

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИТМО»

Мегафакультет «Наука о жизни»
Факультет «Биотехнологий»

Дисциплина:
«Общая микробиология»

ОТЧЁТ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЕ №2

«»

Выполнил: студент группы
№Т3132
мохамед нурельдин эльхассан
Проверил: доцент практики
Андреева Анастасия Сергеевна

Санкт-Петербург
2025 г.

Введение:

1. Цель работы

1. Изучить морфологические признаки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и бактерий.
2. Освоить технику приготовления прижизненных и фиксированных микробиологических препаратов.
3. Освоить методы витального окрашивания (метиленовым синим, раствором Люголя) и дифференциальной окраски по Граму.
4. Оценить физиологическое состояние дрожжевой культуры.

2. Задачи работы

1. Приготовить прижизненный препарат дрожжей методом «раздавленная капля» и изучить их микроморфологию.
2. Приготовить фиксированный препарат бактерий.
3. Провести окрашивание дрожжей метиленовым синим для определения доли жизнеспособных клеток.
4. Провести окрашивание дрожжей раствором Люголя для выявления запасов гликогена.
5. Провести окрашивание бактерий по Граму для идентификации типа клеточной стенки.
6. Провести микроскопический анализ всех приготовленных препаратов.

3. Материалы и оборудование

- **Исследуемые культуры:** Суточная культура дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на жидкой питательной среде, суспензия дрожжей концентрацией $\sim 10^7$ кл/мл, культура бактерий.
- **Реактивы и красители:** Раствор метиленового синего (0,1%), раствор Люголя, генцианвиолет, фуксин Пфейфера, спирт 96%, кедровое масло.
- **Лабораторная посуда и оборудование:** Микроскоп, предметные и покровные стекла, микробиологические петли, пипетки, пробирки, спиртовка, фильтровальная бумага, пинцет, бумажные салфетки.

4. Ход работы

1. **Приготовление прижизненного препарата «раздавленная капля»:**
 - Обезжирили предметное и покровное стекла спиртом.
 - На предметное стекло нанесли каплю дрожжевой суспензии.
 - Накрыли каплю покровным стеклом, избегая пузырьков воздуха.
 - Удалили излишки жидкости фильтровальной бумагой.
 - Провели микроскопию для изучения формы, размера и типа почкования дрожжей.

2. Окраска дрожжей метиленовым синим:

- Смешали суспензию дрожжей с метиленовым синим в соотношении 1:1 и выдержали 2 минуты.
- Приготовили препарат «раздавленная капля» из окрашенной суспензии.
- Провели микроскопию, подсчитали общее количество клеток и количество синих (мертвых) клеток в нескольких полях зрения для определения процента жизнеспособности.

3. Окраска дрожжей раствором Люголя:

- Смешали суспензию дрожжей с раствором Люголя в соотношении 1:1 и выдержали 2 минуты.
- Приготовили препарат «раздавленная капля» и провели микроскопию для выявления клеток, содержащих гликоген (коричневое окрашивание).

4. Приготовление фиксированного препарата бактерий:

- На обезжиренное предметное стекло нанесли каплю бактериальной культуры и распределили её петлей в виде тонкого мазка.
- Мазок высушили на воздухе и зафиксировали троекратным проведением через пламя спиртовки.

5. Окраска бактерий по Граму:

- Фиксированный мазок окрасили генцианвиолетом (1 мин), затем обработали раствором Люголя (1 мин).
- Провели обесцвечивание 96% спиртом (15-20 сек).
- Промыли водой и провели докрашивание фуксином Пфейфера (1 мин).
- Промыли препарат, высушили и провели микроскопию с иммерсионным объективом.

6. Результаты работы:

Таблица 1. Микроморфологические признаки микроорганизмов

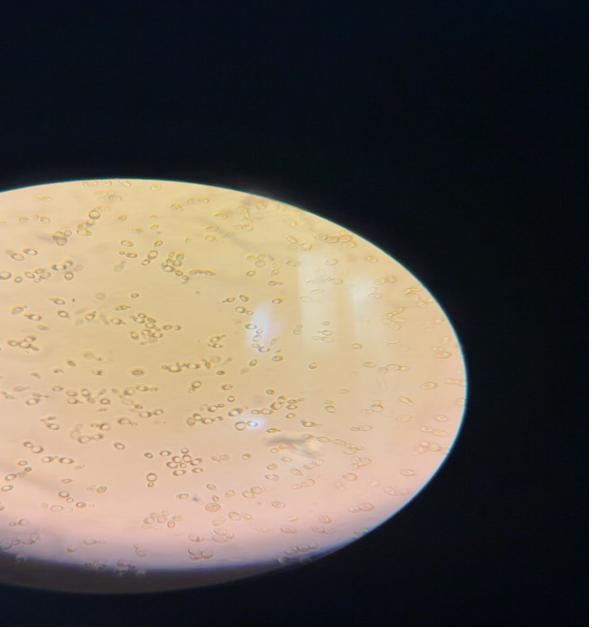
Морфологические признаки	<i>Saccharomyces cerevisiae, yepd 1</i>
1. Форма клеток	Округлая, овальная, яйцевидная
2. Размер клеток	От 3 до 6 мкм в поперечнике и от 8 до 12 мкм в длину.
3. Взаимное расположение клеток, образование скоплений	Не образуют скопления
4. Тип почкования	Почкующиеся
5. Микроскопическая картина	

Таблица 2 – Результаты окрашивания дрожжей метиленовым синим

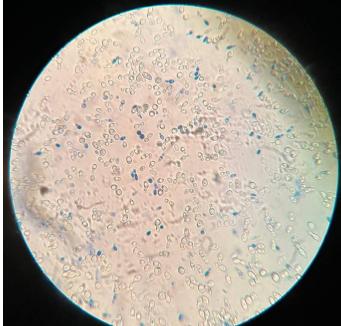
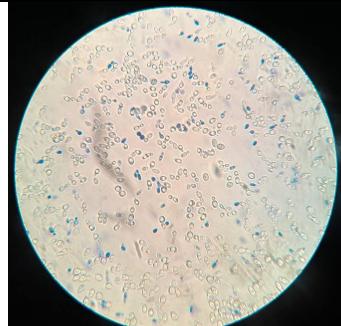
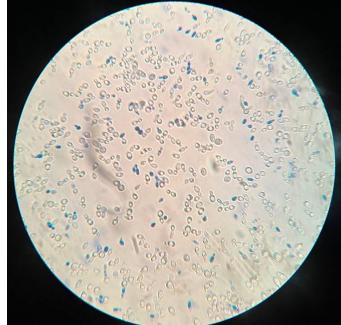
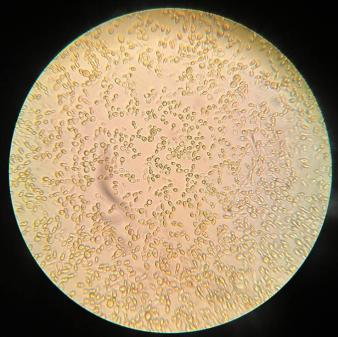
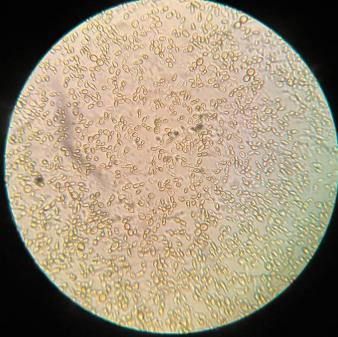
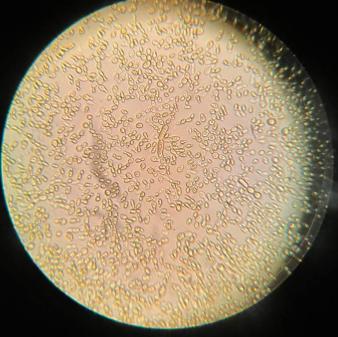
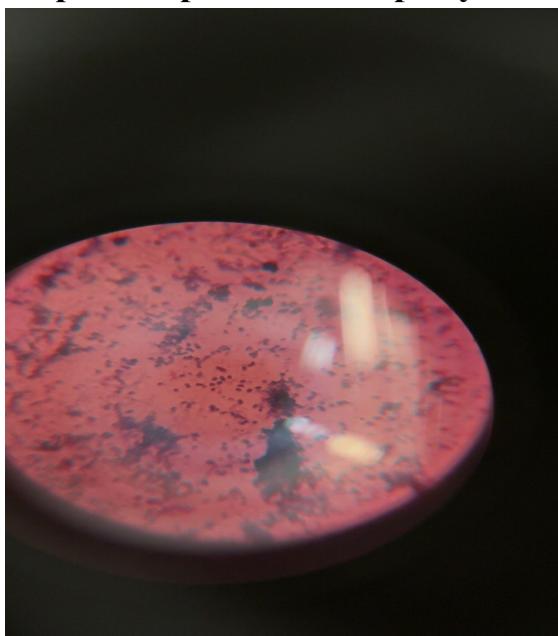
Показатель	Образец <i>Saccharomyces cerevisiae, yepd 1</i>		
Общее число клеток		280	280
		275	
		285	
Количество мертвых клеток	35		103
	32		
	36		
Концентрац ия мертвых клеток, %	12,5		12,2
	11,6		
	12,6		

Таблица 3 – Результаты оценки уровня гликогена в клетках

Показатель	Образец <i>Saccharomyces cerevisiae, yepd 1</i>			
Общее число клеток			306	304
			298	
			307	
Количество о клеток с гликогеном	0		0	
	0			
	0			
Количество клеток без гликогена	306		304	
	298			
	307			

Окраска дрожжей по Граму:



7. Вывод:

В ходе лабораторной работы все поставленные цели и задачи были достигнуты.

1. При микроскопии прижизненного препарата были изучены характерные морфологические признаки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: круглая и овальная форма клеток, размножение почкованием.
2. Метод витального окрашивания метиленовым синим показал высокую жизнеспособность дрожжевой культуры (около 88%), что указывает на её молодость и хорошее физиологическое состояние.
3. Окраска раствором Люголя не выявила значительного накопления гликогена в клетках, что подтвердило вывод о том, что культура является молодой и не перешла в стадию накопления запасных веществ.
4. При окраске по Граму бактериальные клетки приобрели розово-красный цвет, что позволило идентифицировать исследуемую бактериальную культуру как грамотрицательную. Это свидетельствует о наличии у данных бактерий тонкого слоя пептидогликана и внешней мембраны в клеточной стенке.
5. В ходе работы были успешно освоены ключевые методики микробиологического исследования: приготовление прижизненных и фиксированных препаратов, техника витального и дифференциального окрашивания, а также микроскопия с иммерсионной системой.