

Лабораторна робота № 4

Тема: *Методи вивчення клітинної капсули. Методи прижиттєвого вивчення бактерій*

Мета роботи: Ознайомитись з методами прижиттєвого вивчення бактерій („роздавлена” та „вісяча” крапля). Вивчити метод забарвлення клітинної капсули за методом Бурі-Гінса.

Матеріали, реактиви, обладнання: мікроскоп, фізіологічний розчин, мікробіологічна петля, предметні й накривні скельця, фуксин кислий, фільтруючий папір, імерсійна олія, туш, готові препарати бактерій, бульйонна культура *Bacillus subtilis*, *E. coli*.

Основні відомості

Багато мікроорганізмів мають капсулу, котра оточує мікробну клітину у вигляді слизистого шару. Капсули можуть бути різними за розміром і хімічним складом. Найчастіше вони складаються з високомолекулярних полісахаридів, але до їх складу входять і білки.

Основна функція капсули - захист від дії негативних факторів зовнішнього середовища. Капсули не сприймають барвники при звичайних методах фарбування. Для їх вивчення використовують метод Бурі-Гінса.

Хід роботи

Завдання 1. Вивчення бактеріальної капсули за методом Бурі-Гінса.

Забарвлення за методом Бурі-Гінса складається з двох етапів. Краплю досліджуваної культури *Bacillus subtilis* розміщують біля краю скельця, ретельно змішують із краплею туші, після чого готують препарат по типу мазка крові. До краплі досліджуваної рідини під кутом 45° підводять край шліфованого скла, крапля розтечеться по його краю, після чого швидким рухом шліфованого скла готують мазок. Препарат підсушують, фіксують у полум'ї пальника і дофарбовують впродовж 2–3 хвилин фуксином Циля. Пофарбований мазок промивають водою і підсушують, мікроскопіюють за допомогою імерсійного об'єктива. Туш створює темний фон препарату, на якому добре видно капсули. Безколірні капсули добре видно на фоні забарвленої фуксином бактеріальної клітини. Препарат замалювати.

Завдання 2. Вивчення бактерій у живому стані.

У живому незабарвленому стані у мікробів ми можемо спостерігати різноманітні процеси: рухливість, поділ, спорутворення. З цією метою готують препарати „вісячої краплі” та „роздавленої краплі”.

Препарат „роздавлена крапля” готується так: на предметне скельце наносять піпеткою краплину бульйонної культури *E. coli* і накривають її накривним скельцем. Бажано, щоб при цьому не утворювались бульбашки повітря, які заважають вивченню препарату під мікроскопом.

Препарат „вісяча крапля” готується із застосуванням спеціального скла з лункою, накривного скельця, вазеліну. На край лунки наносять невеликий шар вазеліну. На накривне скельце наносять краплю бульйонної культури *E. coli*. Потім, обережно склом із лункою накривають накривне скельце так, щоб крапля опинилася в середині, таким чином утворюється герметично закрита камера. Скельця, що склеїлись швидко перевертають накривним склом вгору. Крапля повинна вільно висіти в лунці, не торкаючись її країв. Вивчення мікроорганізмів у живому стані потрібно проводити при використанні сухих оптичних систем (об'єктиви x8 і x40), ввігнутого дзеркала, опущеного конденсора.