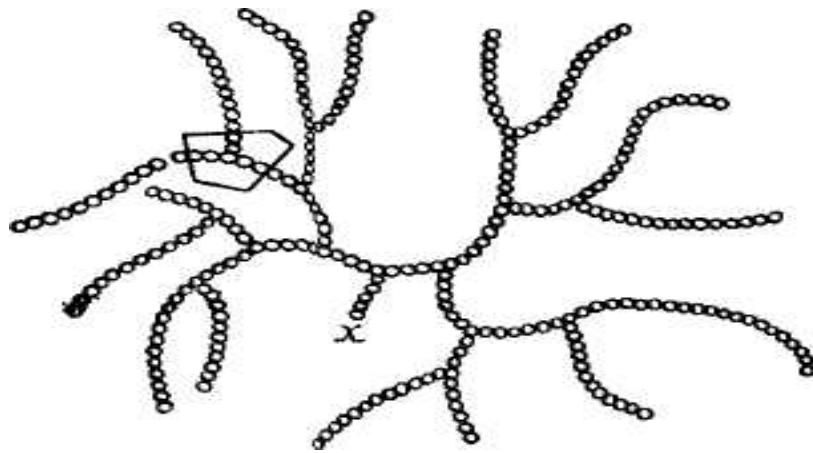


# ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ



• ИЗДАТЕЛЬСТВО ТГТУ •

Министерство образования и науки Российской Федерации

**Тамбовский государственный технический университет**

**ОБЩАЯ  
БИОЛОГИЯ**

Лабораторные работы  
для студентов второго курса  
специальности 271500 «Пищевая биотехнология»

Тамбов  
• Издательство ТГТУ •  
2004

УДК 57(075)  
ББК Е0я73  
О28

Утверждено Редакционно-издательским советом университета

Рецензент  
Доцент кафедры «Физиология человека и животных»  
Тамбовского государственного университета им. Г.Р. Державина  
*Н.Г. Романова*

Составители:

*О.В. Зюзина, О.О. Иванов, О.Б. Шуняева*

О28 Общая биология: Лабораторные работы / Сост.: О.В. Зюзина, О.О. Иванов, О.Б. Шуняева. Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2004. 24 с.

Представлены пять лабораторных работ, которые формируют наглядное представление о физиологии, морфологии и изменчивости различных биологических объектов, закрепляют знания по идентификации и роли клеточных структур при изучении основ общей биологии.

Предназначены для студентов второго курса специальности 271500 «Пищевая биотехнология».

УДК 57(075)  
ББК Е0я73

© Тамбовский государственный  
технический университет  
(ТГТУ), 2004

Учебное издание

ОБЩАЯ  
БИОЛОГИЯ

Лабораторные работы

Составители:

ЗЮЗИНА Ольга Владимировна,  
ИВАНОВ Олег Олегович,  
ШУНЯЕВА Оксана Борисовна

Редактор В.Н. Митрофанова  
Инженер по компьютерному макетированию Т.А. Сынкова

Подписано к печати 29.11.2004

Формат 60 × 84/16. Гарнитура Times. Бумага газетная. Печать офсетная

Объем: 1,39 усл. печ. л.; 1,4 уч.-изд. л.

Тираж 100 экз. С. 831

Издательско-полиграфический центр  
Тамбовского государственного технического университета  
392000, Тамбов, ул. Советская, 106, к. 14

# ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

## МИКРОСКОПИРОВАНИЕ

**Цель работы:** изучить устройство микроскопа.

### Методические указания

Для изучения объектов имеющих малые размеры и неразличимых невооруженным глазом, используют специальные оптические приборы – микроскопы. В зависимости от назначения различают: упрощенные, рабочие, исследовательские и универсальные. По используемому источнику освещения микроскопы подразделяются на: световые, люминесцентные, ультрафиолетовые, электронные, нейтронные, сканирующие, тоннельные. Конструкция любого из перечисленных микроскопов включает механическую и оптическую части. Механическая часть служит для создания условий наблюдения – размещения объекта, фокусировки изображения, оптическая – получения увеличенного изображения.

### Устройство светового микроскопа

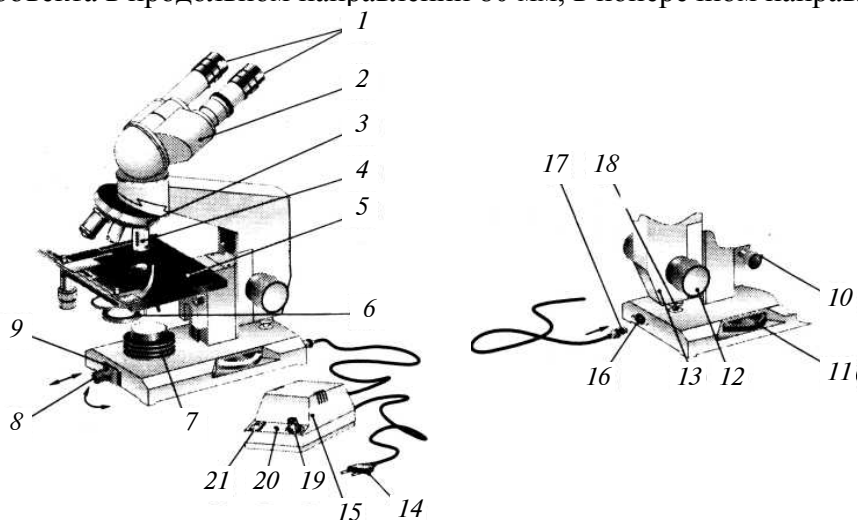
Микроскоп называется световым, так как он обеспечивает возможность изучать объект в проходящем свете в светлом и темном поле зрения, проводить фазово-контрастную, люминесцентную и другие виды микроскопии. На рис. 1.1 представлен общий вид микроскопа МИКМЕД-1.

**Механическая часть микроскопа** состоит из основания микроскопа, тубусодержателя 13 с винтовым упором 18, подвижного предметного столика 5 и револьверного устройства 3.

Фокусировка на объект осуществляется перемещением тубусодержателя путем вращения рукояток 12. Диапазон грубой фокусировки микроскопа – 40 мм. Тонкая фокусировка производится вращением рукоятки 11, выполненной в виде диска с накаткой. Один оборот диска соответствует перемещению тубусодержателя на 0,5 мм. Перемещение тубусодержателя при вращении диска от упора до упора – не менее 2 мм.

Конденсор 6 (рис. 1.1) крепится на кронштейне и располагается между предметным столиком и коллекторной линзой. Его движение производится вращением рукояткой 10. Общий вид его показан на рис. 1.2. Двухлинзовый конденсор с апертурой 1, 2 с дополнительной откидной линзой обеспечивает освещение полей на объекте при работе с объективами увеличением от 3,5 до 100.

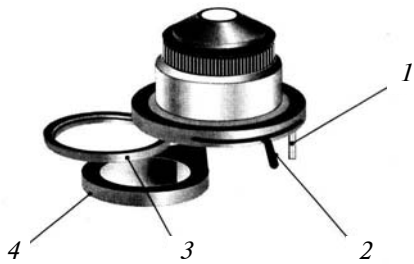
Предметный столик 5 (рис. 1.1) укреплен на кронштейне. Координатное перемещение предметного столика, возможно, при вращении рукояток 4 и 5 (рис. 1.3). Крепление объекта на столике осуществляется держателями 1, 3. Держатели можно перемещать относительно друг друга. Отпустив винта 2, передвинуть по пазу рукой держатели и вновь закрепить винты. Координаты объекта и величина перемещения отсчитывается по шкалам с ценой деления 1 мм и нониусам с ценой деления 0,1 мм. Диапазон перемещения объекта в продольном направлении 80 мм, в поперечном направлении – 40 мм.



**Рис. 1.1** Общий вид микроскопа с бинокулярной насадкой:

1 – окуляры; 2 – бинокулярная насадка; 3 – револьверное устройство; 4 – объектив; 5 – предметный столик; 6 – конденсор; 7 – корпус коллекторной линзы;  
8 – патрон с лампой; 9 – шарнир; 10 – рукоятка перемещения кронштейна конденсора; 11 – рукоятка тонкой фокусировки; 12 – рукоятка грубой фокусировки;

13 – тубусодержатель; 14 – сетевая вилка; 15 – источник питания; 16 – гнездо для подключения штекера источника питания; 17 – штекер; 18 – винтовой упор (ограничитель перемещения тубусодержателя при фокусировке); 19 – рукоятка регулирования яркости горения лампы; 20 – световой индикатор; 21 – выключатель



**Рис. 1.2 Конденсор:**

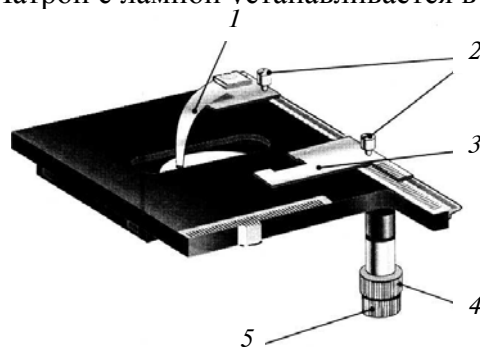
1 – упор; 2 – рукоятка для раскрытия ирисовой апертурной диафрагмы; 3 – откидная рамка для матового стекла, светофильтра, диафрагмы темного поля или поля-фильтра; 4 – откидная линза для работы с объективами увеличением 10 и менее

**Оптическая часть микроскопа** состоит из осветительной и наблюдательной систем. Осветительная система равномерно освещает поля зрения. Наблюдательная система предназначена для увеличения изображения наблюдаемого объекта.

**Осветительная система** находится под предметным столиком. Она состоит из коллекторной линзы в корпусе 7 (рис. 1.1), который ввинчивается в отверстие основания микроскопа и патрона 8 с установленной в него лампой. Патрон с лампой устанавливается в шарнир 9, при настройке их

**Рис. 1.3 Предметный столик с координатным перемещением объекта:**

1 – держатель объекта; 2 – винты для крепления держателей; 3 – держатель объекта; 4 – рукоятка перемещения объекта в поперечном направлении; 5 – рукоятка перемещения объекта в продольном направлении



можно перемещать вдоль оси в горизонтальной плоскости. Питание осветителя микроскопа обеспечивается от сети переменного тока через настольный источник питания 15, подключаемый с помощью штекера 17 к гнезду 16, расположенному на передней стенке основания микроскопа. Включение лампы осветителя осуществляется выключателем 21, расположенным на источнике питания 15.

**Наблюдательная система** состоит из объективов 4, бинокулярной насадки 2 и окуляров 1 (рис. 1.1).

Объективы составляют самую важную, наиболее ценную и хрупкую часть микроскопа. От них зависит увеличение, разрешающая способность и качество изображения. Они представляют собой систему взаимно центрированных линз, заключенных в металлическую оправу. На верхнем конце оправы имеется резьба, при помощи которой объектив крепится в гнезде револьвера. Передняя (ближайшая к объекту) линза в объективе называется фронтальной, единственная в объективе, производящая увеличение. Все остальные линзы объектива называются коррекционными и служат для устранения недостатков оптического изображения.

При прохождении через линзы пучка световых лучей с разной длиной волны возникает радужное окрашивание изображения – хроматическая аберрация. Неодинаковое преломление лучей на кривой поверхности линзы приводит к сферической аберрации, возникающей вследствие неравномерного преломления центральных и периферических лучей. В результате точечное изображение получается в виде размытого кружка.

К основным характеристикам микроскопа относятся увеличение и разрешающая способность. Общее увеличение, которое дает микроскоп, определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра (табл. 1). Однако увеличение не характеризует качества изображения, оно может быть четким и нечетким. Четкость получаемого изображения характеризуется разрешающей способностью микроскопа, т.е. той наименьшей величиной объектов или их деталей, которые можно увидеть с помощью этого прибора.

### 1 Оптические данные окуляров к микроскопу МБР-1

Окуляры	Фокусное расстояние, мм	Линейное поле зрения, мм	Собственное увеличение	ОБЩЕЕ УВЕЛИЧЕНИЕ С ОБЪЕКТИВАМИ		
				8 <sup>×</sup>	40 <sup>×</sup>	90 <sup>×</sup>
7 <sup>×</sup>	36	19	7х	56	280	630
10 <sup>×</sup>	25	14	10х	80	400	900
15 <sup>×</sup>	17	8	15х	120	600	1350

*Увеличение микроскопа* вычисляют по формуле

$$V = V_{об} V_{ок}, \quad (1.1)$$

где  $V_{об}$  – увеличение объектива;  $V_{ок}$  – увеличение окуляра.

**Разрешающая способность** микроскопа определяется минимальным (разрешающим) расстоянием между двумя точками (или двумя тончайшими штрихами), видимыми раздельно, и вычисляется по формуле

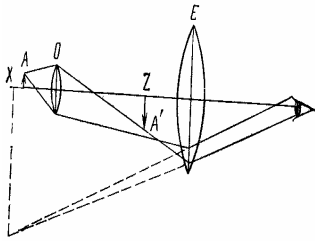
$$d = \frac{\lambda}{A_1 + A_2}, \quad (1.5)$$

где  $d$  – минимальное (разрешающее) расстояние между двумя точками (штрихами);  $\lambda$  – длина волны используемого света;  $A_1$  и  $A_2$  – числовая апертура объектива (обозначена на его оправе) и конденсора.

Увеличить разрешающую способность (т.е. уменьшить абсолютную величину  $d$ , так как это обратные величины) можно следующими путями: освещать объект светом с более короткой длиной волны  $\lambda$  (например, ультрафиолетовыми или коротковолновыми лучами), использовать объективы с большей апертурой  $A_1$  или повышать апертуру конденсора  $A_2$ .

Микроскопы снабжают тремя съемными объективами с собственными увеличениями  $\times 8$ ,  $\times 40$  и  $\times 90$ , обозначенными на металлической оправе. Увеличение объектива зависит от кривизны основной фронтальной линзы: чем больше кривизна, тем короче фокусное расстояние и тем больше увеличение. Это необходимо помнить при микроскопировании – чем большее увеличение дает объектив, тем меньше свободное рабочее расстояние и тем ниже следует опускать его над плоскостью препарата.

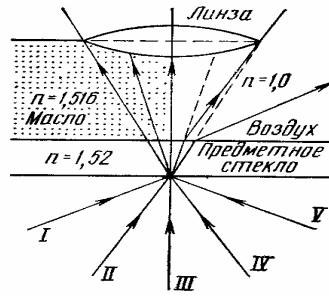
Все объективы разделяются на сухие и иммерсионные, или погружные. Сухим называется такой объектив, между фронтальной линзой которого и рассматриваемым препаратом находится воздух. При этом ввиду разницы показателя преломления стекла (1,52) и воздуха (1,0) часть световых лучей отклоняется и не попадает в глаз наблюдателя. Объективы сухой системы имеют обычно большое фокусное расстояние и дают малое ( $\times 8$ ) или среднее ( $\times 40$ ) увеличение.



**Рис. 1.4** Схема образования изображения

**в световом микроскопе:**

A – объект; O – объектив; E – окуляр;  
A' – изображение объекта; A, X – линия изображения; Z – действительное изображение



**Рис. 1.5** Ход лучей в сухой и иммерсионной системах:

I – V – лучи света

Иммерсионными, или погружными, называют такие объективы, между фронтальной линзой которых и препаратом помещается жидкая среда с показателем преломления, близким к показателю преломления стекла.

В качестве иммерсионной среды используют обычно кедровое масло. Можно использовать также воду, глицерин, прозрачные масла, монокромнафталин и др. При этом между фронтальной линзой объектива и препаратом устанавливается однородная (гомогенная) среда (стекло препарата – масло – стекло объектива) с одинаковым показателем преломления. Благодаря этому все лучи, не преломляясь и не изменяя направления, попадают в объектив, создавая условия наилучшего освещения препарата (рис. 1.5). Величина ( $n$ ) показателя преломления равна для воды 1,33, для кедрового масла 1,515, для монокромнафталина 1,6.

Окуляр микроскопа состоит из двух линз: глазной (верхней) и собирающей (нижней). Между линзами находится диафрагма. Боковые лучи диафрагма задерживает, близкие к оптической оси пропускает, что усиливает контрастность изображения. Назначение окуляра состоит в увеличении изображения, которое дает объектив. Окуляры имеют собственное увеличение  $\times 5$ ,  $\times 7$ ,  $\times 10$ ,  $\times 12$ ,  $\times 15$  и  $\times 20$ , что указано на оправе.

Общий принцип образования изображения в современных микроскопах показан на рис. 1.4. Объектив дает изображение увеличенное, обратное и действительное. Окуляр увеличивает это изображение и делает его мнимым.

## ТЕХНИКА МИКРОСКОПИРОВАНИЯ

Микроскоп через блок питания подключают к электрической сети. С помощью револьвера закрепляют объектив с увеличением  $\times 8$ . Легкий упор и звук щелчка пружины револьвера свидетельствуют о том, что объектив установлен по оптической оси. Макрометрическим винтом опускают объектив на расстояние 0,5 – 1,0 см от предметного столика.

**Правила работы с сухими объективами.** Приготовленный препарат помещают на предметный столик и закрепляют зажимами. С помощью сухого объектива с увеличением  $\times 8$  просматривают несколько полей зрения. Передвигают предметный столик боковыми винтами. Нужный для исследования участок препарата устанавливают в центре поля зрения. Поднимают тубус и вращением револьвера переводят объектив с увеличением  $\times 40$ , наблюдая сбоку, макрометрическим винтом снова опускают тубус с объективом почти до соприкосновения с препаратом. Смотрят в окуляр, очень медленно поднимают тубус до появления контуров изображения. Точную фокусировку производят с помощью микрометрического винта, вращая его в ту или другую сторону, но не более чем на один полный оборот. Если при вращении микрометрического винта чувствуется сопротивление, значит, ход его пройден до конца. В этом случае поворачивают винт на один-два полных оборота в обратную сторону, снова находят изображение при помощи макрометрического винта и переходят к работе с микрометрическим винтом. Полезно приучить себя при микроскопировании держать оба глаза открытыми и пользоваться ими попеременно, так как при этом меньше утомляется зрение.

При смене объективов не следует забывать, что разрешающая способность микроскопа зависит от соотношения апертуры объектива и конденсора. Числовая апертура объектива с увеличением  $\times 40$  составляет 0,65, неиммерсионного конденсора – 0,95. Привести их в соответствие практически можно

следующим приемом: сфокусировав препарат с объективом, следует вынуть окуляр и, глядя в тубус, прикрывать ирисовую диафрагму конденсора до тех пор, пока ее края не станут видны у границы равномерно освещенной задней линзы объектива. В этот момент числовые апертуры конденсора и объектива будут примерно равны.

**Правила работы с иммерсионным объективом.** На препарат (лучше фиксированный и окрашенный) наносят небольшую каплю иммерсионного масла. Поворачивают револьвер и устанавливают по центральной оптической оси иммерсионный объектив с увеличением  $\times 90$ . Конденсор поднимают вверх до упора. Ирисовую диафрагму конденсора открывают полностью. Глядя сбоку, макрометрическим винтом опускают тубус до погружения объектива в масло, почти до соприкосновения линзы с предметным стеклом препарата. Это нужно проводить очень осторожно, чтобы фронтальная линза не сместилась и не получила повреждения. Смотрят в окуляр, очень медленно вращают макрометрический винт на себя и, не отрывая объектив от масла, приподнимают тубус до появления контуров объекта. При этом следует помнить, что свободное рабочее расстояние в иммерсионном объективе равно  $0,1 - 0,15$  мм. Затем точную фокусировку производят макрометрическим винтом. Рассматривают в препарате несколько полей зрения, передвигая столик боковыми винтами.

По окончании работы с иммерсионным объективом поднимают тубус, снимают препарат и осторожно протирают фронтальную линзу объектива сначала сухой мягкой хлопчатобумажной салфеткой, затем той же салфеткой, но слегка смоченной чистым бензином. Оставлять масло на поверхности линзы нельзя, так как оно способствует оседанию пыли и может привести со временем к повреждению оптики микроскопа. Препарат освобождают от масла сначала кусочком фильтровальной бумаги, затем обрабатывают стекло бензином или ксилолом.

### Практическая часть

- 1 Изучить устройство микроскопа, пользуясь его описанием в методических указаниях и пояснениями преподавателя.
- 2 Освоить технику определения увеличения, разрешающей способности микроскопа.
- 3 Научиться устанавливать освещение по Келеру.
- 4 Произвести микроскопирование готовых препаратов.

### Форма протокола по лабораторной работе 1

- 1 Название лабораторной работы. Дата выполнения.
- 2 Цель работы.
- 3 Перечень методов микроскопии и их применение в лабораторной практике исследования биологических объектов.
- 4 Назначение механической части микроскопа и ее устройство.
- 5 Устройство оптических узлов микроскопа и их характеристика.
- 6 Схема лучей в сухой и иммерсионной системе.
- 7 Характеристики микроскопа.
- 8 Порядок операций настройки микроскопа.

### Лабораторная работа 2

#### ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ ДРОЖЖЕВОЙ КЛЕТКИ

**Цель работы:** приобрести навыки работы с микроскопом, изучить строение дрожжевой клетки.

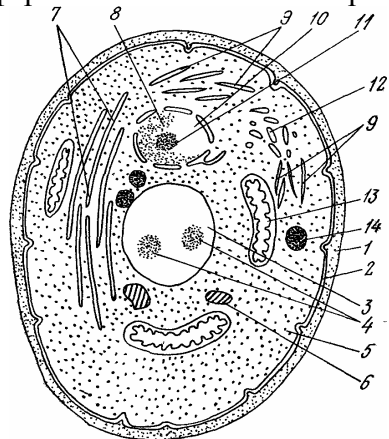
#### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Дрожжи широко используются при производстве хлеба, пива, вин, этилового спирта, БАДов, витаминов, белковосодержащих препаратов кормового и пищевого назначения.

Дрожжи эукариотические организмы, имеют дифференцированное ядро. На рис. 2.1 приведена схема строения дрожжевой клетки. Дрожжевая клетка окружена клеточной оболочкой *1*, которая является механическим барьером, сохраняет и придает форму клетке, поддерживает внутриклеточное давление. Структура клеточной стенки многослойная, пористая, через поры клеточной стенки из внешней среды проникают низкомолекулярные вещества (вода, соли, сахара, углеводороды и др.) и выводятся продукты метаболизма (диоксид углерода, аминокислоты, спирты, кислоты и др.).



К внутренней поверхности клеточной стенки прилегает цитоплазматическая мембрана 2. Она выполняет роль осмотического барьера, через который путем диффузии и с помощью многочисленных ферментативных систем проходит активный обмен веществами с внешней средой.



**Рис. 2.1** Схема строения дрожжевой клетки:

- 1 – клеточная стенка;
- 2 – цитоплазматическая мембрана;
- 3 – вакуоль; 4 – гранулы полифосфата; 5 – цитоплазма; 6 – гликоген;
- 7 – эндоплазматический ретикулум;
- 8 – хроматин; 9 – рибосомы;
- 10 – ядро;
- 11 – ядрышко; 12 – аппарат Гольджи;
- 13 – митохондрия; 14 – капельки жира

Мембрана окружает цитоплазму 5, которая представляет собой полужидкую коллоидную систему внутри клетки. В ней находятся все структурные элементы и включения клетки, протекают биохимические процессы жизнеобеспечения.

Ядро дрожжевой клетки 10 имеет округлую форму размером 1 – 2 мкм. Основные соединения ядра – ДНК, РНК. ДНК является «носителем» и «хранителем» наследственной информации клетки. При размножении дрожжей ДНК материнской клетки удваивается и передается в дочернюю клетку. Информация «списывается» с помощью информационных РНК доставляется через поры мембраны ядра к различным структурам клетки, в частности рибосомы.

Рибосомы 9 имеют размер 15 – 20 нм и представляют собой мелкие сферические структуры, с помощью которых синтезируется белок, их количество достигает в клетке  $2 \cdot 10^4 - 10^5$ .

Хранилищем резервных веществ в клетке является мембранное образование – вакуоль 3. Гранулы полифосфата (волютин) 4, гликоген 6, капельки жира 14 – это резервные вещества, выполняющие роль энергетического запаса. Эндоплазматический ретикулум 7 представляет собой мембранное образование в виде мелких канальцев и пузырьков, которые локализуются в определенных участках цитоплазмы. Он является носителем различных ферментных систем, катализирующих синтез белковых и липидных компонентов клеточных органелл.

Аппарат Гольджи 12 также является мембранным образованием, состоящее из ориентированных определенным образом стопок дискоидных цистерн, окруженных массой мелких пузырьков. Белки из полости эндоплазматического ретикулума входят в аппарат Гольджи, где подвергаются разнообразным ковалентным модификациям, в результате которых приобретают конечные зрелые формы. Аппарат Гольджи направляет их в многочисленные внутриклеточные и внеклеточные «пункты назначения». Правильная сортировка белков и их модификация перед избирательным выделением – одна из главных функций аппарата Гольджи.

Энергетические нужды клетки обеспечивают митохондрии 13 – полуавтономные структуры диаметром 0,2 – 2 мкм и длиной 0,5 – 7 мкм.

## Практическая часть

Для изучения органелл дрожжевой клетки и способов ее размножения на лабораторном занятии необходимо приготовить различные препараты и провести их микроскопирование.

**1 Способ размножения дрожжевой клетки.** Характерные для дрожжей способы размножения – почкование и деление. При почковании дрожжей на поверхности клетки образуется маленький бугорок – почка, который постепенно увеличивается почти до размеров материнской клетки. Формирование почек может происходить на разных сторонах материнской клетки одновременно или последовательно в виде одной или нескольких почек. Размножение делением происходит за счет образования поперечной

перегородки – септы. Наблюдать почкующиеся дрожжи можно используя препарат «раздавленная капля».

*Препарат «раздавленная капля».* На середину чистого предметного стекла наносят небольшую каплю воды, бульона или физиологического раствора (0,5%-ный раствор NaCl). В нее вносят петлей или иглой исследуемый материал, после чего хорошо размешивают до получения слабомутной суспензии. При рассмотрении микроорганизмов, выросших в жидких средах, каплю воды на предметное стекло можно не наносить. Покровное стекло ставят на ребро у края капли с микроорганизмами и постепенно опускают, стараясь, чтобы между стеклами не образовались пузырьки воздуха, мешающие микрофотографированию. Ручкой петли прижимают покровное стекло к предметному. Излишек жидкости, выступающий за края покровного стекла, удаляют полоской фильтровальной бумаги. Приготовленный препарат сразу же исследуют, так как жидкость высыхает и микрофотографирование затрудняется.

В препарате «раздавленная капля» в светлом и темном поле можно установить форму и размеры клеток, их физиологическое состояние, характер размножения, расположения спор, наличие запасных питательных веществ в клетке, подвижность. В последнем случае необходимо отличать истинное движение от броуновского, при котором клетки остаются на месте, совершая колебательные движения, или перемещаются по току жидкости.

**2 Ядро дрожжевой клетки** можно наблюдать, проведя окраску по методу Фёльгена.

Из суточной культуры приготавливают мазок, высушивают на воздухе и фиксируют парами 2%-го раствора осмиевой кислоты в течение 2 – 3 мин. Для фиксации на дно чашки Петри наносят 2 – 3 капли фиксатора, а предметное стекло помещают на маленькие стеклянные палочки мазком вниз. Далее мазок подвергают гидролизу в 1 н. растворе соляной кислоты при температуре 60 °С в течение 2 – 3 мин, опуская предметное стекло в небольшой химический стаканчик с соляной кислотой, помещенный в водяную баню. По окончании гидролиза мазок немедленно промывают водой и заливают 1%-ным раствором формалина на 1,5 мин и вновь промывают водой. Мазок окрашивают 0,1 – 1 %-ным водным раствором основного фуксина 1 – 2 мин, промывают водой, высушивают на воздухе и микрофотографируют с объективом ×90. На розовом фоне цитоплазмы ядро окрашено в ярко-малиновый цвет.

**3 Спорообразование у дрожжей** наблюдается у молодой по возрасту культуры, предварительно выращенной в течение 1 – 2 сут. на богатых средах; у активно растущих дрожжей на голодных средах или гипсовых блоках, при хорошей аэрации и повышенной влажности; при инкубации дрожжей при температурах несколько меньших по сравнению с оптимальными (20 – 25°С) 4 – 6 недель.

Споры у дрожжей обнаруживают путем окраски спор дрожжей в фиксированном препарате. Фиксированными считают клетки микроорганизмов, в которых прерваны жизненные процессы, но полностью сохранена тонкая структура. Окрашенные фиксированные клетки и детали их строения резче выделяются на фоне препарата, что облегчает изучение формы, размеров, внутренних элементов (ядра, оболочки, спор, включений), упрощает подсчет количества клеток. Фиксированные препараты обычно рассматривают с иммерсией. Приготовление окрашенных фиксированных препаратов состоит из следующих этапов: приготовление мазка, высушивание, фиксация и окраска мазка.

*Приготовление мазка.* Мазки готовят на чистых обезжиренных предметных стеклах. Предметные стекла берут пинцетом или пальцами за ребра и проносят через пламя горелки, слегка обжигая, после чего кладут обожженной поверхностью вверх на мостик над ванночкой. Наносят каплю воды и вносят в нее петлей дрожжи. Тщательно размешивают петлей суспензию и распределяют ее на площади 1 – 2 см<sup>2</sup> в виде тонкого ровного слоя.

*Высушивание мазка* проводят при комнатной температуре на воздухе. Правильно приготовленный мазок высыхает сразу же после нанесения. Если высушивание протекает медленно, препарат мазком вверх высоко поднимают над пламенем горелки и осторожно сушат в теплом воздухе без подогрева стекла, иначе клетки деформируются.

*Фиксация* вызывает гибель клеток микроорганизмов, делает их безопасными (что особенно важно при работе с патогенными культурами) и прочно прикрепляет клетки к стеклу, в результате они не смываются при последующих операциях, лучше окрашиваются, так как становятся более проницаемыми для красителей.

Наиболее простым и распространенным способом фиксации является термическая обработка. Для этого предметное стекло мазком вверх 3 – 5 раз проносят через наиболее горячую часть пламени горелки. Предметное стекло нагревают 2 – 3 с, пока не возникнет ощущение легкого жжения, если приложить его к кисти руки. Более длительная термическая фиксация может изменить структуру микробных клеток и их форму. Недостаточно хорошо зафиксированный мазок смывается со стекла при последующей обработке.

*Окрашивание мазка.* Готовый препарат заливают карболовым фуксином Циля и нагревают 2 – 3 мин до появления паров. Затем препарат обесцвечивают, погружая в 2%-ный раствор молочной кислоты

или 95%-ный этанол, содержащий 1 мл концентрированной соляной кислоты в 100 мл этилового спирта. Препарат промывают водой и докрашивают 3 – 5 мин 1%-ным раствором метиленового синего или нильского голубого, после чего промывают водой. Зрелые аскоспоры окрашиваются в красный цвет, вегетативные клетки – в синий.

**4 Обнаружение мертвых клеток** проводят, нанося на предметное стекло каплю дрожжевой суспензии и каплю раствора метиленового синего. Готовый препарат накрывают предметным стеклом. Через две минуты подсчитывают количество всех дрожжевых клеток, затем количество только синих (мертвых). Предметное стекло несколько подвигают и определение ведут в новом поле зрения.

Количество мертвых клеток выражают в процентах от общего числа дрожжевых клеток.

**5 Выявление включений клетки.** Гликоген (запасной олисахарид) обнаруживают при помощи прижизненного окрашивания дрожжевых клеток раствором йода. Гликоген окрашивается в красно-бурый цвет и является признаком зрелости дрожжей. На предметное стекло наносят каплю дрожжевой суспензии и 2 – 3 капли раствора Люголя. Готовый препарат накрывают предметным стеклом. Излишек жидкости удаляют полоской фильтровальной бумаги. Через 2 – 3 мин цитоплазма дрожжевых клеток окрашивается в светло-желтый цвет, гранулы гликогена в – красно-бурый цвет. В нормальных дрожжах гликоген занимает от 1/3 до 2/3 клетки. Если гликогена меньше 1/4 объема клетки, его содержание считается недостаточным. Молодые дрожжи окрашиваются в светло-желтый цвет. В перезревших или голодных клетках гликоген отсутствует или содержится в небольших количествах в вакуолях. Предметное стекло несколько раз подвигают и определение ведут в 3 – 5 полях зрения.

*Метахроматин или волютин* (запасной полифосфат в соединении с простыми белками и рибонуклеиновой кислотой) выявляют по способу Омелянского: на обезжиренном предметном стекле готовят тонкий мазок, высушивают на воздухе и фиксируют над пламенем горелки. На мазок наливают карболовый фуксин Циля и окрашивают 0,5 – 1 мин. Краску сливают, препарат промывают водой и обесцвечивают 20 – 30 с 1%-ным раствором серной кислоты. Мазок промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют. Зерна метахроматина окрашиваются в красный цвет, цитоплазма – в синий. Увеличение волютина – признак зрелости клеток.

*Жир* окрашивают Суданом III или 1%-ным раствором осмиевой кислоты. На предметное стекло наносят не большую каплю 40%-го раствора формалина. Петлей в каплю вносят культуру дрожжей. Формалин убивает клетки и делает оболочку более проницаемой. Через 5 мин добавляют не большую каплю метиленового синего, еще через 10 мин каплю Судана III. Препарат накрывают покровным стеклом, удаляют избыток жидкости фильтровальной бумагой и микроскопируют иммерсией. Цитоплазма окрашивается в синий цвет, гранулы и капельки жира – в розово-оранжевый.

## Форма протокола по лабораторной работе 2

- 1 Название лабораторной работы. Дата выполнения.
- 2 Цель работы.
- 3 Рисунок дрожжевой клетки с указанием ее органелл.
- 4 Методы выявления органелл.
- 5 Техника приготовления препаратов.
- 6 Микрографии.

## Лабораторная работа 3

### ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

**Цель работы:** гистологический и микроструктурный анализ мяса.

#### Методические указания

Мясопродукты в питании человека являются источником полноценных белков, витаминов группы В, минеральных веществ. Для выработки мясопродуктов используется мясо разных видов животных, отличающееся по составу. Как видно из табл. 3.1 – в говядине преобладают белковые вещества, в свинине – жиры, самое диетическое – куриное мясо.

Мясом называют комплекс мышечной, жировой, соединительной, костной тканей животного происхождения. Соотношение тканей в туше зависит от вида, породы, пола, возраста и упитанности животного (табл. 3.2).

**Мышечная ткань** имеет наибольшую пищевую ценность, и включает 72 – 80 % воды, 16,5 – 21 % белковых веществ, 2 – 3 % липидов, 1,0 – 1,5 % – минеральных веществ.

### 3.1 Химический состав мясного сырья

Вид мяса	Вода, %	Белок, %	Жиры, %	Незаменимые аминокислоты, мг/100 г	Энергетическая ценность, ккал
Говядина	67,7	18,9	12,4	7131	782
Свинина	51,6	14,6	33,0	5619	1485
Баранина	67,6	16,3	15,3	5778	849
Куры	61,9	18,2	18,4		1008

### 3.2 Соотношение тканей в туше

Ткань	Содержание, %
Мышечная	50 – 70
Жировая	3 – 20
Соединительная	9 – 14
Костная	15 – 22

Основной мышечной ткани служит мышечное волокно 4 (рис. 3.1). Оно состоит из длинных до 12 см многоядерных нитевидных клеток диаметром 10 – 150 мкм. Сверху они покрыты полупрозрачной оболочкой – сарколеммой 1, которая состоит из неполноценного белка – коллагена. Внутри волокна содержится жидкость – саркоплазма 2, представляющая собой раствор водорастворимых белков (миогена, глобулина X, миоальбумина и миоглобина), минеральных и других веществ. Миоглобин имеет красный свет, что и обуславливает окраску мяса. В саркоплазме расположены студнеобразные нити – миофибриллы 3, состоящие из белков, растворимых в солях: миозина, актина, актомиозина и др.

Мышечные волокна 4 соединяются в первичные пучки 5 при помощи прослоек соединительной ткани – эндомизия 6 («энд» – внутри, «мизий» – соединительная ткань). Несколько таких первичных пучков соединяются во вторичные, более крупные пучки 7, также при помощи прослоек соединительной ткани, но она имеет уже более упругие свойства, чем эндомизий, и называется перимизий 8, т.е. промежуточная соединительная ткань. Большое число вторичных мышечных пучков соединяются в мышцу, которая покрыта грубой соединительной тканью – эпимизием («эпи» – верхний, наружный), он хорошо виден на кусках мяса. Эндо-, пери- и эпимизий состоят из коллагена и эластина. Эндомизий во всех частях мяса имеет примерно одинаковое строение в виде тонких белковых волокон, расположенных параллельно. Перимизий состоит из более толстых волокон коллагена, которые ветвятся и переплетаются, образуя сетчатую

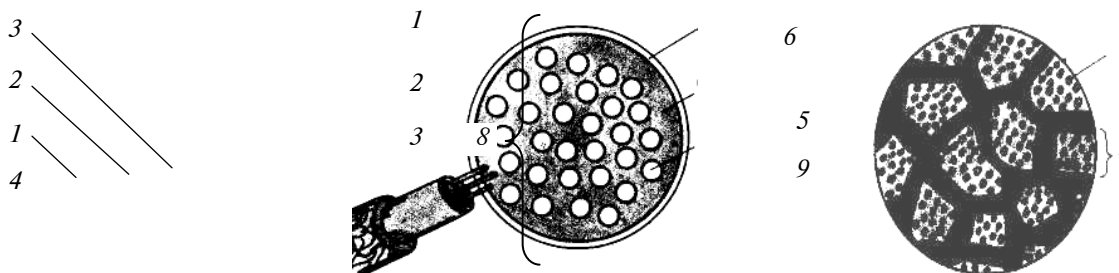


Рис. 3. Строение мышечной ткани мяса:

1 – сарколема; 2 – саркоплазма; 3 – миофибриллы; 4 – мышечное волокно;  
5 – первичный пучок; 6 – эндомизий; 7 – вторичный пучок; 8 – перимизий

структуру. Кроме того, в перимизии имеются волокна эластина, белки которых очень устойчивы и при тепловой обработке почти не размягчаются.

К **соединительным тканям** относятся кроме рыхлой соединительной ткани также хрящи, сухожилия, подкожная клетчатка, стенки сосудов. Соединительная ткань состоит из клеток и межклеточного вещества.

**Рыхлая соединительная ткань** (рис. 3.2) состоит из двух компонентов: неклеточного аморфного бесструктурного межклеточного вещества с волокнами и разнообразных клеток. Основное промежуточное вещество имеет вид голубоватой или сероватой полупрозрачной пленочки. На рис. 3.2 хорошо видны волокна двух типов: коллагеновые и эластиновые. Первые представляют собой извитые ленты различной ширины. Они никогда не ветвятся. Однако широкие пучки могут делиться на более тонкие. Переплетаясь друг с другом, они образуют сплошную сеть.

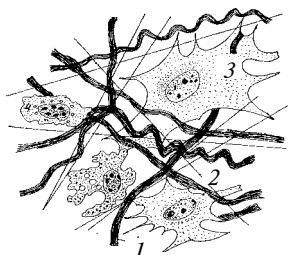
Коллагеновые пучки складываются из отдельных тонких волоконцев – фибрилл, склеенных по длине между собой. Отдельные волокна переходят из одного пучка в другой, обеспечивая большую прочность всей сети.

Эластические волокна ветвятся, образуя в местах ветвления своеобразные треугольнички. Они могут быть любой толщины (от очень тонких тяжей до массивных пленок). В неокрашенном препарате они блестят и сильно преломляют свет.

Коллаген по химической природе представляет собой полипептидные цепи, построенные из чередующихся аминокислот – глицина, пролина, оксипролина. За счет водородных связей полимерная молекула приобретает конфигурацию спирали в растянутом напряженном состоянии, т.е. характерная фибриллярная форма белковых молекул.

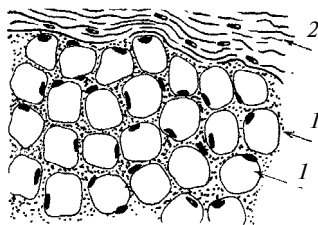
Основные клеточные формы рыхлой соединительной ткани: фибробласты и гистиоциты. Фибробласты – крупные отростчатые вытянутые или многоугольные клетки. Гистиоциты лежат поодиночке или группами. Они округлой, иногда неправильной формы с короткими лопастными отростками. Часто они содержат вакуоли.

**Жировая ткань** подразделяется по участкам локализации на подкожную, межмышечную и внутримышечную. Она представляет собой рыхлую ткань (рис. 3.3), содержащую большие количества жировых кле-



**Рис. 3.2 Рыхлая соединительная ткань:**

1 – пучки коллагеновых волокон;  
2 – эластические волокна;  
3 – фибробласты; 4 – гистиоциты



**Рис. 3.3 Жировая ткань:**

1 – жировые клетки;  
2 – соединительнотканьные прослойки

ток, собранных в дольки. Клетки почти целиком заполнены жировой каплей, ядро и цитоплазма отеснены к периферии. Жировая ткань служит энергетическим депо, предохраняет внутренние органы от ударов, способствует сохранению тепла в организме.

### Практическая часть

#### 1 Изучение макроструктуры мяса.

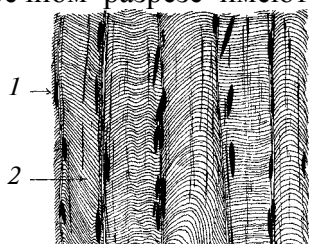
Исследуемый образец мяса помещают на стекло. При помощи двух пинцетов стараются разделить образец на отдельные волокна. В протокол заносят схематическое изображение исследуемого образца и перечень его составных частей.

#### 2 Изучение микроструктуры мяса.

Для микроскопического исследования готовят постоянный гистологический препарат одним из известных способов. Техника приготовления состоит из 5 этапов. Во-первых, фиксируют исследуемый объект в 10%-ном растворе формалина от 10 мин до 48 ч. Цель фиксации – сохранить структуру объекта, присущую ему в начале исследования. Во-вторых, промывают в водопроводной воде в течение 2 – 3 ч для удаления фиксирующего вещества из образца. На третьем этапе его быстро замораживают и затем режут специальной бритвой на пластинки толщиной 10 – 20 мкм (или используют специальную технику – микротом с ножом). Следующий этап – окрашивание, которое необходимо для оптического дифференцирования структурных элементов клеток и тканей. На последнем этапе образец помещают на предметное стекло заливают каплей расплавленного глицерин-желатина и накрывают покровным стеклом. Нажимают на покровное стекло иглой, способствуя равномерному распределению желатина. Через несколько минут, когда желатин застывает, препарат готов для исследования.

Микроскопирование проводят последовательно, сначала при малом увеличении  $\times 120$ , затем при большем –  $\times 600$ . При малом увеличении микроскопа можно рассмотреть волокнистую основу ткани, в которой вдоль кровеносных сосудов располагаются группы жировых клеток. Рассмотрите сухожилие в продольном разрезе. Найдите пучки коллагеновых волокон. Они имеют извилистую форму. Между пучками волокон находятся прослойки рыхлой соединительной ткани с клетками – фиброцитами и кровеносные сосуды, в просвете которых видны клетки крови. В соединительной ткани эндомизия встречаются разрезы капилляров, а в перимизии – разрезы сосудов и нервов. Между мышечными волокнами найдите соединительнотканые прослойки, жировые клетки. Зарисуйте увиденные изображения различных тканей.

При увеличении  $\times 600$  хорошо видны поперечные разрезы мышечных волокон (рис. 3.4), которые имеют то округлую, то угловатую форму, обусловленную тем, что соседние волокна сдавливают друг друга. Сарколемма на поперечных разрезах видна несколько отчетливее. Мышечные ядра *1* на поперечном разрезе имеют округлый вид, на таких разрезах особенно



**Рис. 3.4 Поперечнополосатые мышечные волокна:**

*1* – ядра мышечных волокон;  
*2* – поперечная исчерченность

ЯСНО ВИДНО ИХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ РАСПОЛОЖЕНИЕ. МИОФИБРИЛЛЫ НА ПОПЕРЕЧНОМ СРЕЗЕ ВИДНЫ В ВИДЕ ТОЧЕК. ИНОГДА ОНИ ЗАПОЛНЯЮТ ВОЛОКНА РАВНОМЕРНО, ИНОГДА РАЗДЕЛЕНЫ ПРОСЛОЙКАМИ САРКОПЛАЗМЫ, ОБРАЗУЯ В ЭТОМ СЛУЧАЕ МИОФИБРИЛЛЯРНЫЕ ПОЛЯ, КАЖДОЕ ИЗ КОТОРЫХ СООТВЕТСТВУЕТ ПОПЕРЕЧНОМУ РАЗРЕЗУ КОЛОНКИ МИОФИБРИЛЛ. САРКОПЛАЗМА ВИДНА ТАКЖЕ ВОКРУГ МЫШЕЧНЫХ ЯДЕР. НА ПОПЕРЕЧНЫХ РАЗРЕЗАХ ЯСНО ВЫДЕЛЯЕТСЯ ЭНДОМИЗИЙ, ОПЛЕТАЮЩИЙ КАЖДОЕ ВОЛОКНО.

### Форма протокола по лабораторной работе 3

- 1 Название лабораторной работы. Дата выполнения.
- 2 Цель работы.
- 3 Заполните табл. 3.3.

### 3.3 Ткани мяса

Тип ткани мяса	Химические соединения, преобладающие в ткани	Доля ткани в туше, %


- 4 Изобразить рисунком с поясняющими надписями строение мышечного волокна.
- 5 Воспроизвести на рисунках микрокартину препаратов мышечной ткани говядины, свинины, мяса курицы.

## Лабораторная работа 4

### ИЗУЧЕНИЕ ФАЗ МИТОЗА В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

**Цель работы:** закрепление теоретических знаний по разделу «Размножение и развитие организма».

#### Методические указания

Способность к самовоспроизведению является важнейшим свойством живого.

Живые организмы строятся из частей (органов), однако сами эти части состоят из относительно простых клеток. Среднее время жизни клетки невелико, однако когда клетка изнашивается и умирает, на ее место автоматически встает другая. Замена отмерших клеток происходит за счет резерва клеток, образуемых при делении клеток путем *митоза*.

Митоз протекает в животных и растительных клетках почти одинаково, но имеется и ряд различий (табл. 4.1).

#### 4.1 Особенности митоза у растений и у животных

Растительная клетка	Животная клетка
Центриолей нет	Центриоли имеются
Звезды не образуются	Звезды образуются
Образуется клеточная пластинка	Клеточная пластинка не образуется
При цитокинезе не образуется борозда (перетяжки)	При цитокинезе образуется – борозда
Митозы происходят главным образом в меристемах	Митозы происходят в различных тканях и участках организма

Скорость митотического деления клеток у разных организмов и в разных тканях сильно различается – наибольшая у бактерий и у зародышей многоклеточных организмов, наименьшая в высокодифференцированных тканях. Очень быстро могут делиться изолированные растительные и животные клетки при росте на питательных средах в условиях, оптимальных для деления.

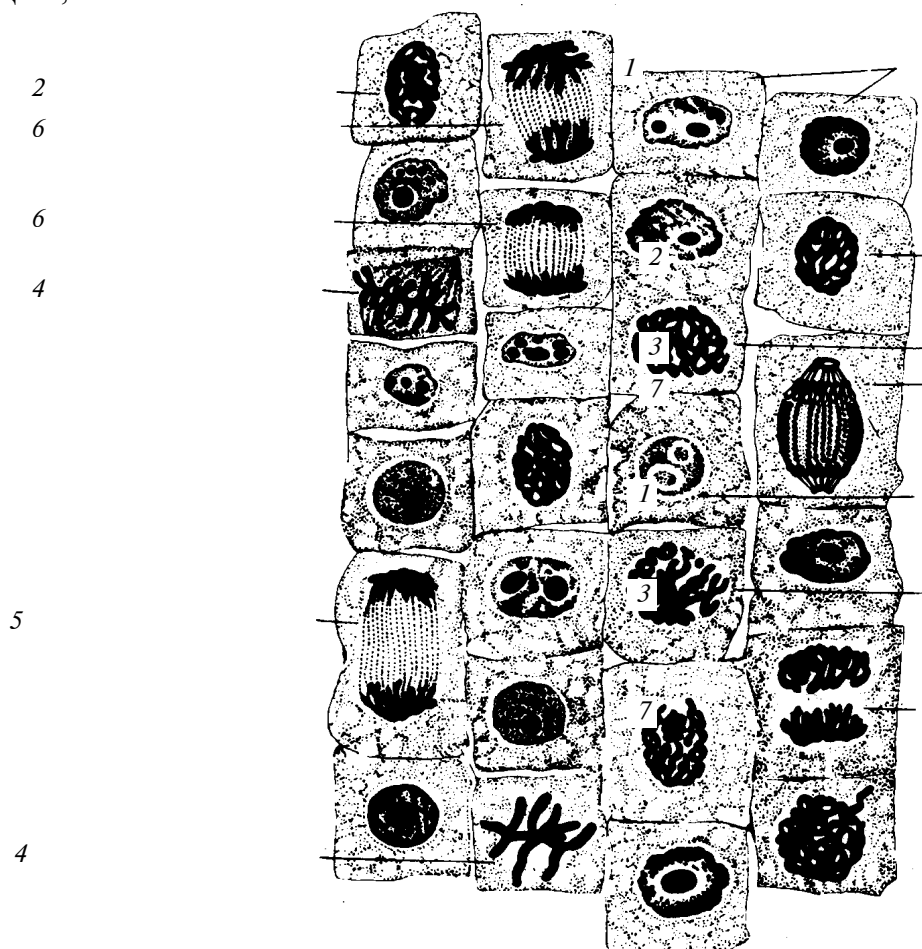
События, происходящие в ядре во время митоза, обычно наблюдают на фиксированных и окрашенных клетках. Такие препараты позволяют увидеть фазы, через которые проходят хромосомы при клеточном делении, но не выявляют их последовательность (рис. 4.1).

В результате митоза получаются два ядра, содержащие каждое столько же хромосом, сколько их было в родительском ядре. Эти хромосомы происходят от родительских хромосом путем точной репликации ДНК, поэтому гены их содержат совершенно одинаковую наследственную информацию. Дочерние клетки генетически идентичны родительской клетке, так что никаких изменений в генетическую информацию митоз внести не может. Поэтому клеточные популяции (клоны), происходящие от родительских клеток, обладают *генетической стабильностью*.

В результате митозов число клеток в организме увеличивается (процесс, известный под названием гиперплазии), что представляет собой один из главных механизмов *роста*.

Регенерация и замещение клеток. Многие виды животных и растений размножаются *бесполом путем* при помощи одного лишь митотического деления клеток. Кроме того, митоз обеспечивает регенерацию утраченных частей (например, ног у ракообразных) и замещение клеток, происходящее в той или иной степени у всех многоклеточных организмов.

Форма ядерного деления, сопровождающаяся уменьшением числа хромосом с диплоидного ( $2n$ ) до гаплоидного ( $n$ ). При этом в родительской клетке происходит однократное удвоение хромосом (репликация ДНК, как



**Рис. 4.2** Фигуры митоза в корешке лука:

1 – интерфаза; 2, 3 – профаза; 4 – метафаза; 5 – ахроматиновое веретено (веретено деления); 6 – анафаза; 7 – телофаза

при митозе), за которым следуют два цикла клеточных и ядерных делений (первое деление мейоза и второе деление мейоза). Таким образом, одна диплоидная клетка дает начало четырем гаплоидным клеткам.

Мейоз происходит при образовании спермиев и яйцеклеток (гаметогенез) у животных и при образовании спор у большинства растений (у тех, у которых имеет место чередование поколений). У некоторых низших растений чередования поколений нет, и мейоз у них происходит при образовании гамет.

Мейоз создает также возможности для возникновения в гаметах новых генных комбинаций. Это ведет к изменениям в генотипе и фенотипе потомства, получаемого в результате слияния гамет.

### Практическая часть

Фазы митоза можно наблюдать в апикальной меристеме кончиков корня чеснока ( $2n = 16$ ), лука ( $2n = 16$ ) и конских бобов ( $2n = 12$ ).

Для этого надо провести следующие операции:

1 Проткните зубчик чеснока булавкой и подвесьте его вверху пробирки с водой так, чтобы основание зубчика находилось в воде. Оставьте на 3 – 4 дня в покое, так как любое постороннее воздействие может временно подавить клеточное деление.

2 После образования нескольких корешков длиной 1 – 2 см отрежьте от них концевые участки длиной 1 см.

3 Поместите отрезанные участки корешков в небольшую пробирку с 6%-ной уксусной кислотой, заткните ее пробкой и оставьте на ночь при комнатной температуре для фиксации.

4 Ухватив корешки пинцетом за верхний конец, перенесите их в чашку Петри с дистиллированной водой и отмывайте в течение нескольких минут для удаления фиксатора.



5 Перенесите кончики корешков в пробирку, содержащую 1М HCl, и выдержите 3 мин при 60 °С (для корешков лука, горошка или бобов – 6 – 10 мин). При этом срединные пластинки, удерживающие клетки вместе, разрушаются, а ДНК хромосом гидролизуется с образованием альдегидных форм дезоксирибозы, способных взаимодействовать с красителем (реактивом Фельгена).

6 Кислоту вместе с кончиками корешков вылейте в чашку Петри. Перенесите корешки в другую чашку Петри, содержащую дистиллированную воду, и отмойте кислоту. Оставьте на 5 мин.

7 Перенесите корешки в маленькую пробирку с реактивом Фельгена (0,5 г фуксина и 5 г сульфата натрия на 100 мл воды) и заткните ее пробкой. Поставьте в прохладное темное место (лучше в холодильник) минимум на 2 ч.

8 Выньте пинцетом один кончик и поместите его в чашку Петри с 6%-ной уксусной кислотой.

9 Отрежьте скальпелем концевой участок длиной 1 – 2 мм остальное отбросьте.

10 На чистое предметное стекло нанесите стеклянной палочкой каплю 6%-ной уксусной кислоты и поместите в нее кончик корешка.

11 Двумя препаровальными иглами растреплите кончик корешка и накройте покровным стеклом. Поместите препарат на плоскую поверхность, накройте несколькими листками фильтровальной бумаги и сильно нажмите через нее на покровное стекло подушечкой большого пальца. Не допускайте смещения покровного стекла в стороны.

12 Изучите препарат под микроскопом при  $\times 120$ ,  $\times 600$  и  $\times 1350$ -кратном увеличении. Найдите клетки, находящиеся на разных стадиях митоза.

13 Выполните микроскопические картинки в лабораторном журнале, сопроводите их пояснениями.

#### **Форма протокола по лабораторной работе 4**

##### **1 НАЗВАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ. ДАТА ВЫПОЛНЕНИЯ.**

2 Понятие митоза.

3 Схема митоза.

4 Понятие мейоза.

5 Схема мейоза.

6 Зарисовать микроскопические картинку наблюдаемые на занятии с указанием увеличения и пояснениями наблюдаемой картины.

7 Напишите ответы на вопросы:

1) Укажите изменения, происходящие в клетке при митотическом делении на стадии профазы.

2) На какой стадии митоза образуются в клетке звезды?

3) На какой фазе митоза образуется веретено и как расположены при этом хроматиды?

4) Какие органы играют определяющую роль в период анафазы?

5) Перечислите явления телофазы.

6) Дайте определения цитокинеза.

7) При каком типе деления наблюдается кроссингвер конъюгация?

8) Результатом какой фазы и при каком делении появляется клетка с хромосомным набором  $1n 1c$ ?

9) Какой тип деления соответствует размножению: а) соматических клеток; б) половых клеток?

#### **Лабораторная работа 5**

##### *Крахмальные зерна пищевого сырья*

**Цель работы:** изучение зависимости крахмальных зерен от культуры злаков.

##### **Методические указания**

Крахмал является наиболее распространенным видом запасных питательных веществ растений, образующийся в результате фотосинтеза. В клетках он образует зерна, особенно богаты им клетки семян и подземных видоизмененных побегов (клубней, луковиц, корневищ).

Крахмальные зерна неоднородны около 98 % сухих веществ приходится на химически чистый крахмал, остальное количество – связанные с ним белки, жиры, клетчатку и минеральные вещества, такие как фосфаты и силикаты.

Крахмал в зернах находится в виде мельчайших игольчатых кристаллов, между которыми имеются микрокапилляры, чем и обуславливаются высокая гигроскопичность и адсорбционные свойства крахмала.

Крахмал представляет собой смесь высокомолекулярных сахаридов двух типов – амилозы и амилопектина. Содержание их в крахмале зависит от культуры, от 18 до 25 % приходится на амилозу и 75 – 82 % составляет амилопектин.

Амилоза представляет собой линейный полимер из остатков глюкозы, соединенный  $\alpha$ -1,4-глюкозидными связями. Молекулярная масса амилозы 16 тыс. – 1 млн. В цепи амилозы содержится от 1000 до 6000 остатков глюкозы.

Молекулы амилозы имеют спиралевидную пространственную конфигурацию. Каждый виток спирали состоит из шести глюкозных остатков (рис. 5.1). Внутри спирали образуется канал диаметром 0,5 нм, в который могут входить молекулы йода и обуславливать синее окрашивание. Амилоза легко агрегируется в растворе, в результате чего выпадает в осадок. Ее растворимость в воде лучше, чем амилопектина.

Амилопектин имеет разветвленное строение. Остатки *D*-глюкозы в линейных участках амилопектина связаны, как и в амилозе,  $\alpha$ -1,4-глюкозидными связями, а в точках разветвления –  $\beta$ -1,6-глюкозидными связями. Точки разветвления встречаются примерно через каждые 25 глюкозных остатков. Молекулярная масса амилопектина до  $10^6$ . Каждая ветвь состоит из 15 – 18 остатков глюкозы, а в цепи может включать от 5000 до 6000 остатков глюкозы. Амилопектин с йодом реагирует только до красно-бурого окрашивания, но в отличие от амилозы он обуславливает образование гелей крахмала (рис. 5.2).

Ассоциация отдельных молекул амилозы и амилопектина в крахмале осуществляется путем связывания их водородной связью.

Крахмал нерастворим в холодной воде, этиловом спирте и эфире. При постепенном нагревании с водой крахмал теряет свою естественную структуру и превращается в вязкий коллоидный раствор – крахмальный клейстер.

У разных растений форма, строение и размеры крахмальных зерен (картофельного, кукурузного, рисового и др.) различные (рис. 5.3).

Крахмальные зерна имеют овальную, сферическую или форму многоугольников, размер которых колеблется от 2 до 150 мкм. Наиболее крупные зерна у картофельного крахмала, самые мелкие – у рисового. Характерная форма крахмальных зерен дает возможность различать их под микроскопом, что используется при обнаружении одного вида крахмала в другом.

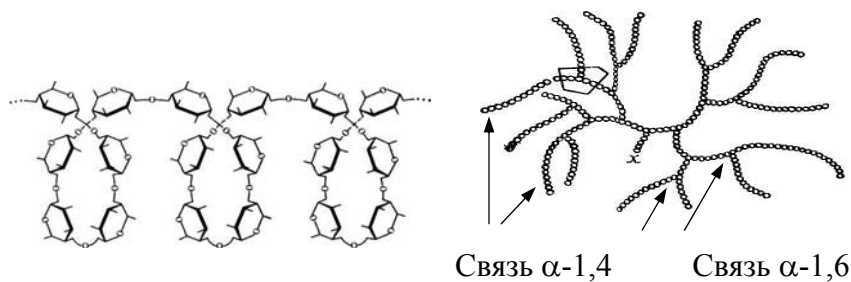
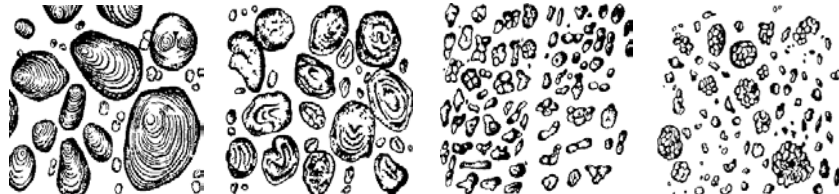


Рис. 5.1 Амилоза

Рис. 5.2 Амилопектин



1

2

3

4

Рис. 5.3 Зерна крахмала под микроскопом:

1 – картофельного; 2 – пшеничного; 3 – кукурузного; 4 – рисового

### Практическая часть

1 Изучение строения различных зерен крахмала.

Форма, размер и структура крахмальных зерен специфичны для каждого вида растений. Это обстоятельство используют при анализе состава муки и крахмала, используемых в промышленных целях.

Для микроскопического исследования готовят препарат на предметном стекле. Наносят каплю воды, вносят в нее стеклянной палочкой небольшое количество порошка и накрывают покровным стеклом. Рассматривают образец крахмальных зерен при объективе  $\times 40$ , изменяя место положение предметного стекла.

Наносят у края покровного стекла каплю слабого раствора йода, через 1 мин наблюдают препарат. Крахмальные зерна окрасятся в синий цвет, при этом четко просматривается их слоистость.

Зарисовывают неокрашенные и окрашенные крахмальные зерна. Рисунок оформляют в круге диаметром 4 см с указанием под ним увеличения, под ним вид крахмальных зерен.

## 2 Определение состава крахмальной смеси.

Каждый студент получает смесь из крахмала разных видов растений. Готовят препарат и определяют преобладающий тип крахмала. Результаты исследований оформляют в виде рисунка и сверяют результаты с реальными данными у преподавателя. Если задача решена верно, в протоколе должен быть проставлен зачет.

### **Форма протокола по лабораторной работе 5**

- 1 Название лабораторной работы. Дата выполнения.
- 2 Воспроизвести на рисунках картину наблюдаемых препаратов с поясняющими надписями.
- 3 Написать ответы на следующие вопросы.
  - 1) Какую роль выполняет крахмал в клетках?
  - 2) В результате какого процесса и в каком типе клеток образуется крахмал?
  - 3) Перечислите органы богатые крахмалом.
  - 4) Изобразите строение: а) амилозы; б) амилопектина.
  - 5) Укажите отличия строения амилозы и амилопектина.
  - 6) Укажите форму крахмальных зерен: а) картофеля; б) риса; в) пшеницы; г) кукурузы.