***Лабораторная работа 1***

**Приготовление элективной натуральной жидкой**

**питательной среды для выращивания** *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* (сенная палочка) – гетеротроф, сапрофит, обитает в почве, на поверхности растений во влажных местах (заливные луга), питаясь органическими веществами отмерших листьев. При иссушении субстрата образует споры, поэтому на поверхности сена всегда имеются споры сенной палочки. Это аэробная бактерия, в питательной среде обитает у ее поверхности, при массовом размножении образует на поверхности питательного субстрата сероватую пленку. Сенная палочка грамположительна, подвижна, имеет перитрихальное жгутикование. Для нее характерен определенный жизненный цикл, который необходимо учитывать при микроскопировании. В молодой культуре сенная палочка представлена в основном мелкими овальными одиночными подвижными клетками. По мере старения культуры происходит деление клеток, в результате чего появляются цепочки клеток, как подвижные, так и неподвижные (рисунок 8).



Рисунок 8 *– Bacillus subtilis*

**Материалы и оборудование:** сено, ножницы, колбы объемом 100–200 мл, мел, электроплитки, ватные пробки.

**Ход работы**

1. Около 1 г сена из разнотравья мелко нарезают ножницами, помещают в коническую колбу объемом 100–200 мл, приливают около 50–100 мл воды, добавляют щепотку мела и кипятят в течение 10–15 минут.

2. Колбу закрывают ватной пробкой и помещают в термостат при температуре 25°С на 2–3 суток. На сене всегда имеются споры сенной палочки; при кипячении споры не гибнут и после остывания питательного субстрата дают начало вегетативным клеткам.

На поверхности сенного отвара образуется сероватая пленка, состоящая из особей аэробной сенной палочки.

***Лабораторная работа 2***

**Получение элективной культуры *Bacillus mesentericus***

**на природной твердой питательной среде**

*Bacillus mesentericus* (картофельная палочка) – гетеротроф, сапрофит, обитает на отмерших растительных остатках, в верхних слоях почвы. Бактерия подвижна, имеет многочисленные жгутики. Аэроб, при неблагоприятных условиях образует споры. Картофельная палочка синтезирует и выделяет наружу активную амилазу – фермент, расщепляющий крахмал до моносахаров. В лаборатории бактерию выращивают на картофельных субстратах (рисунок 9).



Рисунок 9 *–* ***Bacillus mesentericus***

**Материалы и оборудование:** неочищенные клубни картофеля, чашки Петри, скальпель, мел.

**Ход работы**

1. Промывают клубень картофеля и, не снимая кожуры, нарезают плоские ломтики. Их поверхность слегка натирают мелом и кладут в чашки Петри.

2. Выдерживают чашки с ломтиками картофеля 10 мин. В сушильном шкафу при температуре 25–30°С на 2–3 суток.

На поверхности ломтиков картофеля образуется плотная морщинистая пленка, состоящая из особей картофельной палочки.

***Лабораторная работа 3***

**Приготовление синтетической накопительной питательной среды**

**для свободноживущих азотфиксирующих бактерий**

Почва является хорошей средой для обитания микроорганизмов в связи с наличием в ней питательных веществ и влаги. Почва хорошо защищает их от влияния прямого солнечного света, высушивания. Среди почвенных микроорганизмов встречаются азотфиксаторы – бактерии, которые в качестве источника азота использует молекулярный азот воздуха. Например, активные культуры азотобактера фиксируют 15–20 мг азота на 1 г потребленного органического вещества.

*Azotobacter chroococcum* – облигатный аэроб, гетеротроф. В молодой культуре содержатся палочковидные клетки, подвижные, размером 3–7 мкм. В старой культуре клетки кокковидные, соединены в пары и сарциноподобные пакеты. Клетки окружены слизистой капсулой и содержат много блестящих зерен волютина (рисунок 10).

*Clostridium pasteurianum* – подвижные палочковидные клетки, размером 3–7 мкм. Клетки одиночные или расположены парами и короткими цепочками. Образуют споры. Споры располагаются в центре, их диаметр больше диаметра клетки, поэтому спорообразующая клетка приобретает форму лимона (клостридиальный тип спороношения). В клетках накапливается много гранулезы.



Рисунок 10 *–* ***Azotobacter chroococcum***

**Материалы и оборудование:** колба на 500 мл, колбы 100–150 мл, ватные пробки, весы, шпатели, плодородная почва.

**Ход работы**

1. Готовят питательную среду.

Состав среды на 1 литр дистиллированной воды:

* Сахароза, глюкоза или манит – 20 г;
* K2HPO4 – 0,2 г;
* MgSO4 – 0,2 г;
* NaCl – 0,2 г;
* K2SO4 – 0,1 г;
* CaCO3 – 5,0 г.

2. Питательную среду не стерилизуя, разливают в колбы объемом 100–150 мл слоем 1–1,5 см и заражают парниковой почвой (1/2 чайной ложки).

3. Колбы закрывают ватными пробками и помещают в термостат при температуре 28–30 °С.

Через 5–7 суток на поверхности питательной среды образуется коричнево-бурая пленка *Azotobacter chroococcum*. Кроме того, жидкость в колбе пенится и издает запах масляной кислоты, что указывает, на развитие в нижней части питательной среды бактерий *Clostridium pasteurianum*.