

23-2703

НА ДОМ НЕ ВЫДАЕТСЯ

БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ ПО МИКРОБИОЛОГИИ

23-02703



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Иркутский государственный университет»
Биолого-почвенный факультет

БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ ПО МИКРОБИОЛОГИИ

Учебное пособие

Составители

О. Ф. Вятчина, Н. Е. Буковская, И. Г. Лузова



УДК 579(076.5)

ББК 28.4я73

Б79

Печатается по решению учебно-методической комиссии
биолого-почвенного факультета ИГУ

Рецензенты:

д-р биол. наук, проф. *В. В. Дрюккер*

д-р биол. наук, проф. *Б. Н. Огарков*

Б79 **Большой практикум по микробиологии : учебное пособие / сост.: О. Ф. Вятчина, Н. Е. Буковская, И. Г. Лузова. – Иркутск : Издательство ИГУ, 2022. – 279 с.**
ISBN 978-5-9624-2124-7

В пособии представлены методы исследования микроорганизмов с использованием световой и электронной микроскопии, приемы приготовления нативных и фиксированных препаратов, способы окраски и выявления различных клеточных структур и включений. Рассмотрены принципы составления и классификация питательных сред, методы стерилизации, условия культивирования микроорганизмов, способы выделения чистых культур, методы количественного учета. Приведены материалы по выделению микроорганизмов некоторых физиологических и таксономических групп, изучению их морфолого-культуральных, физиолого-биохимических свойств и принципов идентификации.

Предназначено для проведения лабораторных занятий по «Большому практикуму» у студентов бакалавриата и специалитета по направлениям «Биология» и «Экология и природопользование», практических занятий у магистрантов-микробиологов направления «Биология». Рекомендуется студентам-микробиологам для проведения научно-исследовательской работы, прохождения профильных практик и выполнения выпускной квалификационной работы, а также биологам, интересующимся микробиологией.

УДК 579(076.5)

ББК 28.4я73

ISBN 978-5-9624-2124-7

© Вятчина О. Ф., Буковская Н. Е.,
Лузова И. Г., сост., 2022
© ФГБОУ ВО «ИГУ», 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	8
Предисловие	9
ГЛАВА 1. Организация работы в микробиологической лаборатории. Правила и техника безопасности при работе в микробиологической лаборатории	11
1.1. Подготовка микробиологической лаборатории к работе	11
1.2. Правила и техника безопасности при работе в микробиологической лаборатории	12
1.3. Правила работы с культурами микроорганизмов	13
ГЛАВА 2. Техника посева микроорганизмов	16
2.1. Посевы из пробирки в пробирку и колбу	16
2.2. Посев в чашки Петри	18
ГЛАВА 3. Принципы приготовления питательных сред и условия культивирования микроорганизмов	22
3.1. Принцип составления сред для культивирования микроорганизмов	22
3.2. Классификация сред	27
3.3. Условия культивирования	31
ГЛАВА 4. Методы стерилизации	36
ГЛАВА 5. Виды микроскопии	45
5.1. Светлопольная микроскопия	45
5.2. Микроскопия с фазово-контрастным устройством	50
5.3. Микроскопия в темном поле	54
5.4. Люминесцентная микроскопия	56
5.5. Электронная микроскопия	60
5.5.1. Просвечивающая электронная микроскопия	60
5.5.2. Сканирующая электронная микроскопия	62
ГЛАВА 6. Методы изучения морфологии и цитологии микроорганизмов	64
6.1. Методы приготовления микроскопических препаратов	64
6.1.1. Препараты живых клеток микроорганизмов	64
6.1.2. Препараты фиксированных окрашенных клеток микроорганизмов	65
6.2. Выявление клеточных структур	67
6.2.1. Клеточная стенка	67

6.2.2. Выявление нуклеоида	69
6.2.3. Выявление капсул.....	70
6.3. Выявление запасных веществ и включений.....	71
6.3.1. Гранулы полисахаридов.....	71
6.3.2. Липидные гранулы	71
6.3.3. Полифосфаты.....	72
6.3.4. Включения серы	73
6.3.5. Параспоральные включения	74
6.4. Выявление подвижности	75
6.4.1. Микроскопические методы определения подвижности	75
6.4.2. Бактериологические методы определения подвижности	76
6.4.3. Окраска жгутиков.....	77
6.4.4. Определение подвижности у бактерий, передвигающихся скольжением	78
6.5. Выявление бактериальных эндоспор и цист	79
6.5.1. Методы выявления бактериальных эндоспор.....	80
6.5.2. Окрашивание цист.....	82
6.6. Определение размеров клетки.....	82
ГЛАВА 7. Выделение чистых культур микроорганизмов	85
7.1. Получение накопительной культуры.....	85
7.2. Выделение чистой культуры	87
7.2.1. Метод Коха	88
7.2.2. Рассев петлей	88
7.2.3. Метод глубинного посева	88
7.2.4. Метод вращающихся пробирок.....	89
7.2.5. Выделение чистой культуры из одной клетки.....	90
7.2.6. Определение чистоты выделенной культуры	91
ГЛАВА 8. Методы количественного учета микроорганизмов	93
8.1. Прямые методы количественного учета микроорганизмов.....	93
8.1.1. Подсчет клеток в счетных камерах.....	94
8.1.2. Подсчет клеток на фиксированных окрашенных мазках (метод Виноградского – Брида).....	96
8.1.3. Подсчет клеток на мембранных фильтрах	97
8.1.4. Определение биомассы взвешиванием.....	99
8.2. Косвенные методы количественного учета микроорганизмов.....	101
8.2.1. Определение количества клеток микроорганизмов высевом на плотные среды (метод Коха).....	101

8.2.2.	Определение количества клеток высевом в жидкие среды (метод предельных разведений).....	104
8.2.3.	Определение количества клеток и биомассы нефелометрическим методом	107
8.2.4.	Стандарты мутности и их применение	108
ГЛАВА 9. Изучение культуральных и физиолого-биохимических свойств микроорганизмов.....		
9.1.	Культуральные свойства микроорганизмов	109
9.1.1.	Рост микроорганизмов на плотных средах.....	109
9.1.2.	Рост микроорганизмов в жидких средах	114
9.2.	Физиолого-биохимические свойства микроорганизмов	115
9.2.1.	Использование соединений углерода	115
9.2.2.	Использование соединений азота.....	121
9.2.3.	Отношение к молекулярному кислороду и рост в анаэробных условиях	125
9.2.4.	Определение внеклеточных ферментов.....	129
9.2.5.	Выявление способности бактерий рода <i>Pseudomonas</i> к пигментообразованию.....	137
ГЛАВА 10. Изучение влияния факторов внешней среды на рост микроорганизмов		
10.1.	Определение температурных параметров роста	138
10.2.	Определение солевых параметров роста	138
10.3.	Определение ростовых значений рН среды	139
10.4.	Изучение действия UF-излучения на микроорганизмы	139
10.5.	Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.....	141
10.6.	Определение антагонистической активности микроорганизмов	142
10.6.1.	Метод перпендикулярных штрихов	142
10.6.2.	Метод агаровых блоков.....	143
10.6.3.	Метод лунок	145
10.6.4.	Метод отсроченного антагонизма	145
10.6.5.	Метод Кекесси и Пике.....	145
ГЛАВА 11. Систематика и идентификация микроорганизмов.....		
11.1.	Основные понятия и правила наименования	146
11.2.	Описание и идентификация	149
ГЛАВА 12. Изучение ферментов микроорганизмов.....		
12.1.	Липаза	153
12.2.	Инвертаза.....	154

12.3. Амилаза	155
12.4. Мальтаза	157
12.5. Протеазы	158
12.6. Уреаза	160
12.7. Целлюлаза	161
12.8. Оксидаза	162
12.9. Пероксидаза	163
12.10. Каталаза	163

ГЛАВА 13. Выделение микроорганизмов некоторых физиологических и систематических групп 165

13.1. Выделение аммонифицирующих бактерий.....	165
13.1.1. Выявление и учет численности аммонифицирующих бактерий высевом в мясо-пептонный бульон	167
13.1.2. Выявление и учет численности спорообразующих аэробных бактерий	169
13.1.3. Выделение аммонифицирующей бактерии <i>Bacillus subtilis</i>	171
13.2. Выделение нитрифицирующих бактерий	173
13.3. Выделение денитрифицирующих бактерий.....	175
13.4. Выделение азотфиксирующих бактерий	178
13.4.1. Аэробные азотфиксаторы рода <i>Azotobacter</i>	179
13.4.2. Анаэробные азотфиксаторы из рода <i>Clostridium</i>	182
13.5. Выделение уробактерий.....	185
13.6. Выделение <i>Spirillum volutans</i>	188
13.7. Выделение целлюлозоразрушающих микроорганизмов	189
13.7.1. Выделение микроорганизмов, проводящих аэробное разложение целлюлозы.....	191
13.7.2. Выявление и учет численности бактерий, разрушающих целлюлозу в анаэробных условиях....	198
13.8. Выделение и изучение актиномицетов.....	200
13.8.1. Общая характеристика актиномицетов.....	200
13.8.2. Принципы идентификации актиномицетов.....	203
13.8.3. Выявление и учет численности видов актиномицетов.....	205
13.8.4. Изучение морфолого-культуральных свойств штаммов актиномицетов	206
13.8.5. Изучение физиолого-биохимических свойств штаммов актиномицетов	213
13.9. Выделение и изучение энтомопатогенных бактерий вида <i>Bacillus thuringiensis</i>	213

13.9.1. Общая характеристика бактерий вида <i>Bacillus thuringiensis</i>	213
13.9.2. Выделение бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i>	216
13.9.3. Изучение морфологических и культуральных признаков <i>Bacillus thuringiensis</i>	217
13.9.4. Идентификация <i>Bacillus thuringiensis</i>	218
13.9.5. Определение продуктивности.....	219
13.9.6. Определение инсектицидной активности (биотест на насекомых).....	220
13.9.7. Косвенный метод определения инсектицидной активности <i>Bacillus thuringiensis</i>	222
13.9.8. Определение содержания β -экзотоксина спектрофотометрическим методом	223
13.9.9. Определение экзотоксигенности на личинках комнатной мухи (<i>Musca domestica</i> L.) и вошинной моли (<i>Galleria mellonella</i> L.).....	225
13.9.10. Получение раствора δ -эндотоксина.....	226
13.10. Выделение и изучение углеводородокисляющих микроорганизмов	227
13.10.1. Систематическое разнообразие углеводородокисляющих микроорганизмов	227
13.10.2. Получение накопительных и чистых культур углеводородокисляющих микроорганизмов	228
13.10.3. Определение углеводородокисляющей активности выделенных штаммов.....	230
13.10.4. Оценка пригодности нефтезагрязненной почвы, очищенной с помощью биодеструктора, для выращивания растений.....	233
13.10.5. Исследование эмульгирующей активности углеводородокисляющих микроорганизмов	233
13.10.6. Изучение гидрофильно-гидрофобных свойств углеводородокисляющих бактерий.....	236
13.11. Выделение и идентификация молочнокислых бактерий	237
13.11.1. Общая характеристика молочнокислых бактерий	237
13.11.2. Выделение молочнокислых бактерий	242
13.11.3. Определение количества молочной кислоты	245
13.11.4. Качественная реакция на молочную кислоту.....	245
13.11.5. Определение антагонистической активности молочнокислых бактерий.....	246
Заключение	250
Список вопросов к зачету.....	251
Список рекомендуемой литературы	254
Приложения	255