

VK Mik 2209 Микробиология

Зертханалық жұмыс № 7

Тақырып: Микроағзаларды культивирлеу әдістері мен оларды Грамм әдісімен бояу техникасымен таныстыру

Зертханалық сабақтың мақсаты – бактерия клеткасының құрылысы ерекшеліктерін зерттеу және олардың клетка құрылымының құрам бөліктерін анықтау үшін күрделі Грам тәсілімен бояу әдісімен танысу.

Зертханалық сабақтың міндеті – бөлініп алған бактерия культуралары клеткасының құрылысымен танысу, капсуланы бақылау және Грам тәсілі бойынша бояуды меңгеру. Бөліп алған культуралардың Грам тәсілі бойынша боялуын коллекциялық штамдармен салыстыру

Капсуланы бақылау.

Көптеген микроорганизмдер клетка қабығынан басқа сыртқы қосымша қабатпен қапталады оларды – капсулалар деп атайды. Капсуланың негізгі атқаратын қызметі қалайсыз жағдайлардан қорғану және қоректік заттардың жиналуын қамтамасыз ету болып саналады. Капсулалар мөлдір шырышты, сондықтан да бактериялардың тірі клеткаларын микроскоптан қараған кезде бірден байқалмайды. Капсулалар мен шырышты қабат тізбектеліп немесе топталып бір ғана клетканың төңірегінде орналасып қоймайды, сонымен қатар көптеген клеткалардың сыртында пайда болып, оларды түгел қоршайды.

Капсуланы бақылау үшін әдетте «Бейтарап бояу» әдісін қолдану қара тушпен бояу арқылы жүзеге асады. Бейтарап бояу қолданған кезде бояу бактерия клеткасының маңайын толтырады, нәтижесінде қараңғы аймақта ашық, түссіз бөлік болып көрінеді. Ол үшін заттық шынының бетіне фуксин бояуымен араластырған клетка сұйықтығын тамызады. Содан кейін фуксинмен боялған препаратқа қара тушты қосып араластырып жаймалайды да ауада кептіреді, микроскоптан қарайды. Микроскоптан қараған кезде препараттың қара түсінде микроорганизмнің қызыл түске боялған клеткасын қоршаған түссіз, мөлдір капсулалар жақсы көрінеді.

Бурри-Гинс әдісі бойынша капсулаларды бақылау.

Бурри әдісі бойынша препарат дайындалады. Ол үшін заттық шыныға қара туш бояуын тамызады, оның үстінен микроорганизмнің клеткасын араластырады. Содан кейін 96 % спирт тамызып, спирт шамының жалынында кептіріп бекітеді. Дайын болған препаратты 1/3 қатынасындағы Цильтің карбол фуксин бояуының сулы ерітіндісімен 2-3 минут бояйды. Препаратты сумен жақсылап шаяды да, ауада кептіреді және микроскоптан 40 объективпен қарайды. Нәтижесінде қара түсте қызғылт түске боялған бактериялардың клеткасын қоршап тұрған мөлдір түссіз капсулалар көрінеді. Бақылау ретінде коллекциядағы *Azotobacter* туысының бактериялары қолданылады. Алынған нәтижелерді қорытындылап, кестеге толтырады (19 сурет).

Грамм әдісімен бактериялардың клетка қабықшасының боялу сипатын анықтау.

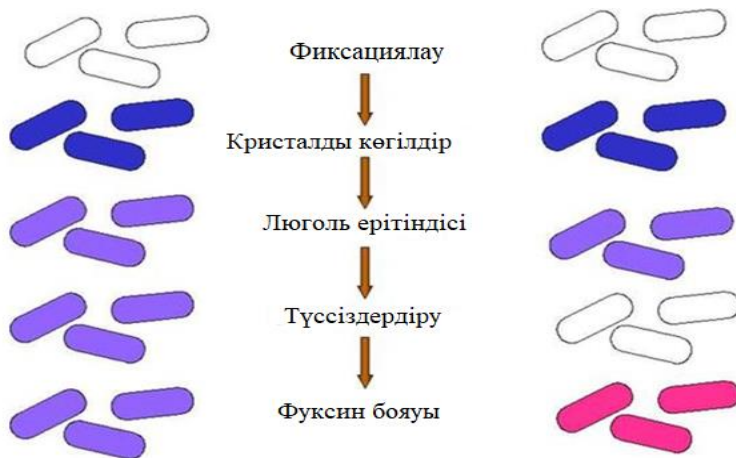
Бактериялардың клетка қабықшасы (0,01 -0,04 мкм) қорғаныс қызметін және клеткаға пішін беріп тұрады. Оның құрамына пептидогликан, сонымен қоса, тейхой қышқылдары, липопроteidтер, липополисахаридтер және фосфолипидтер болады. Микроорганизмдердің арасында микоплазмаларда клетка қабықшасы болмайды. Археяларда клетка қабықшасының құрамы әртүрлі болып келеді: бір бактериялардың клетка қабықшасының құрамында псевдомуреин ал, кейбіреулерінде липополисахаридтер және тағы басқа қосылыстар болады. Олардың клетка қабықшасының молекулалық ұйымдасу деңгейі мен химиялық құрамын клетка

қабықшасының Грам тәсілімен боялуын байланыстырады. Грам тәсілімен бояуды дат микробиологы *Грам* (1884 ж.) бактерияларды ұсынған, бұл әдіс бойынша барлық бактериялар 2 топқа бөлінеді: *грам оң және грам теріс*. Грам оң бактериялар препаратты спиртпен өңдеу кезінде генициан көгілдірдің йодпен қосылысын ұстап қалады да, көгілдір түске боялады. Фуксинмен бояған кезде қызыл түсті қабылдамайды. Грам теріс бактериялар мұндай қабілетке ие емес, сондықтан спиртпен өңдегенде түссізденеді. Одан кейін фуксинмен бояғанда олар ашық қызыл түске боялады.

Грам әдісі бойынша бояу тәртібі:

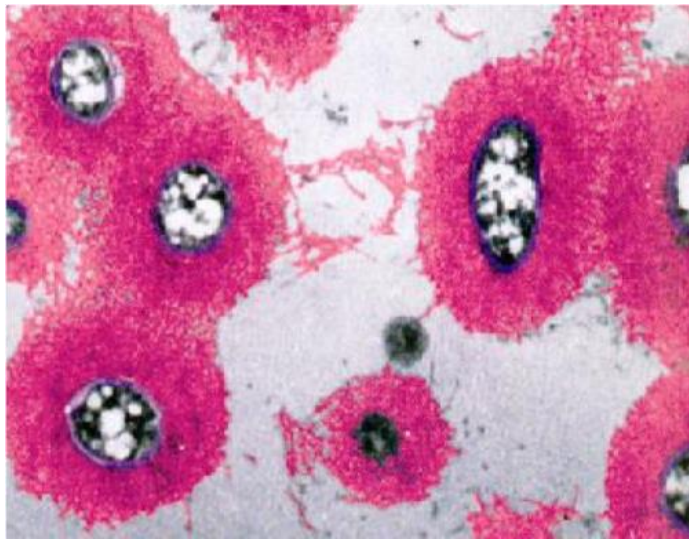
Заттық шыны бетіне зерттелетін бактерия клеткасының кептірілген жұғындысын дайынап алады. Содан кейін бактериялардың жұғындысын келесі тәртіп бойынша бояйды.

1. Бекітілген жұғындыны кристалды көгілдірмен бояп, 1-2 мин ұстайды да, бояуды төгіп тастайды.
2. Люгольдің ерітіндісін тамызып, 1-2 мин кейін ерітіндіні төгеді.
3. Препараты этил спиртпен 30 секунд өңдеп түссіздендіреді.
4. Препаратты сумен шаяды.
5. Сулы фуксинмен 1-2 минут бояйды.
6. Сумен шаяды
7. Препаратты кептіріп құрғатады да микроскоптан қарайды.



Микроскоптан қараған кезде Грам оң бактериялар қою көгілдір немесе күлгін түске, ал грам теріс бактериялардың клеткалары ашық қызыл түске боялады (20 сурет).

Грам әдісімен бояу нәтижесі дақылдың жасына байланысты болады: ересек дақылдардағы өлі клеткалар грам теріс боялады. Сондықтан жас тәуліктік дақылдарды қолданған жөн. Алынған нәтижелерді кестеге толтырады.



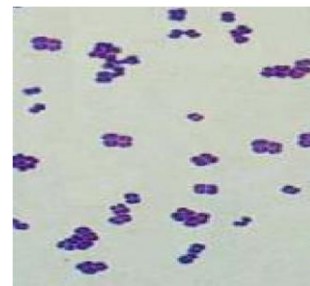
Сурет 20 - *Alcaligenes faecalis* бактериясының боялған капсуласының микросуреті



Clostridium perfringens



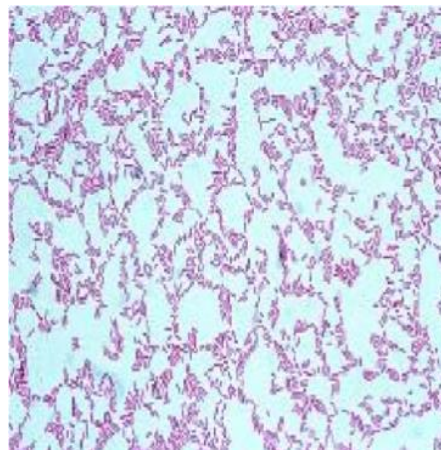
Bacillus subtilis



Micrococcus luteus



Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

Сурет 21 - Грам оң және Грам теріс бактериялар

Кесте 1 - Бактерия клеткаларын бояу әдістері.

Бояу әдісі	Бактерия клеткасында бақылайтын құрылым	Грам тәсілімен боялуы	Суретін салу

Қажетті материалдар мен құралдар:

Залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар, қара туш, 96 % спирт, Цильдің карбол фуксин бояуының сулы ерітіндісі, *Azotobacter* туысының бактериялары, микроскоптар.

Тапсырмалар:

1. Бөлініп алған бактерия культуралары клеткасының құрылысымен танысу.
2. Микроорганизмдердің капсулаларын бақылау.
3. Грам тәсілі бойынша бояуды меңгеру.
4. Бөліп алған культуралардың Грам тәсілі бойынша боялуын коллекциялық штамдармен салыстыру.

5.

Бақылау сұрақтары.

1. Бактерия клеткаларының ультрақұрылымы.
2. Прокариоттардың тұрақты құрылымдық элементтерінің (клетка қабырғасы, цитоплазмалық мембрана, нуклеоид, цитоплазма, мезасомалар, рибосомалар), құрылысы, қызметі.
3. Бактерия клеткаларының тұрақсыз құрылымдық элементтері – капсула және олардың маңызы мен қызметі.
4. Бактериялардың клетка қабырғасының ерекшеліктері.
5. Микроорганизмдердің клеткаларын бояудың күрделі әдістері.
6. Грам оң және грам теріс бактериялар. Грам тәсілімен бояу әдісі және бактерияларды классификациялаудағы маңызы.