



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **131401** (13) **U**  
(51) МПК (2018.01)  
**A01G 7/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2018 08234</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>25.07.2018</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.01.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.01.2019, Бюл.№ 1</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Березенко Катерина Сергіївна (UA), Палій Андрій Павлович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>Березенко Катерина Сергіївна, вул. Алчевських, 44, каб. 115, м. Харків, 61002 (UA), Палій Андрій Павлович, вул. Шкільна, 11, кв. 15, сел. Куличинці, Харківський р-н, Харківська обл., 62404 (UA)</b></p>
---	--

## (54) СПОСІБ ФІКСАЦІЇ ТА ПІДГОТОВКА ДО ВИГОТОВЛЕННЯ ПОСТІЙНИХ МІКРОПРЕПАРАТІВ МОЛОДИХ ОРГАНІВ РОСЛИН

### (57) Реферат:

Спосіб фіксації та підготовка до виготовлення постійних мікропрепаратів молодих органів рослин включає стадії фіксації рослинних тканин, зневоднення їх в апротонних розчинниках, заливки у парафінові блоки. Об'єкт занурюють у фіксуючу рідину, при цьому скорочують час зневоднення об'єктів в етанолі, суміші етанолу з бутанолом, бутанолі, суміші бутанолу з ксилолом, чистому ксилолі, заливвають об'єкт 80 % етанолом, зневоднюють його та заливвають у парафінові блоки, використовуючи металеві кутники.

UA 131401 U



Дана корисна модель належить до ботаніки і може бути використана для виготовлення анатомічних мікропрепаратів пагонів рослин, які потім можуть вивчатися під світловим мікроскопом для наукових досліджень та на лабораторних заняттях з анатомії рослин у школах, технікумах та вищих навчальних закладах.

5 Відомими аналогами даної методики фіксації тканин та органів живих організмів, виготовлення постійних мікропрепаратів з тваринних тканин є Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. - М.: Мир, 1969. - 625 с, Буданцев А.Ю. Основы гистохимии: Учебное пособие (компьютерный вариант). - Пушино: Пушинский гос. ун-т, 2008.

10 Найближчий аналог способу виготовлення постійних мікропрепаратів з рослинних тканин, який було взято за основу, також описано у літературі (Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. - М.: Колос, 1980. - 304 с; Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. - М.: Высш. Школа, 1960. - 205 с). Ці методики вимагають витрат великої кількості робочого часу, реактивів та електричної енергії. Наша методика дозволяє скоротити час роботи над деякими операціями до 10-15 хвилин замість кількох годин. Метод надає можливість використовувати меншу кількість реактивів для об'єктів невеликого розміру (5-10 мл), що є більш раціональним, замість

15 попередньо запропонованих методів перекладання об'єкту з розчину у розчин. Це може призвести до швидкого забруднення реактивів у великій кількості, що погіршує результат, та є великий ризик втрати об'єкту, розміри якого можуть становити менше 5 мм завдовжки. У методі використовуються реагенти, які є найбільш доступними для придбання у спеціалізованих магазинах. Таким чином, опанування цієї методики є можливим не лише для науковців, що

20 займаються вивчення анатомії та морфології рослин, але й навіть для студентів під час проведення різноманітних лабораторних занять як з дисциплін ботанічного циклу, так і на заняттях з основ мікроскопічної техніки.

25 Технічна задача. Фіксація та підготовка для подальшого виготовлення постійних мікропрепаратів органів та тканин рослин.

Поставлена задача вирішується тим, що включає стадії фіксації рослинних тканин, зневоднення їх в апротонних розчинниках, заливки у парафінові блоки, згідно з корисною моделлю, об'єкт занурюють у фіксуєчу рідину, при цьому скорочують час зневоднення об'єктів в етанолі, суміші етанолу з бутанолом, бутанолі, суміші бутанолу з ксилолом, чистому ксилолі,

30 заливають об'єкт 80 % етанолом, зневоднюють його та заливають у парафінові блоки, використовуючи металеві кутники.

Методика виготовлення.

Виготовлення постійного препарату починається з етапу фіксації об'єкту. Беруть виключно ту частину рослини, яка вивчається, при цьому необхідно видалити, що будуть заважати. Об'єкт

35 занурюють у фіксуєчу рідину - оцтовий алкоголь, який виготовляють безпосередньо перед фіксацією матеріалу. До фіксуєчої рідини входить: розчин етанолу 96 % - 3 частини, льодяна оцтова кислота - 1 частина. Для фіксації невеликих об'єктів (до 2 см завдовжки) пропонується використовувати медичний флакон з-під антибіотиків (10 мл), необхідно 3 мл етанолу та 1 мл кислоти. При цьому кількість реагентів для розчину зручно вимірювати за допомогою

40 одноразового шприца для ін'єкцій. Час витримки об'єкту розмірами до 2 см довжиною та до 3 мм у діаметрі (за обов'язкових умов, що це молоді тканини) складає 2 години. Фіксуєчу речовину зливають та замінюють на 96 % розчин етанолу, у якому об'єкт залишають на 30 хвилин у 96 % двічі. Якщо виготовлення постійного препарату відкладається на деякий час, то об'єкт необхідно залити 80 % етанолом, флакон закрити кришкою, зберігати у холодильній

45 камері за температури 3-6 °С. Термін зберігання за таких умов може становити до двох років.

Другим етапом підготовки до виготовлення постійного мікропрепарату є зневоднення об'єкту або провідка. Для цього використовують методику проведення крізь спирти та інші апротонні розчинники. Якщо об'єкт зберігався деякий час, необхідно замінити розчин 80 % етанолу на 96 %, витримуючи двічі по 15 хвилин. До етанолу, що міститься у пляшечці додають рівний

50 об'єм бутанолу (витримка об'єкту у розчині складає 15 хвилин). Суміш зливають та замінюють чистим бутанолом двічі по 15 хвилин. До останньої порції бутанолу додають рівну частину ксилолу та витримують 15 хвилин. Суміш зливають, а об'єкт двічі заливають чистим ксилолом на 20 хвилин для великих та більш грубих частин рослин, та до 5 хвилин для маленьких об'єктів, що утворені молодими тканинами. Після цієї операції об'єкт стає прозорим та крихким,

55 тому працювати з ним треба дуже обережно. До останньої порції ксилолу додати попередньо підготовлену перед цим суміш парафіну із бджолиним воском (Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. - М.: Мир, 1969. - С. 68-72), розігріту до температури 65-70 °С, і поставити до термостату на 30 хвилин за температури 55-60 °С. Обережно, намагаючись не втратити об'єкта замінюють розплавленою сумішшю парафіну із воском двічі,

60 спочатку на 1 годину, а потім на 2 години, залишаючи у термостаті за температури 65-70 °С.

Третім етапом виготовлення мікропрепаратів є заливка у парафінові блоки, які виготовляють шляхом заливки парафіну у кутники з неіржавіючого металу (розміри кутників: довгий бік - 10 см, короткий бік - 3 см, висота - 2 см). Кутники викладають на кришку чашки Петрі, таким чином, щоб міг утворитися прямокутник необхідного розміру, щільно притискають до скляної поверхні, та на 1/3 заливають розігріту до 70 °С суміш парафіну із воском, викладають за допомогою розігрітого пінцету та препарувальної голки підготовлений об'єкт, таким чином, щоби була можливість виготовити зрізи у необхідній площині, доливають розплавлений парафін до верхньої частини кутника. Чашку Петрі із кутником викладають у ємність із холодною водою (t~15-18 °С). Для процесу заливки у блоки необхідно щоб температура повітря у приміщенні становила не менш 23 °С.

Парафінові блоки, що містять зафіксовані об'єкти, маркують та зберігають за температури не вище 30 °С будь який час, а бо одразу починають підготовку до виготовлення зрізів за допомогою мікротому.

#### 15 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб фіксації та підготовка до виготовлення постійних мікропрепаратів молодих органів рослин, що включає стадії фіксації рослинних тканин, зневоднення їх в апротонних розчинниках, заливки у парафінові блоки, який **відрізняється** тим, що об'єкт занурюють у фіксуючу рідину, при цьому скорочують час зневоднення об'єктів в етанолі, суміші етанолу з бутанолом, бутанолі, суміші бутанолу з ксилолом, чистому ксилолі, заливають об'єкт 80 % етанолом, зневоднюють його та заливають у парафінові блоки, використовуючи металеві кутники.

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601