

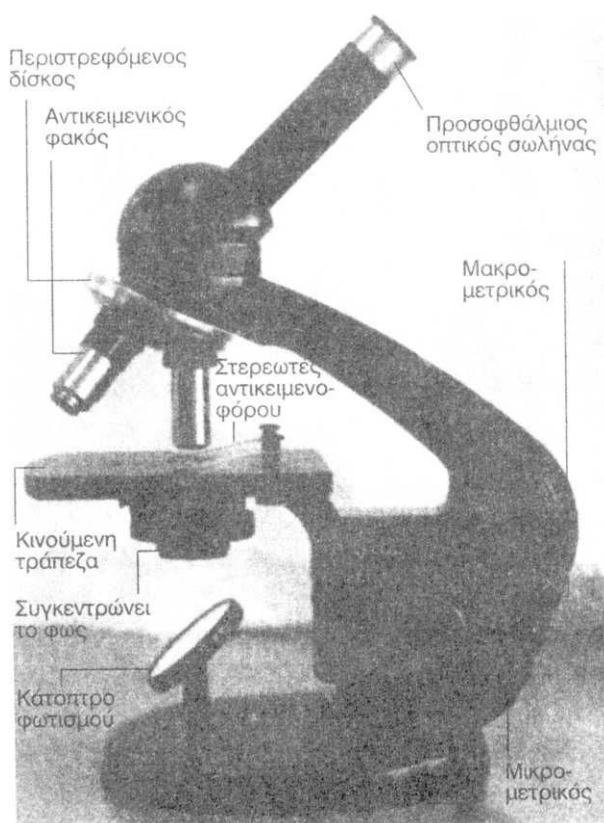
## Εργαστηριακή άσκηση 2: ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΠΥΡΗΝΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΙΔΙΚΗ ΧΡΩΣΗ

### Σκοπός

- Η εξοικείωση των μαθητών με τεχνικές χρώσης νωπών παρασκευασμάτων και παρατήρησης τους στο οπτικό μικροσκόπιο.
- Η παρατήρηση του πυρήνα ζωντανών φυτικών και ζωικών κυττάρων μετά από ειδική χρώση.

### Όργανα και υλικά απαραίτητα για το πείραμα

1. Μικροσκόπιο
2. Αντικειμενοφόρες πλάκες (75 mm x 25 mm).
3. Καλυπτρίδες.
4. Ανατομικές βελόνες (τουλάχιστον δύο).
5. Ανατομικές λαβίδες με λεπτά άκρα.
6. Υδροβολέας ή σταγονόμετρο.
7. Ξυραφάκι ή νυστέρι.
8. Διηθητικό χαρτί σε φύλλα ή ρολό.
9. Ριζόχαρτο αποκλειστικά για τον καθαρισμό των φακών του μικροσκοπίου.
10. Ένας βολβός κρεμμυδιού.
11. Χρωστικές lugol και πράσινο του μεθυλίου.
12. Πλαστικά σταγονομετρικά μπουκαλάκια, για τις χρωστικές.
13. 2 ύαλοι ωρολογίου ή τριβλία rétri διαμέτρου 4-6 cm.
14. Ένας βολβός κρεμμυδιού.
15. Καθαρές οδοντογλυφίδες



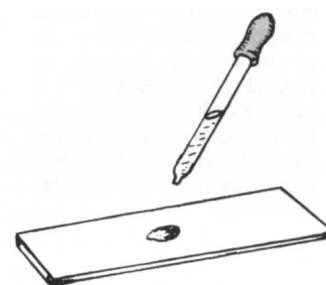
### Σημείωση

Τα υλικά που αναφέρονται παραπάνω με αύξοντα αριθμό από το 1 έως και το 9 θεωρούνται ως υλικά και όργανα μικροσκοπίας.

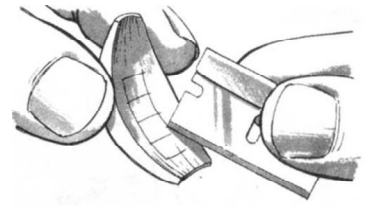
### Γενικές οδηγίες για τη χρήση του μικροσκοπίου

#### Προετοιμασία του παρασκευάσματος

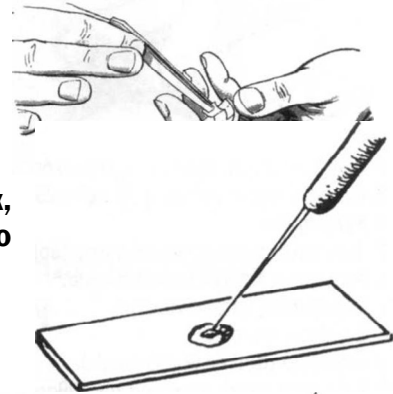
1. Στο κέντρο μιας καθαρής αντικειμενοφόρου πλάκας στάζουμε μια σταγόνα νερού (ή Lugol).



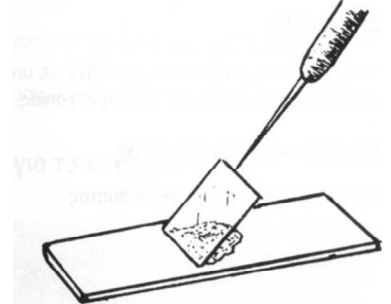
2. Ξεφλουδίζουμε ένα κρεμμύδι, το κόβουμε στη μέση και αφαιρούμε ένα εσωτερικό λευκό χιτώνα. Χαράζουμε, στην εσωτερική του πλευρά, με πολύ κοφτερό ξυραφάκι, επιφάνεια εμβαδού 4-5mm<sup>2</sup> (όσο το νύχι του μικρού μας δακτύλου). Με τη λαβίδα αφαιρούμε το λεπτό υμένα φροντίζοντας να μην παρασύρουμε και ιστό από την κάτω του πλευρά.



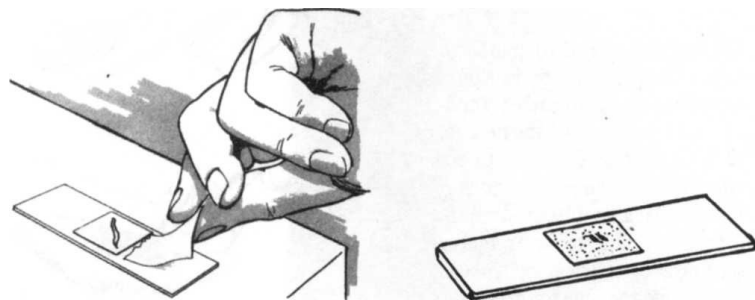
3. Τοποθετούμε το κομμάτι του υμένα στη σταγόνα που έχουμε ήδη ρίξει στην αντικειμενοφόρο πλάκα, προσέχοντας να μην αναδιπλωθεί. Αν αναδιπλωθεί, το ισιώνουμε με τη βοήθεια της ανατομικής βελόνας.



4. Στη συνέχεια, τοποθετούμε την καλυπτρίδα την πιάνουμε από το πλάι με τη λαβίδα. Ακουμπάμε τη μια της ακμή στην άκρη της σταγόνας του νερού με το υπό παρατήρηση υλικό και την κατεβάζουμε προσεκτικά, στηρίζοντας την με την ανατομική βελόνα, ώστε να καλύψει το παρασκεύασμα, χωρίς να δημιουργηθούν φυσαλίδες αέρα.



5. Απορροφούμε με διηθητικό χαρτί (ή με χαρτί κουζίνας) το νερό που βγαίνει έξω από την καλυπτρίδα.



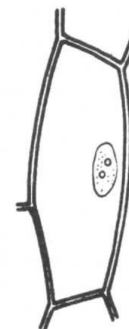
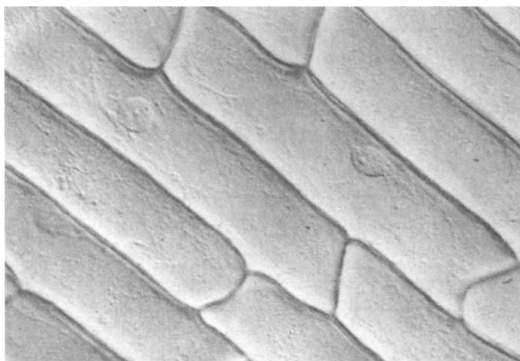
### **Παρατήρηση του παρασκευάσματος στο μικροσκόπιο**

6. Φωτίζουμε το μικροσκόπιο και ελέγχουμε το οπτικό μας πεδίο στη μικρότερη μεγέθυνση. Υψώνουμε το φακό της μικρότερης μεγέθυνσης ή κατεβάζουμε την τράπεζα όσο είναι δυνατόν περισσότερο (για λόγους ασφαλείας υιοθετούμε συνήθως τη δεύτερη διαδικασία).
7. Τοποθετούμε το παρασκεύασμα στην τράπεζα του μικροσκοπίου και κατεβάζουμε με το μακρομετρικό κοχλία



το φακό της μικρότερης μεγέθυνσης πολύ αργά, ή ανεβάζουμε την τράπεζα, έως ότου εστιάσουμε. Ρυθμίζουμε το φωτισμό με τη βοήθεια της ίριδας του μικροσκοπίου ή του ροοστάτη. Όσο προχωράμε σε μεγαλύτερη μεγέθυνση τόσο εντονότερος φωτισμός απαιτείται. Η τελική εστίαση γίνεται με τη βοήθεια του μικρομετρικού κοχλία και με προσεκτικές κινήσεις.

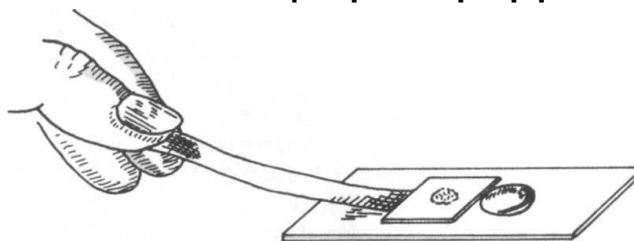
8. Παρατηρούμε τα κύτταρα του κρεμμυδιού. Διακρίνονται το κυτταρικό τοίχωμα, ο πυρήνας και, στο εσωτερικό του πυρήνα, οι πυρηνίσκοι.



9. Αλλάζουμε μεγέθυνση και βάζουμε την αμέσως μεγαλύτερη. Εστιάζουμε ξανά με τον μικρομετρικό κοχλία (τον μακρομετρικό δεν τον χρησιμοποιούμε ξανά). Ο πυρήνας διακρίνεται πλέον σαφώς από το κυτταρόπλασμα, λόγω της πυρηνικής μεμβράνης (την οποία όμως εμείς δεν διακρίνουμε).
10. Επαναφέρουμε το φακό της μικρότερης μεγέθυνσης και μόνο τότε απομακρύνουμε από την τράπεζα του μικροσκοπίου το παρασκεύασμα. Στη συνέχεια ανυψώνουμε το σύστημα των φακών με τον μακρομετρικό κοχλία.

### Σημείωση

- Τα παρασκευάσματά μας πρέπει να είναι λεπτά και διαφανή. Εάν η τομή είναι χοντρή, σημαίνει ότι περιλαμβάνει περισσότερες στιβάδες κυττάρωσης. Σε μια τέτοια περίπτωση η παρατήρηση μας γίνεται στα άκρα του παρασκευάσματος, όπου η τομή είναι συνήθως λεπτότερη.
- Αν το παρασκεύασμα έχει φυσαλίδες, στάζουμε μια-δυο σταγόνες νερού στη μια άκρη της καλυπτρίδας, και απορροφούμε το νερό από την απέναντι πλευρά. Έτσι παρασύρονται οι φυσαλίδες. Σκουπίζουμε το υπόλοιπο νερό με διηθητικό χαρτί.



## Πορεία του πειράματος (παρατήρηση κυττάρων με χρώση)

### Παρατήρηση πυρήνων σε φυτικά κύτταρα

1. Επαναλαμβάνουμε το στάδιο 2 όπως περιγράφηκε παραπάνω.
2. Τοποθετούμε κομμάτι του υμένα που αφαιρέσαμε μέσα στην ύαλο ωρολογίου ή σε τριβλίο rétri, όπου έχουμε προσθέσει σταγόνες πράσινου του μεθυλίου.
3. Το αφήνουμε για 4-5 λεπτά και μετά το βγάζουμε και το ξεπλένουμε με νερό, έως ότου το νερό παραμένει καθαρό.
4. Επαναλαμβάνουμε τα στάδια 1 και 3-9 των οδηγιών για την παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

5. Παρατηρούμε τα κύτταρα του κρεμμυδιού με βαμμένους τους πυρήνες έντονα πράσινους. Αυτό οφείλεται στο ότι η χρωστική που χρησιμοποιήσαμε βάφει επιλεκτικά το DNA και ιδιαίτερα τη νουκλεοπρωτεΐνη.

### Παρατήρηση πυρήνων σε ζωικά κύτταρα

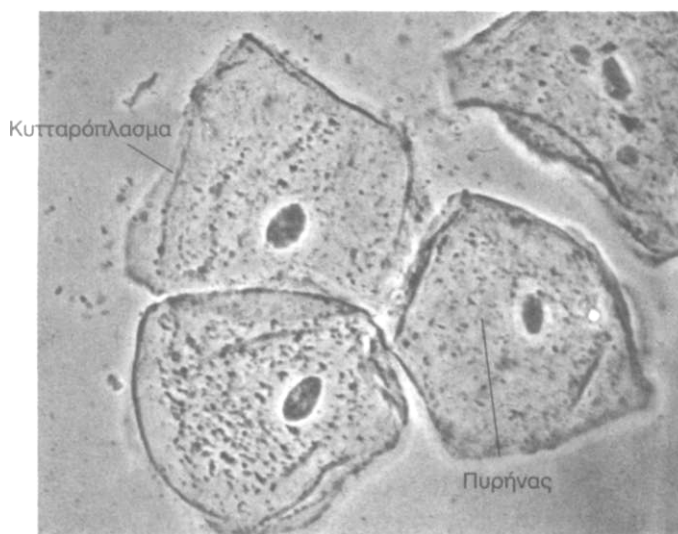
1. Καθαρίζουμε σχολαστικά (σαπουνίζουμε) μια αντικειμενοφόρο πλάκα που χρησιμοποιείται για πρώτη φορά και μετά την απολυμαίνουμε με λευκό οινόπνευμα, ιδιαίτερα στα πλάγια.

2. Ξύνουμε ελαφρά το πάνω μέρος της γλώσσας μας κρατώντας την αντικειμενοφόρο με κλίση προς τη γλώσσα, αφού προηγουμένως έχουμε καταπιεί όσο μπορούμε καλύτερα το σάλιο μας. Στην αντικειμενοφόρο μαζεύεται ένα λευκό υγρό. Για περισσότερη ασφάλεια μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε, αντί για αντικειμενοφόρο πλάκα, μία οδοντογλυφίδα με πλατύ άκρο. Σ' αυτή την περίπτωση ξύνουμε ελαφρά το εσωτερικό μέρος του μάγουλου ή το πάνω άκρο της γλώσσας με το πλατύ άκρο της οδοντογλυφίδας. Σ' αυτό το άκρο παρατηρούμε ότι μαζεύεται ένα λευκό υγρό.

3. Σε μια άλλη καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα έχουμε τοποθετήσει μια σταγόνα νερό. Στάζουμε μια σταγόνα από το λευκό υγρό μέσα στη σταγόνα του νερού και το σκεπάζουμε με καλυπτρίδα (αν υπάρχουν φουσαλίδες, ενεργούμε όπως στο πείραμα 1).

4. Σκουπίζουμε το υγρό που υπάρχει έξω από την καλυπτρίδα.

5. Παρατηρούμε στη μικρή μεγέθυνση τα χαρακτηριστικά των επιθηλιακών κυττάρων της γλώσσας. Εστιάζουμε με την επόμενη μεγέθυνση, οπότε διακρίνεται σαφώς ο πυρήνας.



6. Αυξάνουμε σταδιακά την μεγέθυνση και παρατηρούμε τα κύτταρα στο παρασκεύασμα μας.

7. Επαναλαμβάνουμε την ίδια διαδικασία από την αρχή, με τη διαφορά ότι αντί για νερό στάζουμε μια σταγόνα lugol. Το κύτταρο βάφεται όλο καφέ (βλέπε αντίστοιχο πείραμα με κρεμμύδι).

### Σημείωση

**Πράσινο του μεθυλίου:** Είναι μια χρωστική που αντιδρά ειδικά με τα σύμπλοκα πρωτεΐνη-DNA λόγω των φωσφορικών ριζών του DNA. Για την παρασκευή του ρίχνουμε 2 g σκόνης πράσινου του μεθυλίου (που υπάρχει στο εμπόριο), σε 100ml 50° λευκού οινόπνεύματος. Αν το διάλυμα δε βάφει καλά τον πυρήνα, προσθέτουμε λίγη σκόνη ακόμη. Αν βάφει έντονα και το κυτταρόπλασμα, το αραιώνουμε με λίγο νερό.

**Lugol:** Είναι διάλυμα 1-2g J και 4g KJ σε 100ml H<sub>2</sub>O.

**Εργαστηριακή άσκηση 2:  
ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΠΥΡΗΝΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΙΔΙΚΗ ΧΡΩΣΗ  
ΦΥΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

**Όνοματεπώνυμο:** .....

**Τμήμα:** ..... **Ομάδα:** .....

**Ημερομηνία:** .....

**1. Τι σχήμα έχουν τα κύτταρα του κρεμμυδιού που παρατηρείτε; Σε τι πιστεύετε ότι εξυπηρετεί το κυτταρικό τοίχωμα;**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**2. Σε ποια θέση του κυττάρου βρίσκεται συνήθως ο πυρήνας;**

.....  
.....  
.....  
.....

**3. Ποιο είναι συνήθως το σχήμα του πυρήνα; Ποια η υφή του εσωτερικού του; Πόσοι πυρηνίσκοι υπάρχουν σε κάθε πυρήνα;**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**4. Σχεδιάστε ένα τμήμα του παρασκευάσματος, όπου θα περιέχονται μερικά κύτταρα με τον πυρήνα και τους πυρηνίσκους τους.**

**5. Το γεγονός ότι χρωματίζεται εντονότερα ο πυρήνας του κυττάρου από το υπόλοιπο κύτταρο, τι μπορεί να σημαίνει σε σχέση με τη χημική τους σύσταση και με την ύπαρξη περιβλήματος στην περιφέρεια του (πυρηνικού φακέλου);**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**6. Τα επιθηλιακά κύτταρα της γλώσσας διαθέτουν έντονο εξωτερικό περίβλημα, όπως τα κύτταρα του κρεμμυδιού; Τι σημαίνει αυτό για το κύτταρο;**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**7. Σχεδιάστε μερικά κύτταρα γλώσσας όπως τα παρατηρείτε με το μικροσκόπιο, τοποθετώντας τον πυρήνα και τους πυρηνίσκους, αν τα κύτταρα διαθέτουν από αυτά τα οργανίδια.**

**8. Το πράσινο του μεθυλίου βάφει τις φωσφορικές ομάδες. Γιατί κατά τη γνώμη σας βάφει περισσότερο τον πυρήνα από ότι το κυτταρόπλασμα του κυττάρου;**

.....  
.....  
.....  
.....

**9. Μπορείτε, από τις παρατηρήσεις σας, να υποθέσετε την ύπαρξη διαχωριστικού μέσου μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος; Αιτιολογείστε την απάντησή σας.**

.....  
.....  
.....  
.....