



Практичний тур

ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ

З довкілля було виділено мікроорганізми, які Вам необхідно визначити, серед них можуть бути:

**Lactococcus cremoris** – Г+ бактерія, клітини якої мають сферичну форму і поділяються в одній площині, але не відокремлюються одна від одної, утворюючи ланцюжки; здатна до руху;

**Pseudomonas fluorescens** – Г- бактерія, клітини якої мають вигляд палички, ендоспори не утворює; здатна до руху;

**Bacillus megaterium** – Г+ бактерія, клітини якої мають вигляд палички, можуть утворювати ендоспори; здатна до руху;

**Arthrobacter flavescens** – Г+ бактерія, клітини якої не мають сталої форми (форма змінюється з віком та залежно умов культивування) можуть мати вигляд паличок, коків та V-, Y-конфігурацій; не здатна до руху;

**Micrococcus luteus** – Г+ бактерія, клітини якої мають сферичну форму і поділяються в трьох взаємно перпендикулярних площинах, внаслідок чого утворюються групи кубічної форми з 8-16 з'єднаних клітин; не здатна до руху.

**Мета роботи:** визначити видову приналежність бактеріальних культур.

**Матеріали та обладнання:** бактеріальні культури, бактеріологічна петля, мікроскоп, імерсійна олія, предметні скельця, предметні скельця з лункою, покривні скельця, вазелін, розчини реактивів та барвників.

**Хід роботи**

1. Виготовити фіксовані препарати бактеріальних культур, визначити морфологічний тип клітин та наявність ендоспор.

Для виготовлення фіксованих препаратів мікроорганізмів необхідно виконати такі процедури:

1.1 знежирити додатково предметне скло; для цього його необхідно натерти шматком сухого господарського мила та витерти насухо марлевою серветкою; із зворотного боку скла маркером по скла позначити межі майбутнього препарату та його номер;

1.2 прожарити бактеріологічну петлю у полум'ї пальника і нанести на скло краплю стерильної дистильованої води; відібрати невелику кількість бактеріальної культури з поверхні щільного живильного середовища за допомогою петлі із дотриманням умов стерильності та внести у краплю води на склі; розподілити мікробний матеріал на склі рівномірним шаром у вигляді мазка правильної форми (округлої чи квадратної), площею 1,5-2 см<sup>2</sup>;

1.3 висушити виготовлений препарат за кімнатної температури на повітрі, помістивши предметне скло на місток кристалізатора;

1.4 зафіксувати підсушений препарат жаром у полум'ї пальника; для цього скло затиснути прищепкою і, тримаючи препаратом догори, тричі провести через полум'я пальника;

для запобігання вигорання бактерій, скло над полум'ям слід тримати не більше **3-4 секунд**;

1.5 помістити зафіксований препарат на місток кристалізатора і нанести безпосередньо на мазок краплину водно-спиртового розчину фуксину основного і витримати упродовж **3 хвилин**;

1.6 змити барвник з препарату легким струменем води над кристалізатором, промивання препарату слід проводити доти, поки вода, що стікає з мазка, не стане прозорою;

1.7 висушити препарат на повітрі, зібравши частину води зі скла за допомогою фільтрувального паперу;

1.8 розглянути препарат під мікроскопом з імерсією, визначити морфологію клітин та наявність ендоспор.

**Мікроскопія фіксованих препаратів мікроорганізмів.** Препарати мікроорганізмів досліджують під мікроскопами (збільшення не менше  $\times 90$ ) із використанням імерсійної олії.

За результатами дослідження заповніть перші два рядки **таблиці 1** бланку для відповіді.

2. Виготовити живі препарати бактеріальних культур та визначити їхню здатність до руху.

Для приготування препарату «звісаюча крапля» необхідно виконати такі процедури:

2.1 змастити вазеліном краї лунки предметного скла зі шліфованою лункою;

2.2 нанести краплю матеріалу, що досліджується на центр покривного скельця; матеріал відібрати безпосередньо із пробірки, дотримуючись стерильності; перевернути лункою вниз предметне скло і помістити на покривне таким чином, щоб крапля з матеріалом знаходилась у центрі лунки, не торкаючись її країв; предметне скло злегка притиснути до покривного і перевернути; у герметичній камері, що утворилась, крапля не підсихає; це дозволяє спостерігати за мікроорганізмами досить тривалий час;

2.3 провести мікроскопію із використанням імерсійного об'єктиву: на покривне скельце над краплею нанести імерсійну олію й виконати усі маніпуляції, необхідні для спостереження об'єкта; **для мікроскопії живих препаратів мікроорганізмів конденсор мікроскопа потрібно опустити.**

За результатами дослідження заповніть третій рядок **таблиці 1** бланку для відповіді.

3. Визначити тинкторіальні властивості бактеріальних культур.

Для розрізнення грампозитивних та грамнегативних бактерій необхідно:

3.1 нанести на предметне скло кілька краплин 3%-го розчину КОН;

3.2 у краплину за допомогою прожареної бактеріологічної петлі внести біомасу бактеріальної культури і суспендувати її протягом кількох хвилин; поява тяжів слизу (при підніманні петлі) характерна для грамнегативних бактерій.

За результатами дослідження заповніть четвертий рядок **таблиці 1** бланку для відповіді.

БАЖАЄМО УСПІХУ!

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ

(бланк для відповіді)

Впишіть відповіді:

Таблиця 1

Ознака	Культура №1	Культура №2
Морфологія клітин		
Наявність ендоспор		
Здатність до активного руху		
Тип клітинної стінки		
Вид бактерій		

Примітка: при заповненні 2-го і 3-го рядків користуйтеся позначеннями: наявність ознаки «+», відсутність «-»

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ

(бланк для відповіді)

Впишіть відповіді:

Таблиця 1

Ознака	Культура №1	Культура №2
Морфологія клітин		
Наявність ендоспор		
Здатність до активного руху		

Тип клітинної стінки		
Вид бактерій		

Примітка: при заповненні 2-го і 3-го рядків користуйтеся позначеннями: наявність ознаки «+», відсутність «-»