

**ДРОГОБИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ імені ІВАНА ФРАНКА**

*Біологічний факультет*

**Анжеліка Івасівка, Наталія Гойванович**

# **БІОЛОГІЯ ТА ОСНОВИ ГЕНЕТИКИ**

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до лабораторних занять з курсу

**Дрогобич, 2015**

УДК

ББК

К

Рекомендовано до друку вченою радою Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка

**Рецензенти:**

**Монастирська Світлана Семенівна**, доцент кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, кандидат біологічних наук

**Філь Віталій Михайлович**, завідувач кафедри анатомії, фізіології та валеології Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, кандидат біологічних наук, доцент

**Відповідальний за випуск:**

**Стахів В.І.** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка

**Івасівка А., Гойванович Н. БІОЛОГІЯ ТА ОСНОВИ ГЕНЕТИКИ.** Методичні вказівки до лабораторних занять. – Дрогобич: Редакційно-видавничий відділ ДДПУ імені Івана Франка, 2015 – 103 с.

Методичні вказівки є навчальним посібником, написаним відповідно до програми навчальної дисципліни “Біологія та генетика людини” для підготовки фахівців I бакалаврського рівня вищої освіти спеціальностей “Здоров’я людини”, «Фізична реабілітація». Вказівки містять програму навчальної дисципліни, методичні поради до проведення лабораторних занять, теоретичні відомості, зразки завдань до самостійної роботи, додатки.

## ВСТУП

Курс "Біологія та основи генетики" охоплює загально-біологічні закономірності живого, які розширюють світогляд студентів і поглиблюють знання з проблемних і пошукових питань біології. Сучасний рівень знань з медичної біології є доцільним і необхідним в системі підготовки медичних працівників.

Курс „Біологія та основи генетики” передбачає вивчення організації живої матерії на рівнях, які безпосередньо стосуються принципів медицини. Саме вони спонукають до розгляду живого організму в нормі чи з патологічними змінами як цілісної і разом з тим складної ієрархічно підпорядкованої системи організації. Знання складових і функції кожного рівня допомагає з'ясувати причини виникнення хвороб. Так, при діагностиці спадкових хвороб потрібно враховувати особливості певної людської популяції. А при аналізі перебігу інфекційних хвороб та епідемічного процесу доцільно брати до уваги особливості біогеоценотичного і соціального середовища.

Важливими завданнями цього курсу є формування знань про експериментальні відкриття та факти, поняття, теорії, явища, методи медичної біології, співвідношення теорії і практики у розвитку медичної біології; розкриття еволюційної спорідненості людини з іншими організмами, подібності в організації генетичного матеріалу і його матеріальному характері, механізмів його передачі, відтворення і реалізації; формування експериментальних вмінь: умінь використовувати прилади і матеріали, обґрунтовувати результати експериментальних даних і робити висновки на їх основі, дотримуватись правил техніки безпеки роботи.

У даному посібнику до виконання лабораторних робіт подаються короткі теоретичні відомості до кожної роботи, наведені матеріали та обладнання необхідні для виконання досліджень, описано хід виконання кожного дослідження та наведено зразок оформлення звіту лабораторної роботи.

Після кожного заняття подано перелік питань для самоконтролю, які допоможуть у підготовці студента до захисту лабораторного заняття.

## **I. МЕТОДИЧНІ ПОРАДИ ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ І ОФОРМЛЕННЯ ЗВІТУ**

1. Оформлення лабораторних робіт потрібно виконувати у вигляді звітів, у яких вказувати порядковий номер лабораторної роботи, тему, мету, матеріали та обладнання, завдання та хід виконання роботи.
2. Зарисовуючи досліджувані об'єкти у звіті, користуються графітовим олівцем (при необхідності кольоровими олівцями). Підписують рисунки внизу, роблячи відповідні пояснення. Рисунки повинні бути чіткими, визначених розмірів, розміщуватись на сторінках раціонально.
3. За контрольними запитаннями до лабораторної роботи підготувати теоретичний матеріал для допуску, а потім до її захисту.
4. У кінці кожної виконаної роботи, після виконання усіх завдань, потрібно зробити висновок.
5. При захисті лабораторної роботи потрібно знати відповіді на запитання.

**Примітка.** Див. додаток (зразок звіту про виконання лабораторної роботи).

## II. ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

<b>Лабораторна робота №1</b>	Ознайомлення з методами мікроскопування. Правила роботи з мікроскопом
<b>Лабораторна робота №2</b>	Вивчення будови прокаріотичної та еукаріотичної клітини
<b>Лабораторна робота №3</b>	Вивчення будови клітинних органел
<b>Лабораторна робота №4</b>	Вивчення процесу поділу клітини. Мітоз. Мейоз
<b>Лабораторна робота №5</b>	Ознайомлення з формами бактерій. Виготовлення мікробіологічних препаратів
<b>Лабораторна робота №6</b>	Аналіз мікрофлори повітря
<b>Лабораторна робота №7-8</b>	Дослідження бактеріальної забрудненості деяких частин тіла людини
<b>Лабораторна робота №9-10</b>	Аналіз мікрофлори води
<b>Лабораторна робота №11-12</b>	Вивчення будови хромосом. Визначення каріотипу людини. Ознайомлення з порушеннями ембріонального розвитку
<b>Лабораторна робота №13</b>	Визначення тілець Барра методом експрес діагностики
<b>Лабораторна робота №14</b>	Вивчення паразитичних одноклітинних
<b>Лабораторна робота №15</b>	Вивчення паразитичних червів
<b>Лабораторна робота №16</b>	Вивчення паразитичних членистоногих

# ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

## ОЗНАЙОМЛЕННЯ З МЕТОДАМИ МІКРОСКОПУВАННЯ. ПРАВИЛА РОБОТИ З МІКРОСКОПОМ

**Мета:** ознайомитись з будовою і технікою роботи зі світловим мікроскопом та іншими підходами при мікроскопуванні біологічних об'єктів.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атласи, електронно-мікроскопічні фотографії.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

При біологічних дослідженнях необхідно визначати тонку структуру об'єктів живої природи, що й зумовило розвиток мікроскопічної техніки. Вона широко використовується для вивчення різних біологічних об'єктів, які становлять інтерес для медицини, зокрема в лабораторній діагностиці.

**Світлові мікроскопи** дозволяють досліджувати об'єкти у світлі, що проходить через лінзи. Найпоширенішими моделями сучасного біологічного мікроскопа є мікроскопи МБІ-1, МБР-1, МБР-1А, М-9, Біолам, Ergaval та ін. Ці мікроскопи мають механічну і оптичну частини.

Механічна частина мікроскопа МБР-1 складається зі штатива з предметним столиком і тубуса. Під предметним столиком на штативі закріплений кронштейн конденсора, який переміщується в межах 20 мм за допомогою спеціального гвинта. Верхня частина штатива (тубусотримач) приводиться в рух обертанням макро- і мікрометричного гвинтів, призначених для грубого і тонкого фокусування препаратів.

Оптична частина мікроскопа складається з освітлювального апарата, об'єктивів і окуляра. Освітлювальний апарат представлений дзеркалом і конденсором, який закріплений над дзеркалом і складається з декількох лінз. Дзеркало має плоску та увігнуту сторони. Плоску сторону дзеркала використовують при будь-якому джерелі світла і при будь-якому збільшенні. Іншу, увігнуту, сторону дзеркала використовують при малих збільшеннях без конденсора. Конденсор призначений для фокусування паралельних променів, які йдуть від джерела світла, в площині препарату. Тому при роботі з конденсором слід користуватися лише плоскою стороною дзеркала. В корпус конденсора вмонтовані ірисова діафрагма і відкидна оправа для світлофільтра. Ірисова діафрагма призначена для затримки зайвих променів світла і дозволяє при необхідності зменшити апертуру конденсора (апертура – це “обсяг” лінзи, яка характеризується кількістю променів, які потрапляють на лінзу).

Об'єktiv є найважливішою частиною мікроскопа. Він складається із системи лінз, поміщених у металічну оправу, які дають справжнє збільшене обернене зображення. В мікроскопах МБР-1, БІОЛАМ використовують об'єктиви, які збільшують у 8, 40 і 90 разів. Збільшення об'єктива залежить від фокусної відстані фронтальної лінзи і, очевидно, від її кривизни. Чим більша

кривизна фронтальної лінзи, тим коротша фокусна відстань і тим більше збільшення об'єктива. Тому, чим більше збільшення дає об'єктив, тим нижче його слід опускати над площиною препарату. При об'єктиві 8х відстань між фронтальною лінзою об'єктива і досліджуванним об'єктом рівна приблизно 8,5 мм, при 40х – 0,4 мм, при 90х – 0,1 мм. Зображення, яке отримується за допомогою лінз, має ряд недоліків – аберацій. Найбільш суттєві – сферична (кожна точка об'єкта має вигляд кружечка, а не точки, зображення не чітке, розмите) і хроматична (отримуване зображення набуває забарвлення, якого не має об'єкт) аберації. Об'єктиви, у яких аберації відкореговані не повністю, називаються ахроматами. Вони містять до шести лінз і дають зображення найбільш чітке в центрі. Більш досконалі об'єктиви – апохромати – можуть складатися із 10-12 лінз, хроматична похибка в них в 10 разів менша, ніж у ахроматів. Планохромати повністю усувають викривлення поля зору, їх використовують при мікрофотографуванні.

Окуляр призначений для розгляду зображення об'єкта, збільшеного за допомогою об'єктива, і містить дві лінзи: очну (верхню) і фронтальну (нижню). Окуляри можуть давати збільшення в 5, 7, 10, 12, 15 і 20 разів, що вказано на їхній оправі.

Збільшення, яке дає мікроскоп, визначається як добуток величин збільшення об'єктива на збільшення окуляра. Бінокуляри мають додаткове збільшення насадки (вона призначена для спостереження за об'єктом одночасно обидвома очима). Проте загальне збільшення ще не характеризує всіх можливостей мікроскопа. Збільшене зображення може виявитися як чітким, так і нечітким. Чіткість отриманого зображення визначається роздільною здатністю мікроскопа – мінімальною відстанню між двома точками, коли вони ще не зливаються в одну. Чим більша роздільна здатність мікроскопа, тим меншої величини об'єкт можна побачити. Підвищити її можна двома шляхами: або освітлюючи об'єкт короткими променями світла, наприклад УФ, або збільшуючи показник заломлення середовища ( $n$ ), який межує із лінзою, для того, щоб наблизити його до показника заломлення скла, на якому знаходиться об'єкт ( $n$  скла = 1,52). В загальному, мікроскопічний об'єкт можна розглядати в трьох типах системи: сухій – між лінзою об'єктива і об'єктом міститься повітря ( $n=1$ ); водній – між лінзою об'єктива і об'єктом міститься капля води ( $n=1,3$ ) – водна імерсія; масляній – лінза об'єктива занурюється в каплю імерсійного масла – кедрового, касторового, вазелінового ( $n = 1,52$ ) або гліцерину (1,47) – масляна імерсія. Масляний імерсійний об'єктив має на оправі чорне кільце. Занурення (імергування) об'єктива підвищує роздільну здатність мікроскопа до 0,2 мкм.

Освітлювач є невід'ємною частиною мікроскопа. У багатьох сучасних мікроскопів (МБІ-2, Біолам та ін.) освітлювальний пристрій разом з джерелом світла вмонтований в основу мікроскопа. При мікроскопії у денний час можна користуватися природнім світлом, проте, краще використовувати джерела штучного світла, які забезпечують інтенсивне регульоване освітлення (освітлювачі типу ОІ – 19, ОІ-9М, ОІ – 35 та ін.), а також звичайні електричні лампи.

## Техніка роботи з мікроскопом МБР-1

1. Підготувати мікроскоп до роботи, протерти лінзи окуляра і об'єктива м'якою серветкою, поставити лампу і мікроскоп так, щоб було зручно для роботи.

2. Підняти конденсор у максимально верхнє положення, закрити ірисову діафрагму, вивести світлофільтр. Об'єктив 8х опустити на відстань біля 0,8 см від предметного скла.

3. Вийняти окуляр і, дивлячись через тубус у мікроскоп, повертати дзеркало так, щоб досягнути рівномірного і яскравого освітлення в центрі поля зору.

4. Встановити окуляр і, пересуваючи тубус мікроскопа за допомогою макрометричного гвинта, знову знайти чітке зображення джерела світла (спіраль лампи). Ввести світлофільтр і наполовину відкрити ірисову діафрагму.

5. При роботі з об'єктивами 8х, 40х і 90х конденсор залишити у максимально верхньому положенні.

6. Покласти предметне скло з препаратом на столик мікроскопа, затиснути його клемми і вивчати його спочатку, користуючись об'єктивом 8х.

7. Для детального вивчення препарату користуються об'єктивом 40х. Для цього, не піднімаючи тубус мікроскопа, перевести у робоче положення об'єктив 40х. Прикриваючи ірисову діафрагму, знайти зображення об'єкта, здійснюючи фокусування тільки мікрогвинтом!

8. При роботі з об'єктивом 90х на препарат нанести краплю кедрової олії чи гліцерину. Відкрити повністю ірисову діафрагму.

9. Дивлячись збоку, обержено!, за допомогою макрогвинта опустити тубус мікроскопа так, щоб лінза об'єктива занурилась в імерсійну рідину і навіть злегка торкнулась поверхні скла. Слід пам'ятати!, що при різкому опусканні об'єктива можна розбити фронтальну лінзу і вивести мікроскоп з ладу!

10. Дивлячись в окуляр, дуже повільно, піднімати тубус за допомогою макрогвинта, поки в полі зору не з'явиться зображення досліджуваного об'єкта. Якщо зображення не знайдено, повторити операцію 9 і 10. Поліпшити видимість препарату за допомогою мікрометричного гвинта. Після завершення роботи обов'язково! знімають серветкою кедрову олію чи гліцерин з лінзи об'єктива 90х.

11. Після перегляду препарату перевести револьвер на збільшення 8х і тільки після цього зняти препарат з предметного столика. Мікроскоп у неробочому стані повинен бути на збільшенні 8х!, а дзеркало встановлене у вертикальне положення.

Для спостереження за мікроорганізмами у світловому мікроскопі готують їх живі або мертві (фіксовані) препарати.

**Фазово-контрасна мікроскопія** базується на тому, що структурні відмінності у фазі проходження світлових променів через прозорі об'єкти, перетворюються в амплітудні, в результаті чого об'єкти стають контрастнішими. Основна відмінність фазово-контрасної мікроскопії полягає в тому, що вона дозволяє спостерігати живі об'єкти, не фіксуючи та забарвлюючи їх.



Оптична система, яка використовується для отримання фазового контрасту, складається із фазової пластинки і кільцевої діафрагми. Фазова пластинка розміщена в задній фокальній площині об'єктива і є прозорим диском, на якому напиляне кільце з шарів рідких металів. Кільцева діафрагма, розміщена під конденсором, є прозорою щілиною у вигляді кільця на непроникній для світла пластинці. При проникненні світла через препарат частина світлових хвиль проходить тільки через середовище. Це так звані прямі хвилі. Інші хвилі проходять через клітини, показник заломлення яких дещо більший показника заломлення оточуючого середовища, і тому вони відстають від по фазі від прямих хвиль. Результатом інтерференції цих двох довжин є дифракційна хвиля, яка відстає від прямої приблизно на  $1/4\lambda$ . Фазова пластинка викликає додаткову на  $1/4\lambda$  затримку дифракційних довжин по відношенню до прямих, що призводить до помітної різниці в амплітудах прямого і дифракційних променів. Саме тому об'єкт стає контрастнішим. Крім цього, прямі промені фокусуються на кільці фазової пластинки, яка пропускає не більше 25% прямих променів, що також підвищує контрастність. Залежно від співвідношення показників заломлення досліджуваного об'єкта і оточуючого середовища об'єкт буде темнішим на світлому фоні чи світлішим на темному фоні.

**Мікроскопія в темному полі** базується на освітленні об'єкта косими променями світла. При такому освітленні промені не потрапляють в об'єктив і залишаються невидимими для очей, тому поле зору виглядає зовсім чорним. Якщо препарат містить будь-які частинки, наприклад, мікроорганізми, то косі промені частково відбиваються від їх поверхні, відхиляються від свого початкового напрямку і потрапляють в об'єктив. У цьому випадку дослідник бачить на інтенсивно чорному фоні яскраві об'єкти. Таке освітлення препарату досягається за допомогою спеціального темнопольного конденсора, яким замінюють звичайний конденсор мікроскопа. Темнопольний конденсор має затемнену середню частину, тому центральні промені світла, що йдуть від дзеркала, затримуються, а в площину препарату потрапляють тільки бічні промені світла, відбиті від дзеркальних поверхонь, розміщених всередині конденсора.

При мікроскопуванні в темному полі можна побачити об'єкти, величина яких охоплюється сотнями частинами мікрометра, тобто лежить за межами видимості звичайного мікроскопа. Проте спостереження об'єктів у темному полі дозволяє розрізняти тільки їхні контури, але не дає можливості розглянути внутрішню будову.

**Люмінесцентна мікроскопія** базується на здатності багатьох речовин біологічного походження і барвників світитися під впливом падаючого на них світла. Молекули речовин, здатних до люмінесценції, поглинають енергію світла, яке на них падає, в результаті чого вони переходять у збуджений стан, який характеризується вищим енергетичним станом. Цей перехід супроводжується віддачею надлишку енергії у вигляді світла – люмінесценції. Як правило, для збудження люмінесценції об'єкт, який володіє власною (первинною) люмінесценцією, освітлюють ультрафіолетовими променями з

довжиною хвилі 300-400нм чи синьо-фіолетовими променями із довжиною хвилі 400-460нм, оскільки в цьому випадку світло люмінісценції лежить у видимій частині спектра. Клітини мікроорганізмів, які слабо люмінесціюють або взагалі не люмінесціюють, обробляють спеціальними барвниками – флуорохромами (прімулін, акридин оранжевий, берберин-сульфат, ауорофосфін та ін.). Люмінесценцію об'єкта після обробки флуорохромами називають наведеною, чи вторинною.

Люмінесцентна мікроскопія збільшує контрастність зображення, дає можливість розрізнити окремі конкретні структури і навіть помітити їхні зміни при різних функціональних станах клітини. Люмінесцентна мікроскопія широко використовується для цитологічних досліджень, виявлення живих і мертвих клітин, для вивчення мікроорганізмів в ґрунті, мулі і ризосфері рослин.

Люмінесценцію у синьо-фіолетових променях видимого світла можна спостерігати за допомогою звичайного мікроскопа, встановивши на шляху променів синій скляний чи рідкий світлофільтр, який пропускає синьо-фіолетові промені видимого спектра. Сині промені, які заважають люмінесценції, усувають жовтим світлофільтром, який поміщають на окуляр мікроскопа, в результаті чого можна побачити на чорному фоні люмінесцентні об'єкти.

**Електронна мікроскопія.** Електронна мікроскопія дозволяє отримувати зображення частинок в 1000 разів менше тих, які можна побачити за допомогою світлового мікроскопа (збільшення цього мікроскопа досягає 100 000 разів).

Принцип дії електронного мікроскопа полягає в тому, що електрони, які випромінюються нагрітим електричним струмом вольфрамовим провідником, рухаються з великою швидкістю за рахунок високої електричної напруги між вольфрамовою ниткою і анодом. Електрони проходять по інерції через отвори аноду, потрапляють у конденсійну лінзу, а потім на досліджуваний об'єкт. Пройшовши через нього, електрони відхиляються від свого першопочаткового напрямку. Об'єктивна лінза, яка знаходиться на їх шляху, пропускає через наявну в ній діафрагму електрони малого кута нахилу, які дають збільшене проміжне зображення. Останнє збільшується проекційною лінзою, що дає кінцеве зображення на флуоресцентному екрані.

Зображення на флуоресцентному виникає завдяки тому, що різні деталі об'єкта дають різну густину електронів на відповідних їм ділянках флуоресцюючого екрана; ці ділянки мають різну яскравість. В тому випадку, коли на всьому екрані буде однакова густина електронів (якщо весь об'єкт однорідний і не затримує потоку електронів), екран буде весь світитися рівномірно і ніякого зображення на ньому не буде видно.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Розгляньте виданий Вам світловий мікроскоп і, користуючись таблицею, назвіть основні системи. У табл. 1 впишіть назви конструктивних деталей мікроскопа, що належать до цих систем. Біля кожної назви в дужках напишіть цифру, що відповідає цифрі на малюнку.



**Таблиця 1.**

Будова світлового мікроскопа

Основні системи мікроскопа	Конструктивні деталі
Механічна	
Освітлювальна	
Оптична	

**Завдання 2.** Приготуйте тимчасовий мікропрепарат волокон вати. Для цього візьміть предметне скло, нанесіть на нього краплину води та помістіть у неї волокна вати. Доторкніться до краю краплини одним із боків покривного скельця і поступово опустіть його у горизонтальне положення, накривши ним мікропрепарат. Рідина не повинна потрапити на покривне скельце. Розгляньте при малому (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 8$ ) та середньому (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 40$ ) збільшеннях виготовлений мікропрепарат. Знайдіть перехрещення волокон вати. У протоколі намалюйте волокна вати. На малюнку позначте: а) волокна вати, б) бульбашки повітря. Під малюнком зазначте загальне збільшення мікроскопа.

**Завдання 3.** Розгляньте при малому (окуляр x10, об'єктив x8) та середньому (окуляр x10, об'єктив x40) збільшеннях світлового мікроскопа постійний мікропрепарат мазка крові людини. Знайдіть у полі зору еритроцити та лейкоцити. Зверніть увагу на те, що еритроцити мають вигляд круглих, двоувігнутих лінз, їх цитоплазма забарвлена у червоний колір. Слід пам'ятати, що еритроцити периферійної крові людини не мають ядер. Намалюйте в протоколі червоним олівцем еритроцити і позначте цитоплазму. Лейкоцити дещо більші за розміром від еритроцитів і мають круглі або сегментовані ядра. Для детальнішого вивчення клітин крові скористайтесь імерсійним об'єктивом (x90). На покривне скельце мікропрепарату нанесіть краплину імерсійного масла. Знайдіть у полі зору лейкоцит із сегментованим ядром. Підрахуйте скільки у ньому сегментів. Зробіть у протоколі рисунок сегментоядерного лейкоцита. На рисунку позначте: а) цитоплазму, б) сегментоване ядро.

**Зробіть висновки.**

### **Завдання для самоконтролю**

1. Назвіть основні системи світлового мікроскопа. Яке їхнє призначення?
2. Яке максимальне збільшення можна отримати, користуючись світловим мікроскопом?
3. Як визначити збільшення мікроскопа, на якому визначається об'єкт?
4. З чого складається оптична система світлового мікроскопа?
5. З чого складається механічна система світлового мікроскопа?
6. З чого складається освітлювальна система світлового мікроскопа?
7. Назвіть переваги люмінесцентного мікроскопа над звичайним світловим мікроскопом.
8. Назвіть переваги фазово-контрастним мікроскопа над звичайним світловим мікроскопом.
9. Назвіть переваги електронного мікроскопа над звичайним світловим мікроскопом.
10. Які правила роботи зі світловим мікроскопом?
11. Які основні відмінності між об'єктами живої та неживої природи? До освітлювальної системи світлового мікроскопа належать.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2

### ВИВЧЕННЯ БУДОВИ ПРОКАРІОТИЧНОЇ ТА ЕУКАРІОТИЧНОЇ КЛІТИНИ

**Мета:** освоїти основні положення клітинної теорії, ознайомитись з будовою прокариотичної та еукаріотичної (рослинної і тваринної) клітини.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атласи, електронно-мікрокопічні фотографії.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Клітина – відкрита динамічна система, елементарна структурно – функціональна одиниця живого. У ній проявляються всі фундаментальні властивості живого – саморегуляція, самовідтворення, самооновлення.

Розрізняють два основні ступені організації клітин: прокариотичний і еукаріотичний. Прокариотичний тип клітин, або прокаріоти (від грец. *pro* – до кауоп – ядро) – це клітини, які не мають сформованого ядра, а їхній генетичний матеріал представлений нуклеоїдом – замкненою в кільце молекулою ДНК (плазмідною), не відокремленою від цитоплазми оболонкою. Еукаріотичний тип або еукаріоти (від грец. *eu* – добрий, кауоп – ядро) – це клітини одноклітинних і багатоклітинних організмів; вони мають каріолему (оболонку ядра) і молекули ДНК, упаковані за допомогою комплексу білків у хромосоми з мультирепліконним типом реплікації ДНК. До еукаріот належать клітини зелених рослин, грибів і тварин. Виділяють ще й мезокаріотичні клітини (грец. *mesos* – середній), які займають проміжне становище між про- та еукаріотами (характерні для панцерних джгутиконосців – динофлагелят).

Клітини відрізняються за розмірами, формою, функціями. Розміри клітин можуть бути різними, що переважно визначається їхніми функціями. Більшість із них мають діаметр від 10 мкм до 150 мкм, хоча трапляються дрібніші – 4-5 мкм (малі лімфоцити) і дуже великі, понад 1 м (нейрони – нервові клітини з відростками).

Форма клітин обумовлена фізичними факторами: поверхневим натягом і в'язкістю цитоплазми, розташуванням цитоскелета, механічною дією сусідніх клітин. Так, форма клітин може бути кулястою (яйцеклітина), кубічною та призматичною (епітеліальні клітини), поліедричною (печінкові – гепатоцити). Трапляються клітини веретеноподібної і видовженої форми (м'язові клітини), зірчасті (мезенхімні та ретикулярні клітини), а також клітини з відростками (нервові). На форму клітин, у першу чергу, впливає їх функціональна адаптація. Клітини можуть змінювати свою форму при активному переміщенні (лейкоцити крові). Симпласт – це структура, що виникає шляхом злиття клітин у процесі ембріонального розвитку; у дорослому організмі він є багатоядерним утвором видовженої форми з нерозчленованою цитоплазмою – це скелетні м'язові волокна (довжина їх становить від 1 мм до 130 мм).

Незважаючи на різноманітну форму, усі клітини рослин і тварин мають

однаковий загальний план будови, зумовлений подібністю функцій, спрямованих на підтримання життя клітин та їх відтворення

До складу протоплазми (всієї активної частини) клітини входить багато хімічних елементів, які умовно поділяють на чотири групи:

1. Основні (або біогенні елементи): вуглець, кисень, водень, азот, фосфор, сірка, які становлять у складі клітин 96% від її маси. Вони входять до складу білків, жирів, вуглеводів та нуклеїнових кислот.

2. Макроелементи: кальцій, калій, залізо, натрій, хлор, магній – становлять 2-3% від маси клітини.

3. Мікроелементи: манган, нікель, кадмій, кобальт – 0,1% від маси клітини.

4. Ультрамикроелементи: бор, цинк, молібден, ванадій, золото – складають 0,01% від маси клітини.

Не буде помилкою сказати, що майже всі стабільні елементи періодичної системи входять до складу протоплазми. Хімічні сполуки, що входять до складу клітини: вода, білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, жири і низькомолекулярні сполуки (АТФ, креатин-фосфат), а також мінеральні солі.

Вода в живій протоплазмі становить близько 74-85% від маси клітини. Функції. (1) бере участь у підтримці структури клітини, (2) служить розчинником і середовищем для дифузії, (3) бере участь у реакції гідролізу, (4) регулює спрямованість і швидкість обміну речовин, (5) вода забезпечує транспорт речовин як в самій клітині, так і між клітиною та оточуючим її середовищем.

Білки. Серед органічних речовин у клітині найбільшу частину становлять білки – 10–20% сирої маси (50-80% сухого залишку).

Функції. (1) каталітична, (2) сигнальна, (3) скоротлива, (4) транспортна, (5) захисна, (6) структурна.

Нуклеїнові кислоти складають у клітині 1-2% (5-8% від сухого залишку).

Функції – збереження, відтворення в точних копіях і передача генетичної інформації в ряді клітинних поколінь.

Вуглеводи – це група повсюдно поширених сполук, займають 1 % маси від сухого залишку клітини.

Функція. Виконують в основному енергетичну функцію, а також входять у склад нуклеїнових кислот (пентози) та біологічних мембран.

Ліпіди займають у клітині 5-15 % від сухої речовини. Ліпіди – це похідні вищих жирних кислот, спиртів або альдегідів.

Функція. Їх біологічне значення дуже важливе в утворенні біологічних мембран, енергетична функція.

Мінеральні речовини – підтримують осмотичний тиск, регулюють важливі біологічні процеси в клітині: збудливість, скоротливість. Осмотичний тиск в клітині відповідає 0,9 % хлористого натрію.

Знаючи будову клітини, її ультраструктурну організацію, можна пізнати та зрозуміти закономірності процесів, що забезпечують життєдіяльність окремої клітини і багатоклітинного організму в нормі та при патологічних процесах.

Основу клітини складає гіалоплазма, оточена клітинною мембраною. Гіалоплазма представлена ядром і цитоплазмою. Цитоплазма – середовище, яке

оточує ядро і міститься всередині клітинної оболонки (плазмолемі). Цитоплазма є метаболічним робочим апаратом клітини. У ній зосереджені органели і відбуваються основні метаболічні процеси. Це пластична диференційована трифазна система, що складається з гіалоплазми, внутрішньоклітинних мембранних структур і вмісту мембранної системи. У гіалоплазмі розміщені органели і включення. Органели (органойди) – це постійно присутні й обов'язкові для всіх клітин мікроструктури, які мають характерну будову, притаманну лише тій чи іншій органелі, та виконують життєво важливі функції. Розрізняють органели загального значення і спеціальні органели. До органел загального значення належать ті, які є в усіх клітинах, або протягом усього життя клітин, або в певні його періоди. Це рибосоми, ендоплазматична сітка, мітохондрії, комплекс Гольджі, центросома, лізосоми, пероксисоми, пластиди (в рослинних клітинах). Спеціальні органели є лише в окремих високоспеціалізованих клітинах: міофібрили – у м'язових, нейрофібрили – у нервових, тонофібрили – в епітелії шкіри, війки – в епітелії повітропроводних шляхів, джгутики – у сперматозоїдах. Органели можуть бути побудовані з різних елементарних структур, більшість із них належать до органел мембранного типу; до органел гранулярного типу відносять рибосоми, субодиноці яких є рибонуклеопротейдними тільцями; за мікротубулярним типом побудовані центросома, війки і джгутики.

### Хід роботи

**Завдання 1.** Розгляньте форми клітин на мікропрепаратах згідно таблиці 1 та замалюйте їх (рис.1).

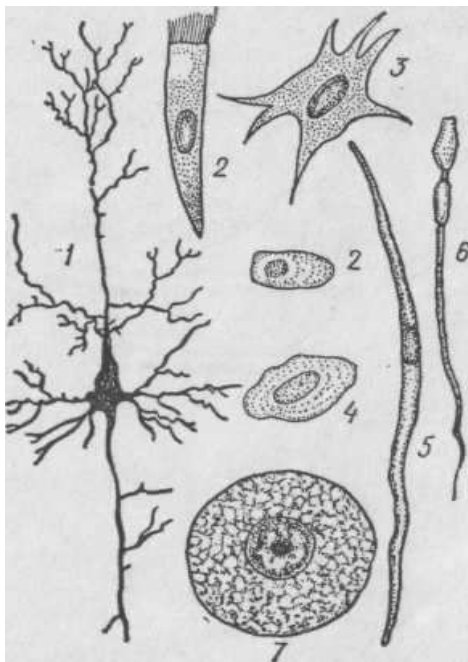
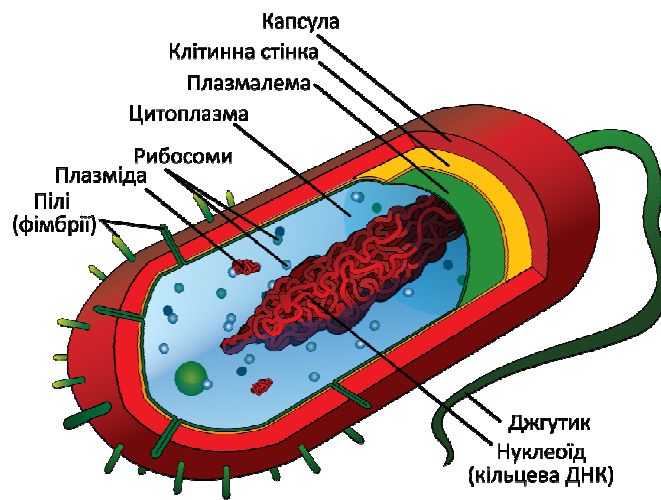


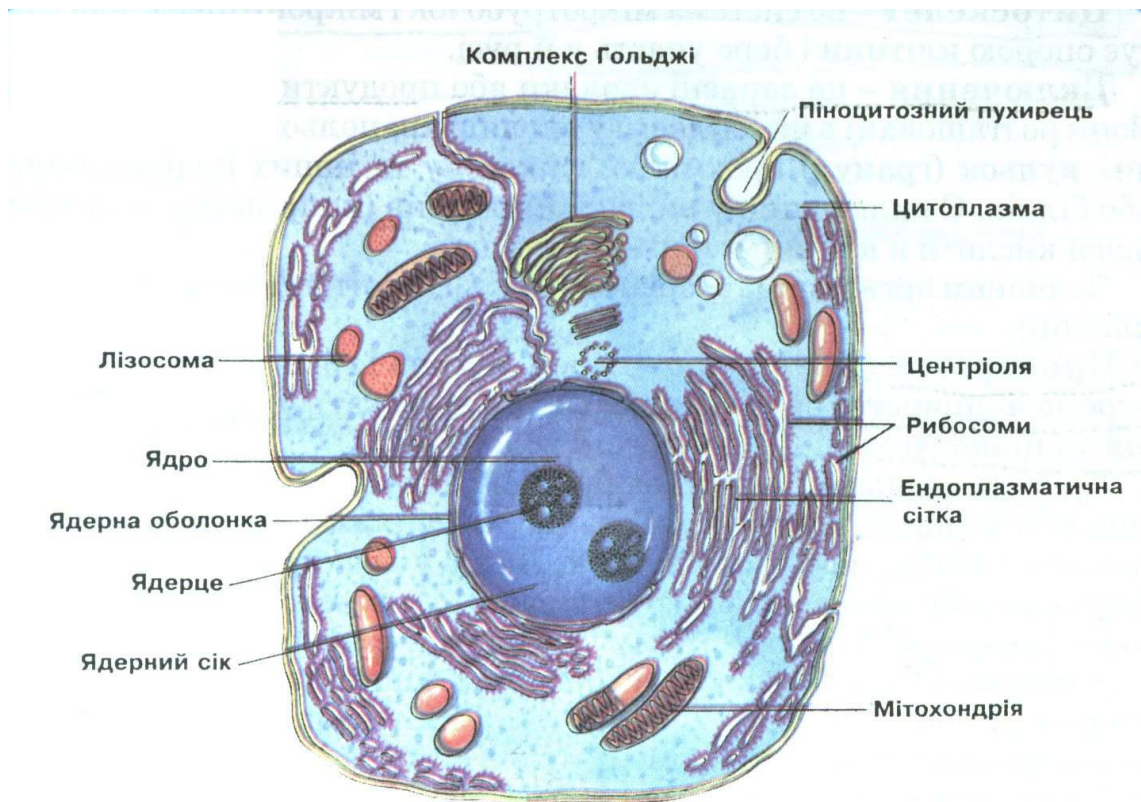
Рис.1. Різні форми тваринних клітин:  
1 – нервова, 2 – епітеліальні, 3 – сполучнотканинна, 4 – еритроцит, 5 – м'язова клітина, 6 – чоловіча статеві клітина, 7 – яйцеклітина.

**Завдання 2.** Засвоїти знання про будову та найважливіші відмінності прокаріотичних та еукаріотичних клітин, зарисувати їх (рис.2; 3; 4).



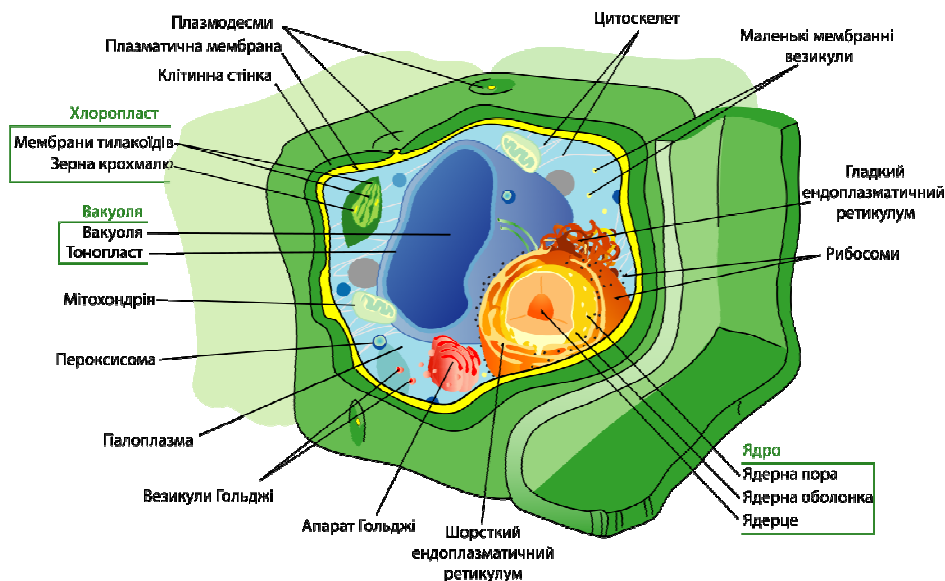


**Рис.2. Схема будови прокаріотичної клітини**



**Рис.3. Будова тваринної клітини**





**Рис.4. Будова рослинної клітини**

**Завдання 3.** Розгляньте постійний мікропрепарат листка. За допомогою світлового мікроскопа, спочатку при малому збільшенні (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 8$ ), а потім при середньому (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 40$ ) знайдіть у клітинах рослини клітинну стінку (на мікропрепараті вона безбарвна, але видно її контури), хлоропласти (овальні тіลця зеленого кольору), вакуолю (одну або більше). Ядер у незабарвлених клітинах не видно. На рисунку позначте: а) клітинну стінку; б) цитоплазму; в) хлоропласти.

**Завдання 4.** Приготуйте тимчасовий мікропрепарат клітин букального епітелію людини. Для цього стерильним шпателем візьміть зішкряб епітелію слизової оболонки щок. Клітини зскрібка рівномірно тонким шаром розмістіть на поверхні чистого сухого предметного скла. Нанесіть на мікропрепараті 1-2 краплі 1% розчину ацетоорсеїну. Мікропрепарат накрийте покривним скельцем і розгляньте його спочатку при середньому (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 40$ ) збільшенні, а потім під імерсійним об'єктивом ( $\times 90$ ). Знайдіть у полі зору епітеліальні клітини. Зарисуйте епітеліальні клітини, позначивши на рисунку цитоплазму та ядро. Знайдіть у полі зору мікроскопа на поверхні клітин букального епітелію скупчення бактеріальних клітин, які є складовою частиною нормальної мікрофлори рота здорової людини.

**Завдання 5.** Заповніть таблицю: „Відмінності прокаріотичних та еукаріотичних клітин”.

Таблиця 1.

Ознаки	Прокаріотична клітина	Еукаріотична клітина
Розмір клітини		
Життєва форма		
Генетичний матеріал		
Органели		
Клітинна стінка		
Капсула		
Джгутики		
Мітоз		
Рибосоми		

**Зробіть висновки.**

### **Завдання для самоконтролю**

1. Яка будова прокаріотичної клітини?
2. Яка будова рослинної та тваринної клітини?
3. Назвіть найважливіші відмінності еукаріотичних клітин від прокаріотичних клітин?
4. Які елементи знаходяться в клітині у складі органічних речовин?
5. Які основні речовини входять до складу клітини?
6. Який відсоток сухої ваги клітини складають:
  - а) білки;
  - б) вуглеводи;
  - в) жири;
  - г) нуклеїнові кислоти;
  - д) мінеральні речовини.
7. Які хімічні макроелементи входять до складу клітини?
8. Які хімічні мікроелементи входять до складу клітини?
9. Які основні структурні складові частини клітини?
10. Які існують форми клітин у зв'язку з виконуваними функціями?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

### ВИВЧЕННЯ БУДОВИ КЛІТИННИХ ОРГАНЕЛ

**Мета:** засвоїти основні відомості про будову і функції органел цитоплазми, визначати їх, виходячи із їхніх структурних і цитохімічних особливостей; навчитися ідентифікувати структури ядра на мікро- і ультрамікроскопічному рівні.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атлас, електронно-мікроскопічні фотографії.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Цитоплазма (від грец. cytos – клітина і plasma – сформоване) – матеріал, який оточує ядро і міститься всередині клітинної оболонки (плазмолемі). Цитоплазма є метаболічним, робочим апаратом клітини. У ній зосереджені органели і відбуваються основні метаболічні процеси. Це пластична диференційована трифазна система, що складається з гіалоплазми, внутрішньоклітинних мембранних структур і вмісту мембранної системи. У гіалоплазмі розміщені органели і включення.

Органели (органойди) – це постійно присутні й обов'язкові для всіх клітин мікроструктури, які мають характерну будову, притаманну лише тій чи іншій органелі, та виконують життєво важливі функції. Розрізняють органели загального значення і спеціальні органели. До органел загального значення належать ті, які є в усіх клітинах, або протягом усього життя клітин, або в певні його періоди. Це рибосоми, ендоплазматична сітка, мітохондрії, комплекс Гольджі, центросома, лізосоми, пероксисоми, пластиди (в рослинних клітинах). Спеціальні органели є лише в окремих високоспеціалізованих клітинах: міофібрили – у м'язових, нейрофібрили – у нервових, тонофібрили – в епітелії шкіри, війки – в епітелії повітропровідних шляхів, джгутики – у сперматозоїдах.

Органели можуть бути побудовані з різних елементарних структур, більшість із них належать до органел мембранного типу; до органел гранулярного типу відносять рибосоми, субординиці яких є рибонуклеопротейдними тільцями; за мікротубулярним типом побудовані центросома, війки і джгутики.

Комплекс Гольджі – це органойд, що дістав свою назву за ім'ям ученого К.Гольджі, який вперше побачив його в цитоплазмі нейронів, і назвав сітчастим апаратом (1898). У клітинах багатьох безхребетних тварин і рослин комплекс Гольджі представлений у вигляді окремих елементів, які мають форму округлих, серповидних або паличковидних тілець під назвою диктіосом. Будова комплексу Гольджі дуже змінюється не тільки в окремих клітинах, а й в тій самій клітині в різні періоди її функціональної діяльності. Незважаючи на

різноманітність форми та будови комплексу Гольджі, структура його елементів у різних клітинах однотипна. За даними електронномікроскопічного дослідження ультраструктура комплексу включає три основні компоненти:

- 1) систему плоских цистерн, обмежених гладенькими мембранами;
- 2) систему трубочок, які відходять від цистерн;
- 3) великі і дрібні міхурці, що замикають кінцеві відділи трубочок.

Усі три компоненти апарата Гольджі взаємозв'язані і можуть виникати один з одного. Мембранам усіх трьох компонентів властива тришарова будова. У клітинах різних органів і тканин компоненти апарата Гольджі розвинені неоднаково. До складу мембран апарата входять фосфоліпіди і білки, ферменти, які зв'язані з синтезом полісахаридів і ліпідів.

Функції. Цей органоїд бере участь в секреторній діяльності клітини, є кінцевим пунктом у виробленні клітинного секрету, має здатність відокремлювати і нагромаджувати отруйні для клітини речовини, які надходять у неї ззовні, бере участь в утворюванні зерен жовтка при розвитку ооцитів. У рослинних клітинах апарат зв'язаний з нагромадженням в його великих вакуолях густої речовини, з якої утворюється перегородка між дочірніми клітинами після поділу материнської (частини апарата Гольджі розподіляються між двома дочірніми клітинами). На мембранах цього органоїда відбувається синтез полісахаридів і ліпідів. Цей клітинний органоїд становить спадкоємну структуру.

Мітохондрії – це обов'язковий органоїд кожної клітини всіх багатоклітинних і одноклітинних організмів. Розміри і форма мітохондрій надзвичайно змінюються. За формою можуть бути округлими, овальними, паличковидними, нитковидними або дуже розгалуженими тільцями. Форма мітохондрій може змінюватися не тільки в клітинах різних організмів, різних органів і тканин одного організму, а й в одній клітині в різні моменти її життєдіяльності. Змінюють свою форму і при різноманітних впливах на клітину. Кількість мітохондрій також не однакова в різних типах клітин: їх число залежить від функціональної активності клітини (у молодих ембріональних клітинах їх більше, ніж у клітинах старіючих). Змінюється і розміщення мітохондрій у різних клітинах, але у багатьох клітинах вони розподілені досить рівномірно по всій цитоплазмі. В ряді клітин локалізуються в певній ділянці, зв'язані з найбільш активною діяльністю (секреторні клітини).

Будова мітохондрій. З допомогою електронного мікроскопа виявлено, що мітохондрія обмежена зовнішньою мембраною. Під зовнішньою мембраною міститься внутрішня, що має типову тришарову будову. Між мембранами є вузький щілиновидний простір. Зовнішня і внутрішня мембрани становлять оболонку мітохондрії. Від внутрішньої мембрани відходять у внутрішній простір мітохондрії – гребені, або кристи. Внутрішній простір мітохондрії, де містяться кристи, також наповнений гомогенною речовиною, що має назву матрикса. Речовина матрикса є густішої консистенції, ніж і цитоплазма навколо мітохондрії. Останнім часом у матриксі мітохондрій виявлено рибосоми. Число крист неоднакове в мітохондріях різних клітин. За хімічним складом мітохондрії досить складні утвори, які включають білки (65-70% сухої ваги), ліпіди

(головним чином фосфоліпіди) – 25-10% і нуклеїнові кислоти (РНК незначна кількість, а останнім часом добуті переконливі дані, що в них міститься і ДНК (небагато). Входить ряд вітамінів: А, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, К, Е та інші. У них є багато ферментів, які беруть активну участь в енергетичному обміні клітини (СДГ, ЦХО), локалізуються і ферменти циклу Кребса.

Функції. Мітохондрії – це органоїд клітини, де виробляється основна маса енергії клітини, яка сконцентрована в АТФ і використовується потім у різноманітних процесах синтезу – в усіх видах клітинної діяльності (рух, дихання, ріст, продукція секретів). Їх часто називають "основною енергетичною станцією" клітини тому, що в них містяться ферменти, які окислюють вуглеводи, деякі амінокислот, жирні кислоти. У мітохондріях відбувається і синтез білка, який здійснюється в рибосомах, що містяться в матриксі мітохондрій. Мають велике значення у біосинтетичних процесах у клітині поряд з ядром та рибосомами цитоплазми. Зазнають значних змін при різноманітних впливах на клітину, при зміні її фізіологічного стану. Одним із шляхів утворення можна вважати їх поділ. Вважають, що мітохондрії, маючи здатність до поділу, є самовідтворні органоїди, і не можуть виникати заново.

Лізосоми – їх відкриття пов'язане з роботами де-Дюва і були відкриті в 1955 р. Диференціальним центрифугуванням удалося поділити фракцію мітохондрій на 2 частини: а) важку, яка містить справді мітохондрії з усіма характерними для них ферментами; б) легку, в якій виявилось багато гідролітичних ферментів (кисла фосфатаза, рибонуклеаза), які зосереджені в особливих тільцях названих лізосомами. Вони являють собою невеликі округлі часточки, розташовані в цитоплазмі. Розміри коливаються в межах 1 мк. Кожна лізосома обмежена густою мембраною, всередині якої є понад 12 гідролітичних ферментів, які мають найбільшу активність в кислому середовищі. У мембрани лізосом типова тришарова будова.

Функції. Ферменти в лізосомах можуть розщеплювати біологічно важливі сполуки, тобто білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди. Ці речовини надходять у клітину у вигляді їжі шляхом фагоцитозу та піноцитозу, і лізосоми беруть активну участь у їх розщеплюванні, або лізисі. Сукупність лізосом можна назвати "травною системою" клітини, бо вони беруть участь у перетравлюванні всіх речовин, що надходять у клітину, можуть перетравлювати під час відмирання окремі структури клітини, а також цілі відмерлі клітини. Ферменти лізосом здатні перетравлювати і саму клітину, в якій вони перебувають, але припускають, що клітину від "самоперетравлювання" захищає та мембрана, яка обмежує кожную лізосому. Порушення цілісності мембрани лізосом призводить до пошкодження навколишньої цитоплазми і клітинних органоїдів. Лізосоми виявлено в клітинах багатьох органів багатоклітинних тварин, у найпростіших, а останнім часом і в клітинах рослин.

Пероксисоми (мікротільця) є органелами у вигляді міхурців діаметром 0,5-1,5 мкм, оточених мембраною і заповнених дрібнозернистим матриксом, що в центрі (серцевині) містить волокнисті та трубчасті структури і щільний кристалоїд. У пероксисомах виявлено ферментні системи, склад яких може дещо змінюватися. Основними з них є ферменти окиснення амінокислот та

перекисного окиснення – каталаза і пероксидаза, оксидаза d-амінокислот і уратоксидаза. Серцевина відповідає ділянці конденсації ферментів.

Утворення пероксисом відбувається шляхом відбруньковування їх від агранулярної ЕС, ферменти їх синтезуються частково в гранулярній ЕС, а частково – в гіалоплазмі. Вважають, що нові пероксисоми утворюються шляхом розщеплення існуючих завдяки постійному надходженню ферментів, а також завдяки відокремленню нових пероксисом після збільшення розмірів існуючих внаслідок збагачення їх ферментами, що поступають із гіалоплазми. Пероксисоми оновлюються кожних 5-6 днів.

Функції пероксисом. Цим органелам належить важлива роль у процесах внутрішньоклітинної детоксикації. Каталаза розщеплює пероксид водню ( $H_2O_2$ ), який утворюється в процесах перекисного окиснення і є отруйним для клітин. Ферменти пероксисом забезпечують також розщеплення сечової кислоти, беруть участь у ряді катаболічних і анаболічних реакцій, в обміні амінокислот, поліамінів, оксалату, в регуляції обміну ліпідів. У пероксисомах печінкових клітин розщеплюється до 50% поглинутого етилового спирту.

Ядро – обов'язкова частина всякої повноцінної здатної ділитися клітини вищих тварин і рослин. Бактерії і деякі нижчі водорості (синьо-зелені) не мають сформованого ядра. Проте основний компонент ядра – носії спадкової інформації клітини, хромосоми – є в усіх без винятку ядрах.

Форма ядер досить різноманітна і в ряді випадків відповідає формі клітини. Кількість ядер також може змінюватись: типовою є одноподібна клітина, але трапляються клітини двоподібні (деякі клітини печінки і хрящові клітини) і багатоподібні (наприклад, волокна поперечносмугастого м'яза і клітини сифонових водоростей містять кілька сотень ядер).

Відношення об'єму ядра до об'єму цитоплазми (ядерно-плазмове відношення) в клітинах певного типу в строго стандартних умовах до певної міри стає. Проте воно може зазнавати значних змін. Смысл ядерно-плазмове відношення полягає в тому, що ядро певного розміру має здатність контролювати певну масу цитоплазми. Проте для різних клітин ядерно-плазмове відношення різко відмінні.

Розрізняють: ядро в стані інтерфази (звичайне ядро функціональної клітини, його також можна назвати ядром клітини, що не ділиться) і ядро в процесі клітинного поділу. Проте не всі інтерфазні ядра однакові. Розрізняють такі: 1) ядра клітин, які розмножуються між двома поділами; 2) ядра клітин, які вже не діляться, але здатні до поділу; 3) ядра клітин, які зовсім втратили здатність ділитися.

Основними компонентами ядра є: 1) ядерна оболонка; 2) ядерний сік - каріоплазма; 3) одне або два звичайно округлих ядерця; 4) хромосоми;

Основну масу сухої речовини ядра становлять білки (70-96 %) і нуклеїнові кислоти, крім того, в ядрі містяться ліпіди та всі інші речовини, характерні для цитоплазми клітин. Білки ядра належать до двох типів: 1) гістони, або протаміни (основні білки); 2) кислі або негістонні білки.

Нуклеїнові кислоти – ДНК і РНК – є в усіх без винятку ядрах, причому майже вся ДНК у ядрах клітин організмів різних видів може дуже різко

змінюватись. У ядрі вся ДНК зв'язана з хромосомами. Більша частина РНК локалізована в ядерці, але вона також є і в хроматині, і в каріоплазмі. Кількість РНК у ядрі нестала і дуже змінюється залежно від функціонального стану клітин. Ліпідів у ядрі небагато, і вони локалізовані головним чином в оболонці. Серед мінеральних речовин у ядрі виявлено Р, К, №, а також Са і Mg, які мають особливо велике значення.

Оболонка ядра подвійна, складається з внутрішньої і зовнішньої ядерних мембран. Між цими мембранами є перинуклеарний простір. Зовнішня ядерна мембрана звичайно зв'язана з каналами ЕС. Оболонка ядра містить численні пори. Вони утворюються змиканням зовнішньої та внутрішньої мембран і мають різний діаметр. У деяких ядрах яйцеклітини пор дуже багато і вони і правильними інтервалами розташовані на поверхні ядра. Кількість пор у ядерній оболонці змінюється в різних типах клітин. Пори розташовані на однаковій відстані одна від одної.

Функція. Завдяки порам каріоплазма входить у безпосередній контакт з цитоплазмою. Крізь пори легко проходять досить великі молекули нуклеозидів, нуклеотидів, амінокислот і білків, і таким чином здійснюється обмін між цитоплазмою і ядром.

Хроматинові структури. Важливою цитохімічною ознакою хроматину є наявність в ньому ДНК. Практично вся ДНК ядра локалізується в хроматині, який забарвлюється з допомогою високо-специфічної для ДНК реакції Фельгена. В інших ядерних компонентах ДНК відсутня. Поряд з ДНК, в хроматині завжди присутні основні білки (гістони), які зв'язані з ДНК, і утворюють нуклеогістон. Хроматинові структури містять також невелику кількість кислих білків, а інколи і РНК.

Ядерце – постійна частина типового інтерфазного ядра. Його розміри дуже змінюються і залежать від функціонального стану клітини. За фізичними властивостями ядерце – найгустіша частина ядра. За хімічним складом ядерце відзначається порівняно високою концентрацією РНК. Основні компоненти, з яких складаються ядерця, – кислі білки типу фосфопротеїнів і РНК (від 3 до 7%). Виявляються вільні або зв'язані фосфати Са, К, Mg, Fe, Zп. Чи є ДНК у ядерці, не доведено. Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що основу ядерця утворює білкова фібрилярна речовина і гранулярна субстанція. Рибосоми ядерця складаються на 50% з негістонного білка і на 50% з РНК.

Функція ядерця полягає в утворенні або складанні рибосом, якими забезпечується цитоплазма. Рибосоми формуються в ядерці, але початок утворення РНК і білка, з яких формуються рибосоми, визначається хромосомами. Ядерце – це не постійна структура, воно зникає на початку мітозу і знову утворюється в кінці телофази. Ядерця можуть утворюватись у великих кількостях під час оогенезу. У період жовткоутворення формуються ділянки ядерця, які потім зникають. Є дані про те, що іноді ядерця переходять через мембрану ядра в цитоплазму. Функціональні зміни ядерця пов'язані із змінами їх розміру й кількості. Оскільки в ядерці формуються рибосоми, змінюється і швидкість утворення рибосом, а отже, й інтенсивність білкового синтезу.

Ядерний сік, або каріоплазма, у вигляді неструктурованої маси оточує хромосоми і ядерця. В'язкість ядерного соку приблизно така сама, як і в'язкість основної речовини цитоплазми. Кислотність ядерного соку, яку було визначено мікроін'єкцією індикаторів у ядро, дещо вища, ніж цитоплазми. В ядерному соку є білки і рибонуклеїнові кислоти.

За даними І.Збарського, в ядерному соці клітини печінки щурів 92-98% сухої речовини становлять білок глобулінової фракції і 2-8% – РНК. Крім того, в ядерному соці містяться ферменти, які беруть участь у синтезі нуклеїнових кислот у ядрі і рибосоми.

Ядро здійснює складну координацію і регуляцію процесів синтезу РНК, програмує синтез білка, який здійснюється в цитоплазмі. Проте саме ядро так само зазнає впливу цитоплазми, бо синтезовані в ній ферменти надходять у ядро і вони необхідні для його нормального функціонування. Існує взаємний вплив ядра і цитоплазми, при якому головна роль все ж належить ядру як охоронцеві спадкової інформації, що передається при поділі від однієї клітини до іншої.

### Хід роботи

**Завдання 1.** Розгляньте і вивчіть склад і шари зовнішньої клітинної мембрани (плазмолеми), зарисувати її будову (рис.1).

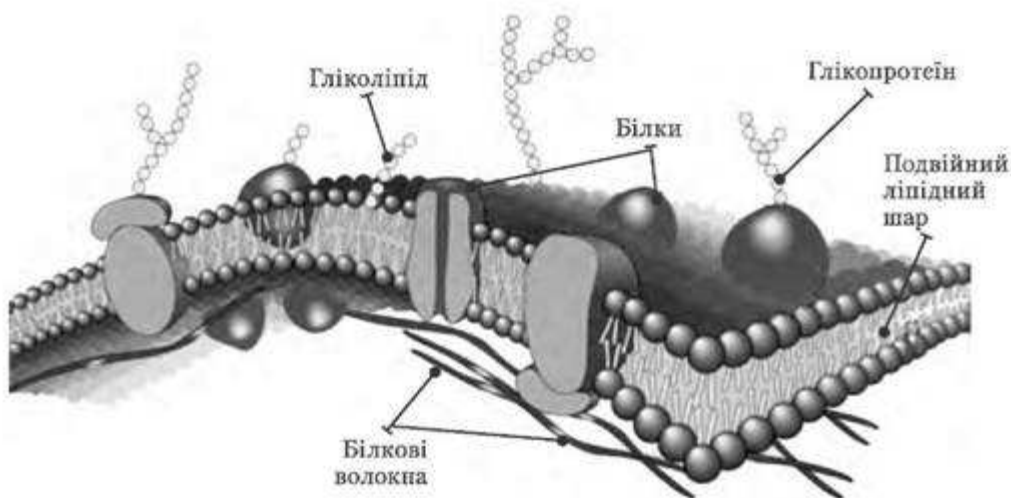


Рис. 1. Рідинно-мозаїчна модель будови елементарної біологічної мембрани.

**Завдання 2.** Розгляньте і зарисуйте будову ендоплазматичної сітки (ЕС). На рисунку позначте мембрану, рибосоми і порожнину ЕС (рис.2).



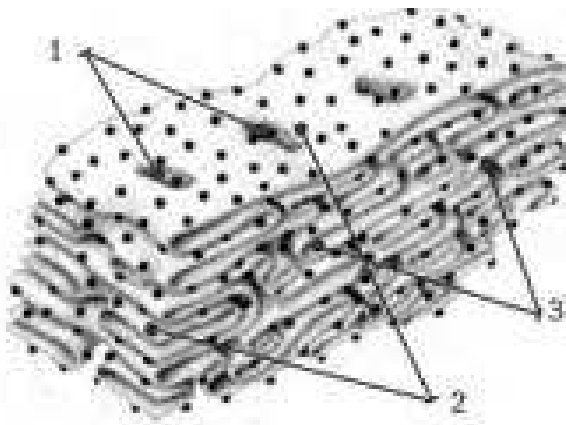


Рис. 2. Ендоплазматична сітка  
1 – мембрана ЕС, 2 – рибосоми, 3 – порожнина ЕС

**Завдання 3.** Розгляньте і замалюйте будову рибосоми. На рисунку позначте дві субодиниці (малу і велику), і-РНК; аміноацил-т-РНК; амінокислоту; поліпептидний ланцюг, мембрану ЕС (рис.3).

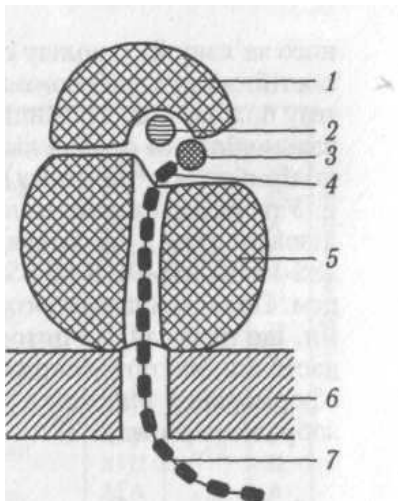


Рис. 3. Схема будови рибосоми, сполученої з ендоплазматичним ретикуломом: 1 – мала субодиниця; 2 – і-РНК; 3 – аміноацил-т-РНК; 4 – амінокислота; 5 – велика субодиниця; 6 – мембрана ендоплазматичної сітки; 7 – поліпептидний ланцюг.

**Завдання 4.** Розгляньте і замалюйте будову комплексу Гольджі (апарата Гольджі). На рисунку позначте плоскі цистерни, трубочки, великі і малі міхурці (рис.4).

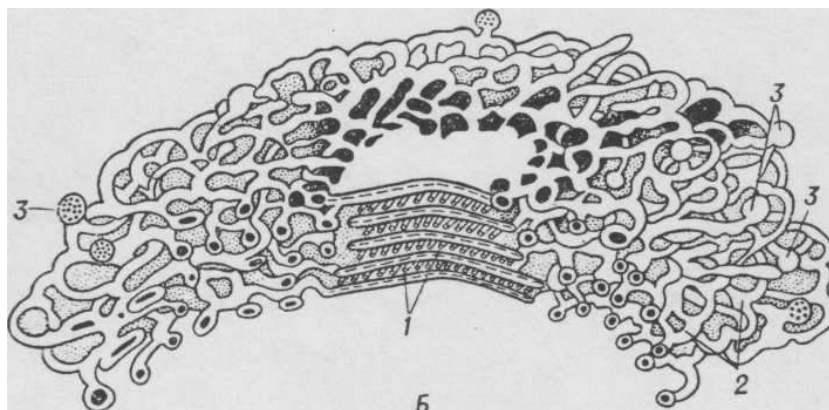


Рис. 4. Ультраструктури апарата Гольджі: 1 – плоскі цистерни; 2 – трубчасті продовження цистерн; 3 – великі і малі міхурці.

**Завдання 5.** Ознайомтеся з будовою мітохондрій і замалюйте їх. На рисунку позначте зовнішню і внутрішню мембрани, кристи, матрикс, головки грибоподібних тілець (рис.5).

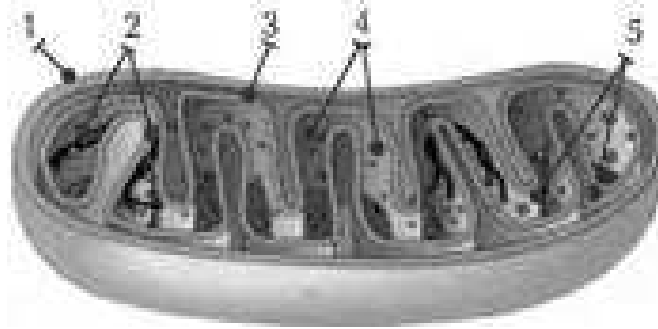
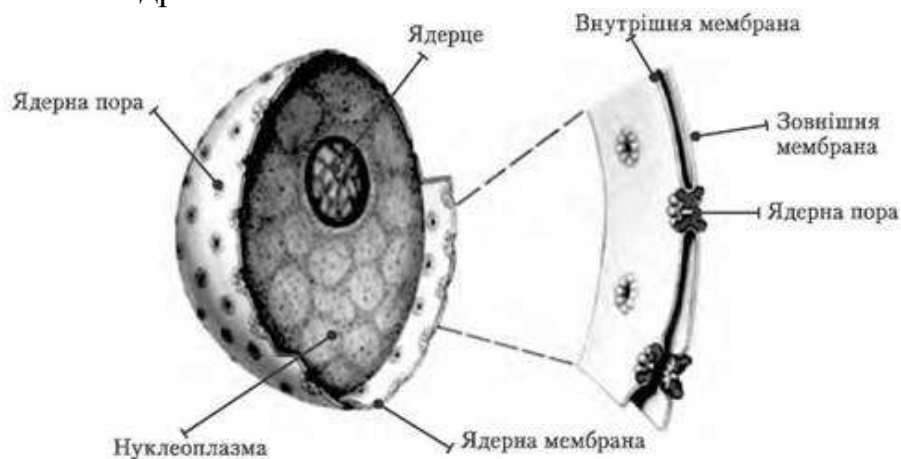


Рис. 5. Схема будови мітохондрії.

1 – зовнішня мембрана, 2 – ДНК, 3 – внутрішня мембрана, 4 – рибосоми, 5 – кристи.

**Завдання 6.** Вивчіть і замалюйте схему будови ядра. На рисунку позначте складові компоненти ядра.



**Зробіть висновки.**

### Завдання для самоконтролю

1. Що таке клітинні органоїди?
2. Як класифікують органели?
3. Що таке гіалоплазма?
4. Яка фізико-хімічна характеристика матриксу?
5. Які типи ендоплазматичної сітки зустрічаються в цитоплазмі?
6. Що таке полісоми?
7. В яких клітинах комплекс Гольджі найкраще розвинений?
8. Яку будову мітохондрій видно за допомогою електронного мікроскопу?
9. Яку роль виконують пероксисоми?
10. Охарактеризуйте будову ядра. Вкажіть які функції вонро виконує.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

### ВИВЧЕННЯ ПРОЦЕСУ ПОДІЛУ КЛІТИНИ. МІТОЗ. МЕЙОЗ

**Мета:** ознайомитись з механізмами поділу клітин, перебігом фаз під час мітозу і мейозу, з будовою і типами хромосом, біологічним значенням мітозу і мейозу, навчитись розрізняти на мікропрепаратах інтерфазні клітини та клітини, що перебувають на різних фазах мітозу, виявляти відмінності мітозу в рослинних і тваринних клітинах.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атласи, електронно-мікрокопічні фотографії.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Репродукція клітин лежить в основі розвитку, росту і регенерації організму. Розрізняють декілька способів репродукції клітини: мітоз (непрямий поділ), ендорепродукція (ендомітоз і політенія), амітоз (прямий поділ) і мейоз.

Мітоз – найзагальніший спосіб поділу, який властивий рослинам, тваринам і найпростішим. Суть цього процесу полягає в тому, що в його результаті виникають дві дочірні клітини, з однаковою кількістю хромосом і ДНК.

Підготовка до мітозу. У житті клітини, яка розмножується, розрізняють інтерфазу – період між поділом і власне мітоз.

Інтерфаза – це підготовка клітини до поділу, на її частку припадає 90 % всього клітинного циклу. На цій стадії відбуваються найбільш активні метаболічні процеси. Ядро має гомогенний вигляд – воно заповнено тонкою сіткою, яка складається з переплечених між собою досить довгих і тонких ниток – хромонем. Ядро відповідної форми, оточене двошаровою ядерною мембраною з порами діаметром близько 40 мкм. В інтерфазному ядрі проходить підготовка до поділу. Інтерфазу поділяють на певні періоди:  $G_1$  – період, який передуює реплікації ДНК;  $S$  – період реплікації ДНК;  $G_2$  – період з моменту закінчення реплікації до початку мітозу. Тривалість кожного періоду можна визначити, скориставшись методом радіоавтографії.

Мітотичний поділ клітини складається з таких чотирьох стадій: профазі, метафазі, анафазі і телофазі.

Профаза. У профазі хромосоми конденсуються, ядерна оболонка і ядерця зникають, спарені центріолі розходяться до полюсів клітини.

Метафаза. Характерна тим, що хромосоми спрямовуються до екватора клітини і формують екваторіальну (метафазну) пластинку. Від центріолей відходять мікротубули мітотичного веретена, а від центромер, що знаходяться на первинних перетяжках хромосом, відходять мікротубули назустріч центріольярним і таким чином формується веретено поділу.

Анафаза. Хроматиди гомологічних хромосом розходяться до полюсів. Рухаються з допомогою мікротубул мітотичного веретена.

Телофаза. Хромосоми досягають полюсів, частково деконденсуються, формується ядерна оболонка з цистерн ендоплазматичної сітки, появляються ядерця (їх утворюють хромосоми – «організатори ядерця», що мають вторинні перетяжки).

Цитокінез. Поділ цитоплазми на дві дочірні клітини відбувається по-різному в рослинних і тваринних клітинах. Посередині тваринної клітини утворюється перетяжка, яка врешті перешнуровує клітину на дві дочірні. В рослинних клітинах проростає особлива пластинка — флагмопласт, що відділяє дочірні клітини.

Розрізняють 3 типи мітозу:

1) *стовбуровий*, внаслідок якого утворюється група однорідних клітин (ентероцити – епітеліальні клітини слизової кишечника);

2) *асиметричний*, при якому утворюються дві різні клітини (наприклад, при поділі зиготи жаби);

3) *трансформативний* мітоз особливий тим, що обидві дочірні клітини зазнають не обернених змін (епітелій шкіри).

Амітоз, або прямий поділ клітини, на відміну від мітотичного протікає зі збереженням інтерфазного ядра: в ньому не утворюються хромосоми, зберігається ядерце і ядерна оболонка. При амітозі збільшене ядро, не змінюючи своєї структури, ділиться на дві (або три) більш чи менш рівномірні частини шляхом перешнуровування, утворення перегородки, потім виникає плазмотомія і утворюються дві клітини.

Розрізняють 3 типи амітозу:

1 – генеративний, спостерігається при поділі спеціалізованих висококолоїд-них клітин;

2 – реактивний, спостерігається при різних ушкоджуючих діях (дія рентгенівських променів) і порушеннях обмінних процесів (голодування, порушення нуклеїнового обміну, інервація тканин і інші);

3 – дегенеративна форма амітозу виникає у старіючих, дегенеруючих клітинах.

Клітинний цикл, або життєвий цикл клітини, – це період існування клітини від моменту її утворення шляхом поділу материнської клітини до власного поділу або смерті. У стовбурових клітинах багатоклітинних організмів життєвий цикл складається з чотирьох періодів: пресинтетичного G1, синтетичного S, постсинтетичного G2 і мітозу M. У високоспеціалізованих клітинах у життєвому циклі виділяють ще Go-період. Біологічне значення мітозу полягає в точному розподілі хромосом між дочірніми клітинами, що забезпечує утворення генетично ідентичних клітин. Знаючи механізм поділу клітин у багатоклітинному організмі, можна зрозуміти особливості його індивідуального розвитку та перебігу багатьох захворювань у людини.

Мейоз здійснюється шляхом двох клітинних поділів, позначених цифрами I і II, в результаті яких одержується чотири клітини, кожна із яких містить гаплоїдний набір хромосом. Мейоз включає два поділи та інтерфазу між ними. Перший поділ гетеротипний, або редукційний, значно відрізняється від мітозу. Другий поділ екваційний, або гомеотипний проходить як мітоз, і відрізняється

від нього лише за кількістю хромосом. Для інтерфази між цими двома поділами характерним є те, що в ній відбувається реплікація ДНК (редуплікація хромосом). Кожний із двох поділів мейозу має свої відмінності.

Перший поділ мейозу – має такі ж стадії, як і мітоз: профаза-1, метафаза-1, анафаза-1, телофаза-1. Найважливішою відмінністю профази-1 від профази при мітозі є кон'югація гомологічних хромосом з утворенням бівалентів. Кон'югація – це прикладання відповідних ділянок гомологічних хромосом таким чином, що із 46 хромосом у людини утворюється 23 біваленти. У профазі-1 виділяють такі 5 стадій: 1) лептотена, коли хромосоми мають вигляд тонких ниток; 2) зиготена, на якій гомологічні хромосоми розташовуються парами, кон'югуючись по довжині і утворюючи біваленти (тут хромосоми обмінюються генами); 3) пахітена – хромосоми потовщуються, в місцях контакту утворюються синаптонемні комплекси; 4) диплотена, характерна тим, що хроматиди відштовхуються одна від одної, зберігаючи зв'язок лише в місцях хіазм (перехрестів), 5) в діакінезі, спіралізація посилюється, зменшується число хіазм, біваленти розміщуються по периферії ядра.

Метафаза-1 характерна тим, що біваленти вишиковуються в екваторіальній площині і до них з кожної сторони підходять мікротубули мітотичного веретена, а від кожного бівалента в напрямку до полюсів відходять центромерні мікротубули. В анафазі від кожного бівалента відходять по цілій d-хромосомі до полюсів. В телофазі-1 формуються два ядра дочірніх клітин, які містять по 23 d-хромосоми в людини.

Другий поділ мейозу по своїй суті не відрізняється від мітозу, лише має ту відмінність, ще в поділ вступає клітина з 23 d-хромосомами, тоді як при мітозі клітина, яка вступає у поділ, має 46 d-хромосом. В результаті другого поділу мейозу кожна дочірня клітина, отримує по 23 d-хромосоми.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Розгляньте при малому і середньому (10х, 40х) збільшенні світлового мікроскопа постійний мікропрепарат "мітоз у клітинах корінця цибулі". Потім розгляньте його при великому (90х) збільшенні. Знайдіть клітини, які перебувають в інтерфазі і на різних фазах мітозу.

Інтерфазні рослинні клітини мають прямокутну форму. У них добре видно овальне ядро з чітко окресленою ядерною оболонкою. У нуклеоплазмі (каріоплазмі) у вигляді тонких ниток або грудочок знаходиться хроматин, а також одне або два ядерця.

У профазі мітозу ядерця зникають. Хромосоми поступово спіралізуються і у вигляді клубка розміщуються в центрі клітини (ядерної оболонки немає).

У метафазі хромосоми добре видно: вони упорядковано розміщені в екваторіальній площині клітини. Кожна хромосома складається з двох хроматид.

В анафазі дочірні хромосоми розходяться до різних полюсів клітини. У телофазі в центрі клітини починає формуватися перегородка. На протилежних

полюсах клітин видно клубки з частково конденсованими хромосомами, навколо яких формуються ядерні оболонки. Ядра стають подібними до ядра вихідної материнської клітини. З'являються ядерця. Зарисуйте у протоколі інтерфазні клітини та клітини на різних стадіях мітозу (див. додаток 2). На рисунку позначте в інтерфазі: ядро, цитоплазму, хроматин; у профазі, метафазі та анафазі – хромосоми; у телофазі – ядра дочірніх клітин, перегородку в цитоплазмі.

**Завдання 2.** Розгляньте при при малому і середньому (10х, 40х) збільшенні світлового мікроскопа постійні мікропрепарати мазка крові людини і жаби, нервову клітину ссавців. Зверніть увагу на особливості будови цих клітин, зокрема форму, відсутність або наявність ядра, орієнтовні розміри. Згадайте, що ці клітини належать до високо спеціалізованих, і не здатні до поділу. Переконайтеся, що на препаратах немає клітин, які діляться. Зарисуйте в протоколі еритроцити та лейкоцити людини і еритроцити жаби, нервову клітину ссавця. На рисунках позначте: а) цитоплазму клітин; б) ядро в еритроцитах жаби і нервових клітинах тварин. Зазначте, чим може завершитися життєвий цикл цих клітин.

**Завдання 3.** Приготуйте тимчасовий препарат корінців цибулі. Попередньо зафіксовані в 75 % спирті проростки цибулі, помістіть у склянку з водою. Помішуючи, дочекайтеся опускання корінців на дно (в результаті цієї процедури спирт у тканинах корінців змішується водою). Корінці вийміть із склянки, легко просушіть на фільтрувальному папері та помістіть їх у фарфоровий тигель з ацетоарсеїновим барвником (фарба повинна покрити корінці). Тигель нагрійте до кипіння з поступовим охолодженням його під кришкою. Нагрівання проводьте 2-3 рази. При википанні, необхідно додавати ацетоарсеїн. У процесі фарбування досягається мацерація клітин. Зварений корінець вийміть з барвника і помістіть на предметне скло, лезом бритви відокремте від нього темно зафарбований кінчик (довжиною 2-3 мм). Нанесіть на нього краплю ацетоарсеїну і покрийте покривним скельцем. Зверху на препарат покладіть кілька смужок фільтрувального паперу і, притримуючи краї покривного скельця, круговими рухами ручки препарувальної голки натисніть на нього – внаслідок цього клітини розходяться в моношар. На вдало приготовленому препараті, не повинно бути пухирців повітря, клітини мерисистеми мають рівномірно розподілитися в моношар, хромосоми повинні бути чітко зафарбовані. За допомогою об'єктива 40х знайдіть метафазну пластинку, підрахуйте число хромосом, розгляньте їх морфологію.

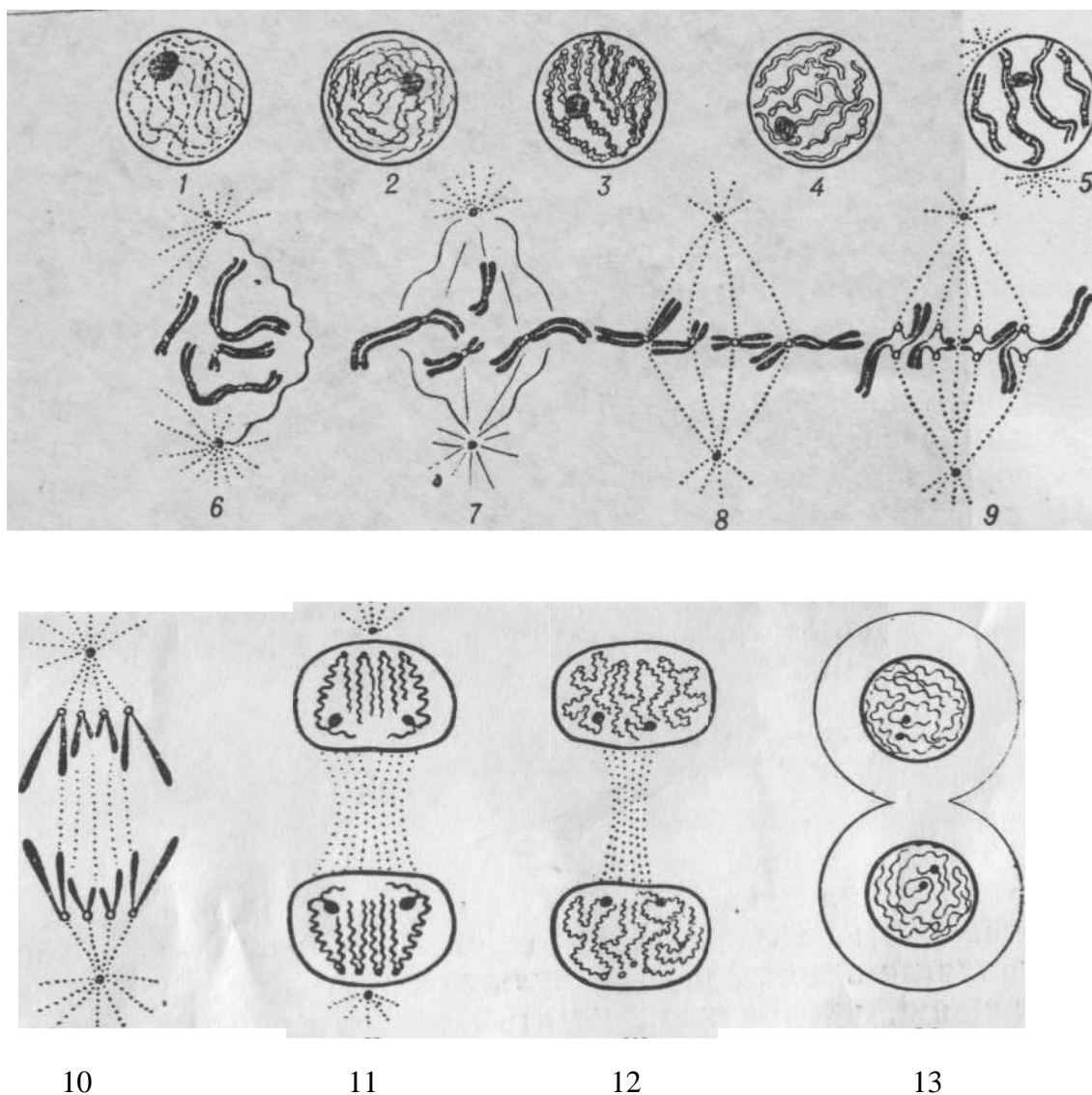


Рис.1. Схема мітозу:

1 – інтерфаза; 2–5 – профаза, під час якої спостерігається поступове скорочення і конденсація хромосом (кожна з них складається з двох хроматид); 6–7 – прометафаза; починається утворювання веретена і зникання ядерної оболонки; 8–9 – метафаза; 10 – анафаза; 11–13 – телофаза. Центромера зображена у вигляді світлого кружечка в кожній хромосомі.

**Завдання 4.** Встановіть мітотичний індекс у мерисистемі корінця цибулі на приготовленому препараті. Користуючись об'єктивом 40х дослідіть приблизно 100 клітин. Розгляньте і підрахуйте клітини на стадіях профази (П), метафази (М), анафази (А), телофази (Т) і інтерфази (І). Дані занесіть у таблицю.

Поле зору	Кількість клітин на стадії					
	П	М	А	Т	І	Всього

Дані підсумуйте і вирахуйте мітотичний індекс ( $I_M$  в %) для мерисистеми корінця цибулі за формулою:

$$I_M = \frac{(П+М+А+Т) \cdot 100}{\text{всього клітин}} .$$

**Завдання 5.** Заповніть таблицю «Порівняльна характеристика мітозу і мейозу»

**Таблиця 1.**

Мітоз	Мейоз

**Зробіть висновки.**

### **Завдання для самоконтролю**

1. Що таке клітинний поділ?
2. Які є види репродукції клітини?
3. В чому полягає суть мітозу?
4. Як проходить підготовка до мітозу?
5. Що таке інтерфаза?
6. Які стадії включає мітотичний поділ клітини?
7. Які процеси відбуваються у стадіях мітозу?
8. Що таке цитокінез?
9. Які є типи мітозу?
10. Що таке ендорепродукція (ендомітоз, політенія)?
11. Чим відрізняється мітоз від мейозу?



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

### ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ФОРМАМИ БАКТЕРІЙ. ВИГОТОВЛЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

**Мета:** засвоїти правила роботи з чистими культурами мікроорганізмів, навчитися виготовляти мікроскопічні препарати “роздавлена крапля”, “відбиток” та фарбований препарат” з різних біологічних матеріалів, ознайомитись з різновидами сферичних, паличкоподібних і нитчастих бактерій.

**Матеріали й обладнання:** мікроскопи, предметні та покривні скельця, чашки Петрі, термостат, чисті культури плісневих грибів, лікарських дріжджів і молочно-кислих бактерій, біологічні рідини.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

У лабораторних умовах мікроорганізми вирощують на твердих і рідких живильних середовищах, які розливають у пробірки, колби чи чашки Петрі. Посуд і поживне середовище попередньо стерилізують. Перенесення клітин мікроорганізмів на стерильне середовище називають посівом, чи інокуляцією, яке здійснюють у спеціально відведених приміщеннях – боксах. Бокс – це невелика ізольована кімната в приміщенні мікробіологічної лабораторії, розділена на дві частини. В основне робоче приміщення боксу заходять через тамбур, який має розсувні двері, що виключає різке переміщення повітря і занесення ззовні сторонньої мікрофлори. Обладнання боксу складається зі стола з вогнетривкою поверхнею, що легко миється, крісла, газового пальника і бактерицидної лампи. У боксі зручно мати шафу, де зберігаються необхідні для роботи предмети. Все обладнання боксу, стіл, підлогу періодично мийуть дезінфікуючим розчином. Перед роботою бокс опромінюють бактерицидною лампою упродовж 20 – 30 хв.

При роботі з чистою культурою важливо не допустити її забруднення іншими мікроорганізмами. Часто чисті культури мікроорганізмів підтримують на твердих середовищах у пробірках, які закриті ватними корками. Корки перешкоджають проникненню в них мікроорганізмів з повітря. Щоб не заразити чисті культури сторонніми мікроорганізмами, при виготовленні препаратів і пересівах необхідно дотримуватися певних правил роботи з ними:

1. Запалити газовий пальник.
2. Пробірку з культурою взяти в ліву руку так, щоб було видно поверхню середовища з нальотом мікроорганізмів.
3. У праву руку взяти бактеріологічну петлю і прожарити її у верхній частині полум'я пальника. Металеву частину тримача повільно пронести через полум'я два – три рази.
4. Не випускаючи петлі, мізинцем і безіменним пальцями правої руки притиснути ватний корок до долоні, витягнути його з пробірки і тримати так, не торкаючись навколишніх предметів.

5. Край відкритої пробірки пронести через полум'я пальника.
6. Увести в пробірку стерильну петлю, охолодити її, торкаючись поверхні агару, а потім взяти петлею невелику кількість мікробної маси.
7. Шийку пробірки і ватний корок одночасно провести через верхню частину полум'я пальника і закрити пробірку корком.
8. Пробірку поставити у штатив, а відібрану петлею бактерійну масу використати для виготовлення препарату або посіву.
9. Залишки бактерій на петлі спалити в полум'ї пальника.

Бактерії – це різноманітна і дуже поширена в природі група мікроорганізмів. Розміри їх коливаються в межах 0,5-10 мкм. Клітини більшості бактерій мають сферичну, циліндричну чи звивисту форму. Крім того, існують галузисті та нитчасті бактерії; бактерії, які утворюють простеки (вирости); бактерії у вигляді замкненого чи незамкненого кола (тороїди), правильної форми шестикутної зірки, трикутної чи прямокутної форми тощо.

Форма клітини прокаріотів визначається жорсткою (ригідною) клітинною стінкою, але у деяких бактерій клітинна стінка еластична (спірохети, міксобактерії, флексібактерії) чи зовсім відсутня (мікоплазми і L-форми).

Бактерії сферичної форми – коки – мають форму правильної кулі. Величина коків коливається в межах 1,2-5 мкм. Переважно це нерухомі поодинокі коки, які не утворюють ендоспор (*Micrococcus lysodeikticus*, *M. radiodurans*). Коки здатні утворювати різні угруповання клітин (рис. 1): диплококи – подвійні коки (*Diplococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*); тетракоки – поєднання чотирьох коків (*Tetracoccus casei*, *T. mycodermais*, *Pediococcus acidilactici*); стрептококи – ланцюжки з коків (*Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *S. mutatis*, *S. pyogenes*); стафілококи – скупчення коків у вигляді грон винограду (*Staphylococcus albus*, *S. aureus*); сарцини – пакети з 8, 16, 32 і т.д. коків (*Sarcina ureae*, *S. ventriculi*).

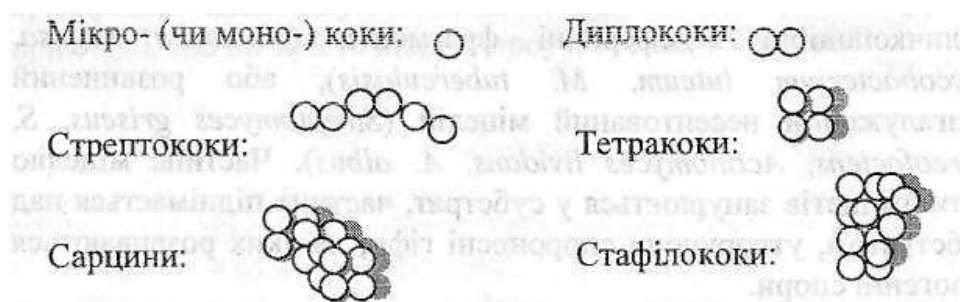


Рис. 1. Схематичне зображення угруповань клітин коків.

Найбільш численною і різноманітною групою бактерій є паличкоподібні (циліндричні) форми, розміри яких – довжина і ширина – коливаються у різних видів. Паличкоподібні бактерії, які утворюють ендоспори, називають бацилами (*Bacillus subtilis*, *B. brevis*, *Clostridium pasteurianum*, *C. tetani*). Не здатні до спороутворення палички називають бактеріями (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*

*denitrificans*, *Acetobacter aceti*). Спороутворення у бактерій – спосіб перенесення несприятливих зовнішніх умов. У клітині бацил утворюється тільки одна спора. Розрізняють три види спороутворення (рис. 2)

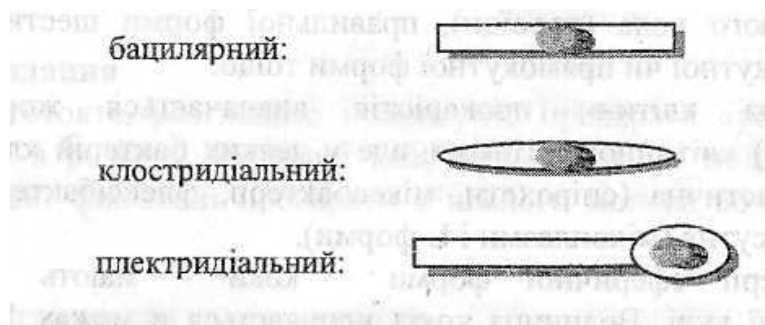


Рис. 2. Види спороутворення у бактерій.

Бактерії і бацили можуть утворювати угруповання клітин у вигляді диплобактерій (диплобацил) і стрептобактерій (стрептобацил). У деяких бактерій ланцюжки однакових клітин вкриті спільною оболонкою (півхою) і утворюють трихом (*Thiotryx nivea*, *Beggiatoa alba*, *B. gigantea*).

Паличкоподібні бактерії деяких родів можуть злегка галузитися (*Artrabacter globiformis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Propionibacterium freudenreichii*), а деяких – навіть утворювати слаборозвинений міцелій, який з часом розпадається на паличкоподібні і сферичні фрагменти (*Nocardia rugosa*, *Mycobacterium luteum*, *M. tuberculosis*), або розвинений розгалужений несептований міцелій (*Streptomyces griseus*, *S. aureofaciens*, *Actinomyces lividans*, *A. albus*). Частина міцелію актиноміцетів занурюється у субстрат, частина піднімається над субстратом, утворюючи спороносні гіфи, на яких розвиваються екзогенні спори.

Звивисті бактерії, залежно від ступеня звивистості, поділяють на вібріони – вигнуті у вигляді коми палички (*Vibrio cholerae*, *Bdellovibrio bacteriovorus*), спірили – бактерії, що утворюють один чи декілька завитків (*Rhodospirillum rubrum*, *Spirillum volutans*, *Thiospira winogradskyi*). Спірохети (*Treponema pallidum*, *Leptospira dentium*) утворюють багато завитків і петель, але їх звивиста форма обумовлена відсутністю жорсткої стінки і специфічним характером руху.

Незвичайні форми бактерій морфологічно різноманітні: тороїдальні, зіркоподібні, канатоподібні, тубероїдальні, червоподібні та ін.

Для визначення форми бактерій, здатності їх до спороутворення, рухливості, готують їх живі чи фіксовані препарати.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Виготовте, розгляньте та зарисуйте препарат «роздавлена крапля». Культури плісневого гриба з волокон вати та забарвлені фіксовані препарати з кислого молока або нальоту зубів.

**Виготовлення живого препарату “роздавлена крапля”.** Препарат “роздавлена крапля” використовують для встановлення форми клітин мікроорганізмів, їхніх розмірів і взаємного розміщення, здатності до спороутворення і рухливості. Техніка приготування препарату “роздавлена крапля” така:

1. На чисте предметне скло нанести краплю води.
2. Прожареною та охолодженою петлею взяти досліджуваний матеріал і розподілити його рівномірно (ресуспензувати) в краплі води.
3. На краплю суспензії покласти чисте покривне скло так, щоб під ним не було пухирців повітря. Надлишок рідини відтягнути смужкою фільтрувального паперу.
4. Розглянути препарат при збільшенні 8х і 40х. Якщо препарат розглядають в імерсійній системі, на покривне скло наносять краплю кедрової олії чи гліцерину.

**Завдання 2.** Виготовте, розгляньте та зарисуйте фарбований препарат культури молочно-кислих бактерій.

**Виготовлення фарбованого препарату.** Фіксовані фарбовані препарати використовують для виявлення деяких морфологічних особливостей, кількісного обрахунку мікроорганізмів, а також для перевірки чистоти культури. Ці препарати зручні тим, що можуть зберігатися тривалий час. Їхнє виготовлення охоплює такі етапи: виготовлення мазка, висушування, фіксацію і фарбування.

1. На середину чистого знежиреного сухого предметного скла за допомогою скляної палички чи піпеткою нанести краплю води.
2. Профламованою петлею чи піпеткою внести в неї досліджувану культуру бактерій і розподілити рівномірно на площі 1 – 4 см<sup>2</sup>.
3. Препарат висушити, тримаючи скло високо над газовим пальником.
4. Провести термічну фіксацію препарату, тобто вбити мікроорганізми і забезпечити їхнє прилипання до поверхні скла. Для цього скло з препаратом провести тричі через верхню частину полум’я пальника.
5. Провести хімічну фіксацію, для чого висушені після термічної фіксації препарати обробляють етанолом чи сумішшю Нікіфорова, чи ацетоном.
6. Препарат перенести на підставку ванночки та рівномірно розподілити барвник по всій поверхні мазка (фуксин, метиленовий синій). Фарбувати препарат фуксином протягом 1 – 2 хв., метиленовою синькою – 3 – 5 хв, після чого фарбу злити, препарат добре промити дистильованою водою з промивача.
7. Після фарбування, скло з країв протерти серветкою та висушити препарат. Нанести на сухий препарат краплю кедрової олії чи гліцерину і розглядати препарат під мікроскопом (об’єктив 90х).

**Завдання 3.** Розгляньте і зарисуйте готові препарати кулястих бактерій і диплококів.

**Завдання 4.** Виготовте забарвлені фуксином препарати з чистої культури *Sarcina flava*. Розгляньте під мікроскопом і зарисуйте.

**Завдання 5.** Виготовте забарвлені фуксином препарати з чистих культур *Escherichia coli* і *Bacillus subtilis*. Розгляньте під мікроскопом і зарисуйте.

**Завдання 6.** Розгляньте і зарисуйте готові препарати спірил і нитчастих бактерій.

**Зробіть висновки.**

#### **Завдання для самоконтролю**

1. Охарактеризуйте основні способи виготовлення тимчасових і постійних препаратів.
2. Назвіть основні форми бактерій.
3. Які типи угруповань формують сферичні, паличкоподібні та нитчасті бактерії?
4. За якими критеріями класифікують паличкоподібні бактерії? Наведіть приклади.
5. Які ви знаєте види спороутворення у бактерій?
6. Дайте характеристику коковим мікроорганізмам.
7. Назвіть представників звивистих бактерій.
8. Які методи забарвлення використовують для визначення морфологічної характеристики бактерій.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

### АНАЛІЗ МІКРОФЛОРИ ПОВІТРЯ

**Мета:** ознайомитися з методами аналізу мікрофлори повітря та її різноманітністю, навчитися визначати загальне мікробне забруднення повітря.

**Матеріали й обладнання:** біокулярна лупа, предметні та покривні скельця, готові живильні середовища (МПА), чашки Петрі, сухожарова шафа, автоклав, термостат, мікроскопи.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Повітря є середовищем, несприятливим для існування і розвитку мікроорганізмів. Потрапляючи в повітря, вегетативні форми швидко гинуть внаслідок висихання, дії сонячних променів і нестачі живильних речовин. Серед мікроорганізмів, які найчастіше можна виявити у повітрі, – спороносні бактерії родів *Bacillus*, *Clostridium*, цвільові гриби, які найбільш стійкі до висихання, а також пігментовані бактерії родів *Micrococcus*, *Sarcina*, *Serratia*, які стійкі до дії ультрафіолетових променів. Мікроорганізми у повітря потрапляють, головню, із пилом ґрунту.

У повітрі закритих приміщень виявляють бактерії, які виділяються зі слизових верхніх дихальних шляхів людини при чханні, кашлі, розмові. Від хворих у повітря виділяються поряд з умовно-патогенними організмами (стафілококами, стрептококами) патогенні мікроби (гемолітичні стрептококи, бактерії дифтериту, кашлюку, мікобактерії туберкульозу та інші).

При дослідженні повітря закритих приміщень важливим є метод вловлювання мікроорганізмів з повітря. Залежно від цього розрізняють седиментаційні, фільтраційні та аспіраційні методи дослідження повітря. В основі всіх методів є однаковий принцип підрахунку бактерій. Вважають, що кожна бактерія, яка потрапила на агаризоване поживне середовище, розмножується, утворюючи колонію, яку можна побачити неозброєним оком. За кількістю підрахованих колоній обчислюють кількість бактерій, вловлених при аналізі повітря.

**Метод вловлювання бактерій повітря рідинами** належить до фільтраційних методів. Певний об'єм повітря продувають через визначений об'єм рідини (стерильна вода, буфер, рідке поживне середовище). По 1 або 0,1 мл цієї рідини висівають у чашки Петрі на агаризоване поживне середовище. Чашки інкубують у термостаті. Через певний час підраховують кількість колоній, що вирости на чашках. При обчисленні кількості мікроорганізмів у повітрі враховують об'єм рідини-поглинача та об'єм повітря, яке пройшло через рідину.

**Аспіраційний метод з використанням апарата Кротова.** Конструкція апарата Кротова заснована на принципі ударної дії струменя повітря. Апарат

складається з трьох частин: вузла для відбору проб повітря, мікроманометра та електромотора. Апарат може пропускати від 25 до 50 л повітря на хвилину.

“Засіяні повітрям” чашки інкубують у термостаті. Через певний час підраховують кількість колоній, що вирости на них. Результати аналізу виражають найчастіше мікробним числом – кількістю мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря.

**Метод осадження Коха** належить до седиментаційних. Цей метод дає можливість виявляти лише 35 – 60% мікробів повітря і тому орієнтовно оцінити чистоту повітря. Принцип методу полягає в тому, що мікроорганізми повітря досліджуваного приміщення водночас з пилом осаджуються на поверхню поживного агару в чашці Петрі. Час осадження залежить від забрудненості повітря. “Засіяні повітрям” чашки інкубують у термостаті, а через 2 – 3 дні підраховують кількість колоній на них.

Розрахунки мікробного числа виконують за формулою Омелянського:

$$X = \frac{n \times 5 \times 10^4}{t \times \pi r^2}$$

де  $x$  – кількість мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря;

$n$  – кількість колоній мікроорганізмів, які вирости на чашці Петрі;

$t$  – час осадження, хв.;

$\pi r^2$  – площа чашки Петрі, см<sup>2</sup>;

5 і 10<sup>4</sup> – коефіцієнти для перерахунку кількості мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup>.

Для визначення загального мікробного забруднення проби повітря “висівають” на МПА. Для виявлення у повітрі дріжджів та цвілей використовують сусло-агар. Патогенні мікроорганізми виявляють на відповідних диференційно-діагностичних живильних середовищах, зокрема, гемолітичні стрептококи та стафілококи – на кров’яному агарі.

Офіційних стандартів чистоти повітря не розроблено, але прийнято такі показники оцінки ступеня мікробного забруднення приміщень (таб.1):

**Таблиця 1**

Число мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря

Оцінка чистоти повітря	Літній період		Зимовий період	
	Всього мікроорганізмів	Гемолітичні бактерії	Всього мікроорганізмів	Гемолітичні бактерії
Чисте	< 1500	< 16	< 4500	< 36
Забруднене	> 2500	> 35	> 7000	> 124

Особливості росту мікроорганізмів на твердих середовищах характеризують сукупністю культуральних ознак. Ознаки, які проявляються при розвитку культур мікроорганізмів на живильних середовищах, називаються культуральними. До них належать: характер росту на різних (твердих, рідких) живильних середовищах, тип колонії, здатність до розрідження желатину та ін.

Із культуральних ознак мікроорганізмів, найбільш суттєвим є будова колоній. Колонії – це видимі неозброєним оком на поверхні субстрату сукупності великої кількості клітин мікроорганізмів одного і того ж виду.

Спори чи окремі клітини мікробів, потрапляючи при посіві на певне місце твердого субстрату, не можуть, як у рідкому, розподілятися у всьому середовищі, а проростають та розмножуються на одному і тому ж місці, утворюючи колонії.

При обрахунку посівів прийнято описувати вирослі на чашках колонії. Цей опис ведеться за певною схемою. Так, колонії бактерій описують, відмічаючи такі ознаки:

1. Розмір (колонія велика – більше 10 мм у діаметрі, середня – 1 – 10 мм, дрібна, точкова – менше 1 мм).
  2. Профіль (випуклий, конусоподібний, плоский, кратероподібний тощо).
  3. Край (рівний, лопатевий, хвилястий, зубчастий, бахромовий, фестончастий).
  4. Поверхня (гладка, бугриста, складчаста, зморшкувата, з концентричними колами, радіально посмугована).
  5. Колір.
  6. Блиск і прозорість.
  7. Консистенція (тістоподібна, густа, слизиста, тягуча, рідка, клейка).
- Визначають, торкаючися колонії петлею.

### **Хід роботи**

**Завдання 1.** Проведіть облік мікрофлори повітря різних приміщень навчального корпусу факультету.

#### **Закладання досліду**

Розплавлений МПА стерильно розлити в чашки Петрі. Після застигання середовища чашки відкрити у досліджуваному приміщенні на 10 хв. Чашки підписати і поставити в термостат з температурою 30 °С.

**Завдання 2.** Складіть підсумкову таблицю про ступінь забруднення мікроорганізмами різних приміщень. Зробіть висновки про чистоту приміщень і можливі причини їх забруднення мікроорганізмами.

#### **Аналіз досліду**

Обчисліть мікробне число за формулою Омелянського, для чого порахуйте кількість колоній, що виросли на чашках (щоб не помилитися при підрахунку, кожен колонію відмітьте з дна чашки маркером по склу) та заміряйте діаметр чашки за допомогою лінійки. Оцініть якісний склад бактерій повітря досліджуваних приміщень. Результати занесіть в таблицю:



Таблиця 2

№	Досліджуване приміщення	Кількість мікроорганізмів у 1 м <sup>3</sup> повітря	Норма	Висновок
1				
2				
3				
4				

**Завдання 3.** Розгляньте колонії мікроорганізмів з повітря під біокулярною лупою та охарактеризуйте їх за культуральними ознаками.

**Завдання 4.** Виготовте два препарати “роздавлена крапля” з вибраних вами колоній мікроорганізмів, що вирости на чашці, та зарисуйте їх.

**Зробіть висновки.**

#### Завдання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте мікрофлору повітря.
2. Назвіть показники санітарно-гігієнічного стану повітря.
3. Охарактеризуйте методи аналізу мікрофлори повітря.
4. Опишіть формулу Омелянського.
5. Назвіть причини забруднення повітря.
6. Які захворювання пов'язані із забрудненням людини?
7. Чим відрізняється зимовий і літній періоди за кількістю мікроорганізмів повітря? Поясніть причини.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7-8

### ДОСЛІДЖЕННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЗАБРУДНЕНOSTІ ДЕЯКИХ ЧАСТИН ТІЛА ЛЮДИНИ

**Мета:** ознайомитися з підходами для аналізу мікрофлори організму людини та її різноманітністю.

**Матеріали й обладнання:** готові живильні середовища (МПА), чашки Петрі, сухожарова шафа, автоклав, термостат, спиртівка, бактеріологічні петлі, скальпелі, шліфовані скельця.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Нормальна мікрофлора (автофлора) – це сукупність мікроорганізмів, які постійно знаходяться в організмі здорової людини. Вона сформувалася в процесі еволюції й заселяє шкіру, слизові оболонки, а також порожнини тіла, які сполучаються з навколишнім середовищем. Її маса становить близько 2,5-3 кг. До складу автофлори входить близько 500 видів бактерій, 50 видів вірусів, 20 видів найпростіших.

Внутрішнє середовище людського організму (кров, лімфа, спинномозкова рідина та ін.), як правило, не містить мікроорганізмів. Але останнім часом було доведено, що тканини організму заселені персистуючими вірусами, які виділяються з молоком, слиною, мокротинням, потом, сечею, випорожненнями.

**Нормальну мікрофлору** людини поділяють на дві групи: облігатну нормальну мікрофлору – автохтонну, або резидентну (від лат. *residens* – той, що залишається на місці), специфічну для певних біотопів організму, і факультативну – транзиторну (від лат. *transitus* – проходження), занесену з інших біотопів даного організму (алохтонну) або із зовнішнього середовища (заносну).

Кількісний і видовий склад нормальної мікрофлори має індивідуальну стабільність і залежить від віку людини, статі, особливостей харчування, мікрофлори навколишнього середовища, санітарно-гігієнічних навичок, вживання протимікробних лікувальних препаратів.

В однакових епітопах різних людей знаходяться однакові мікроби, але бувають деякі розбіжності. Мікроби легко передаються від однієї людини до іншої, тому спостерігається обмін мікрофлорою в закритих колективах шкіл, дитячих садочків, казарм, лікарень. Вивчення індивідуальної мікрофлори має велике значення для формування складу експедицій (географічних, космічних), екіпажу підводних човнів тощо.

Обмін нормальною мікрофлорою між людьми іноді буває небезпечним, бо мікроби, непатогенні для однієї особи, можуть бути умовно-патогенними для іншої.

Дитина, що розвивається в утробі здорової матері, стерильна. Але вже під час пологів вона контамінується (від лат. *contaminatio* – доторкання)

вагінальною мікрофлорою матері. Після народження організм дитини продовжує заселятися мікрофлорою від матері, медичного персоналу, навколишнього середовища. Формування мікрофлори дитини майже закінчується протягом першого тижня життя. З віком вона змінюється, але в загальних рисах лишається постійною.

Залежно від умов існування в організмі людини формуються різні асоціації мікроорганізмів.

Мікроорганізми, які знаходяться в організмі здорової людини і формують його нормальну мікрофлору, – це результат пристосування мікро- і макроорганізмів у процесі еволюційного розвитку.

Значні кількості мікроорганізмів виявляються на різних ділянках шкіри, особливо на вкритих волоссям. Розвиток мікроорганізмів відбувається там за рахунок відмерлих клітин епідермісу, виділень сальних і потових залоз. Переважають на шкірі людини грампозитивні бактерії родів *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Adnetohakter*.

На слизовій ротової порожнини також є сприятливі умови для росту мікроорганізмів: слина, в якій наявні ферменти, амінокислоти, білки, вуглеводи, неорганічні речовини, забезпечує розвиток близько 160 видів різних мікроорганізмів. Постійними "мешканцями" ротової порожнини є стрептококи: *Streptococcus saliverius* (поверхня щік язик) та *S. mutans*, який спричиняє карієс зубів.

У порожнині носа здорової людини кількість мікроорганізмів незначна: її слизова продукує речовини бактерицидної дії – муцин та лізоцин. Постійно у носовій порожнині виявляють мікрококи, стафілококи, грамнегативні бактерії.

Різнноманітною є мікрофлора шлунково-кишкового тракту людини – більше 260 видів мікроорганізмів, серед яких переважають анаеробні форми (бактерії родів *Bifidobacterium*, *Bacteroides*), значно менше факультативно анаеробних бактерій (лактобацили, ентерококи, бактерії колі-групи). У різних частинах шлунково-кишкового тракту здорової людини виявляють різну кількість мікроорганізмів: найменшу – у шлунку, дванадцятипалій і тонкій кишках, найбільшу – у товстому кишківнику (у дорослої людини їхня біомаса становить 1,5 кг).

Порушення видового складу нормальної мікрофлори людини за різних умов (захворювання, неправильне використання антибіотиків тощо) призводить до дисбактеріозу (дисбіозу) і, як результат, – до ускладнень типу диспепсії, токсикоінфекції, катарів, пневмонії, кандидозів тощо.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Для закладки досліду дотримуйтесь такої послідовності дій:

1. Стерильний МПА розлити у чашки Петрі. Після застигання середовища чашку із зовнішньої сторони розділити маркером на чотири сектори.
2. На перший сектор покласти декілька волосин з голови, на другий штрихом висіяти наліт з кутніх зубів, взятий простерилізованим заздалегідь сірником. На третьому секторі зробити відбиток будь-якого

пальця немитої руки.

3. Потім добре помити руки милом, витерти чистим рушником і цим самим пальцем зробити відбиток у четвертому секторі.
4. Чашки підписати і поставити в термостат при температурі 37°C.

**Завдання 2.** Візуально оцінити розвиток мікроорганізмів у різних секторах чашки, порівняти кількість колоній, що вирости у третьому-четвертому секторах (відбитки пальців немитої і чистої рук). З колоній, які переважають у тому чи іншому секторах чашки, виготовити забарвлені фуксином фіксовані препарати і розглянути їх в імерсійній системі мікроскопа. Замалювати досліджені об'єкти.

**Завдання 3.** Стерильною петлею або сірником взяти наліт із зубів та язика і виготовити з цього матеріалу негативний препарат у 5%-ному водному розчині конго-роту. Розглянути його під об'єктивом 40х.

**Завдання 4.** Заповнити таблицю «Основні бактеріальні захворювання людини».

Назва захворювання	Симптоми	Збудник	Профілактика

**Зробіть висновки.**

#### **Завдання для самоконтролю**

1. Які групи бактерій формують нормальну мікрофлору.
2. Що таке автохтонна мікрофлора?
3. Дайте характеристику алохтонної мікрофлори.
4. Назвіть представників мікроорганізмів, що знаходяться на шкірі людини.
5. Які фактори впливають на порушення видового складу нормальної мікрофлори людини.
6. Мікрофлора травного тракту людини.
7. Які поживні середовища використовують для визначення стану мікрофлори людини.
8. Назвіть представників патогенної мікрофлори людини.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9-10

### АНАЛІЗ МІКРОФЛОРИ ВОДИ

**Мета:** вивчення методів мікробіологічного дослідження об'єктів зовнішнього середовища, оволодіння методиками забору матеріалу, посіву, обліку результатів при санітарно-мікробіологічному контролі води.

**Матеріали й обладнання:** готові живильні середовища (Ейкмана, Ендо, МПА), чашки Петрі, флакони, сухожарова шафа, автоклав, термостат, спиртівка, бактеріологічні петлі, зразки водопровідної та мінеральної води.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Мікрофлора води поділяється на власну (автохтонну) і випадкову (заносну). До постійних бактерій належать актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони. Із морської води прибережних зон систематично висіваються вібріони, які спричиняють у людей гострі гастроентерити від вживання малосоленої морської риби, креветок, мідій.

Склад мікрофлори води та кількість мікроорганізмів у різних водних джерелах неоднаковий. Чисельність мікроорганізмів у воді залежить від вмісту органічних речовин, швидкості течії води, температури навколишнього середовища, пори року, розташування і забрудненості водойми.

Ступінь заселеності води мікроорганізмами виражають сапробністю – сукупністю живих організмів, які живуть у водах і містять значну кількість тваринних або рослинних решток. Виділяють чотири зони сапробності: полісапробну, мезосапробну, олігосапробну і катасапробну.

Полісапробна зона містить до кількох мільйонів мікробів в 1 см<sup>3</sup> води і велику кількість легкозасвоюваних органічних сполук. Вода у цій зоні дуже забруднена. Мікробіологічні процеси відбуваються майже в анаеробних умовах і супроводжуються виділенням метану, меркаптанів, аміаку, сірководню. Вода у цій зоні містить багато кишкової палички і анаеробних бактерій, які зумовлюють процеси гниття і бродіння.

У мезосапробній зоні менший вміст органічних речовин. Це зона помірного забруднення. У ній відбуваються процеси мінералізації, а також окиснення та нітрифікації. Загальна чисельність мікроорганізмів в 1 см<sup>3</sup> води цієї зони не перевищує 1 млн клітин.

Олігосапробна зона характерна для чистої води. У цій зоні відсутня кишкова паличка і знижена загальна кількість мікроорганізмів до декількох десятків або сотень мікробних клітин в 1 см<sup>3</sup> води. У воді олігосапробної зони відбуваються процеси окиснення нітритів та заліза.

Катасапробна зона – це зона дуже чистої води (особливо в осінньо-зимовий період), розташована далеко від населених пунктів та берегів.

Більше як 70% поверхні нашої планети покриті водами Світового океану, в яких поширені бактерії родів *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Vibrio*, *Micrococcus*,

*Sarcina*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Proactinomyces* та дріжджі родів *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* і *Debaryomyces*.

Типовими представниками водної мікрофлори є зелені і пурпурні бактерії, залізобактерії, а також бактерії родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Flovobacterium*, *Caulobacter*, *Spirillum* та ін.

У прісноводних водоймах інтенсивно розвиваються ціанобактерії родів *Spirulina*, *Anabaena*, *Synechocystis* та ін. Масовий їхній розвиток у природних умовах викликає біологічне забруднення води, яке згубно впливає на екосистему водойм: змінюються колір, рН, в'язкість води, запах і прозорість, з'являються токсини й алергени. Зокрема, токсичні властивості виявлені у *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flosaquae*, *Oscillatoria aquarhii*. За рахунок інтенсивного росту ціанобактерій біомаса яких в місцях "цвітіння" сягає 40 – 50 кг/м<sup>3</sup>, у воді значно зменшується вміст кисню. Це призводить до загибелі риби та інших гідробіонтів.

У прісноводних водоймах, окрім бактерій, виявлені водорості, дріжджі, плісеневі гриби, найпростіші.

У солоній воді морів, озер, океанів, мінеральних джерел живуть солелюбні мікроорганізми (галобактерії, галококи). Із прибережної зони потрапляє при споживанні в їжу багато малосольної риби, недостатньо термічно оброблених креветок і мідій.

Для оцінки санітарно-гігієнічного стану водойм застосовують ряд показників, зокрема: мікробне число – кількість колоній, які виростають на чашці Петрі з м'ясо-пептонним агаром із 1 см<sup>3</sup> води при температурі 37°C упродовж 24 годин; колі-титр – найменший об'єм води в см<sup>3</sup>, у якому виявляється кишкова паличка; колі-індекс – кількість клітин кишкової палички в 1 см<sup>3</sup> води.

Питна вода, яка подається централізовано господарсько-питними системами водопостачання та використовується для технічних, господарських, комунальних потреб, потреб у митті повинна відповідати вимогам стандарту. За бактеріологічними показниками у воді, що подається у водопровідну мережу загальна кількість мікроорганізмів в 1 см<sup>3</sup> нерозбавленої води не повинна перевищувати 100 клітин, колі-титр повинен бути не менше як 300, колі-індекс – не більше як 3. Для води з колодязів мікробне число складає 300 – 400 клітин в 1 см, колі-титр не менше як 100.

Із метою поліпшення якості питної води за бактеріологічними показниками проводять її знезаражування. На сьогодні найбільш розповсюдженими методами є хлорування, озонування і опромінення ультрафіолетовими променями.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Проведіть аналіз мікрофлори води бродильним методом.

Визначення мікробного числа водопровідної води. У дві стерильні чашки Петрі внести стерильною піпеткою по 1 мл досліджуваної проби води. В кожену чашку залити 15 мл розплавленого і охолодженого до 45 °С м'ясо-пептонного агару (МПА). Обережно, легкими круговими рухами в закритій чашці

перемішати її вміст. Залишити чашки в горизонтальному положенні до застигання агару, після чого помістити в термостат при 37 °С на 24 години. Після культивування в термостаті підрахувати загальну кількість колоній, вивести середній показник і порівняти з нормативами мікробного забруднення води.

Визначення колі-титру водопровідної води. У три флакони і три пробірки з концентрованим середовищем Ейкмана та три пробірки з розведеним середовищем Ейкмана засіяти 333 мл досліджуваної води. Після інкубації при 42 - 43 °С упродовж 24 годин, зробити пересів проб води, в яких є помутніння, а також газоутворення в поплавках, на сектори в чашці Петрі з середовищем Ендо. Після культивування на середовищі Ендо врахувати наявність червоних колоній з металевим блиском, зробити мікроскопію мазків із цих колоній, виявити грамнегативні палички. Такі колонії перевіряють на оксидазу (оксидазний тест: частину колонії переносять на фільтрувальний папір, просочений реактивом диметил-п-фенілендіаміном і  $\alpha$ -нафтолом. При позитивній пробі колір колонії змінюється в синьо-фіолетовий, проба повинна бути від'ємною. Врахувати "позитивні об'єми", тобто, ті, в яких виявлено *E.coli*. На основі отриманих даних зробити висновок про відповідність досліджуваної проби води вимогам стандартів (за табл. 1).

**Таблиця 1.**

**Мікробіологічні показники безпеки питної води**

№	Найменування показників	Одиниці виміру	Нормативи
1	Число бактерій в 1 см <sup>3</sup> води, що досліджується (ЗМЧ)	Колоніютворючі одиниці (мікроорганізми)/см <sup>3</sup> КУО/см <sup>3</sup>	не більше 100*
2	Число бактерій групи кишкових паличок (коліформних мікроорганізмів) в 1дм <sup>3</sup> води, що досліджується (індекс БГКП)	Колоніютворючі одиниці (мікроорганізми)/дм <sup>3</sup> КУО/дм <sup>3</sup>	не більше 3**
3	Число термостабільних кишкових паличок (фекальних коліформ - індекс ФК) в 100 см <sup>3</sup> води, що досліджується	Колоніютворючі одиниці (мікроорганізми)/100см <sup>3</sup> КУО/100см <sup>3</sup>	Відсутність
4	Число патогенних мікроорганізмів в 1дм <sup>3</sup> води, що досліджується	Колоніютворючі одиниці (мікроорганізми)/дм <sup>3</sup> КУО/дм <sup>3</sup>	Відсутність
5	Число коліфагів у 1дм <sup>3</sup> води, що досліджується	Бляшкоутворюючі одиниці/ дм <sup>3</sup> БУО/дм <sup>3</sup>	Відсутність

**Завдання 2.** Визначте загальне мікробне число, колі-індекс та колі-титр досліджуваних вод. Внесіть дані у таблицю.

№	Досліджувана вода	Загальна кількість колоній на чашці Петрі	Колі-індекс	Висновок
1				
2				
3				
4				
5				
6				

**Завдання 3.** Зробіть висновок про відповідність проб води вимогам ГОСТу.

**Зробіть висновки.**

#### **Завдання для самоконтролю**

1. Що таке автохтонна та заносна мікрофлора?
2. Як виражають ступінь обсіменіння води мікроорганізмами?
3. Назвіть представників мікрофлори води.
4. Охарактеризуйте бродильний метод.
5. Які захворювання викликає неякісна питна вода?
6. Які є санітарно-гігієнічні показники якості питної води?
7. Що таке колі-індекс? Яка норма колі-індексу для питних вод.
8. Назвіть найпоширеніших представників мікрофлори води.



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11-12

### ВИВЧЕННЯ БУДОВИ ХРОМОСОМ. ВИЗНАЧЕННЯ КАРІОТИПУ ЛЮДИНИ. ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ПОРУШЕННЯМИ ЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

**Мета:** ознайомитися з видами генетичних захворювань, підходами цитогенетичного методу, морфологією хромосом та принципом класифікації хромосом людини.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атласи, електронно-мікрокопічні фотографії.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

У 50-х роках ХХ ст. стало можливим спостерігати і було описано кожному хромосому людини у вигляді самостійної одиниці. Загальна довжина молекули ДНК у хромосомі людини (середньої за розміром) досягає 4 см, а сумарна довжина цих молекул у клітині з диплоїдним (подвійним) набором – близько 180 см. У 1956 р. Дж. Тийо, А. Леван установили, що у людини хромосомний набір складається з 46 хромосом. Через три роки були відкриті хромосомні хвороби.

Хромосоми – основна функціональна авторепродукційоюча структура ядра, в якій концентрується ДНК і з якою зв'язана функція ядра, володіють складною організацією, здатною до реплікації і передачі генетичної інформації в ряді клітинних поколінь. Назва „хромосома” отримали назву від того, що в період мітотичного поділу, коли вони конденсуються, – добре забарвлюються основними барвниками. Число хромосом стало для всіх клітин даного виду тварин або рослин. Кожний гаплоїдний набір хромосом позначають через  $n$ , а диплоїдний через  $2n$ . У межах одного набору одні хромосоми можуть перевищувати інші в кілька разів. У клітинах організмів різних видів довжина хромосоми коливається від 0,2 до 50 мк, а товщина – від 0,2 до 2 мк.

Залежно від положення центромери хромосоми бувають:

1. метацентричні (з рівними або майже рівними плечами, V-подібні);
2. субметацентричні (з нерівними плечами, L-подібні);
3. акроцентричні (одне плече коротке або майже непомітне, такі хромосоми мають паличкоподібну форму – I).

У будові хромосоми розрізняють пелікулу, хроматин, матрикс, спіралі (мала і велика), центромеру, вторинна перетяжка, супутник (додаток б).

Хромосоми зазвичай вивчають на стадіях метафази або анафази мітозу і мейозу, їх можна спостерігати в живій клітині при використанні фазово-контрастного пристрою. Хромосоми є основним структурним компонентом клітини, з яким зв'язана передача генетичної інформації.

У медичній практиці для підтвердження діагнозу хромосомної хвороби виникає потреба визначити у пацієнта каріотип. Сукупність хромосом клітини,

яка характеризується їх числом, розмірами і формою, називається каріотипом. Ефективним методом вивчення каріотипу людини на сьогоднішній день залишається метод ідентифікації хромосом на основі метафазної пластинки. Крім того, в певних цілях використовується метод диференційного забарвлення хромосом для виявлення еухроматинових і гетерохроматинових зон. Каріотип зображають у вигляді ідіограми – схеми, на якій хромосоми розміщують у ряд в міру зменшення їх величини. Для вивчення каріотипу використовують цитогенетичний метод, за допомогою якого вивчають структуру та кількість хромосом у досліджуваних клітинах організму. Класифікація хромосом людини проводиться за Денверською системою (Денвер, США, 1960 р.), згідно з якою 23 пари хромосом розбивають на сім груп в міру зниження їхніх відносних розмірів та центромерного індексу. Кожна група позначається латинськими літерами А, В, С, D, Е, F, G. Крім того, всі аутосоми в порядку зменшення нумеруються (від 1 до 22).

Гр. А – хромосоми 1-3. Великі метацентрики з майже медіанними центромерами. Легко відрізняються.

Гр. В – хромосоми 4-5. Великі субметацентрики. Не відрізняються.

Гр. С – хромосоми 6-12. Середні субметацентрики. Х-хромосома подібна до хромосоми 6. Найважча група щодо ідентифікації індивідуальних хромосом.

Гр. D – хромосоми 13-15. Великі акроцентрики.

Гр. Е – хромосоми 16-18. Короткі хромосоми з медіанними (хр.16), субметадіанними (хр.17), і субметадіанними (хр.18) центромерами, 16 та 17 мають вторинну перетяжку.

Гр. F – хромосоми 19-20. Короткі метацентрики. Між собою не розрізняються.

Гр. J – хромосоми 21 і 22. Короткі акроцентрики. Мають супутників.

У-хромосома подібна за розмірами до 21 та 22 хромосом, не має супутника. Отже, каріотип чоловічої клітини на відміну від жіночої має 5 маленьких акроцентриків (див. додаток 10 і 11).

В основу Паризької класифікації (1971) покладено диференційне забарвлення хромосом, коли кожній парі властивий характерний тільки для неї порядок чергування темної і світлої посмугованості – гетеро- і еухроматинових ділянок.

Дослідження і аналіз морфології, кількості і структури хромосом проводять за використання хромосомного аналізу.

Розміри і форма хромосом. Розміри хромосом варіюють від одного біологічного виду до іншого. Хромосоми різних організмів на стадії метафази мають довжину від 0,1 до 33,0 мкм і товщину від 0,2 до 2,0 мкм. Хромосоми рослин мають більші розміри, ніж хромосоми тварин. Хромосоми різних пар однієї і тієї ж клітини різняться за розміром. Розмір хромосом людини: в середньому 1,5 мкм у товщину і 10,0 мкм у довжину. Форма хромосом визначається за відносним положенням центромери (первинної перетяжки). На підставі цього розрізняють такі форми хромосом (див. додаток 6): 1) метацентрична – хромосома має Х-подібну форму, при якій центромера знаходиться всередині так, що плечі є рівними за довжиною; 2)

субметацентрична – хромосома має Х-форму з центромерою, віддаленою від середньої точки так, що її плечі є нерівними за довжиною; 3) акроцентрична – центромера розташована дуже близько до одного з кінців хромосоми, тобто вона має плечі, що суттєво відрізняються за розмірами, маленькі плечі часто мають супутники. Х- і У- хромосоми називаються статевими або гетерохромосомами, інші хромосоми з даного набору, що є однаковими для обох статей, називаються аутосомами. Каріотип людини має усі різновиди хромосом.

1. Специфічність набору хромосом для кожного виду. Рослини і тварини мають сталий набір хромосом у кожній соматичній клітині). Диплоїдний набір хромосом ( $2n$ ) для людини – 46, для дрозоді – 8, для коня – 66, шимпанзе – 48, собаки – 78 і т. д. Гаплоїдний набір ( $n$ ) для людини – 23, дрозоді – 4 і т. д. Гамети містять тільки одинарний набір хромосом. Число хромосом часто використовується для ідентифікації виду.

2. Парність хромосом. Пари хромосом, що мають однакові гени або їх алелі, та контролюють альтернативні ознаки, називаються гомологічними. Гомологічні хромосоми однакові за розміром і формою. У них збігаються розміщення центромер, порядок розташування хромомер і міжхромомерних ділянок та інші елементи будови. Негомологічні хромосоми мають зовсім інші характеристики.

3. Індивідуальність окремих пар хромосом. Кожна пара гомологічних хромосом індивідуума відрізняється від іншої пари за розміром, формою і генетичним складом. Вони містять різні гени, що визначають розвиток різних ознак.

4. Безперервність хромосом. Це означає, що кожна дочірня хромосома походить від материнської хромосоми. В інтерфазі (8-періоді) відбувається подвоєння ДНК і утворюються дві ідентичні дочірні молекули, що формують хромосому. Така хромосома складається з двох хроматид, що потім потрапляють у різні клітини внаслідок мітозу. У кожному наступному поділі цей цикл повторюється. Це забезпечує стабільність каріотипу організмів впродовж тисячоліть.

Таким чином, у послідовних генераціях клітин зберігається постійне число хромосом та їх індивідуальність внаслідок здатності хромосом до точної репродукції при поділі клітини. Отже, не тільки "кожна клітина від клітини", але і "кожна хромосома від хромосоми".

До широко розповсюджених хромосомних захворювань людини належить синдром Дауна – захворювання, викликане нерозходженням 21 пари хромосом, генотип якого записується: 47, XX (або XY) 21+1. До хвороб, викликаних зміною числа статевих хромосом, належать синдроми Шерешевського – Тернера, 45 (XO) – моносомія (див. додаток 13), і синдром Клайнфельтера, 47 (XXY). Зустрічаються також трисомія по Х-хромосомі 47 (XXX), полісомія по У-хромосомі 47 (XUY) та ін.

Крім зміни числа наборів хромосом, спостерігаються і перебудови хромосом у каріотипі людини: делеції, дуплікації, інверсії, транслокації. Їх можна виявити методом диференційного фарбування хромосом. Прикладом

такого захворювання може бути синдром “котячого крику”, який проявляється при втраті одного плеча п’ятої пари хромосом.

### Хід роботи

**Завдання 1.** Ознайомтеся з різновидами генних захворювань людини. Дайте коротку характеристику трьом генним захворюванням за такою схемою: назва захворювання, основні прояви, причини, лікування, успадкування захворювання.

**Завдання 2.** Ознайомтеся з різновидами хромосомних захворювань людини. Дайте коротку характеристику трьом хромосомним захворюванням за такою схемою: назва захворювання, основні прояви, причини, лікування, успадкування захворювання.

**Завдання 3.** Розгляньте мікрофотографію метафазної пластинки клітин чоловіка та жінки, що мають нормальний каріотип. На ній зображено хромосоми на стадії метафази. Для дослідження особливостей каріотипу побудуйте ідіограму. Для цього розподіліть хромосоми за групами, використовуючи запропоновану фотографію метафазної пластинки. Для цього обережно виріжте зображення хромосом. Ідентифікуйте їх згідно з розмірами і положенням центромери, підберіть для кожної хромосоми відповідну гомологічну пару, а потім систематизуйте їх за групами A, B, C, D, E, F, G.

Першими визначте хромосоми 1-ї та 2-ї пар. Вони найбільші за розмірами, але хромосоми 1-ї пари – метацентричні, а 2-ї – субметацентричні; 3-тя пара хромосом – метацентричні. Вони коротші, ніж хромосоми 1-ї та 2-ї пар. Хромосоми 1-ї – 3-ї пар утворюють групу A; 4-та й 5-та пари хромосом – субметацентричні. Вони майже однакові за розміром і формою, тому їх важко диференціювати. Вони належать до групи B. Хромосоми 6-ї – 12-ї пар – головно субметацентричні, середніх розмірів, розрізняються між собою довжиною плечей; ці хромосоми утворюють групу C. Точно диференціювати окремі пари в межах групи C практично неможливо. До групи C належить також статеві X-хромосома. Хромосоми 13-ї – 15-ї пар (група D) – типово акроцентричні, мають середні розміри; хромосоми 16-ї – 18-ї пар (група E) – субметацентричні, мають невеликі розміри; хромосоми 19-ї – 20-ї пар (група F) за формою ближчі до метацентричних, короткі. Хромосоми 21-ї – 22-ї пар (група C) – найменші акроцентричні хромосоми. Y-хромосома за розміром і формою схожа на 21-шу та 22-ю пари хромосом. Відмінність полягає в тому, що в Y-хромосомі довгі плечі розташовані паралельно, але надійно диференціювати цю хромосому можна не на всіх метафазних пластинках.

Підібравши гомологічні пари, розмістіть їх згідно з порядковим номером та наклейте в протокол. Хромосоми, що належать до однієї групи, об'єднайте фігурною дужкою і вкажіть їхню групу. Зробіть висновок про каріотип, зазначивши: а) кількість хромосом у ньому; б) хромосомну статть.

**Завдання 4.** Проаналізуйте каріотиби осіб, що мають хромосомні порушення. Зробіть висновки про характер хромосомної патології в осіб з наведеними каріотипами.

**Завдання 5.** Розгляньте під імерсією та охарактеризуйте метафазні пластинки готових препаратів каріотипів людей-носіїв таких синдромів: Дауна, Клайнфельтера, Шерешевського–Тернера та ін. Підрахуйте число хромосом і встановіть кому належить каріотип – чоловічій чи жіночій статі.

**Завдання 6.** Розгляньте та зарисуйте будову хромосоми.

**Зробіть висновки.**

### **Завдання для самоконтролю**

1. Що є предметом вивчення медичної генетики?
2. Що таке мітохондріальна і пластидна спадковість?
3. Що таке ген?
4. Що таке алельні гени?
5. Що таке генотип і фенотип?
6. Що таке гомозигота, гетерозигота і гемізигота?
7. Які ви знаєте домінантні та рецесивні ознаки в людини?
8. Що таке альтернативні ознаки?
9. Що таке менделюючі ознаки?
10. Які ви знаєте типи успадкування менделюючих ознак у людини?
11. Назвіть хромосомні захворювання людини. Охарактеризуйте особливості їх успадкування.
12. Назвіть генні захворювання людини. Охарактеризуйте особливості їх успадкування.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13

### ВИЗНАЧЕННЯ ТІЛЕЦЬ БАРРА МЕТОДОМ ЕКСПРЕС-ДІАГНОСТИКИ

**Мета:** ознайомитися з методом визначення статевого хроматину в соматичних клітинах людини, ознайомитися з методами і підходами, які використовуються у медико-генетичному консультуванні.

**Матеріали і обладнання:** шліфовані, предметні і покривні скельця, гістологічна голка, вата, ацетоорсеїн, навчальні таблиці; фотографії каріотипів і осіб з аномаліями та вадами розвитку, хворих на спадкові хвороби; слайди.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

У 50-х роках ХХ ст. стало можливим спостерігати і було описано кожен хромосому людини у вигляді самостійної одиниці. Загальна довжина молекули ДНК у хромосомі людини (середньої за розміром) досягає 4 см, а сумарна довжина цих молекул у клітині з диплоїдним (подвійним) набором – близько 180 см. У 1956 р. Дж. Тийо, А. Леван установили, що у людини хромосомний набір складається з 46 хромосом. Через три роки були відкриті хромосомні хвороби.

У діагностиці спадкових хвороб широко використовують дані клінічних лабораторних досліджень. Іноді для встановлення і уточнення діагнозу таких захворювань застосовують спеціальні генетичні методи. Щоб надати спеціалізовану генетичну допомогу пацієнтам, проводиться медико-генетичне консультування.

Щоб швидко визначити кількість Х-хромосом у соматичних клітинах, застосовується дослідження статевого хроматину. Х-хроматин – це дископодібне тільце (тільце Барра), що виявляється в інтерфазних ядрах соматичних клітин людини, розміщене безпосередньо на внутрішній поверхні ядерної мембрани. Х-хроматин являє собою спіралізовану Х-хромосому, яка в жінок конденсується ще у ранньому ембріогенезі.

Визначення Х-хроматину в соматичних клітинах має значення як експрес-метод для діагностики хромосомних захворювань, пов'язаних зі зміною кількості Х-хромосом. Поряд з вивченням мітотичних хромосом, певного діагностичного значення набуває спостереження інтерфазних клітин. Відмінною ознакою жіночої статі є вміст в інтерфазних ядрах статевих хроматину, або тілець Барра.

У 1949 р. Барр і Бертрам при вивченні нервових клітин кішки виявили в ядрах невеличке інтенсивно забарвлене тільце, якому дали назву "сателіт ядра". Пізніше було доведено, що воно міститься тільки в ядрах клітин самок і його можна розглядати як ознаку, що відрізняє клітини самок від клітин самців. Це тільце отримало назву статевий хроматин, або тільце Барра.

Статевий хроматин знаходиться тільки в ядрах клітин самок тварин, які мають Х- і У-хромосоми. Після забарвлення ця грудочка хроматину розташована поблизу ядерця, біля ядерної оболонки або лежить вільно в каріоплазмі. Локалізація статевого хроматину всередині ядра відносно постійна для клітин певного типу тканин.

Встановлено, що статевий хроматин є не що інше, як одна із Х-хромосом, яка під час інтерфази знаходиться в гетеропікнотичному стані. На стадії бластоцисти одна з Х-хромосом, материнського або батьківського походження, інактивується.

У жінок статевий хроматин виявляється у 20-60% ядер. Кількість грудочок статевого хроматину завжди на одиницю менша, ніж число Х-хромосом. У нормі в жінок у кожному ядрі міститься одне тільки статевого хроматину. Порушення кількості Х-хромосом призводить до зміни кількості статевого хроматину, а в індивідуума типу 48, ХХХХ їх буде три. При типі 45, Х0 (синдром Тернера) статевий хроматин відсутній. У чоловіків з каріотипом 46, ХУ статевого хроматину немає. При каріотипі 47, ХХУ визначається одна грудочка статевого хроматину, з каріотипом 48, ХХХУ – дві грудочки. Статевий хроматин виявляється також у нейтрофілах у вигляді виросту (так звані "барабанні палички"), у вагінальному епітелії або в клітинах волосяної цибулини.

Для виявлення чоловічого У-статевого хроматину (Р-тільца) мазки фарбують акрихіном і розглядають з допомогою люмінесцентного мікроскопа. У-хроматин – це часточка, що інтенсивно світиться, яка за величиною й інтенсивністю світіння відрізняється від інших хромоцентрів. Він виявляється в ядрах клітин чоловіків. Кількість У-тілець відповідає числу У-хромосом у каріотипі.

При забарвленні ядра флуоресціюючими барвниками У-хромосома відрізняється від інших хромосом інтенсивним світінням свого довгого плеча. Ця властивість зберігається і в інтерфазних ядрах (наприклад, у клітинах слизової оболонки рота, в клітинах волосяної цибулини, клітинах амніотичної рідини і в лейкоцитах, а також у сперміях). Флуоресціююча світла цяточка іноді нагадує двокрапку і виявляється у великому відсотку всіх клітин з У-хромосоною. У-тільца мають широкую варіабельність форми і компактності.

Частота У-хроматин-позитивних ядер у клітинах слизової щоби у здорового чоловіка в середньому складає 25-50 %. Дослідження статевого хроматину дозволяє без каріологічного аналізу визначити набір статевих хромосом. Воно проводиться при масових обстеженнях населення з метою скринінгу для більш детального вивчення хромосом.

Медико-генетичне консультування направлене на профілактику спадкових захворювань, визначення прогнозу народження дитини з спадковою патологією, надання допомоги сім'ї, яка має хвору дитину, для прийняття рішення про подальше народження дітей. Основним завданням консультування є вивчення і встановлення діагнозу з визначенням етіології відхилень в розвитку, а також можливе попередження наслідків генетичних дефектів у людини.

Штат консультації складається з лікарів-генетиків, цитогенетиків і біохіміків-генетиків.

Медико-генетичне консультування охоплює наступні етапи: діагноз; прогноз нащадків; порада про подальше народження дітей.

Серед різних спеціальних генетичних дослідженнях особливе значення мають цитогенетичний аналіз, скерований найперше на медико-генетичне консультування пацієнтів з хромосомною патологією, вродженими вадами розвитку і нервово-психічними захворюваннями.

Важливим аспектом медико-генетичного консультування є пренатальна діагностика. Вона включає ультразвукову діагностику і оперативну техніку з наступними методами: хоріонбіопсія; амніоцентез і кордоцентез; біопсія м'язів і шкіри плоду; лабораторні методи: цитогенетичні, біохімічні, молекулярно-генетичні.

Пренатальна діагностика передбачає два основних етапи:

а) на першому етапі ставиться завдання виявити сім'ю з підвищеним ризиком генетичної патології;

б) на другому етапі проводиться пренатальна діагностика у жінок з групою ризику.

На всіх етапах медико-генетичного консультування важливе значення має деонтологія (вчення про професійні обов'язки та етикет).

Методи пренатальної діагностики поділяються на три групи: просіваючі, неінвазійні та інвазійні з подальшою лабораторною діагностикою. Вибір методу є строго індивідуальним залежно від стану здоров'я вагітної жінки і ситуації в сім'ї.

На першому етапі консультування лікар-генетик визначає механізм спадкової патології і уточнює діагноз. Важливе значення мають генеалогічне і цитогенетичне дослідження.

Генеалогічний метод полягає на старанному дослідженні родоводу пробанда (особа, яка звернулася за медико-генетичною консультацією). Цитогенетичне обстеження має важливе значення для встановлення прогнозу розвитку нащадків при хромосомних захворюваннях, а також для уточнення діагнозу при вроджених вадах розвитку. Як правило, обстежується не тільки дитина, але і його батьки. Використовуються також додатково біохімічні та імунологічні методи діагностики. Після проведеного обстеження і встановлення діагнозу надаються рекомендації і поради батькам. У доступній формі пояснюють суть діагнозу, а також прогноз щодо подальшого дітонародження. При цьому в будь-якому випадку прийняття рішення про подальше дітонародження залишається за сім'єю.



## Хід роботи

**Завдання 1.** Приготуйте тимчасовий мікропрепарат зішкрябу клітин букального епітелію. Для цього 1) шліфованим стерильним скельцем чи металічним шпателем зробіть зішкряб зі слизової порожнини рота (з внутрішньої поверхні щік); 2) розподіліть зішкряб рівномірно посередині предметного скла і підсушіть; 3) зафарбуйте препарат, капнувши на мазок 1-2 краплі ацетоарсеїну, і витримайте 15хв; 4) накрийте препарат покривним скельцем і за допомогою фільтрувального паперу усуньте рештки барвника. Дослідження препарату під мікроскопом почніть з малого збільшення. Знайшовши ділянку з великою кількістю клітин, перейдіть до масляної імерсії.

Підрахуйте 100 інтерфазних ядер, відмічаючи при цьому кількість ядер із статевим хроматином. Встановіть процент ядер зі статевим хроматином. Розміщення ядер на препараті може бути таким, що статевий хроматин перебуватиме поза площиною поля зору, очевидно, що ця структура виявляється у ядрах не усіх клітин.

Зарисуйте клітини, у ядрах яких присутній статевий хроматин, і клітини, у яких його нема. У висновку опишіть морфологічні особливості і функціональне значення статевого хроматину.

**Завдання 2.** Розгляньте при великому збільшенні (90х) світлового мікроскопа під імерсійним об'єктивом постійний мікропрепарат мазка крові людини. Відшукайте в полі зору мікроскопа нейтрофільні гранулоцити, що мають складно-часточкове ядро, від якого відходять відростки у вигляді барабанних паличок (див. додаток 7). У протоколі зарисуйте нейтрофільний гранулоцит з ядерними відростками. На рисунку позначте: а) ядро; б) цитоплазму; в) ядерний відросток – барабанну паличку.

**Зробіть висновки.**

### Завдання для самоконтролю

1. Яка природа Х-хроматину?
2. У клітинах яких тканин можна визначити Х-хроматин?
3. Скільки грудочок Х-хроматину виявляється в соматичних клітинах людини із синдромом Клайнфельтера?
4. Назвіть захворювання, при якому в нейтрофільних гранулоцитах у хворого хлопчика можуть бути виявлені ядерні відростки у вигляді барабанних паличок.
5. Чи можна знайти грудочки Х-хроматину в хлопчика із синдромом Патау?
6. Який лабораторний експрес-метод доцільніше застосувати для діагностики синдромів Шерешевського–Тернера і Клайнфельтера?

7. Чи можна в соматичних клітинах чоловіка, що хворіє на цукровий діабет, виявити грудочки Х-хроматину?
8. Чи можна в соматичних клітинах здорового чоловіка виявити грудочки У-хроматину?
9. Третій закон Менделя розкриває закономірності:
  - а) незалежного комбінування ознак;
  - б) аналізуючого схрещування;
  - в) успадкування, зчепленого зі статтю.
10. За яких умов призначають проведення медико-генетичної консультації?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14

### ВИВЧЕННЯ ПАРАЗИТИЧНИХ ОДНОКЛІТИННИХ

**Мета:** вміти ідентифікувати паразитичних представників підцарства Найпростіші, знати особливості будови, життєвий цикл для наступного правильного трактування етіології і профілактики інвазійних хвороб людини.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, набір предметних і покривних скелець, піпетки, таблиці.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

У світовій фауні налічується близько 70 тисяч видів одноклітинних тварин, з них в Україні – близько 1500.

Майже всі найпростіші мають мікроскопічні розміри (від 2 мкм до 0,2 мм), серед них трапляються й колоніальні форми (вольвокс). Живуть одноклітинні у прісних (амеба звичайна, евглена зелена, інфузорія-туфелька, вольвокс) та морських водоймах (форамініфери, променяки), у ґрунті (деякі види амеб, джгутикових, інфузорій). Багато з них ведуть паразитичний спосіб життя (лямблії, трипаносоми, малярійний плазмодій). У поширенні найпростіших вирішальне значення має волога.

Найпростіші – це представники тваринного світу, що перебувають на клітинному рівні організації. Морфологічно вони становлять одну клітину, а функціонально – цілісний організм. Тому клітина найпростіших побудована значно складніше, ніж клітина багатоклітинного організму. Це пояснюється тим, що клітини багатоклітинних організмів виконують лише певні функції, тоді як одна клітина найпростіших виконує всі життєві функції, притаманні цілісному організму: живлення, рух, виділення, дихання, розмноження тощо.

Особливості будови та життєдіяльності одноклітинних організмів

Клітина найпростішого, як і будь-яка еукаріотична клітина, має загальноклітинні органели. У цитоплазмі найпростіших виділяють два шари: зовнішній – ектоплазму та внутрішній – ендоплазму. Крім того, у найпростіших є характерні лише для них органели: руху (псевдоніжки, джгутики, війки), травлення (травні вакуолі, у інфузорії – клітинний рот, глотка), виділення та осморегуляції (скоротливі вакуолі). Клітина одноклітинних тварин містить одне (амеба, евглена) чи кілька (інфузорія) ядер. Переважна більшість одноклітинних має здатність рухатися. За допомогою тимчасових випинів цитоплазми – несправжніх ніжок (псевдоніжок) переміщуються найпростіші, позбавлені щільної клітинної оболонки (амеби). Швидкому пересуванню одноклітинних сприяють джгутики (евглена зелена) та війки (інфузорія-туфелька).

Дихання здійснюється шляхом надходження кисню через усю поверхню клітини. Він окислює складні органічні речовини до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  та інших сполук.

При цьому вивільняється енергія, що використовується для процесів життєдіяльності тварин.

Виділення продуктів життєдіяльності відбувається через скоротливі вакуолі. За їх допомогою підтримується постійний осмотичний тиск усередині клітини. Скоротлива вакуоля виконує функцію відкачування води, що постійно потрапляє у клітину за законами космосу. Така осморегуляція характерна для прісноводних одноклітинних, у цитоплазмі яких міститься більше солей, ніж у довкіллі. У морських і паразитичних форм скоротливих вакуоль немає, оскільки концентрація солей у довкіллі не менша, ніж усередині організму.

Для найпростіших характерні нестатевий та статевий способи розмноження. Нестатеве розмноження здійснюється шляхом поділу та брунькування. Найчастіше розмножуються одноклітинні поділом материнського організму на дві дочірні клітини. Для інфузорії-туфельки, крім поділу, характерний статевий процес, під час якого дві інфузорії тимчасово сполучаються між собою та обмінюються малими ядрами. Таким чином інфузорії обмінюються генетичною (спадковою) інформацією, що міститься в їх ядрах.

Найпростіші поширені по всій земній кулі. До них належать вільноживучі та паразитичні види. За особливостями будови одноклітинні поділяються на кілька типів: *Саркодзгустикові*, *Споровики*, *Інфузорії*. Живлячись здебільшого мікроорганізмами та органічними рештками, найпростіші включають їх у загальний процес кругообігу речовин у біосфері. Самі ж вони є кормом для деяких ракоподібних, молюсків, мальків риб. Помітна їхня роль у самоочищенні водойм. Процеси ґрунтоутворення також здійснюються за допомогою найпростіших. Дзгустикові одноклітинні служать для біологічної оцінки ступеня чистоти водойм (біодіагностики). Форамініфери та променяки відіграють значну роль в утворенні відкладень крейди та вапняку, що є цінними будівельними матеріалами.

Паразитичні види (амеба дизентерійна, малярійний плазмодій, трипаносоми, лямблії, лейшманії) викликають небезпечні захворювання людини та свійських тварин, однак деякі з них є перспективними для створення біологічних методів боротьби зі шкідниками.

Малярія – одне з найнебезпечніших захворювань, від якого протягом XIX і XX століть загинуло понад 100 млн людей. Збудники малярії – кілька видів малярійних плазмодіїв.

Малярійному плазмодію притаманний складний життєвий цикл, що відбувається як зі зміною статевого та нестатевого поколінь, так і зі зміною хазяїв – людини та малярійного комара. Комар заражається плазмодієм під час ссання крові хворої на малярію людини. У кишечнику комара плазмодій розмножується статевим способом, тобто комар є його остаточною хазяїном.

Остаточний хазяїн – особина, в якій паразит розмножується статевим шляхом.

Після статевого розмноження настає нестатеве: із заплідненої яйцеклітини утворюється багато рухливих клітин паразита. Через деякий час ці клітини накопичуються в слинних залозах комара, звідки вони під час укусу комахи

потрапляють у кров людини разом зі слиною. Людина – проміжний хазяїн малярійного плазмодія.

Проміжний хазяїн – організм, у якому паразит розмножується нестатево або лише проходить певні стадії розвитку. Спочатку клітини паразита потрапляють у клітини печінки людини, де інтенсивно розмножуються. Подальший розвиток малярійного плазмодія перебігає в червоних клітинах крові – еритроцитах. Через певні проміжки часу (24, 48 або 72 години) клітини паразита руйнують еритроцити. У кров потрапляють отруйні продукти життєдіяльності плазмодія, і людина відчуває напад пропасниці.

Завдяки лікуванню хворих на малярію і цілеспрямованій боротьбі з малярійними комарами та їхніми личинками, які мешкають у водоймах, малярію вдалося майже повністю ліквідувати на теренах Європи та Північної Америки. Однак останнім часом в Україні щорічно реєструють сотні випадків захворювань на малярію. Її завозять люди, які повертаються з країн, де поширене це захворювання. Зважаючи на те, що в Україні мешкає кілька видів малярійних комарів, у нашій країні постійно існує небезпека спалаху цієї вкрай небезпечної хвороби.

Дизентерійна амеба зазвичай мешкає в просвіті кишечника людини. Там вона живиться бактеріями і жодної шкоди організму хазяїна не завдає. Проте за певних умов дизентерійна амеба може проникнути в стінки кишечника, руйнуючи його клітини та споживаючи еритроцити. Це призводить до утворення виразок на стінках кишечника та кривавого проносу. Захворювання називається амебіаз. Назовні цисти паразита виходять разом із каловими масами. В організм іншої людини цисти можуть потрапити з сирого водою, немитими фруктами та овочами тощо.

Трипанозоми мешкають у крові, лімфі, спинномозковій рідині ссавців, а отже, й людини. Один з видів трипанозом спричиняє в тропічній Африці смертельно небезпечне захворювання людини – сонну хворобу. Захворювання супроводжується пропасницею, слабкістю, напівпритомним станом (звідки і назва). Переносить трипанозом муха цеце.

Сонна хвороба належить до захворювань з природною осередкованістю, вчення про які розробили російський учений Є.Н. Павловський та український – Д.К. Заболотний. Вони довели, що в природі існують осередки захворювань, на які страждають люди та свійські тварини. Хазяї збудників цих хвороб – дикі тварини (для трипанозом – це різні види антилоп). За участю переносників збудники з природних осередків можуть передаватися людині та свійським тваринам.

Ще одним небезпечним захворюванням людини є токсоплазмоз. Його збудник – токсоплазма – внутрішньоклітинний паразит, який уражує нервову, ендокринну системи, лімфатичні вузли, м'язи. Людина може заразитися, граючись із ураженою кішкою, на поверхні тіла якої є цисти паразита. Інший шлях зараження – вживання в їжу недостатньо термічно обробленого м'яса хворих тварин. Дослідження показали, що не менш як 30-40 % мешканців нашої планети заражені токсоплазмою. Але прояви захворювання реєструють значно рідше. Отже, більшість людей, в організмі яких перебувають

токсоплазми, – це носії. Носії можуть передавати збудників захворювання здоровим особинам.

### Хід роботи

**Завдання 1.** Непаразитичні саркодові. Візьміть піпеткою і нанесіть на предметне скло краплю культури з амебами. Накрийте краплю покривним склом. Розгляньте препарат під мікроскопом спочатку при збільшенні 7х8, потім – 7 х 40. Знайдіть найбільший екземпляр амеби і придивіться до амебоїдної форми руху, характерної лобозевим. Амеби повільно пересуваються, змінюючи свою форму. При цьому вони утворюють вирости цитоплазми – псевдоподії. При довгому спостереженні можна помітити, як амеби за допомогою псевдоподій захоплюють їжу. Позначте в робочому зошиті будову амеби (рис. 1).

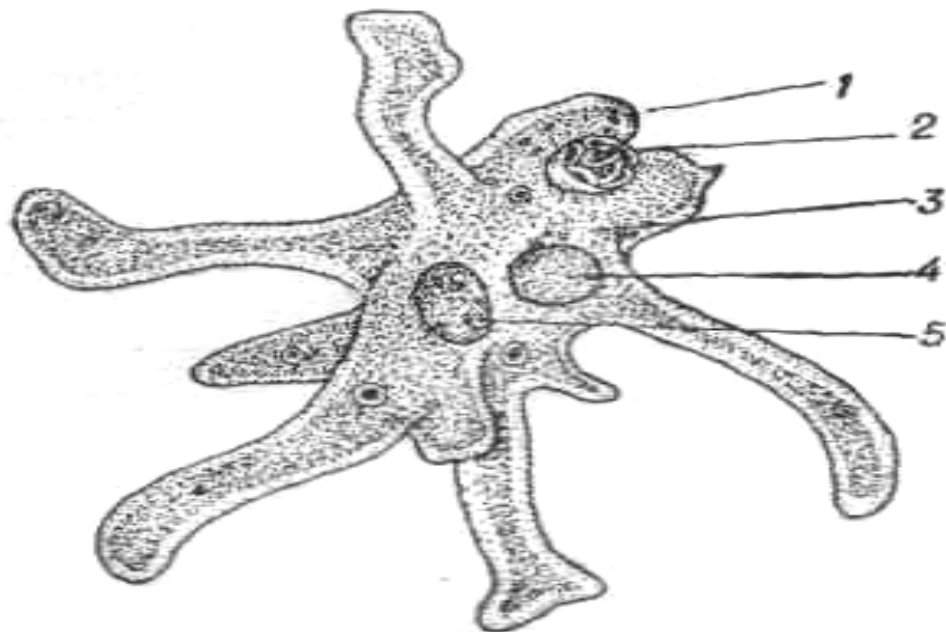


Рис. 1. Амеба протей:

1 – ектоплазма; 2 – травна вакуоля; 3 – ендоплазма. 4 – скоротлива вакуоля; 5 – ядро.

**Завдання 2.** Дизентерійна амеба. Розгляньте і позначте схему життєвого циклу дизентерійної амеби (рис. 2).

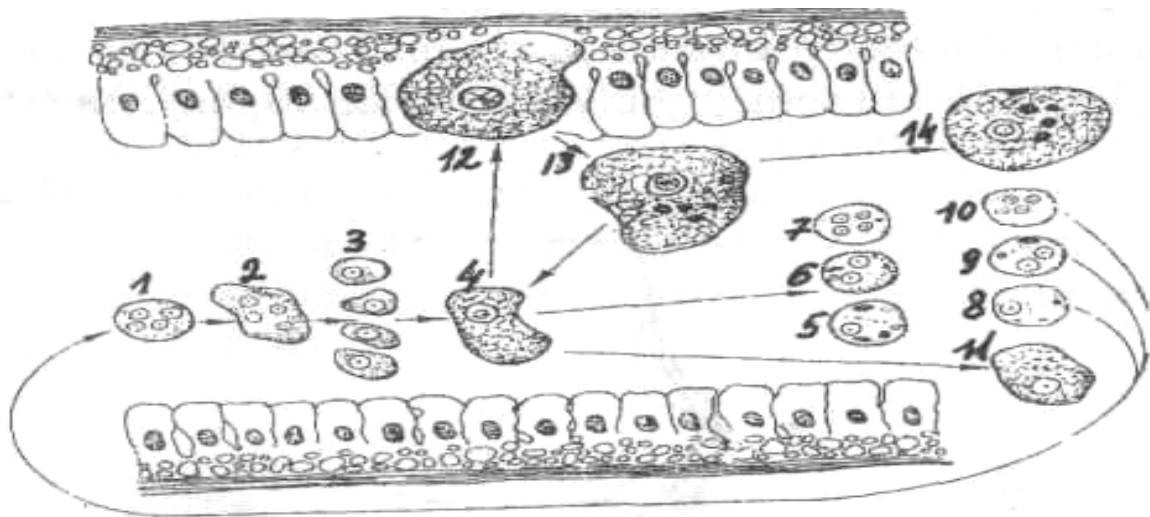


Рис. 2. Схема життєвого циклу дизентерійної амеби:

1-2 – циста, яка потрапила в травний канал; 3 – метацистичні амеби які утворюються при ексцистуванні (тобто виході із цисти); 4 – дрібна вегетативна форма, яка є основною ланкою в життєвому циклі амеби; 5-10 – цисти, які виділяються з фекаліями в зовнішнє середовище і знову можуть потрапити в організм господаря; 11 – вегетативна форма, яка зустрічається в кров'янисто-слизових виділеннях хворого (в зовн. середовищі гине); 12 – велика вегетативна форма, яка проникає в тканини слизової оболонки кишок; 13-14 – велика вегетативна форма, яка потрапляє в просвіт кишок (при виведенні в зовнішнє середовище гине).

**Завдання 3.** Будова трипаносоми. Позначте будову трипаносоми, відмітивши ядро, кінетопласт, базальне тільце, кінетосому, ундулюючу мембрану, джгутик (рис. 3).

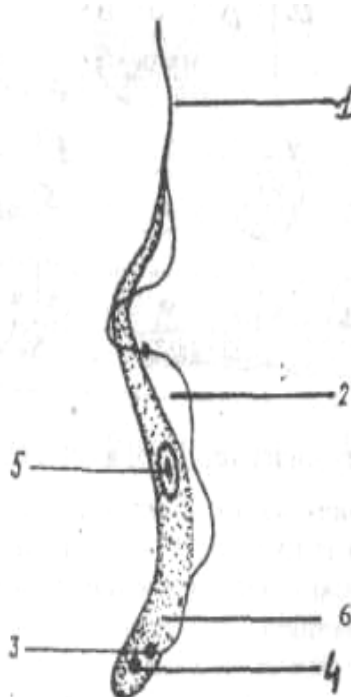


Рис. 3. Трипаносома:

1 – джгутик, 2 – хвилеподібна перепонка, 3 – кінетосома, 4 – кінетопласт, 5 – ядро; 6 – базальне кільце

**Завдання 4.** Морфологія лямблій. Лямблії мають грушоподібну форму тіла, симетричний присмоктувальний диск, розміщений в передній частині на черевній стороні тіла, що служить для прикріплення до слизової оболонки кишечника. Посередині тіла є дві опорні палички – аксостилі, 2 ядра, які розміщені в передній частині тіла, 4 пари джгутиків. Позначте будову лямблії і цисти, відмітьте симетрію в розміщенні всіх структур (рис. 4).

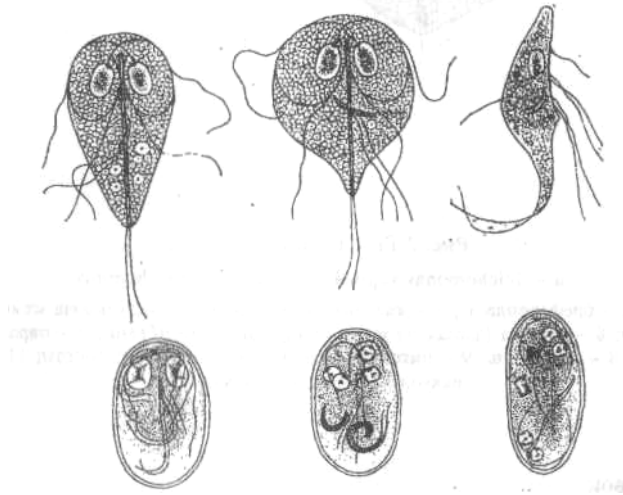


Рис. 4. *Lamblia intestinalis* (верхній ряд) і її цисти.

**Завдання 5.** Морфологія трихомонади. Трихомонади мають овальну форму тіла з шилоподібним виростом на задньому кінці, пухироподібне ядро, яке розміщується у передньому кінці тіла. Блефаропласти, які скручено лежать між ядром і переднім краєм тіла з вільними джгутиками, які відходять від них, ундулюючу мембрану, опорний стержень – аксостиль та інші. Позначте будову кишечної і піхвової трихомонади (рис. 5).

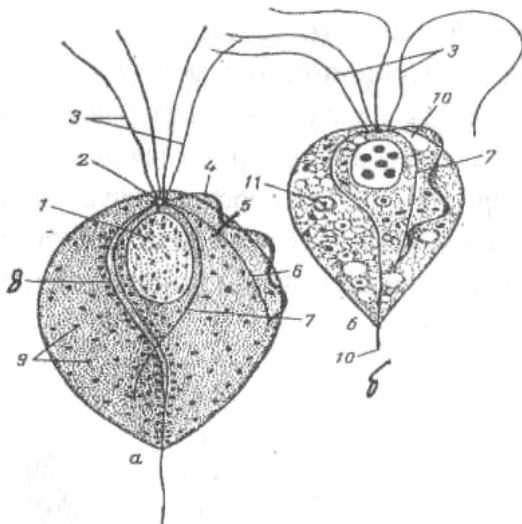


Рис. 5. Різні види трихомонад:  
а – *Trichomonas vaginalis*;  
б – *Trichomonas hominis*.

1 – ядро; 2 – блефаропласт; 3 – джгутики (передні); 4 – ундулююча мембрана; 5 – ризопласт; 6 – опорна (аксіальна нитка) ундулюючої мембрани; 7 – парабазальна фібрила; 8 – аксостиль; 9 – цитоплазматичні гранули; 10 – цитостом; 11 – травні вакуолі; 12 – задній джгутик.



**Завдання 6.** Розгляньте готовий мікропрепарат мазку крові і товстої краплі хворого малярією. Цитоплазма еритроцита забарвлена в розовий колір, цитоплазма плазмодія – в синій, його ядро в яскраво-червоний колір. Знайдіть на препаратах різні стадії розвитку малярійного плазмодія в еритроцитах: здорові еритроцити, кільцевидна стадія, амебоподібний шизонт, зрілий шизонт, ділячі шизонти, незрілі статеві форми (макро- і мікрогаметоцити). Ознайомитись з життєвим циклом паразита, що викликає малярію. Позначте основні стадії розвитку паразита.

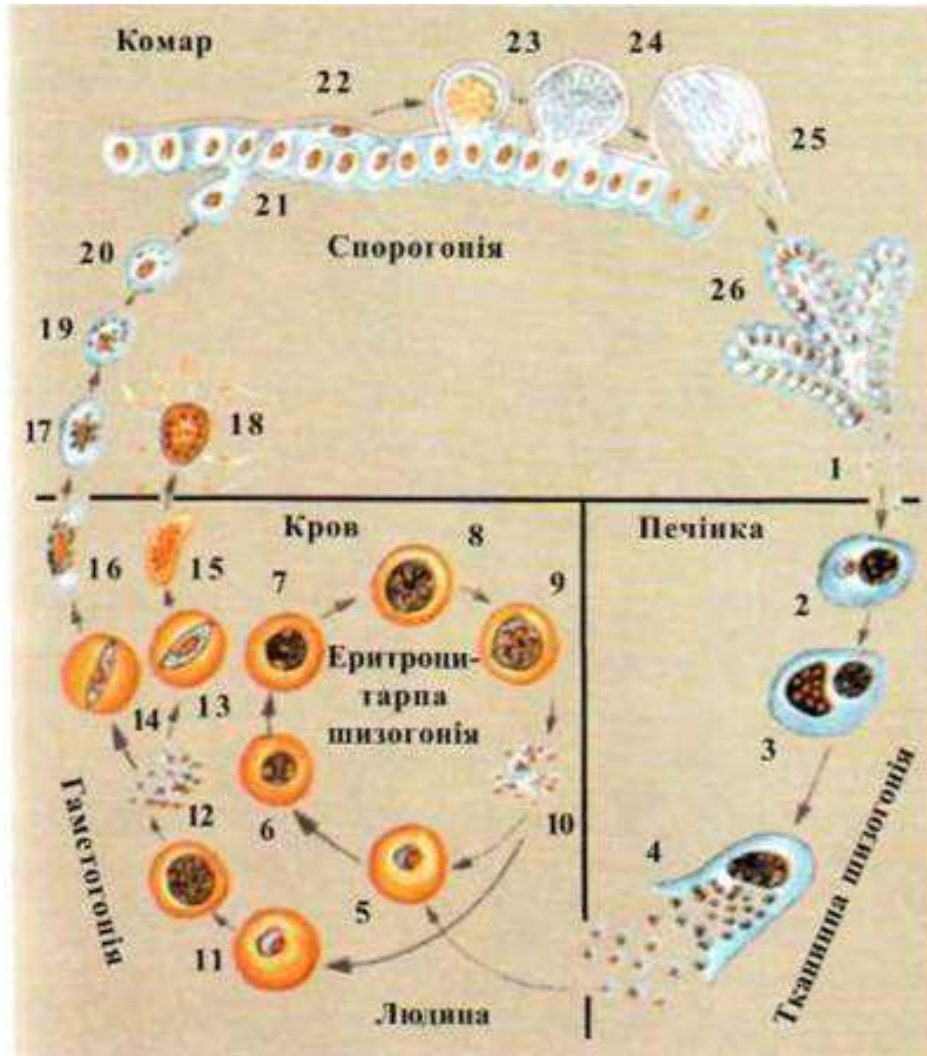


Рис. 6. Життєвий цикл *Plasmodium vivax*:

- 1-4 – вихід спорозоїтів з протоки слинної залози комара та проникнення їх у клітини печінки; 5-10 – шизогонія в еритроцитах;
- 11-16 – гаметогонія; 17 – жіноча гамета; 18 – утворення мікрогамет; 19 – запліднення; 20 – зигота; 21 – оокінета; 22-24 – розвиток ооцисти;
- 25 – розрив зрілої спороцисти та вихід спорозоїтів; 26 – спорозоїти у слинній залозі.

**Завдання 7** Заповніть таблицю «Основні захворювання, спричинені найпростішими».

**Таблиця 1**

Назва захворювання	Симптоми	Збудник	Профілактика

**Зробіть висновки.**

**Завдання для самоконтролю**

1. Якими шляхами проникає паразит у тіло хазяїна?
2. Що таке антропонози?
3. Які морфологічні ознаки характерні для найпростіших?
4. Які органели характерні для клітин найпростіших?
5. Які найпростіші спричиняють кишкові хвороби?
6. Які морфофізіологічні особливості мають саркодові?
7. Яке захворювання спричинює дизентерійна амеба?
8. Чим живиться дизентерійна амеба?
9. Де в організмі людини локалізується піхвова трихомонада?
10. Які морфологічні особливості має кишкова трихомонада?
11. Охарактеризуйте основні особливості малярії, збудник, поширення.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №15

### ВИВЧЕННЯ ПАРАЗИТИЧНИХ ЧЕРВІВ

**Мета:** вміти розпізнавати на макро- і мікропрепаратах видову належність аскариди, гострика, волосоголовця, трихінели, кривоголовки і вугриці кишкової для наступної діагностики і профілактики гельмінтозів.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, макропрепарати, таблиці.

### ТЕОРЕТИЧНІ МАТЕРІАЛИ

Круглі черви живуть у морях, прісних водоймах і ґрунті. Серед них багато видів, які вражають тканини і органи не лише різних тварин і людини, а й рослин. Встановлено, що на планеті немає таких біотопів, де б не було представників типу круглих червів. Це один із найчисленніших типів тваринного світу, що охоплює понад 500 тис. видів. Довжина представників різних видів коливається від 1 мм до 1 м, а іноді й більше.

Тіло круглих червів несементоване, має білатеральну симетрію. На поперечному розрізі має форму крута, звідси й назва типу. Стінка тіла складається з шкіром'язового мішка, вкритого кутикулою, у зв'язку з чим для круглих червів характерне линяння. Внутрішні органи розміщені в первинній порожнині тіла, яка заповнена рідиною. Рідина містить отруйні речовини і перебуває в порожнині тіла під певним тиском, що разом з міцними покривами утворює так званий гідростатичний скелет. Первинна порожнина виконує захисну і транспортну функції. Первинна порожнина круглих червів, поява у них задньої кишки й анального отвору є ароморфозами.

Видільна система круглих червів представлена однією двома одноклітинними шкірними залозами, від яких відходять два бокових канали. Ззаду вони закінчуються сліпо, а в передній частині зливаються в один канал, що відкривається назовні порою позаду "губ". Функцію виділення виконують також особливі фагоцитарні клітини, розміщені по ходу видільних каналів. У них нагромаджуються нерозчинні продукти дисиміляції і чужорідні тіла, що потрапляють у порожнину тіла.

Центральна нервова система представлена навкологлотковим нервовим кільцем і стовбурами, що відходять від кільця. Органи чуття розвинені слабо. Є органи дотику й хімічного чуття. У вільноіснуючих круглих червів є світлочутливі вічка.

Травна система починається ротовим і закінчується задньопрохідним отворами. Вона складається з передньої, середньої і задньої кишок.

Більшість форм круглих червів роздільностатеві.

Дихальної і кровоносної систем немає. Вільноіснуючі форми дихають всією поверхнею тіла, а паразити – анаеробно.

До типу Первиннопорожнинних відносять кілька класів. Основним з них

є клас Нематоди, до якого поряд з вільноіснуючими належать усі види, що паразитують в організмі людини й тварин.

Більшість нематод – вільноживучі тварини, що живуть у вузьких капілярних проміжках між часточками ґрунту, піску, мулу на дні водойм або на суші, й лише близько 7 тис. видів (приблизно третина відомих) – паразити рослин і тварин. У прісних водоймах України знайдено понад 300 видів, у Чорному та Азовському морях – близько 200; у хребетних тварин зареєстровано 561 вид паразитичних нематод. Рослинні нематоди живуть на коренях цибулі, часнику, квасолі та на деяких інших городніх рослинах (цибульна нематода), у підземних пагонах картоплі (стеблова нематода), у різних органах суниці (сунична нематода). Розміри їхнього тіла коливаються від мікроскопічних до 1 м і більше. До гігантських видів належить паразитична нематода кашалотів, довжина якої близько 8 м. Нематоди колючим ротовим апаратом проколюють тканини рослин, вводять у них речовини, що розчиняють вміст рослинних клітин. Речовини, що розчинилися, вони всмоктують за допомогою розширеної частини стравоходу, мускулістї стінки якого діють як насос. Їжа перетравлюється в кишечнику. Багато нематод живуть у ґрунті, живляться різними рослинними рештками і відіграють певну роль у ґрунтоутворенні.

Нематоди – паразити тварин і людини – живуть в організмі хазяїна. До них відносяться аскариди (людська, кінська, свиняча), гострики, трихінели, ришти, волосоголовці.

Статевозрілі самці й самки аскариди живуть у тонкому кишечнику людини. Веретеноподібне тіло самок досягає 40 см завдовжки (самці дещо менші – 12-25 см). Живляться аскариди напівперетравленою їжею. Запліднені самки відкладають яйця (близько 200 за добу), що під час випорожнення виходять назовні. У вологому ґрунті в яйцях розвиваються рухливі личинки. Яйця аскарид мають товсту оболонку, тому легко витримують висихання та інші несприятливі умови. Вони розносяться з пилом, водою або за допомогою мух і потрапляють на харчові продукти. У кишечнику людини, куди яйця надходять разом з їжею або водою, з них виходять личинки, які пробуравлюють стінки кишки й опиняються у кров'яному руслі. З кров'ю вони мігрують до печінки, серця і до легень. Руйнуючи стінки легеневих капілярів, личинки виходять в альвеоли, а звідти по дихальних шляхах мігрують через гортань у травну систему, де й розвиваються в дорослих самців і самок. Під час такої міграції по тілу людини, що триває близько 2,5 місяців, личинки линяють і ростуть. Аскариди викликають у людини загальну інтоксикацію організму продуктами обміну паразита, а також розлади функцій кишечника. Спостерігається зниження апетиту, гострі болі в животі, порушення сну, недокрів'я, завороти та непрохідність кишок тощо.

Широковідомий гострик – паразит людини, який живе здебільшого в товстій кишці дітей. Довжина дорослих самок становить 9-12 мм, а самців – 3-5 мм. Самка відкладає яйця на шкіру біля анального отвору, що викликає сверблячку. При почісуванні дітьми сверблячого місця яйця попадають під їхні

нігті, а потім у рот. Відбувається самозараження новими порціями яєць. Протягом життя самка гострика відкладає 5-17 тис. яєць.

Дорослі трихінели (довжина тіла самок близько 4 мм) живуть у просвіті тонкого кишечника, а мікроскопічні личинки проникають у м'язи, де вони ростуть, скручуються у спіраль і, утворивши навколо себе капсулу, переходять у стан спокою. Джерело зараження людини – м'ясо тварин, особливо свиней, що заражуються трихінелою, живлячись дрібними ссавцями, наприклад, пацюками.

### Хід роботи

**Завдання 1.** Морфологія і розтин аскариди. Використовуючи таблицю, малюнки лабораторної роботи, макропрепарати, розгляньте морфологічні особливості і зовнішню будову аскариди, зверніть увагу на статевий диморфізм, позначте їх (рис.1). Розгляньте поперечний зріз через тіло аскариди, позначивши всі її внутрішні органи (рис. 2). Розгляньте особливості перебігу захворювань, що спричиняються даним збудником.

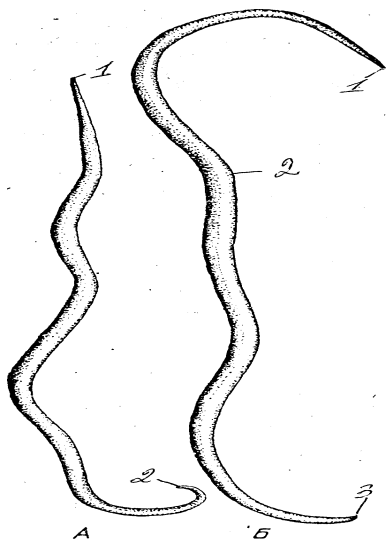


Рис.1 Людська аскарида (*Ascaris lumbricoides*):  
А – самець (задній кінець закручено на черевну сторону); Б – самка: 1 – рот, 2 – статевий отвір, у самця співпадає з анальним – 3

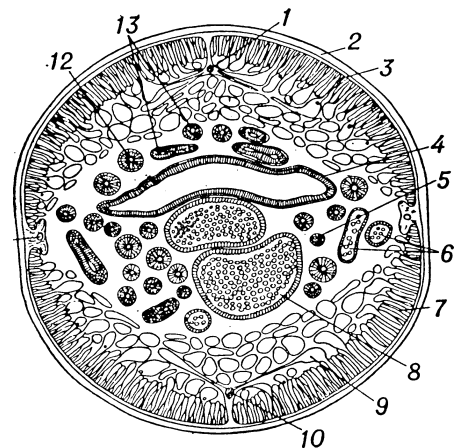


Рис. 2. Поперечний зріз через тіло аскариди (самки):

1 – спинний нервовий стовбур; 2 – кутикула; 3 – гіподерма; 4 – кишка; 5 – яєчник; 6 – яйцепровід; 7 – м'язи; 8 – матка; 9 – поздовжні мускули; 10 – черевний нервовий стовбур; 11 – видільний канал; 12 – рахіс; 13 – яєчники.

**Завдання 2.** Морфологія гострика дитячого. Використовуючи таблицю, малюнки лабораторної роботи та підручники, ознайомтеся з будовою гострика дитячого (самки і самця), позначивши травну і статеву системи (рис.3). Розгляньте особливості перебігу захворювань, що спричинюються даним збудником.

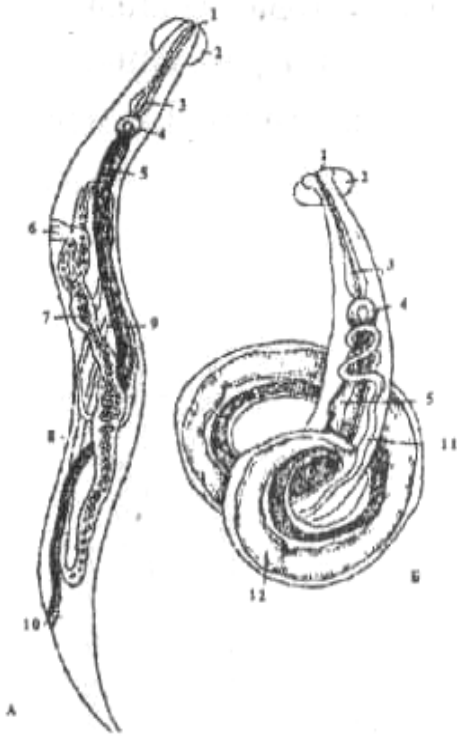


Рис.3. Гострик дитячий (*Enterobius vermicularis*):

А – самка 1 – рот; 2 – везикула; 3 – стравохід; 4 – його відуття (бульбус); 5 – кишечник; 6 – статевий отвір; 7 – матка; 8 – яйцепровід; 9 – яєчник; анальний отвір;

Б – самець (1-10 – позначення такі самі); 11 – сім'яник; 12 – сім'явивідний канал

**Завдання 3.** Морфологія волосоголовця людського. Використовуючи таблицю, малюнки лабораторної роботи та підручники, ознайомтеся із загальною будовою волосоголовця людського (самки і самця), позначивши їх (рис.4). Розгляньте особливості перебігу захворювань, що спричинюються даним збудником.



Рис. 4. Волосоголовець людський:  
а – самка; б – самець (передній кінець занурений у слизову оболонку кишки).

**Завдання 4.** Морфологія трихінели. Позначте, використавши таблицю, малюнки лабораторної роботи та підручники, статевозрілі трихінели (самку і самця), неінкапсульовані і інкапсульовані м'язові трихінели, підкресливши капсулу овальної форми і, розміщену в ній спіральну згорнуту личинку трихінели (рис. 5; 6). Розгляньте особливості перебігу захворювань, що спричиняються даними збудниками.

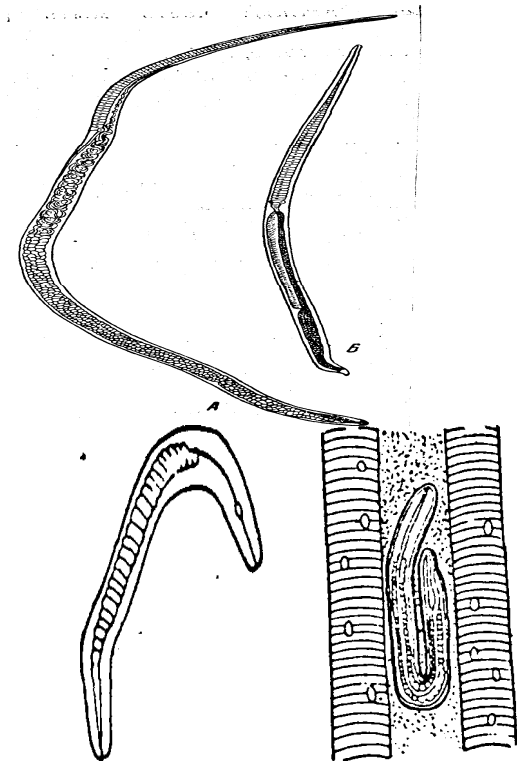


Рис.5. Статевозрілі трихінели (*Trichinella spiralis*): А – самка; Б – самець.

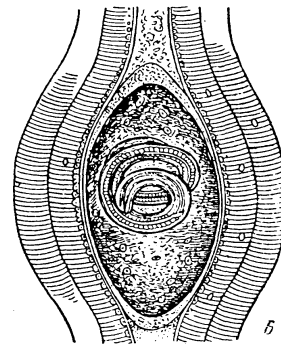


Рис. 6. Трихінела (*Trichinella spiralis*): А – неінкапсульовані м'язеві трихінели; Б – інкапсульовані м'язеві трихінели.

**Завдання 5.** Морфологія кривоголовки та вугриці кишкової. Використовуючи таблицю, малюнки лабораторної роботи та підручники, позначте на малюнку рабдитоподібну і філярноподібну личинки кривоголовки та вугриці кишкової (рис.7). Розгляньте особливості перебігу захворювань, що спричиняються даними збудниками.

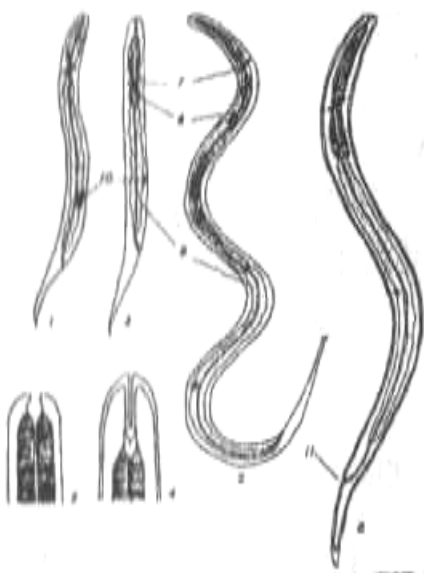


Рис.7. Личинки вугриці кишкової (*Strongyloides stercoralis*) і кривоголовки (*Ancylostoma duodenale*):

1 – рабдитоподібна личинка (вугриці кишкової); 2 – передній кінець; 3 – рабдитоподібна личинка (кривоголовки); 4 – передній кінець, покритий чохлаком; 5 – філярноподібна личинка (вугриці кишкової); 6 – філярноподібна личинка (кривоголовки) в чохлаку після линяння; 7 – нервово кільце; 8 – стравохід

**Завдання 6.** Заповніть таблицю «Основні захворювання спричинені нематодами».

**Таблиця 1**

Назва захворювання	Симптоми	Паразит	Профілактика

**Зробити висновки.**

**Завдання для самоконтролю**

1. Назвіть морфологічні особливості нематод.
2. Які нематоди здатні до живородіння?
3. Чи існують трансмісивні нематодози?
4. Які нетрансмісивні нематодози поширюються через комах?
5. Личинки яких нематод активно проникають в організм людини?
6. Які нематоди здатні активно виводити запліднені яйця або личинки з організму хазяїна?
7. Чи можуть у людини паразитувати кінська аскарида, котяча аскарида, собача аскарида?
8. Через які внутрішні органи людини мігрує личинка аскариди?
9. Чим зумовлене значне поширення та висока частота аскаридозу?
10. Які існують заходи особистої та громадської профілактики аскаридозу?



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 16

### ВИВЧЕННЯ ПАРАЗИТИЧНИХ ЧЛЕНИСТОНОГИХ

**Мета:** вміти розпізнавати на макро- і мікропрепаратах видову приналежність скорпіонів, павуків, кліщів, вошей, блох, комарів і мух для наступної правильної інтерпретації етиології, діагностики і профілактики трансмісивних, інфекційних, інвазійних захворювань; вміти надати невідкладну першу медичну допомогу.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, макропрепарати, таблиці.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Членистоногі – найчисельніший тип у царстві Тварини. До нього належить понад 1,5 млн. видів, у тому числі в Україні – близько 25 тис. Членистоногі опанували усі середовища існування в межах біосфери і поряд з деякими хребетними набули здатності до активного польоту. До них відносяться різні види річкових раків, крабів, креветок, павуків, скорпіонів, жуків, метеликів, мух, комарів тощо. Незважаючи на значну подібність в організації з кільчастими червами, членистоногі у процесі еволюції набули багато прогресивних особливостей, які забезпечили їм вихід на сушу і повітряне середовище.

Павукоподібні – вільноживучі наземні членистоногі (павуки, кліщі, скорпіони), й лише серед кліщів є паразити рослин і тварин, а також мешканці солоних і прісних вод. Відомо понад 60 тис. видів павукоподібних.

Тіло павукоподібних (крім «кліщів») складається з головогрудей і черевця. На головогрудях розташовані 4 пари простих вічок та 6 пар кінцівок, з яких 2 пари видозмінені – короткі клешнеподібні або кігтеподібні хеліцери (для захоплення та вбивання здобичі) і довгі ногощупальця, або педипальпи (для відшукування та утримування здобичі), та 4 пари — ходильні ноги. Черевце має пружні покриви, на ньому знаходяться статевий та анальний отвори, зовнішні отвори органів дихання (легеневих мішків або трахей) і павутинні бородавки з протоками павутинних залоз (у павуків).

Кліщі – одна з найпоширеніших на земній кулі груп тварин. У світовій фауні ряд Кліщі налічує близько 50 тис. видів, з них в Україні – 3 тис. Більшість із них вільноживучі тварини, що населяють ґрунти, підстилку й інші органічні рештки, прісні й морські водойми. Серед кліщів багато паразитів грибів, рослин (галоів кліщі), тварин (свербун-нашкірник, свербун-шкіроїд) і людини (коростяний свербун, іксодові кліщі). Паразитичні види кліщів живуть на пір'ї птахів, у покривах, дихальній, травній, статевій системах багатьох хребетних тварин, а також людини тощо. Кліщі – мікроскопічні організми (1-7 мм), різні за формою (овальні, яйцеподібні, трикутні) та забарвленням. Від інших павукоподібних вони відрізняються за такими ознаками: сегментація тіла не

виражена (головогруди та черевце повністю злиті між собою); ротові органи відокремлені від тулуба у так звану несправжню голівку. У паразитичних видів ротові органи (гризучі, ріжучі, колючосисні) пристосовані до проколювання та смоктання. Кліщі, як і всі павукоподібні, мають 4 пари ходильних ніг. У багатьох паразитичних груп на ногах формуються численні пристосування для закріплення на перах птахів, шерсті ссавців тощо. Найдрібніші кліщі дихають усією поверхнею тіла, більші – за допомогою трахей. Кровоносна система редукована. Кліщі роздільностатеві; самці менші від самок. Для них, на відміну від павуків, характерний непрямий тип розвитку.

Скорпіони – мешканці жарких і теплих районів земної кулі, деякі види – гір. Описано близько 700 видів. В Україні ці тварини зустрічаються у Криму (кримський скорпіон), Одеській та Закарпатській областях (карпатський скорпіон). У них довге членисте черевце, на останньому членику якого міститься отруйна залоза, що відкривається протокою на кінці гострого кривого жала. Здобич скорпіони ловлять і утримують ногощупальцями, що закінчуються клешнями. Скорпіони – нічні хижаки. Живляться лише живою здобиччю, зокрема комахами, їхніми личинками, павуками тощо. Більшість скорпіонів живородні, частина відкладає яйця, з яких розвиваються молоді скорпіони.

Кліщі відомі як переносники збудників різних інфекційних хвороб домашніх і диких тварин та людини. Найбільш відомі переносники збудників кліщового енцефаліту (запалення головного мозку, спричиненого вірусом, що міститься в організмі цих кліщів) – види іксодових кліщів (кліщ тайговий та кліщ лісовий). Кліщ тайговий поширений у лісах тайгової зони Росії, а кліщ лісовий – мешканець Європи й Пн. Африки. Перший вид переносить східний варіант вірусу, що спричиняє так званий весняно-літній енцефаліт – дуже тяжке, часто смертельне захворювання людини. Другий вид переносить західний варіант вірусу, що спричиняє дещо легшу форму енцефаліту. У країнах із сухим і теплим кліматом поширені кліщі, що є специфічними переносниками збудників кліщових переносних тифів (спірохетозів). Іксодові кліщі є переносниками збудників багатьох захворювань тварин (бруцельозу, піроплазмозу тощо).

Коростяний свербун, паразитуючи у товщі епідермісу (зазвичай між пальцями рук) людини є збудником корости – хвороби, характерними симптомами якої є нестерпне свербіння, пов'язане з наявністю у кліщів речовин гострої алергічної дії. Постільний кліщ, живлячись виключно продуктами злущування епідермісу, є джерелом різних алергічних захворювань у людини, і, перш за все, – нетипової форми бронхіальної астми.

Серйозними шкідниками рослин, особливо плодових дерев і кущів, є павутинні й так звані чотириногі кліщі. Втрати врожаю винограду, яблук, слив, груш, цитрусових в окремі роки можуть досягати 30-70%. Борошняні і сирні кліщі ушкоджують харчові продукти.

Деяких хижих кліщів широко застосовують для біологічної боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур, особливо в закритому ґрунті.

Комахи — це чисельна (понад 1 млн.), високоорганізована група справжніх наземних організмів, що належить до типу Членистоногі. Комахи заселяють усі континенти, включаючи Антарктиду, і трапляються скрізь: у безводних пустелях, високогірних зонах вічних снігів, лісах і степах. Вони освоїли всі типи наземних біоценозів, а також ґрунти. Чимало їх живе у прісних водоймах. Більшість комах – вільноживучі тварини, однак серед них трапляються і паразити тварин і людини. Видовий склад комах України вивчено ще недостатньо: вважають, що є не менше 40 тис. видів.

Зовнішніми паразитами людини і ссавців є кровосисні комахи: воші, блохи, деякі клопи, а також різні двокрилі – комарі, мошки, москіти, гедзі. Ці комахи не лише дошкуляють тваринам і людині своїми укусами, а й переносять збудників небезпечних інфекційних хвороб (хвороботворних бактерій, вірусів). Проте є й такі переносники хвороб, які не є паразитами, наприклад, кімнатна муха, рудий тарган тощо.

Воші – типові паразити ссавців та людини, завдовжки 0,4-6 мм. їхнє тіло сильно сплюснене, усі сегменти грудей злиті між собою; у них немає крил і фасеткових очей; ротовий апарат колючо-сисного типу. До волосся і білизни вони прикріплюються за допомогою рухливих кігтиків, що містяться на кінцях лапок. Головна та одежна воші (два підвиди людської воші) – переносники таких небезпечних захворювань як висипний та поворотний тиф. Збудники цих хвороб містяться у внутрішніх органах та екскрементах вошей. У слинних залозах їх немає, тому при укусі воша не здатна заразити людину. При розчісуванні місць укусів і розчавленні вошей на тілі людина втирає збудників разом з їх рештками чи фекаліями у пошкоджений епідерміс. Блохи, як і воші, – особливі паразити тварин і людини, пристосовані до життя у волосяному покриві. Це – безкрилі комахи зі сплюсненим з боків тілом, стрибальними задніми лапками, погано розвиненим зором, колючо-сисним ротовим апаратом. На відміну від вошей, блохи не так тісно зв'язані зі своїм хазяїном. Для відкладання яєць вони використовують забруднені місця (щілини підлоги, ганчір'я). Личинки бліх, на відміну від дорослих бліх-кровососів, живляться гниючими рештками. Блохи (пацюкова, собача, котяча, людська) – переносники чуми, дуже небезпечного захворювання, від епідемій якого протягом історії людства загинуло кількості мільйонів людей. Чума – хвороба переважно гризунів, у норах яких у величезних кількостях розмножуються блохи. У природних умовах чума поширена, в основному, серед ховрахів, а в містах – серед пацюків. Якщо блоха насмокталася крові хворого гризуна, при наступному кровосмоктанні вона може передати збудника чуми людині чи домашнім тваринам.

Шкідливими для людини і тварин є кровосисні двокрилі, відомі під загальною назвою «гну́с». Основними компонентами гну́су є кровосисні комарі, мошки, гедзі, москіти тощо. Серед них є чимало видів, що передають збудників таких тяжких захворювань, як малярія (малярійний комар), сибірська виразка, туляремія (гедзі, мухи-жигалки), різні види лихоманок (москіти) тощо. Збудники цих хвороб містяться у слинних залозах двокрилих і передаються під час укусів.

Інші представники ряду Двокрилі – хатня муха; зелена, синя, сіра падальні мухи відомі як механічні переносники на харчові продукти збудників дизентерії, черевного тифу, поліомієліту, туберкульозу. Руді таргани (ряд Тарганові) також механічно переносять на харчові продукти яйця паразитичних червів, цисти найпростіших, хвороботворні бактерії – збудників кишкових захворювань (дизентерії, черевного тифу) тощо. Тому боротьба з мухами, тарганами та запобігання їхнім контактам із харчовими продуктами харчування – необхідна умова гігієни людини.

## Хід роботи

**Завдання 1.** Розгляньте зовнішню будову скорпіона. Особливу увагу зверніть на розчленованість тіла, оскільки саме за цією ознакою можна відрізнити ряди скорпіонів, павуків і кліщів між собою. Тіло скорпіона ділиться на: головогруді і складно розчленований черевний відділ. Знайдіть на останньому членику заднього черевця ампулоподібне розширення, в якому розміщена отруйна залоза і голкоподібне закінчення, пронизане протокою залози. Намалюйте тіло скорпіона, вкажіть ознаки будови, які характеризують його як одного із представників павукоподібних (рис.1.). Ознайомтесь з отруйними видами скорпіонів.

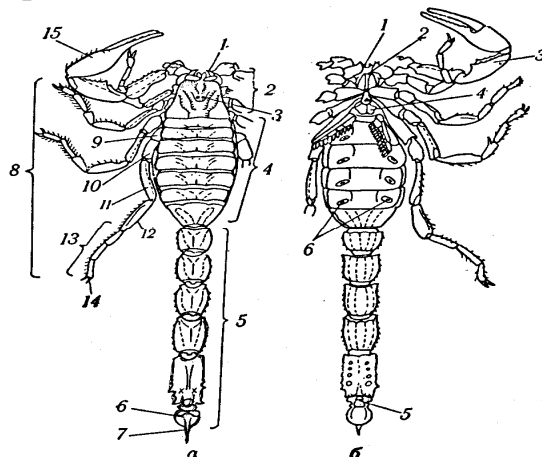
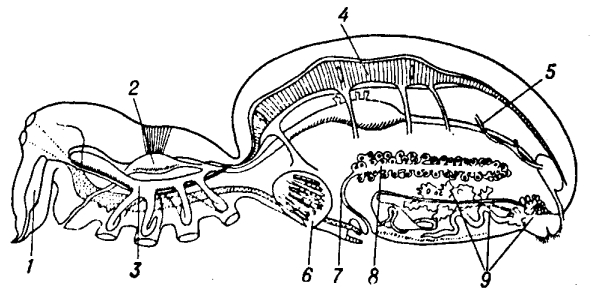


Рис.1.Скорпіон:

а – вигляд із спинного боку: 1 – хеліцери; 2 – головогруді; 3 – медіальні очі; 4 – передньочеревце; 5 – задньочеревце; 6 – тельсон; 7 – отрутоносна голка; 8 – I – IV пари локомоторних кінцівок; 9 – 13 – членики кінцівки; 14 – кігтик; 15 – педипальпа; б – вигляд із черевного боку: 1 – хеліцери; 2 – ротовий отвір; 3 – педипальпа; 4 – статеві кришечки; 5 – анальний отвір; 6 – стигми.

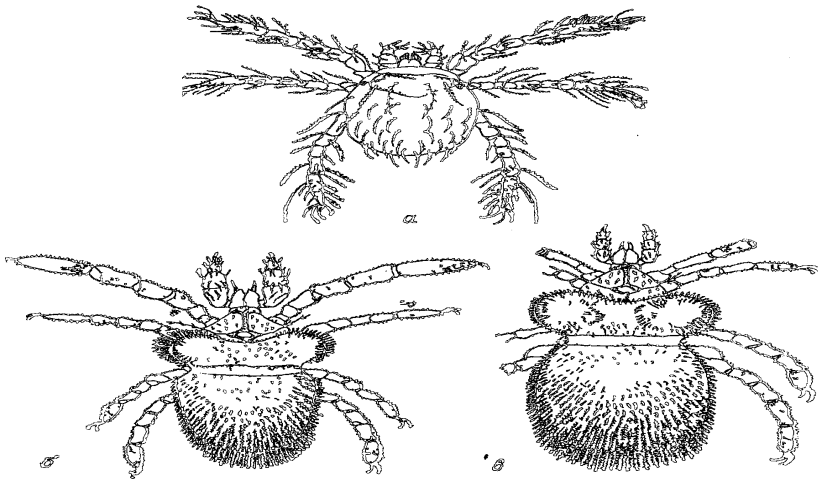
**Завдання 2.** Розгляньте за допомогою лупи натуральний препарат павуків: тарантула, каракурта і хрестовика. Зверніть увагу на відділи тіла (головогруді і черевце), хеліцери і педипальпи, внутрішню будову, вигляд з черевного боку павука-хрестовика, позначте їх на малюнку (рис.2.) Ознайомтесь з отруйними видами павуків.



**Рис.2.** Внутрішня будова павука-хрестовика (схема):

1 – хеліцери з отруйною залозою всередині; 2 – ссальний шлунок; 3 – сліпі відростки кишок; 4 – серце; 5 – мальпігієві судини; 6 – отвір легеневого мішка; 7 – яйцепровід; 8 – яєчник; 9 – павутинні залози.

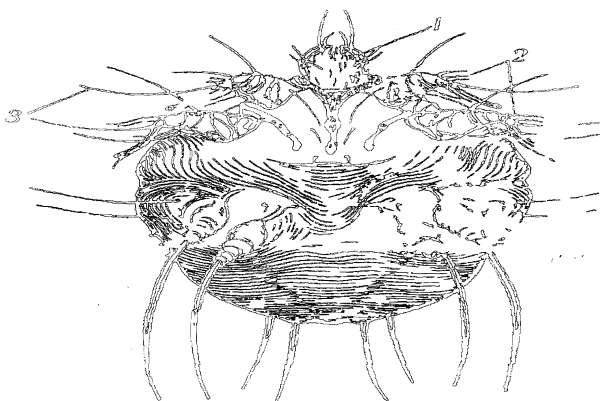
**Завдання 3.** За допомогою лупи і при збільшенні мікроскопа (7х8) розгляньте зовнішню будову кліщів. Позначте стадії розвитку кліщів: личинку, німфу, імаго (рис. 3). Ознайомтесь із захворюваннями, що переносять кліщі.



**Рис.3.** Стадії розвитку кліщів:

1– личинка, 2 – німфа, 3 – імаго

**Завдання 4.** При збільшенні (7х8) розгляньте і позначте зовнішню будову коростяного свербуну (рис. 4). Ознайомтесь із захворюванням, що викликає коростяний свербун.



**Рис.4.** Коростяний свербун (вигляд з черевного боку):

1 – хоботок; 2 – присоски першої і другої пар ніжок; 3 – ніжки

**Завдання 5.** Розгляньте препарат і рисунок одержної воші. Тіло у неї сплюснене в дорзовентральному напрямку і складається з голови, грудей і черевця. Крила відсутні. Три пари кінцівок озброєні кігтиками. Всередині тіла видно галузисті трахейні трубочки, які починаються стигмами. Колючо-сисний ротовий апарат у стані спокою скритий всередині голови, а в момент уколу він виступає через ротовий отвір. Одержна воша більша від головної, світло-сірого або білуватого кольору, не має пігментних плям на боках. Вирізки між члениками черевця менш глибокі, сяжки тонші і довші, ніж у головної воші. Позначте частини тіла одержної воші (рис. 5). Ознайомтесь із захворюванням, що викликає головна воша.

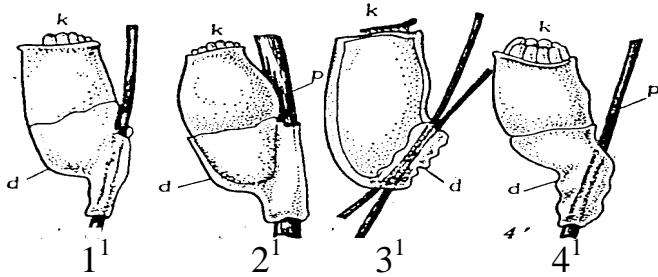
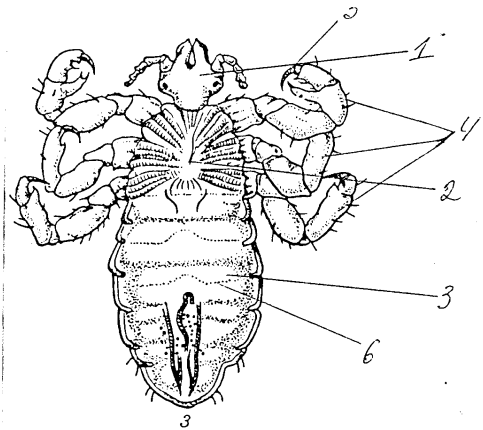


Рис. 5. Яйце вошей: 1'2' – яйце головної воші; 3' – яйця (гниди) одержної воші; 4' – яйця лобкової воші. k – кришка яйця; p – волос; d – клейка рідина



Одержна воша (самець):

1 – голова; 2 – груди; 3 – черевце; 4 – кінцівки; 5 – кігтики; 6 – стигми

**Завдання 6.** Розгляньте препарат і рисунок розвитку людської блохи. Зверніть увагу на дорослу форму (імаго), що має сплюснене з боків тіло, яке складається з голови, грудей і черевця, трьох пар кінцівок, (найбільше розвинені задні стрибальні кінцівки). Біля 8-го сегмента черевця розміщений орган чуття блохи – пігдій у вигляді округлої пластинки з волосинками. Ознайомитись із розвитком і будовою людської блохи, позначити основні її частини тіла (рис. 6). Ознайомтесь із захворюванням, що викликає людська воша.

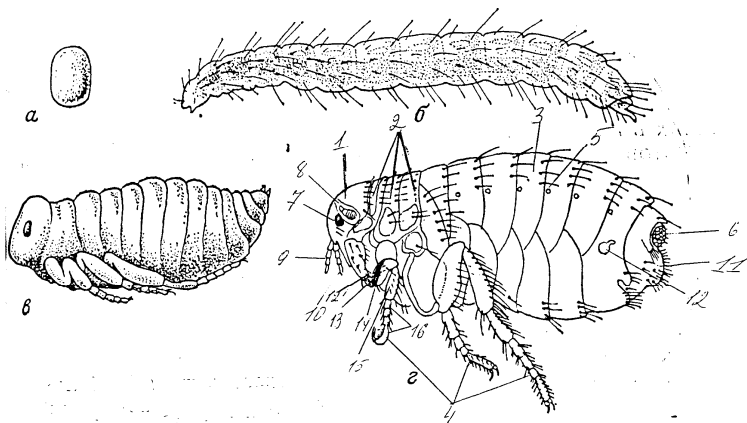


Рис. 6. Розвиток людської блохи  
а – яйце; б – личинка; в – лялечка; г – доросла особина, 1 – голова; 2 – груди; 3 – черевце; 4 – кінцівки; 5 – стигми; 6 – пігдій; 7 – око; 8 – вусик; 9 – нижньо-щелепові щупальця; 10 – хоботок; 11 – анальний сегмент; 12 – сім'яприймник; 13 – вертлуг; 14 – стегно

**Завдання 6.** Заповніть таблицю 1 «Отруйні представники типу Членистоногі» .

**Таблиця 1**

Отруйні представники типу Членистоногі

Отруйні Членистоногі	Симптоми	Перша допомога

**Завдання 7.** Заповніть таблицю 2 «Захворювання, спричинені представниками типу Членистоногі».

**Таблиця 2**

Захворювання, спричинені представниками типу Членистоногі

Назва захворювання	Симптоми	Комаха - переносник	Профілактика

**Зробити висновки.**

### Завдання для самоконтролю

1. Які типи паразитизму притаманні членистоногим?
2. Назвіть морфологічні особливості павукоподібних.
3. Які морфологічні ознаки властиві кліщам? Які родини кліщів мають медичне значення?
4. Яка кількість кінцівок бере участь в утворенні ротового апарату кліща?
5. Які типи ротового апарату властиві кліщам?
6. За якими морфологічними ознаками можна відрізнити кліща від павука?
7. У чому полягає особиста профілактика укусів кліщів?
8. Які кліщі є переносниками тайгового енцефаліту?
9. Де локалізується збудник корости в організмі хазяїна?
10. Який тип паразитизму характерний для коростяного свербуна?

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Атлас гельмінтів тварин: Довідник / І.С.Дахно та ін. – К.: Ветінформ, 2001. – 118 с.
2. Бажора Ю. И., Шевеленкова А. В. и др. Клиническая генетика. Уч. пособие к практ. занятиям. – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2001. – 145 с.
3. Барціховський В.В., Шерстюк П.Я. Медична біологія: підручник. – К.: ВСВ „Медицина”, 2012. – 312 с.
4. Бердишев Г. Д., Криворучко І. Ф. Медична генетика. – К.: Вища шк., 1993. – 336 с.
5. Боднар П. М., Приступок О. М., Щербак О. В. / За ред. проф. П. М. Боднара. Ендокринологія. – К.: Здоров'я, 2002. – 512 с.
6. Бужієвська Т. І. Основи медичної генетики. – К.: Здоров'я, 2001. – 135 с.
7. Запорожан В. М., Сердюк А. М., Бажора Ю. І. Спадкові захворювання і природжені вади розвитку в перинатологічній практиці. – К.: Здоров'я, 1997. – 360с.
8. Кучерявий В. П. Екологія. – Львів: Світ, 2000. – 500 с.
9. Медична генетика: Підручник / Під ред. Гречаніна О.Я., Богатирьової Р. М., Волосовця О. П. – К.: Медицина, 2007. – 536 с.
10. Медична генетика: Підручник для вузів / Запорожан В. М., Бажора Ю. І., Шевеленкова А. В., Чеснокова М. М. – Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2005. – 260 с.
11. Мотузний В.О. Біологія. – К.: Вища школа, 1999. – 607с.
12. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, М. П. Прус, Н. М. Сорока; За ред. В. Ф. Галата. – К.: Вища освіта, 2003. – 464 с.
13. Пішак В.П., Бажора Ю.І. Медична біологія. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 652с.
14. Пішак В.П., Мешишен І.Ф., Пішак О.В., Мислицький В.Ф. Основи медичної генетики. – Чернівці: Мед. академія, 2000. – 248с.
15. Путинцева Г.Й. Медична генетика: Підручник. – вид. 2-ге, перероб. та доп. – К.: Медицина, 2008. – 392.
16. Синяк К.М., Гринь В.М. Епідеміологія з основами паразитології. – К.: Здоров'я, 2001. – 472 с.
17. Стахів В.І. Паразитологія (курс лекцій).– Дрогобич: Коло. – 2003.– 96с.
18. Стахів В. Цитологія (курс лекцій). Навчальний посібник. – Дрогобич: Коло, 2002. – 99 с.
19. Тоцький В.М. Генетика. – Вид. 3-ге. – Одеса: Астропринт, 2008. – 715 с.
20. Фаллер Д. М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей. Пер. с англ. – М.: БИНОМ - Пресс, 2003. – 272 с.
21. Федченко С.Н. Молекулярно-генетические основы онтогенеза. – Луганск, 2003. – 336 с.



Зразок звіту про оформлення лабораторної роботи

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

## ОЗНАЙОМЛЕННЯ З МЕТОДАМИ МІКРОСКОПУВАННЯ. ПРАВИЛА РОБОТИ З МІКРОСКОПОМ

**Мета:** ознайомитись з будовою і технікою роботи зі світловим мікроскопом та іншими підходами при мікроскопуванні біологічних об'єктів.

**Матеріали і обладнання:** мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, атласи, електронно-мікроскопічні фотографії.

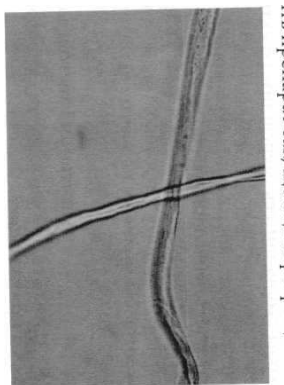
**Хід роботи**

**Завдання 1.** Розгляньте виданий Вам світловий мікроскоп і, користуючись таблицею, назвіть основні системи. У табл. 1 впишіть назви конструктивних деталей мікроскопа, що належать до цих систем. Біля кожної назви в дужках напишіть цифру, що відповідає цифрі на малюнку.

**Таблиця 1.** Будова світлового мікроскопа

Основні системи мікроскопа	Конструктивні деталі
Механічна	Тубус, тубусотримач, підставка, револьвер, предметний столик, клеми
Освітлювальна	
Оптична	

**Завдання 2.** Приготуйте тимчасовий мікропрепарат волокон вати. Для цього візьміть предметне скло, нанесіть на нього краплину води та помістіть у неї волокна вати. Доторкніться до краю краплини одним із боків покривного скельця і поступово опустіть його у горизонтальне положення, накривши ним мікропрепарат. Рідина не повинна потрапити на покривне скельце. Розгляньте при малому (окуляр x10, об'єктив x8) та середньому (окуляр x10, об'єктив x40) збільшеннях виготовлений мікропрепарат. Знайдіть перехрещення волокон вати. У протоколі намалюйте волокна вати. На малюнку позначте: а) волокна вати, б) бульбашки повітря. Під малюнком зазначте загальне збільшення мікроскопа.



**Завдання 3.** Розгляньте при малому (окуляр x10, об'єктив x8) та середньому (окуляр x10, об'єктив x40) збільшеннях світлового мікроскопа постійний мікропрепарат мазка крові людини. Знайдіть у полі зору еритроцити та лейкоцити. Зверніть увагу на те, що еритроцити мають вигляд круглих, двоувігнутих лінз, їх цитоплазма забарвлена у червоний колір. Слід пам'ятати, що еритроцити периферійної крові людини не мають ядер. Намалюйте в протоколі червоним олівцем еритроцити і позначте цитоплазму. Лейкоцити дещо більші за розміром від еритроцитів і мають круглі або сегментовані ядра. Для детальнішого вивчення клітин крові скористайтесь імерсійним об'єктивом (x90). На покривне скельце мікропрепарату нанесіть краплину імерсійного масла. Знайдіть у полі зору лейкоцит із сегментованим ядром. Підрахуйте скільки у ньому сегментів. Зробіть у протоколі рисунок сегментоядерного лейкоцита. На рисунку позначте: а) цитоплазму, б) сегментоване ядро.

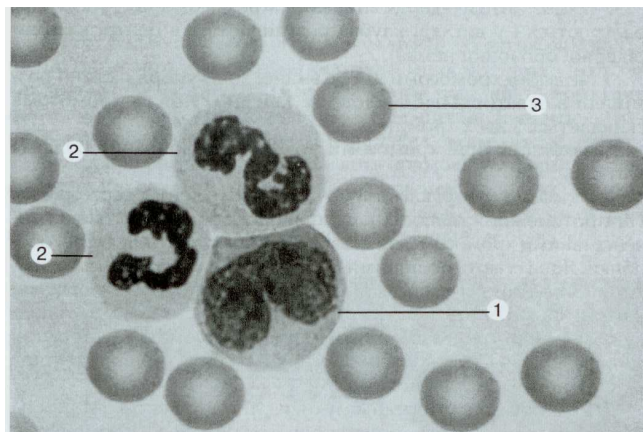
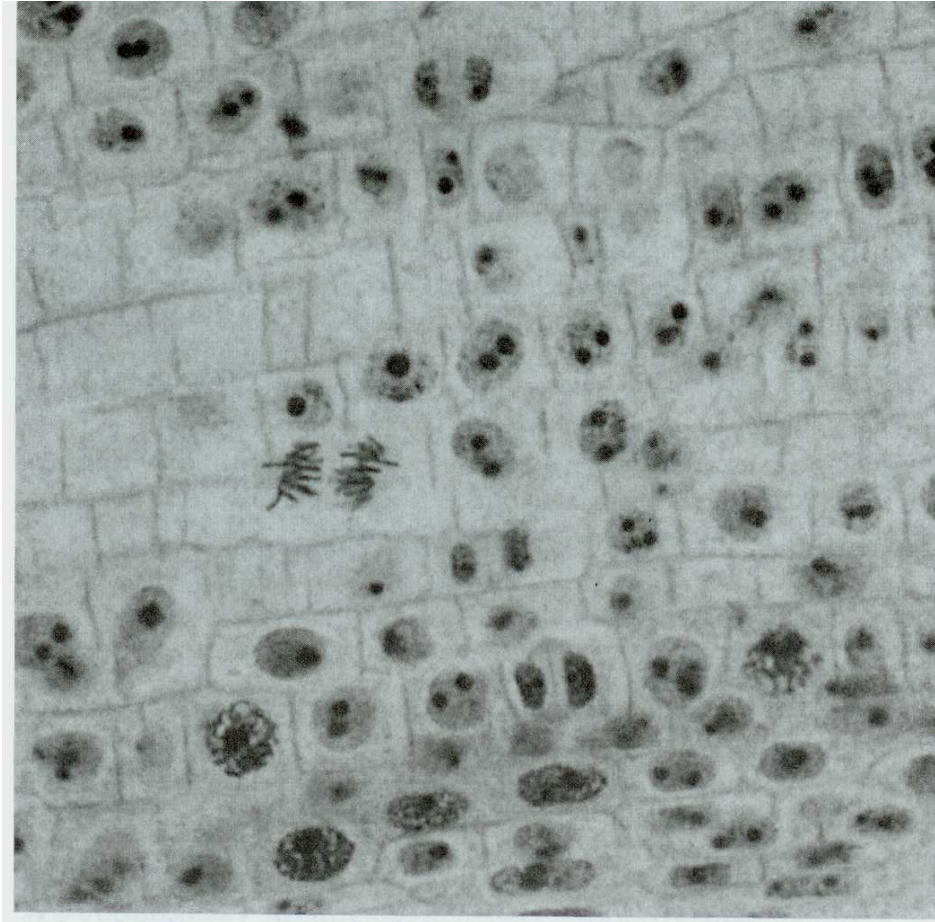


Рис. 2. Мазок крові людини (еритроцити та лейкоцити):

1 – моноцит; 2 – нейтрофіл; 3 – еритроцит.

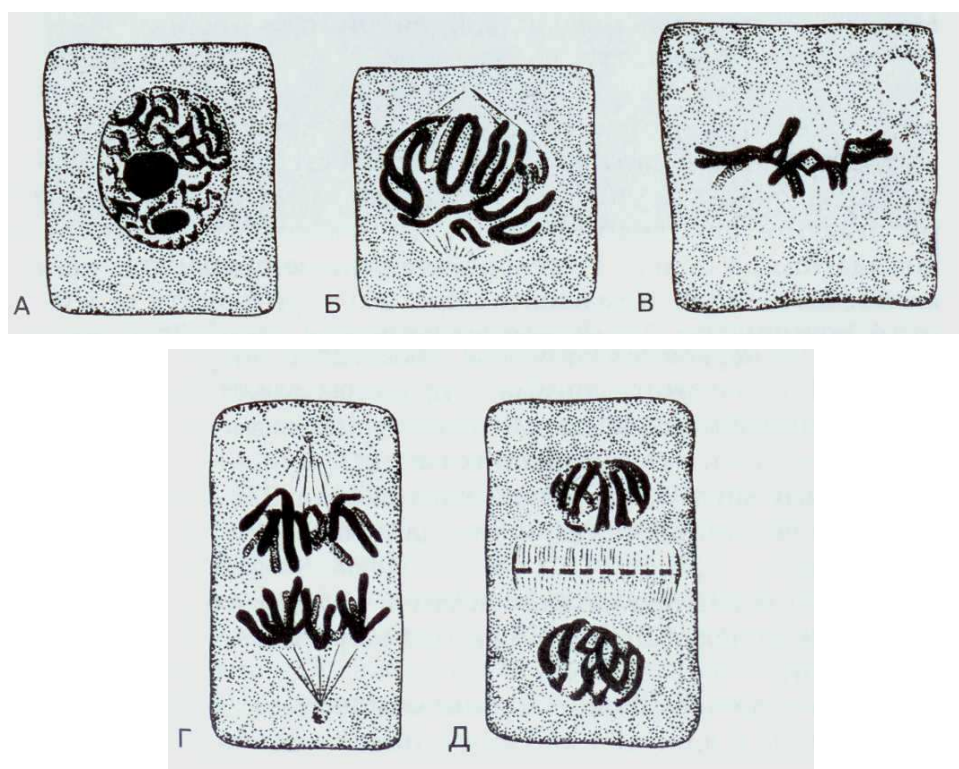
**Висновок:** на даній лабораторній роботі я визначив (ла) техніку роботи з мікроскопом та його будову, ознайомився (лась) з основним типами мікроскопій. Під час лабораторної роботи я розглянув (ла) при малому і середньому збільшенні волокна вати, еритроцити та лейкоцити.

## Додаток 1



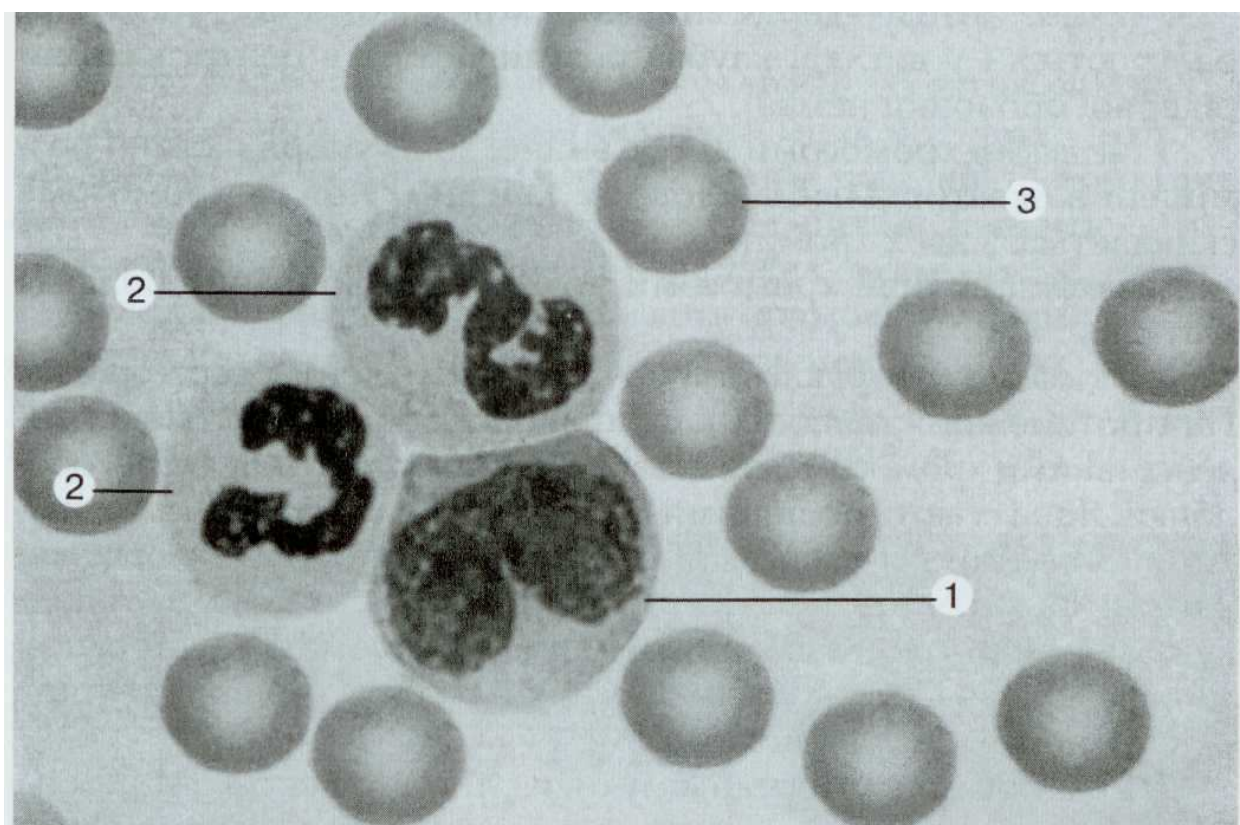
**Мітоз у клітинах корінця цибулі**

## Додаток 2



**Рослинна клітина на стадії інтерфази та на різних стадіях мітозу:**  
**А – інтерфаза; Б – профаза; В – метафаза; Г – анафаза; Д – телофаза.**

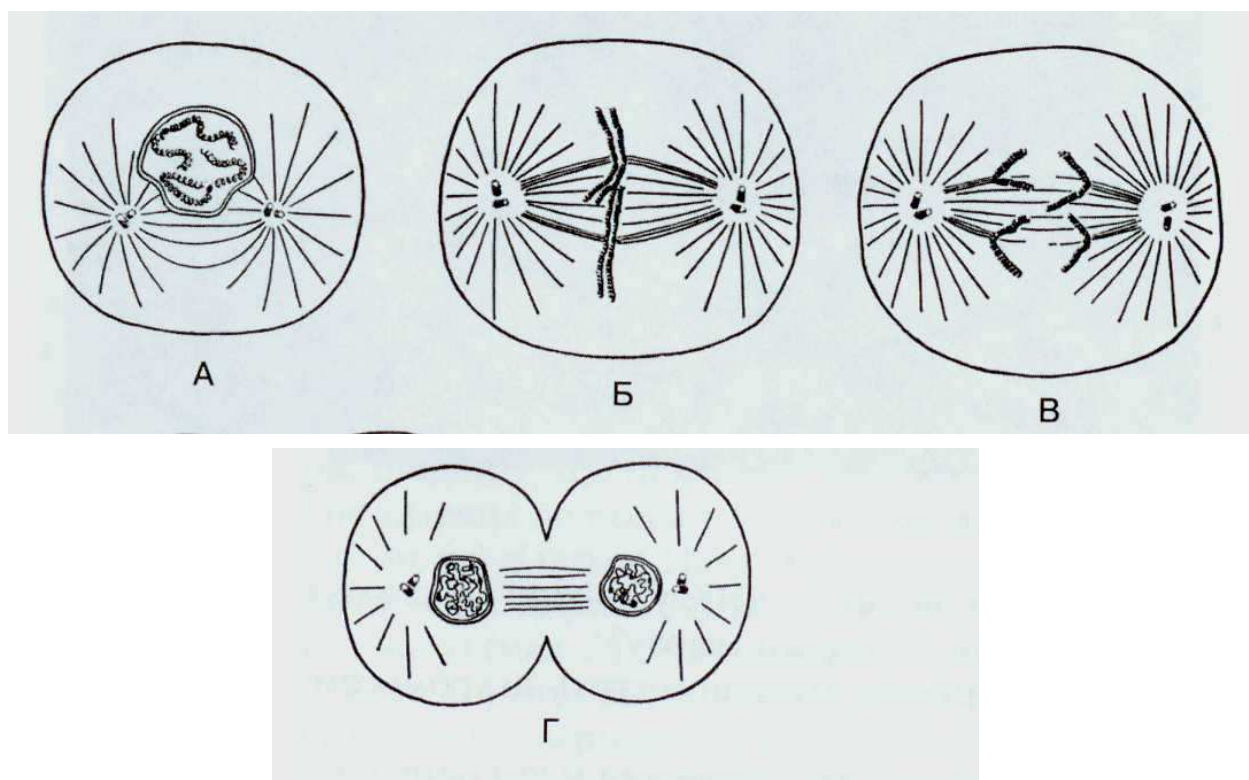
### Додаток 3



**Мазок крові людини (еритроцити та лейкоцити): 1 – моноцит; 2 – нейтрофіл; 3 – еритроцит.**



#### Додаток 4



**Схема мітозу у тваринній клітині: А – профаза; Б – метафаза; В – анафаза; Г – телофаза.**

## Додаток 5

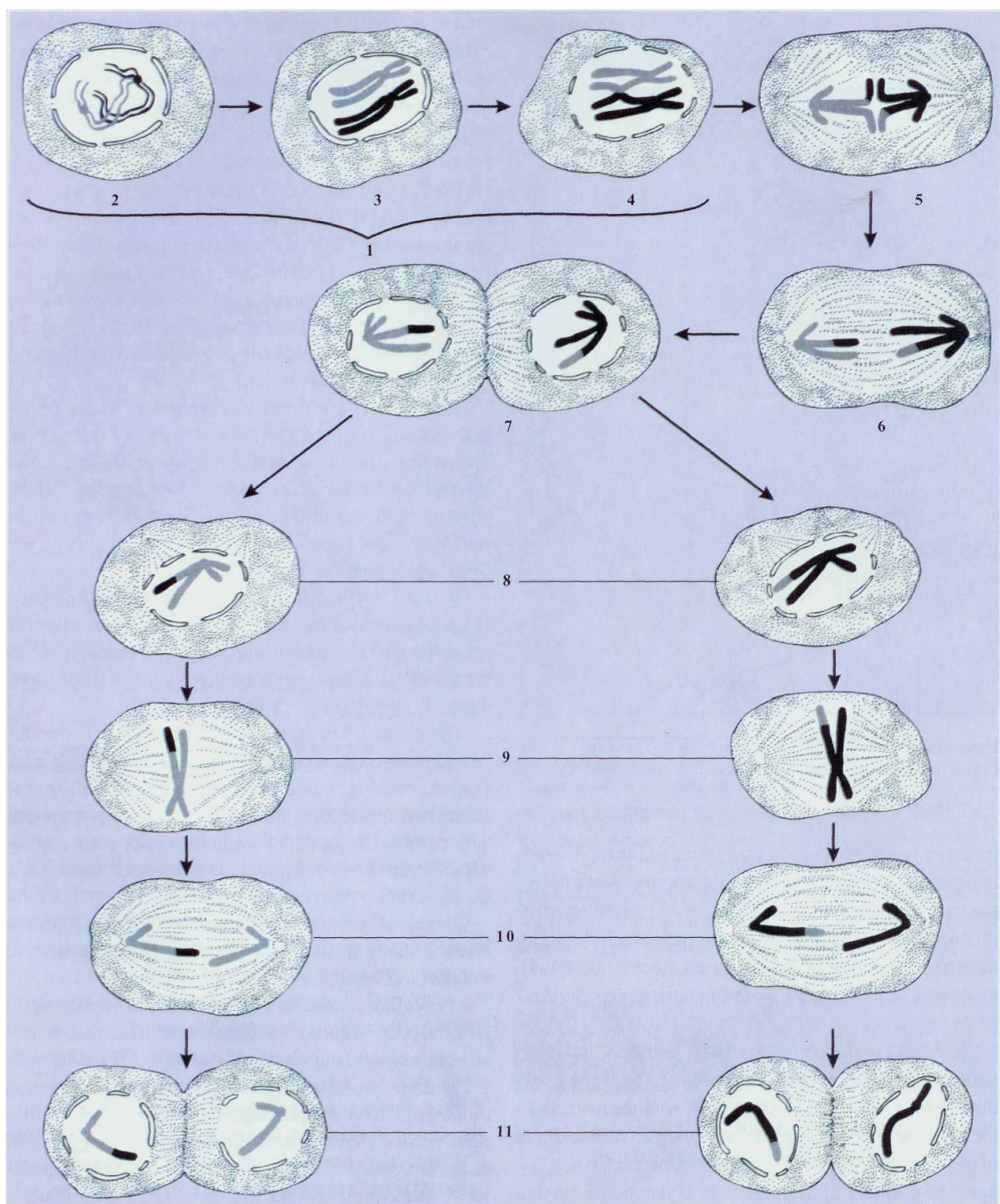
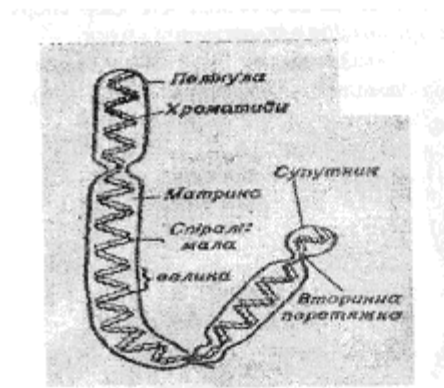
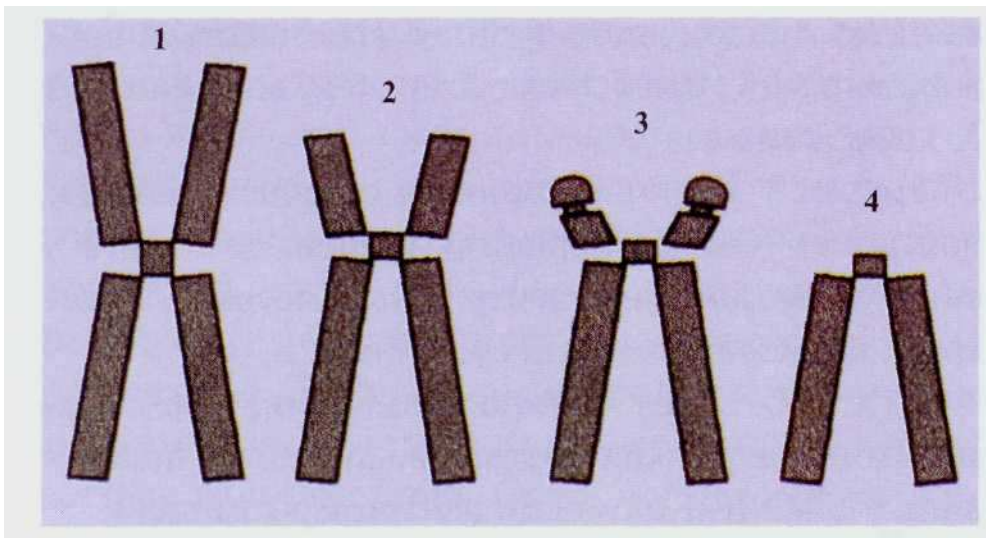


Схема мейозу: 1 - профаза I; 2 - лептотена; 3 - зиготена; 4 - диплотена; 5 - метафаза I; 6 - анафаза I; 7 - телофаза I; 8 - профаза II; 9 - метафаза II; 10 - анафаза II; 11 - телофаза II.

## Додаток 6



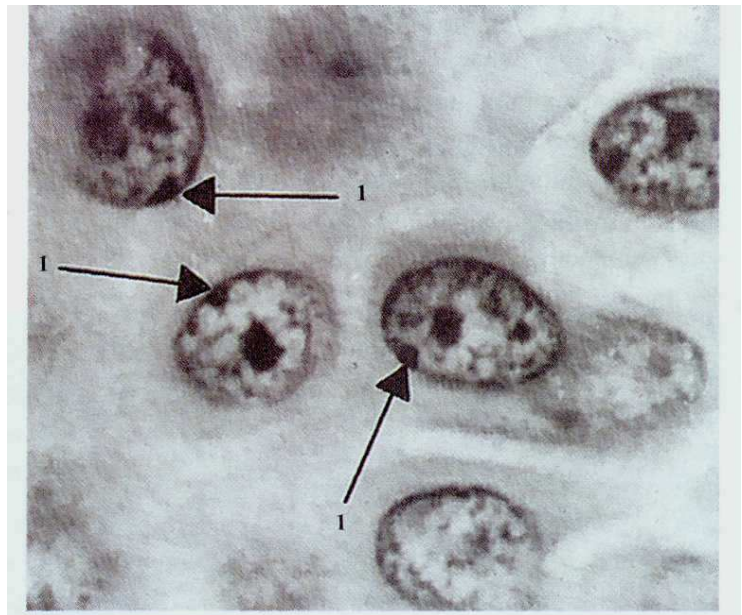
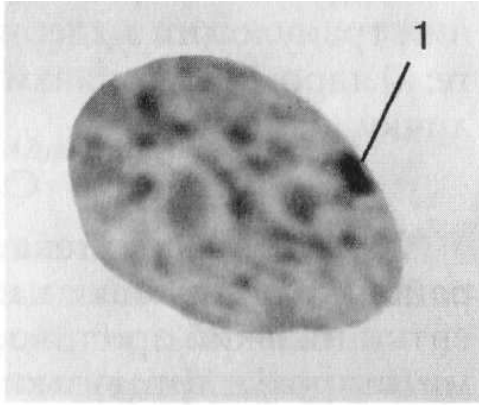
### Будова метафазної хромосоми



Форми хромосом у метафазі: 1 - метацентрична; 2 - суб-метацентрична;  
3 - акроцентрична; 4 - телоцентрична.



## Додаток 7

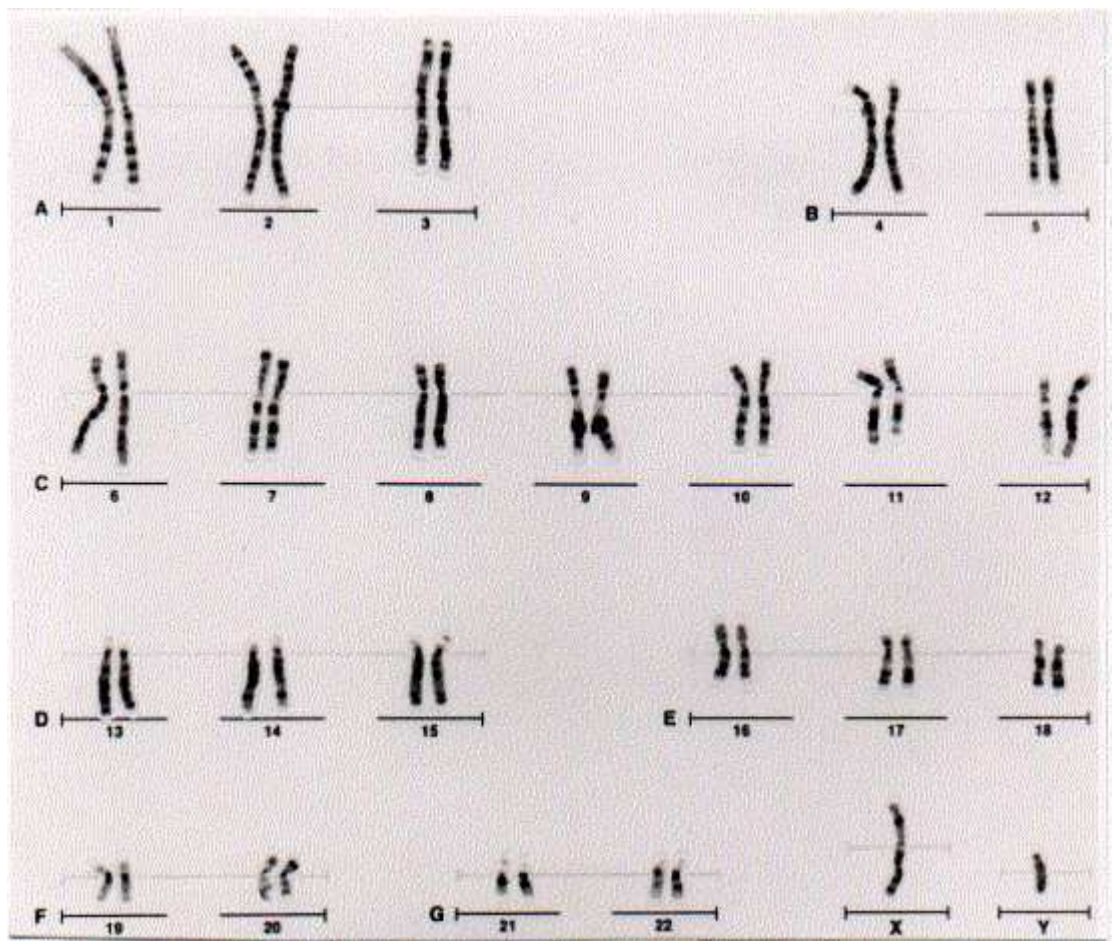


**Статевий хроматин (тільця Барра) (1) у клітині букального епітелію жінки**



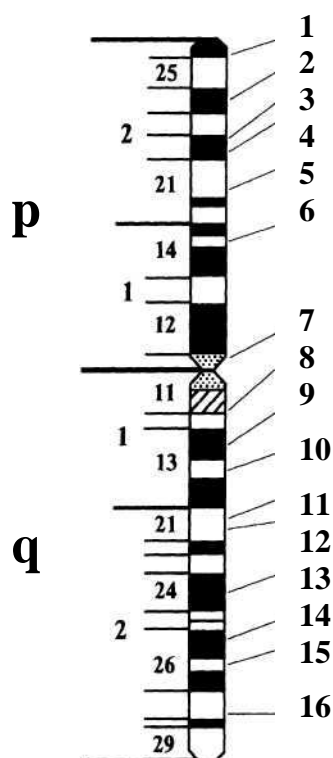
**Ядерний відросток нейтрофіла у вигляді барабанної палички (показано стрілкою) у мазку крові людини**

## Додаток 8



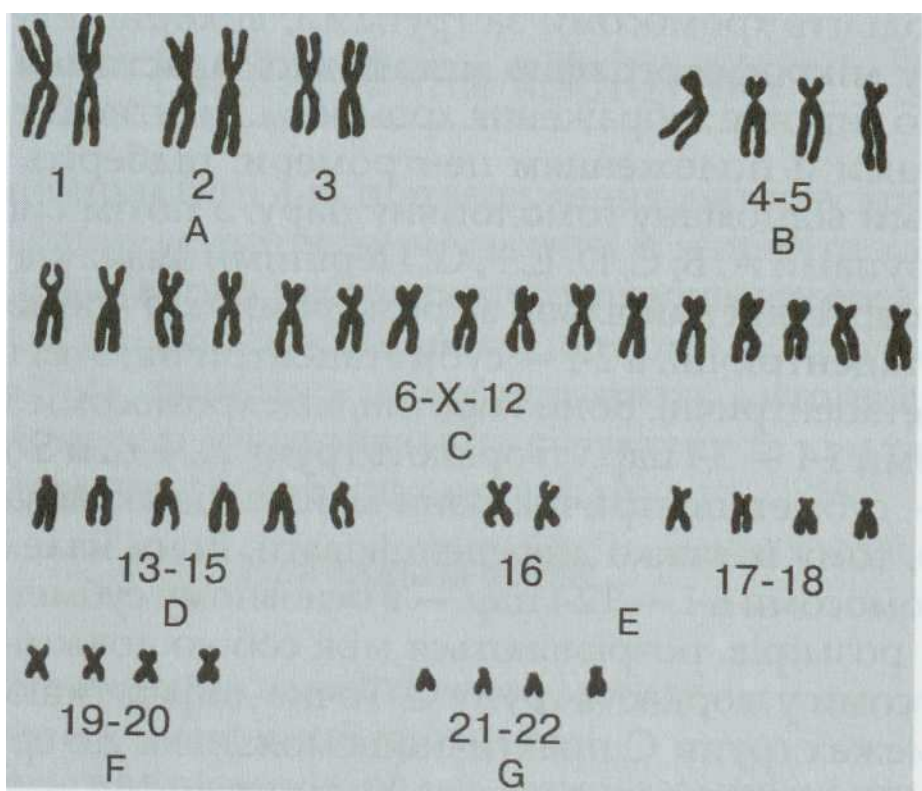
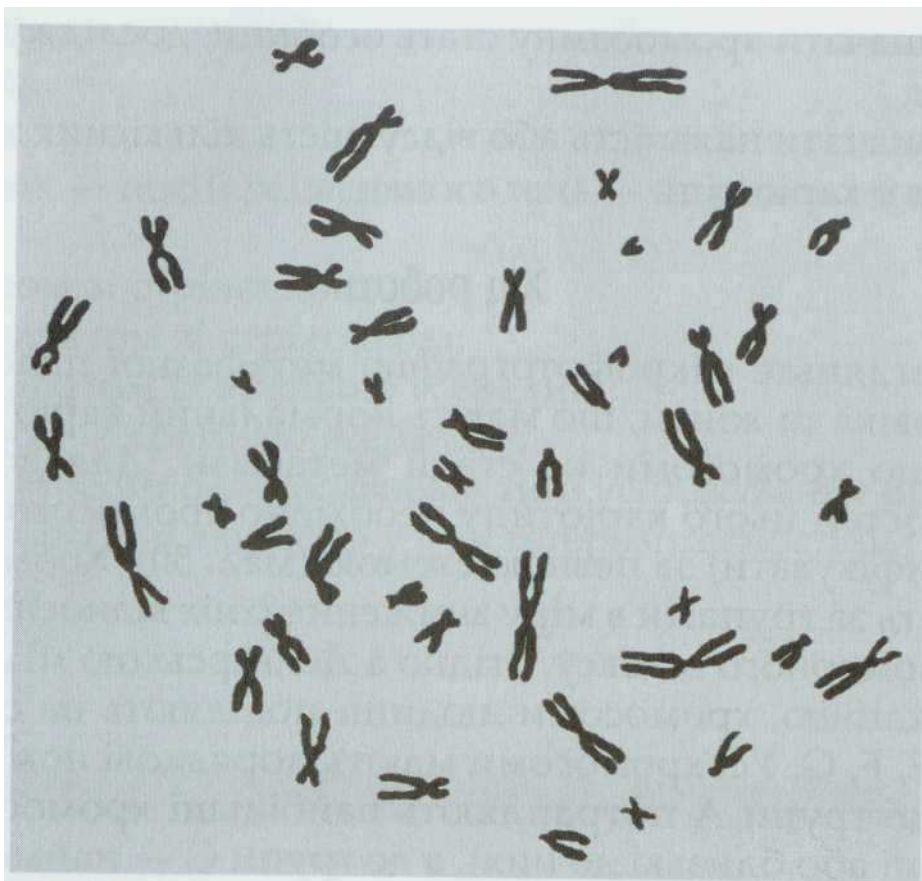
Ідіограма хромосом людини (чоловіка)

## Додаток 9



**Патологічна анатомія хромосоми 3 людини.** 1 – Синдром фон Хіппеля-Ліндау; 2 – резистентність до тироїдного гормону; 3 – дрібноклітинна карцинома легень; 4 – псевдосиндром Целльвегера; 5 – GM1-гангліозидоз, синдром Моркію, тип В, пухирчастий дистрофічний епідермоліз; 6 – карцинома клітин печінки; 7 – недостатність білка S; 8 – гемолітична анемія у результаті недостатності глутатіонпероксидази; 9 – хвороба Rh-нуль; 10 – оротикацидурія; 11 – пропіонацидемія, рссВ-тип; 12 – атрансферринемія; 13 – спадкова гіпоцерулоплазмінемія, пігментний ретиніт-5; 14 – постанестезічне апное; 15 – непереносимість сахарози; 16 – блефарофімоз, оборотний епікант і птоз, тромбофілія у результаті надлишку HRG, недостатність тиротропін-релізінг гормону.

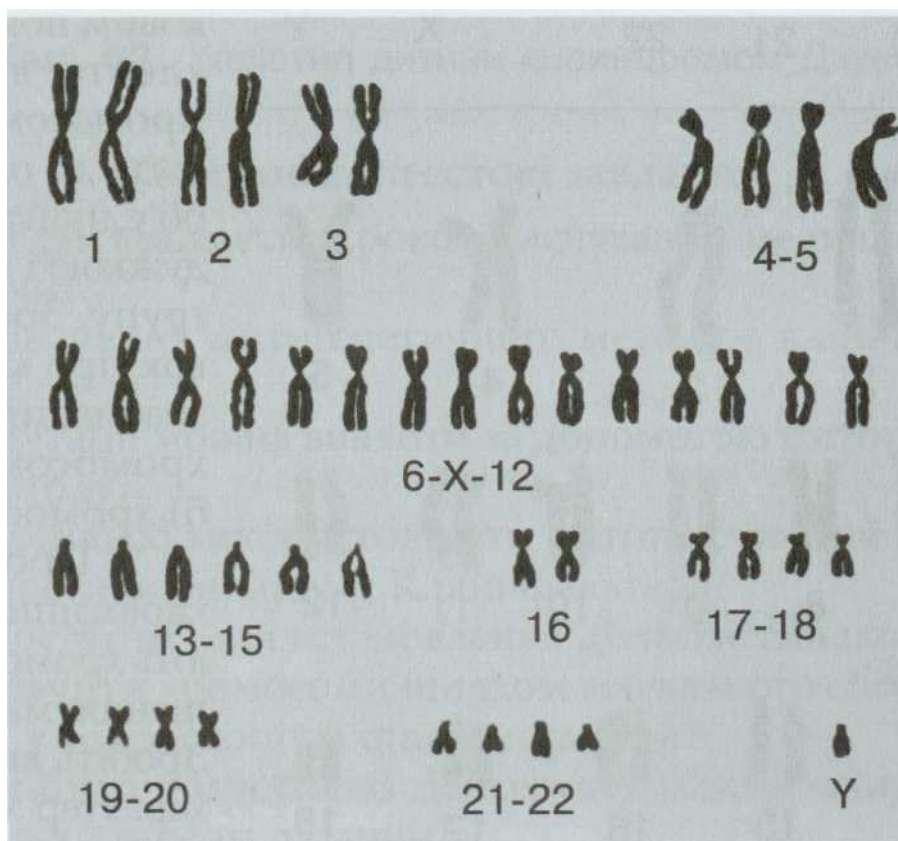
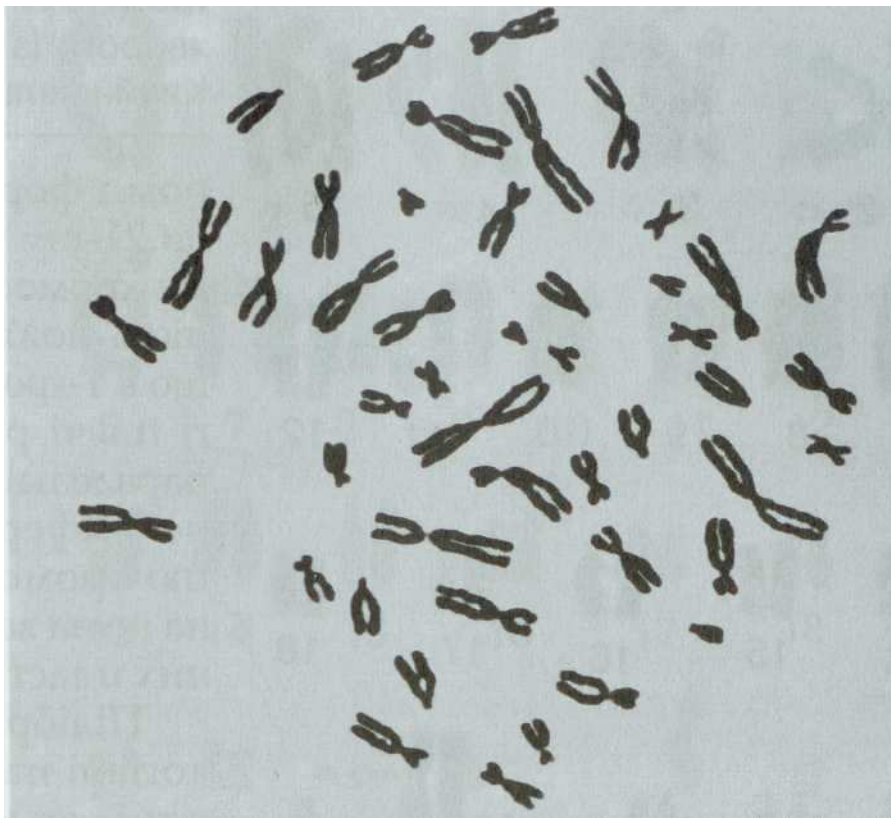
## Додаток 10



Каріотип людини ( жінки )

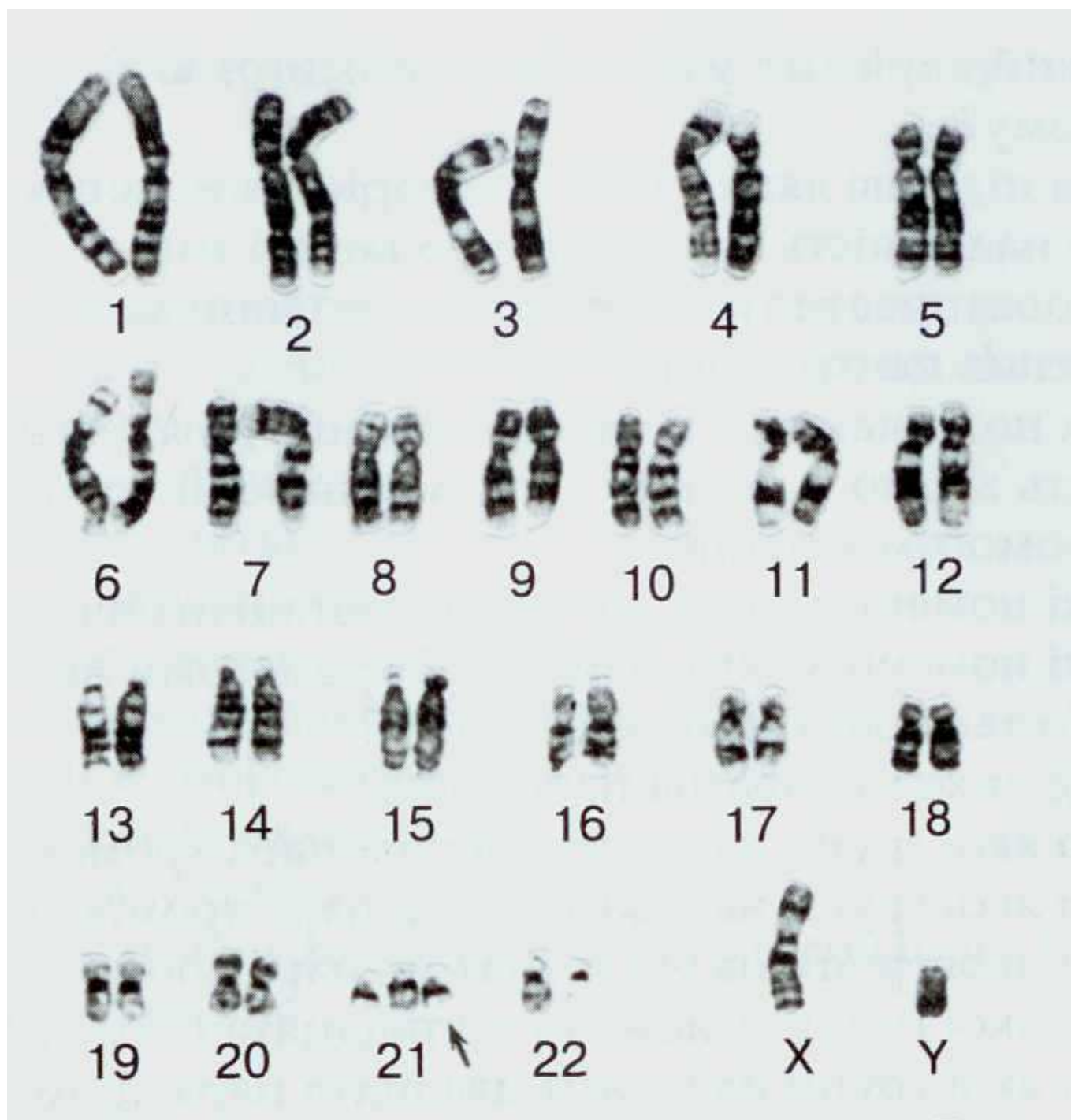


## Додаток 11



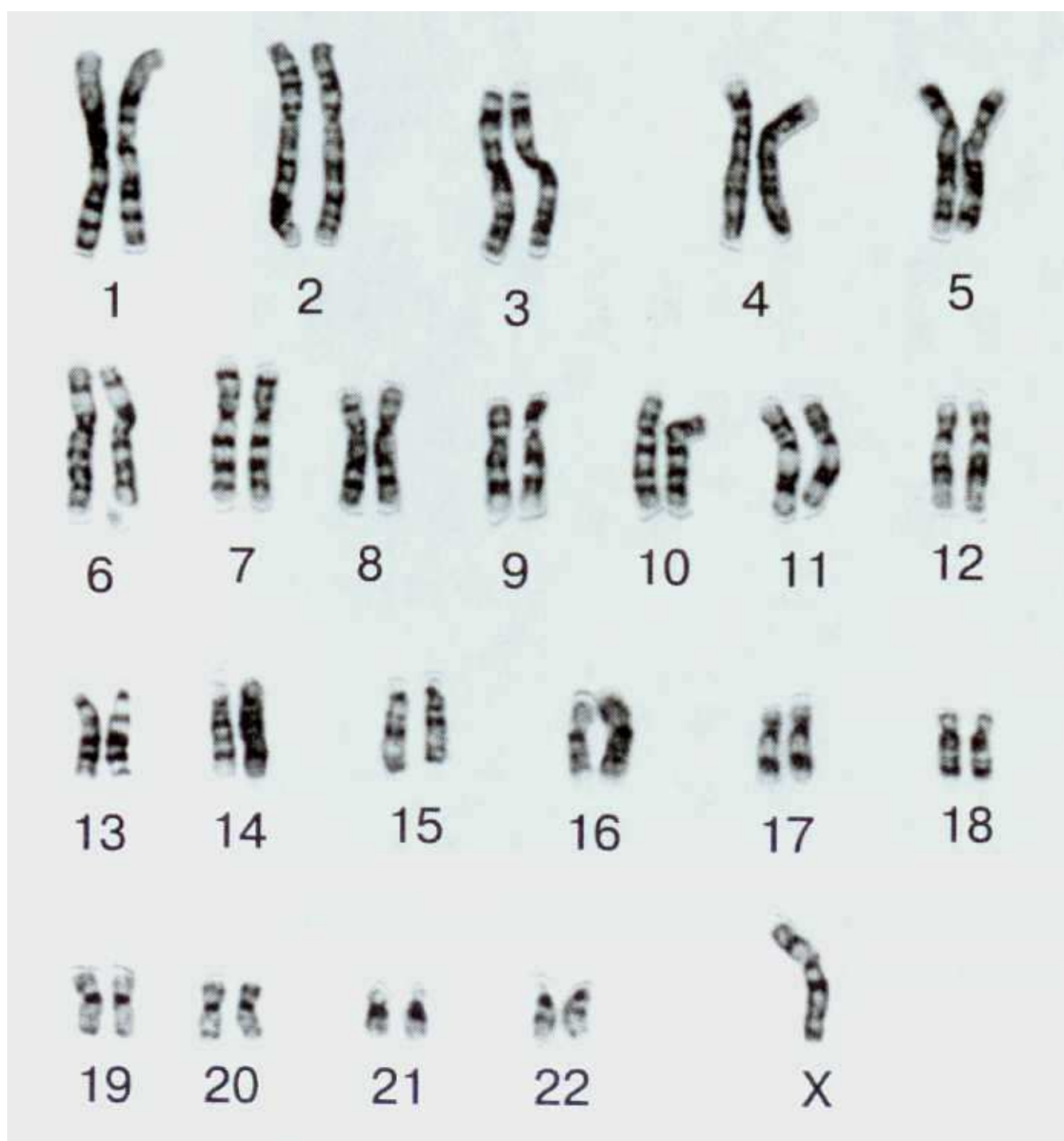
Каріотип людини (чоловіка)

## Додаток 12



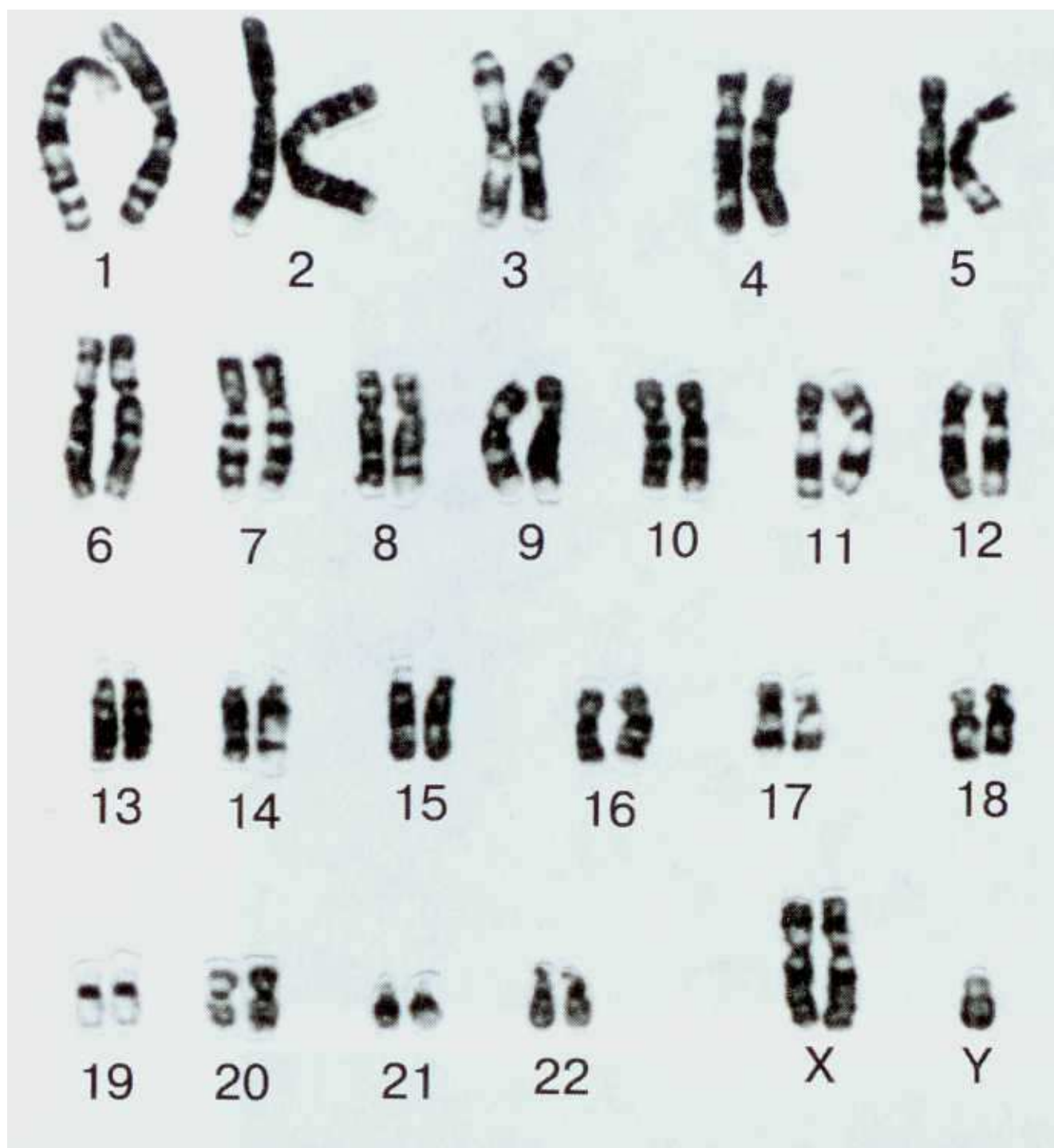
Каріотип хворого із синдромом Дауна

### Додаток 13



**Каріотип хворої із синдромом Шерешевського – Тернера**

#### Додаток 14



Каріотип хворого із синдромом Клайнфельтера



**І. ПРОГРАМА**  
**навчальної дисципліни “Біологія”**  
**для підготовки фахівців ОКР „Бакалавр”**  
**напрямку підготовки „Здоров’я людини”**

Програму уклали: доцент кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, к.б.н. Івасівка А. С. і викладач кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, Коваль Н.К.

Програма затверджена і рекомендована до друку вченою радою Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка

Підготовка спеціалістів у галузі фізичної культури і спорту включає вивчення комплексу медико-біологічних дисциплін, серед яких важливе місце посідає біологія.

**Предметом** дисципліни є вивчення організації живої матерії на клітинному, організмовому, популяційному та біосферному рівнях.

**Місце у структурно-логічній схемі:** читається паралельно з анатомією людини, є передумовою для вивчення спортивної медицини, спортивної морфології, біомеханіки, біохімії, теорії та методики спорту.

**Програму укладено на основі змістових модулів:**

Предмет біології та його завдання.

Клітина як елементарна структурно-функціональна одиниця живого.

Морфологія і структура клітин мікроорганізмів.

Екологія мікроорганізмів. Мікрофлора води, повітря і ґрунту.

Мікрофлора організму людини, тварин і рослин. Патогенні мікроорганізми. Імунітет.

Розмноження – універсальна властивість живого.

Популяційно-видовий рівень організації життя та місце людини в ньому.

Зміст, обсяг, завдання, принципи боротьби. Дегельмінтизація.

Основні класи паразитів людини і тварин.

## **МЕТА ТА ЗАВДАННЯ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**

Мета курсу „Біологія” – вивчення біологічних основ організму, життєдіяльності людини, а також необхідних умов збереження життя як особливого явища на нашій планеті.

Курс “Біологія” передбачає вивчення організації живої матерії за рівнями: клітинний, організмовий, популяційний, біосферний. Важливе значення має вивчення проблем спадковості та мінливості, генотипових та індивідуальних особливостей людини, спадкових патологій. Такий підхід сприяє формуванню у студентів способу мислення, який визначає вплив на здоров’я людини таких трьох факторів, як спадковість, середовище життя і спосіб життя.

Важливими завданнями курсу “Біологія” є:

- формування знань про молекулярно-генетичний, клітинний та онтогенетичний рівні організації життя з урахуванням специфіки організму людини, біології клітини, розмноження та основ генетики людини;
- оволодіння знаннями про видоутворення, популяційну структуру виду та мікроеволюційні процеси, питання антропогенезу;
- формування знань про медико-біологічні аспекти екології людини, що повинно сприяти розвитку екологічного мислення у студентів;
- вивчення питань структури і функції біосфери, вчення про ноосферу і вплив діяльності людей на біосферу в цілому та її складові частини;
- формування вмінь самостійно здобувати і застосовувати знання, спостерігати за змінами, а також вмінь користуватися підручником, довідковою та хрестоматійною літературою;
- оволодіння вміннями самостійного вивчення основних понять, законів, біологічних закономірностей;
- уміння спостерігати, досліджувати і пояснювати явища природи;
- формування лабораторних вмінь: умінь використовувати мікроскопи, мікропрепарати, таблиці, схеми, описувати результати досліджуваного і робити висновки на основі одержаних даних.

Лекційний курс передбачає виклад основних положень відповідної теми, а також постановку проблемних запитань, розгляд різних підходів, концепцій, які характеризують сучасний стан науки.

Використання лабораторних робіт вимагає відповідного матеріального забезпечення для набуття студентами певних умінь, які можуть бути використані ними для розуміння процесів життєдіяльності організму.

**Основні знання і вміння, які повинен набути студент після засвоєння програми:**

**- студент повинен знати:**

Поняття: цитологія, світлова і електронна мікроскопія, прокаріотична і еукаріотичні клітина, елементарна біологічна мембрана, клітинна оболонка, цитоплазма, фагоцитоз, піноцитоз, мікротрубочки (цитоскелет), ендоплазматична сітка (гладка і шорстка), рибосоми, комплекс Гольджі, мітохондрії, лізосоми, клітинний центр, коки, монококи, диплококи, тетракоки, сарцини, стрептококи, стафілококи, бацили, спірили, спірохети, брунькування, клітинний цикл, талом, міцелій, спори, плісень, дріжджі, автотрофи, гетеротрофи, сапрофіти, паразити, мікрофлора, мікробне число, колі-титр, колі-індекс, число санітарно-показових бактерій, мейоз, хромосома, каріотип, гомеостаз, генетика, спадковість, мінливість ген, алель, рецесивність, домінантність, геном, генотип, фенотип, летальні алелі, кросинговер, гібридизація, зчеплене успадкування, генетичні карти хромосом, мутаційна мінливість, мутагенні фактори, генофонд, мімікрія, дивергенція, конвергенція, макроеволюція, видоутворення, природний добір, вид і його критерії, прогрес, регрес, ароморфоз, ідіоадаптація, дегенерація, паразитологія, гельмінтологія, інфекційні і інвазійні захворювання, симбіоз, трансмісивні хвороби, природно-вогнищеві хвороби, циста, псевдоподії, джгутик, ендозоїди, ендогонія, псевдоциста, мікро- і макрогаметоцити (мікро- і макрогамети), зигота, ооциста,

оокінета, шизонти, мерозоїти, гаметоцити, маріта, тегумент, мірацидій, спороциста, редії, церкадії, адолескарії, метацеркарії, сколекс, стробіла, німфа, імаго, господар-годувальник.

**Студенти повинні вміти:**

а) загальна компетентність:

- вміти формулювати відповідь на питання, яке розглядається;
- вміти накреслити схему зв'язків між структурами клітини (морфологічні та функціональні зв'язки)
- вміти відбирати попередні знання, які необхідні при висвітленні питання, що розглядається;

б) компетентність, що відповідає предмету:

- вміти користуватися біологічним мікроскопом;
- вміти виготовити тимчасовий препарат клітини;
- вміти розпізнавати органели на електронно-мікроскопічних фотографіях;
- схематично зобразити загальний план будови клітини, елементарні структури клітин, біологічну мембрану;
- вміти замальовувати форми клітин, будову прокаріотичних і еукаріотичних клітин, органели клітин, ядро, хромосому, типи хромосом;
- вміти виготовляти тимчасові та фарбовані фіксовані препарати, розрізняти мікроорганізми під мікроскопом та вміти їх зарисовувати, працювати з чистою культурою мікроорганізмів.
- вміти розв'язувати задачі з генетичним змістом;
- вміти формувати загальнобіологічні поняття еволюції, організації рівнів життя, органічну доцільність на прикладі популяції – одиниці еволюції і виду
- вміти “розпізнавати” представників збудників захворювань на фотографіях;
- схематично зобразити будову представників класів (загальну, поперечний і повздовжній розрізи) їх яйця, схему міграції;
- вміти замальовувати життєві цикли збудників захворювань, фази розвитку, головні відмінні ознаки;

## **ЗМІСТ ПРОГРАМИ**

### **1. Вступ. Предмет біології та його завдання.**

Знайомство з біологією. Основні властивості живих організмів. Органічний світ та його клітинна і неклітинні форми. Віруси як представники неклітинної форми.

**2. Клітина як елементарна структурно-функціональна одиниця живого.** Клітинна теорія та її значення для медицини. Прокаріотичні та еукаріотичні клітини. Будова прокаріот. Основні відмінності між клітинами тварин і рослин. Структурно-хімічна і функціональна організація еукаріотних клітин. Макро- та мікроелементи, значення води та водневих зв'язків у процесах життєдіяльності клітин.

Клітинні мембрани, принцип компартментації. Рецептори клітин. Цитоплазма і цитоскелет. Циклоз. Органели цитоплазми. Ядро – центральний інформаційний апарат клітини. Структура інтерфазного ядра. Каріотип. Ядерце як похідне хромосом, його роль в утворенні рибосом. Організація клітин у часі.

Життєвий та клітинний цикли клітин. Способи поділу соматичних клітин (мітоз, амітоз). Ріст клітин, фактори росту. Порушення мітозу. Соматичні мутації. Життя клітин поза організмом, клонування клітин. Значення методу культури тканин для біології та медицини.

**3. Морфологія і структура клітин мікроорганізмів.** Розміри і морфологія бактерій. Джгутики, їх число, розміщення, склад, організація, механізм руху. Будова, хімічний склад і функції окремих компонентів клітин. Клітинна стінка, клітинна мембрана, ядро, рибосоми, ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджі, лізосоми, пероксисоми, мітохондрії, хлоропласти. Запасні речовини: вуглеводи, ліпіди, поліфосфати. Цикли розвитку, способи розмноження. Використання в народному господарстві. Ріст і розмноження прокаріотів. Вплив фізичних, хімічних та біологічних факторів на мікроорганізми.

#### **4. Екологія мікроорганізмів. Мікрофлора води, повітря і ґрунту.**

Розповсюдження і біохімічна діяльність мікроорганізмів. Вміст і роль різних мікроорганізмів у ґрунті, водоймищах, повітрі. Поняття екосистеми. Участь мікроорганізмів у циклах карбону, нітрогену, сульфуру та інших елементів у природі. Роль в ґрунтоутворюючих процесах і родючості ґрунту. Значення мікроорганізмів у первинній продукції водоймищ та мінералізації речовин. Розповсюдження і роль мікроорганізмів у родовищах корисних копалин. Роль мікроорганізмів у переробці відходів і детоксикації отруйних речовин.

Симбіоз. Типи симбіозів: екзо- і ендосимбіоз, мутуалізм і паразитизм. Факультативні та облігатні симбіози.

**5. Мікрофлора організму людини, тварин і рослин. Патогенні мікроорганізми. Імунітет.** Мікроорганізми і рослини. Ризосфера і епіфітна мікрофлора. Симбіотична азотфіксація. Мікоризи. Фітопатогенні мікроорганізми.

Нормальна мікрофлора людини, її роль. Мікроорганізми рубця жуйних. Симбіонти комах та інших тварин, їх значення. Мікроорганізми, патогенні для людини і тварин. Патогенність та вірулентність. Фактори патогенності.

**6. Розмноження – універсальна властивість живого.** Форми розмноження. Можливості клонування організмів. Статеві клітини людини. Гаметогенез. Мейоз. Генеративні мутації. Запліднення. Партеногенез. Особливості репродукції людини у зв'язку з її біосоціальною суттю.

Спадковий апарат еукаріотичних клітин і його функціонування на молекулярному рівні. Нуклеїнові кислоти: ДНК і РНК, їх роль у зберіганні й перенесенні інформації. Реплікація ДНК. Підтримування генетичної стабільності клітин, самокорекція і репарація ДНК.

Основні генетичні поняття: ген, алель, рецесивність, домінантність, мінливість, спадковість, геном, генотип, фенотип. Закони Менделя та їх

цитологічні основи. Генетичні карти хромосом. Хромосомна теорія спадковості та роль досліджень Т.Х.Моргана у її створенні. Генетика статі. Ауто соми та статеві хромосоми. Успадкування зчеплене зі статтю.

Генетика людини. Методи дослідження спадковості людини. Генетичні захворювання. Значення генетики для розвитку медицини.

**7. Популяційно-видовий рівень організації життя та місце людини в ньому.** Сучасна теорія біологічної еволюції як синтез дарвінізму і популяційної генетики. Біологічний вид, його критерії. Генофонд (алелофонд) виду. Структура виду. Популяції: морфологічні, екологічні, генетичні. Генофонд (алелофонд) популяції. Природний добір як головний рушійний творчий фактор еволюції.

Закономірності і проблеми макроеволюції та антропогенезу. Поняття про макроеволюцію. Взаємозв'язок мікро- та макроеволюції. Походження людини. Етапи антропогенезу. Поняття про біологічний прогрес та регрес. Співвідношення між основними шляхами еволюції.

8. Зміст, обсяг, завдання, принципи боротьби. Дегельмінтизація.

Специфічність середовища живлення паразитів. Класифікація паразитичних форм тварин. Походження паразитизму. Вплив паразита на господаря. Принцип взаємодії паразита і господаря. Морфологічна адаптація паразитів. Взаємовідносини в системі паразит-господар на рівні популяцій. Життєві цикли паразитів. Чинники сприйнятливості господаря до паразита. Дія господаря на паразита. Боротьба паразитів реакціями імунітету господаря. Вчення Є.М.Павловського про природно-вогнищеві хвороби.

**9. Основні класи паразитів людини і тварин.** Морфологія трематоди, цистод і нематод. Фасціольоз тварин та його діагностика, сучасні методи профілактики. Цистицеркози бовісний і целюлозний. Ехінококоз. Медико-санітарне значення і профілактика. Аскаридоз. Трихінельоз. Економічне і медико-санітарне значення, профілактика.

Морфологія найпростіших. Токсоплазмоз. Криптоспоридіоз. Саркоцистози. Балантидіоз. Трихомоноз. Медико-санітарне значення, профілактика.

Кліщі: систематика, морфологія, біологія збудників. Методи діагностики. Комахи: морфологія, біологія збудників, діагностика.

#### Приблизний перелік лабораторних робіт.

1. Ознайомлення з методами мікроскопування. Правила роботи з мікроскопом.
2. Вивчення будови прокаріотичної та еукаріотичної клітини.
3. Вивчення будови клітинних органел
4. Вивчення процесу поділу клітини. Мітоз. Мейоз.
5. Ознайомлення з формами бактерій. Виготовлення мікробіологічних препаратів.
6. Аналіз мікрофлори повітря.
7. Дослідження бактеріальної забрудненості деяких частин тіла людини.
8. Аналіз мікрофлори води.

9. Вивчення будови хромосом. Визначення каріотипу людини. Ознайомлення з порушеннями ембріонального розвитку.
10. Визначення тілець Барра методом експрес діагностики.
11. Вивчення паразитичних одноклітинних.
12. Вивчення паразитичних червів.
13. Вивчення паразитичних членистоногих.

### **КРИТЕРІЇ УСПІШНОСТІ НАВЧАННЯ ТА ЗАСОБИ ДІАГНОСТИКИ УСПІШНОСТІ НАВЧАННЯ**

Формою підсумкового контролю з дисципліни є залік. Форми і методи контролю досягнутих успіхів студента з даної навчальної дисципліни є: захист лабораторних робіт, виконання індивідуального завдання, співбесіда, самостійні роботи.

Критерії оцінювання досягнутих успіхів студента з даної дисципліни вказується у візитці навчальної дисципліни.

Оцінювання досягнутих успіхів за семестр проводиться в системі оцінювання університету, після чого переводиться в національну шкалу оцінювання та шкалу ECTS, відповідно до «Положення про кредитно-модульну систему організації навчального процесу Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка»

## ЗМІСТ

Вступ

Методичні поради до лабораторних занять

Перелік лабораторних робіт

Лабораторна робота №1. Ознайомлення з методами мікроскопування. Правила роботи з мікроскопом

Лабораторна робота №2. Вивчення будови прокаріотичної та еукаріотичної клітини

Лабораторна робота №3. Вивчення будови клітинних органел

Лабораторна робота №4. Вивчення процесу поділу клітини.

Мітоз. Мейоз

Лабораторна робота №5. Ознайомлення з формами бактерій.

Виготовлення мікробіологічних препаратів

Лабораторна робота №6-7. Аналіз мікрофлори повітря

Лабораторна робота №8-9. Дослідження бактеріальної забрудненості деяких частин тіла людини

Лабораторна робота №10-11. Аналіз мікрофлори води

Лабораторна робота №12-13. Вивчення будови хромосом.

Визначення каріотипу людини. Ознайомлення з порушеннями ембріонального розвитку

Лабораторна робота №14. Визначення тілець Барра методом експрес діагностики

Лабораторна робота №15. Вивчення паразитичних одноклітинних

Лабораторна робота №16. Вивчення паразитичних червів

Лабораторна робота №17. Вивчення паразитичних членистоногих

Рекомендована література

Додатки