рухається однохроматидна хромосома.

Телофаза II ($1n1c$) – відбувається деспіралізація хромосом, формування ядерних оболонок та поділ цитоплазми; в

результаті двох поділів з диплоїдної материнської клітини виходить чотири гаплоїдні дочірні клітини.

Біологічне значення мейозу – утворення гамет тварин та спор рослин, утворення нових поєднань генів.

Завдання: 1) Опануйте теоретичну інформацію, розгляньте ілюстрації та навчальні відео з теми Мейоз; 2) Складіть характеристику фаз та стадій мейозу, вказавши особливості будови хромосом і хроматид, а також інших важливих структур, вибравши їх зі списку (табл. 1.10).

Таблиця 1.10

Характеристика фаз та стадій мейозу

Фази та стадії мейозу	Хромосоми, хроматиди	Структури клітини: ядро, ядерна оболонка, ядерця, веретинні поділу, центріолі, цитоплазма
Інтерфаза:		
G ₁		
S		
G ₂		
Профаза I:		
лептотена		
зиготена		
пахітена		
диplotена		
діакінез		
Метафаза I		
Анафаза I		
Телофаза I		
Інтеркінез		
Профаза II		
Метафаза II		
Анафаза II		
Телофаза II		

3) Розв'яжіть задачі: 3.1) Скільки хромосом, хроматид матиме яйцеклітина кішки, якщо її соматичні клітини мають 36 хромосом? Відповідь поясніть. 3.2) У ядрах клітин епідермісу листа дуба міститься 24 хромосоми. Скільки хромосом буде у ядрах мегаспор? Відповідь поясніть. 3.3) Хромосомний набір

соматичних клітин агрусу дорівнює 16. Визначте хромосомний набір і число молекул ДНК в інтерфазі перед першим мейотичним розподілом, метафазі I, анафазі I, телофазі I та анафазі та телофазі мейозу II. Поясніть результати у кожному випадку. 3.4) Загальна маса всіх молекул ДНК у 46 передмітотичних хромосомах однієї соматичної клітини людини дорівнює $12 \cdot 10^{-12}$ г (4с). Визначте, чому дорівнює маса всіх хромосом в одній дочірній клітині і в чотирьох дочірніх клітинах, що утворилися після мейозу? 3.5) Соматична клітина дрозофіли має $2n=8$ хромосом. Яка кількість хромосом, хроматид і ДНК матимуть клітини, що утворилися в результаті сперматогенезу? Назвати періоди сперматогенезу та клітини, що утворилися.

Питання для самоконтролю:

1. *Що таке мейоз, і яке його біологічне значення?*
2. *Які клітини проходять мейотичний поділ?*
3. *На які етапи поділяється мейоз, і чим вони відрізняються?*
4. *Які особливості характерні для профазі I мейозу?*
5. *Як розходяться хромосоми під час анафазі I і анафазі II?*
6. *Чим відрізняються продукти мітозу і мейозу?*
7. *Які клітини утворюються в результаті мейозу у чоловіків і жінок?*
8. *Чим мейоз відрізняється у рослин і тварин?*

Лабораторна робота № 11

Ротаційний рух цитоплазми

Мета роботи: Ознайомитися з пристроєм, принципом роботи та основними технічними характеристиками світлового мікроскопа. Набути навички роботи зі світловим мікроскопом.

Питання для самопідготовки:

1. *Біологічне значення внутрішньоклітинного руху*

2. Вплив температури, світла, осмотичного тиску на клітинні процеси.
3. Фізико-хімічні властивості цитоплазми (в'язкість, напіврідкий стан).
4. Роль цитоплазми в обміні речовин.

Основні поняття

Ротаційний рух цитоплазми (циклоз) – це циркуляція цитоплазми всередині клітини, що забезпечує транспорт речовин та органел. Він найчастіше спостерігається в клітинах рослин, наприклад, у клітинах листків елодеї чи тичинкових волосків *Tradescantia*. Цей рух обумовлений роботою білків цитоскелету, зокрема актинових філаментів і моторних білків (міозинів), які забезпечують переміщення органел уздовж цитоплазматичних структур.

Біологічне значення ротаційного руху цитоплазми полягає в: забезпеченні рівномірного розподілу речовин у клітині; покращенні транспорту поживних речовин, кисню, іонів і продуктів метаболізму; підтриманні гомеостазу клітин; розподілі органел, зокрема хлоропластів, для оптимального фотосинтезу.

За сприятливих умов цитоплазма рослинних клітин постійно рухається. На зовнішні та внутрішні впливи клітина відповідає змінами цього руху, його швидкості. Зміни рухливості цитоплазми пов'язують зі зміною проникності поверхневої мембрани до йонів, або інших токсичних сполук, які можуть бути активаторами або інгібіторами АТФ-ази і впливати на рівень АТФ у клітині. Вважається, що зміни внутрішньоклітинної концентрації АТФ, зумовлені дією ушкоджуючих агентів, впливають на організацію актиноподібних феламентів цитоплазми, що своєю чергою спричинює зміни в'язкості цитоплазми та швидкості її руху.

Для спостереження за рухом цитоплазми краще використовувати водні рослини (валіснерію, елодею, наяду), які на препараті залишаються у своєму природному середовищі. Найпоказовішим цитофізіологічним показником є ротаційний

рух протоплазми, який здійснюється уздовж клітинних стінок. Рухаючись, цитоплазма захоплює з собою великі органели – хлоропласти, а іноді й ядро, завдяки яким полегшується спостереження за змінами швидкості цього руху. Характерною особливістю ротаційного руху є те, що цитоплазма рухається в одному напрямку, ніби обертається навколо центра клітини. Швидкість цього руху, як у нормі, так і під впливом токсичних речовин легко визначити за допомогою секундоміра та окулярмікрометра. Лінійна швидкість руху під час ротації в нормі незначна: у валіснерії за температури 18-23 °C вона становить 10-20 мкм/с, елодеї – 10-15 мкм/с, наяди – 15-20 мкм/с.

Рух у непошкоджених клітинах розпочинається не відразу після препарування, а розпочавшись, на препараті триває днями, зберігаючи початкову швидкість до відмирання клітини.

Для спостереження за рухом цитоплазми в клітинах гідрофітів не потрібно виготовляти зрізи, оскільки тканини цих рослин складаються лише з кількох шарів клітин, кожний з яких можна мікроскопіювати.

Метод можна застосовувати неодноразово на тих самих клітинах, а це важливо у ході вивчення змін пошкодженої клітини в часі, тоді як багаторазове використання деяких інших методів неможливе, або може призвести до небажаного викривлення результатів (наприклад, багаторазовий плазмоліз).

Визначення наявності та швидкості руху цитоплазми не потребує довготривалості експерименту, його можна використати для вивчення первинної чутливості клітин.

Метод має кількісний вираз за п'ятибальною шкалою визначення ступеня токсичності водного середовища (від нетоксичного до летального), який дає змогу градувати токсичність водного середовища в межах п'яти груп стосовно біологічної складової водойми.

Для відстеження ротаційного руху цитоплазми під дією модельного токсиканта, необхідно:

1. Дослідні рослини (валіснерія, елодея, наяда) експонувати у розчинах модельного токсиканту ($K_2Cr_2O_7$) різної концентрації (0,01; 0,1; 1,0 мг/л) на світлі протягом 1 год.

2. Після закінчення експозиції з листків рослин виготовити тимчасові препарати і під світловим мікроскопом провести спостереження.

3. Швидкість руху визначити за допомогою окулярмікрометра, фіксуючи час проходження хлоропластом однієї, або кількох поділок за допомогою секундоміра.

4. Швидкість руху хлоропластів обчислити за формулою:

$$V = S / t,$$

де V – швидкість руху хлоропластів, ум. од./с, S – відстань, яку проходить хлоропласт, ум. од., t – час, за який хлоропласт проходить певну відстань, с.

5. Зробити висновки про токсичну дію різних концентрацій модельного токсиканта.

Прояв токсичної дії визначають п'ятьма групами: Перша – немає токсичності (80-120 %), Друга – слабка токсичність (50-80, 120-150 %), Третя – середня токсичність (20-50, 150-180 %), Четверта – висока токсичність (10-20, 180-250 %), П'ята – летальна токсичність (0-10, більше 250 %).

6. Дані записати у таблицю 1.11.

Таблиця 1.11.

Вплив біхромату калію на швидкість руху хлоропластів у клітинах водних рослин

Об'єкт Дос- лід- ження	Концен- трація $K_2Cr_2O_7$, мг/л	Час руху хлоро- пластів, с	Швид- кість руху цито- плазми, ум.од./с	Швид- кість руху цито- плазми, % до контролю	Відхи- лення від контролю, %	Ступінь токсич- ності	Група токсич- ності

7. Зробити висновки щодо реакцію клітини на різні концентрації токсикантів

Питання для самоконтролю:

1. *Що таке ротаційний рух цитоплазми, і яке його біологічне значення?*
2. *Які клітини рослин демонструють ротаційний рух цитоплазми? Наведіть приклади.*
3. *Чому ротаційний рух цитоплазми краще спостерігається у клітинах з великою вакуолею?*
4. *Як мікроскопічно можна визначити ротаційний рух цитоплазми?*
5. *Чим відрізняється ротаційний рух цитоплазми від циркуляційного?*
6. *Які фактори можуть призупинити або змінити ротаційний рух цитоплазми?*

Рекомендована література

1. Молекулярна біологія клітини / Альбертс Б., Джонсон А., Льюїс Дж. та ін. Львів : Видавничий дім «Наутілус», 2018. 1536 с.
2. Загальна цитологія та гістологія. / М. Е. Держинський, Н. В. Скрипник, Г. В. Островська та ін. Київ : ВПЦ "Київський університет", 2010. 575 с.
3. Загальна цитологія. Практикум : навчальний посібник / М. Е. Держинський, О. К. Вороніна, Н. В. Скрипник, С. М. Гарматіна, Л. М. Пазюк ; упорядкування Н. В. Скрипник. К. : Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2011. 126 с.
4. Загальна цитологія та гістологія. Частина І: Загальна цитологія : навчальний посібник. / М. Е. Держинський, Н. В. Скрипник, С. М. Гарматіна та ін. К. : Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2006. 275 с.
5. Красінько В. О., Волошина І. М., Ігнатенко С. В. Біологія клітин : навч. посіб. К. : НУХТ, 2015. 355 с.
6. Копильчук Г. П. Загальна цитологія : підручник. Чернівці: Друк Арт, 2013. 320 с.