

## **VK Mik 2209 Микробиология**

### **Зертханалық жұмыс № 13**

**Тақырып: Бактериялардың клеткасындағы  
спораларды бақылау және клеткалардың  
қозғалғыштығын анықтау.**

Жұмыстың *мақсаты* - лекциялық сабақтар кезінде алынған спора түзілу, талшықтардың орналасуы туралы білімдерін ұштастыру.

Зертханалық жұмыстың *міндеті*- спора түзудің сипаты, талшықтың орналасуына байланысты клетка қозғалысын анықтау.

Бактериялардың ішінде спораны *Bacillus* және *Clostridium* туысының өкілдері түзеді. Бактериялардың споралары вегетативті клеткаларға қарағанда қоршаған ортаның жағы мсыз факторларына жоғары төзімділік көрсетеді. Олар дөңгелек, сопақ немесе эллипс тәрізді түзінділер. Егер спора диаметрі спора түзетін клетка диаметрінен аспаса, ондай клетканы *бациллярлы* деп, ал клетка диаметрінен асатын болса, спора клетканың ортасында немесе шетінде орналасуына байланысты *кlostридиалды* немесе *плектридиалды* деп атайды.

Тірі спора түзетін клеткаларды бақылау кезінде олардың спораларын жарық сәулесінің шағылысуынан байқауға болады. Споралар қышқылға төзімді және бояулармен қиын боялады. Бұл олардың клетка қабығының қалыңдығымен, бос су концентрациясының төмендігімен және споралардағы липидтің құрамының жоғары болуымен түсіндіріледі. Бактериялардың спораларын бақылау үшін көбінесе ескі культуралар (3-10 тәуліктік) қолданылады.

Көптеген бактериялар қозғала алады, өйткені олардың клетка сыртында бір немесе бірнеше арнайы талшықтар болады. Олар жіңішке, бір шеті бос, екінші шеті клеткаға бекіген және орналасу тәртібі әр түрлі. Талшықтар саны мен бактерия клеткасында орналасу тәртібіне қарай әр түрлі болып келеді. Егер де талшықтар клетканың бір жақ шетіне бекінген жалғыз орналасса *монополярлы монотрихтер*, талшықтары клетканың екі шетінде бір бірден орналасқан бактериялар - *екі полярлы монотрихтер*, талшықтары клетканың бір жақ шетінде шоқтасып орналасқан бактериялар - *монополярлы политрихтер* немесе *лофотрихтер*, талшықтары клетканың екі шетіне топталып орналасқан бактериялар - *екі полярлы перитрихтер* немесе *амфитрихтер*, талшықтар клетканың бетін толық жабатын бактериялар - *перитрихтер* деп аталады.

**Бактериялардың спора түзу қабілетін М.А. Пешков ұсынған әдіспен анықтау.**

Зерттелетін бактерия культурасының жұғындысын дайындап оттың жалынында кептіреді. Кептірілген препаратқа Лефлер әдісі бойынша дайындалған метилен көгі бояуын тамызады да оттың жалынында 15-20 секунд қайнатады. Препарат салқындаған соң сумен шайып тастайды да 30 секунд нейтралды қызыл бояудың 0,5 % сулы ерітіндісімен бояйды. Содан кейін препаратты дистилденге сумен шайып тастап, кептіреді де микроскоптан қарайды. Вегетативті клеткалары қызғылт түске боялады, споралары көгілдір немесе көк түске (культураның жасына байланысты) боялып көрінеді.

**Ожешко әдісімен бактериялардың спора түзу қабілетін, спораның орналасуын анықтау.**

Бекітілмеген, бірақ кептірілген препаратқа 0,5% хром қышқылын құйып, 5-10 мин кейін оны шайып тастайды. Препаратты фильтр қағазымен жауып, Цильдің карболды фуксин бояуын тамызады. Жалынның үстіне қойып, бу пайда болғанша қыздырады. Содан кейін тағы да бояу құяды. Осылайша 7 мин жасайды. Бояғыш буланып, ал қағаз кеппеуі керек. Суыған соң қағазды алып тастап, препаратты сумен

шяды, фильтр қағазымен жақсылап сусыздандырып алады. Осылай өндеудің нәтижесінде споралар клеткамен бірдей боялады. Одан кейін цитоплазманы түссіздендіру қажет, ол үшін 1% HCl немесе 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15-30 секунд өңдейді. Түссізденген препаратты сумен шайып, қосымша метилен көгімен 2 минут аралығында бояйды. Препаратты тағы да сумен шайып, сусыздандырады. Егер препарат дұрыс дайындалған болса, спора ашық қызыл түске боялады да, цитоплазма көк аймақта айқын байқалады (21 сурет).

**«Ілінген тамшы» және «Жаншылған тамшы» препараттарының көмегімен бактериялардың қозғалысын сипаттау.**

«Ілінген тамшы» препараты микроорганизмдердің көбеюін бақылауда, споралардың түзілуін және дамуын зерттеуде, сонымен қатар қозғалғыштықты бақылауда қолданылады. Бұл препаратты дайындау үшін арнайы ойығы бар шыны қолданылады. Жабынды шынының бетіне вазелин жағады, ал ортасына бактериалды дақылдың тамшысын енгізеді. Одан кейін тамшы ойықтың ортасында тұратындай етіп заттық шыны үстіне жабынды шыныны жабады.

Тамшы ойықтың үстінде, ойықтың түбіне де, шетіне де тимей ілініп тұруы қажет.

«Жаншылған тамшы» препараты микроорганизм клеткаларының пішінін, олардың мөлшерін және орналасуын, спора түзулерін, қозғалғыштықтарын зерттеу үшін қолданылады.

Препаратты дайындау үшін заттық шыныға бір тамшы су тамызып, оған тұзақпен зерттеу материалын енгізіп, араластырады да, жабынды шынымен жауып, микроскоп арқылы зерттейді.



Сурет 22 – *Bacillus* туысы бактериясының әртүрлі түрлерінің клеткасындағы эндоспораның түрлері орналасуы

**Қажетті материалдар мен құралдар:**

Залалсыздандырылған тұзақтар, заттық шыны, жабынды шыны, микробиологиялық тұзақ, қажетті бояулар, қара туш, 96 % спирт, Цильдің карбол фуксин бояуының сулы ерітіндісі, сүзгі қағазы, микроскоптар.

**Тапсырмалар:**

1. Бөлініп алған бактерия культураларының клеткасының құрылысымен танысу.

2. Микроорганизмдердің спораларын әртүрлі әдістерді қолдана отырып бақылау
3. Микроорганизмдердің спора түзудің сипаты анықтау.
4. Прокариоттардың талшықтың орналасуына байланысты клетка қозғалысын анықтау.
5. Бөліп алған культуралардың спора түзуінің сипатын, талшықтың орналасуына байланысты клетка қозғалысын коллекциялық штамдармен салыстыру.

**Бақылау сұрақтары.**

1. Бактерия клеткаларының ультрақұрылымы.
2. Бактерия клеткаларының тұрақсыз құрылымдық элементтері – спора, талшықтар және олардың маңызы мен қызметі.