

**«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОРОДСКОЙ ДВОРЕЦ ТВОРЧЕСТВА ЮНЫХ»
ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «КРЕСТОВСКИЙ ОСТРОВ»**

Экология микроорганизмов



Типы популяционных взаимодействий.

Взаимодействие микроорганизмов.

Тесные взаимоотношения отдельных организмов или целых популяций при их совместном существовании обозначают термином **СИМБИОЗ**.

Этот термин предложил Гёнрих Антон де Барí 1879 году. И он распространялся на все виды взаимоотношений между организмами: как *положительные* так и *отрицательные*.

Тип взаимодействия	Воздействие на популяции	
	А	В
Нейтрализм	0	0
Комменсализм	0	+
Мутуализм	+	+
Конкуренция	-	-
Антагонизм	0 или +	-
Паразитизм	+	-
Хищничество	+	-

Взаимодействие микроорганизмов с животными и человеком

- Симбиоз с беспозвоночными животными
- Симбиоз светящихся бактерий с рыбами
- Симбиоз с птицами
- Симбиотические микроорганизмы рубца жвачных
- Нормальная и патогенная микробиота человека
- Хищничество между микроорганизмами и животными

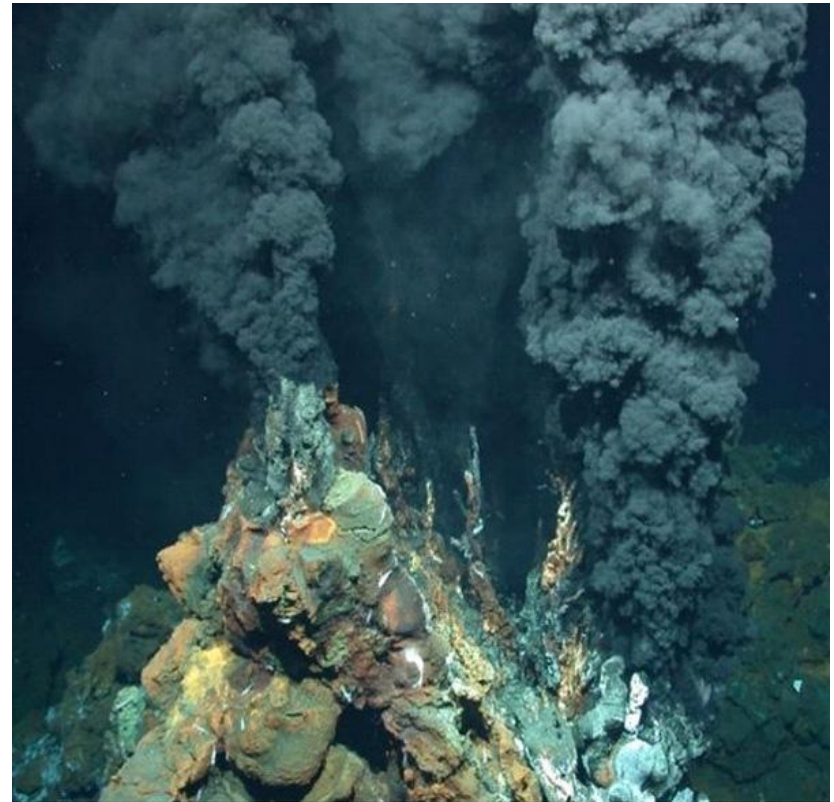


Гидротермальные источники срединно-океанических хребтов — действующие на дне океанов (1000-3000 метров) многочисленные источники, приуроченные к осевым частям срединно-океанических хребтов. Из них в океаны поступает высокоминерализованная горячая вода под давлением в сотни атмосфер. Представляют собой трубообразные образования, достигающие высоты в десятки метров.

«Черный курильщик»

Обитатели гидротермальных источников

- Кольчатые черви (*Riftia pachyptila*)
- Гигантские двустворчатые моллюски
- Кораллы



Симбиоз рыб и бактерий

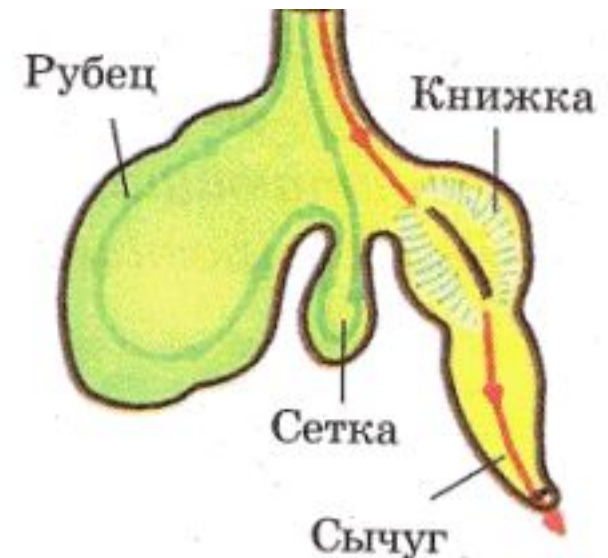
Биолюминесценция — способность живых организмов светиться, достигаемая самостоятельно или с помощью симбионтов. Свет создаётся у более высоко развитых организмов в специальных светящихся органах (например, в фотофорах рыб), у одноклеточных эукариот — в особых органоидах, а у бактерий — в цитоплазме. Биолюминесценция основывается на химических процессах, при которых освобождающаяся энергия выделяется в форме света. Таким образом, биолюминесценция является особой формой **хемилюминесценции**.



Симбиотические организмы рубца жвачных животных

Жвачные (лат. *Ruminantia*; от лат. *rūma* — рубец, первый отдел желудка жвачных).

Жвачные отличаются сложной системой пищеварения. Верхних резцов нет, вместо них плотный мозолистый валик. Коренные зубы имеют лунчатое строение, которое способствует перетиранию корма. Их желудок имеет общую схему строения и обычно имеет четыре отдела: рубец, сетка, книжка, сычуг. В рубце обитают симбиотические простейшие, ферментирующие целлюлозу при помощи симбиотических внутриклеточных бактерий. Жвачные могут переваривать часть этих симбионтов для получения животного белка.



Нормальная и патогенная микробиота человека

- Нормальная микробиота
- Оппортунистическая микробиота
- Транзиторная микробиота
- Патогенная микробиота



Патогенность (от др.-греч. πάθος — страдание, болезнь и γένεσις — возникновение, первоисточник) — способность быть причиной патологии (болезни, отклонения от нормы).

Вирулентность (от лат. *Virulentus* — ядовитый) — степень способности данного инфекционного агента заражать данный организм. Вирулентность неравнозначна способности вызывать заболевание (патогенности). Показателями вирулентности являются условные величины — минимальная летальная, 50%-ная летальная, 50%-ная инфицирующая доза.

Вирулентность **зависит от свойств самого инфекционного агента**, а также от чувствительности организма-хозяина. Степень вирулентности измеряется в количестве единиц (клеток или вирусных частиц) инфекционного агента, необходимых для заражения организма.

Практическая часть

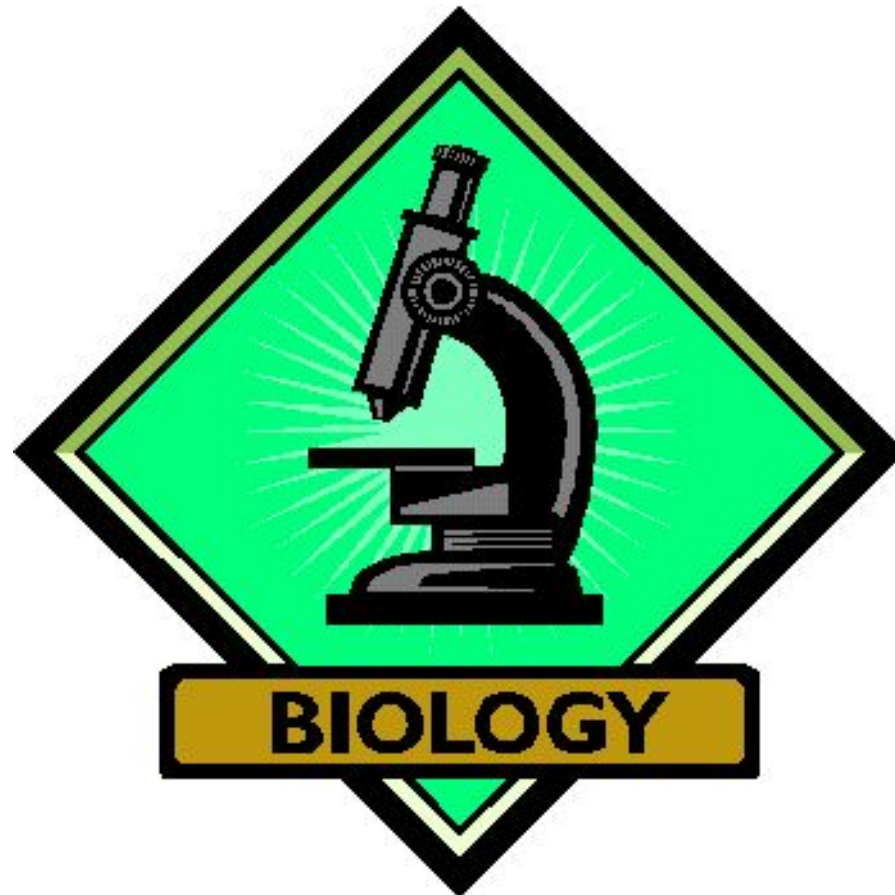




Рис. 1. Маркировка объективов производства Carl Zeiss

«Сухие» объективы и иммерсионные объективы



Рис. 1.5. Микроскопия без иммерсионной жидкости



Рис. 1.6. Микроскопия с иммерсионной жидкостью

«Сухие» объективы и иммерсионные объективы

Объективы подразделяются на сухие и иммерсионные.

При работе с сухими объективами (x8, x20, x40) между фронтальной линзой и препаратом находится воздух. В этом случае лучи света проходят среды с различными показателями преломления (покровное стекло, воздух), часть их отклоняется и не попадает в объектив.

При работе с иммерсионными объективами (x90 или x100) для устранения светорассеяния расстояние между фронтальной линзой объектива и препаратом заполняют иммерсионным (кедровым) маслом, показатель преломления лучей света которого близок к показателю преломления лучей света, проходящего через стекло.

Общее увеличение микроскопа определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра. Например, если в работе используют окуляр x15, а под тубусом находится объектив x90, то увеличение рассматриваемого с помощью микроскопа объекта составит x1350.

Приготовление препаратов живых клеток

Для наблюдения микроорганизмов под микроскопом нужно приготовить специальные препараты.

Готовят их на хорошо очищенных и обезжиренных предметных стеклах. Существует два способа приготовления прижизненных препаратов микроорганизмов:

«раздавленная капля» и «висячая капля»

- Для приготовления препарата «раздавленная капля»:
- Наносят на предметное стекло каплю жидкости с помощью пипетки или микробиологической петли помещают в нее немного исследуемых микроорганизмов.
- Накрывают каплю покровным стеклом, излишек жидкости удаляют фильтровальной бумагой
- Микроскопируют препарат **сухими объективами**.

К **достоинствам** препаратов живых микроорганизмов можно отнести легкость и быстроту их приготовления. К тому же, такие препараты позволяют изучать подвижность микроорганизмов, реакцию микроорганизмов на химические и физические факторы воздействия.

Недостатками вышеназванных препаратов являются: малая контрастность и опасность при работе с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.

Приготовление препаратов фиксированных клеток

Фиксированными считают клетки микроорганизмов, в которых прерваны жизненные процессы, но полностью сохранена тонкая структура.

Для получения фиксированных препаратов важно правильно подготовить предметные стекла. Они должны быть чистыми и тщательно обезжиренными. Берут стекла пинцетом или аккуратно за грани, так как пальцы оставляют на поверхности жирные пятна.

Приготовление фиксированных препаратов ведут в следующей последовательности:

- На середину чистого обезжиренного предметного стекла стерильной петлей наносят небольшую каплю воды.
- В нее вносят исследуемый материал.
- Полученную суспензию равномерно распределяют по поверхности стекла тонким слоем.
- Полученный мазок высушивают при комнатной температуре на воздухе.
- Производят фиксацию мазка. Для этого стекло с высохшим мазком проводят 3-4 раза над пламенем горелки той стороной, где мазок отсутствует.

Цель фиксации:

- умертвить клетки микроорганизмов и сделать их безопасными
- зафиксировать мазок на стекле
- улучшить окрашивание, поскольку мертвые клетки лучше адсорбируют на своей поверхности различные красители.

Окраска фиксированных препаратов микроорганизмов простыми методами

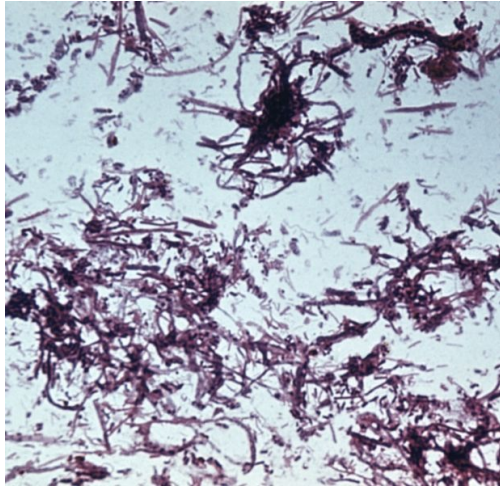
Фиксированные препараты нельзя рассмотреть под микроскопом, так как они являются бесцветными и пропускают световые лучи. Поэтому их окрашивают, используя простые или сложные методы.

Тинкториальные свойства микроорганизмов - свойства бактерий, грибов и простейших, характеризующие их способность вступать в реакцию с красителями и окрашиваться определенным образом.

Последовательность окрашивания мазка простыми методами следующая:

- На фиксированный препарат наносят несколько капель красителя таким образом, чтобы он покрывал всю поверхность мазка и выдерживают в течение определенного времени. *(Так, при окраске фуксином на мазок наносят несколько капель красителя и выдерживают его на мазке 2-3 мин).*
- Краску смывают с мазка слабой струей до бесцветной смывной воды.
- Мазок подсушивают фильтровальной бумагой, которую осторожно прикладывают к стеклу, и досушивают на воздухе.
- На окрашенный мазок наносят каплю иммерсионного масла и рассматривают препарат с объективом x90 или x100.

Микроскопирование зубного налёта



Ход опыта:

1. Приготовление микропрепарата.

Бактерии зубного налета

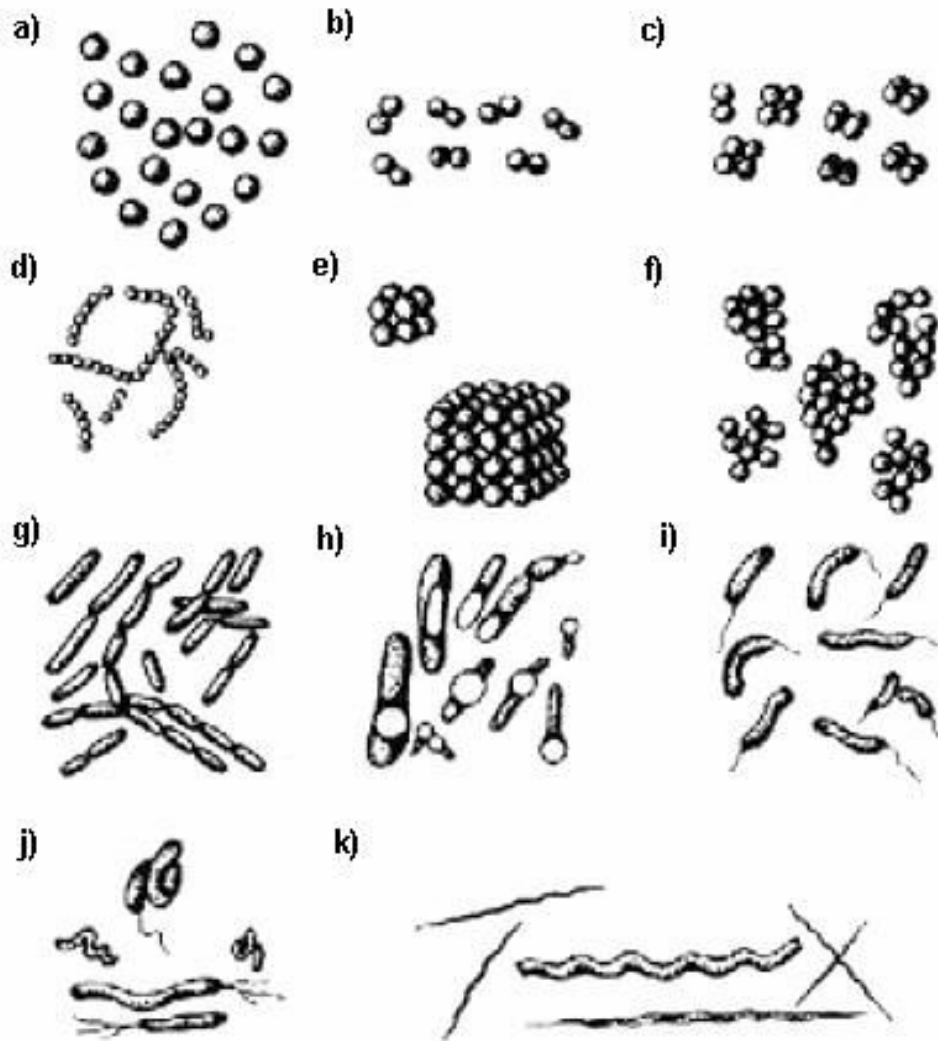
На предметное стекло наносится капля воды, затем спичкой берут немного зубного налета у самых десен и смешивают его с каплей воды. Затем препарат фиксируют и окрашивают фуксином.

Высушивают, накрывают покровным стеклом и рассматривают сначала под средним увеличением, а затем с иммерсионным объективом.

2. Определение разнообразие форм бактерий.

3. Оформление результатов.

Что мы увидим? Бактерии различной формы



Основные формы бактерий.
Условные обозначения:

- a) монококки (*Monococcus*)
- b) диплококки (*Diplococcus*)
- c) тетракокки (*Tetracoccus*)
- d) стрептококки (*Streptococcus*)
- e) сарцины (*Sarcina*)
- f) стафилококки (*Staphylococcus*),
- g) бактерии, диплобактерии, стрептобактерии (*Bacterium*, *Diplobacterium*, *Streptobacterium*)
- h) бациллы (*Bacillus*)
- i) вибрионы (*Vibrio*)
- j) спириллы (*Spirillum*)
- k) спирохеты (*Spirochetes*)

Правила микроскопирования

1. Устанавливают объектив малого увеличения, максимально приблизив его к предметному столику.
2. Отрегулировав освещение, на предметный столик помещают препарат, закрепляют в препаратодателе, и, медленно поднимая тубус с помощью макровинта, находят четкое изображение препарата.
3. Если объектом исследования является препарат «раздавленная капля» или «висячая капля», то объектив малого увеличения с помощью револьвера заменяют объективом среднего увеличения. Осторожно вращая микровинт, находят четкое изображение.
4. Для получения четкого изображения вращают легким движением микровинт. Если при движении микровинта чувствуется сопротивление, значит, ход его пройден до конца. В этом случае винт следует повернуть на полный оборот назад, снова найти микрокартину на малом увеличении с помощью макровинта и только тогда устанавливать четкость изображения на большом увеличении с помощью микровинта.

Основные правила пользования микроскопом

1. Микроскоп нужно предохранять от попадания пыли и влаги, после работы ставить в футляр или шкаф, или накрывать.
2. При работе с объективами малого и среднего увеличения тубус перемещать только макрометрическим винтом.
3. При смене объективов регулировать освещение, поднимая или опуская тубус конденсора.
4. По окончании микрокопирования объектив следует отдалить от препарата с помощью макрометрического винта, убрать препарат, протереть окуляры и объективы замшей или фланелью. Иммерсионный объектив с показателем увеличения 90 или 100 после работы с иммерсионным маслом протереть фланелевой тряпочкой, смоченной в бензине. Ни в коем случае нельзя оставлять объектив в масле: засохшее на объективе масло в дальнейшем не дает увидеть изображение, долгий контакт с маслом портит линзы.
5. Установить малый объектив.
6. При перемещении микроскоп следует обязательно придерживать снизу