



Практичний тур

ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІЙ

З довідки було виділено мікроорганізми, один з яких Вам необхідно визначити. Відомо, що серед виділених бактерій є наступні:

Pseudomonas syringae – грамнегативні (Г-) прямі палички, ендоспори не утворюють, аероби, каталазопозитивні;

Bacillus megaterium – грампозитивні (Г+) палички, утворюють ендоспори; каталазопозитивні, аероб.

Arthrobacter flavescens – Г+ бактерія, клітини якої не мають сталої форми, можуть мати вигляд паличок, ковів та V-, Y- конфігурацій, ендоспори не утворюють, каталазопозитивна, аероб.

E.coli – Г- прямі палички, ендоспори не утворюють, факультативні анаероби, каталазопозитивні;

Micrococcus luteus – Г+ бактерія, клітини якої мають сферичну форму і утворюють групи кубічної форми, каталазопозитивні, аероб.

Мета роботи: визначити вид мікроорганізму.

Хід роботи:

1. Виготовити фіксовані препарати бактеріальної культури та визначити морфологічний тип клітин.

1.1. Знежирити додатково предметне скло; для цього його необхідно натерти шматочком сухого господарського мила та витерти насухо марлевою серветкою; зі зворотного боку скла олівцем по склу позначити межі майбутнього препарату та його номер.

1.2. Прокалити бактеріологічну петлю у полум'ї пальника і нанести на скло краплю стерильної дистильованої води; відібрати у невеликій кількості бактеріальну культуру 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.

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 за допомогою прищепки і, тримаючи скло препаратом догори, тричі провести через полум'я пальника; для запобігання спалення бактерій, скло над полум'ям слід тримати не більше **3-4 секунд**.

1.5. Помістити зафіксований препарат на місток кристалізатора і нанести на **3 хвилини** безпосередньо на мазок краплину водно-спиртового розчину фуксину основного.

1.6. Через 3 хвилини змити барвник із препарату легким струменем води над кристалізатором, промивання препарату слід проводити до тих пір, 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. Проглянути препарат під мікроскопом з імерсією, визначити морфологію клітин (отримані результати занесіть в **таблицю** бланку для відповіді).

Мікроскопія фіксованих препаратів мікроорганізмів. Препарати мікроорганізмів досліджують під мікроскопами (збільшення не менше 90*) із використанням імерсійної олії. Попередньо слід перевірити готовність мікроскопа до роботи.

2. Визначити тинкторіальні властивості досліджуваних культур.

Для розрізнення Г+ та Г- бактерій необхідно:

- нанести на предметне скло кілька краплин 3%-го розчину КОН
- у краплину за допомогою прокаленої бактеріологічної петлі внести біомасу досліджуваної культури і суспендувати її, протягом кількох хвилин.

Поява тяжів слизу (при підніманні петлі) характерна для грамнегативних бактерій (отримані результати занесіть в **таблицю** бланку для відповіді).

3. Виявлення наявності каталази.

Для виявлення наявності каталази нанести на колонію кілька крапель 3 %-го розчину пероксиду водню. Інтенсивне виділення газу свідчатиме про позитивну реакцію (отримані результати занесіть в **таблицю** бланку для відповіді).

4. Визначення здатності мікроорганізмів до аеробного дихання і бродіння (OF-тест).

Порівняти колір середовища з контролем. Виявити утворення кислоти та газу. Якщо колір середовища змінюється на жовтий – накопичення кислоти (результати занесіть в **таблицю** бланку для відповіді).

Інтерпретація OF-тестів на здатність мікроорганізмів до аеробного дихання і бродіння

Аеробна «відкрита» пробірка	Пробірка «закрита» шаром вазелінового масла	Інтерпретація результатів
Кислота і газ не утворюються, утворюється луг у верхньому шарі середовища на 1-2 добу культивування.	Кислота і газ не утворюються.	Культура аеробна; вона не утилізує глюкозу, а росте за рахунок дезамінування амінокислот пептону.
Утворюється кислота (можливо і газ).	Кислота і газ не утворюються.	Культура аеробна, здійснює аеробне дихання, бродити нездатна.
Утворюється кислота (можливо і газ).	Утворюється кислота (можливо і газ).	Культура факультативно анаеробна, здатна до аеробного дихання і бродіння.

5. За результатами проведеного дослідження, **встановити видову назву запропонованого мікроорганізму** і занотувати її у таблицю бланку для відповіді.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІЙ

(бланк для відповіді)

Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості виділеної культури

Впишіть відповіді

Морфологія клітин	
Спороутворення	
Грампозитивні	
Грамнегативні	
Аероб	
Факультативний анаероб	
Наявність каталази	
Видова назва	