

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ – МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»

Институт агробиотехнологии

Кафедра генетики, селекции и семеноводства

ЦИТОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ЦИТОГЕНЕТИКИ

Лабораторный практикум

Под общей редакцией Е.А. Вертиковой

Москва – 2025

УДК 58(075.8)
ББК 28.54/55я73
Ц747

Коллектив авторов:

Е.А. Вертикова, С.С. Баженова, Е.К. Барнашова, А.С. Симагина,
В.В. Овсянников, Я.Е. Вильховой, А.Д. Симагин

Ц747 Цитология с основами цитогенетики: лабораторный практикум /
Е.А. Вертикова, С.С. Баженова, Е.К. Барнашова [и др.]; под общ. ред.
Е.А. Вертиковой. – М.: МЭСХ, 2025. – 102 с.
ISBN 978-5-6053446-6-7

В практикуме представлены методические материалы для лабораторно-практических занятий по цитологии и цитогенетике растений. Даны основы работы в цитологической лаборатории: микроскопирование, измерение микрообъектов, дифференциальное окрашивание, приготовление препаратов. Изложены методы исследования растительной клетки, методы оценки фертильности, изучения процессов опыления и оплодотворения, определения возможных нарушений в мейозе и ploидности растительных организмов.

Для студентов бакалавриата по направлениям подготовки: 35.03.04 «Агрономия», 19.03.01 «Биотехнология», 06.03.01 «Биология», 35.03.03 «Агрохимия и агропочвоведение», 05.03.04 «Гидрометеорология».

Рецензенты:

Видашева И.В. – канд. биол. наук, доцент (Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского);

Батаева Ю.В. – доктор биол. наук, профессор (Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева).

УДК 58(075.8)
ББК 28.54/55я73

ISBN 978-5-6053446-6-7

© Коллектив авторов, 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Правила техники безопасности при работе в цитологической лаборатории	4
Введение	5
Лабораторная работа № 1. Строение микроскопа. Правила работы с биологическими микроскопами. Основы морфологии прокариотических и эукариотических клеток	6
Лабораторная работа № 2. Измерение микрообъектов	13
Раздел 2. Методы исследований растительной клетки	15
Лабораторная работа № 3. Фазово-контрастная микроскопия	15
Лабораторная работа № 4. Фиксирование изображения	17
Раздел 3. Клеточный цикл и фазы митоза у растительных организмов	19
Лабораторная работа № 5. Клеточный цикл и фазы митоза у растительных организмов	19
Раздел 4. Кариологический анализ	24
Лабораторная работа № 6. Кариологический анализ	24
Раздел 5. Приготовление временных препаратов	27
Лабораторная работа № 7. Приготовление препаратов из корневых меристем растений	27
Лабораторная работа № 8. Определение митотического индекса в меристемах корешка лука	31
Лабораторная работа № 9. Приготовление препаратов политенных хромосом	32
Раздел 6. Приготовление постоянных препаратов	36
Лабораторная работа № 10. Перевод временных препаратов в постоянные	36
Лабораторная работа № 11. Приготовление постоянных препаратов методом «распластывания клеток»	37
Раздел 7. Дифференциальное окрашивание хромосом	40
Практическое занятие № 1. Дифференциальное окрашивание хромосом	40
Раздел 8. Мейоз, микроспорогенез, микрогаметогенез	44
Лабораторная работа № 12. Мейоз, микроспоро- и микрогаметогенез	44
Лабораторная работа № 13. Фертильность и жизнеспособность пыльцы	49
Лабораторная работа № 14. Флуоресцентная микроскопия прорастающих пыльцевых зерен в пестике	53
Раздел 9. Макроспорогенез и макрогаметогенез. Оплодотворение.	
Развитие зародыша и эндосперма	55
Лабораторная работа № 15. Макроспорогенез и макрогаметогенез	55
Лабораторная работа № 16. Оплодотворение	60
Лабораторная работа № 17. Стадии развития зародыша	63
Раздел 10. Пахитенный анализ хромосом	66
Практическое занятие № 2. Пахитенный анализ	66
Раздел 11. Анализ частоты хиазм	70
Лабораторная работа № 18. Анализ частоты хиазм в диакинезе – метафазе I мейоза	70
Раздел 12. Нарушения в мейозе при отдаленной гибридизации	72
Лабораторная работа № 19. Нарушения в мейозе при отдаленной гибридизации	72
Раздел 13. Хромосомные aberrации	76
Лабораторная работа № 20. Методы учета хромосомных aberrаций	76
Раздел 14. Косвенные методы определения ploидности растений	81
Лабораторная работа № 21. Косвенные методы определения ploидности растений	81
Раздел 15. Молекулярная цитогенетика	85
Список литературы	90
Глоссарий	91

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

1. Запрещается пробовать на вкус и нюхать реактивы.
2. При работе с ядовитыми веществами (колхицин и др.) необходимо работать в ватно-марлевой повязке и в резиновых перчатках.
3. При использовании летучих едких веществ работать только в вытяжном шкафу и с использованием респиратора и очков. Помещение необходимо часто проветривать, а в летнее время работать с открытыми окнами.
4. Запрещается поднимать корзины с бутылками, не проверив предварительно дно корзины.
5. Запрещается брать колбы с кипящими растворами голыми руками, пользуйтесь щипцами или полотенцем.
6. Абсолютный спирт ядовит, так как содержит ионы меди.
7. Запрещается набирать ртом в пипетку растворы. Используйте резиновую грушу.
8. При работе с люминесцентными микроскопами нельзя приступать к просмотру препаратов без установки специальных световых фильтров.
9. Запрещается работать с неисправными электроприборами.
10. Ядовитые растворы по окончании работы убрать в специальный шкаф.
11. После работы тщательно вымыть руки, выключить электроприборы, газ и воду.

ВВЕДЕНИЕ

Цитология (от греч. κύτος – «клетка» и λόγος – «учение», «наука») – раздел биологии, изучающий живые клетки, их органеллы, строение, функционирование, процессы деления, старения и смерти.

Методические указания к лабораторным и практическим занятиям составлены в соответствии с рабочей программой дисциплины «Общая генетика» по направлениям подготовки 05.03.04 «Гидрометеорология», 06.03.01 «Биология», 19.03.01 «Биотехнология», 35.03.03 «Агрохимия и агропочвоведение», 35.03.04 «Агрономия».

Рабочая тетрадь включает 14 разделов и 20 двухчасовых лабораторных работ и 2 практических работ. Несмотря на обилие имеющихся к 20-м годам XXI в. широчайших познаний в области строения и функционирования живой клетки, предмет изучения цитологии не только не утратил своей актуальности, но скорее даже наоборот – открывает для исследователей все большие перспективы новых знаний, имеющих сегодня большое прикладное значение для многих отраслей, важнейшими из которых являются медицина и производство продуктов питания (сельское хозяйство). В растительной клетке заложена наследственная информация, от содержания и реализации которой в значительной мере зависит объем и качество будущего урожая. На знании цитологии основывается и самые новые направления биологической науки – генетическая инженерия – одно из современных многообещающих направлений в селекции растений.

Цель практикума – ознакомить студентов с важнейшими оптическими приборами, микрофотографией, измерением и зарисовкой объектов, приготовлением цитологических и эмбриологических препаратов, методами исследования клеточных структур, кариотипов, процессов митоза, мейоза, оплодотворения, перестроек хромосом, выявлением полиплоидов, мутантов, гаплоидов, апомиктов и т. д.

Лабораторные работы по курсу способствуют формированию у студентов следующих умений и навыков:

- использования современного оборудования (микроскопов, бинокляров, микрометров) для изучения биологических образцов;
- изготовления и изучения микропрепаратов, распознавания элементов структуры растительных и грибных организмов, анализа и оформления полученных результатов.

Основополагающую роль при изучении дисциплины играет научный рисунок как средство познания и способ сохранения полученных данных.

Студентам необходимо научиться выполнять как схематические изображения, так и детальные рисунки получаемых при микрокопировании изображений, которые должны быть отчетливыми, опрятными и иметь пояснительные надписи.

Рабочая программа дисциплины также предусматривает некоторый объем тем для самостоятельного изучения, для чего студентам будет необходимо использовать учебные пособия, указанные в библиографическом списке.

По окончании лабораторных и практических работ студенты для самопроверки и закрепления знаний должны подготовить устный ответ по контрольным вопросам, представленным в конце каждой лабораторной или практической работы.

Лабораторная работа № 1

СТРОЕНИЕ МИКРОСКОПА. ПРАВИЛА РАБОТЫ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ МИКРОСКОПАМИ. ОСНОВЫ МОРФОЛОГИИ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Световой микроскоп является оптическим прибором, представляющим систему двояковыпуклых линз. Он обеспечивает увеличение изображения микроскопических объектов (например, тонких срезов тканей организмов), способных отражать лучи света. Микроскоп, состоящий из двух двояковыпуклых линз, был изобретен братьями Янсеном (Jensen) в 1590 г. В 1665 г. Роберт Гук (Robert Hook), пользуясь значительно им усовершенствованным микроскопом, изучил строение среза коры пробкового дуба (пробки) и впервые употребил термин «клетка».

Микроскопирование – комплекс методов для наблюдения и визуального изучения объектов с помощью микроскопа.

Микроскоп – это сложный оптический прибор, позволяющий получить увеличенное изображение изучаемого объекта и рассмотреть мелкие детали его строения, размеры которых лежат за пределами разрешающей способности невооруженного глаза человека.

Микроскопы используют для визуальных наблюдений, фотографирования и точных количественных измерений. Хотя различные модели световых микроскопов имеют конструктивные отличия, в каждом из них существуют оптические и механические узлы.

Различают полезное и бесполезное увеличения. Под полезным понимают такое увеличение наблюдаемого объекта, при котором можно выявить новые детали его строения. Бесполезное – это увеличение, при котором, увеличивая объект в сотни и более раз, нельзя обнаружить новых деталей строения.

Правила работы с микроскопом

Приступая к работе с микроскопом, необходимо знать и помнить основные правила работы с микроскопом. Вот некоторые из них.

1. Микроскоп необходимо содержать в чистоте и предохранять от повреждений. В нерабочем состоянии микроскоп должен быть накрыт чехлом.

2. Особое внимание следует обращать на чистоту объективов и других внешних оптических деталей.

3. Для предохранения от пыли оптических деталей визуальной насадки следует оставлять окуляры в тубусах или надевать на них колпачки.

4. Оптические поверхности окуляров, объективов и конденсора можно осторожно протирать чистой ватой, накрученной на деревянную палочку и смоченной специальной жидкостью для чистки оптических деталей.

5. При загрязнении внутренних поверхностей линз объектива необходимо объектив отправить для чистки в оптическую мастерскую.

6. Микроскоп устанавливается на столе, отступив от края несколько сантиметров, так, чтобы работать с ним было удобно. Справа от микроскопа лежит тетрадь для рисунков.

7. Перед началом работы необходимо протереть окуляр, объектив и зеркало микроскопа чистой салфеткой.

8. В микроскопах без автономной подсветки свет устанавливается при помощи вогнутого зеркала и конденсора. В окуляр микроскопа смотрят левым глазом, правый обязательно остается открытым!

9. На предметный столик положить препарат покровным стеклом вверх. Рассматриваемый объект должен находиться в центре предметного столика.

10. На малом увеличении расстояние между объективом и препаратом составляет примерно 1 см.

11. Резкость изображения на малом увеличении устанавливается при помощи макровинта (винта грубой настройки).

12. На большое увеличение микроскоп переводится при помощи револьвера; поворот револьвера производится по часовой стрелке и до щелчка!

13. На большом увеличении расстояния между объективом и препаратом составляет примерно 1 мм.

ЗАПРЕЩАЕТСЯ

КАСАТЬСЯ ПАЛЬЦАМИ ПОВЕРХНОСТЕЙ ЛИНЗ!!!

САМОСТОЯТЕЛЬНО РАЗБИРАТЬ ОБЪЕКТИВЫ, ОКУЛЯРЫ, КОНДЕНСОР!!!

ВЫНИМАТЬ ПРЕПАРАТ ИЗ-ПОД ОБЪЕКТИВА БОЛЬШОГО УВЕЛИЧЕНИЯ!!!

**(ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НЕОБХОДИМО ПЕРЕВЕСТИ МИКРОСКОП
НА МАЛОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ)**

Наиболее распространенные ошибки при работе с микроскопом

1. Одновременное применение вогнутого зеркала и конденсора, что нарушает принцип освещения препарата.

2. Использование высокоапертурных конденсоров с $NA = 1,2-1,4$ с низкоапертурными объективами с $NA = 0,2-0,4$, что ухудшает качество изображения. Для устранения этой ошибки следует предварительно уменьшить численную апертуру конденсора путем снятия (отвинчивания) его верхней линзы.

3. Произвольное опускание конденсора без учета толщины предметного стекла может привести к появлению артефактов.

4. Регулировка освещенности поля зрения микроскопа в процессе работы не должна осуществляться при помощи опускания и поднятия конденсора, поскольку это влияет на качество изображения.

5. Произвольное изменение величины отверстия апертурной диафрагмы конденсора с целью регулировки освещенности поля зрения микроскопа.

6. Пренебрежение нейтральными светофильтрами и матовыми стеклами для регулировки освещенности поля зрения микроскопа, что ухудшает восприятие препарата и может оказывать отрицательное влияние на зрение исследователя.

7. Применение толстых предметных стекол (толще 1,2 мм), что препятствует правильной установке освещения при высокоапертурных объективах, поскольку при этом не удастся сфокусировать конденсор на объекте.

8. Применение покровных стекол несоответствующей толщины (толще или тоньше 0,17 мм).

9. Пренебрежение созданием полной иммерсии при работе с объективами, имеющими нумерическую апертуру более 1,2, что не позволяет полностью использовать нумерическую апертуру объектива.

Меры безопасности при работе с микроскопом

При работе с микроскопом с осветителем следует соблюдать меры безопасности, соответствующие мерам, принимаемым при эксплуатации электроустановок напряжением до 1000 В.

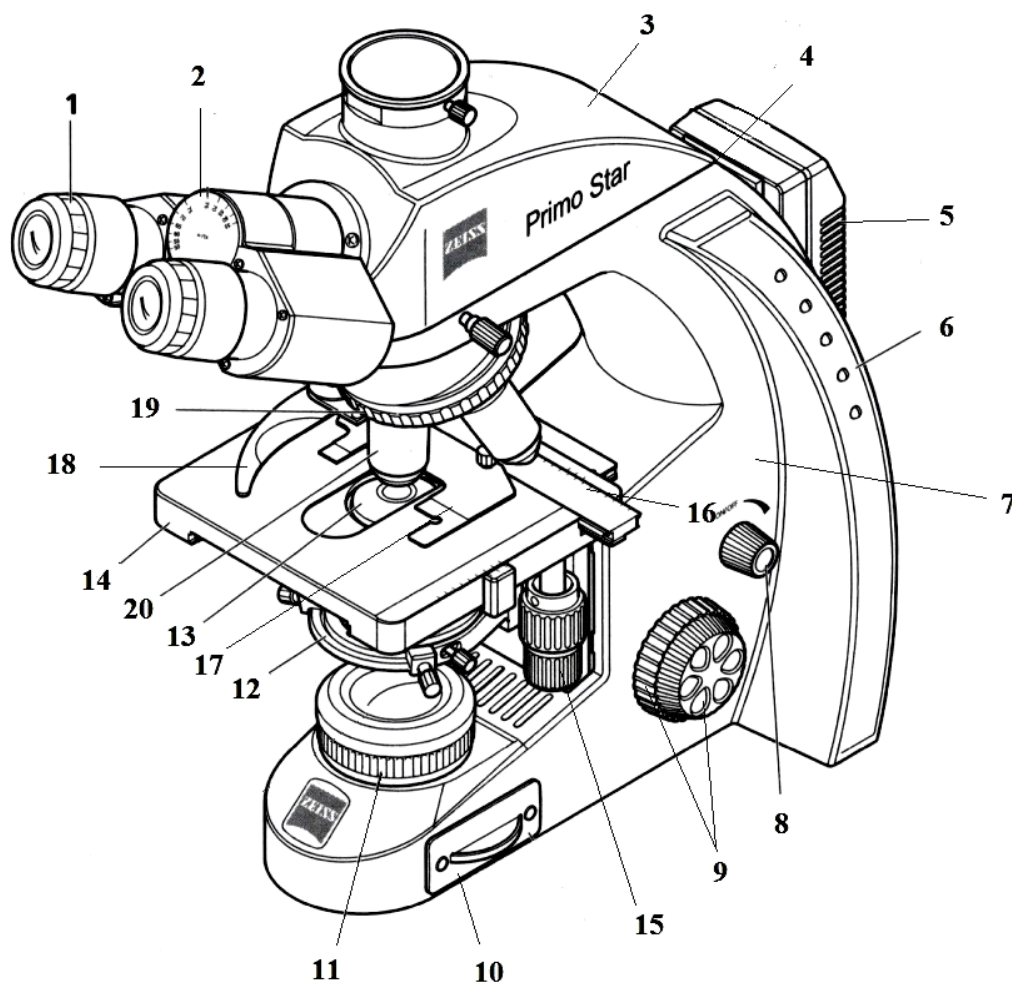
ВНИМАНИЕ! Замену лампы в осветителе микроскопа производить только при отключении от электрической сети. Во избежание ожога кожи рук о колбу лампы или контактные пластины патрона замену лампы следует производить через 15–20 мин после ее перегорания.

Замену плавкой вставки (предохранителя) в микроскопе следует производить при отключенном от сети микроскопе.

После работы на микроскопе с осветителем необходимо отключить его от сети.

Не рекомендуется оставлять без присмотра включенный в сеть микроскоп.

Задание 1. Изучите устройство и основные характеристики светового микроскопа. Подпишите составные части микроскопа.



1 –

11 –

2 –

12 –

3 –

13 –

4 –

14 –

5 –

15 –

6 –

16 –

7 –

17 –

8 –

18 –

9 –

19 –

10 –

20 –

Задание 2. Опишите порядок установки освещения для микроскопов Primo Star в соответствии с принципом Кёлера.

Задание 3. Вспомните шкалу размерностей единиц расстояния и заполните таблицу.

Размерность	Сокращение рус./англ.	= мм	= мкм	= нм	= Å
Миллиметр					
Микрометр, микрон					
Нанометр					
Ангстрем					

Задание 4. Изучите строение и функции органоидов клетки и заполните таблицу.

Органоид	Строение органоида	Функции органоида
Ядро		
Ядрышко		
Рибосомы		

Органоид	Строение органоида	Функции органоида
Клеточный центр		
Эндоплазматическая сеть (ЭПС)		
Аппарат Гольджи		
Лизосомы		
Вакуоли		
Митохондрии		
Пластиды		

Задание 5. Заполните таблицу, поставив знак «+» или «-» в зависимости от наличия этой клеточной структуры у данной группы организмов:

Структуры клетки	Бактерии	Растения	Животные	Грибы
Клеточная стенка				
Плазматическая мембрана				
Ядерная мембрана				
Митохондрии				
Пластиды				
Вакуоли				
ЭПС				
Аппарат Гольджи				
Лизосомы				
Клеточный центр				
Рибосомы				
Жгутики				

Задание 6. Зарисуйте и подпишите основные органеллы прокариотических и эукариотических клеток, которые возможно увидеть в световой микроскоп.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Что изучает наука цитология?
2. Назовите основные узлы светового микроскопа.
3. Назовите основные отличия растительной клетки от животной.
4. Как устроено ядро?
5. Какие функции выполняет ядрышко?
6. Перечислите одно-, двух- и немембранные органеллы растительной клетки.
7. Какие функции выполняют рибосомы, митохондрии, лизосомы, пластиды, вакуоль, аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум?
8. Раскройте цель и задачи современных методов цитологии.

Лабораторная работа № 2 ИЗМЕРЕНИЕ МИКРООБЪЕКТОВ

При цитологических исследованиях нередко требуется измерить диаметр ядра, пыльцевых зерен, длину пыльцевых трубок, определить размеры клеток и т. д. Для этой цели служат специальные вспомогательные принадлежности и приборы к микроскопам (окуляр-микрометр, компенсационный окуляр со шкалой, винтовой окуляр-микрометр, объект-микрометр).

Задание 1. Ознакомьтесь с принадлежностями к микроскопам, служащими для измерения микрообъектов. У окуляр-микрометра определите цену деления.

Принадлежности к микроскопам	Характеристика

Определение цены деления окуляр-микрометра

Увеличение объектива	Увеличение окуляра	Число делений		Цена деления, мкм.
		объект- микрометра (А)	окуляр- микрометра (В)	

Формула для расчета цены деления: $X = A \cdot 10 \div B$

Задание 2. Измерьте диаметр пыльцевых зерен различных растений.

Определение размеров пыльцевых зерен

Растение	Диаметр пыльцевого зерна в делениях окуляр-микрометра														Цена деления окуляр- микрометра, мкм	Диаметр пыльцевого зерна, мкм

Задание 3. Укажите примерные значения (или диапазон значений) размеров микрообъектов, указанных в таблице.

Микрообъекты	Размер (также укажите единицу измерения)
Бактерия <i>E. coli</i> – длина и ширина	
Митохондрии	
Хлоропласты	
Вакуоль	

Задание 4. Опишите возможные ошибки, допускаемые оптикой микроскопов.

Ошибка оптики	Характеристика (суть и причина негативного явления)	Меры по предотвращению / снижению данного негативного влияния

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Какие методы измерения микрообъектов вы знаете?
2. Как влияет на точность измерений увеличение микроскопа?
3. Какие приспособления используют для измерения микрообъектов?
4. Как определить цену деления окуляр-микрометра?
5. Что собой представляет объект-микрометр?
6. Какова цена деления объект-микрометра?
7. Чем определяется качество объективов микроскопа?
8. Что такое разрешающая способность объектива?
9. Что такое апертура объектива?
10. Назовите органеллы клетки, которые находятся в пределах разрешающей способности светового микроскопа и которые находятся за этим пределом.
11. Дайте определение общего и полезного увеличения микроскопа.
12. Перечислите ошибки, допускаемые оптикой микроскопов, и дайте им краткую характеристику.
13. Какие бывают объективы для микроскопа и как их маркируют?

Раздел 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Лабораторная работа № 3 ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Изучение живых неокрашенных биологических объектов представляет значительную сложность при использовании традиционных методов светлопольной микроскопии. Прозрачные клетки и их структуры слабо поглощают свет, что приводит к низкому контрасту изображения. Фазово-контрастная микроскопия, разработанная Фрицем Цернике в 1930-х годах, позволяет преобразовывать невидимые глазу фазовые сдвиги света в изменения яркости, значительно повышая контрастность прозрачных образцов без применения красителей. Этот метод незаменим в цитологии, гистологии и микробиологии для наблюдения динамических процессов в живых клетках.

Фазово-контрастная микроскопия основана на преобразовании разности фаз световых волн, прошедших через участки препарата с разной оптической плотностью, в амплитудные различия яркости (контраст). Ключевые элементы системы:

- **Кольцевая диафрагма** в конденсоре – создает кольцообразное освещение.
- **Фазовая пластинка** в объективе – сдвигает фазу недифрагированного света на $\lambda/4$.

В результате интерференции дифрагированного и недифрагированного света прозрачные структуры становятся видимыми.

Задание 1. Ознакомьтесь с порядком подготовки к работе микроскопа с фазово-контрастным устройством.

1. Вынимают заглушку конденсора.
2. Заменяют насадку конденсора и объективы на фазовые. При этом фазовый конденсор устанавливают на освещение по методу светлого поля.
3. Устанавливают освещение в соответствии с принципом Кёлера. Помещают препарат на предметный столик и фокусируют на него оптику.
4. Вынимают окуляр, вставляют в тубус диоптер и фокусируют его на изображение темного кольца в выходном зрачке объектива.
5. Устанавливают ручки корректировки насадки конденсора и аккуратно их вращая центруют два кольца видимых в диоптер, чтобы оба кольца совместились.
6. Вынимают вспомогательный диоптер и на его место устанавливают окуляр, вынимают ручки корректировки насадки и исследуют препарат.

Задание 2. Изучите постоянный препарат с использованием фазово-контрастного метода. Заполните таблицу, опишите и зарисуйте изучаемый объект при фазово-контрастной и светлопольной микроскопии.

Объект	Светлое поле (видимость структур)	Рисунок	Фазовый контраст (видимость структур)	Рисунок

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение и опишите принципы работы светлоструйной, фазово-контрастной, темнопольной, флуоресцентной, конфокальной, поляризационной и электронной микроскопии.
2. Что собой представляет фазово-контрастный объектив? Какую маркировку он имеет?
3. Для чего нужен диоптер?
4. Как фазовое кольцо преобразует разность фаз в контраст?
5. Для исследования каких объектов применяют метод фазового контраста?
6. Как изменяются основные характеристики микроскопа при фазовом контрасте?
7. Можно ли использовать фазовый контраст для наблюдения окрашенных объектов?
8. Какие преимущества дает фазово-контрастная микроскопия?
9. В каких биологических исследованиях она незаменима?

Лабораторная работа № 4

ФИКСИРОВАНИЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ

Для регистрации изображения и его фиксирования могут быть использованы различные приемы, например зарисовка объекта с помощью рисовальных или рисовально-проекционных аппаратов, фотографирование с использованием цифровых фото- и видеокамер, включая прижизненную видеосъемку происходящих в клетках процессов, регистрация процессов real-time с выводом изображения (видео) на интерактивную доску или ноутбук.

Задание 1. Ознакомьтесь с особенностями фотографирования микрообъектов, с устройством микрофотонасадок и автоматическими фотосистемами у микроскопов Primo Star. Установите микрофотонасадку и сделайте фотоснимки.

Порядок работы с микрофотонасадкой

1. Готовят микроскоп к работе. Устанавливают освещение в соответствии с принципом Кёлера. Помещают препарат на предметный столик и фокусируют оптику на препарат.

2. Один окуляр микроскопа вынимают и устанавливают на его место фотонасадку. Фокусируют препарат, делают изображение четким, регулируя уровень освещенности препарата.

3. Настраивают контрастность и экспозицию (в зависимости от источника света и светофильтров, комбинации объектива и окуляра, объекта и др.). Делают снимки.

Задание 2. Вклейте фотографию препарата, изучаемого в процессе лабораторной работы. Сделайте к нему подписи с пояснениями.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Сравните основные способы фиксации изображения, их возможности и ограничения использования.
2. Для чего и каким образом подбирают светофильтры при работе с микрофотонасадкой?
3. От каких условий зависит экспозиция в микрофотографии?
4. В чем состоят особенности применения видеомикроскопии?

Раздел 3. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И ФАЗЫ МИТОЗА У РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Лабораторная работа № 5 КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И ФАЗЫ МИТОЗА У РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Рост растений происходит главным образом за счет увеличения числа клеток в растущих органах. Митоз – основной способ деления соматических клеток. Он представляет собой составную часть митотического цикла, через который проходит каждая клетка от деления до деления. Митотический цикл состоит из интерфазы и собственно митоза, тесно связанных между собой. Интерфаза – наиболее продолжительная часть митотического цикла. В этой фазе происходят важные биохимические процессы, подготавливающие клетку к делению: репликация ДНК, накопление веществ и энергии. В интерфазе различают три периода: пресинтетический – G_1 синтетический – S и постсинтетический – G_2 . Митоз, в свою очередь, делят на четыре фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. В конце телофазы в области экваториальной пластинки формируется клеточная стенка, которая разделяет клетку на две равные части, т.е. происходит цитокинез. При митозе генетическая информация равномерно распределяется между двумя новыми клетками – каждая из них получает число хромосом, равное числу хромосом исходной клетки.

Задание 1. Изучите этапы митотического цикла, зарисуйте его схему, обозначив периоды интерфазы G_1 , S и G_2 и митоз. Дайте краткое описание всем периодам.

Пресинтетический период (G_1) –

Синтетический период (S) –

Постсинтетический период (G_2) –

Схема митотического цикла

Задание 2. Дайте определения.

Амитоз –

Эндомитоз –

Задание 3. Заполните таблицу. Подпишите соответствующие фазы развития и дайте им краткую характеристику.

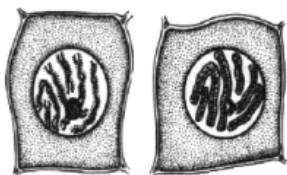

Схема фазы	Название фазы, краткая характеристика
	
	

Схема фазы	Название фазы, краткая характеристика
	
	
	

Здание 4. Изучите при малом и большом увеличении микроскопа готовый препарат кариокинеза в клетках кончика корня лука репчатого (*Allium cepa*); передвигая препарат, найдите все фазы митоза и зарисуйте каждую стадию.

Рисунки стадий митотического цикла

Интерфаза	Профаза
Метафаза	Анафаза

Телофаза	Цитокинез
----------	-----------

Здание 5. Изучив митотический цикл клетки, напишите, какой стадии цикла соответствуют перечисленные явления:

1) Ядерная оболочка возникает _____.

2) Ядрышко исчезает _____.

3) Нити веретена протягиваются от центриолей к центромерам хромосом
_____.

4) Ядрышко формируется в ядре _____.

5) Удвоение ДНК происходит _____.

6) Ядерная оболочка распадается _____.

7) Каждая хроматида становится самостоятельной хромосомой
_____.

8) Центриоли делятся и расходятся к разным полюсам клетки
_____.

9) Белки интенсивно синтезируются _____.

10) Хромосомы располагаются в экваториальной плоскости клетки
_____.

11) Веретено деления исчезает _____.

12) Хромосомы спирализуются и становятся видимыми в световой микроскоп
_____.

13) Хромосомы деспирализуются и становятся невидимыми в световой микроскоп _____.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Какие типы деления клеток вы знаете?
2. Что такое митотический цикл?
3. От чего зависит продолжительность митотического цикла и отдельных его стадий?
4. Как меняется компактизация хромосом в процессе клеточного цикла?
5. Почему в результате митоза возникают дочерние клетки с идентичными наборами хромосом?
6. Назовите отличия следующих процессов: митоз, амитоз, эндомиоз, политения и полиплоидия.
7. Какие процессы свойственны стадиям G1, S, G2 интерфазы?
8. Чем характеризуется G₀-период?
9. Как осуществляется генетический контроль клеточного цикла? Назовите основные группы генов.
10. Что такое веретено деления и его функции?
11. В чем заключается биологическая сущность митоза?

Раздел 4. КАРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Лабораторная работа № 6 КАРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Кариологический анализ – важнейший метод цитогенетических исследований, позволяющий изучать морфологию, количество и структуру хромосом в клетках различных организмов. Этот метод имеет фундаментальное значение для понимания наследственных заболеваний, эволюционных процессов, видовой идентификации, диагностики генетических нарушений. В медицине кариотипирование используется для выявления хромосомных аномалий (например, при синдроме Дауна, Клайн-фельтера), а в биологии – для анализа механизмов видообразования и геномной изменчивости.

Задание 1. Подсчитайте число хромосом у различных сельскохозяйственных культур, используя постоянные препараты. Результаты подсчета занесите в таблицу.

Результаты подсчета числа хромосом

Культура	Число хромосом на метафазных пластинках				
	1	2	3	4	Среднее

Выводы: _____

Задание 2. Ознакомьтесь с основными принципами анализа кариотипов. Запишите формулы для расчета основных показателей для кариологического анализа.

Центромерный индекс: _____.

Абсолютная длина генома: _____.

Относительная длина хромосомы: _____.

Индекс спирализации: _____.

Задание 3. Дайте характеристику типам хромосом по следующим параметрам.

Тип хромосомы	Индекс центромерный (IC)	Соотношение плеч	Схематичный рисунок (подпишите p/q-плечи и центромеру)
Метацентрические			
Субметацентрические			
Субacroцентрические			
Аacroцентрические			
Телоцентрические			

Задание 4. Проанализируйте метафазную пластинку, вырежьте хромосомы и составьте кариотип с указанием абсолютной и относительной длин хромосом, а также центромерных индексов.

№ хромосомы	I	II	III	IV	V
Вырезанные хромосомы	Хр.	Хр.	Хр.	Хр.	Хр.
Тип по положению центромеры (M, SM, SA, A, T)	M	S M	SA	A	T
Длина короткого плеча, S, мм					
Длина длинного плеча, L, мм					
Длина хромосомы, S + L, мм.					
Центромерный индекс, I^c , %					
Относительная длина хромосом, I^n					

Задание 5. Составьте идиограмму хромосом на основании кариотипа (по данным задания 4).

Формула кариотипа:

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Назовите химический состав хромосом.
2. Назовите типы и функции гистоновых белков.
3. Перечислите и охарактеризуйте уровни компактизации хромосом.
4. Дайте определения эу- и гетерохроматина.
5. Опишите строение метафазной хромосомы.
6. Почему для морфологического анализа используют именно метафазные хромосомы?
7. Как влияет время гипотонической обработки на качество препарата?
8. Что такое кариотип?
9. Что такое абсолютная длина хромосом, относительная длина хромосом, центромерный индекс, индекс спирализации, и как они рассчитываются?
10. Назовите типы хромосом в зависимости от положения центромеры.
11. Перечислите принципы составления кариотипа, нумерации хромосом.
12. Почему при анализе кариотипа растения *Vicia faba* видны гигантские хромосомы?

Раздел 5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВРЕМЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Препараты

1. Для приготовления временных препаратов используют доступные и быстро высыхающие жидкости – чаще всего каплю воды или глицерина, в которую погружается исследуемый объект.

Предметное и покровное стекла тщательно протираются, капля воды помещается в центр предметного стекла, препаровальной иглой в воду осторожно погружается объект и закрывается покровным стеклом (рис. 1). Излишки воды удаляются полоской фильтровальной бумаги, которая помещается рядом с покровным стеклом.

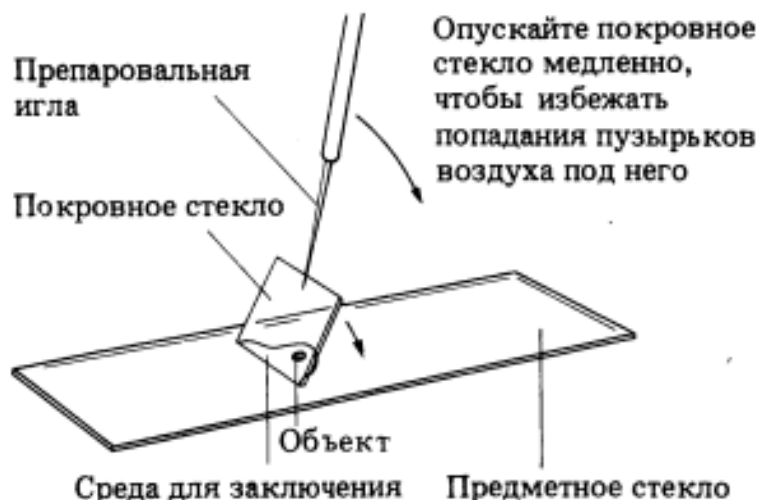


Рис. 1. Изготовление временного препарата

2. Постоянные (готовые) препараты заливаются в глицерин-желатину или канадский бальзам для длительного хранения (от нескольких до десятков лет). Они хранятся на специальных подносах или в коробках.

3. Держать препараты разрешается только за этикетку или за ребра, чтобы не оставлять отпечатков на препарате.

4. Перед использованием препараты протираются чистой салфеткой, особенно осторожно и бережно – в центральной части, закрытой покровным стеклом.

5. Для работы берется не более 1–2 препаратов одновременно.

6. По окончании работы препараты возвращаются на тот же поднос или в коробку, откуда они были взяты.

Лабораторная работа № 7

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КОРНЕВЫХ МЕРИСТЕМ РАСТЕНИЙ

Изучение процессов клеточного деления и структуры хромосом имеет фундаментальное значение в цитогенетике и биологии развития растений. Одним из наиболее удобных объектов для подобного рода исследований являются корневые меристемы, так как они содержат активно делящиеся клетки, что позволяет наблюдать различные стадии митоза.

Приготовление препаратов из корневых меристем – важный лабораторный метод, применяемый для анализа хромосомного набора, выявления мутаций и изуче-

ния воздействия различных факторов на клеточный цикл. В работе используются методы фиксации, окрашивания и микроскопии, позволяющие визуализировать хромосомы на разных этапах деления клетки.

Задание 1. Ознакомьтесь с основными методами, назначением и ограничениями использования предфиксационной обработки материала, правилами фиксации и хранения фиксированного материала. Запишите состав основных фиксаторов и правила промывки материала от фиксатора.

Этап	Методы / Действия	Назначение	Ограничения	Правила
Предфиксационная обработка				
Промывка				
Обезвоживание				
Остановка митоза (для хромосом)				
Фиксация				
Химическая фиксация				
Физическая фиксация				
Промывка от фиксатора				
Удаление формалина				
Удаление спиртов				

Этап	Методы / Действия	Назначение	Ограничения	Правила
Хранение фиксированного материала				
Краткосрочное				
Долгосрочное				

Состав фиксирующих жидкостей для растительного материала

Состав фиксатора Карнуа (6:3:1)	Состав «уксусного» алкоголя (3:1)
1.	1.
2.	2.
3.	

Время фиксации: _____

Последовательность операций при промывке материала от фиксатора:

1. Поместить материал в _____ на _____ мин.
2. Поместить материал в _____ на _____ мин.
3. Поместить материал в _____ на _____ мин.
4. Хранить материал в _____.

Задание 2. Зафиксируйте в «уксусном алкоголе» корешки лука, промойте их от фиксатора, окрасьте ацетокармином и приготовьте давленные препараты.

Приготовление ацетокармина:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Порядок операций при изготовлении давленных препаратов, окрашенных ацетокармином корешков:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

Задание 3. Сфотографируйте стадии митоза на подготовленном препарате и вклейте фотографию.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Каковы правила подготовки растительного материала для фиксации?
2. Что такое фиксация материала и как она осуществляется?
3. Перечислите наиболее распространенные фиксирующие жидкости и особенности их применения.
4. Назовите общие правила фиксации.
5. Как осуществляется промывка материала от фиксатора и его сохранение?
6. Как подразделяются красители по происхождению и характеру действия?
7. Перечислите последовательность операций при приготовлении давленных препаратов.
8. Дайте классификацию основным цитологическим красителям.

Лабораторная работа № 8

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОГО ИНДЕКСА В МЕРИСТЕМАХ КОРЕШКА ЛУКА

Митоз – это процесс деления клеток, обеспечивающий рост и регенерацию растительных тканей. Изучение митотической активности в меристемах корней позволяет оценить скорость клеточного деления, выявить влияние различных факторов (физических, химических, экологических) на пролиферацию клеток и обнаружить возможные нарушения в ходе митоза. Одним из ключевых показателей, характеризующих митотическую активность, является митотический индекс (МИ) – отношение числа делящихся клеток к общему числу клеток в популяции.

Определение митотического индекса широко применяется в цитогенетике, экотоксикологии и биотестировании. Например, с его помощью можно оценить фитотоксичность химических веществ, радиационное воздействие или влияние стрессовых условий на растения. В качестве модельного объекта часто используют корневые меристемы лука (*Allium cepa*), поскольку они содержат большое количество активно делящихся клеток, а их хромосомы хорошо различимы под микроскопом.

Задание 1. Приготовьте препарат из кончиков корешков растений лука. Подсчитайте отдельно по полям зрения количество клеток, находящихся в каждой из стадий клеточного цикла. Полученные результаты занесите в таблицу.

Определение митотического индекса в корневой меристеме

Номер поля зрения	Количество клеток в стадии, шт.				
	Интерфаза (И)	Профаза (П)	Метафаза (М)	Анафаза (А)	Телофаза (Т)

Задание 2. Определите митотический индекс (MI) и относительную длительность отдельных фаз митоза в меристеме корешка. Запишите формулы для расчета и рассчитайте митотический индекс.

Митотический индекс (MI) = _____

Доля П = _____

Доля М = _____

Доля А = _____

Доля Т = _____

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Что показывает митотический индекс?
2. Перечислите методы определения продолжительности отдельных фаз митоза и всего клеточного цикла?

Лабораторная работа № 9

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ

Прекрасный объект для изучения функциональной морфологии – политенные хромосомы из клеток слюнных желез личинок дрозофилы и комара хирономуса (рис. 2).

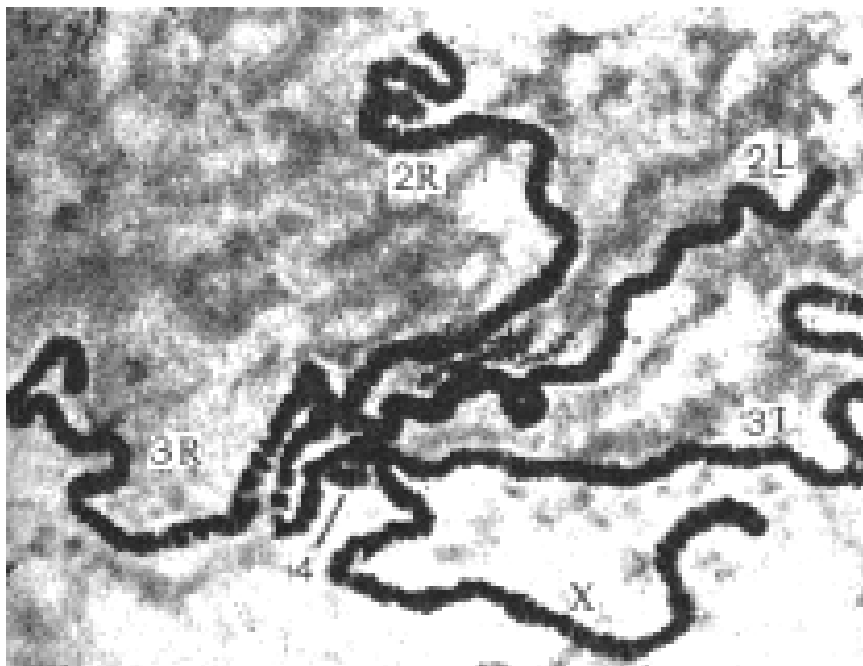


Рис. 2. Политенные хромосомы из слюнных желез самки дрозофилы (*Drosophila melanogaster*). Видны X-хромосома, левое и правое плечо второй и третьей хромосом (2L, 2R и 3L, 3R), а также четвертая хромосома (4). По Мюнтингу

Хромосомы в этих клетках отличаются крупными размерами. Каждая поли-тенная хромосома состоит из множества хромонем, возникших в результате много-кратной эндорепликации. В ядрах антипод зародышевого мешка пшеницы и ячменя также обнаружены политенные хромосомы. С политенными хромосомами дрозофи-лы или хирономуса знакомятся, приготовив давленные препараты по методике, кото-рая приведена ниже.

Задание 1. Приготовьте препарат политенных хромосом из слюнных желез хирономуса и заполните таблицу. Ознакомьтесь со строением политенных хромо-сом на препаратах.

Порядок приготовления препаратов слюнных желез хирономуса

1. На предметное стекло помещают личинку.
2. Находят передний конец тела, удаляют головной отдел, а затем осторожно с помощью препаровальной иглы выдавливают содержимое первых 3–4 сегментов личинки, в которых располагаются железы.
3. Выделенные железы окрашивают ацетокармином и накрывают покровным стеклом. В случае плохого окрашивания препарат подогревают на плитке. Изготов-ленный препарат исследуют.

№	Действие	Реагенты / Инструменты	Время	Критерии качества выполнения
1.	Фиксация слюнных желез			
2.	Окрашивание			
3.	Раздавливание под покровным стеклом			
4.	Анализ под микроскопом			

Задание 2. Зарисуйте слюнные железы и политенные хромосомы хирономуса, отметив:

- Диски (темные и светлые полосы).
- Пуфы (вздутия – участки активной транскрипции).

Рисунок политенных хромосом

Задание 3. Сравните различные методы окраски.

Метод окраски	Преимущества	Недостатки	Пригодность для анализа пуфов
Ацетокармин			
Орсеин			
Гематоксилин			

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Что такое политенные хромосомы и как они образуются?
2. В каких тканях встречаются политенные хромосомы?
3. Какое значение имеют клетки с политенными хромосомами в жизни организма?
4. Каким образом можно использовать политенные хромосомы в цитогенетических исследованиях?
5. Почему политенные хромосомы удобны для цитогенетических исследований?
6. Какую роль играет фиксация перед окрашиванием?
7. Объясните, почему в слюнных железах личинок дрозофилы образуются гигантские хромосомы.

Раздел 6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСТОЯННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Лабораторная работа № 10

ПЕРЕВОД ВРЕМЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПОСТОЯННЫЕ

При цитологических и гистологических исследованиях часто возникает необходимость длительного сохранения микроскопических препаратов для последующего анализа, демонстрации или документации. Временные препараты, хотя и удобны для быстрого изучения, со временем теряют свои качества из-за высыхания, окисления красителей или деградации биологического материала. Для обеспечения долговечности и стабильности образцов применяют методы перевода временных препаратов в **постоянные**, которые могут храниться годами без существенного ухудшения качества.

Перевод временных препаратов в постоянные включает несколько этапов: фиксацию, обезвоживание, просветление и заключение в консервирующую среду (например, канадский бальзам или синтетические смолы). Этот процесс позволяет не только сохранить морфологию клеток и тканей, но и обеспечить четкую видимость структур при повторных микроскопических исследованиях.

Задание 1. Переведите приготовленный временный препарат в постоянный, используя сухой лед (жидкий азот, подсушивание), серию спиртов и канадский бальзам.

Последовательность и длительность операций по обезвоживанию при переводе временных препаратов в постоянные

1. Снимают покровное стекло с использованием замораживания сухим льдом (жидким азотом) и проводят препарат (предметное и покровное стекла отдельно) через батарею спиртов:

1. _____ мин.
2. _____ мин.
3. _____ мин.
4. _____ мин.
5. _____ мин.

2. Не подсушивая препарат, на предметное стекло капают каплю канадского бальзама, растворенного в ксилоле, и накрывают чистым покровным стеклом. Параллельно, покровным стеклом препарата накрывают каплю канадского бальзама на чистом предметном стекле. Таким образом, из одного получают 2 препарата.

3. Изготовленные препараты просматривают под микроскопом и оставляют на несколько суток подсохнуть под небольшим гнетом для удаления пузырьков воздуха.

Задание 2. Рассмотрите изготовленные постоянные препараты под микроскопом и маркером отметьте на препарате положение клеток в стадиях митотического деления. Сфотографируйте отмеченные клетки, фото приклейте в тетрадь.

Контрольные вопросы и задания

1. Каково назначение постоянных препаратов?
2. Опишите технику перевода временных препаратов в постоянные.
3. Какие требования предъявляют к временным препаратам при переводе их в постоянные?
4. Почему перед фиксацией клетки обрабатывают гипотоническим раствором? Как это влияет на качество препарата?
5. Почему для длительного хранения препаратов используют канадский бальзам или синтетические смолы? Каковы их преимущества перед другими средами?

Лабораторная работа № 11

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСТОЯННЫХ ПРЕПАРАТОВ МЕТОДОМ «РАСПЛАСТЫВАНИЯ КЛЕТОК»

При цитогенетических исследованиях важное значение имеет качество микроскопических препаратов, от которого зависит точность анализа хромосомных аномалий, митотической активности и других клеточных характеристик. Одним из эффективных методов приготовления высококачественных постоянных препаратов является **метод распластывания клеток**, позволяющий равномерно распределить клеточный материал на предметном стекле с минимальным повреждением структур. Этот метод особенно полезен при изучении хромосомного набора, так как обеспечивает хорошую видимость отдельных хромосом и их морфологии.

Метод распластывания включает несколько ключевых этапов: обработку клеток гипотоническим раствором для увеличения их объема, фиксацию, нанесение суспензии клеток на стекло с последующим механическим или воздушно-сухим распластыванием, а также окрашивание и заключение в консервирующую среду. В отличие от традиционных срезов, этот подход позволяет получать препараты с изолированными клетками, что значительно облегчает анализ их внутренней структуры.

Задание 1. Ознакомьтесь с методикой и подготовьте материал для приготовления препаратов. Приготовьте препарат митотических хромосом методом «распластывания клеток».

Приготовления фосфатного буфера

- 1.
- 2.

Используемые ферменты

- 1.
- 2.
- 3.

Техника приготовления препаратов методом «распластывания клеток»

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

Задание 2. Окрасьте препарат красителем Гимза и изучите под микроскопом. Зафиксируйте изображение с помощью микрофотонасадки и вклейте изображение в тетрадь.

Задание 3. Сравните постоянные препараты, изготовленные переводом временных и методом «распластывания клеток», и сделайте выводы.

Выводы: _____

Контрольные вопросы

1. На чем основан метод «распластывания клеток»?
2. Что такое мацерация тканей и как она достигается?
3. В чем состоят отличия постоянных препаратов, изготовленных из микро- томных срезов, методом «распластывания клеток» и переводом временных препара- тов в постоянные? Назовите недостатки использования каждого из названных мето- дов изготовления постоянных препаратов.
4. Что представляет собой краситель Гимза и для каких целей он используется в цитологии?
5. В чем преимущество метода распастывания клеток перед традиционными методами приготовления препаратов?
6. Каковы основные этапы приготовления постоянных препаратов методом распастывания? Опишите назначение каждого этапа.
7. Какие ошибки могут возникнуть при приготовлении препаратов методом распастывания, и как их избежать?

Раздел 7. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЕ ОКРАШИВАНИЕ ХРОМОСОМ

Практическое занятие № 1

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЕ ОКРАШИВАНИЕ ХРОМОСОМ

Дифференциальное окрашивание хромосом представляет собой важнейший метод цитогенетического анализа, позволяющий выявлять структурные особенности хромосомного аппарата. Данная методика основана на способности специфических красителей избирательно связываться с различными участками хромосом, что приводит к появлению характерного поперечного рисунка (бэндинга). Такой подход обеспечивает точную идентификацию отдельных хромосом и их регионов, что имеет принципиальное значение для кариотипирования и диагностики хромосомных аномалий.

В современной цитогенетике применяют несколько основных методов дифференциального окрашивания: G-, C-, Q- и R-бэндинг.

Задание 1. Ознакомьтесь с основными методами дифференциального окрашивания хромосом. Заполните таблицу, используя учебные материалы или научные источники.

Метод	Химический агент / краситель	Окрашиваемые структуры	Принцип метода	Область применения	Преимущества и недостатки
G-бэндинг (Гимза)					
C-бэндинг					
Q-бэндинг					
R-бэндинг					

Метод	Химический агент / краситель	Окрашиваемые структуры	Принцип метода	Область применения	Преимущества и недостатки
NOR-окрашивание					
Т-бэндинг (теломерное окрашивание)					

Задание 2. Проведите дифференциальное окрашивание хромосом тритикале с использованием красителя Гимза (С-окрашивание).

Порядок операций при окрашивании хромосом:

1. Проводят предфиксационную обработку растительного материала (проростки тритикале) и фиксируют в 45 % уксусной кислоте.
2. Готовят постоянный препарат методом «распластывания клеток», либо после обязательной мацерации с помощью ферментов давленный препарат переводят в постоянный с использованием сухого льда (жидкого азота) и тщательно высушивают его.
3. Сухие препараты выдерживают в насыщенном растворе гидроксида бария при комнатной температуре в течение 10–15 мин.
4. Препараты споласкивают 0,1 н раствором соляной кислоты, тщательно промывают в проточной воде в течение 5 мин. Высушивают на воздухе либо с использованием вентилятора.
5. Сухие препараты помещают в буфер 2×SSC (pH 6,8–7,0) при 60 °C на 1 ч.
6. Препараты тщательно промывают в проточной воде в течение 5 мин и высушивают на воздухе либо с использованием вентилятора.
7. Окрашивают 1–1,5 % раствором красителя Гимза (pH = 6,8–7,0) в течение 15–30 мин (качество окрашивания контролируют под микроскопом).
8. Окрашенные препараты споласкивают водой и высушивают. Высушенные препараты готовы к анализу.
9. В случае длительного хранения препараты заключают в канадский бальзам, предварительно выдержав в ксилоле.

Задание 3. Проанализируйте, опишите и зарисуйте полученные дифференциально окрашенные хромосомы клеток тритикале. С помощью стандартных идио-

грамм (рис. 2 и 3) проведите идентификацию хромосом. Проведите кариологический анализ пластинки дифференциально окрашенных хромосом тритикале на основе стандартной идиограммы дифференциально окрашенных хромосом пшеницы (рис. 3) и идиограммы хромосом ржи (рис. 4).

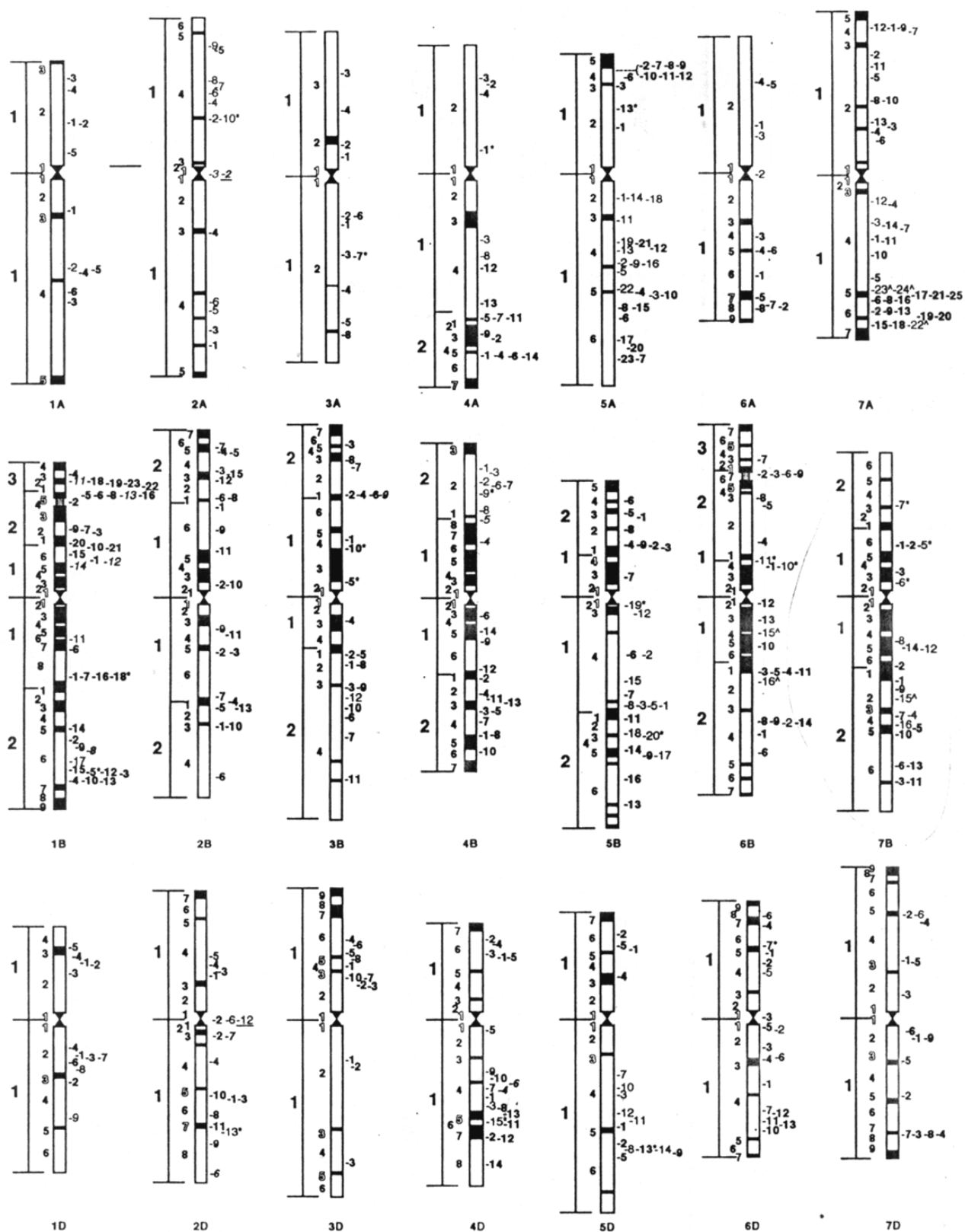


Рис. 3. Стандартная идиограмма дифференциально окрашенных хромосом мягкой пшеницы (по Gill et al., 1991)

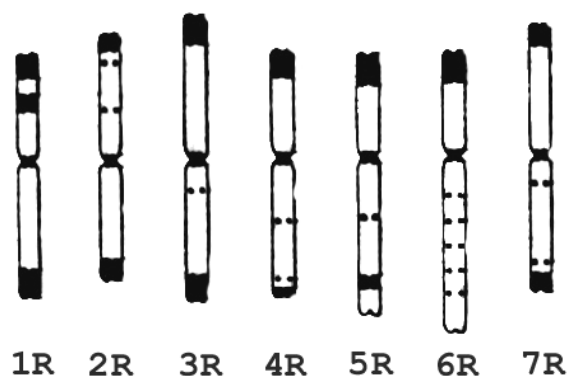


Рис. 4. Идиограмма дифференциально окрашенных хромосом ржи

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Назовите возможности и ограничения применения дифференциального окрашивания в цитогенетических исследованиях.
2. Дайте краткую характеристику основных методов дифференциального окрашивания.
3. Перечислите основные принципы идентификации хромосом при дифференциальном окрашивании.
4. Какие требования к материалу и препаратам должны соблюдаться при проведении дифференциального окрашивания?
5. Перечислите последовательность операций при С-методе дифференциального окрашивания хромосом и их назначение.
6. В чем отличие Q-бэндинга от G-бэндинга, если оба метода выявляют АТ-богатые участки?
7. Чем отличается Т-бэндинг от других методов дифференциального окрашивания?
8. Почему для Т-бэндинга часто используют флуоресцентную гибридизацию (FISH) вместо классического окрашивания?
9. Какие хромосомные аномалии можно выявить с помощью С-бэндинга?
10. Почему G-бэндинг является наиболее распространенным методом в цитогенетике?

Раздел 8. МЕЙОЗ, МИКРОСПОРОГЕНЕЗ, МИКРОГАМЕТОГЕНЕЗ

Лабораторная работа № 12 МЕЙОЗ, МИКРОСПОРО- И МИКРОГАМЕТОГЕНЕЗ

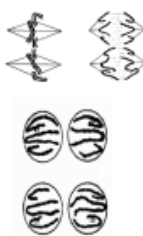
Мейоз – это особый тип деления клеток, обеспечивающий образование гаплоидных гамет и лежащий в основе полового размножения у эукариот. У растений этот процесс связан с формированием спор и гамет в специализированных структурах – микро- и мегаспорангиях. Изучение мейоза, микроспорогенеза (образование микроспор) и микрогаметогенеза (развитие мужских гамет) имеет фундаментальное значение для понимания механизмов генетического разнообразия, имеющих большое значение в селекции растений и для решения прикладных задач биотехнологии.

В ходе лабораторной работы будут исследованы ключевые этапы мейотического деления на примере пыльников цветковых растений. Особое внимание уделено:

- **Фазам мейоза** (профаза I с её сложными стадиями, метафаза I, анафаза I, телофаза I и второе деление);
- **Микроспорогенезу** – процессу образования микроспор из материнских клеток в результате мейоза;
- **Микрогаметогенезу** – образованию мужских гамет – спермиев в составе мужского гаметофита (пыльцевого зерна).

Задание 1. Изучите редукционное деление клетки, заполните таблицу, подпишите соответствующую фазу развития и дайте краткую характеристику.

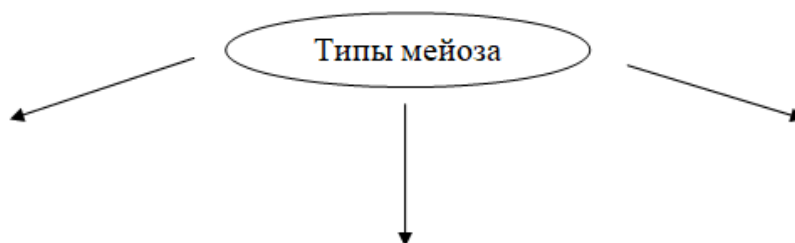
Схема фазы	Название фазы, краткая характеристика
	
	
	
	

Схема фазы	Название фазы, краткая характеристика
	

Задание 2. Сравните поведение хромосом в митозе и мейозе и запишите в таблицу формулы генетического материала в каждой из фаз деления, обозначив число хромосом – n , а число нитей ДНК (хроматид) – c .

Фаза деления	Митоз	Мейоз	
		Редукционное деление	Эквационное деление
Интерфаза			
Профаза			
Метафаза			
Анафаза			
Телофаза			

Задание 3. Заполните схему и дайте определения.



Задание 4. Дайте определения терминам микроспорогенез и микрогаметогенез. На постоянных препаратах найдите и зарисуйте отдельные фазы мейоза, микроспорогенеза и микрогаметогенеза.

Рисунки стадий мейоза, микроспорогенеза и микрогаметогенеза

Микроспороцит	Профаза I (лептотена)
Профаза I (зиготена)	Профаза I (пахитена)
Профаза I (диплотена)	Профаза I (диакинез)
Метафаза I (вид с полюса)	Метафаза I (вид сбоку)
Анафаза I	Телофаза I
Интеркинез	Метафаза II

Анафаза II	Телофаза II
Тетрада микроспор однодольных	Тетрада микроспор двудольных
Одноядерная пыльца	Двухъядерная пыльца
Деление генеративной клетки в пыльцевом зерне	Пыльцевое зерно со спермиями

Микрогаметогенез – _____

Макрогаметогенез – _____

Задание 5. Приготовьте давленные препараты молодых пыльников ржи, пшеницы, тритикале, томатов.

**Порядок операций при приготовлении давленных препаратов
для просмотра мейоза**

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

Задание 6. Зарисуйте или сфотографируйте стадии мейоза, увиденные на ваших временных препаратах.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Охарактеризуйте строение, химический состав и функции ядра.
2. Что является носителем наследственности в растительных и животных клетках?
3. Что такое мейоз?
4. Дайте краткую характеристику типов мейоза.
5. Что общего и какие отличия имеются между мейозом и митозом?
6. Дайте краткую характеристику фаз мейотического деления.
7. Каким образом и на какой стадии происходит конъюгация хромосом и кроссинговер?
8. Как осуществляется рекомбинация генетического материала во время мейотического деления?
9. Назовите отличительные особенности микроспорогенеза однодольных растений в сравнении с двудольными.
10. Как протекает микрогаметогенез у однодольных и двудольных растений?
11. Как проходит сперматогенез у животных и человека?
12. Какие требования необходимо соблюдать при отборе растительного материала для изучения мейотического деления?
13. Что собой представляет мейоз? В чем его биологическое значение?

Лабораторная работа № 13

ФЕРТИЛЬНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ

Изучение фертильности и жизнеспособности пыльцы имеет важное значение как в фундаментальных исследованиях репродуктивной биологии растений, так и в прикладных областях – селекции, семеноводстве и сохранении биоразнообразия. Пыльца, являясь мужским гаметофитом, играет ключевую роль в процессе оплодотворения и определяет репродуктивный успех растений.

Фертильность пыльцы характеризует ее способность к оплодотворению, а жизнеспособность отражает физиологическую активность и способность к прорастанию. Эти показатели служат важными критериями при:

- оценке влияния факторов среды (температуры, влажности, загрязнения);
- изучении действия мутагенных факторов;
- контроле качества селекционного материала;
- диагностике мужской стерильности у растений.

Задание 1. Приготовьте ацетокарминовые препараты различных сельскохозяйственных культур. Заполните таблицу, охарактеризовав типы стерильности, зарисуйте фертильные и стерильные пыльцевые зерна (покажите различные формы стерильности пыльцы: безъядерную, одноядерную, двухъядерную пыльцу). Запол-

ните сравнительную таблицу по морфологии пыльцевых зерен однодольных и двудольных растений.

Порядок операций при приготовлении ацетокарминовых препаратов

1. На предметное стекло нанести каплю ацетокармина.
2. Поместить в каплю пыльцу исследуемого растения.
3. Накрыть покровным стеклом, избегая пузырей.
4. Изучить под микроскопом при увеличении $\times 100$ – $\times 400$.

Примеры аномалий при анализе фертильности и стерильности пыльцы

- Деформированные пыльцевые зерна.
- Неравномерное окрашивание.
- Отсутствие цитоплазмы.

Типы стерильности

Тип стерильности	Описание	Рисунок
Безъядерная пыльца		
Одноядерная пыльца		
Двухъядерная пыльца		

Морфология пыльцевых зерен однодольных и двудольных растений

Признак	Однодольные	Двудольные
Форма пыльцы		
Размер		

Признак	Однодольные	Двудольные
Окрашивание		
Стерильные формы		
Рисунок		

Задание 2. На ацетокарминовых препаратах сельскохозяйственных культур определите процент фертильности (по каждому растению нужно просмотреть 300 пыльцевых зерен при объективе 9× или 40×). Данные занесите в таблицу.

Определение фертильности пыльцы у различных культур

Культура	Пыльцевые зерна, шт.			Фертильность пыльцы, %
	Фертильные	Стерильные	Всего	

Выводы: _____

Задание 3. Определите жизнеспособность пыльцы методом проращивания пыльцы на питательной среде. Результаты анализа занесите в таблицу.

Порядок операций для оценки жизнеспособности пыльцы

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10.

Определение жизнеспособности пыльцы _____

№ препарата	Пыльцевые зерна, шт.			Жизнеспособность, %
	Проросшие	Непроросшие	Всего	

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Опишите строение пыльника, типы и функции тапетума.
2. Какое строение и химический состав имеет зрелая пыльца?
3. Дайте определение фертильности и жизнеспособности пыльцы.
4. Дайте краткую характеристику методов определения фертильности пыльцы.
5. От чего зависят показатели фертильности и жизнеспособности пыльцы?

Лабораторная работа № 14

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ ПРОРАСТАЮЩИХ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН В ПЕСТИКЕ

Флуоресцентная микроскопия является мощным инструментом для изучения биологических объектов, позволяющим визуализировать специфические структуры и процессы с высокой контрастностью. В данной лабораторной работе метод флуоресцентной микроскопии применяется для исследования прорастания пыльцевых зерен в пестике.

Прорастание пыльцы и последующий рост пыльцевой трубки – ключевые этапы процесса оплодотворения у цветковых растений. Эти процессы сопровождаются сложными биохимическими и цитологическими изменениями, которые можно детально изучить с помощью флуоресцентных красителей, избирательно связывающихся с клеточными компонентами (например, кальцием, клеточной стенкой или цитоскелетом).

Флуоресцентная микроскопия имеет важное значение для понимания фундаментальных механизмов в области репродуктивной биологии растений, а также может быть полезной для селекции и биотехнологии.

Задание 1. Приготовьте препарат опыленных пестиков, зафиксированных в уксусном спирте.

Материалы

1. 20 % спиртовой раствор щелочи (KOH)
2. Раствор анилинового голубого 0,01 %.
3. Смесь глицерина с водой 1:1.
4. Дистиллированная вода.

Порядок приготовления

1. Мацерация пестиков в 20 % спиртовом растворе щелочи 20–40 минут.
2. Дважды промыть дистиллированной водой.
3. Поместить в раствор анилинового голубого на 30–40 минут.
4. Поместить окрашенные пестики на предметное стекло.
5. Добавить несколько капель смеси глицерина с водой.
6. Накрыть покровным стеклом.
7. Аккуратно раздавить. Препарат готов к микроскопированию.

Задание 2. Зарисуйте пыльцевые трубки, увиденные на временном препарате.

Выводы: _____

Раздел 9. МАКРОСПОРОГЕНЕЗ И МАКРОГАМЕТОГЕНЕЗ. ОПЛОДОТВОРЕНИЕ. РАЗВИТИЕ ЗАРОДЫША И ЭНДОСПЕРМА

Процессы макроспорогенеза, макрогаметогенеза, оплодотворения, а также последующего развития зародыша и эндосперма являются ключевыми этапами репродуктивного цикла покрытосеменных растений. Изучение этих процессов позволяет глубже понять механизмы полового размножения растений, формирование семян и их питательных тканей, что имеет важное значение для биологии, селекции и сельского хозяйства.

Макроспорогенез включает образование и развитие мегаспор в семязачатке, а макрогаметогенез приводит к развитию женского гаметофита – зародышевого мешка. После опыления и двойного оплодотворения (слияния спермиев с яйцеклеткой и центральной клеткой) начинается развитие зародыша и эндосперма, обеспечивающего питательными веществами будущее растение.

Лабораторная работа № 15 МАКРОСПОРОГЕНЕЗ И МАКРОГАМЕТОГЕНЕЗ

Задание 1. Дайте определения.

Макроспорогенез – _____

Макрогаметогенез – _____

Нуцеллус – _____

Фуникулус – _____

Интегументы – _____

Микропиле – _____

Задание 2. Зарисуйте с постоянных препаратов отдельные фазы макроспоро- и макрогаметогенеза, развития зародыша и формирования эндосперма.

**Рисунки стадий макроспоро- и макрогаметогенеза, развития зародыша
и формирования эндосперма**

Пестик гороха	Пестик ржи
Макроспороцит	Диада макроспор
Тетрада макроспор	Одноядерный зародышевый мешок
Двухядерный зародышевый мешок	Четырехядерный зародышевый мешок
Восьмиядерный зародышевый мешок	Яйцевой аппарат подсолнечника
Процесс оплодотворения	Зигота
3-клеточный зародыш	Шаровидный зародыш
Начало дифференциации зародыша	Стадия торпедо
Зрелый зародыш однодольных растений	Зрелый зародыш двудольных растений

Задание 3. Заполните таблицу.

Критерий класси- фикации	Тип семяпочки	Характеристика	Примеры растений	Рисунок
По положению в завязи				
По числу интегументов				

Критерий класси- фикации	Тип семяпочки	Характеристика	Примеры растений	Рисунок
По строению нуцеллуса				
По типу мегаспорогенеза				

Задание 4. Заполните сравнительную таблицу формирования зародышевых мешков Polygonum- и Allium-типов, используя учебные материалы.

Критерий	Polygonum-тип (моноспорический)	Allium-тип (биспорический)
Тип мегаспорогенеза		
Деление мегаспороцита		
Функциональная мегаспора		
Число митотических делений		
Состав зрелого зародышевого мешка		
Происхождение ядер		
Плацентация антипод		

Распространение		
Примеры растений		

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Опишите процессы макроспорогенеза и макрогаметогенеза.
2. Опишите строение пестика и завязи, а также процесс формирования семяпочки.
3. Перечислите основные типы семяпочек и дайте им краткую характеристику.
4. Как происходит формирование зародышевых мешков Polygonum- и Allium-типов?
5. Перечислите основные типы зародышевых мешков.
6. Назовите основные элементы зародышевого мешка и их назначение.
7. Что такое апоспория?
8. Назовите особенности цитологических исследований макроспоро- и макрогаметогенеза и отличия их от исследований развития мужских гамет у растений.

Лабораторная работа № 16

ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

Оплодотворение у покрытосеменных (цветковых) растений представляет собой уникальный биологический процесс, включающий сложные механизмы взаимодействия мужских и женских гамет. Особенностью этого процесса является двойное оплодотворение, открытое С.Г. Навашиным в 1898 г. В ходе двойного оплодотворения первый спермий сливается с яйцеклеткой, образуя диплоидную зиготу ($2n$), которая дает начало зародышу. Второй спермий сливается с центральной клеткой ($2n$) зародышевого мешка, формируя триплоидный эндосперм ($3n$) – питательную ткань для развивающегося зародыша.

Процесс двойного оплодотворения обеспечивает эффективное использование ресурсов и адаптационное преимущество. Также благодаря перекрестному опыле-

нию и рекомбинации генов повышается генетическое разнообразие, что важно при создании новых сортов сельскохозяйственных культур.

Изучение процесса оплодотворения имеет фундаментальное значение для понимания репродуктивной биологии растений, а также практическое применение в селекции и генетике. Знание механизмов оплодотворения позволяет разрабатывать методы повышения урожайности, создавать новые сорта растений и решать проблемы бесплодия у культурных видов.

Задание 1. Заполните таблицу, используя учебные материалы.

Сравнение мужского и женского гаметофитов

Характеристика	Мужской гаметофит (пыльцевое зерно)	Женский гаметофит (зародышевый мешок)
Место формирования		
Число клеток в зрелом состоянии		
Хромосомный набор (n)		
Роль в оплодотворении		

Задание 2. Заполните таблицу, используя учебные материалы.

Этапы двойного оплодотворения

Этап	Процесс	Результат
1. Опыление		
2. Рост пыльцевой трубки		
3. Слияние спермиев: – Спермий № 1 + яйцеклетка – Спермий № 2 + центральная клетка		

Задание 3. Зарисуйте с постоянных препаратов отдельные стадии двойного оплодотворения.

Выводы: _____

Контрольные вопросы

1. В чем сущность двойного оплодотворения у растений.
2. Чем отличается апомиксис от амфимиксиса?
3. Что такое партеногенез?
4. Что такое апогаметия (апогамия)?

Лабораторная работа № 17 СТАДИИ РАЗВИТИЯ ЗАРОДЫША

Развитие зародыша (эмбриогенез) у цветковых растений представляет собой сложный, генетически детерминированный процесс, начинающийся после двойного оплодотворения и завершающийся формированием зрелого семени. Этот процесс характеризуется строгой последовательностью морфогенетических событий, а именно: инициация развития, клеточная дифференцировка, органогенез. Современные методы исследования (конфокальная микроскопия, молекулярно-генетические маркеры, транскриптомный анализ) позволяют детально изучать пространственно-временную организацию эмбриогенеза, сигнальные пути клеточной дифференцировки, взаимодействие зародыша с эндоспермом и семенной кожурой.

Особый интерес представляет сравнительный анализ эмбриогенеза у разных систематических групп, который помогает понять эволюционные преобразования репродуктивной системы цветковых растений. Изучение аномалий эмбрионального развития имеет важное значение для диагностики генетических нарушений и разработки методов их коррекции. Изучение последовательных стадий эмбриогенеза играет важную роль в решении практических задач в области селекции, семеноводства и биотехнологии. К примеру, в области селекции важными аспектами являются ускорение селекционного процесса через эмбриокультуру, преодоление постгамной несовместимости у отдаленных гибридов.

Задание 1. Заполните таблицу «развитие зародыша и эндосперма», используя учебные материалы.

Стадия развития	Зародыш	Эндосперм	Особенности
1. Зигота ($2n$)			
2. Первые деления			

3. Глобулярная стадия			
4. Сердцевидная стадия			
5. Торпедообразная стадия			
6. Зрелое семя			

Задание 2. Сделайте подробное описание стадий развития зародыша, используя термины: *суспensor, щиток, гипокотиль, триплоидный, свободное ядерное деление.*

1. Зигота (2n)

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

2. Первые деления

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

3. Глобулярная стадия

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

4. Сердцевидная стадия

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

5. Торпедообразная стадия

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

6. Зрелое семя

Зародыш: _____

Эндосперм: _____

Задание 3. Зарисовать с демонстрационных препаратов стадии развития зародыша.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Что такое адвентивная эмбриония?
2. Назовите основные типы развития эндосперма. В чем их особенности?
3. Что такое перисперм и в чем заключается его отличие от эндосперма?
4. Опишите процесс формирования зародыша.
5. Сравните развитие зародыша у двудольных (фасоль) и однодольных (пшеница) – укажите 3 различия.
6. Объясните, почему у некоторых растений (горох) эндосперм отсутствует в зрелом семени.

Раздел 10. ПАХИТЕННЫЙ АНАЛИЗ ХРОМОСОМ

Пахитенный анализ представляет собой классический метод цитогенетических исследований, позволяющий детально изучать морфологию хромосом на стадии пахитены мейоза I. Данная стадия характеризуется максимальной конденсацией хромосом при сохранении их структурной индивидуальности, что делает её исключительно ценной для анализа хромосомных перестроек, синапсиса гомологов и выявления тонких структурных аномалий.

Практическое занятие № 2 ПАХИТЕННЫЙ АНАЛИЗ

Задание 1. Ознакомиться с принципами пахитенного анализа, составлением пахитенных (цитологических) карт.

Признаки пахитенных хромосом, используемые для их идентификации

1.

2.

3.

4.

5.

Задание 2. Заполните пропуски в схеме, используя предложенные термины: *синапсис, кроссинговер, хромомеры, рекомбинационные узелки, биваленты*.

Пахитена (стадия мейоза I):

1. _____ гомологичных хромосом → образование _____.

2. Формирование _____ (узор из конденсированных участков ДНК).

3. Активный _____ с образованием хиазм.

4. Появление _____ (участки рекомбинации).

5. Завершение конденсации хромосом.

Задание 3. Соотнесите растения с их особенностями.

Растения	Особенности
1. Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	А. Крупные хромосомы, 7 пар
2. Рожь (<i>Secale cereale</i>)	В. 10 пар, детальные карты для всех хромосом
3. Томат (<i>Solanum lycopersicum</i>)	С. 5 пар, модель для пасленовых
4. Ячмень (<i>Hordeum vulgare</i>)	Д. 4 пары, важна для селекции злаков

Ответ: _____

Задание 4. Заполните таблицу, описав значение каждого признака.

Признак	Характеристика	Пример идентификации
Хромомерный рисунок		
Положение центромеры		
Размер хромосомы		
Наличие перетяжек		

Задание 5. Проанализируйте пахитену томата, выделите все хромосомы, зарисуйте их карты, опишите и проведите их идентификацию при помощи стандартной пахитенной карты (рис. 5).

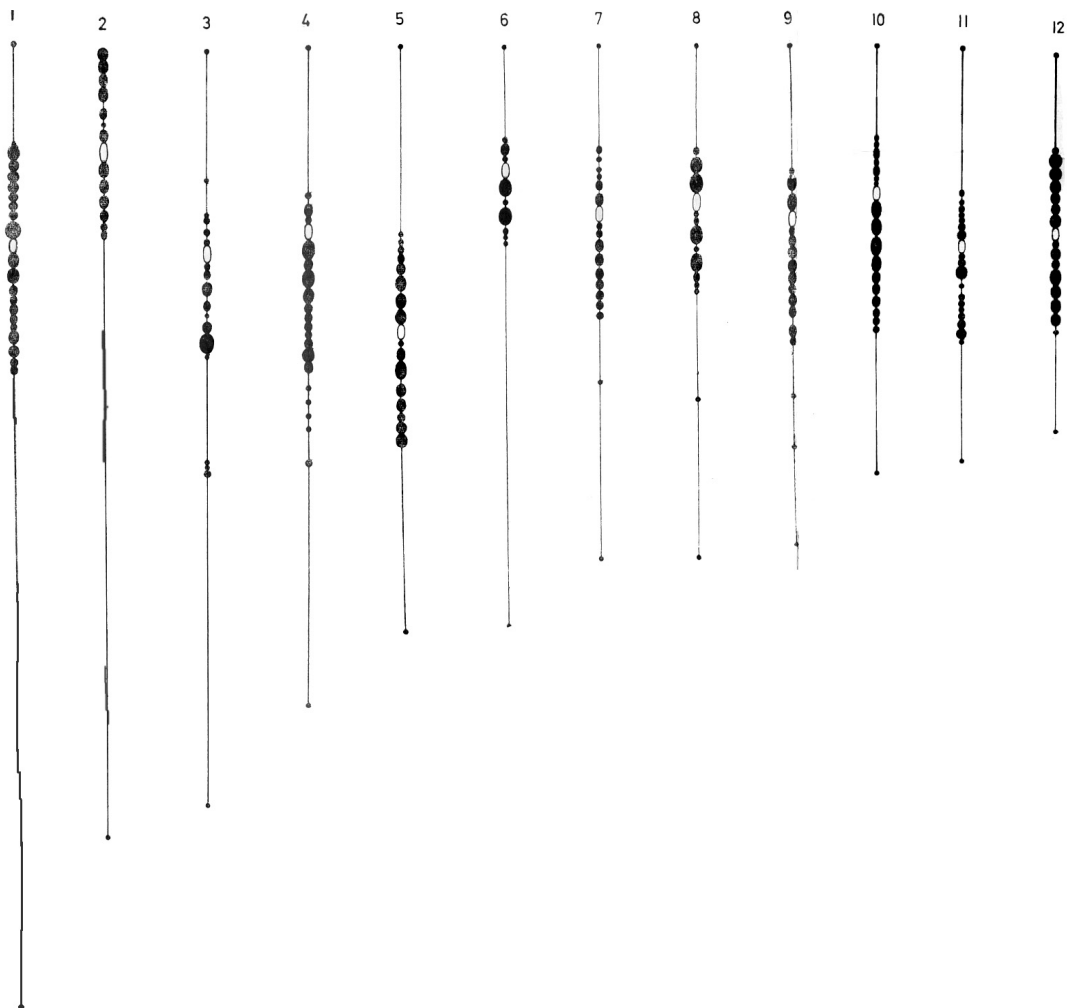


Рис. 5. Пахитенная карта томата (по Krush, Rick, 1968)

Задание 6. Нарисуйте схему пахитенной хромосомы с подписями: *хромомеры*, *центромера*, *хиазма*.

Задание 7. Заполните таблицу, отметив «+» (преимущество) или «-» (недостаток).

Критерий	Монохромное окрашивание митоза	Дифференциальное окрашивание митоза	Пахитенный анализ
Разрешающая способность			
Простота приготовления			
Возможность анализа рекомбинации			
Применимость к любому виду			
Выявление тонких перестроек			

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Какие процессы происходят в пахитене мейоза?
2. Какие признаки хромосом лежат в основе пахитенного анализа?
3. Для каких растений созданы пахитенные карты хромосом?
4. Перечислите преимущества и недостатки использования для идентификации хромосом методов монохромного и дифференциального окрашивания митотических хромосом и пахитенного анализа.

Раздел 11. АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ХИАЗМ

Лабораторная работа № 18

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ХИАЗМ В ДИАКИНЕЗЕ – МЕТАФАЗЕ I МЕЙОЗА

Хиазмы – цитологические маркеры кроссинговера, играющие ключевую роль в обеспечении генетического разнообразия и правильного расхождения хромосом в мейозе. Количественный анализ частоты их образования позволяет:

- оценить интенсивность рекомбинационных процессов;
- выявить нарушения мейотической конъюгации;
- диагностировать хромосомные аномалии;
- проводить сравнительно-эволюционные исследования.

Задание 1. Заполните пропуски в схеме мейоза, используя термины: *зиготена*, *пахитена*, *лептотена*, *диакинез*, *синапсис*, *хиазмы*.

1. _____ → хромосомы начинают конденсироваться
2. _____ → начало _____ гомологичных хромосом
3. _____ → полный синапсис, видны _____
4. _____ → максимальная конденсация бивалентов

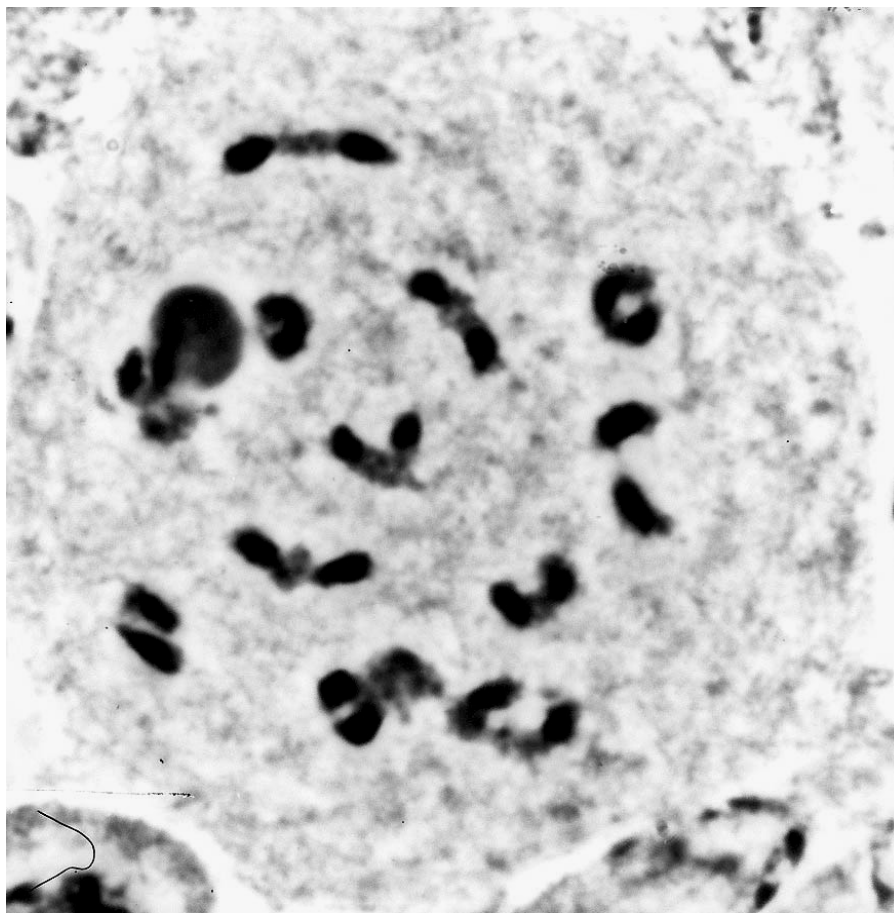
Задание 2. Соотнесите показатели с их значением.

Интерпретация частоты хиазм

Показатели	Значение
1. 0.8–1.2 хиазм/бивалент	А. Норма для большинства растений
2. <0.5	В. Нарушение синапсиса
3. >2.0	С. Гиперрекомбинация

Ответ: _____

Задание 3. Проведите анализ числа хиазм на приведенной ниже пластинке (автор С.Р. Стрельникова).



Задание 4. Рассчитайте частоту хиазм, если в 30 клетках кукурузы обнаружено: 12 бивалентов с 1 хиазмой, 15 бивалентов с 2 хиазмами, 3 бивалента без хиазм.

Решение.

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. На какой стадии мейотического деления начинают формироваться биваленты?
2. Что такое хиазма?
3. Опишите модель мейотического кроссинговера по Холлидею.
4. Во время какой стадии мейоза проводится учет хиазм, и какие требования необходимо соблюдать при его проведении?
5. Что показывает частота хиазм?

Раздел 12. НАРУШЕНИЯ В МЕЙОЗЕ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

Отдаленная гибридизация – скрещивание организмов, принадлежащих к разным видам или родам, – является мощным инструментом в селекции растений и животных, позволяющим сочетать ценные признаки разных таксонов. Однако успешность такой гибридизации во многом зависит от поведения хромосом в мейозе, где даже незначительные различия в геномах родительских форм могут приводить к серьезным нарушениям.

Лабораторная работа № 19 НАРУШЕНИЯ В МЕЙОЗЕ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

Задание 1. Ознакомьтесь с основными типами нарушений в мейотическом делении при отдаленной гибридизации и зарисуйте их.

Типы нарушений

I мейотическое деление (редукционное)	
М I – униваленты (<i>У</i>), мультиваленты (<i>Мв</i>)	
А I – отставание хромосом (<i>От</i>), мосты (<i>М</i>), разделение хромосом на хроматиды (<i>Х</i>)	
Т I – отставание хромосом (<i>От</i>), микроядра (<i>МЯ</i>)	
Интеркинез – микроядра (<i>МЯ</i>)	
II мейотическое деление (эквационное)	
М II – асинхронность (<i>Ас</i>), микроядра (<i>МЯ</i>)	

А II – асинхронность 2-го деления (<i>Ac2</i>), мосты (<i>M</i>), отставание хромосом (<i>От</i>)	
Т II – микроядра (<i>МЯ</i>), мосты (<i>M</i>)	
Тетрады – триады (<i>T</i>), полиады (<i>П</i>), микроядра (<i>МЯ</i>)	

Задание 2. Приготовьте давленные препараты мейоза у отдаленных гибридов и зафиксируйте аномалии мейоза с помощью микрофотонасадки. Вклейте полученные изображения в тетрадь.

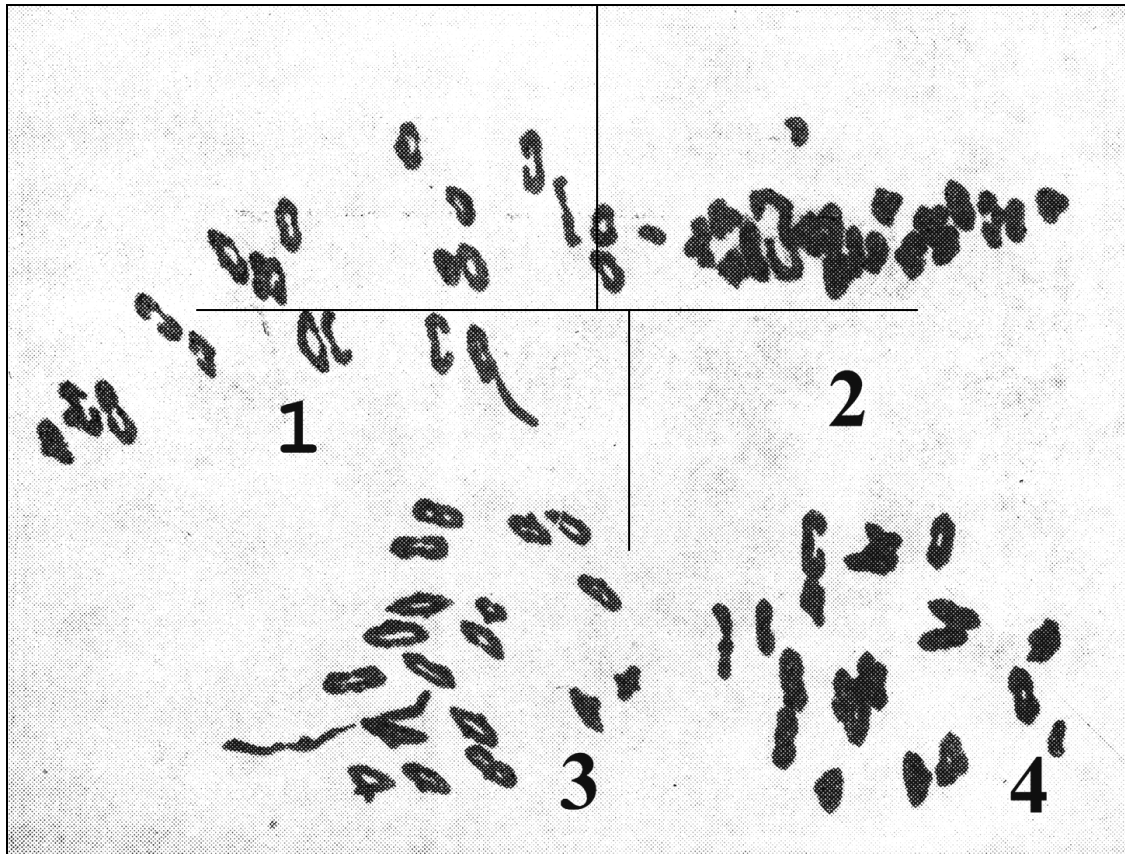
Задание 3. Проанализируйте по 100 клеток, находящихся в стадиях М I, А I и тетрад отдаленного гибрида и занести результаты в таблицу.

Частота нарушений в мейозе отдаленного гибрида

№ пре-парата	Поле зрения	Метафаза I			Анафаза I				Тетрады			
		Норма	У	Мв	Норма	М	От	Совм. 1 и 2	Норма	Три	Пентады	Гексады

Выводы: _____

Задание 4. Проанализируйте метафазные пластинки № 1, 2, 3, 4 (рис. 6). Подсчитайте число хромосом, хиазм и запишите формулу метафазы.



**Рис. 6. Метафазные пластинки отдаленных гибридов пшеницы
(по Ячевской Г.Л. с соавт., 1990)**

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определения следующим понятиям: геном, гомологичные и гомеологичные хромосомы.
2. Что такое конгруэнтные и инконгруэнтные скрещивания?
3. Дайте характеристику типов конъюгации хромосом у отдаленных гибридов по Г.В. Карпеченко.
4. Каковы причины образования унивалентов и мультивалентов у отдаленных гибридов?
5. Что такое истинные и ложные (псевдо-) униваленты, их поведение в М I?
6. Назовите причины образования микроядер.
7. Перечислите стадии, на которых наблюдается асинхронность деления.
8. Что является причинами образования триад и полиад?
9. Как рассчитывается и что показывает мейотический индекс?
10. Как связаны нарушения в мейотическом делении с плодовитостью отдаленных гибридов?

Раздел 13. ХРОМОСОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ

Хромосомные перестройки или аберрации – это изменения структуры хромосом, возникающие спонтанно или под влиянием излучений, химических веществ и т.д. Под действием ионизирующей радиации могут образовываться:

- **Первичные повреждения** (разрывы хроматид и хромосом).
- **Вторичные аберрации** (дицентрики, кольцевые хромосомы, фрагменты).
- **Изохромосомы** (потеря одного плеча с дупликацией другого).

Для учета аберраций применяют:

- **Метафазный метод** (анализ хромосом на стадии метафазы, подходит для выявления мелких делеций и транслокаций).
- **Анафазный метод** (позволяет обнаруживать дицентрики, фрагменты и телоцентрики в движении).

Исследование хромосомных аберраций играет важную роль в селекции сельскохозяйственных культур. Индуцированный мутагенез активно используется для создания новых сортов и гибридов с улучшенными характеристиками, а также для контроля генетической стабильности культур. Получение растений, устойчивых к различным болезням, засухе, холоду, и создание полиплоидных форм являются наиболее распространенными направлениями работ в этой области.

Примерами могут служить такие сельскохозяйственные культуры как ячмень (получены радиомутанты с повышенным содержанием белка), пшеница (выведены короткостебельные формы, устойчивые к полеганию), рис (созданы сорта с укороченным вегетационным периодом), подсолнечник (создан сорт Перверец, один из первых в мире высокомасличных сортов, созданный с применением ионизирующего излучения).

Новым направлением работ является геномное редактирование (CRISPR). Хромосомные аберрации индуцируются при помощи излучений или химических веществ для индукции разрывов ДНК, что облегчает вставку целевых генов.

Для проведения практических работ наибольшую ценность представляют хромосомные перестройки, видимые под микроскопом и поддающиеся строгому учету.

Лабораторная работа № 20 МЕТОДЫ УЧЕТА ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ

Задание 1. Ознакомьтесь с типами хромосомных нарушений, наблюдаемых в митотическом делении и зарисуйте их в таблицу.

Типы хромосомных перестроек в анафазе-телофазе митоза

Перестройка хромосом	Анафаза	Телофаза
1. Одиночный фрагмент		

Перестройка хромосом	Анафаза	Телофаза
2. Двойные фрагменты		
3. Одиночный мост		
4. Двойной мост		
5. Отставшие хромосомы		
6. Кольцевой фрагмент		

Задание 2. Приготовьте давленные препараты корневых меристем проростков семян, обработанных различными дозами мутагенов. Найдите и зафиксируйте на фото перестройки хромосом в анафазе и телофазе. Вклейте полученные изображения.

Задание 3. Определите процент клеток с абберациями и частоту встречаемости различных аббераций хромосом, данные занесите в таблицу.

Учет хромосомных перестроек в корешках растения (доза облучения кр)

№ препара- та	Анафазы нормальные, шт.	Анафазы с нарушениями						
		С фрагментами		С мостами		С отстав. хромос., шт.	Всего, шт.	%
		один., шт.	двойн., шт.	один., шт.	двойн., шт.			

Задание 4. Заполните таблицу, указав типы нарушений и их последствия.

Тип нарушения	Примеры	Последствия для клетки
Повреждение ДНК		
Нарушение митоза		
Окислительный стресс		

Тип нарушения	Примеры	Последствия для клетки
Изменение мембран		

Задание 5. Дайте определения понятиям. Постройте схему хромосомных aberrаций и подпишите их.

Варианты aberrаций:

- Делеция – _____
- Дупликация – _____
- Инверсия – _____
- Транслокация – _____
- Изохромосома – _____
- Дицентрик – _____
- Телоцентрик – _____

Задание 6. Заполните таблицу, указав вещества, влияющие на восстановление хромосом.

Влияние различных веществ на восстановление хромосом

Тип воздействия	Вещества/Условия	Механизм действия
Задерживают		
Способствуют		

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Перечислите типы нарушений, вызываемые радиоактивными излучениями в растительных клетках.
2. Назовите структурные изменения хромосом, возникающие под действием ионизирующей радиации.
3. В чем заключаются процессы репарации ДНК?
4. Какие вещества задерживают процессы восстановления поврежденных хромосом?
5. Какие вещества или условия способствуют восстановлению поврежденных хромосом?
6. В каких случаях радиоактивные излучения приводят к возникновению полиплоидов?
7. Назовите отличия между анафазным и метафазным методами учета хромосомных aberrаций.
8. Что такое изохромосома и каковы причины ее образования?
9. Что такое дицентрики и каковы механизмы их возникновения?
10. Какой из двух методов (анафазный, метафазный) следует избрать для обнаружения телоцентриков, возникающих в результате облучения растений?

Раздел 14. КОСВЕННЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛОИДНОСТИ РАСТЕНИЙ

Определение ploидности (числа наборов хромосом) растений является важной задачей в генетике, селекции и биотехнологии. Полиплоидия – увеличение числа хромосомных наборов – широко распространена у культурных растений и часто ассоциирована с ценными хозяйственными признаками: повышенной урожайностью, устойчивостью к стрессам, крупными размерами органов.

Прямые методы определения ploидности (цитологический анализ хромосом) требуют сложного оборудования и трудоемки. Поэтому косвенные методы, основанные на корреляции между ploидностью и морфологическими, анатомическими или биохимическими параметрами, играют ключевую роль в массовой оценке ploидности растений. Косвенные методы позволяют достоверно предсказывать ploидность растений при соблюдении стандартизированных протоколов измерений.

Лабораторная работа № 21

КОСВЕННЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛОИДНОСТИ РАСТЕНИЙ

Задание 1. Ознакомьтесь с основными характеристиками некоторых косвенных методов определения ploидности растений: по размеру пыльца, числу микропор на экзине пыльца, размеру устьиц, числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц и заполните таблицу.

Метод	Характеристика	Пример для разных уровней ploидности	Преимущества	Ограничения
Размер (диаметр) пыльца				
Число микропор на экзине пыльца				
Размер устьиц				

Метод	Характеристика	Пример для разных уровней плоидности	Преимущества	Ограничения
Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц				

Задание 2. Ознакомьтесь с деталями некоторых уже упомянутых методик и заполните сравнительную таблицу косвенных методов определения плоидности растений.

Метод	Время анализа (мин/образец)	Необходимые реактивы/оборудование	Риск ошибки	Примечания
Измерение размера устьиц				
Анализ диаметра пыльцы				
Подсчет хлоропластов в устьицах				
Анализ числа микропор на экзине пыльцы				
Измерение толщины листа				
Флуорометрический анализ ДНК				

Оценки риска ошибки:

- очень низкий: <5 % погрешности;
- низкий: 5–15 % погрешности;
- средний: 15–25 % погрешности;
- высокий: >25 % погрешности.

Задание 3. Измерьте диаметр пыльцевых зерен у двух форм диплоидных и тетраплоидных томатов, для анализа используйте по 10 пыльцевых зерен. С помощью статистических методов оцените достоверность различий между этими формами. Результаты занесите в таблицу.

Задание 4. Определите число микропор у пыльцы ди- и тетраплоидных форм томата, для анализа используйте по 10 пыльцевых зерен. С помощью статистических методов оцените достоверность различий между этими формами. Результаты занесите в таблицу.

Задание 5. Измерьте длину и ширину 10 устьиц ди- и тетраплоидных томатов. С помощью статистических методов оцените достоверность различий между этими формами. Результаты занесите в таблицу.

Задание 6. Подсчитайте число хлоропластов в 10 замыкающих клетках устьиц ди- и тетраплоидных томатов. С помощью статистических методов оцените достоверность различий между этими формами. Результаты занесите в таблицу.

**Определение достоверности различий ди- и тетраплоидов
по косвенным показателям плоидности**

Показатели	Уровень плоидности	Результаты наблюдений										$\bar{X}_{cp} \pm SE$	t_{ϕ}	+/-
Диаметр пыльцы, мкм	$2n = 2x$													
	$2n = 4x$													
Размер устьиц, мкм: числитель – длина, знаменатель – ширина	$2n = 2x$													
	$2n = 4x$													
Кол-во хлоропластов, шт.	$2n = 2x$													
	$2n = 4x$													

Расчет оценки достоверности различий двух выборок (по парному t-критерию Стьюдента):

1. Для каждой пары (10 пар) значений вычислить разность:

$$d_i = y_i - x_i,$$

где y_i – значение во второй выборке; x_i – значение в первой выборке.

2. Рассчитать среднее значение полученных разностей:

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{n}.$$

3. Рассчитать стандартное отклонение полученных разностей от их среднего значения:

$$s_d = \frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n-1}.$$

4. Рассчитать стандартную ошибку средней разности:

$$SE = \frac{s_d}{n}.$$

5. Рассчитать фактическое значение t -критерия:

$$t_{\text{факт}} = \bar{d} = \frac{\sum d_i}{n} / SE = \frac{s_d}{n}.$$

6. Сравнить полученное значение с t_{05} (при $N = 10$ $t_{05} = 2,2$)

7. Сделать вывод о достоверности различий: при $t_{\text{факт}} > t_{05}$ различия достоверны; в любом другом случае – различия несут существенны на 5 % уровне значимости).

Выводы: _____

Контрольные вопросы и задания

1. Какие методы определения плоидности относятся к прямым, к косвенным?
2. Какой косвенный метод используется для быстрого скрининга?
3. Какой косвенный метод используется для точной диагностики?
4. Опишите методики подготовки материала и приготовления препаратов для определения размеров пыльцы, подсчета числа микропор на пыльцевых зернах, определения размеров устьиц и подсчета числа хлоропластов.
5. Опишите особенности морфологии полиплоидных растений.

Раздел 15. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА

Молекулярная цитогенетика – это современное направление на стыке цитогенетики и молекулярной биологии, которое объединяет методы микроскопического анализа хромосом с технологиями ДНК-диагностики. Она позволяет изучать структурные и численные аномалии хромосом на уровне отдельных генов и нуклеотидных последовательностей, что невозможно при использовании одних лишь классических цитогенетических подходов.

Основными методами молекулярной цитогенетики являются:

1. Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH – Fluorescence In Situ Hybridization). Этот метод позволяет визуализировать конкретные ДНК-последовательности на хромосомах с помощью флуоресцентных зондов. Метод работает с малыми целевыми последовательностями ДНК и применяется для детального анализа отдельных хромосомных участков.

2. Геномная *in situ* гибридизация (GISH – Genomic In Situ Hybridization). Позволяет различать целые хромосомы разных видов в гибридных клетках, т.к. работает с целыми геномами или большими участками ДНК. Метод особенно эффективен для анализа межвидовых гибридов.

3. Сравнительная геномная гибридизация (CGH – Comparative Genome Hybridization). С помощью этого метода возможно обнаружить изменения количества копий генов (CNV – Copy Number Variation) во всем геноме.

4. Мультиплексная FISH (mFISH – Multiplex-FISH) и спектральное кариотипирование (SKY – Spectral Karyotyping). Этот метод позволяет окрасить все хромосомы в разные цвета для выявления сложных перестроек.

5. Оптическое картографирование хромосом. Метод-комбинация микроскопии и секвенирования ДНК, который используется для построения высокоточных карт хромосом.

Задание 1. Заполните сравнительную таблицу молекулярной и классической цитогенетики.

Метод	Преимущества	Ограничения
Классическая		
FISH		

CGH		
SKY/mFISH		

Задание 2. Ознакомьтесь с протоколом проведения гибридизации *in situ* (FISH/GISH).

1. Подготовка материалов

Оборудование:

- термостат (37 °C и 75 °C);
- водяная баня;
- микроскоп с флуоресцентной насадкой;
- центрифуга;
- холодильник (–20 °C).

Реактивы:

- денатурирующий раствор (70 % формамид, 2× SSC);
- ДНК-зонд с флуоресцентной меткой;
- блокирующая ДНК (для GISH);
- ДНК-фрагменты (для контроля);
- детекционные антитела (при непрямом мечении);
- ДНК-контраст (DAPI).

2. Приготовление препаратов

Требования:

- **чистота образца:** отсутствие белковых загрязнений;
- **фиксация:** метанол-уксусная кислота (3:1) или формалин;
- **денатурация ДНК:** 70 % формамид при 75 °C (2 мин);
- **денатурация зонда:** 5 мин при 75 °C, быстрое охлаждение на льду.

3. Гибридизация

- 3.1. Нанести **зонд** на препарат (10–20 мкл/образец).
- 3.2. Накрыть покровным стеклом, запечатать резиновым цементом.
- 3.3. Инкубировать **12–16 ч при 37 °C** (влажная камера).

4. Пост-гибридизационная отмывка

- 4.1. Удалить покровное стекло.

4.2. Промыть в $2\times$ SSC (5 мин, 42 °C).

4.3. Высокострогая отмывка ($0.1\times$ SSC, 10 мин, 60 °C – для FISH).

4.4. Ополоснуть в PBS (Phosphate Buffered Saline – фосфатный буфер).

5. Детекция сигнала

Прямая FISH: анализ под флуоресцентным микроскопом.

Непрямая FISH: инкубация с антителами (30 мин, 37°C), отмывка, контрастирование DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole, 4',6-диамидино-2-фенилиндол – синий флуоресцентный краситель).

6. Анализ результатов

6.1. Учет сигналов флуоресценции (количество, локализация).

6.2. Сравнение с контролем.

Задание 3. Заполните таблицу с требованиями к препаратам для гибридизации *in situ*.

Параметр	Условия	Причина необходимости выполнения условий
Чистота ДНК		
Фиксация		
Денатурация		

Параметр	Условия	Причина необходимости выполнения условий
Контроль pH		

Задание 4. Заполните сравнительную таблицу FISH и GISH.

Критерий	FISH	GISH
Зонд		
Метка		
Применение		
Разрешение		

Задание 5. Ознакомьтесь с методами, основанными на гибридизации нуклеиновых кислот *in situ*: геномной гибридизации – GISH и флуоресцентной гибридизации FISH. Проведите анализ пластинки – выявите рекомбинантные хромосомы, постройте их идиограммы и покажите места обменов, подсчитайте число обменов в среднем на хромосому.

Задание 6. Проведите кариологический анализ пластинки – разложите кариотип, постройте идиограмму и отметьте на ней локализацию зондов при FISH методике.

Контрольные вопросы и задания

1. Какие требования необходимо соблюдать при приготовлении препаратов для гибридизации *in situ*?
2. Дайте определение гибридизации *in situ*.
3. Что такое зонд и как он создается?
4. В чем отличия метода флуоресцентной гибридизации *in situ* – FISH от метода геномной гибридизации *in situ* – GISH?
5. Сравните возможности и ограничения методов молекулярной цитогенетики и методов классической цитогенетики для идентификации и изучения структуры хромосом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пухальский, В.А. Практикум по цитологии и цитогенетике растений: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 110200 «Агрономия» и специальности 110204 «Селекция и генетика сельскохозяйственных культур» / В.А. Пухальский, А.А. Соловьев, Е.Д. Бадаева, В.Н. Юрцев. – Москва: КолосС, 2007. – 197 с.
2. Пухальский, В.А. Цитология и цитогенетика растений: учебное пособие для студ. агрон. спец.; Допущ. УМО вузов РФ по агрон. образ. / В.А. Пухальский, А.А. Соловьев, В.Н. Юрцев; Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева. – М.: МСХА, 2004. – 118 с.
3. Глазко, В. И. Введение в генетику: биоинформатика, ДНК-технология, генная терапия, ДНКэкология, прогеомика, метаболика / В.И. Глазко, Г. В. Глазко; ред. Т.Т. Глазко. – 3-е изд., испр. и доп. – Москва: Курс, 2018. – 656 с.
4. Методы клеточной биологии и цитогенетики: учебное пособие для проведения практических занятий по курсу «Цитогенетика»: / И.Б. Алиева [и др.]; ред. И.И. Киреева; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики. – Москва: Перо, 2018. – 259 с.
5. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений: учеб. пособие для студ. высших учеб. заведений по спец. «Агрономия» / З.П. Паушева. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
6. Общая генетика / Е.А. Вертикова, В.В. Пыльнев, М.И. Попченко, Я.Ю. Голиванов; под редакцией Е.А. Вертикова. – Санкт-Петербург: Лань, 2023. – 112 с. – ISBN 978-5-507-46193-6. – URL: <https://e.lanbook.com/book/339623>
7. Генетика: Учебник для вузов / Н.М. Макрушин, Ю.В. Плугатарь, Е.М. Макрушина [и др.]; под редакцией д. с.-х. н. [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург: Лань, 2021. – 432 с. – ISBN 978-5-8114-8097-5. – URL: <https://e.lanbook.com/book/177828>
8. Баженова, И. А. Основы молекулярной биологии. Теория и практика: учебное пособие для вузов / И.А. Баженова, Т.А. Кузнецова. – 4-е изд., стер. – Санкт-Петербург: Лань, 2025. – 140 с. – ISBN 978-5-507-50519-7. – URL: <https://e.lanbook.com/book/443300>
9. Цаценко, Л. В. Цитогенетика: учебное пособие / Л.В. Цаценко. – Краснодар: КубГАУ, 2020. – 81 с. – ISBN 978-5-907294-45-5. – URL: <https://e.lanbook.com/book/171562>

ГЛОССАРИЙ

Аберрация – разрыв хромосомы или хроматиды, возникающий в результате действия мутагенных факторов.

Автополиплоид – организм, содержащий в клетках несколько хромосомных наборов одного и того же вида.

Аллели – различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках гомологичных хромосом.

Алейроновые зерна (греч. *aleuron* – мука) – твердые протеиновые зерна из запасных белков в клетках семян многих растений.

Алкалоиды – азотистые соли органических кислот, содержащиеся в клеточном соке растений; они бесцветны и выполняют защитную функцию, оберегая растения от поедания животными и заражения грибными и вирусными болезнями.

Аллель доминантный – аллель, наличие которого проявляется в фенотипе.

Аллель рецессивный – аллель, фенотипически проявляющийся только в гомозиготном состоянии и маскирующийся в присутствии доминантного аллеля.

Аллополиплоид – организм, содержащий в клетках хромосомные наборы нескольких видов.

Амилопласты – пластиды (лейкопласты), образующие крахмал и содержащие запасной крахмал. Антибиотики – вещества биологического происхождения, подавляющие рост и развитие или убивающие микроорганизмы.

Амитоз – прямое деление клетки без компактизации хромосом и образования веретена.

Ампликон – внехромосомная единица амплификации.

Амплификатор ДНК (термоциклер) – прибор, необходимый для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР); позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные временные и температурные параметры для каждой процедуры цикла.

Амплификация – увеличение числа копий генов (количества ДНК).

Амплификация ДНК – выборочное копирование определённого участка ДНК.

Амфидиплоиды – эукариотические клетки, содержащие два двойных набора хромосом в результате объединения двух – геномов.

Анафаза – фаза митоза и мейоза, во время которой хромосомы или хроматиды расходятся к полюсам.

Анеуплоидия – измененный набор хромосом, в котором одна или несколько хромосом из обычного набора или отсутствуют, или представлены дополнительными копиями.

Антикодон – последовательность из трёх нуклеотидов в молекуле транспортной РНК, комплементарная кодирующему триплету в молекуле мРНК.

Аппозиция (лат. *appositio* – прикладывание) – рост наложением, утолщение клеточной стенки за счет наслаивания мицелл (волокон) целлюлозы, вырабатываемых протопластом.

Апомиксис – развитие зародыша без оплодотворения.

Ауксины – вещества, гормоны, усиливающие, стимулирующие рост растений.

Аутосома – обычная хромосома, не определяющая пол.

Бактериофаг – вирус бактерий: состоит из ДНК или РНК, упакованной в белковую оболочку.

Банк (библиотека) генов – полный набор генов данного организма, полученный в составе рекомбинантных ДНК.

Бивалент – пара гомологичных хромосом, сблизившихся во время редукционного деления.

Блотинг – перенос молекул ДНК, РНК или белка из геля, в котором проводили электрофорез, на фильтр (мембрану).

Вакуоль – внутриклеточная полость, наполненная жидкими продуктами обмена веществ различных клеточных органоидов.

Вектор для клонирования – любая небольшая плазмида, фаг или ДНК-содержащий вирус животных, в которые может быть встроена чужеродная ДНК.

Вектор – молекула ДНК, способная к включению чужеродной ДНК и к автономной репликации, служащая инструментом для введения генетической информации в клетку.

Веретено деления – комплекс протеиновых нитей, осуществляющих расхождение хромосом к полюсам.

Вирусы – инфекционные агенты неклеточной природы, способные в процессе реализации генетической информации, закодированной в их геноме, перестроить метаболизм клетки, направив его в сторону синтеза вирусных частиц. Вирусы могут иметь белковую оболочку, а могут и состоять только из ДНК или РНК.

Гамета – половая клетка.

Гаметогенез – процесс, в результате которого образуются гаметы.

Гаметофит – половое поколение у цветковых растений, которое имеет гаплоидное (n) число хромосом.

Гаплоид – организм с редуцированным (половинным) для данного вида числом хромосом (n).

Геалоплазма (греч. *gualos* – прозрачный камень, стекло) – основная плазма, матрикс, прозрачное однородное вещество цитоплазмы, в которое погружены органоиды.

Гемизиготность – состояние организма, при котором какой-то ген представлен в одной хромосоме.

Ген – последовательность нуклеотидов в ДНК, единица наследственности.

Генетическая карта – схема расположения структурных генов и регуляторных элементов в хромосоме.

Генетический код – соответствие между триплетами в ДНК (или РНК) и аминокислотами белков.

Генная инженерия – совокупность приемов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы.

Геном – общая генетическая информация, содержащаяся в генах организма, или генетический состав клетки.

Генотип – совокупность всех генов организма.

Ген-регулятор – ген, кодирующий регуляторный белок, активирующий или подавляющий транскрипцию других генов.

Гетерозигота – клетка (или организм), содержащая два различных аллеля в конкретном локусе гомологичных хромосом.

Гетерозиготность – наличие разных аллелей в диплоидной клетке.

Гетерозиготный организм – организм, имеющий две различные формы данного гена (разные аллели) в гомологичных хромосомах.

Гетероплоидия – явление увеличения или уменьшения диплоидного числа хромосом на одну или несколько хромосом.

Гетерохроматин – участки хромосом с постоянно конденсированным хроматином

Гибридизация *insitu* – гибридизация между денатурированной ДНК клеток на предметном стекле и меченной радиоактивными изотопами или иммунофлюоресцентными соединениями одноцепочечной РНК или ДНК.

Гибридизация ДНК – образование в опыте двуцепочечной ДНК или дуплексов ДНК:РНК в результате взаимодействия комплементарных нуклеотидов.

Гибридизация соматических клеток – слияние неполовых клеток, способ получения соматических гибридов.

Гликозилирование – присоединение к белку углеводного остатка.

Голандрическое наследование – наследование, сцепленное с Y-хромосомой.

Гомозигота – клетка (или организм), содержащая два одинаковых аллеля в конкретном локусе гомологичных хромосом.

Гомозиготность – наличие одинаковых аллелей в диплоидной клетке.

Гомозиготный организм – организм, имеющий две идентичные копии данного гена в гомологичных хромосомах.

Гомологичные хромосомы – парные (по морфологии и структуре) хромосомы в диплоидном наборе

Группа сцепления – все гены, локализованные в одной хромосоме.

Делеция – тип хромосомной мутации, при которой утрачивается участок хромосомы; тип генной мутации, при которой выпадает участок молекулы ДНК.

Денатурация – нарушение пространственной структуры молекулы в результате разрыва внутри- или межмолекулярных нековалентных связей.

Диакинез – заключительная стадия профазы мейоза, во время которой компактизация хромосом достигает максимума и биваленты располагаются по периферии ядра.

Дивергенция – термин, обозначающий расхождение хромосом.

Дигибридное скрещивание – скрещивание организмов, различающихся по двум парам альтернативных признаков, например, окраске цветков (белая или окрашенная) и форме семян (гладкая или морщинистая).

Диктиосомы (греч. *Dyktyon* – сеть; *soma* – тело) – элементы аппарата Гольджи, иногда весь аппарат.

Диплоид – особь, несущая в соматических клетках удвоенное число хромосом ($2n$). Образуется при слиянии двух гамет (n) в процессе оплодотворения.

Диплотена – стадия профазы мейоза, во время которой гомологичные хромосомы бивалента в некоторых местах начинают отходить друг от друга

ДНК-полимераза – фермент, ведущий матричный синтез ДНК.

Доминантность – преимущественное проявление только одного аллеля в формировании признака у гетерозиготной клетки.

Доминантный – признак или соответствующий аллель, проявляющийся у гетерозигот.

Дрейф генов – изменение частот генов в ряду поколений, обусловленное случайными событиями митоза, оплодотворения и размножения.

Друзы – кристаллы, сросшиеся одним концом с общим основанием.

Дупликация – тип хромосомной мутации, при которой удвоен какой-либо участок хромосомы; тип генной мутации, при которой удвоен какой-либо участок ДНК.

Зигота – диплоидная клетка, образующаяся в результате слияния мужской и женской гамет.

Зиготена – стадия профазы мейоза, во время которой гомологичные хромосомы располагаются попарно.

Идиограмма – схематическое изображение кариотипа с учетом размеров и морфологических особенностей отдельных хромосом.

Изменчивость – вариабельность (разнообразие) признаков среди представителей данного вида.

Инверсия – поворот какого-либо сегмента хромосомы на 180° , в результате которого порядок расположения генов в хромосоме изменяется на обратный.

Интеркинез – стадия покоя клетки между I и II редукционным делением.

Интерфаза – период между двумя митотическими делениями клетки.

Интрон – некодирующий участок гена, который транскрибируется, а затем удаляется из предшественника мРНК при её редактировании сплайсинге.

Интронированный ген – ген, содержащий интроны.

Интусусцепция – рост внедрением, рост и утолщение клеточной стенки путем внедрения между старыми частями новых частиц (молекул) вещества клеточной стенки, вырабатываемых цитоплазмой.

Кариолимфа – ядерный сок.

Кариоплазма – протоплазма ядра, состоящая из кариолимфы и хроматина.

Кариотип – специфический для данного вида набор хромосом.

Каротин – желто-оранжевый пигмент, содержащийся в пластидах растений; вместе с другими пигментами желтой, оранжевой или красной окраски образует группу каротиноидов.

кДНК – однонитчатая ДНК, синтезируемая *in vivo* по матрице РНК с помощью обратной транскриптазы.

Кинетехор – белковая структура, располагающаяся в центромеры хромосомы.

Клонирование ДНК – процесс получения рекомбинантных молекул ДНК путем встраивания чужеродной ДНК в векторную молекулу ДНК или РНК и введение этой конструкции в фаговые, бактериальные или эукариотические клетки хозяина.

Клонирование клеток – их разделение путём рассева в питательной среде и получение колоний, содержащих потомство от изолированной клетки.

Кодон – тройка расположенных подряд нуклеотидных остатков в ДНК или РНК, кодирующая определённую аминокислоту или являющаяся сигналом окончания трансляции.

Комплекс Гольджи – морфологическая структура клетки, принимающая участие в углеводном и жировом обмене в качестве секреторного аппарата.

Комплементарность – свойство азотистых оснований образовывать с помощью водородных связей парные комплексы аденин-тимин (или урацил) и гуанин-цитозин при взаимодействии цепей нуклеиновых кислот.

Конъюгация хромосом – прилегание гомологичных хромосом друг к другу во время мейоза.

Кристы – гребневидные складки внутренней мембраны у митохондрии.

Кроссинговер – явление обмена участками гомологичных хромосом во время конъюгации при мейозе.

Ксантофилл (греч. xanthos – желтый; phyllon – лист) – желтый пигмент; находится наряду с каротиноидами в хлоропластах и хромопластах.

Лейкопласты (греч. leukos – белый) – бесцветные пластиды, в которых образуется и откладывается вторичный (запасной) крахмал.

Лептотена – стадия профазы мейоза, во время которой хромосомы ядра очень слабо компактизованы и располагаются отдельно друг от друга.

Лигаза – фермент, образующий фосфодиэфирную связь между двумя полинуклеотидами.

Лигнин (лат. lignum – древесина) – органическое вещество, пропитывающее клеточные стенки при одревеснении.

Липкие концы – комплементарные одонитевые участки ДНК, расположенные на концах молекул ДНК.

Липосомы – капельки жидкости, окруженные искусственной мембраной; искусственные липидные везикулы.

Локус – местоположения гена в хромосоме.

Маркерный ген – ген в рекомбинантной ДНК, кодирующий селективный признак.

Мацерация (лат. macerato – размягчение) – разъединение клеток ткани в результате разрушения межклеточного вещества.

Межвидовые гибриды – гибриды, полученные от слияния клеток, принадлежащих к разным видам.

Мейоз – особый тип деления ядра спорогенной клетки, при котором происходит редукция (уменьшение вдвое) числа хромосом, свойственного данному виду.

Мезоплазма (греч. mesos – составляющий середину, средний) – основная масса цитоплазмы, ограниченная от клеточной стенки плазмалеммой и от вакуолей тонопластом.

Меристема – образовательная ткань.

Метафаза – фаза митоза, во время которой хромосомы располагаются в экваториальной плоскости, образуя метафазную пластинку.

Микрогаметогенез – образование спермиев в пыльцевом зерне.

Микросателлит – микросателлитный локус (STR – от английского ShortTandemRepeats): участок ДНК с определённой геномной локализацией, содержащий короткие tandemные повторы.

Митоз – не прямое деление ядра, свойственное меристематическим тканям.

Митохондрии – тельца размером от 10 до 15 нм, находящиеся в цитоплазме и являющиеся основными генераторами внутриклеточной энергии.

Мицеллы (греч. *mykes* гриб) – пучки молекул клетчатки (целлюлозы) как самый малый структурный элемент клеточной стенки растений; пучки мицелл образуют микрофибриллы, затем фибриллы.

Мобильные элементы генома – последовательности ДНК, способные перемещаться внутри генома живых организмов.

Моногибридное скрещивание – скрещивание форм, отличающихся друг от друга по одной паре альтернативных признаков.

Моносомик – индивидуум данного вида, имеющий на одну хромосому меньше.

Морфогенез – осуществление генетической программы развития организма.

Мутагенез – процесс индукции мутаций.

Мутагены – физические, химические или биологические агенты, увеличивающие частоту возникновения мутаций.

Мутация – изменение генетического материала, часто приводящее к изменению свойств организма.

Наследование – процесс передачи генетической информации от одного поколения организмов другому.

Наследственность – свойство организмов обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями, а также повторять определённый тип индивидуального развития.

Нуклеазы – общее название ферментов, расщепляющих молекулы нуклеиновых кислот.

Нуллисомик – организм, у которого оба гомологичных члена одной хромосомной пары отсутствуют ($2n - 2$).

Обратная транскриптаза – фермент, катализирующий реакцию синтеза ДНК на матрице РНК.

Олеопласты (лат. *oleum* – масло оливковое) – бесцветные пластиды (лейкопласты), в которых накапливается масло.

Оператор – регуляторный участок гена (оперона), с которым специфически связывается репрессор (см. репрессор), предотвращая тем самым начало транскрипции.

Оперон – совокупность совместно транскрибируемых генов, обычно контролируемых родственными биохимическими функциями.

Органоиды – постоянные части живой клетки, выполняющие определённые функции в ее жизнедеятельности.

Паренхимные клетки – форма клеток, имеющих более или менее одинаковые размеры в длину, ширину и толщину.

Пахитена – стадия профазы мейоза, во время которой происходит усиленная компактизация хромосом.

Пигменты (лат. *Pigmentum* – окраска, красящее вещество) – вещество различной окраски, имеющиеся в пластидах и клеточном соке растений.

Плазмалемма – внешняя, прилегающая к клеточной стенке мембрана цитоплазмы.

Плаزمида – кольцевая или линейная молекула ДНК, реплицирующаяся автономно от клеточной хромосомы.

Плазмодесмы – цитоплазмальные тяжи, проходящие через поры клеточной оболочки и обеспечивающие связь между цитоплазмами соседних клеток.

Пластиды – мембранные органоиды, находящиеся в цитоплазме растительной клетки.

Плейотропия – явление множественного действия гена. Выражается в способности одного гена влиять на несколько фенотипических признаков.

Полимеразы – ферменты, ведущие матричный синтез нуклеиновых кислот.

Полимерия – взаимодействие неаллельных множественных генов, однопутно влияющих на развитие одного и того же признака; степень проявления признака зависит от количества генов. Полимерные гены обозначаются одинаковыми буквами, а аллели одного локуса имеют одинаковый нижний индекс.

Полипептид – белок, полимер, состоящий из аминокислотных остатков, связанных пептидными связями.

Полипloidия – увеличение всего хромосомного набора по отношению к обычному диплоидному числу $2n$.

Полисомик – организм, у которого диплоидный набор хромосом увеличен на одну или несколько хромосом: $(2n + 1)$ или $(2n + 2)$.

Праймер – короткая олиго- или полинуклеотидная последовательность со свободной 3'-ОН-группой, комплементарно связанная с одонитевой ДНК или РНК; с его 3'-конца ДНК-полимераза начинает наращивать полидезоксирибонуклеотидную цепь.

Признак – особенность строения на любом уровне организации.

Прокариоты – организмы, у которых нет клеточного ядра.

Промотор – регуляторный участок гена (оперона), к которому присоединяется РНК-полимераза для начала транскрипции.

Протеопласты – пластиды, в которых осуществляется синтез простых белков, относятся к группе лейкопластов.

Протопласт – клетка, лишённая клеточной стенки.

Профаза – первая фаза митоза и мейоза

Процессинг – частный случай модификации когда в биополимере уменьшается число звеньев.

Рафиды – пучки (пачки) игловидных кристаллов в растительной клетке.

Регуляция экспрессии генов – контроль над клеточной структурой и функцией, а также основа дифференцировки клеток, морфогенеза и адаптации.

Рекомбинантная молекула ДНК – получается в результате ковалентного объединения вектора и чужеродного фрагмента ДНК.

Рекомбинантная плазмида – плазмида, содержащая фрагмент(ы) чужеродной ДНК.

Рекомбинантный белок – белок, полученный в результате экспрессии с рекомбинантной молекулы ДНК, часто получаемый в кишечной палочке.

Рекомбинация *in vitro* – операции *in vitro*, приводящие к созданию рекомбинантных молекул ДНК.

Рекон – элементарная единица генетической рекомбинации, т.е. минимальный участок генетического материала, в пределах которого возможна рекомбинация.

Ренатурация – восстановление исходной пространственной структуры молекул.

Репарация ДНК – исправление повреждений молекулы ДНК, восстанавливающее её первоначальную структуру.

Репликация – процесс удвоения молекул нуклеиновых кислот.

Репликация – процесс удвоения молекул нуклеиновых кислот.

Репликон – молекула ДНК или её участок, находящиеся под контролем репликатора.

Репрессия – подавление активности генов, чаще всего путём блокирования их транскрипции.

Репрессор – белок или анти смысловая РНК, подавляющие активность генов.

Рестриктазы – группа бактериальных сайт-специфических эндонуклеаз, которые узнают определённые участки ДНК длиной от четырёх и более пар нуклеотидов и расщепляют нуклеотидную цепь внутри участка узнавания или вне его, образуя «липкие» или «тупые» концы.

Рестрикты – фрагменты ДНК, образовавшиеся после её гидролиза рестриктазой.

Рестрикционная карта – схема молекулы ДНК, на которой указаны места разрезания её различными рестриктазами.

Рестрикционный анализ – установление мест расщепления ДНК рестриктазами.

Рецессивность – неучастие аллеля в формировании признака у гетерозиготной клетки.

Рибонуклеазы (РНКа́зы) – ферменты расщепляющие РНК.

Рибосомы – цитоплазматические гранулы, играющие важную роль в белковом синтезе. Их размеры от 5 до 15 нм.

Сайт – участок молекулы ДНК, белка и т.п.

Саузерн блоттинг – метод идентификации участков ДНК, содержащих комплементарные ДНК-зонду последовательности, среди электрофоретически разделённых фрагментов ДНК, фиксированных на твёрдом матриксе (нитроцеллюлозных или нейлоновых фильтрах).

Секвенирование – установление последовательности звеньев в молекулах нуклеиновых кислот или белков (полипептидов).

Селективные среды – питательные среды, на которых могут расти лишь клетки с определёнными свойствами.

Скрининг – поиск в рассевах клеток или фагов тех колоний, которые содержат рекомбинантные молекулы ДНК.

Соматические гибриды – продукт слияния неполовых клеток.

Соматические клетки – клетки тканей многоклеточных организмов, не относящиеся к половым.

Спейсер – в ДНК или РНК-некодирующая последовательность нуклеотидов между генами; в белках – аминокислотная последовательность, связывающая соседние глобулярные домены.

Сплайсинг – процесс формирования зрелой мРНК или функционального белка путём удаления внутренних частей молекул – интронов РНК или интеинов у белков.

Суберин (лат. *Suber* – пробка) – жироподобное вещество, состоящее из глицеринов, феллоновой и пробковой кислот и пропитывающее вторичные оболочки клеток при опробковении.

Сферосомы – мембранные пузырьки (0,1–0,5 мкм) в клетках растений, в которых происходит накопление липидов (масла).

Тапетум – слой клеток, окружающий материнские клетки пыльцы или материнскую клетку зародышевого мешка и передающий им питательные вещества.

Телофаза – заключительная фаза митоза или мейоза, во время которой происходит декомпактизация хромосом и образуется клеточная перегородка.

Тетрады – четыре гаплоидных клетки, которые образуются у цветковых растений в результате мейоза.

Трансдукция – перенос фрагментов ДНК с помощью бактериофага.

Транскрипт – продукт транскрипции, т.е. РНК, синтезированная на данном участке ДНК как на матрице и комплементарная одной из его нитей.

Транскриптаза обратная – фермент, синтезирующий по РНК как по матрице комплементарную ей однонитевую ДНК.

Транскрипция – синтез РНК на ДНК-матрице; осуществляется РНК-полимеразой.

Трансляция – процесс передачи информации о нуклеотидном строении молекулы РНК на аминокислотное строение молекулы белка.

Транспозон – генетический элемент, реплицируемый в составе репликона и способный к самостоятельным перемещениям (транспозиции) и интеграции в разные участки хромосомной или внехромосомной ДНК.

Трансфекция – трансформация клеток с помощью изолированной ДНК.

Трансформация – перенос генетической информации посредством изолированной ДНК.

Тургор (лат. *turgere* – быть набухшим, налитым) – напряженное состояние клеточной оболочки, растягиваемой под давлением на неэпротопласта.

Унивалент – неконъюгировавшая хромосома в мейозе.

Фенотип – внешнее проявление свойств организма, зависящих от его генотипа и факторов окружающей среды.

Ферменты (лат. *fermentus* – закваска, бродильное начало) – биологические катализаторы белковой природы, обладающие большой активностью и специфичностью действия, во много раз ускоряющие все биологические процессы в клетке.

Фитогормон (греч. *phyton* – растение; *hormao* – побуждать, возбуждать) – физиологические вещества, вырабатываемые протопластом, способные диффундировать через клеточную оболочку и усиливать физиологические процессы.

Фитонциды (греч. *phyton* – растение; *caedos* – убивать) – выделяемые высшими растениями летучие вещества, способные убивать или подавлять жизнедеятельность микроорганизмов.

Хиазмы – места соединения хроматид при кроссинговере.

Химеры – лабораторные гибриды (рекомбинанты).

Хроматида – полухромосома.

Хроматин – нитчатые комплексные молекулы дезоксирибонуклеопротеида (ДНП), которые состоят из ДНК, связанной с гистонами.

Хромеры – специфические участки хроматид, различающиеся между собой по величине, форме и содержанию ДНК.

Хромосома – органоид, входящий в состав клеточного ядра.

Целлюлоза (лат. *cellula* – каморка, клетушка) – клетчатка, полисахарид, являющийся главной составной частью стенок (оболочек) растительных клеток.

Центромера – динамический центр хромосомы, осуществляющий ее ориентацию в митозе и мейозе.

Цитокинез – образование клеточной перегородки.

Цитоплазма – содержимое клетки за исключением ядра.

Экзон – сохраняющаяся при сплайсинге часть интронированного гена.

Экзонуклеаза – фермент, гидролизующий фосфодиэфирные связи с концов ДНК.

Эксплантат – выделенный из организма материал какой-либо ткани.

Экспрессия гена – процесс реализации информации, закодированной в гене. Состоит из двух основных стадий – транскрипции и трансляции.

Электрофорез – разделение электрически заряженных полимеров в электрическом поле. Обычно ведется в гелях (гель-электрофорез), чтобы зоны разделяемых молекул не размывались тепловым движением.

Эндомитоз – особый цикл развития ядра, при котором происходит редупликация хромосом внутри неделящегося ядра.

Эндонуклеаза – фермент, гидролизующий фосфодиэфирные связи внутри нити ДНК.

Эндоплазматический ретикулум – часть вакуолярной системы клетки, состоящая из мелких вакуолей и каналов.

Энхансер – регуляторный участок ДНК, усиливающий транскрипцию с ближайшего к нему промотора.

Эпистаз – тип взаимодействия неаллельных генов, при котором один ген подавляет проявление другого (или других) генов.

Эукариоты – организмы, клетки которых содержат ядра.

Эухроматин – основная масса хроматина хромосомы за исключением участков гетерохроматина.

Ядрышко – небольшое округлой формы тельце, находящееся в ядре, но отличающееся от него по своим физико-химическим свойствам. Состоит из ДНК (2–12 %), РНК (5–14 %) и белков.

Учебное издание

ВЕРТИКОВА Елена Александровна
БАЖЕНОВА Светлана Сергеевна
БАРНАШОВА Екатерина Константиновна
СИМАГИНА Анастасия Сергеевна
ОВСЯННИКОВ Вячеслав Владиславович
ВИЛЬХОВОЙ Ян Евгеньевич
СИМАГИН Александр Дмитриевич

ЦИТОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ЦИТОГЕНЕТИКИ

Лабораторный практикум

Под общей редакцией Е.А. Вертиковой

Издается в авторской редакции
Техн. редактор Т.Б. Самсонова

Подписано в печать 15.12.2025. Формат 60×84/8.
Печ. л. 12,75. Тираж 500 экз. Заказ № 654.

Отпечатано в АНО Редакция журнала «МЭСХ»
127412, Москва, ул. Б. Академическая, д. 44, корп. 2, e-mail: t_sams@mail.ru