

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Національний авіаційний університет

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ

Лабораторний практикум
для студентів напрямку підготовки
6.051401 «Біотехнологія»



Київ 2017

УДК 579+578(076.5)
ББК Е40я7+Е30я7
314

Укладачі: *Л. С. Ястремська* – канд. с.-г. наук., доц.;
І. М. Малиновська – д-р біол. наук., проф.;
Н. А. Зінов'єва – асист.

Рецензент *І. В. Матвєєва* – канд. техн. наук, доц.

Затверджено методично-редакційною радою Національного авіаційного університету (протокол № 4/14 від 19.05.2014 р.).

314 **Загальна мікробіологія і вірусологія** : лабораторний практикум / уклад. : *Л. С. Ястремська, І. М. Малиновська, Н. А. Зінов'єва.* – К. : НАУ, 2017. – 120 с.

У лабораторному практикумі наведено методики виконання лабораторних робіт із загальної мікробіології і вірусології, заходи безпеки під час роботи, обладнання, матеріали і реактиви, теоретичні відомості та порядок виконання робіт, питання та завдання для самоперевірки.

Для студентів напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія».



ВСТУП

Лабораторні роботи є важливим етапом навчального процесу, які дозволяють вдосконалити теоретичну та практичну підготовку студентів. Практикум проводять паралельно з теоретичним курсом, що дає можливість глибше та повніше засвоїти матеріал.

Лабораторні роботи з курсу «Загальна мікробіологія і вірусологія» виконують відповідно до навчального плану підготовки бакалаврів за напрямом підготовки 6.051401 «Біотехнологія».

Мета лабораторного практикуму – набуття практичних навичок дослідження мікроорганізмів у обсязі, необхідному для розуміння перебігу основних процесів, зв'язку мікробіології з суміжними науками та біотехнологією, що має створити студентам базу для проведення наукових досліджень в науково-дослідних чи виробничих установах.

У результаті виконання лабораторних робіт студент повинен засвоїти мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів, приготування поживних середовищ та методи стерилізування, отримання чистих культур та їх ідентифікації, методи кількісного обліку мікроорганізмів, методи вивчення взаємовідносин між організмами в природі. Студент повинен навчитися користуватися приладами та обладнанням мікробіологічної лабораторії, вирощувати та досліджувати певні види мікроорганізмів, виконувати аналізи складу мікроорганізмів та активності деяких ферментів, оформляти результати лабораторних робіт, проводити математичне та статистичне оброблення експериментальних даних, користуватись визначниками, підбирати та використовувати наукову та методичну літературу, застосовувати теоретичні знання на практиці.

Підготовка до лабораторної роботи передбачає теоретичне опрацювання матеріалу даної теми та знайомство з методикою виконання роботи. До початку заняття в робочому зошиті повинні бути описані мета та завдання роботи, матеріали та обладнання, порядок виконання роботи. Після закінчення практичної частини

студенти аналізують одержані результати, оформлюють їх та захищають роботу.

Кожний студент зобов'язаний вивчити теоритичні питання до лабораторного заняття, знати сутність методу, завчасно переписати необхідні матеріали для проведення лабораторної роботи у свій робочий зошит. Після виконання лабораторної роботи – скласти протокол заняття, зробити необхідні записи, рисунки та висновки. Студент повинен вміти відповісти на запитання для самоконтролю та надати протокол виконання роботи викладачеві на підпис.

У кінці даного лабораторного практикуму надається список літератури, якою студент може користуватися для підготовки до лекційних і лабораторних занять, модульних контрольних робіт, а також для виконання домашніх завдань, курсових і контрольних робіт.

ОРГАНІЗАЦІЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ ТА ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА РОБОТИ В НІЙ

До складу мікробіологічної лабораторії входять:

- 1) лабораторна кімната для проведення занять;
- 2) стерилізаційна, де встановлені автоклав та інші стерилізаційні апарати;
- 3) мийна;
- 4) препаратурська, пристосована для зберігання середовищ і культур, у ній знаходиться холодильник;
- 5) застелений бокс для ведення робіт, що вимагають абсолютної стерильності (для пересівання чистих культур, посівів), у ньому встановлюють бактерицидну лампу (БУФ-15) на висоті 2 м від підлоги.

За студентом у лабораторії закріплюють постійне місце і обладнання. На робочому місці не повинно бути нічого зайвого.

Основні матеріали та обладнання, які потрібні студентові до кожного заняття (комплекс): мікроскоп з освітлювачем, спиртівка, сірники, бактеріологічні петлі, шпатель та голки; градуйовані та неградуйовані (пастерівські) піпетки, предметні та покривні скельця, промивалка з водою, вата, олівець по склу або маркер; фільтрувальний папір, дезінфікувальна рідина, набір барвників, скляний місток у кристалізаторі (ємність) для фарбування препаратів, імерсійна олія. Справність обладнання перевіряє

лаборант перед кожним заняттям, додає все необхідне, що потрібно для проведення дослідів конкретної лабораторної роботи.

Під час роботи в мікробіологічній лабораторії необхідно дотримуватися таких правил:

1. Працювати слід у спецодязі (халатах, косинках).

2. У лабораторії повинні бути протипожежні засоби (вогнегасник, пісок, вода), аптечка для надання першої медичної допомоги, засоби особистого захисту (гумові рукавички, захисні окуляри та ін).

3. Перш ніж запалити спиртівку, треба підтягнути гніт і випустити пари спирту, що зібралися. Щоб погасити спиртівку потрібно накрити її ковпачком. *Категорично заборонено запалювати спиртівку від полум'я іншої спиртівки та перемішувати запалену спиртівку.*

4. Слід обережно відкривати пробірку, чашку з культурою, фламбувати (прожарювати) в полум'ї спиртівки пробірку (край чашки).

5. Бактеріологічну петлю, скальпель, пінцет після кожного контактування з культурами пропалюють у полум'ї спиртівки. *Заборонено в процесі роботи класти в кишеню халата або на стіл пробірки з культурами, їх потрібно залишати в склянці чи ставити в штатив.*

6. У разі розплавлення агаризованих поживних середовищ потрібно користуватися водяною банею, попередньо послабивши корки в колбах. Кип'ятіння розчинів на електроплитці здійснюють на азбестових прокладках у термостійких колбах.

7. Нагрівання рідини в пробірках на спиртівці проводять з допомогою тримача під кутом 45 °С шийкою вбік від себе.

8. У разі роботи з електроприладами не вимикати/вмикати прилад мокрими руками.

9. Після закінчення мікробіологічних робіт руки дезінфікують 70 об.%-м розчином етанолу та миють з милом.

10. З робочого столу прибирають усі предмети, окрім комплексу.

11. Відпрацьований мікробний матеріал кладуть у дезінфікувальну рідину або до автоклавної кімнати.

У лабораторії заборонено:

- вживати їжу, палити, зберігати продукти харчування;
- протирати вологою ганчіркою увімкнені прилади;
- працювати з потрісканим скляним посудом.

Модуль I

СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН МІКРООРГАНІЗМІВ

Лабораторна робота 1

МЕТОДИ ПРИГОТУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мета – знайомство з методами приготування препаратів мікроорганізмів та їх мікроскопічне дослідження.

Завдання

1. Ознайомитися з методами мікроскопічного дослідження клітин мікроорганізмів.
2. Вивчити будову світлового оптичного мікроскопа, правила користування ним під час роботи з імерсійною системою.
3. Приготувати та розглянути під мікроскопом прижиттєві та постійні (фіксовані) препарати.

Основні теоретичні відомості

Вивчення морфології та будови клітин мікроорганізмів, розмір яких вимірюють переважно мікромтрами ($1 \text{ мкм} = 10^{-3} \text{ мм} = 10^{-6} \text{ м}$), можливо тільки з допомогою мікроскопів, що забезпечують збільшення досліджуваних об'єктів у сотні (світлова мікроскопія) і десятки тисяч (електронна мікроскопія) разів. Зображення в світловому мікроскопі формується внаслідок того, що об'єкт і різні елементи його структури вибірково поглинають світло з різною довжиною хвилі (абсорбційний контраст) або внаслідок зміни фази світлової хвилі під час проходження світла через об'єкт (фазовий контраст). Світлова мікроскопія включає в себе звичайну світло- та темнопольну, фазово-контрастну та люмінесцентну мікроскопії.

Світлопольна мікроскопія. Існують різні моделі навчальних і дослідницьких світлових мікроскопів, які дозволяють визначити

форму клітин мікроорганізмів, їх розмір, рухливість, міру морфологічної гетерогенності, а також характерну для мікроорганізмів здатність до диференційного фарбування.

Конструкції сучасних мікроскопів різні, але принцип їх будови однаковий. У мікроскопі розрізняють дві основні частини: *механічну*, яка забезпечує переміщення оптичної системи та досліджуванального препарату і *оптичну* систему з освітлювальним пристроєм, що створює зображення.

Оскільки живі мікроорганізми погано видні у світлі, то для їх дослідження використовують фіксовані або пофарбовані препарати. Можна використовувати також препарати живих бактерій, у краплю суспензії яких додають певний барвник. Вибір методів мікроскопічного аналізу та способів забарвлення визначає конкретна мета дослідження [2, 4, 8].

Препарати готують на предметних скельцях, товщина яких не повинна перевищувати 1,2–1,4 мм. Застосування товстих скелець не дозволяє отримати різке зображення країв діафрагми освітлювача у площині препарату. Поверхню скла слід ретельно очистити і знежирити, щоб крапля рідини рівномірно розливалася скельцем. Цього досягають протиранням скла ватою, змоченою ефіром, або обпалюванням поверхні скла в полум'ї пальника (жир при цьому згоряє). Покривні скельця також повинні бути ретельно вимиті та висушені, їх товщина не повинна перевищувати 0,15–0,17 мм.

1.1. Мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс: мікроскоп з освітлювачем, предметні та покривні скельця, вата, маркер; фільтрувальний папір, серветка, дезінфікувальна рідина, імерсійна олія, фіксовані препарати мікроорганізмів.

Порядок виконання роботи

Для роботи з мікробіологічними об'єктами рекомендують використовувати лабораторні мікроскопи типу МБР-1, ЛОМО, Біолам, Біомед 2 (рис. 1). Головною частиною мікроскопа є об'єктиви, від яких залежить загальне збільшення мікроскопа, роздільна здатність (найменша відстань, за якої дві сусідні точки

видно під мікроскопом роздільно) та чіткість зображення. Об'єктиви мікроскопа діляться на імерсійні (олійно-занурені) і сухі (рис. 2, 3). Сухі об'єктиви ($\times 8$, $\times 9$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$) застосовують за невеликих збільшень (до 500 разів), імерсійні об'єктиви ($\times 90$) – за збільшень від 600 до 1350 разів залежно від збільшення окуляра – $7\times$, $8\times$, $9\times$, $10\times$, $15\times$. Під час роботи з імерсійним об'єктивом його занурюють у краплю кедрової або ялицевої олії, нанесеного на препарат. Показник заломлення цих олій близький до показника заломлення скла, завдяки чому всі промені потрапляють в об'єктив, забезпечуючи кращу видимість мікроорганізмів.



Рис. 1. Мікроскоп монокулярний Біомед 2



Рис. 2. Типи об'єктивів:
1 – сухий об'єктив; 2 – «ВИ» – водна імерсія, білий край;
3 – «МИ» – олійна імерсія, чорний край

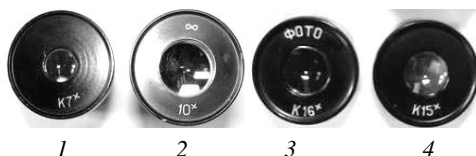


Рис. 3. Типи окулярів:
1, 4 – компенсаційні окуляри;
2 – окуляр Гюйгенса;
3 – компенсаційний фотоокуляр

Для мікроскопіювання препарату мікроскоп готують до роботи так:

1. Протирають лінзи окуляра й об'єктива м'якою серветкою, розмішують лампу та мікроскоп так, щоб було зручно працювати.

2. Піднімають конденсор у максимально верхнє положення, прикривають ірисову діафрагму (якщо дослідний препарат незабарвлений). Ставлять у робоче положення об'єктів $\times 8$.

3. Працюючи з об'єктивами $\times 8$, $\times 40$ та $\times 90$, конденсор залишають у максимальному верхньому положенні. Освітлення регулюють ірисовою діафрагмою.

4. Під час роботи з об'єктивом $\times 40$ спочатку знаходять зображення об'єкта, користуючись об'єктивом $\times 8$. Потім, не піднімаючи тубус мікроскопа, переводять в робоче положення об'єктів $\times 40$, ледь відкривають діафрагму та знаходять зображення об'єкта, користуючись макро- та мікрогвинтами. Працюючи з об'єктивом $\times 90$, ірисову діафрагму відкривають повністю.

5. Предметне скельце з досліджуваним препаратом кладуть на столик мікроскопа та затискають його клемами.

6. Дивлячись збоку, обережно з допомогою макрогвинта опускають тубус мікроскопу так, щоб лінза об'єктива занурилася в імерсійну рідину і ледь торкалася поверхні скла. Дивлячись в окуляр, повільно піднімають тубус з допомогою макро- та мікрогвинтів, доки в полі зору не з'явиться зображення досліджуваного об'єкта.

7. Після завершення роботи піднімають тубус і серветкою знімають імерсійну олію з лінзи об'єктива $\times 90$. Переводять мікроскоп на мале збільшення.

1.2. Методи виготовлення препаратів мікроорганізмів

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. лабораторну роботу 1 (ЛР), п. 1.1) скельця з лунками, набір барвників: генціанвіолет, водний розчин фуксину, метиленовий синій (1:40), спирт 70 об.%-й, скляний місток, кристалізатор, імерсійна олія, культура *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina flava*.

Порядок виконання роботи

Виготовлення препарату «роздавлена крапля» (рис. 4).

1. Приготувати предметне та покривне скельця, прожарити петлю (рис. 4, а, б).

2. Взяти пробірку з культурою в ліву руку й умістити її похило між великим і вказівним пальцем на відстані 3–5 см від полум'я; відкрити пробірку, затискаючи корок правою долонею (рис. 4, в).

3. Стерильну петлю ввести у пробірку з культурою, охолодити, доторкнувшись до внутрішньої поверхні пробірки, а потім узяти невелику кількість біомаси мікроорганізмів; обпалити краї пробірки та корка, закрити пробірку та поставити в штатив (рис. 4, з–е).

4. Петлею з біомасою зробити штрих на скельці, розтерти штрих петлею круговими рухами, щоб вийшла суспензія, що трохи опалескує. Пропалити петлю (рис. 4, ж, з, з).

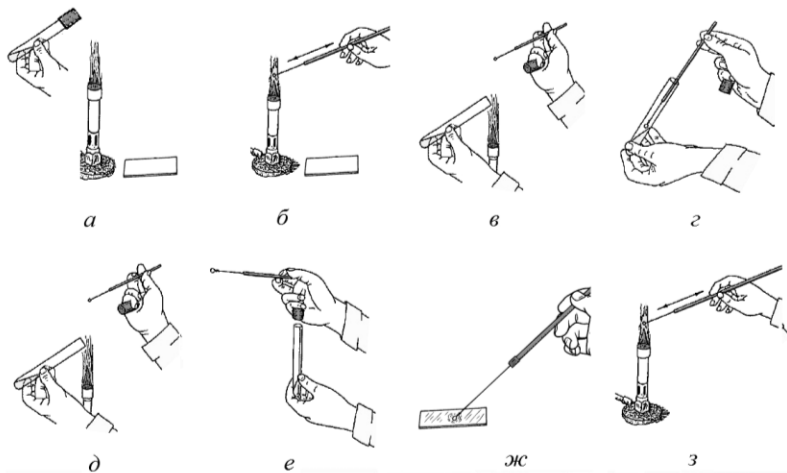


Рис. 4. Схема послідовного виготовлення препарату

5. Отриману суспензію мікроорганізмів накрити покривним скельцем і мікроскопіювати. Щоб у полі зору не було пухирців повітря, потрібно, розташувавши покривне скельце під кутом 40–45°, торкнутися ним до краю краплі і, коли вона розподілиться вздовж межі, обережно накрити краплю.

Виготовлення препарату «вісяча крапля»: на середину покривного скельця наносять маленьку, із чіткими краями краплю суспензії мікроорганізмів. Краплю матеріалу покривають предметним скельцем з лункою, краї якої попередньо змащують вазеліном. Предметне скельце з прилиплим до нього покривним скельцем перевертають. Крапля виявляється вісячою у герметично закритій вологій камері, з якої

рідина випаровується дуже повільно, і тому препарат довгий час залишається придатним для спостереження. «Висячу краплю» мікроскопують з пластким дзеркалом і звуженою діафрагмою.

Приготування фіксованого забарвленого препарату

1. Приготувати суспензію мікроорганізмів методом, аналогічним до описаного вище.

2. Препарат висушити на повітрі, або тримаючи скло високо над полум'ям.

3. Зафіксувати препарат, тобто вбити клітини і забезпечити їх прилипання до поверхні скла. Для цього скельце з препаратом провести тричі над верхньою частиною полум'я (термічне фіксування). Можна фіксувати препарати, обробляючи їх метиловим чи етиловим спиртами, сумішшю Нікіфорова, ацетоном (хімічне фіксування).

4. Фіксований препарат залити кількома краплями барвника (фуксин, метиловий синій). Розподілити барвник по всій поверхні мазка. Фарбувати препарат фуксином протягом 1–2 хв, метиловим синім – 3–5 хв. Потім фарбу злити, препарат добре промити дистильованою водою.

5. Скельце з країв протерти серветкою, препарат висушити. Нанести на сухий препарат краплю кедрової олії чи гліцерину і розглядати препарат під мікроскопом (об'єктив $\times 90$).

Оформлення результатів експерименту

Розглянуті під мікроскопом препарати «роздавлена крапля», «висяча крапля», фіксований фарбований препарат – схематично замалювати в табл. 1, указати збільшення мікроскопа, за якого проводили дослідження.

Таблиця 1

Схематичне зображення прижиттєвих та фіксованих клітин

Досліджений препарат	Імерсійна мікроскопія	
	Рисунок, збільшення $\times 90$	Метод фарбування

Аналіз одержаних результатів

Порівняти та замалювати результати, одержані за використання різних методів приготування прижиттєвих та фіксованих препаратів. Зробити висновки та оформити протокол лабораторної роботи.



Запитання для самоперевірки

1. Яка будова світлового мікроскопа?
2. Які властивості мікроорганізмів досліджують на прижиттєвих і постійних (фіксованих) препаратах?
3. Як приготувати препарат «роздавлена крапля»?
4. Застосовуючи які методи, фіксують мікроорганізми на предметному скельці?
5. Які барвники використовують для фарбування клітин?
6. Як приготувати та зафіксувати мазок з культури мікроорганізмів?
7. Чому необхідно добре просушити мазок для імерсійної мікроскопії?

Література: [2–5]; [7–11].

Лабораторна робота 2

СПОСОБИ ЗАБАРВЛЕННЯ КЛІТИН МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ РОЗМІРІВ

Мета – ознайомлення зі складними методами забарвлення клітин мікроорганізмів та визначення їх розмірів.

Завдання

1. Пофарбувати клітини мікроорганізмів за Грамом.
2. Визначити приналежність досліджуваних культур до групи грампозитивних або грамнегативних бактерій експрес-методом Грезерсона.
3. Визначити розміри клітин досліджуваних мікроорганізмів за допомогою окуляр-мікрометра.

Основні теоретичні відомості

Складні або диференційовані способи забарвлення полягають у використанні кількох барвників. До складних методів забарвлення належать забарвлення за Грамом, Цілем-Нільсеном, Нейссером, Романовським-Гімзе [2–4, 8–10]. Ці способи забарвлення використовують для дослідження клітинних структур, а також для характеристики та ідентифікації мікроорганізмів [6].

Забарвлення за Грамом дозволяє диференціювати мікроорганізми з різною будовою клітинних стінок. Метод ґрунтується на здатності грампозитивних (G^+) бактерій утворювати в клітині міцну сполуку основних барвників – генціанвіолету та йоду, яка не вимивається із клітин за подальшого оброблення етанолом, унаслідок чого ці клітини зберігають синьо-фіолетове забарвлення. Грамнегативні бактерії (G^-) не характеризують властивість утримувати забарвлений комплекс, і під час оброблення етанолом, знебарвлюються, їх дофарбовують контрастною фарбою (фуксином). Основну роль у забарвленні відіграє клітинна стінка, будова якої у G^+ бактерій багат шарова, муреїновий каркас складає до 90 % від усієї маси стінки. Після оброблення клітин етанолом пептидоглікан розбухає, діаметр пор зменшується, що сприяє зниженню її проникної здатності, зокрема і щодо барвника.

У G^- бактерій пептидоглікан одношаровий. Зовнішня мембрана клітинної стінки G^- мікроорганізмів також майже не є бар'єром на шляху проходження барвника, у разі оброблення спиртом відбувається розчинення та вимивання ліпідів, що значно збільшує проникність клітинної стінки. Забарвлення за Грамом пов'язане також із віковими особливостями культури, краще фарбувати бактерії молодих дво-, триденних культур, а для суспензійних культур – в експоненційній фазі.

Модифікацією фарбування за Грамом є *спосіб Синьова*, який вирізняється тим, що замість рідкої фарби генціанвіолету використовують смужки фільтрувального паперу, заздалегідь просякнені цією фарбою та висушені; також *експрес-метод Грезерсона* [5], який полягає у дії розчину КОН на суспензію досліджуваної культури: G^+ бактерії коагулюють, а G^- клітини утворюють в'язку масу, що тягнеться.

2.1. Методи диференціації клітин грампозитивних та грамнегативних бактерій

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. ЛР 1, п. 1.1); градуйовані та неградуйовані (пастерівські) піпетки; набір барвників: генціанвіолет, водний розчин фуксину, метиленовий синій (1:40), розчин Люголю; спирт 70 об.% -й; скляний місток; кристалізатор; добові культури мікроорганізмів, стакан.

Порядок виконання роботи

Забарвлення за Грамом (рис. 5) здійснюють у чотири етапи:

1. Приготувати фіксований мазок досліджуваної культури мікро-організмів та забарвлювати його генціанвіолетом протягом 1–2 хв, надлишок барвника злити (рис 5, а);

2. Обробляти препарат розчином Люголю протягом 1–2 хв до почорніння та промити значною кількістю води (рис. 5, б);

3. Зануриги мазок у стакан з 70 об.%-м етиловим спиртом на 10–30 с. Знебарвлення вважають закінченим, коли краплі, що стікають з мазка, вирівнюються за кольором зі спиртом у склянці. Потім промити препарат водою (під час мікроскопування таких препаратів грамнегативні бактерії безбарвні) (рис. 5, в);

4. Виконати дофарбування препарату фуксином 1–2 хв, промити водою, підсушити, розглянути в мікроскоп з імерсією (рис. 5, г).

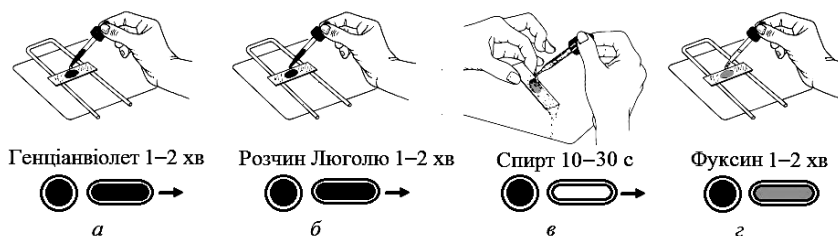


Рис. 5. Етапи фарбування клітин за Грамом

Визначення грамприналежності бактерій експрес-методом Грезерсона:

1. На предметне скельце нанести дві краплі розчину 3 %-го КОН. У першу краплю внести бактеріологічною петлею контрольну Gr^+ культуру, а в другу – контрольну Gr^- культуру.

2. Ретельно перемішати Gr^+ культуру в першій краплі з розчином КОН, через 5–10 с повільно підняти бактеріологічну петлю та переконаватися, що в'язкість краплі не змінилася, тобто слиз не утворився, і реакція негативна.

3. Ретельно перемішати Gr^- культуру в іншій краплі з розчином КОН і через 5–10 с повільно підняти бактеріологічну петлю на висоту 2–3 см. Утворення слизу свідчить про те, що КОН руйнує бактеріальну клітинну стінку, та ДНК вивільняється (утворюється слиз), тобто культура є грамнегативною.

Оформлення результатів експерименту

Результати фарбування досліджених культур та дії розчину КОН на клітини внести до табл. 3.

Таблиця 3

Забарвлення клітин під час внесення барвників та реактивів

Внесений барвник, реактив	Колір клітин /стан біомаси, обробленої КОН	
	Гр+	Гр-
Генціанвіолет		
Розчин Люголю		
Етанол, 96 %-й		
Фуксин		
3 %-й розчин КОН		

Аналіз одержаних результатів

Визначити, за яким принципом бактерії поділяють на грам-позитивні та грамнегативні. Проаналізувати особливості класичного методу фарбування за Грамом і експрес-теста Грезерсона. Зробити висновки та оформити протокол лабораторної роботи.

2.2. Визначення розмірів клітин мікроорганізмів

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. ЛР 1, п. 1.1) градуйовані та неградуйовані (пастерівські) піпетки; окуляр-мікрометр, генціанвіолет, набір пробірок з культурами *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Порядок виконання роботи

1. Приготувати препарати, пофарбовані генціанвіолетом.
2. Визначити розміри клітин з допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1-15х.

Окуляр-мікрометр МОВ-1-15х одягають на тубус мікроскопа та закріплюють гвинтом. Окуляр-мікрометр складається з

компенсаційного окуляра з діоптрійним наведенням у межах ± 5 діоптрій і лічильного механізму (рис. 6).



Рис. 6. Окуляр-мікрометр

У площині окуляра розташована нерухома шкала з поділками від 0 до 8 мм і нерухомі схрещення та індекс у вигляді біштриха. Унаслідок обертання гвинта перехрестя та біштрих переміщуються в полі зору окуляра відносно нерухомої шкали. Крок гвинта дорівнює 1 мм. За повного оберту винта біштрих і схрещення переміщуються на одну поділку шкали. Таким чином, нерухома шкала слугує для відліку повних обертів барабана гвинта, тобто цілих мм. Повний відлік за шкалою мікрометру складається з відліку за нерухомою шкалою та барабаном гвинта.

Приклад: Біштрих розташований між поділками «5» та «6» нерухомої шкали, а індекс знаходиться навпроти поділки «3» шкали барабану. Біштрих не дійшов до поділки «6», тобто відлік буде – 5 мм. Ціна поділки шкали барабану дорівнює 0,01 мм, то відлік за барабаном дорівнює: $0,01 \cdot 35 = 0,35$ мм. Повний відлік за шкалами дорівнює: $5 + 0,35 = 5,35$ мм. Погім ділимо на збільшення об'єктиву та множимо на 10^3 мкм ($1 \text{ мм} = 10^3 \text{ мкм}$). Тобто розмір об'єкта дорівнює: $0,01 \cdot 10^3$, поділений на збільшення об'єктива (мкм).

Оформлення результатів експерименту

Результати спостережень занести до табл. 4.

Таблиця 4

Визначення розмірів клітин

№ з/п	Назва мікроорганізмів (латинською мовою)	Розміри клітин, мкм
1	<i>E. coli</i>	

Аналіз одержаних результатів

Визначити, клітини яких досліджуваних мікроорганізмів є більшими, яких меншими. Проаналізувати отримані результати згідно з джерелом [6, 8, 12]. Зробити висновки та оформити протокол лабораторної роботи.



Запитання для самоперевірки

1. Які методи забарвлення мікроорганізмів називають складними? Де їх застосовують?
2. У чому сутність методу фарбування бактерій за Грамом? Які фактори впливають на його результат?
3. Яка послідовність дій при фарбуванні клітин цим методом?
4. Які модифікації методу фарбування за Грамом існують?
5. Який компонент клітинної стінки є обов'язковим для грампозитивних і грамнегативних бактерій?
6. У чому сутність експрес-методу Грезерсона?
7. За допомогою яких пристроїв визначають розміри клітин мікроорганізмів? Який порядок дій визначення розмірів клітин за допомогою окуляр-мікрометра?

Література: [2–5]; [7–11].

Лабораторна робота 3

БУДОВА ТА МОРФОЛОГІЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ КЛІТИНИ. ВИЯВЛЕННЯ КЛІТИННИХ ВКЛЮЧЕНЬ, СПОР, КАПСУЛ

Мета – ознайомлення з морфологією клітин основних груп бактерій, будовою прокариотичної клітини та способами фарбування клітинних включень, спор, капсул.

Завдання

1. Ознайомитися з морфологією клітин основних груп бактерій;
2. Ознайомитися з будовою клітин прокариотів;
3. Приготувати постійні (фіксовані) забарвлені препарати клітин бактерій; визначити та порівняти їх розміри, замалювати.

4. Виявити включення бактеріальної клітини (волютин, глікоген, гранулозу, ліпіди, параспоральні тільця).

5. Приготувати постійні (фіксовані) препарати бактерій, що утворюють капсули (*Azotobacter chroococcum*), спори (*B. subtilis*).

Основні теоретичні відомості

Клітини мікроорганізмів відрізняються морфологічно: за формою, величиною, взаємним розташуванням клітин, за наявністю або відсутністю джгутиків і капсул, за здатністю клітин до спороутворення [5, 7, 11]. Морфологічні ознаки враховують у визначенні систематичного положення мікроорганізмів [6, 12]. Мікроорганізми за формою поділяють на групи: сферичні або кокоподібні, паличкоподібні, звивисті та нитчасті.

Форма клітин більшості бактерій є стійкою видовою ознакою. Проте існують морфологічно мінливі бактерії (*плеоморфізм*), і залежно від умов культивування вони мають вигляд або паличок, або коків, або водночас паличок і коків.

У складі бактеріальної клітини можна виділити: клітинну стінку, цитоплазматичну мембрану, цитоплазму, нуклеоїд, мезосоми, периплазматичний простір, цитоплазматичні включення, рибосоми, плазмід, пілі, капсулу, джгутики, фімбрії, спори. Усі види включень бактеріальної клітини можна виявити з допомогою спеціальних цитохімічних методів забарвлення.

3.1. Морфологія бактеріальної клітини

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. ЛР 1, п. 1.1), барвники (генціанвіолет, фуксин, метиленовий синій), спирт 70 об.%-й, набір культур родів *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Rhodospirillum*, *Caulobacter*, штамів *E. coli*, *B. subtilis*, *S. cerevisiae*.

Порядок виконання роботи

Виготовлення препаратів фіксованих забарвлених кокоподібних, паличкоподібних, звивистих клітин бактерій:

1. Приготувати препарати забарвлених **кокоподібних** клітин бактерій родів *Micrococcus*, *Streptococcus*. Розглянути препарати за збільшення $\times 40$ та з імерсією $\times 90$.

Сферичні бактерії, або коки, мають округлу форму. Залежно від розташування клітин після поділу їх поділяються на типи: мікрококи, диплококи, стрептококи, тетракоки, сарцини, стафілококи (рис. 7).

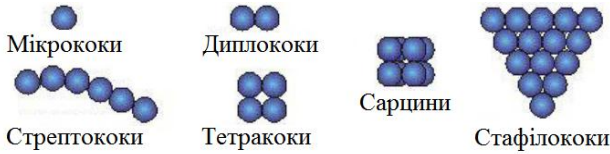


Рис. 7. Типи кокоподібних клітин

2. Приготувати препарати забарвлених **паличкоподібних** клітин бактерій *E. coli*, *B. subtilis*. Розглянути препарати з імерсією за збільшення $\times 40$, $\times 90$.

Паличкоподібні форми бактерій – це найчисельніша та найрізноманітніша група, яка відрізняється за довжиною, поперечним діаметром, формою кінців клітин і характером їх розташування. Довжина клітин паличкоподібних бактерій коливається від 0,7 до 15 мкм, ширина – 0,5–1 мкм. Розмір клітин залежить від умов вирощування культури. Клітини можуть розташовуватися поодинокі (монобактерії), утворювати пари (диплобактерії), або ланцюжки (стрептобактерії) (рис. 8).



Рис. 8. Різні форми паличкоподібних клітин

3. Приготувати препарати забарвлених **звивистих** клітин роду *Rhodospirillum*. А також приготувати мазки із зубного нальоту в краплі води. Із зубного нальоту можна виділити велику та малу зубні спірохети (*Spirochaeta macro-* і *microdentata*). Розглянути препарати.

Звивисті (спіральні) клітини можуть мати різну кількість завитків. Залежно від форми та кількості завитків розрізняють три типи клітин: *вібріони* – мають один завиток, який не перевищує чверті спіралі (рід *Vibrio*). *Спірили* мають 3–5 крупних завитків (рід *Spirillum*), *спірохети* – велику кількість дрібних завитків (порядок *Spirochaetales*) (рис. 9).



Рис. 9. Різні типи звивистих клітин

4. Приготувати препарати забарвлених стебелькових клітин бактерій роду *Caulobacter*. *Нитчасті* форми бактерій – це паличкоподібні клітини, які з’єднуються в довгі ланцюжки, об’єднуються слизом, чохлами, плазмодесмами (містками) чи загальною оболонкою. Нитки трахомних бактерій можуть бути вільноплаваючими або прикріпленими до субстрату.

5. Приготувати препарат забарвлених клітин дріжджів *S. cerevisiae*. Розглянути препарат.

Визначення розмірів досліджених клітин. У виготовлених фіксованих препаратів кокоподібних, паличкоподібних, звивистих форм бактерій та дріжджів визначити розміри (див. ЛР 2).

Оформлення результатів експерименту

Результати визначення розмірів клітин та дослідження з виготовлення фіксованих препаратів занести до табл. 5.

Таблиця 5

Морфологія, розміри досліджених клітин

№ з/п	Назва бактерій (латинською мовою)	Рисунок, збільшення $\times 40$, $\times 90$	Розмір, мкм
1	<i>E. coli</i>		

Аналіз одержаних результатів

Визначити, до яких морфотипів можна віднести досліджені культури бактерій. Порівняти розміри клітин бактерій та дріжджів. Зробити висновки та оформити протокол лабораторної роботи.

3.2. Виявлення клітинних включень

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. ЛР 1, п. 1.1), водяна баня, барвники (розчин Люголю, фуксин Циля, основний фуксин, карболовий фуксин, метиленовий синій, метиле-

новий синій Леффлера, судан–3, аніліновий чорний), етанол 70 об. % -й, 1 % -й розчин H_2SO_4 , формалін, набір пробірок з бактеріальними культурами (*Rhodotorula sp.*, *Clostridium sp.*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *S. cerevisiae*).

Порядок виконання роботи

Виявлення зерен волютину методом Леффлера. Зерна волютину мають округлу форму діаметром 0,5 мкм. У них входить комплекс неорганічних поліфосфатів і РНК, де міститься клітинний запас азоту та фосфору. Вони слугують джерелом потенційної енергії і витрачаються в умовах голодування клітин. Волютинові зерна мають фіолетово-червоне забарвлення, яке виникає у разі фарбування метиленовим синім клітин дріжджів, молочнокислих і ряду патогенних бактерій. При цьому, у бактерій гранули волютину розташовані в цитоплазмі, зазвичай у центрі клітини, а в клітинах дріжджів – у вакуолях.

1. Пофарбувати клітини *Rhodotorula sp.*, *B. subtilis*, висушити та зафіксувати в полум'ї пальника.

2. На зафіксований мазок нанести метиленову синь Леффлера на 4–5 хв.

3. Препарат промити водою, висушити фільтрувальним папером і мікроскопіювати з імерсією.

У полі зору: овальні клітини, у яких цитоплазма забарвлена в бузково-блакитний колір, зерна волютину – у фіолетово-червоний.

Виявлення зерен волютину методом Омелянського:

1. Виготовити мазок *S. cerevisiae*, зафіксувати над жаром пальника.

2. На мазок нанести кілька краплин фуксину Циля на 1 хв, змити водою на містку.

4. Додати на мазок 1 краплю 1 %-го розчину H_2SO_4 на 30 с, промити водою.

5. Дофарбувати розчином метиленового синього 1 хв, препарат промити водою, висушити на повітрі та мікроскопіювати з імерсією.

У полі зору: гранули волютину – темно-червоні, цитоплазма – блакитна.

Виявлення глікогену. Запасні полісахариди (джерело енергії) у клітинах мікроорганізмів можуть нагромаджуватися у вигляді глікогену (бацили, дріжджі, ентеробактерії), зерен крохмалю (ціанобак-

терії) або гранульози – крохмалеподібної речовини (анаеробні спороутворювальні бактерії). Крохмаль, глікоген, у клітинах прокаріотів нагромаджуються у вигляді гранул сферичної форми близько 100 нм у діаметрі.

1. Виготовити мазок *B. subtilis* і висушити за кімнатної температури.

2. Зафіксувати мазок 70 об.%-м етиловим спиртом, для цього на сухий мазок нанести кілька крапель спирту та дочекатися його повного випаровування.

3. Нанести 1–2 краплі розчину Люголю, накрити покривним скельцем, залишки рідини видалити фільтрувальним папером і через 10 хв мікроскопіювати препарат з імерсією.

У полі зору: клітини забарвлені в жовтувато-зелений колір, усередині них знаходяться гранули глікогену коричнево-бурого кольору.

Виявлення гранульози:

1. На предметне скельце нанести краплину суспензії *Cl. pasteurianum*, додати краплину слабого розчину Люголю.

2. Накрити покривним скельцем і мікроскопіювати з імерсією.

У полі зору: включення гранульози синього кольору.

Виявлення ліпідів. Жироподібні речовини – джерело вуглецю та енергії, утворюються в клітинах у результаті жирового переродження цитоплазми за старіння культури або за вирощування культури в умовах надлишку вуглецю та дефіциту азоту. Відкладаються в клітинах у вигляді гранул діаметром до 1 мкм, являють собою краплі полі- β -оксимаєляної кислоти, оточені білковою мембраною і трапляються виключно у прокаріотних організмів. Окрім гранул, полі- β -оксимаєляної кислоти в клітинах мікроорганізмів можуть відкладатися ліпіди у вигляді воску (складні ефіри жирних кислот і вищих спиртів), це притаманно дріжджам, нокардіям та актинобактеріям.

1. На предметне скельце нанести невелику краплю рідкої культури *S. cerevisiae*, вирощену в умовах надлишку вуглецю.

2. Додати краплю барвника судан–3 і перемішати бактеріальною петлею.

3. Краплю накрити покривним скельцем і через 10–15 хв мікроскопіювати з імерсією.

У полі зору: кулясті клітини, в яких цитоплазма безбарвна, а овальні включення ліпідів набули оранжево-червоного кольору.

Виявлення полі-β-оксимаєляної кислоти:

1. На предметне скельце нанести краплю суспензії *S.cerevisiae* або *B. megaterium*.
2. Додати краплю формаліну та залишити на 5 хв.
3. Нанести краплю метиленового синього на 10 хв.
4. Додати краплю розчину судану–3 і залишити на 3 хв.
5. Препарат накрити покривним скельцем і мікроскопіювати із імерсією.

У полі зору: включення полі-β-оксимаєляної кислоти – рожево-оранжеві, цитоплазма – синя.

Виявлення параспоральних тільць (білкових кристалів). Структури, які формуються окремими видами спороутворювальних бактерій роду *Bacillus*, мають кубічну або тетрагональну форму, у клітині знаходяться поблизу спори, тому отримали назву параспоральні тільця (білкові кристали). Дослідженнями встановили, що білок, з якого утворюються дані структури, викликає інтоксикацію шкідливих комах, тому бактеріальні штами-продуценти білкових кристалів використовують для виготовлення препаратів –інсектецидів.

1. Виготовити мазок *B. thuringiensis* і зафіксувати у полум'ї.
2. Препарат накрити фільтрувальним папером і нанести декілька крапель анілінового чорного.
3. Помістити мазок над водяною банею та прогрівати 10–15 хв, додаючи фарбу, щоб не підсихав мазок, потім промити водою.
4. Дофарбувати фуксином Циля протягом 1–2 хв.
5. Препарат промити водою, висушити і фільтрувальним папером і мікроскопіювати з імерсією.

У полі зору: спори – не профарбовані, цитоплазма – рожева, параспоральні тільця – чорні.

Оформлення результатів експерименту

Виявлені клітинні включення мікроорганізмів у фіксованих мазках зобразити схематично та занести до табл. 6.

Таблиця 6

Виявлення клітинних включень мікроорганізмів різними методами

Назва мікроорганізмів (латинською мовою)	Клітинні включення	Метод забарвлення	Рисунок, збільшення, ×90
<i>Rhodotorula sp.</i>	Зерна волютину	За Леффлером – фіолетово-червоні	

Аналіз одержаних результатів

Проаналізувати та порівняти різні методи забарвлення включень у клітинах бактерій та дріжджів. Зробити висновки.

3.3. Виявлення спор, капсул у бактерій

Матеріали та обладнання: мікробіологічний комплекс (див. ЛР 1, п. 1.1), барвники (фуксин Циля, основний фуксин, карболовий фуксин Циля, метиленовий синій (1:40), метиленовий синій Леффлера, нейтральрот, рідка туш.), спирт 70 об. %-й, 0,5 %-й розчин HCl, 1 %-й розчин H₂SO₄, набір пробірок з бактеріальними культурами (*Azotobacter chroococcum*, *B. subtilis*, *Clostridium sp.*).

Порядок виконання роботи

Виявлення спор у бактерій за Псиковим. Виявлення здатності культури до спороутворення краще проводити у старих культурах. Спори у бактерій можна виявити під час мікроскопіювання препарату «роздавлена крапля» у світловому полі. Спори заломлюють світло сильніше, ніж інша частина клітини, і їх видно у клітині, як темніші включення округлої чи овальної форм.

Проте для виявлення спор краще використовувати складні методи забарвлення клітин. Оболонка спор майже непроникна для барвника. Тому всі способи забарвлення спор полягають у попередньому обробленні клітин сильним барвником із прогріванням, при цьому одночасно забарвлюється і клітина, і спора. Потім протоплазму клітини знебарвлюють, залишаючи спору забарвленою. Додаткове забарвлення цитоплазми найчастіше виконують контрастним за кольором барвником.

1. На фіксований мазок культури спороутворювальної бактерії *B. subtilis*, *Clostridium sp.* нанести достатню кількість метиленового синього Леффлера та довести барвник до кипіння над полум'ям пальника, при цьому предметне скельце спочатку прогріти над полум'ям по всій довжині, а потім затримати на кілька секунд над полум'ям так, щоб воно торкалося скла. Якщо скельце було достатньо прогрітим, барвник закипає за 10–15 с. У разі, якщо скельце було перегріте, барвник не кипить, а випаровується, при цьому скельце не слід тримати в

полум'ї більше як 10 с. Після нагрівання скельце не кладуть на холодні предмети, щоб запобігти його розтріскуванню.

2. Препарат ретельно промити водою тільки після охолодження скла.

3. Вологий препарат дофарбувати барвником нейтральрот протягом 2–3 хв.

4. Препарат промити водою та висушити фільтрувальним папером.

У полі зору: спори фарбуються у блакитно-синій колір, а вегетативні клітини – у рожевий.

Спори бактерій, на відміну від спор еукаріотів, не призначені для розмноження, вони формуються ендогенно, тобто всередині материнської клітини та можуть мати центральне, субтермінальне (прикінцеве) або термінальне (кінцеве) положення. Діаметр спори може не бути більшим за ширину материнської клітини (бацилярний тип за центрального або субтермінального положення), а може й бути більшим (кlostридіальний тип за центрального або субтермінального положень, плектридіальний тип – за термінального положення) (рис. 10).



Рис. 10. Розміщення спор у клітині

Виявлення спор у бактерій способом Ожеєшки:

1. Приготувати мазок *B.subtilis*, висушити його на повітрі та, не фіксуючи, залити 0,5 %-м розчином HCl.

2. Мазок підігріти протягом 2 хв у струмені теплого повітря пальника до появи пари.

3. Кислоту злити, препарат промити водою, мазок закрити фільтрувальним папером та залити карболовим фуксином Циля.

4. Препарат забарвлювати протягом 5 хв, нагріваючи над полум'ям пальника до появи пари. У міру випаровування барвника його періодично додають, не даючи препарату підсохнути.

5. Препарат промити водою та обробляти протягом 2 хв 1 %-м розчином сірчаної кислоти для знебарвлення.

6. Препарат знову промити водою та забарвлювати розчином метиленового синього (1 : 40) протягом 10–15 хв.

7. Барвник злити та мікроскопіювати з імерсійною системою.

У полі зору: клітини повинні бути синіми, а спори – червоними.

Виявлення спор у бактерій способом Шефера-Фултона:

1. На фіксовані мазки культур *B. subtilis*, *Clostridium sp.* нанести кілька крапель малахітового зеленого.

2. Препарат розташувати над водяною банею і прогріти 10 хв, додаючи фарбу 2–3 рази.

3. Препарат ретельно промити водою.

4. Вологий препарат дофарбувати барвником фуксином Циля 1–2 хв, промити водою та висушити фільтрувальним папером.

У полі зору: спори фарбуються у зелений колір, а цитоплазма – у рожевий.

Виявлення капсул методом Буррі-Гінса (негативного контрастування). *Капсули, слизові шари та чохли* слугують додатковим механізмом захисту клітин від несприятливих умов. У деяких патогенних бактерій утворення капсули спостерігають лише всередині макроорганізму, у цьому разі капсули захищають бактеріальну клітину від фагоцитозу. Анатомічно розрізняють: мікрокапсули товщиною до 200 нм, невидні в оптичний мікроскоп, макрокапсули – більші ніж 200 нм, слизові чохли – утворення, розміри яких у багато разів перевищують розміри бактеріальної клітини. За хімічним складом капсули можуть бути полісахаридного, поліпептидного, ліпополісахаридного, мукополісахаридного та іншого походження.

За будовою розрізняють капсули чотирьох типів: 1) нормальної будови, які рівномірним шаром оточують усю клітинну стінку; 2) такі, що містять поперечносмугасті фібрили з екстрацелюлярних ниток целюлози; 3) складні капсули, які містять ділянки полісахаридів та поліпептидів; 4) переривчасті капсули.

1. Краплю досліджуваної культури *Az. chroococcum* (*B. subtilis*) умістити на край скельця та забарвлювати протягом 2–3 хв фуксином Циля.

2. До препарату додати краплину туші та ретельно перемішати.

3. До препарату під кутом 45° підвести край шліфованого скельця. Швидким рухом шліфованого скельця провести по мазку препарату (за типом мазка крові).

4. Препарат висушити, зафіксувати над полум'ям пальника та мікроскопіювати з допомогою імерсійного об'єктива.

У полі зору: туш утворює темне тло препарату, на якому видно безбарвні капсули, які оточують забарвлені фуксином бактеріальні клітини.

Оформлення результатів експерименту

Під мікроскопом знайти окремі спори, вегетативні клітини та позначити розташування спор усередині клітин; відзначити розташування капсул. Зробити схематичні рисунки та занести до табл. 7.

Таблиця 7

Виявлення спор, капсул у досліджених мікроорганізмів різними методами

Назва мікроорганізмів (латинською мовою)	Розташування спор, капсули	Метод забарвлення	Рисунок, збільшення, ×90
<i>B. subtilis</i>	Бацилярне	Ожешки, спори – червоні	

Аналіз одержаних результатів

Проаналізувати та порівняти різні методи забарвлення спор, капсул у бактерій. Зробити висновки про положення спори у клітині та тип капсули.



Запитання для самоперевірки

1. На які три основні групи поділяють бактерії за їх формою?
2. Чим відрізняються сарцини від стафілококів?
3. Що характеризує бацил?
4. Назвіть основні структурні компоненти клітини прокаріотів.
5. Які структурні елементи бактеріальної клітини належать до тимчасових?
6. Які поживні речовини належать до резервних, або запасних, у клітинах прокаріотів і дріжджів?
7. У чому сутність методу забарвлення запасних поживних речовин: волютину, гранулези, глікогену, жирових речовин?
8. Як виявити капсули на прижиттєвому препараті бактерій? З яких речовин складаються капсули?
9. Чим відрізняється клостридіальна форма спор бацил від плектридіальної?
10. У чому сутність методу забарвлення спор за методом Ожешки та Шефера-Фултона?
11. У чому сутність методу забарвлення капсул за методом Буррі-Гінса?

Література: [2–5]; [7–11].

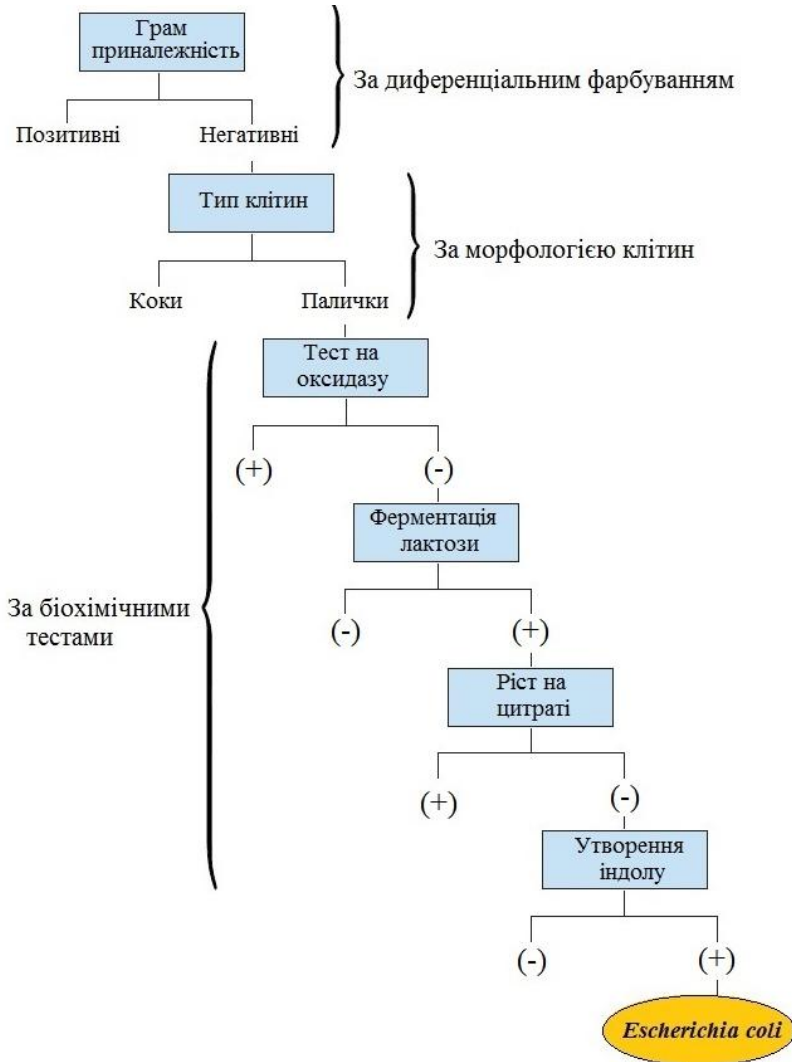
СХЕМА ВИДІЛЕННЯ ЧИСТИХ КУЛЬТУР МІКРООРГАНІЗМІВ



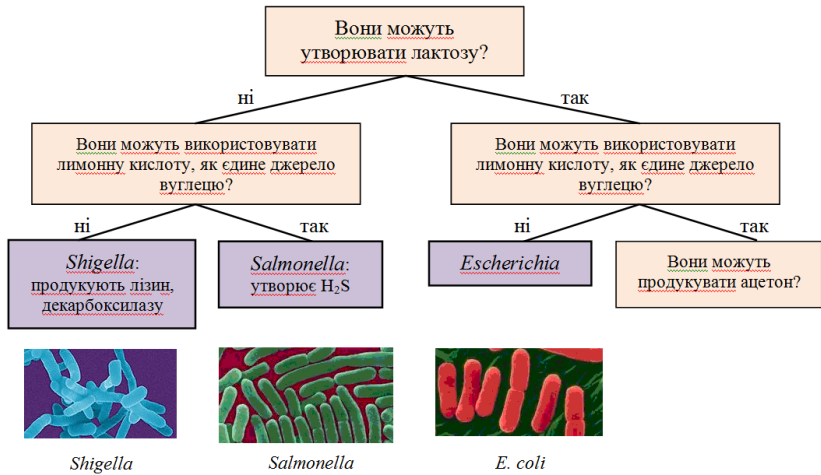
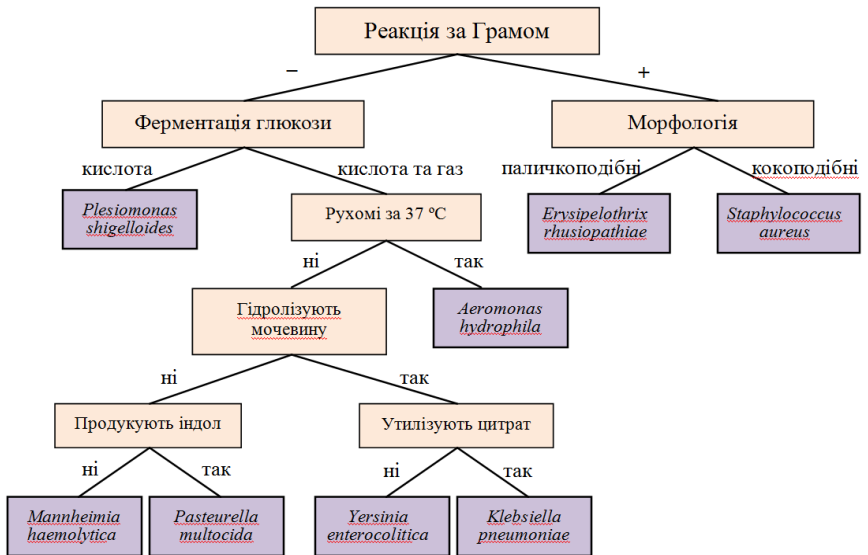
ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕВІДОМИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

- За морфологічними характеристиками
- За диференціальним фарбуванням
- За біохімічними тестами

ІДЕНТИФІКАЦІЯ *ESCHERICHIA COLI*



ДИХОТОМІЧНІ КЛЮЧІ



ЗМІСТ

ВСТУП	3
Організація мікробіологічної лабораторії та загальні правила роботи в ній.....	4
Модуль I. СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН МІКРООРГАНІЗМІВ	6
Лабораторна робота 1. Методи приготування препаратів мікроорганізмів та їх мікроскопічне дослідження	6
Лабораторна робота 2. Способи забарвлення клітин мікроорганізмів та визначення їх розмірів	12
Лабораторна робота 3. Будова та морфологія бактеріальної клітини. Виявлення клітинних включень, спор, капсул	17
Лабораторна робота 4. Будова та морфологія грибів і актиноміцетів	28
Модуль II. РІСТ І ЖИВЛЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ	32
Лабораторна робота 5. Приготування поживних середовищ і правила роботи з культурами мікроорганізмів	32
Лабораторна робота 6. Отримання накопичувальних культур	42
Лабораторна робота 7. Виділення чистих культур мікроорганізмів	49
Лабораторна робота 8. Методи вивчення фізіолого-біохімічних ознак бактерій	54
Лабораторна робота 9. Принципи ідентифікації мікроорганізмів.....	61
Модуль III. МЕТАБОЛІЗМ МІКРООРГАНІЗМІВ	65
Лабораторна робота 10. Молочнокисле бродіння	65
Лабораторна робота 11. Спиртове бродіння	70
Лабораторна робота 12. Маслянокисле бродіння	74
Лабораторна робота 13. Методи визначення кількості клітин мікроорганізмів	78
Лабораторна робота 14. Вплив фізичних та хімічних факторів на ріст мікроорганізмів.....	86
Модуль IV. МІКРООРГАНІЗМИ ТА НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ ..	94
Лабораторна робота 15. Методи вивчення антагонізму у мікроорганізмів	94
Лабораторна робота 16. Дослідження мікрофлори ґрунту	99
Лабораторна робота 17. Дослідження мікрофлори води та повітря	106
ЛІТЕРАТУРА	113
ДОДАТОК	114

Навчальне видання

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ

Лабораторний практикум
для студентів напряму підготовки
6.051401 «Біотехнологія»

Укладачі:

ЯСТРЕМСЬКА Лариса Сергіївна
МАЛИНОВСЬКА Ірина Михайлівна
ЗІНОВ'ЄВА Надія Аркадіївна

Редактор *З. О. Остап'юк*
Технічний редактор *А. І. Лавринович*
Коректор *Л. М. Романова*
Комп'ютерна верстка *Н. В. Черної*

Підп. до друку 31.07.2017. Формат 60x84/16. Папір офс.
Офс. друк. Ум. друк. арк. 6,98. Обл.-вид. арк. 7,5.
Тираж 100 прим. Замовлення № 117-1.

Видавець і виготівник
Національний авіаційний університет
03680. Київ-58, проспект Космонавта Комарова, 1.