

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства
та природокористування

Кафедра водопостачання, водовідведення та бурової справи

03-06-198М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних робіт
з навчальної дисципліни

«Загальна мікробіологія та вірусологія»

(частина 3) для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського)
рівня за освітньо-професійною програмою «Біотехнології,
біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності G21
«Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання

Рекомендовано науково-
методичною радою з якості ННІ
будівництва, архітектури та
дизайну
Протокол № 6 від 17.02.2026 р.

Рівне – 2026

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Загальна мікробіологія та вірусологія» (частина 3) для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності G21 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання [Електронне видання] / Полтавченко Т. В., Буднік З.М. – Рівне : НУВГП, 2026. – 21 с.

Укладачі: Полтавченко Т. В. – кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи,

Буднік З. М. – кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Відповідальний за випуск: Мартинов С. Ю., доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Керівник групи забезпечення освітньо-професійної програми першого (бакалаврського) рівня за освітньою програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності G21 «Біотехнології та біоінженерія»

д.б.н., професор

Бедункова О. О.

Зміст

Лабораторна робота № 16-17.	3
Лабораторна робота № 18.	6
Лабораторна робота № 19-20.	9
Лабораторна робота № 21.	12
Лабораторна робота № 22.	15
Лабораторна робота № 23.	18
Список використаної літератури	21

© Т. В. Полтавченко,

З.М. Буднік, 2026

© НУВГП, 2026

Лабораторна робота №16-17

БРОДІННЯ ЯК АНАЕРОБНИЙ МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОЦЕС У МІКРООРГАНІЗМІВ: ТИПИ, МЕХАНІЗМИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ.

Мета: Ознайомитися з бродінням як анаеробним метаболічним процесом у мікроорганізмів; вивчити основні типи бродіння, їх біохімічні механізми; дослідити прояви бродильних процесів та їх біотехнологічне значення.

Матеріали та обладнання: Чисті культури мікроорганізмів (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus sp.*, *Clostridium sp.*); стерильні пробірки; поживні середовища з вуглеводами (глюкоза, лактоза); ферментаційні трубки Дюргема; бактеріологічні петлі; піпетки; термостат; спиртівка; індикатори рН (бромтимоловий синій, фенолфталеїн); мікроскоп; предметні та покривні скельця.

Теоретична частина

Бродіння — це форма анаеробного енергетичного обміну, притаманна багатьом мікроорганізмам, за якої органічні речовини, насамперед вуглеводи, розщеплюються без участі молекулярного кисню. У процесі бродіння відбувається часткове окиснення субстрату, а енергія, необхідна для життєдіяльності клітини, утворюється шляхом **субстратного фосфорилування**, тобто без залучення дихального ланцюга.

Бродіння вважається одним із найдавніших механізмів енергетичного метаболізму, що сформувався ще до появи кисневої атмосфери на Землі. Воно широко поширене серед бактерій, дріжджів і деяких мікроскопічних грибів, які здатні існувати в анаеробних або мікроаерофільних умовах.

Загальною особливістю процесів бродіння є: а) відсутність кисню як кінцевого акцептора електронів; б) утворення відновлених органічних сполук; в) відносно низький енергетичний вихід (2 молекули АТФ з 1 молекули глюкози).

Основні типи бродіння

Спиртове бродіння Спиртове бродіння характерне для дріжджів роду *Saccharomyces* та деяких бактерій. У ході цього процесу глюкоза спочатку розщеплюється в реакціях гліколізу до

пірувату, який далі декарбоксілюється з утворенням ацетальдегіду. Ацетальдегід відновлюється до етилового спирту з одночасним відновленням НАД⁺, необхідного для підтримання гліколізу. Кінцевими продуктами спиртового бродіння є **етанол та вуглекислий газ**. Практичне значення спиртового бродіння надзвичайно велике — воно використовується у хлібопекарстві (розпушення тіста), пивоварінні, виноробстві та виробництві біоетанолу.

Молочнокисле бродіння Молочнокисле бродіння здійснюється молочнокислими бактеріями родів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. У цьому процесі піруват, що утворюється під час гліколізу, безпосередньо відновлюється до молочної кислоти. Утворення молочної кислоти призводить до зниження рН середовища, що пригнічує розвиток сторонньої мікрофлори. Молочнокисле бродіння лежить в основі виробництва кисломолочних продуктів (йогурт, кефір, сметана), квашених овочів, а також відіграє важливу роль у збереженні харчових продуктів.

Маслянокисле бродіння Маслянокисле бродіння відбувається за участю obligatно анаеробних бактерій роду *Clostridium*. У результаті цього процесу утворюються масляна кислота, вуглекислий газ і водень. Маслянокисле бродіння має значення в природних процесах розкладання органічних речовин, а також використовується в біоенергетиці при виробництві біогазу.

Змішані типи бродіння Для деяких бактерій (наприклад, ентеробактерій) характерне змішане бродіння, при якому утворюється комплекс продуктів — органічні кислоти, спирти, гази. Тип кінцевих продуктів залежить від виду мікроорганізму та умов середовища.

Біотехнологічне значення бродіння. Процеси бродіння мають велике біотехнологічне значення і широко застосовуються у: харчовій промисловості; фармацевтичному виробництві; мікробіологічному синтезі органічних кислот, спиртів і ферментів; біоенергетиці (одержання біоетанолу та біогазу); екологічних технологіях переробки органічних відходів.

Хід роботи:

1. Дослідження спиртового бродіння дріжджів

1. У стерильну пробірку налити рідке поживне середовище, що містить глюкозу як основне джерело вуглецю.
2. За допомогою стерильної бактеріологічної петлі внести невелику кількість культури *Saccharomyces cerevisiae* у поживне середовище.
3. Обережно перемішати вміст пробірки круговими рухами для рівномірного розподілу клітин.
4. Установити в пробірку ферментаційну трубку Дюргема таким чином, щоб у ній не залишалось бульбашок повітря.
5. Пробірку помістити в термостат і інкубувати при температурі **28–30 °C** протягом **24–48 годин**.
6. Після інкубації оцінити наявність газу в трубці Дюргема, що свідчить про утворення CO_2 , а також звернути увагу на можливу зміну запаху та реакції середовища.
7. Зробити висновок про інтенсивність спиртового бродіння.

2. Дослідження молочнокислого бродіння

1. Підготувати стерильне поживне середовище, що містить лактозу або глюкозу.
2. Засіяти середовище чистою культурою *Lactobacillus sp.*
3. Додати до середовища рН-індикатор (наприклад, бромтимоловий синій або феноловий червоний).
4. Акуратно перемішати вміст пробірки та помістити її в термостат.
5. Інкубувати при температурі **30–37 °C** протягом **24–48 годин**.
6. Після інкубації оцінити зміну кольору індикатора, що свідчить про зниження рН середовища внаслідок утворення молочної кислоти.
7. Зафіксувати результати спостережень та зробити відповідні висновки.

3. Порівняльна характеристика типів бродіння

1. Порівняти результати спиртового та молочнокислого бродіння за такими показниками:
 - ✓ інтенсивність газоутворення;
 - ✓ зміна кислотності середовища;
 - ✓ швидкість перебігу процесу.
2. Оформити результати у вигляді таблиці або короткого опису.
3. Зробити загальний висновок щодо особливостей та біологічного значення різних типів бродіння.

Контрольні запитання

1. Що таке бродіння і чим воно відрізняється від клітинного дихання?
2. Які основні типи бродіння ви знаєте?
3. Яка роль ферментів у процесах бродіння?
4. Яке біотехнологічне значення спиртового та молочнокислого бродіння?
5. Які мікроорганізми використовуються у промислових бродильних процесах?

Лабораторна робота №18

ФОТОСИНТЕЗ У МІКРООРГАНІЗМІВ: ТИПИ, МЕХАНІЗМИ ТА ЕКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Мета: Ознайомитися з фотосинтезом як метаболічним процесом у мікроорганізмів; вивчити основні типи мікробного фотосинтезу та їх біохімічні механізми; дослідити роль фотосинтезуючих мікроорганізмів у природних екосистемах та біосфері.

Матеріали та обладнання: Чисті культури фотосинтезуючих мікроорганізмів (ціанобактерії *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, пурпурні бактерії *Rhodospirillum sp.*, зелені сіркобактерії *Chlorobium sp.*); поживні середовища; стерильні пробірки та чашки Петрі; джерело світла; термостат; мікроскоп; предметні та покривні скельця;

піпетки; бактеріологічні петлі; індикатори окисно-відновного потенціалу.

Теоретична частина

Фотосинтез у мікроорганізмів: типи, механізми та екологічне значення: Фотосинтез у мікроорганізмів — це сукупність фотохімічних і біохімічних процесів, у результаті яких енергія світла перетворюється на енергію хімічних зв'язків органічних сполук. У ході фотосинтезу відбувається фіксація неорганічного вуглецю (CO_2) з утворенням органічних речовин, що забезпечують ріст і розвиток клітин.

На відміну від вищих рослин, фотосинтезуючі мікроорганізми демонструють **надзвичайну метаболічну різноманітність**, яка проявляється у: використанні різних донорів електронів; наявності різних фотосинтетичних пігментів; альтернативних шляхах фіксації вуглецю; здатності до фотосинтезу за анаеробних умов.

Фотосинтез у мікроорганізмів є ключовим процесом еволюції біосфери, оскільки саме ці організми першими почали перетворювати світлову енергію на хімічну.

1. Фотосинтезуючі мікроорганізми

До фотосинтезуючих мікроорганізмів належать кілька екологічно та фізіологічно різних груп: **Ціанобактерії** — прокаріотичні організми, що здійснюють кисневий фотосинтез. Вони здатні до фіксації CO_2 і, в окремих видів, атмосферного азоту (у гетероцистах). **Пурпурні бактерії** — фототрофні прокаріоти, які здійснюють аноксигенний фотосинтез та використовують сірководень, органічні речовини або водень як донори електронів. **Зелені сіркобактерії** — облігатні анаероби, які здійснюють аноксигенний фотосинтез із використанням H_2S та відкладають елементарну сірку поза клітиною.

Ці мікроорганізми широко поширені у водоймах, донних відкладах, ґрунтах, біоплівках та екстремальних середовищах.

2. Типи фотосинтезу у мікроорганізмів

Кисневий фотосинтез здійснюється ціанобактеріями та є аналогічним фотосинтезу вищих рослин. У цьому процесі: донором електронів є вода; відбувається фотоліз води; побічним продуктом є молекулярний кисень (O_2). Світлова фаза фотосинтезу

забезпечує утворення АТФ і НАДФ·Н, які використовуються в темновій фазі для фіксації CO_2 у циклі Кальвіна.

Аноксигенний фотосинтез

Аноксигенний фотосинтез характерний для пурпурних і зелених бактерій. Його особливості: відсутність виділення кисню; використання альтернативних донорів електронів (H_2S , H_2 , органічні сполуки); участь одного фотосистемного комплексу. Фіксація вуглецю у таких бактерій може здійснюватися не лише циклом Кальвіна, а й зворотним циклом трикарбонових кислот або іншими шляхами.

3. Пігменти фотосинтезуючих мікроорганізмів

Фотосинтезуючі мікроорганізми містять широкий спектр пігментів, які забезпечують ефективне поглинання світла різних довжин хвиль: **хлорофіли (a, b, c)** — основні пігменти кисневого фотосинтезу; **бактеріохлорофіли** — характерні для аноксигенних фототрофів; **каротиноїди** — виконують світлозахисну та допоміжну світлопоглинальну функцію; **фікобіліни** (фікоціанін, фікоеритрин) — водорозчинні пігменти ціанобактерій, що формують фікобілісомні комплекси. Завдяки такому пігментному складу фотосинтезуючі мікроорганізми здатні заселяти екологічні ніші з різною інтенсивністю та спектральним складом світла.

4. Екологічне значення фотосинтезу у мікроорганізмів

Фотосинтезуючі мікроорганізми є **первинними продуцентами** у багатьох водних та ґрунтових екосистемах. Вони беруть участь у глобальному кругообігу вуглецю, азоту та сірки; збагачують атмосферу киснем; формують основу трофічних ланцюгів; відіграють ключову роль у самоочищенні водойм; є біоіндикаторами стану водних екосистем.

Хід роботи

1. Вивчення морфології фотосинтезуючих мікроорганізмів

- ✓ Підготувати прижиттєві препарати культур ціанобактерій (*Anabaena*, *Nostoc*).
- ✓ Розглянути препарати під мікроскопом (об'єктив $8\times$ і $40\times$).
- ✓ Звернути увагу на форму клітин, нитчасту будову, наявність гетероцист (за наявності).

2. Дослідження росту фотосинтезуючих бактерій

- ✓ Висіяти культури пурпурних або зелених бактерій на поживне середовище.
- ✓ Інкубувати культури за умов освітлення.
- ✓ Оцінити інтенсивність росту та забарвлення колоній.

3. Визначення типу фотосинтезу

- ✓ Порівняти умови росту мікроорганізмів при наявності та відсутності кисню.
- ✓ Визначити можливість утворення кисню або відновлених сполук сірки.
- ✓ Зробити висновок щодо типу фотосинтезу.

Контрольні запитання.

1. Які групи мікроорганізмів здатні до фотосинтезу?
2. Чим відрізняється кисневий і аноксигенний фотосинтез?
3. Які пігменти беруть участь у фотосинтезі мікроорганізмів?
4. Яке екологічне значення фотосинтезуючих бактерій і ціанобактерій?
5. Яку роль відіграли фотосинтезуючі мікроорганізми в еволюції біосфери?

Лабораторна робота №19–20

БІОСИНТЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ У МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Мета: Ознайомитися з біосинтетичними процесами у мікроорганізмів; вивчити основні напрями мікробного синтезу біологічно активних речовин; дослідити умови, що впливають на перебіг біосинтезу, та оцінити їх біотехнологічне значення.

Матеріали та обладнання: Чисті культури мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*); стерильні пробірки; поживні середовища (м'ясо-пептонний бульйон, середовище з глюкозою та джерелами азоту); бактеріологічні петлі; піпетки; термостат; спиртівка; індикатори рН; мікроскоп; предметні та покривні скельця; центрифуга (за наявності).

Теоретична частина

Біосинтетичні процеси мікроорганізмів та їх біотехнологічне використання

Біосинтетичні процеси — це сукупність ферментативно керованих анаболічних реакцій, у ході яких мікроорганізми синтезують складні органічні молекули з простіших сполук. Біосинтез є складовою **пластичного обміну** та забезпечує формування клітинних структур, накопичення запасних речовин і синтез вторинних метаболітів.

Для біотехнології особливу цінність має здатність мікроорганізмів: швидко нарощувати біомасу; синтезувати цільові продукти у великих кількостях; використовувати дешеві субстрати; адаптуватися до контрольованих умов культивування.

Біосинтетичні процеси можуть бути спрямовані як на **первинний метаболізм** (біомаса, ферменти, амінокислоти), так і на **вторинний метаболізм** (антибіотики, токсини, пігменти), що має ключове значення для промислової біотехнології.

1. Синтез білків і ферментів

Синтез білків у мікроорганізмів відбувається на рибосомах за участю мРНК, тРНК та комплексу ферментів трансляції. Ферменти, що синтезуються клітиною, виконують функції біокатализаторів усіх метаболічних процесів.

У біотехнології мікроорганізми широко використовуються як **продуценти ферментів** (амілаз, протеаз, целюлаз, ліпаз), які: секретуються в середовище; є термостабільними; зберігають активність у широкому діапазоні рН. Процес синтезу ферментів залежить від: складу поживного середовища; наявності індукторів або репресорів; температури, рН та аерації.

2. Синтез амінокислот

Багато бактерій і грибів здатні синтезувати амінокислоти, які є незамінними для людини. Особливо важливим є промисловий синтез: **лізину** (*Corynebacterium glutamicum*); **глутамінової кислоти**; **треоніну**, **триптофану**. Для біотехнологів ключовим є керування метаболічними шляхами шляхом: селекції високопродуктивних штамів; генетичної модифікації; оптимізації складу середовища.

3. Синтез вітамінів

Мікроорганізми є ефективними продуцентами водорозчинних вітамінів: вітамінів групи В (B_2 , B_6 , B_{12}); вітаміну С; вітаміну К. Мікробний синтез вітамінів є екологічно безпечним та економічно доцільним у порівнянні з хімічним синтезом.

4. Синтез антибіотиків та вторинних метаболітів

Антибіотики є продуктами **вторинного метаболізму**, характерного для актиноміцетів (*Streptomyces*), грибів і деяких бактерій (*Bacillus*). Їх синтез: не пов'язаний безпосередньо з ростом клітин; активується на стаціонарній фазі росту; залежить від стресових факторів та обмеження поживних речовин.

5. Синтез полісахаридів і ліпідів

Мікроорганізми здатні синтезувати: екзополісахариди (ксантан, декстран); ліпіди та жирні кислоти; мікробні масла для біопалива. Ці процеси мають велике значення для виробництва біополімерів, загусників, емульгаторів та альтернативних джерел енергії.

6. Біотехнологічне значення біосинтетичних процесів

Біосинтез мікроорганізмів є основою: фармацевтичної біотехнології; харчової та кормової промисловості; екологічної біотехнології; виробництва біоактивних речовин і біоматеріалів.

Хід роботи

1. Дослідження синтезу біомаси мікроорганізмів

1. Підготувати стерильне рідке поживне середовище (м'ясо-пептонний бульйон або LB).
2. Асептично внести добову культуру *Escherichia coli*.
3. Інкубувати при температурі **37 °C** протягом **24 годин** за умов аерації.
4. Візуально оцінити помутніння середовища як показник накопичення біомаси.
5. За можливості визначити оптичну густину суспензії.
6. Зробити висновок про інтенсивність біосинтезу клітинних компонентів.

2. Вивчення синтезу ферментів бактеріями

1. Засіяти поживне середовище культурою *Bacillus subtilis*.
2. Інкубувати при оптимальній температурі росту протягом 24–48 годин.

3. Після інкубації оцінити: А) зміну рН середовища; Б) прозорість або наявність зон гідролізу (за використання індикаторних середовищ). Зробити висновок про екзоферментативну активність культури.

3. Спостереження біосинтетичної активності дріжджів

1. Підготувати середовище з глюкозою як джерелом вуглецю.

2. Засіяти середовище культурою *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Інкубувати при температурі **28–30 °C** протягом 24–48 годин.

4. Оцінити: а) інтенсивність росту; б) утворення метаболітів; в) зміну рН середовища.

Зробити висновок щодо ролі дріжджів як біотехнологічних продуцентів.

4. Аналіз та узагальнення результатів

Порівняти біосинтетичну активність бактерій і дріжджів. Визначити зв'язок між ростом клітин і синтезом продуктів. Сформулювати загальний висновок щодо біотехнологічного потенціалу досліджуваних мікроорганізмів.

Контрольні запитання:

1. Що таке біосинтез і яке його значення для клітини?
2. Які основні біосинтетичні процеси відбуваються у мікроорганізмів?
3. Яка роль ферментів у біосинтетичних реакціях?
4. Які мікроорганізми є продуцентами антибіотиків і вітамінів?
5. У яких галузях використовується мікробний біосинтез?

Лабораторна робота №21

МІКРООРГАНІЗМИ ЯК КОМПОНЕНТИ ПОВІТРЯНОЇ ЕКОСИСТЕМИ

Мета: Ознайомитися з мікрофлорою повітря; вивчити кількісний і якісний склад мікроорганізмів повітряного середовища; дослідити фактори, що впливають на мікробне забруднення повітря.

Матеріали та обладнання: Чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром; стерильні пінцети; спиртівка; термостат; маркер; мікроскоп; предметні та покривні скельця.

Теоретична частина

Мікрофлора повітря та її значення в біотехнологічних процесах

Повітря не є природним середовищем активного росту мікроорганізмів, однак воно відіграє ключову роль як **фактор поширення та контамінації** бактерій, мікроскопічних грибів і їх спор.

Мікроорганізми потрапляють у повітря з поверхні ґрунту, води, рослин, тварин і людини, а також унаслідок виробничої діяльності.

Для біотехнології аеромікрофлора має особливе значення, оскільки саме повітря є одним з основних джерел: контамінації поживних середовищ; інфікування культур у біореакторах; порушення стерильності в лабораторіях і виробництвах; зниження виходу цільових біопродуктів.

1. Склад аеромікрофлори

У повітрі зазвичай виявляють: **спороутворюючі бактерії** (*Bacillus*, *Clostridium* — у вигляді спор); **коки** (стафілококи, мікрококи); **плісняві гриби** (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*); **дріжджі**. Домінування спороутворюючих форм пояснюється їх високою стійкістю до висихання, ультрафіолетового випромінювання та температурних коливань.

2. Фактори, що впливають на мікробну забрудненість повітря

Кількість і якісний склад аеромікрофлори залежать від: вологості та температури повітря; інтенсивності повітрообміну; кількості людей в приміщенні; санітарного стану та регулярності прибирання; наявності вентиляційних і фільтраційних систем. У біотехнологічних лабораторіях ці фактори суворо контролюються для забезпечення стерильності процесів.

3. Аеромікрофлора як показник санітарного стану

Кількісні та якісні показники аеромікрофлори використовують для: оцінки чистоти приміщень; контролю ефективності вентиляції; валідації асептичних умов; моніторингу біологічної безпеки. У

промисловій біотехнології контроль повітря є обов'язковою складовою систем **GMP** та **біобезпеки**.

4. Біотехнологічне значення дослідження повітря

Дослідження аеромікрофлори є важливим для: фармацевтичної біотехнології; виробництва ферментів і вакцин; клітинних і мікробних культур; стерильних та напівстерильних біопроцесів

Хід роботи

1. Підготовка до дослідження

Підготувати стерильні чашки Петрі з поживним середовищем (м'ясо-пептонний агар або універсальний агар). Промаркувати чашки із зазначенням місця відбору проб, часу та дати. Визначити точки відбору повітря (аудиторія, коридор, лекційне приміщення).

2. Осаджувальний метод відбору проб (метод Коха)

Асептично відкрити чашки Петрі з поживним середовищем. Розмістити чашки на горизонтальній поверхні на висоті 0,8–1,2 м від підлоги. Залишити чашки відкритими на **5–10 хвилин**, уникаючи різких рухів повітря. Після експозиції щільно закрити чашки кришками.

3. Інкубація посівів

Помістити чашки в термостат. Інкубувати при температурі **30–37 °C** протягом **24–48 годин**. Зафіксувати появу колоній та динаміку росту.

4. Кількісна оцінка аеромікрофлори

Підрахувати кількість колоній на кожній чашці. За потреби перевести кількість колоній у умовні показники мікробного забруднення повітря. Порівняти показники між різними приміщеннями.

5. Якісна оцінка та аналіз морфології колоній

Описати морфологічні особливості колоній:

- форма та розмір;
- колір;
- структура поверхні;
- характер країв.

Визначити можливу належність колоній до бактерій або грибів. Оцінити потенційний ризик контамінації біотехнологічних процесів.

6. Узагальнення результатів

Зробити висновок щодо санітарного стану повітря в досліджуваному приміщенні. Оцінити значення аеромікрофлори для забезпечення асептичних умов у біотехнології. Сформулювати рекомендації щодо зменшення мікробного навантаження повітря.

Контрольні запитання:

1. Які джерела мікроорганізмів у повітрі?
2. Чому повітря не є середовищем активного розмноження мікроорганізмів?
3. Які фактори впливають на мікробне забруднення пові?

Лабораторна робота №22

МІКРООРГАНІЗМИ ЯК КОМПОНЕНТИ ВОДНОЇ ЕКОСИСТЕМИ

Мета: Ознайомитися з мікрофлорою води; дослідити роль мікроорганізмів у водних екосистемах; вивчити вплив якості води на її мікробіологічний склад.

Матеріали та обладнання: Проби води (річкова, водопровідна, стояча); стерильні пробірки; поживні середовища; піпетки; термостат; мікроскоп; предметні та покривні скельця.

Теоретична частина

Вода є універсальним середовищем існування мікроорганізмів і одним із ключових об'єктів дослідження в екологічній та промисловій біотехнології. У водних екосистемах мікроорганізми формують складні мікробні угруповання, що включають бактерії, ціанобактерії, мікроскопічні гриби та найпростіші.

Мікроорганізми води виконують функції **редуцентів**, беруть участь у розкладанні органічних речовин, трансформації сполук вуглецю, азоту, фосфору та сірки, а також забезпечують процеси самоочищення водойм. Саме ці властивості лежать в основі застосування мікроорганізмів у біологічному очищенні стічних вод та створенні біореакторів.

1. Мікробіологічний склад води

Мікробіологічний склад води залежить від: походження води (поверхнева, ґрунтова, стічна); температурного режиму; вмісту органічних і неорганічних речовин; рівня антропогенного забруднення.

У воді можуть бути присутні: сапрофітні бактерії; нітрифікуючі та денітрифікуючі бактерії; целюлозоруйнівні та вуглеводнеокиснювальні мікроорганізми; умовно-патогенні та патогенні форми.

Для біотехнологів важливим є розуміння **функціональної ролі** цих мікроорганізмів, а не лише їх таксономічного складу.

2. Роль мікроорганізмів у процесах самоочищення води

Самоочищення водойм ґрунтується на діяльності мікроорганізмів, які: окиснюють органічні забруднювачі; беруть участь у нітрифікації та денітрифікації; перетворюють токсичні сполуки у менш небезпечні форми.

Ці процеси є біологічною основою технологій: біофільтрів; біоплівкових реакторів; очисних споруд замкненого водопостачання (УЗВ).

3. Мікробіологічні показники як інструмент біоіндикації

Кількісний та якісний склад мікроорганізмів води є важливим **біоіндикатором** її санітарного стану. Збільшення чисельності сапрофітної мікрофлори свідчить про органічне забруднення, тоді як домінування специфічних груп бактерій може вказувати на надлишок біогенних елементів або токсичних сполук.

Для біотехнологів це має значення при: проектуванні систем очищення води; моніторингу ефективності біопроектів; оцінці стабільності біореакторів.

4. Біотехнологічне значення мікроорганізмів води

Мікроорганізми водного середовища використовуються у: екологічній біотехнології; системах біологічного очищення стічних вод; біоремедіації забруднених водойм; водних біореакторах і аквакультури; моніторингу якості води.

Хід роботи

1. Відбір проб води

- ✓ Підготувати стерильні пробірки або флакони з щільними кришками.

- ✓ Відібрати проби води з різних джерел (водопровідна, поверхнева, стічна — за наявності).
 - ✓ Наповнювати посудину, уникаючи утворення бульбашок повітря.
 - ✓ Маркувати проби із зазначенням джерела, дати та температури води.
 - ✓ Доставити проби до лабораторії в найкоротший термін.
- 2. Посів проб на поживні середовища**
- ✓ Асептично відібрати визначений об'єм води (0,1–1,0 мл).
 - ✓ Засіяти проби на універсальні поживні середовища (м'ясо-пептонний агар, середовища для водної мікрофлори).
 - ✓ За потреби виконати серійні розведення для кількісного аналізу.
 - ✓ Рівномірно розподілити матеріал по поверхні середовища.
- 3. Інкубація культур**
- ✓ Помістити засіяні чашки або пробірки в термостат.
 - ✓ Інкубувати при температурі **30 °C** протягом **24–48 годин**.
 - ✓ Зафіксувати зміни в рості мікроорганізмів у динаміці.
- 4. Оцінка кількісного та якісного складу мікрофлори**
- ✓ Підрахувати кількість колоній (КУО/мл) за необхідності.
 - ✓ Оцінити морфологічні особливості колоній:
 - розмір;
 - форму;
 - колір;
 - поверхню та край.
 - ✓ Зробити висновок про рівень мікробного забруднення води.
 - ✓ Порівняти результати між різними джерелами води.
- 5. Узагальнення результатів**
- ✓ Проаналізувати зв'язок між мікробіологічними показниками та походженням води.
 - ✓ Оцінити біотехнологічний потенціал або санітарний стан досліджуваної води.
 - ✓ Сформулювати висновки щодо можливості використання біологічних методів очищення.

Контрольні запитання:

1. Яку роль відіграють мікроорганізми у водних екосистемах?
2. Від чого залежить мікробне забруднення води?
3. Які показники використовують для оцінки якості води?

Лабораторна робота №23

МІКРООРГАНІЗМИ ЯК КОМПОНЕНТИ ҐРУНТОВОЇ ЕКОСИСТЕМИ

Мета: Ознайомитися з мікрофлорою ґрунту; дослідити роль мікроорганізмів у ґрунтових екосистемах; вивчити їх участь у кругообігу речовин.

Матеріали та обладнання: Проби ґрунту; стерильні пробірки; поживні середовища; піпетки; бактеріологічні петлі; термостат; мікроскоп; предметні та покривні скельця.

Теоретична частина

Ґрунтові мікроорганізми та їх роль у біотехнологічних процесах. Ґрунт є складною багатофазною системою, що поєднує тверду, рідку та газову фази, і одним із найбільш насичених мікроорганізмами середовищ існування на Землі. У 1 г родючого ґрунту може міститися від 10^6 до 10^{10} мікробних клітин, які утворюють динамічні мікробні угруповання.

Ґрунтові мікроорганізми є основними учасниками **біогеохімічних циклів** і відіграють ключову роль у підтриманні родючості ґрунту та стабільності екосистем. Для біотехнології ґрунт є не лише середовищем існування мікроорганізмів, а й **джерелом промислово цінних штамів**.

1. Основні групи ґрунтових мікроорганізмів

У ґрунті присутні: **гетеротрофні бактерії**, що здійснюють мінералізацію органічних речовин; **актиноміцети**, здатні розкладати складні полімери та синтезувати антибіотики; **мікроскопічні гриби**, які беруть участь у гумусоутворенні; **азотфіксуючі бактерії** (*Azotobacter*, *Rhizobium*); ***нітрифікуючі та денітрифікуючі бактерії**.

Кожна з цих груп виконує специфічні функції, важливі для біотехнологічних процесів.

2. Біогеохімічна роль ґрунтових мікроорганізмів

Ґрунтові мікроорганізми беруть участь у: розкладі рослинних і тваринних решток; мінералізації органічного вуглецю; фіксації атмосферного азоту; процесах нітрифікації та денітрифікації; утворенні гумусу та структурі ґрунту.

Ці процеси є основою **аграрної біотехнології**, біоремедіації та виробництва мікробних препаратів для покращення ґрунтів.

3. Ґрунт як джерело біотехнологічних мікроорганізмів

Багато промислово важливих мікроорганізмів було виділено саме з ґрунту: продуценти антибіотиків (*Streptomyces*); ферментопродуценти; мікроорганізми для біодеградації пестицидів і нафтопродуктів; біоінокулянти для рослин.

Тому мікробіологічне дослідження ґрунту є першим етапом біотехнологічного відбору перспективних штамів.

4. Біотехнологічне значення ґрунтових мікроорганізмів

Ґрунтові мікроорганізми широко застосовуються у: виробництві біодобрив і біопрепаратів; екологічній біотехнології (біоремедіація); аграрних технологіях; пошуку нових антибіотиків і ферментів; біотехнології відновлення деградованих ґрунтів.

Хід роботи

1. Підготовка ґрунтової суспензії

Відібрати зразок ґрунту (5–10 г) з глибини 5–10 см, уникаючи поверхневих забруднень. Помістити ґрунт у стерильну колбу або пробірку з 90 мл стерильного фізіологічного розчину. Інтенсивно перемішувати або струшувати протягом 10–15 хвилин для відокремлення мікроорганізмів від ґрунтових часток. За необхідності приготувати серійні розведення ґрунтової суспензії.

2. Посів ґрунтової проби на поживні середовища

Асептично відібрати 0,1–1,0 мл ґрунтової суспензії. Засіяти на універсальні поживні середовища (м'ясо-пептонний агар, середовище Чапека, крохмально-аміачний агар — за можливості). Рівномірно розподілити інокулят по поверхні середовища стерильним шпателем. Промаркувати чашки із зазначенням розведення та дати посіву.

3. Інкубація культур

- ✓ Інкубувати посіви в термостаті при температурі **30 °С**. Тривалість інкубації — **48 годин** (для актиноміцетів і грибів — до 5 діб). Проводити щоденний візуальний контроль росту.

4. Оцінка морфології колоній

- ✓ Оцінити кількість колоній та їх різноманітність.
- ✓ Проаналізувати морфологічні ознаки колоній:
 - форма;
 - розмір;
 - колір;
 - структура поверхні;
 - характер краю.

Визначити наявність бактеріальних, грибних та актиноміцетних колоній. Зробити висновок щодо біорізноманіття ґрунтової мікрофлори.

5. Узагальнення результатів

- ✓ Порівняти інтенсивність росту мікроорганізмів у різних розведеннях.
- ✓ Оцінити потенціал ґрунту як джерела біотехнологічно цінних мікроорганізмів.
- ✓ Сформулювати висновки щодо ролі ґрунтових мікроорганізмів у біотехнології.

Контрольні запитання:

1. Які функції виконують ґрунтові мікроорганізми?
2. Які фактори впливають на мікробну активність ґрунту?
3. Яке значення ґрунтових мікроорганізмів для сільського господарства?

Список використаної літератури:

1. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології : підручник. К. : Либідь, 2001. 312 с.
2. Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Білінська І. С. Мікробіологія : підручник. Львів : ВЦ ЛНУ ім. І. Франка, 2009. 360 с.
3. Практична мікробіологія : посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко, В. П. Широкобоков. Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. 440 с.
4. Ястремська Л. С., Малиновська І. М. Загальна мікробіологія і вірусологія : навч. посібник. Київ : НАУ, 2019. 232 с.
5. Ібатуліна Ф. Ж., Козловська Г. В., Мельник М. В., Скибіцький В. Г. Мікробіологія : підручник. Київ, 2015. 475 с.
6. Загальна мікробіологія та вірусологія. Лабораторний практикум : навчальний посібник / Л. Б. Орябінська, Л. П. Дзигун, Л. О. Титова. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 121 с.
7. Яворська Г. В., Гудзь С. П., Гнатуш С. О. Промислова мікробіологія : навч. посіб. Львів : Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008. 256 с.
8. Гудзь С. П., Перетятко Т. Б., Павлова Ю. О. Загальна вірусологія : навчальний посібник. Львів : Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2010. 264 с.
9. Практична мікробіологія : навчальний посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, В. П. Широкобоков; за заг. ред.: В. П. Широкобокова, С. І. Климнюка. Вінниця : Нова книга, 2018. 576 с.
10. Загальна мікробіологія : лабораторний практикум для студентів спеціальності 101 «Екологія» / І. В. Матвєєва, Р. М. Крамаренко, Т. І. Білик. Київ : НАУ, 2013. 80 с.
11. Єгорова А. В., Капрельянц Л. В., Труфкаті Л. В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
12. Ризик-орієнтований контроль риби і рибопродуктів під час виробництва та обігу за впровадження системи НАССР / Н. М. Богатко, Т. В. Полтавченко, З. М. Буднік, А. Ф. Богатко. *Вісник НУВГП. Сільськогосподарські науки : зб. наук. праць*. Рівне : НУВГП, 2022. Вип. 4(100). С. 20–37.