Лабораторна робота № 10

**Тема:** **«ОСНОВИ ЕМБРІОЛОГІЇ: СТАТЕВІ КЛІТИНИ, ЗАПЛІДНЕННЯ»**

**Мета:** розглянути під мікроскопом і вивчити будову чоловічих і жіночих статевих клітин. Усвідомити особливості їх будови у зв'язку з їхньою функцією як носіїв генетичної інформації. На прикладі ембріонального розвитку жаби вивчити особливості дроблення. Усвідомити процеси які відбуваються на етапах бластуляції та гаструляції.

**Обладнання:** мікроскоп, гістологічні препарати, таблиці.

**Питання для самопідготовки:**

1. Статеві клітини.
2. Гаметогенез.
3. Етапи запліднення.
4. Дроблення.
5. Утворення бластули. Епібласт та трофобласт.
6. Гаструляція. Утворення зародкових листків.

**Основна література:**

1. Александровская О.В., Радостина Т.Н. Цитология, гистология и эмбриология. –М.: Агропромиздат, 1987.- 205с.
2. Антипчук Ю.П.. Гистология с основами эмбриологии.- М.: Просвещение, 1983.- 265с.
3. Алмазов И.В., Сутулов Л.С. Атлас по гистологии и эмбриологии. — Москва. - Медицина, 1978.
4. Антипчук Ю.П. Практикум з гістології з основами ембріології. — К.: Виша школа, 1978.
5. Волкова О.В., Елецкиц Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. Москва: Медицина, 1982.
6. Гилберт С. Биология развития. Т. 1-3. — Москва: Мир, 1993-1995.

**ХІД РОБОТИ:**

Завдання 1. **Сперматозоїди морської свинки.**

Препарат: сперматозоїди морської свинки.

Забарвлення: гематоксилін.

Збільшення х 40.

Мале збільшення: можна розгледіти велику кількість сперматозоїдів. Деякі з них склеїлися і тому здається, що один сперматозоїд містить декілька хвостів.

Велике збільшення: роздивитися деталі будови сперматозоїда. Сперматозоїд має голівку грушоподібної форми, шийку та хвостик. У голівці міститься ядро, яке оточено тонким шаром цитоплазми. У передній частині голівки знаходиться акросома. Вона має вигляд клубочка, забарвленого у темний колір. Шийка у своїй цитоплазмі містить дві центріолі, які мають вигляд темних крапок.

Замалювати у альбом декілька сперматозоїдів та зробити наступні позначення:

1 – головка сперматозоїда

2 – акросома

3 – ядро

4 – шийка сперматозоїда

5 – хвостик сперматозоїда

Завдання 2. **Розвиток чоловічих статевих клітин.**

Препарат: зріз сім’яника білого пацюка.

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення: х 40.

Для виготовлення препарату яєчко білого пацюка фіксують сумішшю Ценкера. Роблять зрізи крізь центр яєчка. Забарвлюють гематоксиліном та еозином.

Мале збільшення: у полі зору знаходяться поперечні зрізи звивистих канальців. Вони мають округлу форму з просвітом посередині. Кожний каналець оточений сполучнотканинною оболонкою, яка переходить у базальну мембрану канальця (на препараті не помітна). У різних канальцях можна побачити статеві клітини, які знаходяться на різних етапах сперматогенезу (хвилеподібне дозрівання статевих клітин).

Велике збільшення: безпосередньо на базальній мембрані знаходяться клітини Сертолі (фолікулярний епітелій). Контури цих клітин майже непомітні через велику кількість статевих клітин, але добре помітні ядра овальної, трикутної або конусоподібної форми, хроматину мало. Ці клітини розширеним кінцем знаходяться на базальній мембрані, а верхівкою спрямовані до просвіту канальця. Вони утворюють численні цитоплазматичні відростки, у комірках яких розвиваються статеві клітини. Безпосередньо біля основи клітин Сертолі знаходяться сперматогонії. Ядра цих клітин маленькі, темно забарвлені. Серед цих клітин можна часто помітити фігури мітозу. Наступні один-два шари займають сперматоцити І порядку. Вони містять крупні ядра, які знаходяться на стадії редукційного поділу. Над сперматоцитами І порядку розташовуються сперматоцити ІІ порядку та сперматиди. Ці клітини містять дрібні ядра. У самого просвіту канальця знаходяться сперматозоїди, які обернені хвостиками до просвіту канальця. Інколи помітно, що головка сперматозоїда занурена у цитоплазму клітин Сертолі.

Замалювати у альбом декілька зрізів канальців на різних етапах сперматогенезу та зробити наступні позначення:

1 – сполучнотканинна оболонка канальця

2 – клітини Сертолі

3 – сперматогонії

4 – сперматоцити І порядку

5 – сперматоцити ІІ порядку

6 – сперматида

7 – сперматозоїд

8 – просвіт канальця

Завдання 3. **Розвиток яйцеклітини в яєчнику ссавця.**

Препарат: яєчник ссавця

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення: х 40.

Препарат фіксують суміщу Ценкера. Розрізають яєчник по довгій вісі навпіл та роблять зрізи таким чином, щоб отримати і периферичну і центральну частину. Фарбують гематоксиліном та еозином.

Мале збільшення: зовні яєчник вкритий білковою оболонкою. Поверх білкової оболонки розташований зачатковий епітелій. Це шар кубічних або плоских клітин, з яких у ембріональному періоді утворюються первинні статеві клітини. Яєчник складається з кіркової та мозкової речовини. У кірковій речовині розташовані фолікули на різних стадіях розвитку. Всередині фолікула розташовується яйцеклітина.

Мозкова речовина представлена сполучною тканиною з судинами та нервами. Знайти почергово первинний, вторинний та третинний фолікули і роздивитися їх на великому збільшені.

Велике збільшення: роздивитися детальну будову фолікулів на різних стадіях розвитку.

*Первинний фолікул* розташовується у самих поверхневих ділянках кіркової речовини. Такий фолікул утворюється однієї клітиною – яйцевою з добре вираженим ядром округлої форми та глибками хроматину. Яйцеклітина оточена одним шаром плоских фолікулярних клітин. По мірі дозрівання фолікула, він просувається у строму яєчника.

*Вторинний фолікул.* Яйцеклітина має більші розміри, оточена товстою оболонкою, яка забарвлюється у рожевий колір (прозора зона). Фолікулярні клітини розташовані у декілька шарів. Вони мають кубічну або циліндричну форму та утворюють багатошаровий фолікулярний епітелій. Зовні фолікул оточений сполучнотканинною оболонкою – оболонка теки. У деяких фолікулах між фолікулярними клітинами та яйцеклітиною є щілина, заповнена рідиною (на препараті – прозора смужка).

*Третинний фолікул* (Граафов пухирець). Має дуже великі розміри. Яйцеклітини розташована ексцентрично. Центральну частину фолікула займає порожнина. Фолікулярні клітини оточують яйцеклітину та формують променистий вінець. Біля однієї стінки фолікула фолікулярні клітини формують місток, який з'єдную яйцеклітину та стінку фолікула – яйценосний горбок. На периферії фолікула фолікулярні клітини розташовані у декілька рядів.

Замалювати у альбом частину яєчника з фолікулами на різних стадіях розвитку та зробити наступні позначення:

1 – оболонка яєчника

2 – кіркова речовина

3 – мозкова речовина

4 – первинний фолікул

5 – вторинний фолікул

6 – Граафов пухирець

7 – яйцеклітина

8 – прозора оболонка

9 – променистий вінець

Завдання 4. **Запліднення яйцеклітини кінської аскариди**

Препарат: запліднення яйцеклітини кінської аскариди

Забарвлення: залізний гематоксилін.

Збільшення: х 40.

Мале збільшення: у полі зору видно окремо лежачі яйцеклітини, між якими знаходяться сперматозоїди. Сперматозоїди дрібні, мають трикутну форму.

Велике збільшення: розгледіти різні стадії проникнення сперматозоїда. Знайти яйцеклітину, на поверхні якої знаходиться сперматозоїд, при цьому поверхня утворює сприймаючий горбок. Знайти яйцеклітину, до середини якої вже проник сперматозоїд. У цьому випадку можна помітити оболонку запліднення. У середині цитоплазми яйцеклітини сперматозоїд приймає вигляд нечітко відмежованого тільця, у якому помітні темно забарвлені хромосоми

Замалювати у альбом яйцеклітини та сперматозоїди на різних стадіях запліднення та зробити наступні позначення:

1 – яйцеклітина

2 – сперматозоїд

Завдання 5. **Дроблення яйцеклітини жаби.**

Препарат: меридіанний зріз ікринки жаби на стадії 2, 4 або 8 бластомерів.

Забарвлення: гематоксилін та пікрофуксін.

Збільшення: х 8.

Мале збільшення: розташувати препарат анімальним полюсом догори (пігментний полюс).

Перша та друга борозна ділення проходять меридіанно від анімального полюсу до вегетативного, поділяючи яйцеклітину на 4 однакові клітини. Через перевантаження вегетативного полюсу яйцеклітини жовтком, борозни ділення просуваються від анімального до вегетативного полюсів поступово. Третя борозна проходить по екватору та поділяє ікринку не мікромери (анімальний полюс) та макромери (вегетативний полюс). З цього часу ділення стає нерівномірним.

На препараті може зустрітися різна картина у зв’язку з тим, що для виготовлення препарату використовують ікринки на стадії 2, 4 та 8 бластомерів та не всі бластомери потрапляють у площу зрізу. Якщо видно тільки два бластомери, відділені один від одного меридіанною борозною – це стадія 2-х або 4-х бластомерів. Якщо на зрізі на анімальному полюсі 2 мікромери, на вегетативному 2 макромери – це стадія 8-ми бластомерів.

Зверніть увагу на пігментацію анімального полюсу та розміри мікро- та макромерів.

Замалювати у альбом яйцеклітину жаби на стадії дроблення та зробити наступні позначення:

1 – анімальний полюс

2 – мікромери

3 – вегетативний полюс

4 – макромери

5 – борозна ділення

**Питання для контролю:**

1. З яких етапів складається запліднення?

2. Чим відрізняється сперматогенез та овогенез?

3. Як відбувається бластуляція?

4. Які процеси відбуваються під час гаструляції?