

Praktikum 2 Wachstum von Mikroorganismen

Aufgaben:

1. Bestimmung der Lebendzellzahl einer Kultur von *Escherichia coli*
2. Auswertung der Luftkeimplatten (Weiterführung des Versuchs aus dem Praktikum 1)
3. Drei-Strichtechnik zur Reinigung von Kolonien (Weiterführung des Versuchs „Reinigung einer Mischkultur“ aus dem Praktikum 1)
4. Herstellen von LB-Platten

Durchführung:

1. Bestimmung der Lebendzellzahl einer Kultur von *Escherichia coli*

Grundlage: Jede (lebende) Bakterienzelle bildet eine aus Klonen bestehende Kolonie.

Eine Zellsuspension von *E.coli* wird verdünnt, um letztendlich Einzelkolonien auf der Agarplatte zu erhalten. Die Verdünnungsreihe, die bis zu einer 10^{-8} -Verdünnung führt, ist auf Seite 11 des Praktikumsscriptes beschrieben (siehe dort). Die Verdünnungsstufen 10^{-5} bis 10^{-8} werden mit Hilfe von Pipette und Drigalskispatel auf Agarplatten aus-plattiert. Die Platten werden bei 37°C bebrütet und am nächsten Kurstag ausgewertet (siehe dort).

2. Auswertung der Luftkeimplatten

Die am letzten Versuchstag für 10 Minuten an einem bestimmten Ort (hier: an der Luft vor Ch 117) geöffneten Platten werden ungeöffnet betrachtet und die entdeckten Kolonien ausgewertet.

Beurteilung der Kolonien:

- Drei ca. 1 mm² kleine, orange gefärbte Kolonien (weiterhin undurchsichtig, mit glattrandigem Kolonierand, erhaben-halb-kugelig im Profil, mit glänzender Oberfläche), die möglicherweise auf den humanpathogenen *Serratia* zurückzuführen sind.
- Vier ca. 2–3 mm² kleine, gelbliche Kolonien mit erhaben-halb-kugeligem Profil und glattrandigem Kolonierand.
- Vier Pilze, die eine stärkere Ausbreitung als die anderen Kolonien zeigen. Einer davon ist viel flacher und ausgedehnter als die anderen drei. Hauptmerkmale sind unregelmäßiger Kolonierand, weißliche Färbung, wattiges Aussehen.
- Zwei Kolonien weisen eine ähnliche Färbung wie das (Agar)Medium auf und sind undurchsichtig. Der Rand ist unregelmäßig gelappt, das Profil ist eher nabelförmig als erhaben-halb-kugelig.
- 1 relativ großflächiger (1,5–2 cm²) Pilz hat ebenfalls nabelförmige Gestalt mit einer Zone ohne massive Ausbreitung in der Mitte, wobei die Wuchsform unregelmäßig mit ebenso unregelmäßigem Kolonierand ist. Die Färbung ist gelblich/bräunlich, die Konsistenz wattig.

3. Drei-Strichtechnik zur Reinigung von Kolonien

Im Versuch von letzter Woche „**Reinigung einer Mischkultur**“ wurde versucht, mit Hilfe der Drei-Strichtechnik eine Reinkultur von *Micrococcus luteus* zu gewinnen. Die LB-Platten zeigen die großflächigeren Kolonien von *E.coli* und die kleineren gelben Kolonien von *Micrococcus luteus*. Von einer isoliert liegenden *Micrococcus*-Kolonie wird mit einer Impföse etwas Material abgenommen und in der Drei-Strichtechnik auf einer neuen LB-Platte ausgestrichen. Die Platten werden bebrütet und am nächsten Kurstag ausgewertet werden (weiteres siehe dort).

4. Herstellen von LB-Platten

Zum Herstellen des LB-Agars werden folgende Bestandteile in eine 1000 ml – Schraubdeckelflasche gegeben:

- 2,0 g Hefeextrakt
- 4,0 g Trypton
- 1,0 g NaCl
- 6,0 g Agar

Danach wird mit Aqua bidest. auf 400 ml aufgefüllt und gemischt. Das Medium wird autoklaviert und dann bei 60°C im Wasserbad flüssig gehalten. Zum Abschluß des Versuchs wird das Medium in die leeren Petrischalen eingegossen.

Die so hergestellten Agar-Platten werden am nächsten Kurstag beim Anreichern von aeroben Sporenbildnern verwendet.