

# Laborbuchner Biologie

## Einführung in die praktische Mikrobiologie

Mikrobiologische Arbeitsmethoden  
und Versuche

von

**Helmut Birkenbeil**

**Verlag Moritz Diesterweg  
Otto Salle Verlag**

Frankfurt am Main • Berlin • München

**Verlag Sauerländer**

Aarau • Frankfurt am Main • Salzburg

# **Mikrobiologische Arbeitsmethoden und Versuche**

## **Vorwort**

<b>Methodische Grundlagen der Mikrobiologie</b>	. . . . .	7
Umgang mit Mikroorganismen	. . . . .	7
Bereitung von Nährböden	. . . . .	9
Sterilisationstechniken	. . . . .	13
1.3.1 Sterilisation durch trockene Hitze	. . . . .	14
1.3.2 Sterilisation durch feuchte Hitze (Dampf)	. . . . .	15
1.3.3 Andere Sterilisationsmethoden	. . . . .	18
Kulturgefäße	. . . . .	18
Impftechniken	. . . . .	22
Kulturtechniken	. . . . .	27
Beschaffung und Aufbewahrung von Mikroorganismen	. . . . .	30
<b>2 Übersicht über mikroskopische Methoden</b>	. . . . .	33
2.1 Lichtmikroskopische Methoden	. . . . .	33
2.2 Elektronenmikroskopische Methoden	. . . . .	34
<b>3 Untersuchungsmethoden für Pilze</b>	. . . . .	39
3.1 Mikroskopische Untersuchung an lebenden Pilzzellen	. . . . .	39
3.1.1 Einfaches Frischpräparat	. . . . .	39
3.1.2 Vitalfärbung	. . . . .	39
3.1.3 Objektträgerkultur	. . . . .	39
3.1.4 Klebstreifenmethode	. . . . .	40
3.2 Einfache Methoden zur Untersuchung von pilzinfiziertem Material	. . . . .	40
3.2.1 Quetschpräparat	. . . . .	41
3.2.2 Schnittpräparat	. . . . .	41
3.3 Messung der Objektgröße im Mikroskop	. . . . .	42
<b>4 Morphologische und cytologische Untersuchung von Bakterien</b>	. . . . .	44
4.1 Untersuchung und Beschreibung von Bakterienkolonien	. . . . .	44
4.2 Beobachtung lebender Bakterien	. . . . .	45
4.2.1 Einfaches Deckglaspräparat	. . . . .	45
4.2.2 Hängetropfenpräparat	. . . . .	46
4.2.3 Objektträgerkultur	. . . . .	47
4.2.4 Prüfung der Beweglichkeit	. . . . .	49
4.3 Untersuchung fixierter und gefärbter Bakterien	. . . . .	49
4.3.1 Herstellung eines hitzefixierten Ausstrichs	. . . . .	50
4.3.2 Einfache Färbung zur Kontrastierung	. . . . .	52
4.3.3 GRAM-Färbung	. . . . .	52
4.3.4 Sporenfärbung	. . . . .	53

4.3.5	Geißelfärbung nach LEIFSON . . . . .	54
4.3.6	Negativdarstellung von Bakterien . . . . .	54
<b>5</b>	<b>Anreicherungs-und Reinkulturverfahren . . . . .</b>	<b>56</b>
5.1	Anreicherung und Isolierung von Pilzen . . . . .	58
5.1.1	Anreicherungsverfahren . . . . .	59
5.1.2	Reinkulturverfahren . . . . .	62
5.2	Anreicherung und Isolierung von Bakterien . . . . .	63
5.2.1	<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	63
5.2.2	<i>Micrococcus luteus</i> . . . . .	65
5.2.3	<i>Janthinobacterium lividum</i> . . . . .	67
5.2.4	<i>Proteus vulgaris</i> . . . . .	69
5.2.5	<i>Pseudomonas fluorescens</i> . . . . .	70
5.2.6	Leuchtbakterien . . . . .	70
5.2.7	Phototrophe Schwefelbakterien . . . . .	71
5.2.8	Anreicherung und Kultur buttersäurebildender Clostridien („Buttersäurebakterien“) . . . . .	73
5.2.9	Nachweis und Isolierung von Mikroorganismen in der Umgebung des Menschen . . . . .	77
<b>6</b>	<b>Identifizieren von Bakterien . . . . .</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b>Nachweis von physiologischen und biochemischen Leistungen . . . . .</b>	<b>83</b>
7.1	Nachweis des oxidativen bzw. fermentativen Abbaus von Zuckern (Oxidations-Fermentations-Test) . . . . .	83
7.2	Katalase- und Oxidasenachweis . . . . .	85
7.3	Nachweis des Stärkeabbaus . . . . .	85
7.4	Nachweis eiweißabbauender (proteolytischer) Enzyme . . . . .	86
7.5	Untersuchung der Säure- und Gasbildung aus verschiedenen Zuckern - kleine „Bunte Reihe“ . . . . .	87
7.6	Methylrot- und VOGES-PROSKAUER-Reaktion . . . . .	88
7.7	Nachweis von Abbauprodukten des Eiweißstoffwechsels ( $H_2S$ , Indol, Ammoniak) . . . . .	89
7.8	Nachweis der Citratverwertung . . . . .	90
7.9	Nachweis der Phenylalanindesaminase im Schnelltest . . . . .	91
7.10	Nachweis der Nitratreduktion . . . . .	91
7.11	Multitest zum Nachweis mehrerer Stoffwechselleistungen . . . . .	92
7.12	Übersicht über vereinfachte mikrobiologische Bestimmungsverfahren an Hand physiologischer und biochemischer Leistungen . . . . .	93
<b>8</b>	<b>Methoden zur Bestimmung der Konzentration und Dichte von Mikroorganismen . . . . .</b>	<b>96</b>
8.1	Messung der Zellkonzentration (Zellzahl/ml) . . . . .	96
8.1.1	Bestimmung der Gesamtzellzahl . . . . .	97
8.1.2	Bestimmung der Lebendzellzahl . . . . .	99

8.2	Bestimmung der Dichte von Mikroorganismen . . . . .	101
8.2.1	Gewichtsbestimmung . . . . .	101
8.2.2	Volumetrische Messung . . . . .	102
8.2.3	Trübungsmessung . . . . .	102
8.2.4	Weitere Methoden . . . . .	104
8.3	Wachstumsmessungen an Pilzhyphen . . . . .	104
8.4	Versuche zur Bestimmung der Konzentration und Dichte von Mikroorganismen . . . . .	105
8.4.1	Ermittlung der Gesamtzellzahl einer Kultur von <i>Escherichia coli</i> mit der Zählkammer . . . . .	105
8.4.2	Bestimmung der Keimzahl (Lebendzellzahl) einer Kultur von <i>E. coli</i> durch Plattieren . . . . .	107
8.4.3	Photometrische Trübungsmessung und Erstellung einer Eichkurve für das Wachstum von <i>E. coli</i> . . . . .	107
8.4.4	Photometrische Wachstumsmessung bei einer Kultur von <i>E. coli</i> . . . . .	110
8.4.5	Bestimmung des Ertrags einer Kultur von <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe) . . . . .	110
<b>9</b>	<b>Methoden zum Nachweis und zur Untersuchung der Wirksamkeit von Hemmstoffen . . . . .</b>	112
9.1	Nachweis der Antibiotikumproduktion bei <i>Penicillium notatum</i> im Strichtest . . . . .	115
9.2	Untersuchung der Penicillinwirkung im Agarzylinertest . . . . .	115
9.3	Untersuchung der antibiotischen Aktivität eines Kulturfiltrats von <i>Penicillium notatum</i> . . . . .	116
9.4	Bestimmung der Penicillinkonzentration mittels Antibiogramm . . . . .	118
9.5	Anwendung des Keimschichtverfahrens bei der quantitativen Bestimmung von Antibiotika . . . . .	120
9.6	Untersuchung der Wirkung keimschädigender Substanzen durch die Suspensionsmethode . . . . .	121
<b>10</b>	<b>Versuche mit dem Bacteriophagen T 4 . . . . .</b>	123
10.1	Gewinnung von Phagenlysat . . . . .	124
10.2	Bestimmung des Phagentitors in einem Lysat . . . . .	124
<b>11</b>	<b>Untersuchung von keimhaltigen Substraten . . . . .</b>	126
11.1	Ermittlung der Gesamtkeimzahl (Koloniezahl) und Coli-Zahl in einer Wasserprobe . . . . .	126
11.2	Untersuchungen zur Mikrobiologie des Bodens . . . . .	131
11.2.1	Nachweis einiger physiologischer Leistungen von Bodenmikroorganismen . . . . .	131
11.2.2	Bestimmung der Keimzahl im Boden . . . . .	132
<b>Hinweise für den Aufbau eines Anfängerpraktikums . . . . .</b>		135
<b>Anhang . . . . .</b>		136