

prof. Ing. Soňa Javoreková, PhD. - Ing. Juraj Medo, PhD.

LABORATÓRNY MANUÁL K PREDMETU MIKROBIOLÓGIA

4. nezmenené vydanie

Autori: prof. Ing. Soňa Javoreková, PhD. (7,07 AH)

Ústav biotechnológie

FBP, SPU v Nitre

Ing. Juraj Medo, PhD. (1,79 AH)

Ústav biotechnológie

FBP, SPU v Nitre

Lektorovali: doc. Ing. Tatiana Števlíková, CSc.

doc. Mgr. Želmíra Balážová, PhD.

Schválila rektorka Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 28. 2. 2022
ako skriptá pre študentov SPU.

Táto publikácia bola vytlačená na ekologickom papieri.



© Soňa Javoreková, Juraj Medo, Nitra 2022

ISBN 978-80-552-2478-7

Úvod

Predkladané skriptum Laboratórny manuál k predmetu mikrobiológia je druhou a nevyhnutnou časťou ku už vydaným skriptám Mikrobiológia. Dopĺňa teoretické poznatky praktickou časťou z predmetov Mikrobiológia a Základy mikrobiológie, ktorú musia študenti absolvovať v rámci laboratórnych cvičení na týchto predmetoch. Okrem množstva praktických rád a metodických postupov je súčasťou skrípt v prílohe aj časť venovaná protokolárnemu zápisu z priebehu cvičení a ich záverečného vyhodnotenia.

Veríme, že študentom ponúkame dobrú študijnú literatúru, ktorá im pomôže bez väčších problémov uvedené predmety absolvovať a osvojiť si základné mikrobiologické techniky a postupy, ktoré využijú nielen pri absolvovaní ďalších nadväzujúcich predmetov, ale aj na iných pracoviskách, na ktorých sa pracuje s mikroorganizmami.

Autori

OBSAH

1	Vybavenie mikrobiologického laboratória (Javoreková)	1
1.1	Základné laboratórne prístroje, pomôcky a sklo	1
2	Bezpečnosť pri práci v mikrobiologickom laboratóriu (Javoreková)	5
2.1	Bezpečnostné predpisy v mikrobiologickom laboratóriu	5
2.1.1	Pravidlá aseptickkej práce s mikroorganizmami	6
2.1.2	Práca s mikrobiologickým očkom	6
2.2	Chemické riziká v mikrobiologickom laboratóriu	7
3	Mikroskop a mikroskopické metódy (Javoreková)	9
3.1	Druhy mikroskopie	9
3.2	Mikroskop a jeho optické vlastnosti	10
3.3	Práca s mikroskopom	12
3.4	Mikroskopické preparáty a ich príprava	12
3.4.1	Príprava nefixovaných preparátov	12
3.4.1.1	Jednoduchý natívny preparát	13
3.4.1.2	Visiaca kvapka	14
3.4.1.3	Vitálne sfarbený preparát	14
3.4.1.4	Negatívne sfarbený preparát	14
3.4.1.5	Sklíčkový preparát	15
3.4.2	Príprava fixovaných preparátov	15
3.4.2.1	Jednoduchý preparát	15
3.4.2.2	Gramovo farbenie	15
3.4.2.3	Acidorezistentné farbenie podľa Ziehla – Neelsena	17
3.4.2.4	Farbenie spór	18
3.4.2.5	Farbenie puzdier	18
3.4.2.6	Trvalé preparáty	19
3.4.3	Zakresľovanie preparátov	19
3.5.	Meranie veľkosti mikroorganizmov	19
3.5.1	Meranie dĺžky a šírky buniek mikroorganizmov	20
4	Živné pôdy a laboratórne metódy v mikrobiológii (Javoreková, Medo)	22
4.1	Živné pôdy (Javoreková)	22
4.1.1	Rozdelenie živných pôd	23
4.1.2	Príprava živných pôd	23
4.2	Sterilizácia (Javoreková)	24
4.2.1	Sterilizácia fyzikálnymi prostriedkami	24
4.2.2	Sterilizácia chemickými prostriedkami	26
4.2.3	Sterilizácia mechanickými prostriedkami	27
4.3	Očkovanie (Javoreková)	27
4.3.1	Očkovanie tekutých a rôsolovitých živných pôd	28
4.4	Kultivácia mikroorganizmov (Javoreková)	30
4.5	Izolácia mikroorganizmov (Javoreková)	31
4.6	Identifikácia mikroorganizmov (Javoreková)	32
4.6.1	Kultivačné znaky	32
4.6.2	Morfologické znaky	33
4.6.3	Fyziologické znaky	33
4.6.4	Biochemické znaky	34
4.6.5	Sérologické znaky	35

4.6.6	Genetická analýza mikroorganizmov (Medo)	35
4.6.6.1	Lýza buniek	36
4.6.6.2	Odstránenie proteínov	36
4.6.6.3	Purifikácia	37
4.6.6.4	Analýza izolovaných nukleových kyselín	37
4.6.6.5	Vizualizácia a separácia DNA	39
4.6.6.6	Modifikácie PCR	40
4.6.6.7	Sekvenovanie podľa Sangera	41
4.6.6.8	Markery využívané pri analýze mikroorganizmov	41
4.6.6.9	Nešpecifické metódy na hodnotenie príbuznosti mikroorganizmov	42
4.6.6.10	Získavanie a analýza genomickej informácie mikroorganizmov	43
4.7	Uchovávanie kultúr (Javoreková)	43
4.7.1	Subkultivácia – pasážovanie na živných pôdach	44
4.7.2	Sušenie	44
4.7.3	Uchovávanie pri ultranízkej teplote	44
4.7.4	Lyofilizácia	44
4.7.5	Odporúčané spôsoby uchovávania rozličných mikroorganizmov	45
4.7.6	Zbierky mikroorganizmov	45
5	Pozorovanie základných skupín mikroorganizmov (Javoreková)	47
5.1	Baktérie	47
5.1.1	Pozorovanie základných tvarov eubaktérií	47
5.1.2	Pozorovanie základných tvarov myxobaktérií	49
5.1.3	Pozorovanie základných tvarov aktinomycét	50
5.1.4	Pozorovanie siníc (cyanobaktérií)	51
5.2	Riasy	52
5.2.1	Mikroskopické pozorovanie rias	52
5.3	Prvky	53
5.4	Mikroskopické huby	54
5.4.1	Pozorovanie vláknitých mikroskopických húb	57
5.4.2	Pozorovanie kvasiniek	58
6	Rast mikroorganizmy (Javoreková)	60
6.1	Hodnotenie priebehu rastu mikroorganizmov	60
6.1.1	Rastová krivka	60
6.1.2	Matematická analýza rastu	61
6.2	Metódy počítania mikroorganizmov	63
6.2.1	Priame mikroskopické metódy	63
6.2.1.1	Stanovenie počtu mikroorganizmov v počítacích komôrkach (Thomova, Bürkerova komôrka)	63
6.2.1.2	Stanovenie počtu mikroorganizmov vo fixovaných sfarbených preparátoch	64
6.2.1.3	Stanovenie počtu mikroorganizmov pomocou fluorescenčného mikroskopu	65
6.2.2	Nepriame kultivačné metódy počítania mikroorganizmov	66
6.2.2.1	Platňová zried'ovacia metóda	66
6.2.2.2	Metóda maximálneho zriedenia	67
6.2.3	Nefelometrické a turbidimetrické stanovenia počtu buniek	69
6.3	Inhibícia rastu mikroorganizmov	70
6.3.1	Sledovanie citlivosti mikroorganizmov na antimikrobiálne látky	70
6.3.1.1	Stanovenie účinnosti antibiotík difúznou metódou	70
6.3.1.2	Rýchla metóda na určovanie citlivosti mikroorganizmov	71

7	Hodnotenie metabolickej aktivity mikroorganizmov (Javoreková)	72
7.1	Kvasenie	72
7.1.1	Etanolové kvasenie	72
7.1.2	Mliečne kvasenie	73
7.1.2.1	Hodnotenie priebehu mliečneho kvasenia v mlieku	74
7.1.2.2	Hodnotenie priebehu mliečneho kvasenia v siláži	75
7.1.3	Hodnotenie priebehu kvasenia v siláži	76
7.1.4	Maslové kvasenie	77
7.2	Dýchanie	78
7.3	Neúplná oxidácia organických látok	80
7.4	Amonizácia	81
7.4.1	Hodnotenie amonizácie bielkovín a močoviny	81
7.5	Biologické viazanie molekulového dusíka	83
7.6	Identifikačné biochemické testy v mikrobiológii	84
7.6.1	Katalázová aktivita	84
7.6.2	Ureázová aktivita	84
7.6.3	Oxidázová aktivita	85
7.6.4	Oxidačno-fermentačný test	85
7.6.5	Hydrolýza škrobu	86
7.6.6	Proteolýza	86
7.6.7	Tvorba indolu	86
7.6.8	Tvorba sulfánu	87
7.6.9	Lipolytická aktivita	87
7.6.10	Hemolytická aktivita	87
8	Zoznam a zloženie odporúčaných živných pôd a roztokov (Javoreková)	89
9	Zoznam použitej literatúry	98
	Protokoly (Medo)	99

Autori	prof. Ing. Soňa Javoreková, PhD. Ing. Juraj Medo, PhD.
Názov	LABORATÓRNY MANUÁL K PREDMETU MIKROBIOLÓGIA
Určené	pre študentov SPU
Vydavateľ	Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Vydanie	štvrté nezmenené vydanie
Vytlačené	marec 2022
Náklad	250 kusov
Počet strán	130
AH – VH	8,86 – 9,07
Tlač	Vydavateľstvo SPU v Nitre
ISBN 978-80-552-2478-7	Cena 2,30 €

Rukopis neprešiel redakčnou úpravou vo Vydavateľstve.
Za odbornú náplň vydania zodpovedajú autori.

