

## **Ćwiczenie 1**

### **Wprowadzenie do hodowli kultur bakteryjnych**

1. **Omówienie przepisów BiHP w pracowni mikrobiologicznej.**
2. **Pożywki i podłoża bakteriologiczne.** Skład (demonstracja składników). Cechy pożywki. Podział. Kolejność postępowania podczas przygotowywania pożywki.  
*Pokaz.* Obserwacja wyglądu kolonii bakteryjnych na różnych podłożach: McConkeya, Sabouroda, Luria-Bertani (LA), podłoże z mannitolem, podłoże różnicujące CHROMagar
3. Przygotowanie w warunkach jałowych płytek z pożywką LA.
4. **Technika posiewu bakterii**
  - a) Wykonanie posiewu redukcyjnego bakterii *E. coli* (każdy student wykonuje taki posiew) (*každorazowo przed pobraniem materiału opalamy eżę w płomieniu palnika*).
  - b) Wykonanie posiewu bakterii *E. coli* w postaci murawy (każdy z pary wykonuje jeden taki posiew, 3 pary - *E. coli*, 3 pary- *B. subtilis*). Na płytkę nanieść 0.1 ml płynnej hodowli bakterii. Rozetrzeć zawiesinę głaszczką po całej powierzchni płytki. (płytki te będą użyte do eksperymentu z bakteriobójczym promieniowaniem UV, **p. 5**)
  - c) Wykonanie posiewu na słupek lub skos. Pobrać eżę pojedynczą kolonię bakteryjną lub oczko z hodowli płynnej, a następnie wkluć eżę w słupek agarowy lub rozprowadzić po powierzchni skosu (*každorazowo przed pobraniem materiału opalamy eżę w płomieniu palnika*). Każda para wykorzystuje 1 słupek i 1 skos. Wszystkie płytki (oprócz p.b) wstawić do inkubacji w 37°C.
5. **Metody jałowienia:** autoklaw i pasteryzacja przez gotowanie. (1 próbówka/na parę)  
Sterylną pożywkę LB rozlać do 6-ciu probówek po 5 ml. Następnie do probówek 1, 2, 3 wsiać po 100 µl nocnej hodowli *E.coli* do probówek 4, 5, 6 kropli nocnej hodowli *B. subtilis*. Probówki **1 i 4** jałować 30min w autoklawie przy 1 atm nadciśnienia, probówki **2 i 5** jałować 30 min poprzez gotowanie w wodzie, probówek **3 i 6** nie jałować! (kontrola żywotności bakterii).  
Wszystkie próbówki wstawić do inkubacji w 37°C.
6. **Bakteriobójcze działanie promieniowania UV.**  
Płytki z bakteriami *E. coli* i *B. subtilis* posianymi uprzednio „na murawę” (**p.4.b**) poddać promieniowaniu UV 0, 1, 5, 8, 12 min (w zależności od liczebności grupy). Płytki napromieniowywane odkryć do połowy. Następnie wszystkie płytki wstawić do inkubacji w 37°C.