



2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“

Projekto sutarties numeris: **ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261**

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

BIO 221. AUGALŲ SISTEMATIKA IR FIZIOLOGIJA

Laboratorinis darbas

AUGALŲ KRISTALŲ MIKROSKOPINIS TYRIMAS

Kristalai yra augalų šalinamosios medžiagos (ekskretai). Jie susidaro esant tam tikrų medžiagų (pvz., silicio, kalcio) pertekliui augaluose. Kristalai susikaupia įvairiose augalinės ląstelės dalyse, dažnai jų randama vakuolėse. Kristalai gali susikaupti ekskrecinėse ląstelėse, kurių sienelės sukamštėja – taip turinys pašalinamas iš medžiagų apykaitos. Daug kristalų randama lapuose, išoriniuose žvynuose, žievėje. Kuomet augalas numeta lapus, tai tuo pačiu pašalina ir juose esančius kristalus. Dažnai randami kristalai sudaryti iš kalcio oksalato druskos. Būtent ši druska suteikia rūgštų skonį, pvz., rūgštynėms. Kalcio oksalato druskos kristalai gali susidaryti daugelyje augalų, išskyrus melsvadumblius, titnagdumblius, asiūklis. Paprastai įvairiuose augaluose iš kalcio oksalato susiformavę kristalai įgauna tam tikrą formą, pagal tai kristalai esti:

1. **pavieniai stambūs izodiametriniai;**
2. **drūzos** – ją sudaro daug susikaupusių kristalų, kurių telkinys primena dygliuotą kamuolį; drūzos formuojasi palaipsniui, ant tetraedro formos kristalo nusėdant kitiems smulkiems kristalams;

3. **rafidos** – kristalai yra adatėlių formos, jos yra tvarkingai išsidėstę viena prie kitos ir apgaubtos gleivėmis. Ruošiant preparatą mikroskopinei analizei gali būti pažeistas gleivių sluoksnis, tuomet adatėlės pabyra pavieniui. Kadangi rafidos yra aštrios, tai jos taip pat apsaugo augalus nuo įvairių kenkėjų;
4. **stiloidai** – stambūs pailgi durklo pavidalo kristalai;
5. **kristalinis smėlis** – smulkūs grūdelių pavidalo kristalai;
6. **Rozanovo kristalai** – drūza yra apgaubta celiulioziniu sluoksniu, kuris tam tikromis vietomis prisitvirtina prie ląstelės sienelių.

Augaluose taip pat randama kristalų, sudarytų iš kalcio karbonato (ypač daug jų susikaupia tam tikrų dumblių, pvz., maurabragių, ląstelėse) ir kalcio sulfatų. Atitinkamuose augaluose kalcio karbonatai gali sudaryti cistolito pavidalo struktūrą. **Cistolitas** yra sudarytas iš trumpo kotelio ir praplatėjusios dalies, padengtos druskomis. Pati ląstelė, kurioje esti cistolitas, yra padidėjusi. Cistolitai gerai matomi, pvz., kanapės, dilgėlės, fuksijos, fikuso lapuose. Kalcio karbonatas gali kauptis ir tam tikrų medžių (pvz., drebulių, kriaušių) kamienų žaizdų bei branduolinėje medienoje.

Darbo tikslas: išmokti atpažinti įvairias kristalų, randamų augaluose, formas.

Darbo uždaviniai:

1. raskite ir nusipieškite pailgos prizmės formos kristalus valgomojo svogūno (*Allium cepa*) išoriniame lukšte;
2. raskite ir nusipieškite rafidų formos kristalus tradeskancijos (*Tradescantia*) stiebe;
3. raskite ir nusipieškite drūzos formos kristalus begonijos (*Begonia*) lapkotyje;
4. raskite ir nusipieškite cistolito formos kristalus fiko (*Ficus*) lapo epidermyje;
5. savarankiškai nustatykite kokį kristalų tipą radote Jums pateiktose įvairiose augalų dalyse.

Darbo priemonės:

1. šviesinis mikroskopas (Motic, SFC-100),
2. objektiniai stikleliai,
3. dengiamieji stikleliai,
4. indeliai su vandeniu,

5. pipetės vandens lašinimui,
6. skutimosi peiliukai,
7. skalpeliai,
8. pincetai.

Tyrimo medžiaga:

1. valgomojo svogūno (*Allium cepa*) išorinio lukšto gabalėliai, išmirkyti glicerolio ir vandens mišinyje;
2. tradeskancijos (*Tradescantia*) stiebo dalis;
3. begonijos (*Begonia*) lapkočio dalis;
4. fiko (*Ficus*) lapo gabalėlis;
5. Įvairios kitų augalų organų dalys.

Darbo eiga:

I. Kristalų valgomojo svogūno (*Allium cepa*) išmirkytame išoriniame lukšte tyrimas.

1. Užlašinkite vandens lašą ant objektinio stiklelio.
2. Pincetu paimkite svogūno išorinio lukšto gabalėlį ir dėkite jį ant objektinio stiklelio į vandens lašą.
3. Uždenkite dengiamuoju stikleliu. Dengiamasis stiklelis yra labai plonas, todėl imkite atsargiai, kad nesusižeistumėte.
4. Mikroskopuokite preparatą. Iš pradžių naudodami mažąjį padidinimą (objektyvas 10x) sureguliuokite mikroskopą, kad gerai matytumėte bendrą preparato vaizdą, pailgas lukšto ląsteles, jose esančius **pailgos prizmės formos blizgančius kristalus**. Kristalai būna išsidėstę pavieniui arba sukibę po kelis. Jeigu kristalų nematote, tai pakartokite tyrimą, paėmę kitą išmirkyto lukšto gabalėlį.
5. Naudodami didįjį padidinimą (objektyvas 40x) apžiūrėkite lukšto ląstelę, jos sienelės (sienelėse gali būti matomi paprasti langeliai) bei ląstelėje esantį kristalą.
6. Nusipieškite valgomojo svogūno išorinio lukšto ląstelių formą, pažymėkite ląstelės sienelę.
7. Nusipieškite matomų kristalų formą.

II. Kristalų tradescancijos (*Tradescantia*) stiebe tyrimas.

1. Pasiruoškite tradescancijos stiebo skersinio pjūvio preparatą: viena ranka pincetu laikykite tradescancijos stiebo gabalėlį ant objektinio stiklelio, kitoje rankoje turėdami skutimosi peiliuką kiek įmanoma ploniau atpjaukite kelis stiebo skersinio pjūvio gabalėlius.
2. Užlašinkite vandens lašą ant objektinio stiklelio ir pincetu dėkite į jį atpjauto stiebo pjūvius.
3. Uždenkite dengiamuoju stikleliu.
4. Iš pradžių naudodami mažąjį padidinimą apžiūrėkite paruoštą preparatą. Ląstelės, kuriose bus nepažeistas **rafidų** telkinys, atrodys kaip pilkos dėmės. Po to apžiūrėkite kristalus, naudodami didįjį padidinimą. Jei pjaudami pažeidėte rafidas gaubiančias gleives, tai preparate matysite pabirusius pavienius kristalus, kurie atrodo kaip mažos adatėlės – tai pavieniai kristalai rafidos; jei nepažeidėte, tuomet matysite tvarkingai išsidėsčiusių adatėlių pluoštą.
5. Jei kristalų neradote, tuomet pakartokite tyrimą, naudodami naują tradescancijos stiebo dalį.
6. Nusipieškite matytą kristalų vaizdą, įvertinkite ar pjaudami pažeidėte rafidas gaubiančias gleives ar nepažeidėte.

III. Kristalų begonijos (*Begonia*) lapkočije tyrimas.

1. Pasiruoškite begonijos lapkočio skersinio pjūvio preparatą (darbo principas toks pat kaip ir tradescancijos stiebo preparato mikroskopavimui ruošimo): viena ranka pincetu laikykite begonijos lapkočio gabalėlį ant objektinio stiklelio, kita ranka skutimosi peiliuku kuo ploniau atpjaukite kelis lapkočio skersinio pjūvio gabalėlius.
2. Užlašinkite vandens lašą ant objektinio stiklelio ir pincetu dėkite į jį atpjauto lapkočio pjūvius.
3. Uždenkite dengiamuoju stikleliu.
4. Naudodami mažąjį padidinimą apžiūrėkite begonijos lapkočio skersinio pjūvio preparatą. Kristalus aiškiau matysite, naudodami didįjį padidinimą. Judindami mikrosraigą apžiūrėkite **drūzos** formą: jei drūza yra pradinėje formavimosi stadijoje, galite matyti tetraedro formos kristalą; jei drūza labiau susiformavusi, judindami mikrosraigą, matysite į dygliuotą kamuoliuką panašią struktūrą. Tokia forma susidaro dėl to, kad kristalas formuojasi palaipsniui vis nusėdant naujiems druskos gabaliukams ant tetraedro formos kristalo.
5. Jei kristalų neradote, tuomet pakartokite tyrimą, naudodami naują begonijos lapkočio dalį.
6. Nusipieškite matytą kristalų vaizdą.

IV. Kristalų fiko (*Ficus*) lapo epidermyje tyrimas.

1. Fiko lapo gabalėlį išorine puse padėkite ant objektinio stiklelio ir laikykite, prispaudę pincetu. Kita ranka skutimosi peiliuku kuo ploniau statmena kryptimi atjaukite kelis lapo pjūvius.
2. Užlašinkite vandens lašą ant objektinio stiklelio ir pincetu dėkite į jį atpjauto lapo pjūvius. Uždenkite dengiamuoju stikleliu.
3. Mažuoju padidininimu iširkite paruoštą preparatą. Fiko lapui būdingas daugiasluoksnis epidermis, kuris (kaip ir visų augalų) yra bespalvis. Todėl, jeigu gerai atpjovėte preparatą, turite matyti žalią sluoksnį (lapo mezofilį), kurį iš abiejų pusių gaubia skaidrus bespalvis epidermis. **Cistolitų** ieškokite epidermyje. Jie atrodo kaip pilkos dėmės. Jų formą geriau apžiūrėkite, naudodami didijį padidinimą - pati ląstelė, kurioje esti cistolitas, dažniausiai yra padidėjusi; cistolitą sudaro trumpas kotelis ir praplatėjusi dalis, kuri yra padengta druskomis.
4. Jei blogai atpjovėte ar neradote kristalų, pakartokite tyrimą, pasidarydami naują fiko lapo preparatą.
5. Nusipieškite bendrą lapo pjūvio vaizdą, pažymėdami jame epidermį, mezofilį ir cistolitų išsidėtyimą.
6. Nusipieškite detalų cistolito vaizdą.

V. Kristalų pateiktuose pavyzdžiuose savarankiškas tyrimas: savarankiškai išanalizuokite kokius kristalų tipus matote (arba ne) Jums pateiktose augalų organų dalyse.

VI. Aptarimas: rezultatus aptarkite su dėstytoju. Savo preparatus parodykite ir paaiškinkite kitiems laboratoriniame darbe dalyvaujantiems studentams.

Literatūra:

1. J. Dagys. Augalų anatomija ir morfologija. Vilnius: Mokslas, 1985, 350 p.
2. V. N. Isajinas. Botanika. Vilnius: Mintis, 1964, 467 psl.
3. V. Janulis ir kt. Laboratoriniai augalų anatomijos darbai. Kaunas: KMU leidykla, 2001, 64 p.
4. E. Purvinas ir V. Skirgailaitė. Botanika. Vilnius: Mintis, 1975, 365 psl..
5. S. Stašauskaitė. Augalų fiziologijos laboratoriniai ir lauko bandymai. Vilnius: Aldorija, 1999, 415 p.