

## Лабораторна робота № 8

### Тема: Вивчення морфологічних і культуральних ознак дріжджів

**Мета:** закріпити знання про морфологію дріжджової клітини. Закріплення практичних навичок з приготування препаратів «роздавлена крапля», навчитись визначати вік дріжджових клітин.

**Матеріали та обладнання:** спиртівки, бактеріологічні петлі, препарувальні голки, предметні та накривні скельця, промивалки з дистильованою водою, мікроскопи; судан III, формалін, метиленовий синій; культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, і *Rodotorula glutinis*, готові тимчасові препарати дріжджів *Candida scottii*, *Rodotorula glutinis*.

#### Питання для актуалізації знань

1. Що таке морфологічні ознаки мікроорганізмів?
2. Які ознаки бактерій відносяться до культуральних?
3. До якої таксономічної групи мікроорганізмів належать дріжджі?
4. Які дріжджі використовують у біотехнологічних виробництвах?

### Теоретичні відомості

Термін «дріжджі» не має таксономічного значення. До цієї групи мікроорганізмів належать мікроскопічні одноклітинні вищі гриби, які розмножуються переважно брунькуванням або поділом. Таке визначення є недостатньо точним, оскільки окремі види дріжджів здатні в певній фазі розвитку утворювати міцелій, а деякі мікроскопічні міцеліальні гриби в певних умовах культивування ростуть у дріжджеподібній формі. Проте переважне їх існування у вигляді одноклітинних форм дає можливість розглядати дріжджі як окрему групу еукаріотичних мікроорганізмів.

Клітини дріжджів мають різноманітну форму: круглу, овальну (*Trixosporon*), яйцеподібну (*Candida*), циліндричну (*Endomyces*), трикутну (*Trigonopsis*), лимоноподібну (*Nadsonia*), грушоподібну (*Schizoblastosporium*), стрілоподібну (*Brettanomyces*), серпоподібну (*Selenotila*).

Для деяких дріжджів форма клітин настільки характерна, що може бути використана для встановлення їх родової належності (наприклад, у *Trigonopsis* клітини трикутні). У представників роду *Candida*, навпаки, морфологія клітин не постійна, вона змінюється залежно від складу середовища та умов культивування, тому не може використовуватись як таксономічна ознака.

Морфологічні ознаки дріжджової клітини та її внутрішній вміст змінюються з віком. Молоді дріжджі (12-16 год. культивування) інтенсивно розмножуються (70-80 % клітин, що брунькуються). У них тонка оболонка, гомогенна (однорідна) цитоплазма, вакуолі відсутні або лише намічаються. Запасні речовини відсутні.

У зрілих дріжджів (24-48 год. культивування) в цитоплазмі з'являється зернистість, вакуолі збільшуються, процес розмноження уповільнюється (не більш як 5-10 % клітин, що брунькуються), з'являються мертві клітини. Зрілі дріжджі під час перероблення крохмалистої сировини мають містити не більш як 1% мертвих клітин, меляси – не більше 5 %. У засівних дріжджах пивоварного виробництва допускається до 5 % мертвих клітин.

Ознака зрілості дріжджів – наявність глікогену і метахроматину, які відкладаються в клітині як резервний матеріал і витрачаються у міру її старіння. Дріжджі з високою бродильною активністю містять не менш як 60-70 % клітин з глікогеном.

Старі дріжджі (72 год. і більше) мають потовщену оболонку, яку добре видно під час мікроскопування. Цитоплазма гетерогенна (зерниста), вакуолі великі, іноді в клітині їх декілька. Глікоген і метахроматин відсутні. Культура містить значну кількість клітин із

жировими включеннями, клітини не розмножуються. Характерна ознака – наявність великої кількості мертвих клітин.

При відмиранні дріжджів цитоплазма скупчується в грудочку, в центрі клітина поступово деформується, оболонка розпадається, і клітина гине.

## ІНСТРУКЦІЯ

### Завдання 1. Вивчити морфологічні і культуральні ознаки дріжджів

1. Приготувати препарати «роздавлена крапля» дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, роздивитися під мікроскопом, виявити клітини, які діляться, описати способи поділу, замалювати.

Препарат «роздавлена крапля» готується на знежиреному предметному склі, на яке наносять маленьку краплю водопровідної води з дотриманням правил асептики бактеріологічною петлею у воду вносять невелику кількість культури дріжджів, розмішують і накривають накривним скельцем. Не слід вносити велику кількість культури, оскільки препарат буде густим і малоприсадабним для спостереження. Не можна допускати утворення бульбашок повітря під накривним склом; за надлишку води її видаляють фільтрувальним папером. Мікроскопування здійснюють з сухою системою.

2. Приготувати препарати "роздавлена крапля" дріжджів *Candida scottii*, *Rodotorula glutinis* розглянути під мікроскопом, замалювати клітини, що брунькуються, псевдоміцелій, бластоспори.

### Завдання 2. Дослідити вікові особливості дріжджів

#### Порядок виконання

1. Приготувати препарати «роздавлена крапля» дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* (дослідити під мікроскопом, визначити вік клітин).

2. Виявлення в дріжджових клітинах ліпідних включень, глікогену, мертвих клітин. Глікоген виявляють за допомогою методу прижиттєвого фарбування дріжджових клітин розчином йоду, від чого вони забарвлюються в червоно-бурий колір. У разі відсутності глікогену дріжджові клітини забарвлюються в солом'яно-жовтий колір.

Жирові включення забарвлюють Суданом III або 1 %-м розчином осміевої кислоти. На предметне скло наносять невелику краплю 40 %-го розчину формаліну, в яку петлею вносять культуру дріжджів. Формалін вбиває клітини і робить оболонку більш проникною. Через 5 хв. додають краплю метиленового синього, це через 10 хв. – краплю судану III.

Препарат накривають покривним склом, надлишок рідини видаляють фільтрувальним папером.

Мікроскопують з імерсією. Цитоплазма забарвлюється в синій колір, гранули й краплини жиру – в рожевожовтогарячий.

Мертві клітини виявляють фарбуванням метиленовим синім. До краплі дріжджової суспензії на предметному склі додають краплю розчину метиленового синього, через 1–2 хв. мікроскопують при збільшенні в 400—600 разів. Метиленовий синій дифундує через оболонку мертвої клітини всередину і забарвлює цитоплазму в синьо-блакитний колір. Живі клітини при цьому залишаються безбарвними.

Підраховують загальну кількість синіх (мертвих) клітин не менш як у п'яти полях зору, визначають середній відсоток мертвих клітин.

#### Контрольні питання:

1. Опишіть властивості дріжджів, важливі для хлібопечення
2. Наведіть приклади мікроорганізмів, що викликають «хвороби» хліба.