

Лабораторная работа № 10

Тема: Экология микроорганизмов.

Наименование работы: Методы выделения чистых культур микроорганизмов.

Цель работы: получить чистую культуру бактерий

Материалы и оборудование: чашки Петри с колониями, полученными при анализе воздуха, пробирки со стерильным мясопептонным агаром, водяная баня, электроплитка, микробиологические петли и иглы, спиртовка, спички

Ход работы:

Теоретические пояснения:

Для определения вида, изучения его морфологических и физиологических особенностей вид нужно выделить в чистую культуру, имеющую достаточную для анализа массу клеток.

Для получения чистой культуры целесообразно использовать колонии, которым даны описания при микробиологическом анализе воздуха. Отмеченные признаки колонии в дальнейшем будут нужны при определении вида. От избранной колонии производят посев в пробирки с прямым и косым агаром.

Выделение чистой культуры

Рассев петлей (метод истощающего штриха) предполагает высев бактериологической петлей из накопительной культуры на поверхность агаризованной среды в чашках Петри. На первом этапе петлей с культурой наносят ряд параллельных штрихов на агаризованной среде (рис. 16, *А*). Петлю стерилизуют, остужают о незасеянную часть агаризованной среды и проводят серию штрихов в направлении, перпендикулярном первым (рис. 1, *Б*). Затем петлю вновь стерилизуют, остужают и штрихи наносят в направлении *В* (рис. 16), а после очередной стерилизации – в направлении *Г* (рис. 16). Чашки помещают в термостат и через определенное время учитывают результаты. Обычно на штрихах *А* и *Б* вырастает большое число колоний (иногда сплошной рост), тогда как на штрихах *В* и *Г* формируются изолированные колонии.

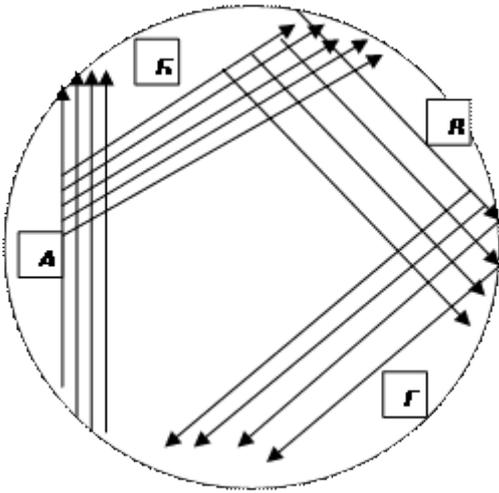


Рис. 16. Схема рассева бактерий штрихами для получения

изолированных колоний

Определение чистоты выделенной культуры

Выросшие изолированные колонии отсевают бактериологической петлей на поверхность скошенной агаризованной среды в пробирке. Поскольку изолированные колонии иногда могут формироваться не только из отдельных клеток, обязательным этапом выделения чистой культуры должна быть проверка их однородности. Это осуществляется несколькими способами: визуальным, микроскопическим и высевом на соответствующие питательные среды. При визуальном контроле исследуют рост культуры по штриху на поверхности скошенной среды; в том случае, если рост неоднороден, считают, что культура загрязнена и требуется ее дополнительная расчистка. Чистоту культур микроорганизмов обязательно нужно контролировать путем микроскопии клеток. Для этого готовят препарат фиксированных окрашенных клеток, который микроскопируют с иммерсионной системой. Чистоту культуры клеток проверяют также и путем повторного рассева на селективные среды, обеспечивающие избирательный рост тех или иных микроорганизмов. Критерием чистоты в этом случае является однородность формирующихся при этом колоний.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какими методами определяют чистоту выделенной культуры?
2. Для каких целей выделяют чистую культуру микроорганизмов?
3. В чем суть метода истощающего штриха?