

צביעת כרומוזומים בזמן חלוקות מיטוזה בתאי שורש של שום למורה, ללברנט ולתלמיד

לצמחים, שלא כמו לבעלי חיים יש במשך כל חייהם כושר גדילה בשני כיוונים מנוגדים, השורשים צומחים אל תוך הקרקע, והנצר - אל מעל לקרקע. גדילה זו מתאפשרת הודות לרקמת המריסטמה¹ המצויה בקודקודי צמיחה שבשורשים ובנצרים. תאי המריסטמה הם תאים בהם מתקיימות חלוקות מיטוזה חוזרות ונשנות והודות לכך האיבר כולו מתארך. בשורש, התאים שנוצרים בחלק התחתון של שכבת המריסטמה מתמיינים לתאי כיפת שורש² המגינים על תאי המריסטמה ואילו התאים שנוצרים בחלק העליון של המריסטמה מתמיינים לתאים באזור ההתארכות (שאינם מתחלקים אלא רק מתארכים).

בפעילות זו מוצגת שיטה לצביעת כרומוזומים בזמן חלוקת מיטוזה.

הקובץ כולל רשימת כלים וחומרים והנחיות הכנה ללברנט, הוראות עבודה לתלמיד, הערות למורה והצעה ראשונית שיתכן ותתאים לעבודת ביוחקר.

תיאור השיטה:

חומר הצבע טולואידין בלו (Toluidine Blue) הוא בעל מטען חיובי, וזיקה מיוחדת לחומצות גרעין. חומצת מימן כלורי (HCl) שאליה מעבירים את פיסות השורש (לתלמיד, סעיף ב) גורמת להרס החומר הבין תאי (בדרך כלל פקטין) מבלי לגרום נזק לדפנות התאים. החומצה גורמת גם למות התאים ובעקיפין להפסקת תהליך המיטוזה. השיטה המתוארת מחליפה את הצביעה שהייתה מקובלת בעבר בצבע אצטו אורצאין, שמסיבות בטיחות הוצא מרשימת החומרים המסופקים.

ללברנט:

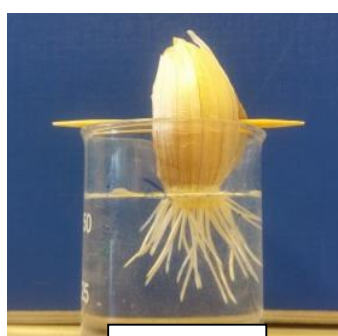
כלים וחומרים לקבוצת תלמידים

- מספרים
- סקלפל (ראו עמוד 3, הוראות בטיחות לעבודה עם סקלפל)
- מלקטת (פינצטה)
- מד טמפרטורה (תרמומטר)
- צלחת לשימוש חד פעמי

¹שדה, א., אמיר, א. "מזרע לזרע" עמ' 47-48, האוניברסיטה העברית בירושלים המרכז להוראת המדעים תשע"א 2011

²גרדי, א., "צומח וצמחים" יחידה 6 עמ' 37 ויחידה 7, עמ' 11-14 הוצאת האוניברסיטה הפתוחה תשנ"ו 1996

- אמבט מים ובו מים בטמפרטורה 60°C . אפשר להכין אמבט בכלי מזכוכית או בכוס לשימוש חד פעמי המיועדת לשתייה חמה ועשויה מקרטון
- משפך עשוי פלסטיק או זכוכית, בקוטר 5-7 ס"מ עם נייר סינון מתאים
- מחט מתקן עם ידית מעץ או עיפרון ללא מחק
- 5 מ"ל תמיסת HCl 1M במבחנה סגורה בפקק או בפרפילם, מסומנת " HCl זהירות חומצה"
- כלי ובו לפחות 50 מ"ל מים מזוקקים (רצוי בקבוק שטיפה)
- 3 מגבות נייר
- כלי פסולת בנפח 250 – 300 מ"ל
- 8 פיסות של נייר סינון (2×10 ס"מ)
- זכוכית נושאת + 2 זכוכיות מכסות
- תמיסת טולואידין כחול בריכוז 1% בבקבוקון כהה עם טפי. הבקבוקון מסומן "טולואידין".
- התמיסה רגישה לאור, ולכן יש להכין אותה בבקבוקון כהה. את הבקבוקון יש לשמור במקרר.
- **הוראות הכנה:** יומיים לפני ביצוע הניסוי יש להכין תמיסה מימית בריכוז 1%.
- יש להשתמש במסכה כדי למנוע שאיפת אבקה להכנת תכשיר אחד להסתכלות במיקרוסקופ
- נדרשות 2-3 טיפות תמיסת טולואידין.
- מיקרוסקופ
- שן שום עם שורשים קצרים
- כ- 3 ימים לפני ביצוע הצביעה יש לתקוע 2 – 3 קיסמי עץ בשן השום (תמונה 1) ולהניח אותה בכוס עם מי ברז, כך שתחתית השן תהיה טובולה במים.
- במשך 3 ימים השורשים צומחים (תמונה 2) וזהו השלב המתאים לביצוע הניסוי.



תמונה 2



תמונה 1

הוראות בטיחות:

- חובה על הלבונט והתלמידים לעבוד עם כפפות ומשקפי מגן.
- **כללי עבודה עם סקלפל:** מומלץ להשתמש בסקלפל עם מכסה או נדן ולסגור את הסקלפל בתום השימוש. אם אין ברשותך סקלפל כזה, יש להכניס את הסקלפל לתוך מבחנה, כך שהלהב יהיה כלפי מטה. לאחר השימוש יש לנגב בזהירות את הלהב כדי להסיר ממנו שאריות שורשים וליבש אותו.

לתלמיד

- א. לרשותכם שן שום עם שורשים ומגבת נייר.
בעזרת סקלפל חתכו שורש בסמוך למקום יציאתו מהשן והניחו אותו על הנייר. באותו אופן חתכו עוד 3-4 שורשים והניחו גם אותם על הנייר.
- ב. על שולחנכם מבחנה ובה תמיסת חומצה HCl. באמצעות המלקטת תפסו בעדינות את השורשים (יש לתפוס כל שורש באמצעו ולא בקצהו) והעבירו אותם אל תמיסת החומצה שבמבחנה. פקקו את המבחנה.
- ג. העבירו את המבחנה לאמבט מים שבו תמיסת חומצה בטמפרטורה 60°C והמתינו 7 דקות.
- ד. קפלו נייר סינון בצורת משפך והניחו אותו בתוך המשפך שברשותכם. הניחו את המשפך מעל כלי הפסולת, ושפכו את תוכן המבחנה, כולל השורשים, אל נייר הסינון שבמשפך.
הוסיפו למבחנה מים מזוקקים וטלטלו קלות את המבחנה כך שאם נשארו בה שורשים הם יעברו אל נייר הסינון.
- שטפו במים מזוקקים עוד שלוש פעמים את השורשים שבנייר הסינון.
- ה. פרשו את נייר הסינון על צלחת לשימוש חד פעמי. באמצעות המלקטת תפסו **בעדינות** את השורשים והעבירו אותם לזכוכית נושאת. אין לתפוס את השורש בקצה אלא רק באמצע.
- ו. התבוננו באחד השורשים וזהו את האזור המחודד של קצה השורש. אזור זה נקרא **"כיפת השורש"**. באמצעות סקלפל חתכו כ-2 מ"מ מהקצה התחתון של השורש. שמרו על הקצה החתוך של השורש והרחיקו מהזכוכית את שאר חלקי השורש.

- ז. חזרו על ההנחיות שבסעיף ו עם 3-4 שורשים נוספים. רכזו את קצות השורשים לאזור אחד במרכז הזכוכית.
- ח. פרשו עוד מגבות נייר על הצלחת, והניחו את הזכוכית הנושאת על הניירות שבצלחת.
- ט. לבשו כפפות:
- על שולחנכם בקבוקון טפי ובו תמיסת צבע "טולואידין כחול". באמצעות הטפי טפטפו טיפה אחת של צבע על קצות השורשים וכסו בזכוכית מכסה.
- י. עליכם למעוך את קצות השורשים. עשו זאת כך:
- באמצעות הקצה הלא מחודד של עיפרון או הקצה האחורי של מחט מתקן, לחצו בעדינות על הזכוכית המכסה.
- יא. המתינו שתי דקות שבמהלכן הצבע יחדור לתאים ויצבע את הכרומוזומים שבגרעיני התאים.
- יב. עליכם לשטוף את עודפי הצבע. עשו זאת כך:
- טפטפו כמה טיפות של מים מזוקקים על קצה אחד של הזכוכית המכסה וספגו את המים בעזרת נייר סופג בקצה השני של הזכוכית. חזרו על הפעולה מספר פעמים עד שכל הצבע העודף יישטף.
- יג. הניחו את הזכוכית על שולחן המיקרוסקופ.
- הסירו את הכפפות וצפו בתאים בהגדלה קטנה של המיקרוסקופ.
- חפשו אזור שבו ניתן להבחין בתאים מרובעים (לא מוארכים).
- יד. העבירו להגדלה בינונית של המיקרוסקופ וחפשו תאים שבהם ניתן להבחין בכרומוזומים בשלבים שונים של חלוקת תא.
- טו. העבירו להגדלה גדולה וציירו תאים אחדים שכל אחד מהם נמצא בשלב אחר של חלוקת התא.

בעמוד הבא, צילום של תאי רקמת מריסטמה בשורש של שום



תאים מרקמה מריסטמטית בשורשי שום, בשלבים שונים של חלוקת מיטוזה
צילום: אסתר ברזילי, המרכז לפיתוח ותמיכה במעבדות ביולוגיה בבתי הספר

הערות למורה

1. על פי תוכנית הלימודים בביולוגיה ([התוכנית המותאמת 2015](#)), ביולוגיה למתמחים, שעודכנה ב-18.7.2017) יש ללמוד את חשיבות חלוקת המיטוזה ואת עקרון החלוקה, אך אין צורך להכיר את שמות שלבי המיטוזה. גם בספר הלימוד מתוארים השלבים³ אך לא צוינו שמם בלועזית.
על פי צורת הכרומוזומים וארגונם בתאים התלמידים יוכלו לזהות ולתאר שלבים שונים של מיטוזה.

³ מתוך, גרוס. ח., עתידה י. (תשס"א 2000). **התא – יחידת החיים**, המרכז להוראת המדעים, האוניברסיטה העברית בירושלים, עמ' 162-168:
"חלוקת המיטוזה היא תהליך רציף, שנהוג לראות בו שלבים מספר בהתאם להערכות הכרומוזומים א. התגלות הכרומוזומים, ב. תנועה למרכז, ג. הפרדה והתרחקות ד. סוף החלוקה."

2. כדי להקל על התלמידים לזהות את שלבי המיטוזה, כדאי להקרין איור או צילום בזמן שהם יתבוננו במיקרוסקופ בתכשירים שהכינו.

3. חשוב להסב את תשומת לב התלמידים שעליהם לזהות את החלק המיוחד של השורש ולחתוך אותו קרוב מאד לקצהו. חיתוך זה יבטיח שהתאים שיבדקו הם אכן אלה של המריסטמה (סעיף ו).
חשוב לשים לב ולהשליך רק את יתרת השורש ולא את הפיסה שנחתכה מהקצה המיוחד.

4. השיטה המתוארת לעיל אינה מתאימה לשילוב בניסוי כמותי. אם ברצונכם לבצע ניסוי כמותי (במסגרת עבודת ביוחקר), מומלץ להנחות את התלמידים שבכל תכשיר מיקרוסקופי שהכינו יבחרו 3 או 4 שדות ראיה, ובכל שדה ראיה יבדקו את כל הפרטים כמפורט בטבלה לדוגמה (שלבי חלוקת מיטוזה כפי שהוזכרו בהערה בעמוד 5).
בניסוי, מומלץ גם להכין יותר מתכשיר אחד בכל טיפול.
היחס באחוזים בין מספר התאים בחלוקה למספר התאים בשדה ראיה בתכשיר הוא [האינדקס המיטוטי](#).
בטבלה המסכמת התלמידים יוכלו להציג את הערך המיטוטי הממוצע בכל טיפול.

אינדקס מיטוטי	מספר כל התאים בחלוקה	מספר תאים בשדה הראיה בשלב.....				מספר כל התאים בשדה הראיה	הטיפול
		סוף החלוקה	הפרדה והתרחקות	תנועה למרכז	התגלות הכרומוזומים		

5. בסעיף זה מוצג רעיון הקשור לשיטת הצביעה והתבוננות במיקרוסקופ בתאים מרקמה מריסטמטית של שורש שום. המורה יוכל לפתח את הרעיון, לבצע ניסוי מקדים ולבדוק עם תלמידיו את ההיתכנות של הרעיון שנבחר לביוחקר.
תזכורת: לפני ביצוע ניסוי כלשהו, חובה על המורה לבדוק את הוראות הבטיחות הרלוונטיות כפי שפורסמו באתר מפמ"ר ולעבוד רק על פיהן.

אפשר לבדוק בניסוי השפעה של ריכוזים שונים של תמיסת אוקסין אקסוגני⁴ על צמיחה של שורש או נצר ממין מסוים. את הצמיחה אפשר לחשב על פי האורך הסופי של הרקמה פחות האורך ההתחלתי שלה. על פי הספרות, בטווח ריכוזים מסוים האוקסין מעודד צמיחה ובטווח אחר הוא מעכב צמיחה⁵. על פי ההצעה בסעיף 4 לעיל אפשר להכין תכשירים מיקרוסקופיים מאזור המריסטמה של שורש או גבעול ששהו בריכוזים שונים של אוקסין. על פי התוצאות שיתקבלו מהסתכלות מיקרוסקופית ניתן יהיה לחשב את האינדקס המיטוטי בכל טיפול. בעוד שמדידת הצמיחה מתמקדת באורגניזם השלם, הרי שחישוב האינדקס המיטוטי היא "מדידה" ברמת התא. שתי הדרכים למדידת המשתנה התלוי משלימות זו את זו.

למידע נוסף מומלץ לצפות בסרטון [עקרונות גדילת צמחים](#).

⁴ וההנחה היא שהריכוז האנדוגני של כל השורשים שנבדקים הוא זהה
⁵ בכר, ח., ברנהולץ, ח. (תשס"א 2000) **תקשורת ויסות ותיאום ביצורים חיים**, המרכז להוראת המדעים, האוניברסיטה העברית בירושלים, עמ' 224