

ББК 28. 4 я7
Д 36
УДК 579 (07)

Рецензент
доктор медицинский наук Ю.А.Брудастов

Д 36 **Дерябин Д.Г.**
Цитология микроорганизмов: методические указания к лабораторному практикуму/Д.Г. Дерябин – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2007. – 51 с.

Методические указания предназначены для выполнения лабораторных занятий по дисциплине специализации «Цитология микроорганизмов» в 3 семестре по специальности 020209 – Микробиология.

ББК 28. 4 я7

© Дерябин Д.Г., 2007
© ГОУ ОГУ, 2007

Содержание

Введение.....	5
1 Методы микроскопии.....	6
1.1 Устройство светового микроскопа. Микроскопия в проходящем свете (метод светлого поля).....	6
1.2 Приготовление и фиксация препаратов для световой микроскопии. Простые позитивные и негативные методы окрашивания. Понятие об иммерсии.	9
1.3 Темнопольная и фазово-контрастная микроскопия.....	12
1.4 Люминесцентная (флюоресцентная) микроскопия.....	16
1.5 Электронная микроскопия.....	19
1.6 Сканирующая зондовая микроскопия.....	22
2 Строение бактериальных клеток.....	25
2.1 Сравнительный анализ прокариотических и эукариотических клеток.....	25
2.2 Окраска по Граму и ее использование для дифференциации бактерий с различным строением клеточной стенки.....	27
2.3 Капсулы бактерий и методы их выделения.....	30
2.4 Жгутики бактерий и методы их выявления.....	32
2.5 Нуклеоид бактериальной клетки.....	35
2.6 Рибосомы.....	37
2.7 Система внутриклеточных мембран.....	40
2.8 Включения.....	42
3 Деление бактерий.....	45
4 Покоящиеся формы микроорганизмов	47
5 Литература, рекомендуемая для изучения темы.....	50
Приложение А.....	51
Вопросы к зачету по дисциплине «Цитология микроорганизмов».....	51

Введение

Дисциплина «Цитология микроорганизмов» изучается студентами специальности 020209 – Микробиология в 3-ем семестре как дисциплина специализации (Федеральный компонент ДС.Ф.01).

Дисциплина изучается в соответствии с учебным планом специальности 020209 с учетом ГОС ВПО (раздел 4 «Общие требования к обязательному минимуму содержания основной образовательной программы по специальности (ранее 012400) - Микробиология»), введенными в действие с 10.03.2000 г. Министерством образования Российской Федерации.

Основной целью преподавания дисциплины является освоение основных цитологических методов, применяемых к микроорганизмам (световая, фазово-контрастная, люминесцентная и электронная микроскопии); формирование развернутых представлений об организации и функции субклеточных структур прокариотов, а также их изменений при воздействии различных физических и химических факторов.

В органической связи с получением фундаментальных знаний по данной дисциплине важной целью ее изучения является формирование практических навыков проведения различных видов микроскопии, приготовления микроскопических препаратов, оценки результатов микроскопических исследований.

1 Методы микроскопии

1.1 Устройство светового микроскопа. Микроскопия в проходящем свете (метод светлого поля)

Микроскоп (от греч. *mikros* - малый и *skopeo* - смотрю) - оптический прибор для получения увеличенного изображения мелких объектов и их деталей, невидимых невооруженным глазом.

Первый из известных микроскопов был создан в 1590 году в Нидерландах потомственными оптиками **Захарием** и **Хансом Янсенами**, смонтировавшими две выпуклые линзы внутри одной трубки. Позднее **Декарт** в своей книге "Диоптрика" (1637) описал более сложный микроскоп, составленный из двух линз - плоско-вогнутой (окуляр) и двояковыпуклой (объектив). Дальнейшее же совершенствование оптики позволило **Антони ван Левенгуку** в 1674 г. изготовить линзы с увеличением, достаточным для проведения простых научных наблюдений и впервые в 1683 году описать микроорганизмы.

Современный микроскоп (рисунок 1) состоит из трех основных частей: оптической, осветительной и механической.

Основными деталями **оптической части** микроскопа являются две системы увеличительных линз: обращенный к глазу исследователя окуляр и обращенный к препарату объектив. **Окуляры** имеют две линзы, верхняя из которых называется главной, а нижняя собирательной. На оправе окуляров обозначают производимое ими **увеличение** ($\times 5$, $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$). Количество окуляров у микроскопа может быть различным, в связи с чем различают **монокулярные** и **бинокулярные** микроскопы (предназначены для наблюдения за объектом одним или двумя глазами), а также **тринокуляры**, позволяющие подключать к микроскопу системы документирования (фото- и видеокамеры). **Объективы** представляют собой систему линз, заключенных в металлическую оправу, из которых передняя (фронтальная) линза производит увеличение, а лежащие за ней коррекционные линзы устраняют недостатки оптического изображения. На оправе объективов цифрами также указано производимое ими **увеличение** ($\times 8$, $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$). Большинство моделей, предназначенных для микробиологических исследований, имеют в комплекте несколько объективов с разными степенями увеличения и поворотный механизм, предназначенный для их быстрой смены – **турель**, часто называемый «**револьверной головкой**».

Осветительная часть предназначена для создания светового потока, который позволяет осветить объект таким образом, чтобы оптическая часть микроскопа предельно точно выполняла свои функции. Осветительная часть в прямых микроскопа проходящего света расположена за объектом под объективом и включает в себя **источник света** (лампу и электрический блок питания) и **оптико-механическую систему** (конденсор, полевую и апертурную регулируемые диафрагмы). **Конденсор** состоит из системы линз, которые предназначены для собирания идущих от источника света лучей в одной точке – **фокусе**, которая должна находиться в плоскости рассматриваемого объекта. В свою очередь **диафрагма** расположена под конденсором и предназначена для регулиро-