

6. Глинка Н.Л. Общая химия: учебное пособия для вузов / под ред. А.И.Ермакова. – Изд 30-е, исправленное. – М.: Интеграл-Пресс, 2003. – 723с.
7. Проценко А.В. Реагентная технология извлечения металлокомпонентов из отработанных первичных источников тока / А.В.Проценко, В.М.Гуляев // Экология ЦЧО РФ. – 2011. – №1. – С.39-43.
8. Тарасова В.В. Екологічна стандартизація і нормування антропогенного навантаження на природне середовище / В.В.Тарасова, А.С.Малиновський, М.Ф.Рибак. – К.: Центр учебової літератури. – 2007. – 276с.

Надійшла до редколегії 11.04.2016.

УДК. 621: 658

ГУЛЯЄВ В.М., д.т.н., професор
КОРНІЄНКО І.М., к.т.н., доцент
БУЛІЙОВ А.Є., студент
ЯКОВЛЄВ С.П., студент
ДМИТРІЄНКО В.Ф., зав. лабораторії

Дніпродзержинський державний технічний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ СПРОЩЕНИХ МЕТОДІВ ФАРБУВАННЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ (НА ПРИКЛАДІ ЕЛОДЕЇ ТА ЕПІТЕЛІЮ ЦИБУЛІ)

Вступ. Виходячи з сучасних потреб науки у якісному дослідженні мікроорганізмів, а загалом клітини і отриманні найбільш точних даних як про клітину, так і її складові (органели, включення) для таких галузей, як біологія, хімія, біотехнологія, генна інженерія перед вченими постає задача знаходження найбільш результативних методів вивчення будови клітин. Одним із таких методів є візуальне дослідження клітини, що дає повну інформацію про внутрішній склад клітин в залежності від методів фарбування.

Сучасні методи дослідження клітин надають повне уявлення про внутрішній склад клітини, а також функціонування органел задля складання морфологічної характеристики досліджуваних мікроорганізмів.

Застосування сучасних фарбників та методик в рази підвищує якість мікроскопії, але в учебовому процесі перевагу надають простим та недорогим методам фарбування [1-4].

Постановка задачі. Метою дослідження є використання простих та ефективних фарбників, які можна застосовувати при дослідженні рослинних клітин.

Задачі експерименту:

- 1 - дослідити вплив найпоширеніших фарбників на якість фарбування та ефективність мікроскопії органел рослинної клітини (на прикладі елодеї та цибулі);
- 2 - надати порівняльну характеристику дослідженім методам фарбування рослинних клітин;
- 3 - обґрунтувати можливість використання простих фарбників рослинних клітин в учебовому процесі.

Результати роботи. Дослідження методів фарбування для покраїеної мікроскопії органел рослинної клітини на прикладі епітелію цибулі та елодеї. Як відомо, для виявлення органел клітини потрібно використовувати певні фарбники для підвищення якості мікроскопії. Проблема полягає у тому, що деякі органели клітин мають дуже малій ступінь заломлення, тому багато органел неможливо або дуже важко побачити без використання фарбників.

Основними параметрами, за якими буде визначено якість фарбування та мікроскопії, можна вважати час, після якого препарат почне діяти (фарбувати клітину та її органели), складність приготування фарбників, якість фарбування, тобто можливість роз-

різнити органели та саму клітину та вартість реагенту. Основним показником якості фарбування, від якого залежить можливість мікроскопії препарату, можна вважати застосування комплексних підходів, оскільки клітинна стінка рослинної клітини складається з целюлози, яка добре захищає її від навколошнього середовища та проникнення фарбників. Основною задачею введення комплексів препаратів (додаткових) є руйнування клітинної стінки для проникнення реагенту в клітину задля фарбування складових клітини: ядро, ядерця, пори, вміст ефірних масел, цитоплазма, вакуолі та включення.

Значення органел у рослинній клітині.

1. Ядро – основною функцією ядра є збереження та передача спадкової інформації. Його структура представлена двома білково-ліпідними мембраниами, що виконують функцію відділення внутрішнього вмісту ядра, але є пори, завдяки яким здійснюється транспорт т-РНК до рибосом для синтезу білка. Внутрішній вміст ядра представлений матриксом, молекулами ДНК та ядерцями.

2. Цитоплазма є основною складовою кожної клітини. Цитоплазма за своюю структурою може бути представлена у вигляді в'язкого гелю або рідкої речовини –золю. Вона являє собою складну систему з вмістом різних хімічних елементів. Під електронним мікроскопом можна побачити, що у цитоплазмі знаходяться канальця навколо ядра, які називаються ретикулою. Вона бере участь у транспортуванні речовин по клітині.

Також цитоплазма складається з мікротрубочок – немембрани тонкі ниткоподібні структури, які складаються зі скоротливих білків. Мікротрубочки забезпечують підтримання форми клітини та рух хромосом під час ділення клітини.

3. Пластиди – специфічні структури рослинної клітини. Є кілька видів пластидів: лейкопласти (безбарвні), хлоропласти (зелені), хромопласти (червоні або жовті та ін.).

Хлоропласти виконують функцію фотосинтезу. Хлоропласти є двомембраними компонентами, які покриті білково-ліпідними мембраниами. В хлоропластах міститься пігмент хлорофіл, що використовує сонячну енергію для синтезу органічних речовин із вуглекислого газу та води.

Комплекс Гольджі (КГ) – структура, представлена у вигляді вигнутих паличкоподібних тілець. КГ приймає участь у синтезі речовин, з яких складається мембрана клітини. Також задачею КГ є виведення речовин, синтезованих клітиною.

4. Клітинна стінка – відокремлює вміст рослинної клітини від зовнішнього середовища, забезпечуючи її цілісність, регулює обмін між клітиною і середовищем. Клітинна стінка рослинної клітини складається з простих полісахаридів – целюлози. Завдяки целюлозі клітинна стінка набуває твердості та захищає органи рослини від несприятливих впливів: висихання, перегріву, переохолодження, променевої енергії, механічних пошкоджень, зайвого намокання, проникнення чужорідних організмів.

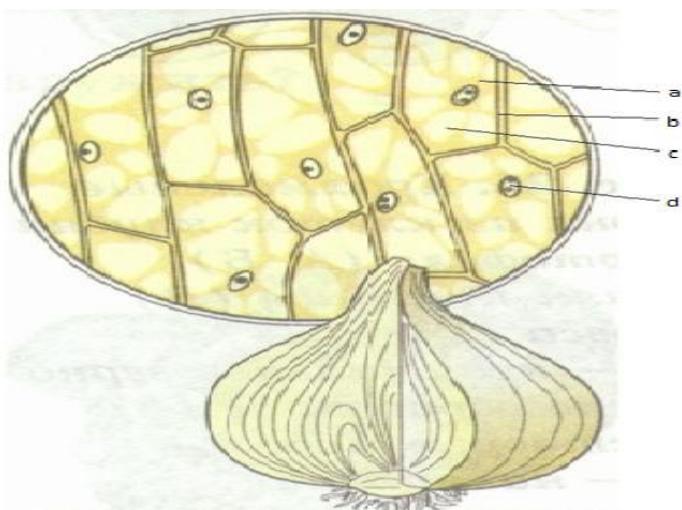
5. Вакуоль – одномембрана органела, що міститься в деяких еукаріотичних клітинах і виконує різні функції (секреція, екскреція і зберігання запасних речовин, аутофагія, автоліз та ін.) [3].

У даному випадку було використано активні фарбники, тобто ті, що починають діяти вже після 60-120 секунд та фарбують усю клітину [1-4].

Розглянемо структуру епідермісу цибулі (рис.1) та елодеї (рис.2), порівняємо з отриманими дослідними даними.

1. Цибуля – багаторічна трав'яниста рослина, вид роду Цибуля (*Allium*) сімейства Цибулеві (*Alliaceae*), широко поширені овочева культура. Руху цитоплазми не спостерігалось.

2. Елодея – водна рослина; вид роду Елодея (*Elodea*). Батьківщина рослини – Північна Америка, де вона росте у стоячих і повільно поточних водах, в ставках, глибоких канавах, річкових заводях, старицях, каналах. Є інвазивним видом в Європі, Азії, Африці та Австралії. При проведенні експерименту також досліджувався вплив температури під час фарбування, яка здійснює активізацію руху цитоплазми. Експеримента-



а – цитоплазма; б – клітинна стінка;
в – вакуоль; д – ядро

Рисунок 1 – Структура епідермісу цибулі

розчину з масовою концентрацією $0,005 \text{ г}/\text{см}^3$ і змішують із 194 см^3 дистильованої води. Срок зберігання приготовленого розчину не більше 30 діб у холодильнику.



а – цитоплазма; б – хлоропласти; в – клітинна стінка

Рисунок 2 – Структура епідермісу елодеї

Для первого досліду використовували 1%-вий розчин йоду в йодистому калії. Основним етапом проведення досліду є фарбування епітелію цибулі цим препаратом, час експозиції – 2 хвилини. По закінчення проникнення препарату до епітелію клітини його змивають дистильованою водою та розглядають під мікроскопом. Клітинна структура цибулі та елодеї фарбуються у темно-помаранчевий колір. Такий спосіб фарбування має основний недолік – низький рівень зафарбування органел. Позитивним фактором використання такого методу фарбування рослинної клітини є простота виконання даного методу (без використання складних комплексів), а також доволі низька вартість препарату. В основному йод використовується для прокрашування клітини в цілому, а не її компонентів.

2. Метиленовий синій (рис.3-5) [4].

При фарбуванні епітелію цибулі та елодеї 2%-вим розчином метиленового синього, на відміну від попереднього методу фарбування, під мікроскопом стає добре ви-

ми доведено, що найбільш рухома цитоплазма фіксується при дотриманні температури близько 60°C .

Методика приготування фарбників.

1 – приготування метиленового синього.

Темно-синя рідина з характерним спиртовим запахом, непрозора. Метиленовий синій належить до антисептичних засобів-барвників. Виконує бактерицидну дію на грампозитивні бактерії.

Для приготування робочого розчину метиленового синього із масовою концентрацією $0,00015 \text{ г}/\text{см}^3$ беруть 6 см^3 розчину з масовою концентрацією $0,005 \text{ г}/\text{см}^3$ і змішують із 194 см^3 дистильованої води.

2 – приготування йоду.

Використовується звичайний 5% спиртовий розчин йоду.

Реагенти для фарбування: 1%-вий розчин йоду в йодистому калії, 2%-вий розчин метиленового синього.

Послідовність використаних методів фарбування.

1. Фарбуванням йодом [4].

дно органели клітини, наприклад, метахондрії. Метиленовий синій дуже добре прокрашувє елементи клітини, при цьому не треба використовувати додаткових препаратів для руйнування клітинної стінки, також цей препарат має низьку вартість.

Завдяки йому також відбувається прокрашування жирів, яких особливо багато в старіючих клітинах, та валютину (монохроматичних зерен). Прокрашування рослинних клітин може проводитись за складними методами – Майера та Нейсера.



Рисунок 3 – Клітина елодеї

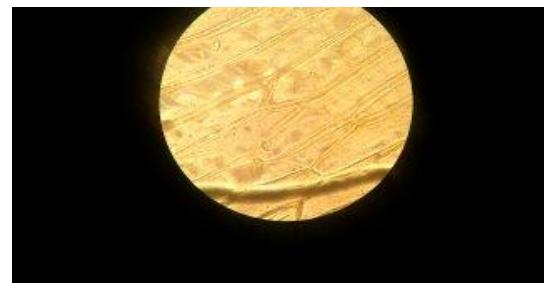


Рисунок 4 – Клітина цибулі під мікроскопом



Рисунок 5 – Зразок профарбованої клітини епідермісу цибулі (під мікроскопом) метиленовим синім

Результати якості фарбування йодом та метиленовим синім листа елодеї та епітелію цибулі наведено в табл.1.

Таблиця 1 – Результати досліджень якості фарбування йодом та метиленовим синім

	Результат якості мікроскопії органел рослинної клітини метиленовим синім			
Назва матеріалу	Ядро	Клітинна стінка	Хлоропласти	Вакуоль
Елодея	чітко	чітко	чітко	-
Епітелій цибулі	погано	чітко	-	чітко
Результат якості мікроскопії органел рослинної клітини йодом				
Назва матеріалу	Ядро	Клітинна стінка	Хлоропласти	Вакуоль
Елодея	погано	чітко	погано	-
Епітелій цибулі	погано	чітко	-	чітко

Висновки. Після повного опрацювання досліду (табл.1) та проведення роботи з даними фарбниками – йодом та метиленовим синім – за критеріями, які ми представили, найбільш якісним нескладним фарбником рослинної клітини виявився метиленовий синій. Прокрашування дослідного матеріалу відбулося в межах 60-120 секунд і не вимагало застосування допоміжних речовин. Собівартість досліджень була прийнятною

для обох реагентів, але якість мікроскопії була чіткішою і дозволила добре вивчити структуру клітини за більш короткий термін під час використання метиленового синього. При використанні йоду не відмічалося виявлення включень, ядра та хлоропластів. Виходячи з цього, із двох використаних реагентів метиленовий синій є кращим фарбником, тому що він здатен профарбовувати основні органели клітини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Трускавецький Є.С. Цитологія / Трускавецький Є.С. – К.: Вища школа, 2004. – 254с.
2. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию: учебник для вузов / Ченцов Ю.С. – 4-е изд. перераб. и доп. – М: ИКЦ «Академкнига», 2004. – 495с.
3. Практикум по экологии / под ред. С.В.Алексеева. – М.: АО МДС, 1996. – 192с.
4. Корнієнко І.М. Практикум з лабораторних робіт по біології клітини / Корнієнко І.М. – Дніпродзержинськ: ДДТУ, 2009. – 61с.

Надійшла до редакції 12.01.2016.

УДК 502:614.4

ТРОЇЦЬКА О.О., к.б.н., с.н.с.
БЄЛОКОНЬ К.В., к.т.н., доцент
МАНІДІНА Є.А., асистент
БАКАРДЖИЄВ Р.О.*, к.т.н., доцент

Запорізька державна інженерна академія

*Таврійський державний агротехнологічний університет, м. Мелітополь

ПІДВИЩЕННЯ РІВНЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ ВИРОБНИЧОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНИХ УТИЛІЗАЦІЙНИХ ЗАВОДІВ

Вступ. У нашій державі та в світі основним напрямком утилізації відходів, що утворюються внаслідок падіння всіх видів сільськогосподарських тварин та ліквідації бродячих і диких тварин, а також конфіскатів, які одержують в процесі переробки тваринної сировини на різних підприємствах (м'ясокомбінатах, забійних пунктах та ін.), є переробка їх на ветеринарно-санітарних утилізаційних заводах (ветсанутильзаводи) на кормові цілі.

Ветсанутиль заводи – це досить великі підприємства, обладнані технологічним устаткуванням, системою очищення стічних вод, забезпечені проточною гарячою та холодною водою, а також дезинфекційними засобами та обладнанням і т.п. Переробка сировини на ветсанутиль заводах здійснюється сухим способом у вакуум-горизонтальних котлах (деструкторах) у три фази, де технологічний процес забезпечує загибель умовно-патогенної мікрофлори при обробці трупної сировини. Таким чином, існуючі режими переробки трупної сировини на ветсанутиль заводах забезпечують одержання високобілкового кормового продукту, а також виконують ще й роботу з утилізації трупної сировини, яку за різними причинами не можна переробляти на корми [1, 2].

Технологічні процеси на сучасних утилізаційних заводах ускладнювалися від початкового знезараження трупної сировини від патогенних мікроорганізмів та факультативно-потенціальних збудників хвороб до її повної утилізації. Однак, і для утилізаційних підприємств, які являють собою базу для підтримання екологічної безпеки і санітарно-гігієнічного режиму, залишається відкритим питання удосконалення організації виробничого процесу у відношенні ступеня його безпеки для довкілля [1-3].

Поряд з економічним значенням процесу утилізації трупної сировини на ветсанутиль заводах не менш значну роль має задача значного зменшення кількості небажа-