



# Γενική Μικροβιολογία

## Ενότητα 4<sup>η</sup>

### ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Όνομα καθηγητή: **Δ. ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΣ**

Όνομα καθηγητή: **Γ. ΖΕΡΒΑΚΗΣ**

Όνομα καθηγητή: **ΑΝ. ΤΑΜΠΑΚΑΚΗ**

Τμήμα: **ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



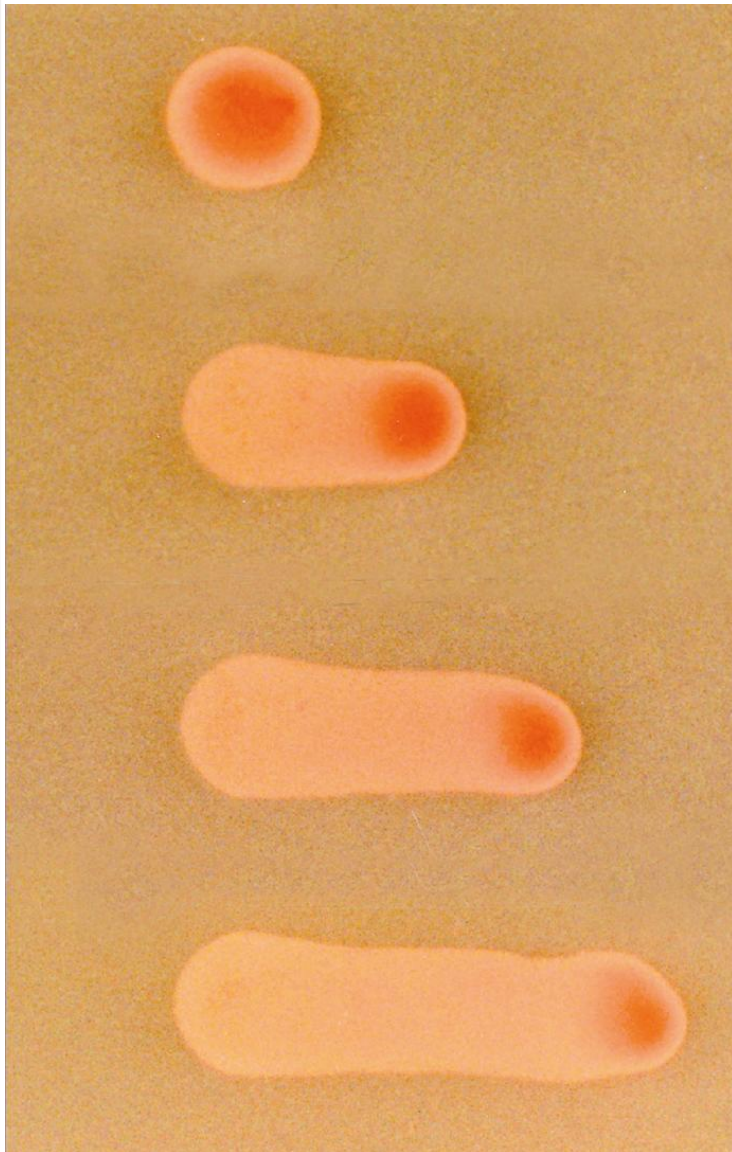


# ΣΤΟΧΟΙ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

- Τεχνολογίες μικροσκοπίας



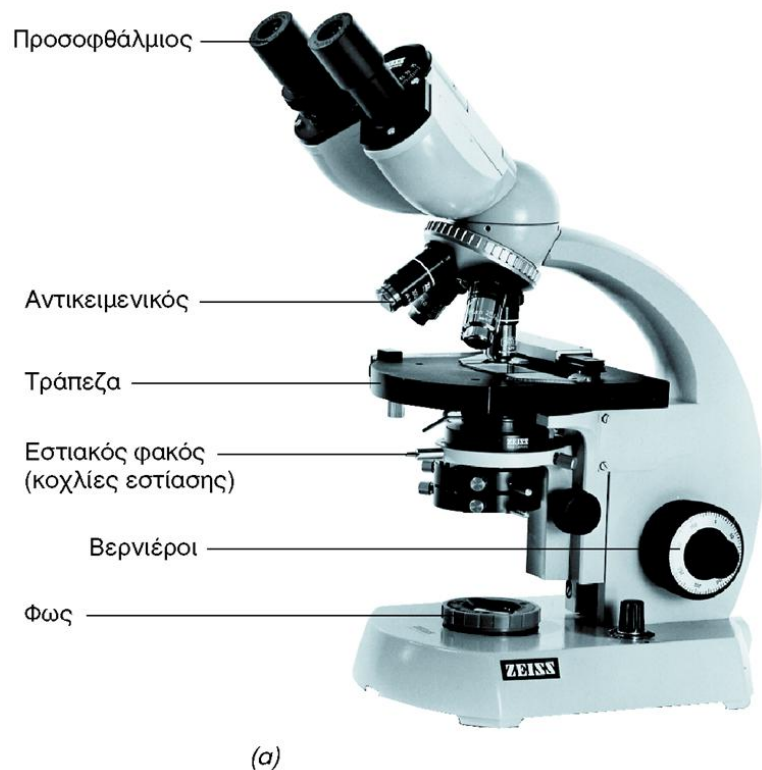
# ΕΙΣΑΓΩΓΗ



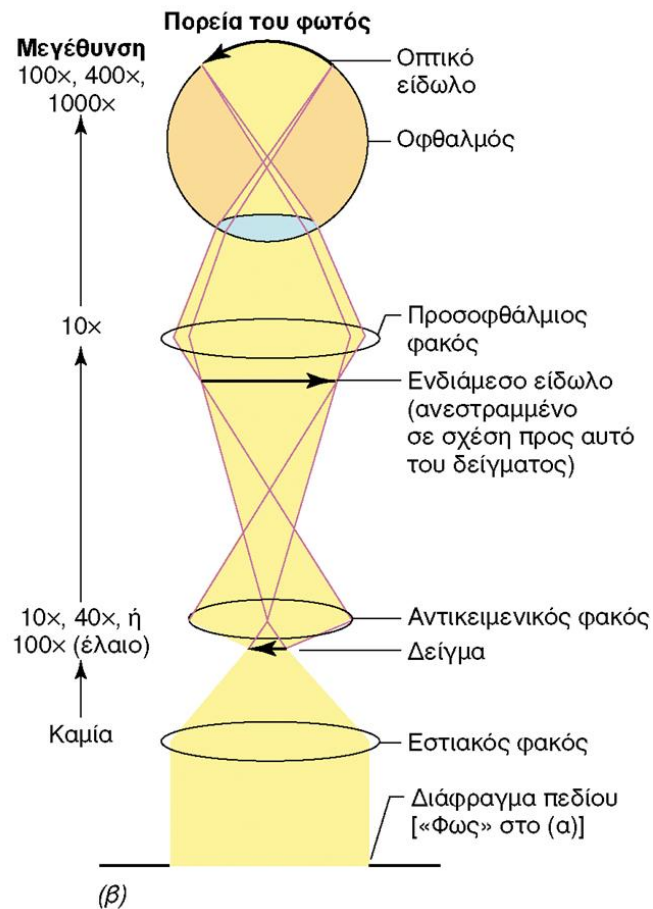
Οι μικροοργανισμοί περιέχουν έναν αριθμό δομών που επιτρέπουν τη συνύπαρξή τους με άλλους μικροοργανισμούς και με ανώτερους οργανισμούς. Μία από αυτές τις δομές είναι το μαστίγιο, μια συσκευή όμοια με προπέλα που δίνει στο κύτταρο την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Στην εικόνα φαίνεται μια αποικία του αυτοκινούμενου φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum rubrum*. Το βακτήριο αυτό μπορεί να αντιλαμβάνεται το φως (εδώ, έρχεται από τη δεξιά πλευρά της εικόνας), με αποτέλεσμα μια ολόκληρη αποικία ενεργών κολυμβητικών κυττάρων να κινείται προς το φως. Αυτή η απόκριση καλείται φωτοτακτισμός. Ο φωτοτακτισμός και άλλοι παρόμοιοι τακτισμοί αποτελούν παραδείγματα περιβαλλοντικών αποκρίσεων που δείχνουν σαφέστατα ότι ακόμη και «απλοί» οργανισμοί, όπως τα βακτήρια, μπορούν να ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα του περιβάλλοντος τους.



# ΣΥΝΘΕΤΟ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ



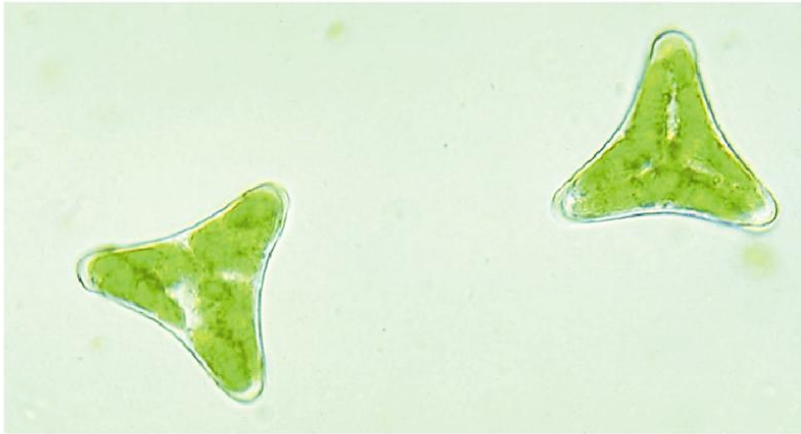
Carl Zeiss, Inc.



**Εικόνα 4.1:** (α) Σύνθετο οπτικό μικροσκόπιο. Υποδεικνύονται ορισμένα βασικά μέρη του. (β) Πορεία του φωτός δια μέσου του σύνθετου οπτικού μικροσκοπίου. Εκτός των 10X, υπάρχουν και προσοφθάλμιοι φακοί των 15-30X.

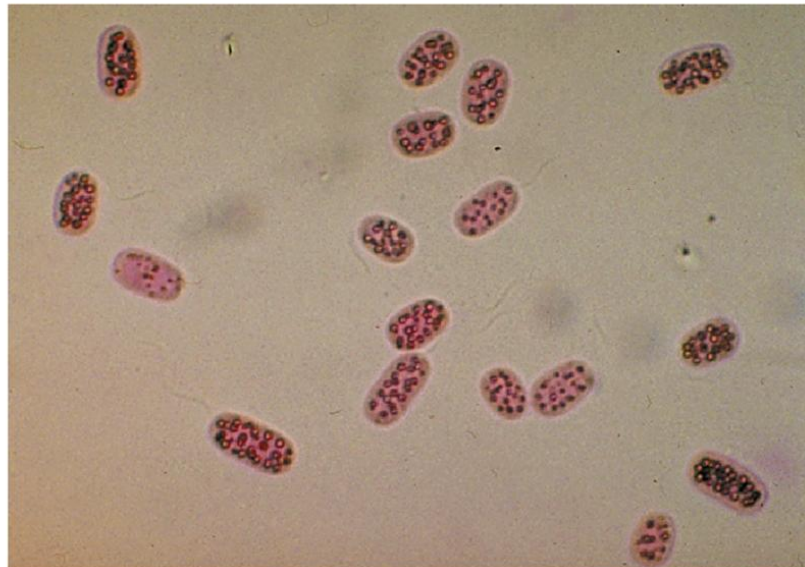


# ΜΙΚΡΟΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ ΧΡΩΣΜΕΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ



(α)

T. D. Brock



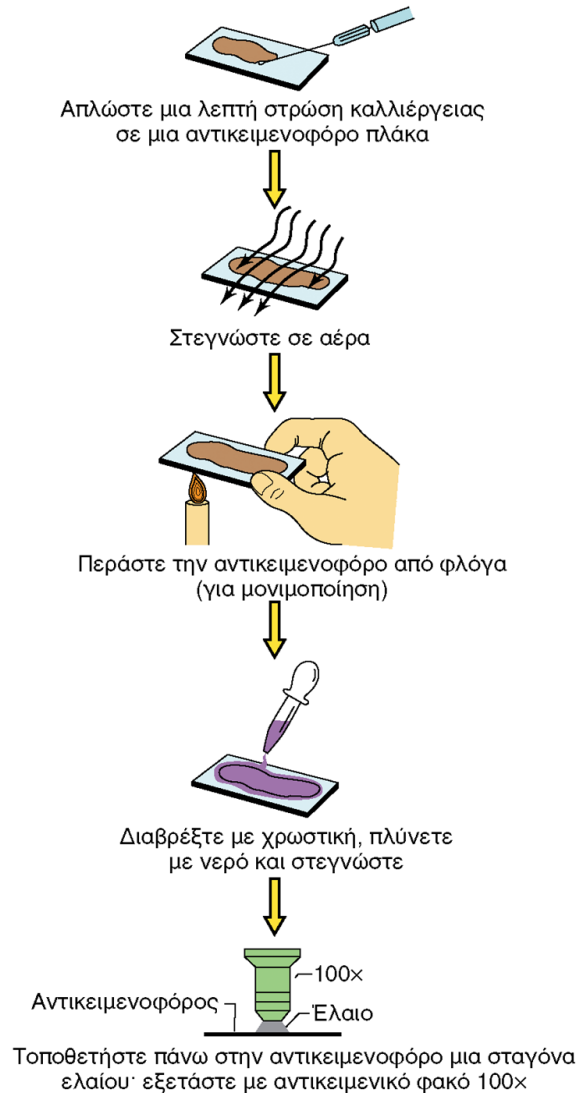
(β)

Norbert Pfennig

**Εικόνα 4.2:** Μικροφωτογραφίες χρωσμένων μικροοργανισμών που έχουν ληφθεί με μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου. (α) Ένα χλωροφύκος (ευκαρυώτης). (β) Ένα πορφυρό φωτοτροφικό βακτήριο (προκαρυώτης). Τα κύτταρα του χλωροφύκου έχουν διάμετρο περί τα 15  $\mu\text{m}$ , ενώ τα βακτηριακά κύτταρα έχουν διάμετρο περί τα 5  $\mu\text{m}$ .



# ΧΡΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΓΙΑ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ

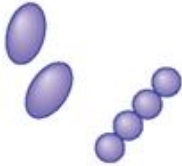


**Εικόνα 4.3:** Χρώση κυττάρων για μικροσκοπική παρατήρηση.



# ΧΡΩΣΗ ΚΑΤΑ GRAM

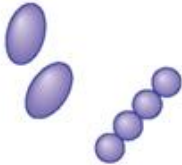
**Βήμα 1**



Διαβρέξτε το μονιμοποιημένο επίχρισμα κυττάρων με κρυσταλλικό ιώδες επί 1 min

Όλα τα κύτταρα αποκτούν πορφυρό χρώμα

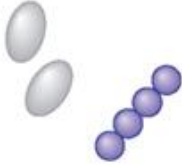
**Βήμα 2**



Προσθέστε διάλυμα ιωδίου επί 3 min

Όλα τα κύτταρα παραμένουν πορφυρά

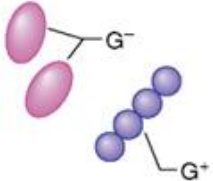
**Βήμα 3**



Αποχρωματίστε με αλκοόλη -περί τα 20 sec

Τα θετικά κατά Gram κύτταρα μένουν πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram αποχρωματίζονται

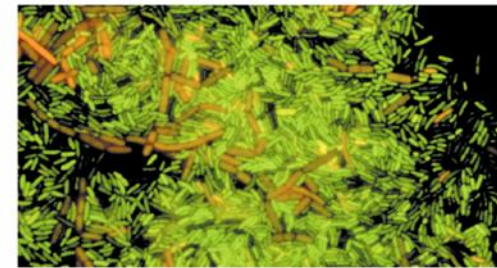
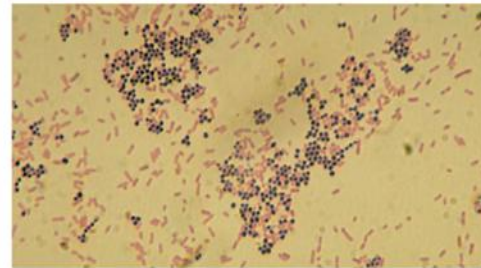
**Βήμα 4**



Εφαρμόστε την αντιχρωστική σαφρανίνη, επί 1-2 min

Τα θετικά κατά Gram κύτταρα ( $G^+$ ) είναι πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram ( $G^-$ ) είναι ρόδινα-ερυθρά

(α)



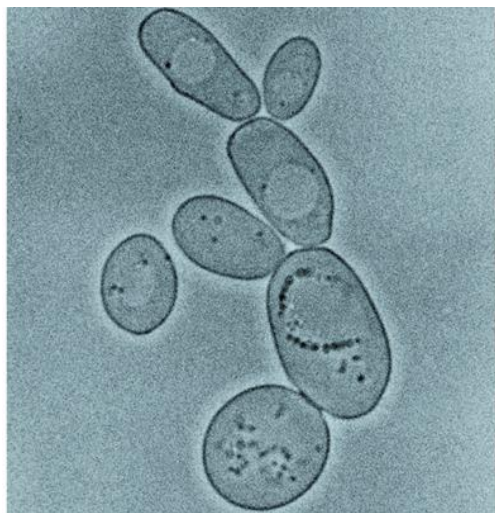
**Εικόνα 4.4:** Χρώση κατά Gram. (α) Βήματα στη διαδικασία της χρώσης κατά Gram, (β) Μικροφωτογραφία θετικών κατά Gram (πορφυρό-κυανό) και αρνητικών κατά Gram (ερυθρό-ρόδινο) βακτηρίων που έχουν υποστεί χρώση κατά Gram: πρόκειται, αντιστοίχως, για τα είδη *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*. (γ) Μικροφωτογραφία κυττάρων *Pseudomonas aeruginosa* (αρνητικό κατά Gram, πράσινο) και *Bacillus cereus* (θετικό κατά Gram, πορτοκαλί) μετά από χρώση με την μέθοδο **LIVE Bac Light™**. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram κυττάρων σε ένα και μόνο βήμα χρώσης.



# ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΑΝΤΙΘΕΣΗΣ ΦΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΣΚΟΤΕΙΝΟΥ ΠΕΔΙΟΥ

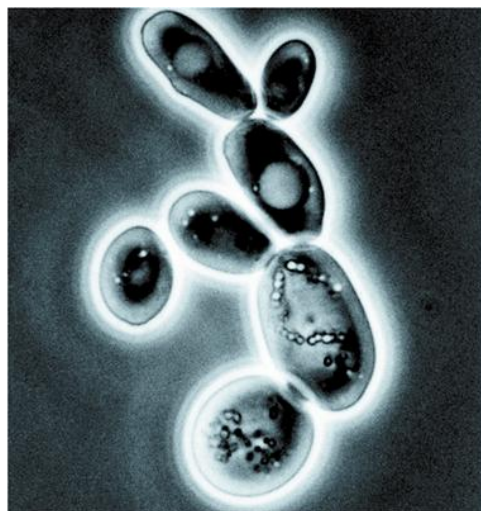
**Μ. Αντίθεσης φάσεων (β):** διαφορετική διάθλαση φωτός από κύτταρα, ενίσχυση διαφοράς από δακτύλιο αντικειμενικού φακού. Σκοτεινό είδωλο σε φωτεινό φόντο.

**Μ. Σκοτεινού πεδίου (γ):** πλευρικός φωτισμός δείγματος, το φως που φωτίζει το δείγμα σκεδάζεται και φτάνει στον προσοφθάλμιο φακό.



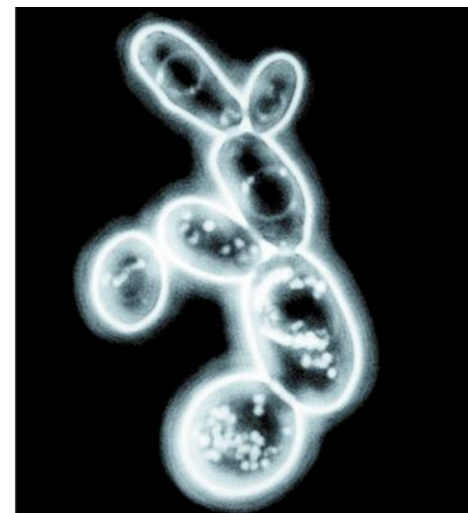
M.T. Madigan

(α)



M.T. Madigan

(β)



M.T. Madigan

(γ)

**Εικόνα 4.5:** Μικροφωτογραφίες του ίδιου πεδίου κυττάρων του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*, που έχουν ληφθεί με τρεις διαφορετικούς τύπους οπτικού μικροσκοπίου- (α) φωτεινού πεδίου, (β) αντίθεσης φάσεων, (κ) σκοτεινού πεδίου. Μέση διάμετρος κυττάρων: 8-10  $\mu\text{m}$ .





# ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Μικροσκόπιο  
φωτεινού πεδίου



R. W. Castenholz

(α)

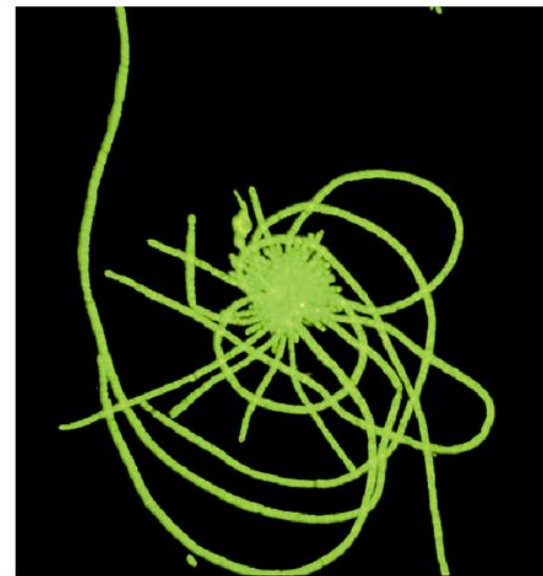
Αυτοφθορισμός  
(χλωροφύλλη)



R. W. Castenholz

(β)

Επεξεργασία δείγματος  
με φθορίζουσα χρωστική



T. D. Brock

(γ)

**Εικόνα 4.6:** Μικροφωτογραφίες διαφόρων μικροοργανισμών, από μικροσκοπία φθορισμού, (α, β) Κυανοβακτήρια. (α) Κύτταρα παρατηρούμενα με μικροσκοπία φωτεινού πεδίου, (β) Τα ίδια κύτταρα παρατηρούμενα μέσω φθορισμού, μετά από έκθεση σε φως μήκους κύματος 546 nm: το ερυθρό χρώμα οφείλεται σε αυτοφθορισμό της χλωροφύλλης και άλλων χρωστικών, (γ) Κύτταρα του νηματοειδούς βακτηρίου *Leucothrix mucor*, χρωσμένα με τη φθορίζουσα χρωστική «πορτοκαλί της ακριδίνης», η οποία φθορίζει στο πράσινο. Τα κύτταρα αυτά έχουν διάμετρο 3  $\mu\text{m}$  και μπορεί να φθάσουν σε μήκος μεγαλύτερο των 100  $\mu\text{m}$ .



# ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΑΝΤΙΘΕΣΗΣ ΣΥΜΒΟΛΗΣ ΚΑΙ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΔΥΝΑΜΗΣ

Μικροσκοπία αντίθεσης συμβολής:

- δύο δέσμες φωτός
- μικρές διαφορές διάθλασης
- συμβολή δεσμών φωτός
- απεικόνιση 3D

Μικροσκοπία ατομικής δύναμης:

- Ψηφιακή απεικόνιση ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων έλξης και άπωσης του αντικειμένου με ακίδα στο μικροσκόπιο. Κύματα παράγονται μετά από σάρωση με φως.  
Απεικόνιση 3D

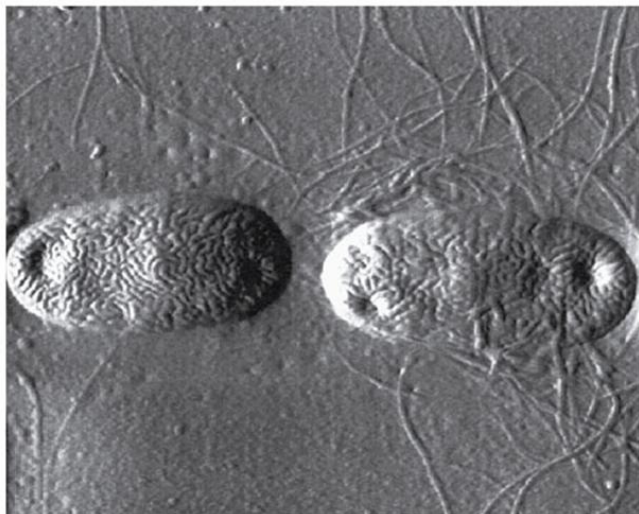


# ΤΡΙΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ



Linda Bennett and James Burnett

(α)



Suzanne Kelly

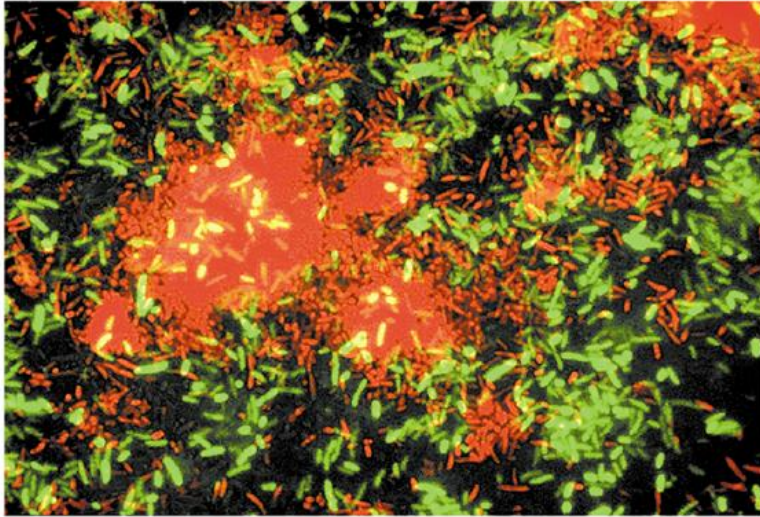
(β)

**Εικόνα 4.7:** Τριδιάστατη απεικόνιση κυττάρων (α) με μικροσκοπία αντίθεσης συμβολής, και (β) με μικροσκοπία ατομικής δύναμης. Τα κύτταρα ζυμομύκητα στο (α) έχουν διάμετρο περί τα 8  $\mu\text{m}$ .

Παρατηρήστε πόσο ευκρινής είναι ο πυρήνας των κυττάρων αυτών (πρβλ. Εικόνα 4.7α με Εικόνα 4.5α). Τα βακτηριακά κύτταρα στο (β) έχουν μήκος περί τα 2,2  $\mu\text{m}$ . Το μικρογράφημα έχει ληφθεί από φυσικό βιοφίλμ που αναπτύχθηκε στην επιφάνεια αντικειμενοφόρου, η οποία εμβαπτίσθηκε επί 24 h σε ποτίστρα σκύλου, αφέθηκε να στεγνώσει, και παρατηρήθηκε με μικροσκόπιο ατομικής δύναμης.

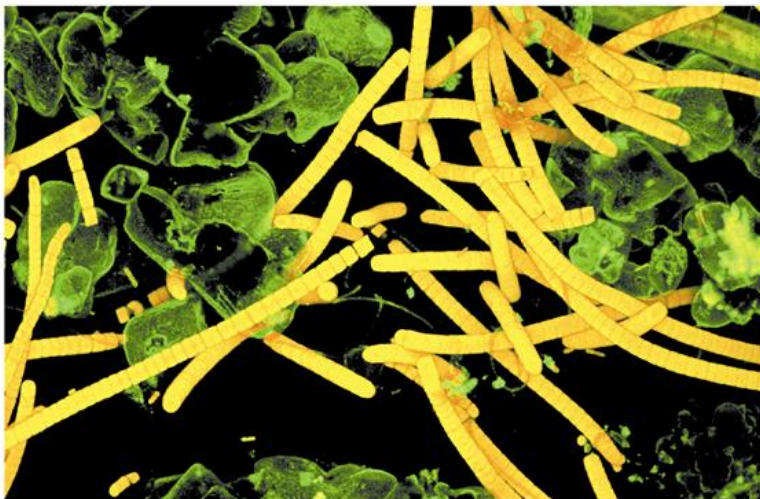


# ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΣΥΝΕΣΤΙΑΚΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ ΜΕ ΛΕΙΖΕΡ (CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY)



Subramanian Karthikeyan

(a)



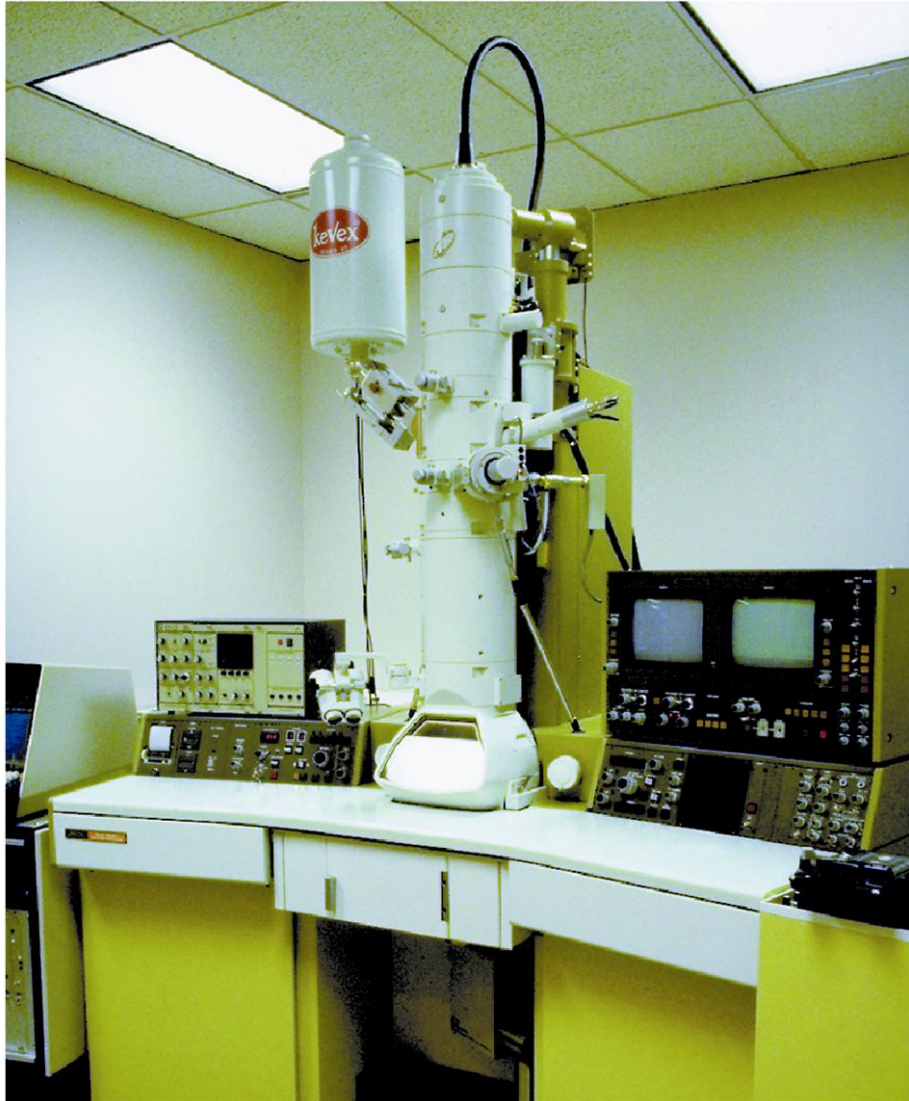
Gernot Arp and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

(β)

**Εικόνα 4.8:** Μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ. (α) Συνεστιακή εικόνα μιας μικτής κοινωνίας μικροβιακού βιοφίλμ, καλλιεργημένου υπό εργαστηριακές συνθήκες. Τα πράσινα, ραβδόσχημα κύτταρα είναι *Pseudomonas aeruginosa*, που είχαν εισαχθεί στο βιοφίλμ πειραματικά. Σε διαφορετικά επίπεδα βάθους στο βιοφίλμ, υπάρχουν και άλλα είδη κυττάρων, που φαίνονται με διαφορετικό χρώμα, (β) Συνεστιακό μικρογράφημα νηματοειδούς κυανοβακτηρίου που αναπτύσσεται σε λίμνη πλούσια σε ανθρακικό νάτριο.



# ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΑΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

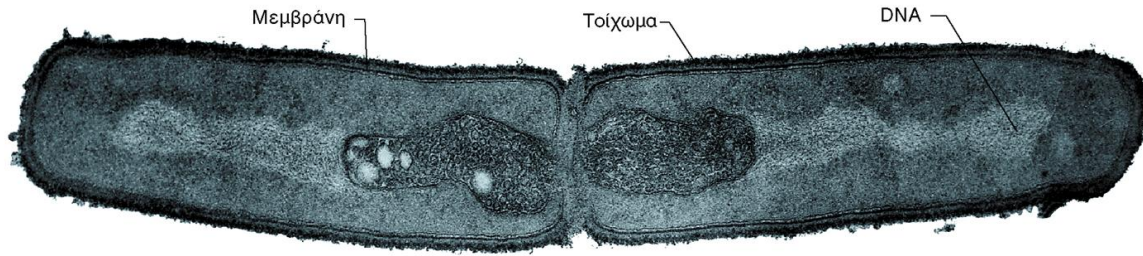


JEOL, USA Inc.

**Εικόνα 4.9:** Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Το συγκεκριμένο όργανο λειτουργεί τόσο ως ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης όσο και ως ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.

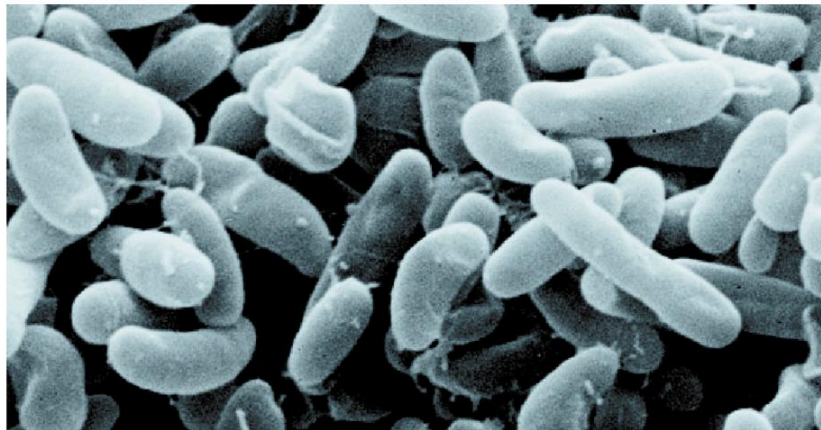


# ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΑΚΟ ΜΙΚΡΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ



Stanley C. Hat

(α)



(β)

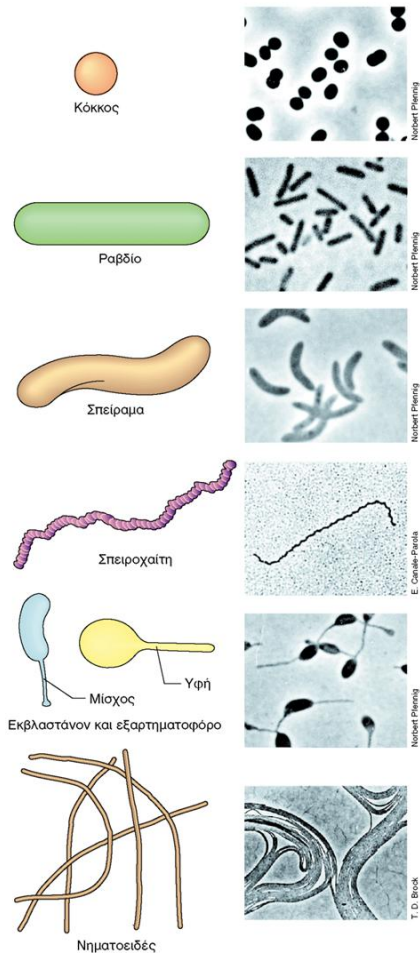
**Εικόνα 4.10:** Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα βακτηριακών κυττάρων που έχουν ληφθεί (α) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης και (β) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, (α) Λεπτή τομή ενός τυπικού θετικού κατά Gram βακτηρίου, του *Bacillus subtilis*. Το κύτταρο έχει μόλις διαιρεθεί, και δύο δομές που περικλείονται από μεμβράνη είναι προσκολλημένες στο διαφραγματικό τοίχωμα. Παρατηρήστε τη φωτεινότερη περιοχή στο μέσον (DNA ή πυρηνοειδές). Διάμετρος κυττάρου: περί τα 0,8  $\mu\text{m}$ .

(β) Κύτταρα του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodovibrio sodomensis*. Πλάτος ενός κυττάρου: περί τα 0,75 $\mu\text{m}$ . Παρατηρήστε ότι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης επιτρέπει μεγάλο Βάθος πεδίου, που παρέχει εξαιρετική ποιότητα τριδιάστατης απεικόνισης.



# ΣΧΗΜΑΤΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

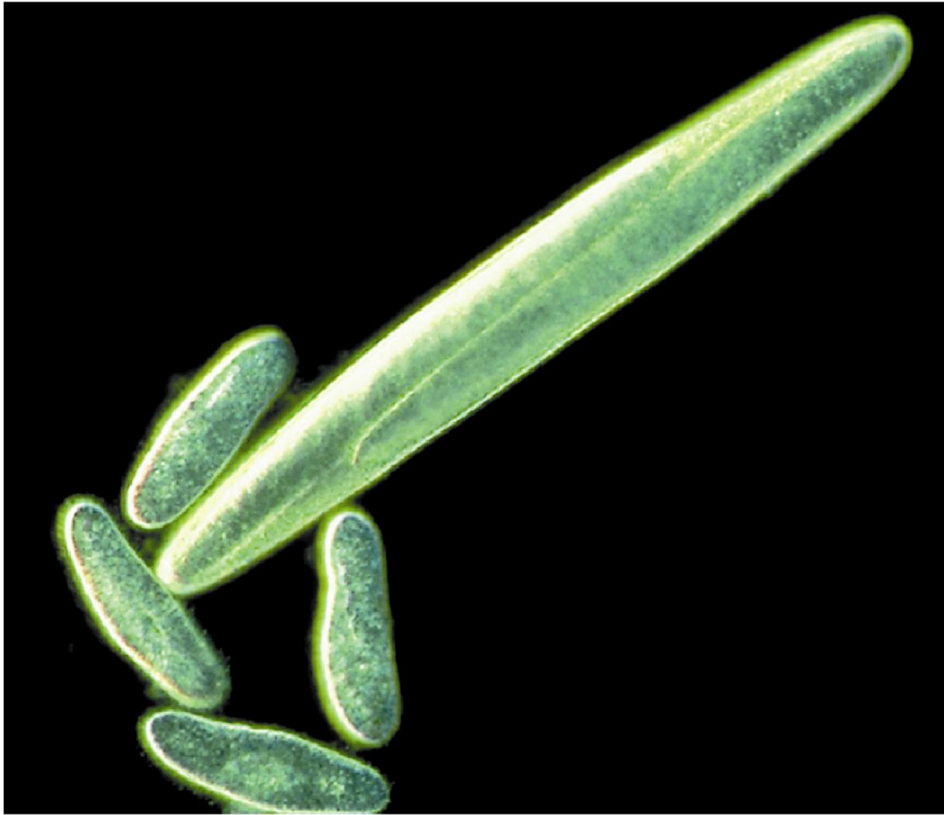
## Κυτταρική μορφολογία και η σημασία του μικρού μεγέθους.



**Εικόνα 4.11:** Αντιπροσωπευτικά κυτταρικά σχήματα (μορφολογίες) προκαρυωτικών οργανισμών. Παρατίθενται διαγράμματα (αριστερά) και χαρακτηριστικές μικροφωτογραφίες (δεξιά). Οι οργανισμοί είναι: κόκκος, *Thiocapsa roseopersicina* (διάμετρος κυττάρου: 1,5  $\mu\text{m}$ )· ραβδίο, *Desulfuromonas acetoxidans* (διάμετρος: 1  $\mu\text{m}$ )· σπείραμα, *Rhodospirillum rubrum* (διάμετρος: 1  $\mu\text{m}$ )· σπειροχαίτη, *Spirochaeta stenostrepta* (διάμετρος: 0,25  $\mu\text{m}$ )· εκβλαστών και εξαρτηματοφόρο, *Rhodomicrobium vannielii* (διάμετρος: 1,2  $\mu\text{m}$ )· νηματοιδές, *Chloroflexus aurantiacus* (διάμετρος: 0,8  $\mu\text{m}$ ).



# ΒΑΚΤΗΡΙΟ ΜΕΓΑΛΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ



Esther R. Angert, Harvard University

**Εικόνα 4.12:** Μικροφωτογραφία σκοτεινού πεδίου ενός γιγαντιαίου προκαρυώτη, του ιχθυοσυμβιώτη *Erythrobacter fishelsoni*. Το ραβδόσχημο κύτταρο *E. fishelsoni* έχει μήκος περί τα 600  $\mu\text{m}$  (0,6 mm) και εμφανίζεται στη μικροφωτογραφία αυτή μαζί με 4 κύτταρα του πρωτοζώου (ευκαρυώτη) *Paramecium* (τα κύτταρα του *Paramecium* έχουν μήκος περί τα 150  $\mu\text{m}$ ). Το *E. fishelsoni* ανήκει στα Βακτήρια και είναι είδος φυλογενετικά συγγενές προς τα είδη του γένους *Clostridium*.





# ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΩΝ

*Oscillatoria* (ένα κυανοβακτήριο)  
8 × 50 μm



*Bacillus megaterium*  
1,5 × 4 μm



*Escherichia coli*  
1 × 3 μm



*Streptococcus pneumoniae*  
διάμετρος 0,8 μm



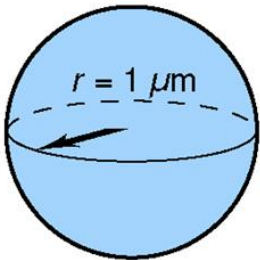
*Haemophilus influenzae*  
0,25 × 1,2 μm



**Εικόνα 4.13:** Σύγκριση μεγέθους διαφόρων προκαρυωτών. Οι περισσότεροι από τους γνωστούς προκαρυώτες έχουν διάμετρο μεταξύ 0,5-2 μm.



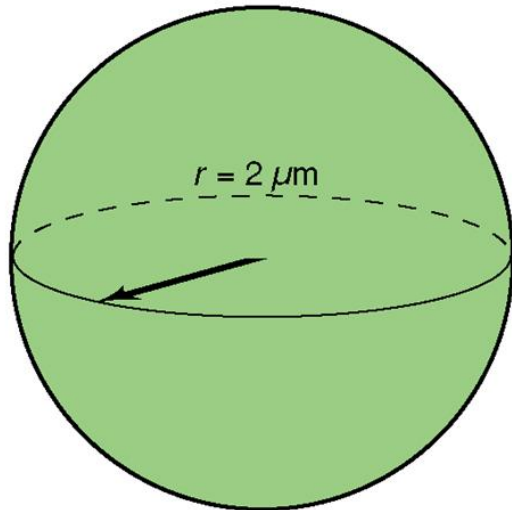
# ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΟΓΚΟΥ



Εμβαδόν επιφάνειας ( $4\pi r^2$ ) =  $12,6 \mu\text{m}^2$

Όγκος ( $\frac{4}{3}\pi r^3$ ) =  $4,2 \mu\text{m}^3$

$$\frac{\text{Εμβαδόν}}{\text{Όγκος}} = 3$$



Εμβαδόν επιφάνειας =  $50,3 \mu\text{m}^2$

Όγκος =  $33,5 \mu\text{m}^3$

$$\frac{\text{Εμβαδόν}}{\text{Όγκος}} = 1,5$$

## Εικόνα 4.14:

Συσχέτιση κυτταρικής επιφάνειας και κυτταρικού όγκου. Όσο αυξάνεται το μέγεθος του κυττάρου τόσο μειώνεται ο λόγος της επιφάνειας προς τον όγκο.



# ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ

- Μικροσκοπία
- Μέγεθος και σχήμα μικροοργανισμών



# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❑ Βιολογία Των Μικροοργανισμών –  
Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Κεφάλαιο 4,  
ενότητα α1.