

Talajmikrobiológiai gyakorlatok I.

1.1 Mikroorganizmusok csíraszámának becslése talajból tápagar felületén történő szélesztéses technika segítségével

A gyakorlat célja mikroorganizmusok izolálása, csíraszámának becslése talajból tápagar felületén történő szélesztéses technika segítségével. A módszer lényege: a mikroorganizmusokat tartalmazó anyag mintájából szuszpenziót, majd hígítási sorozatot készítünk. A hígítási sorozat megfelelő értékeinél ismert térfogatot a szükséges táplemezekre szélesztünk, és a lemezeket inkubáljuk. Az inkubációs idő letelte után a kifejlődött baktériumtelepeket megszámláljuk (csak azok a táplemezek számolhatók, ahol a telepszám 20-200 között van), majd a kapott értéket a hígítás fokával megszorozzuk, így a kiindulási minta baktérium tartalma megbecsülhető.

Az eljárás azon a feltételezésen alapul, hogy minden sejtből telep fejlődik és minden telep 1 sejtből alakul ki. Ez természetesen a gyakorlatban, - számtalan befolyásoló tényező következtében - nem teljesül. Így ez a módszer csak a baktériumszám becslésére alkalmazható: a kapott számértéket telepkező egység /minta tömeg (térfogat) dimenzióban fejezzük ki.

1.1. ábra Hígítási sorozat készítése

Táptalajok: húspepton agarlemez Petri csészében,

Eszközök: szélesztőbot, pipetta, steril víz hígítási sorozathoz, 28deg.C termosztát

A gyakorlat menete:

1. Hígítási sorozat készítése. A talajminta 1g-ját 99ml steril vízbe tartalmazó lombikba mérjük és alaposan rázatjuk. Az így kapott szuszpenzióból 1ml-nyi mennyiséget pipettával átviszünk 9ml steril vízbe tartalmazó kémcsőbe a pipettát többször öblítjük, a kémcsövet rázzuk majd 1ml-nyi mennyiséget pipettával továbbviszünk egy másik 9ml steril vízbe tartalmazó kémcsőbe, s így tovább! (lásd 1.1. ábra)

2. Szélesztés. A megfelelő hígítási fokokból 0,1 ml-t pipettával a táptalajra cseppentünk, Leégetéssel csírátlanjuk a szélesztőbotot (alkoholba mártjuk és meggyújtjuk). Lehűtjük a botot a Petri-csésze fedelének belső oldalán. Kenjük szét a szuszpenziót a szélesztőbottal a táptalaj felszínén, úgy, hogy közben a Petri-csészét forgatjuk (lásd 1.2. ábra). Az oltás és szélesztés alatt a Petri-csészéket csak résnyire szabad kinyitni.

3. Inkubálás. Helyezzük a szélesztett lemezeket a megfelelő termosztátba (10deg.C, 28deg.C, 45deg.°C)

1.2. ábra A szélesztő bot használata

Értékelés: A következő gyakorlaton! A táplemezeken kifejlődött kolóniákat a bevezetőben leírtak alapján megszámláljuk, párhuzamos minták esetén átlagolunk majd a kapott értéket megszorozzuk a hígítás fokával. A különböző hígítási fokoknál kapott eredményeket ismét átlagoljuk, az így kapott szám a kiindulási minta becsült csíraszám.