

Gerhart Drews

# Mikrobiologisches Praktikum

Vierte, neubearbeitete Auflage

Mit 54 Abbildungen

Springer-Verlag  
Berlin Heidelberg New York Tokyo 1983

# Inhaltsverzeichnis

I. Die Kultur von Mikroorganismen .....	1
1. Nährmedien .....	1
a) Allgemeine Gesichtspunkte .....	1
b) pH-Wert, Pufferkapazität .....	2
c) Wasseraktivität .....	4
d) Kohlenstoff-, Stickstoff-, Schwefel- quellen der Nährlösungen .....	4
e) Organische Zusätze .....	10
f) Anorganische Ionen .....	11
g) Gelierungsmittel .....	12
h) Sauerstoff .....	13
i) Ansetzen von Nährmedien .....	15
Literatur .....	16
2. Kulturgefäße und ihre Verschlüsse .....	17
3. Sterilisation .....	19
a) Sterilisation durch trockene Heißluft .....	19
b) Sterilisation im Dampf .....	20
c) Sterilisation durch Filtration .....	22
d) Andere Sterilisationsverfahren .....	23
Literatur .....	24
4. Prinzipien des sterilen Arbeitens, Sicherheit im Labor .....	25
5. Kulturtechnik .....	28
a) Aerobe Verfahren .....	28
b) Anaerobe Verfahren .....	32
Literatur .....	36
c) Kontinuierliche Kultur .....	36
Literatur .....	44
II. Die Anreicherung und Isolierung von Mikroorganismen .....	45
1. Anreicherung von Bakterien und Cyanobakterien .....	46
2. Anreicherung von Pilzen .....	69
3. Anreicherung von Bakteriophagen .....	70
4. Isolierung aminosäurebedürftiger Mutanten von <i>Escherichia coli</i> .....	72

5. Reinkultur .....	75
a) Koch-Plattengußverfahren und Plattieren auf Agaroberflächen .....	75
b) Reinkultur von Anaerobiern .....	79
c) Das Lindner-Tröpfchenverfahren .....	82
d) Der Mikromanipulator .....	83
e) Pipettier- und Waschmethode .....	83
Literatur .....	84
III. Die Untersuchung der Morphologie und Cytologie von Mikroorganismen .....	86
1. Mikroskopische Beobachtungen an der lebenden Zelle .....	86
a) Phasenkontrastverfahren (Grundlagen)	86
b) Die wichtigsten Regeln für eine erfolgreiche Phasenkontrastmikroskopie	87
c) Herstellung von Objektträger- Agarkulturen .....	88
d) Gesichtspunkte bei der Auswahl und Betrachtung der Lebendpräparate .....	89
e) Längenmessungen mit dem Mikroskop ...	91
f) Mikroskopische Beobachtung von Pilzmaterial .....	91
2. Beobachtungen an makroskopisch sichtbaren Zellansammlungen .....	92
3. Die Untersuchung fixierter und gefärbter Objekte .....	94
a) Herstellung von Ausstrichpräparaten	94
b) Durchführung der Färbungen .....	95
Literatur .....	104
IV. Methoden zur Identifizierung von Bakterien	105
1. Prinzipien der Taxonomie .....	105
2. Biochemische und physiologische Verfahren .....	107
a) Bewegungsfähigkeit von Bakterien ....	107
b) Vergärung von Zuckern .....	107
c) Indolnachweis .....	111
d) H <sub>2</sub> S-Nachweis .....	112
e) Ureasenachweis .....	112
f) Nachweis proteolytischer Exoenzyme ..	113
g) Voges-Proskauer-Reaktion .....	113
h) Amylasen .....	114
i) Denitrifikation .....	114
k) Aromatenringsspaltung .....	115
l) Zitratverwertung .....	115
m) Oxidasenachweis .....	116
n) Arginin-Dihydrolase und Lysin- Decarboxylase .....	117

o) Katalase .....	118
p) Multidifferenzierungs-nährboden (nach Kligler) .....	118
3. Schema des Isolierungsganges bei Verdacht auf <i>Salmonella</i> - und <i>Shigella</i> - Infektionen .....	119
4. Isolierung und Identifizierung von apathogenen <i>Pseudomonas</i> -Arten .....	120
5. Bestimmung von phototrophen Bakterien der Familie Rhodospirillaceae .....	124
6. Isolierung von chromosomaler DNA aus <i>Rhodopseudomonas capsulata</i> und Bestimmung des molaren Anteiles an Guanin und Cytosin an der Gesamt-DNA .....	129
Literatur .....	131
 V. Die Messung von Wachstum und Vermehrung ..	132
1. Direkte Bestimmung der Zellzahl (Gesamtkeimzahl) .....	132
a) Thoma-Kammer .....	132
b) Membranfiltermethode .....	134
2. Plattieren auf Nähragar (Lebendkeimzahlbestimmung) .....	136
a) Lebendkeimzahlbestimmung auf Agarplatten .....	137
b) Lebendkeimzahlbestimmung im Agartropfen .....	137
3. Methoden zur Bestimmung der Bakterienmasse (Nephelometrie) .....	139
4. Bestimmung der Zelltrockenmasse .....	141
5. Proteinbestimmung .....	142
a) Proteinbestimmung (nach LOWRY et al.)	142
b) Biuret-methode (nach STICKLAND) .....	143
6. Messung von Wachstum und Vermehrung ...	143
7. Das Wachstum myzelbildender Organismen	148
Literatur .....	150
 VI. Bakteriophagen .....	151
1. Nachweis und quantitative Bestimmung von Phagen .....	151
2. Wirtskreis .....	154
3. Einschnitt-Wachstumskurve .....	155
4. Fluktuationstest .....	156
Literatur .....	158

VII.	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> .....	159
	Literatur .....	160
VIII.	Nachweis und quantitative Bestimmung von Stoffen mit Hilfe von Mikroorganismen (Niacintest) .....	162
	Literatur .....	165
IX.	Antibiotica und Desinfektionsmittel .....	166
	1. Nachweis der Antibioticaproduktion bei isolierten Streptomyceten (qualitativer Test) .....	166
	2. Quantitative Bestimmung der Antibiotica	168
	a) Agardiffusionstest .....	168
	b) Reihenverdünnungstest .....	176
	Literatur .....	177
	3. Prüfung von Desinfektionsmitteln .....	178
	4. Produktion von Penicillin durch <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	179
	5. Versuche zur Wirkung von Antibiotica ..	181
	a) Penicillin .....	181
	b) Chloramphenicol, Streptomycin und Puromycin .....	184
	Literatur .....	187
X.	Serologische Methoden .....	188
	1. Agglutination .....	189
	2. Präzipitation .....	191
	a) Präzipitation in der Interphase ....	191
	b) Quantitative Präzipitationsreaktion	191
	c) Agargelpräzipitation .....	192
	3. Komplementbindungsreaktion - Immunhämolyse .....	193
	4. Hämagglutinationshemmungsreaktion (Neutralisation) .....	196
	5. Immunochemische Analyse von Membran- proteinen mit Hilfe der zweidimen- sionalen Immunelektrophorese .....	197
	Literatur .....	199
XI.	Isolierung und Untersuchung von Membranstrukturen .....	200
	1. Homogenisation .....	200

2. Isolierung von intracytoplasmatischen Membranen (ICM) aus Bakterien (Zonenzentrifugation) .....	202
Literatur .....	206
3. Aufnahme eines In-vivo-Absorptions-spektrums intracytoplasmatischer Membranen .....	206
4. Photophosphorylierung .....	208
Literatur .....	214
5. Membrandifferenzierung bei photosynthetischen Bakterien .....	214
Literatur .....	221
XII. Versuche zur Energiegewinnung und Wachstum	222
1. Bestimmung von $Y_g$ bei <i>Wolinella succinogenes</i> .....	222
Literatur .....	226
2. Dissimilatorische Nitratreduktion bei <i>Paracoccus denitrificans</i> (Denitrifikation)	226
Literatur .....	233
3. Gärung, Atmung, Pasteur-Effekt .....	233
4. Wasserstoffproduktion durch Nitrogenase .....	236
Literatur .....	237
XIII. Versuche zur Regulation der Enzymaktivität und Enzymsynthese .....	238
1. Induktion der Synthese von $\beta$ -Galactosidase in <i>Escherichia coli</i> .....	238
2. Regulation der Threonindehydratase aus Hefe .....	240
3. Induktive Synthese der Enzyme des Mandelsäureweges bei <i>Pseudomonas putida</i> ..	242
Literatur .....	245
XIV. Genübertragung bei Bakterien .....	246
1. Genmobilisierung bei <i>Rhodospseudomonas capsulata</i> .....	246
a) Isolierung von Mutanten mit Defekten im Photosyntheseapparat, Aminosäurebedarf, Rifampicinresistenz .....	247
b) Konjugative Plasmidübertragung und Genmobilisierung .....	248

Literatur .....	250
XV. Versuche zur Phototaxis bei Bakterien und Cyanobakterien .....	251
Literatur .....	253
XVI. Produktion von Zitronensäure durch <i>Aspergillus niger</i> .....	254
1. Isolierung eines Zitronensäureproduzenten aus der Gruppe <i>Aspergillus niger</i> und Gewinnung von Zitronensäure .....	254
2. Zitronensäurebildung im Oberflächenverfahren .....	256
Literatur .....	257
Sachverzeichnis.....	259