

Herstellung von Mitosestadien bei Pflanzen am Beispiel von *Allium cepa*, Alliaceae

1 Aufgabenstellung

Fertigen Sie mit Hilfe der Zwiebelwurzelspitzen Mikropräparate an, bei denen die unterschiedlichen Stadien der Mitose zu sehen sind.

2 Vorbereitung und Fixierung

Geräte und Chemikalien:

Zwiebeln aus biologischem Anbau oder Zwiebelsamen

Petrischalen zur Anzucht

Erlenmeyerkolben zur Anzucht

Wurzelspitzen

Schnappdeckelgläser

Pinzette

Bleistift und Papier zur Beschriftung der Proben

Eis

frisch angesetzte Carnoy'sche Fixierungslösung (3 Teile Ethanol und 1 Teil Essigsäure)

8 – Hydroxychinolin (gesättigte Lösung)

Zeitmesser

<p>Die Zwiebelwurzeln, die für das Experiment benötigt werden, befinden sich nicht im „Schulkoffer Cytologie“, sondern müssen selbst herangezogen werden!</p>
--

Eine Woche vorher

Arbeitsschritte:

1. Möglichkeit:

- **Anzucht der Wurzelspitzen an Zwiebelsamen**
- Zwiebelsamen im Baumarkt kaufen und auf Filter- oder Küchenpapier in einer Petrischale (oder Ähnlichem) aussäen und mit Wasser befeuchten
- ständig feucht halten
- austrocknen vermeiden
- nach ungefähr 5 Tagen haben sich Wurzelspitzen entwickelt, die geerntet werden können

2. Möglichkeit:

- **Anzucht der Wurzelspitzen an Zwiebeln**
- Zwiebeln aus biologischem Anbau kaufen
- Erlenmeyerkolben mit Wasser füllen und Zwiebel darauf setzen, so dass die Zwiebel sich kurz über dem Wasser befindet
- Wasser nachfüllen, wenn welches verbraucht wurde
- nach ungefähr 1 Woche Wurzelspitzen zu sehen, die geerntet werden können

1. Tag

Arbeitsschritte:	Erläuterungen/Hinweise:
morgens ernten der blassen durchsichtigen Wurzelspitzen (max. 1cm)	größte Teilungsaktivität
Aufbewahrung in mit Wasser gefüllten Schnappdeckelgläsern (bei viel Dreck 1x das Wasser wechseln)	Entfernung von Dreck und Erdresten
Zettel mit Bleistift beschriften und ins Schnappdeckelglas geben	Bleistift benutzen, da er nicht verwischt im Wasser
24stündige Lagerung auf Eis	in der Teilungsphase, in der sie sich jetzt befinden, werden sie vorfixiert

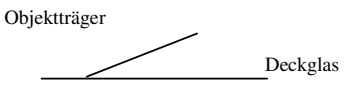
2. Tag

Arbeitsschritte:	Erläuterungen/Hinweise:
nach der 24stündigen Lagerung auf Eis, werden die Proben 15min bei Zimmertemperatur erwärmt	
entfernen des Wassers aus dem Schnappdeckelglas und Zugabe der jeweiligen Fixierungslösung	
Zwei Fixierungsmöglichkeiten: 1. - 2 stündige Lagerung in 8-Hydroxichinolin - 8-Hydroxichinolin wegkippen und Zugabe der Carnoy'schen Lösung - Carnoy'sche Lösung erneut wechseln - Wurzelspitzen sind fixiert 2. - Zugabe der Carnoy'schen Lösung - Carnoy'sche Lösung wechseln - Wurzelspitzen sind fixiert	1. a) Zerstörung der Spindelfasern b) Anreicherung von Metaphasen c) Voranschreiten der Kondensation bei allen Zellen und Auflaufen in der Metaphase 2. gesamter Zellzyklus der Mitose wird sichtbar
Lagerung mehrere Wochen im Kühlschrank möglich	

3 Herstellen der Präparate

Geräte und Chemikalien:

4%ige Ammoniumeisen (III)sulfat-Lösung
Blockschälchen
Einmalhandschuhe
Filterpapier
Pinzette
Skalpell
feuerfester Tiegel mit Tiegelzange
tragbarer Spiritusbrenner und Feuerzeug/Streichhölzer
45%ige Essigsäure
Objektträger und Deckgläser
Färbungslösung: Hämatoxilin

Arbeitsschritte:	Erläuterungen/Hinweise:
- 5-6 der fixierten Wurzelspitzen aus dem Schnappdeckelglas entnehmen und auf dem Filterpapier <i>kurz</i> trocknen	überschüssige Carnoy'sche Lösung wird beseitigt
- Wurzelspitzen 1min 30s in der 4%igen Ammoniumeisen(III)sulfat-Lösung (im Blockschälchen) einlagern und danach erneut <i>kurz</i> trocknen	Erhöhung des Kontrastes bei Färbung mit Hämatoxilin
- Wurzelspitzen werden in den Keramiktiegel zusammen mit der Färbelösung Hämatoxilin gegeben, so dass alle Spitzen bedeckt sind	Färbung der Chromosomen
- mit der Tiegelzange wird der Tiegel über den Spiritusbrenner gehalten und der Inhalt kurz aufgeköcht	Mazeration des Gewebes, das Gewebe wird gelockert/zerstört VORSICHT! - Lösung spritzt leicht raus
- nach dem Aufkochen Zugabe von 45%iger Essigsäure in gleichem Volumen wie Färbelösung	Überfärbung der Chromosomen wird verhindert
- einzelne Wurzelspitze wird auf einen Objektträger gelegt - 1-2mm des dunkel gefärbten Teils der Spitze mit dem Skalpell abschneiden und Zugabe von einem Tropfen 45%ige Essigsäure	geringe Menge abschneiden, da sonst Überlagerung der Zellen möglich
- Deckglas vorsichtig auf das Objekt legen <div style="text-align: center;">  <p>Objektträger</p> <p>Deckglas</p> </div>	Vermeidung von Luftblasen
- vorsichtiges klopfen mit der Pinzette auf dem Deckglas, so dass sich die Zellen verteilen	Spreitung der Zellen
- mehrere Lagen Filterpapier auf Deckglas legen - mit dem Daumen fest auf das Präparat drücken	-Quetschpräparat - Achtung , dass das Deckglas nicht verrutscht!
- Betrachten des Präparates unter dem Mikroskop	

Weiterführende Informationen zur Mitose im Internet unter:

www.eduvinet.de/mallig/bio/Repetito/Mitose1.html

www.lehrer-online.de/url/mitose-meiose

<http://www.botanik.univie.ac.at/pershome/loidl/kursunter1/Genmol05.pdf>

<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d09/09a.htm>

http://www.lo-net.de/group/Material/mitose_1/mitose1.html