

ТЕХНИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВРЕМЕННЫХ АЦЕТОКАРМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МИТОЗА

Митоз – сложный тип деления, протекающий в соматических клетках и являющийся основным способом их размножения. В результате митоза из одной материнской клетки образуются две дочерние. Ядро каждой дочерней клетки имеет, как правило, такой же набор хромосом, какой был в исходной материнской клетке. В процессе митоза различают четыре последовательно идущие фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

Для изучения митоза и его отдельных фаз можно проводить прижизненные наблюдения на волосках тычиночных нитей традесканции с помощью фазово-контрастного устройства, а также в поляризованном или флуоресцентном свете. Чаще для этих целей используют меристематические клетки конуса нарастания корней или стебля после их фиксации и последующего изготовления препаратов.

Наиболее доступным объектом для изучения фаз митоза является репчатый лук (*Allium cepa*). Корешки должны быть длиной не более 1–2 см, с хорошо выраженной зоной деления клеток. Корешки фиксируют в упрощенном фиксаторе Карнуа (3:1) и хранят в 70 % спирте.

Материалы и оборудование: зафиксированные корешки лука, постоянные препараты и микрофотографии с продольными срезами корешков лука; ацетокармин, 45 % уксусная кислота; микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие, фильтровальная бумага, спиртовка, спички, препаровальная игла.

Задание 1. Приготовить временный препарат из корешков лука.

1. На дно фарфоровой чашечки налить раствор ацетокармина и перенести в него корешки лука.
2. С целью лучшего окрашивания объекта и одновременной мацерации раствор ацетокармина с корешками нагревать над пламенем спиртовки до появления паров.
3. Краситель слить из чашки и корешки 2–3 раза промыть 45 % уксусной кислотой. При слабом окрашивании уксусной кислотой можно не промывать.
4. На предметное стекло нанести каплю 45 % уксусной кислоты и поместить в нее окрашенный корешок.
5. Лезвием бритвы отделить кончик корешка (конус нарастания) и накрыть его покровным стеклом.
6. Кончиком спички или деревянной палочки легкими ударами по покровному стеклу осторожно раздавить препарат и распределить клетки равномерно в один слой. Покровное стекло не должно смещаться. Избыток уксусной кислоты удалить фильтровальной бумагой.
7. Приготовленный препарат поместить на предметный столик микроскопа.

Задание 2. Выявить все фазы митоза и зарисовать их.

1. На препарате найти хорошие метафазные пластинки.
2. Тщательно зарисовать каждую хромосому на подобранной метафазной пластинке.
3. После того как контуры каждой хромосомы будут нанесены на бумагу, рисунок необходимо сверить с препаратом.

Задание 3. Определить митотическую активность ткани и продолжительность отдельных фаз митотического цикла.

1. Установить зону деления клеток и подсчитать число клеток в каждой фазе митотического цикла.
2. Определить митотический индекс MI в промилле (‰):

$$MI = \frac{(\Pi + M + A + T)}{И + \Pi + M + A + T} \cdot 1000,$$

где Π – число клеток в профазе;

M – в метафазе;

A – в анафазе;

T – в телофазе;

$И$ – в интерфазе.

3. Полученные данные занести в табл. 1 и произвести расчет относительной длительности каждой фазы митоза. Например, для профазы этот показатель (%) вычисляется следующим образом:

$$\Pi = \frac{\Pi \cdot 100}{\Pi + M + A + T}.$$

Таблица 1. **Определение митотического индекса в зоне деления корешков лука**

Номер поля зрения под микроскопом	Число клеток					Митотический индекс, ‰
	Профаза (Π)	Метафаза (M)	Анафаза (A)	Телофаза (T)	Интерфаза (И)	