

Załącznik – 1 –Przygotowanie preparatu mitotycznego z materiału roślinnego

Cel ćwiczenia:

Obserwacja faz podziału mitotycznego, rozróżniania poszczególnych etapów mitozy.

Odczynniki i sprzęt:

- stoik lub mała zlewka
- mikroskop świetlny
- szkiełka podstawowe i nakrywkowe
- pęseta
- szalki
- woda
- 45% kwas octowy
- roztwór barwnika np. orceiny, karminu, nigrozyny
- 1N HCl

Materiał biologiczny:

- cebula

Przygotowanie materiału:

1. Wybierz cebulę bez uszkodzeń i pleśni.
2. Przygotuj naczynie takiej wielkości, by cebula mogła stabilnie opierać się na jego krawędziach.
3. Nalej do naczynia niewielką ilość wody – tyle, by jedynie dotykała spodu cebuli, żeby cebula nie była w niej zanurzona, ponieważ zbyt głębokie zanurzenie powoduje gnicie.
4. Trzymaj naczynie w jasnym miejscu, ale nie w pełnym słońcu.
5. Utrzymuj stały poziom wody – uzupełniaj ją w razie potrzeby.
6. Pierwsze korzenie mogą pojawić się po 2–4 dniach.
7. Po 5–7 dniach można pobrać korzonki do badań mitozy.
8. Korzonki utrwal w mieszaninie 99,8% alkoholu i stężonego kwasu octowego (3:1) przez 24h w temp. 4°C (w lodówce), przechowuj w alkoholu 70% w 4°C.
9. Korzonki przepłucz wodą i inkubuj w 1N HCl przez 1h w temp. pokojowej, po inkubacji ponownie przepłucz wodą (korzonki można przechowywać do momentu wykorzystania na lekcji w roztworze 45% kwasu octowego).

Wykonanie preparatu mitotycznego:

1. Korzonek z kwasu octowego przenieś do wody, a następnie na szkiełko podstawowe.
2. Odetnij za pomocą skalpela stożek wzrostu (część końcową korzenia, gdzie znajdują się intensywnie dzielące się komórki merystematyczne).
3. Dodaj kroplę barwnika i poczekaj, aż wniknie do komórek – ok. 3-5 minut.
4. Dodaj kroplę 45% kwasu octowego i przykryj szkiełkiem nakrywkowym.
 - Przykryj bibułą lub kawałkiem ręcznika papierowego i delikatnie dociśnij (np. końcówką ołówka lub kciukiem) – rozgnieć tak, by komórki utworzyły pojedynczą warstwę uwidaczniając jądra komórkowe i chromosomy.
 - Uważaj by nie przesunąć szkiełka nakrywkowego by nie zniszczyć i zniekształcić komórek.

Obserwacja preparatu pod mikroskopem:

1. Umieść preparat pod mikroskopem i ustaw ostrość za pomocą śruby makro- i mikrometrycznej.
2. Obserwuj preparaty pod powiększeniem obiektywu 10x i 40x.