

Mikrobiologie

Kluge/Menzel



Mikrobiologie

Dr. sc. Siegfried Kluge

Dr. sc. Gisela Menzel

3. Auflage



Volk und Wissen
Volkseigener Verlag
1984

**Dieses Buch kann für Arbeitsgemeinschaften
der Klassen 9 und 10 verwendet werden.**

© Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1977

3. Auflage

Lizenz-Nr. 203 · 1 000/84 (DN 01 17 10-3)

LSV 1341

Redaktion: Gertrud Kummer

Einband und Typografie: Atelier vvv, Wolfgang Lorenz

Zeichnungen: Eberhard Graf, Berlin

Printed in the German Democratic Republic

Satz: INTERDRUCK Graphischer Großbetrieb Leipzig — III/18/97

Druck und Binden: Graphischer Großbetrieb Völkerfreundschaft Dresden

Schrift: 10/11 Gill Monotype

Redaktionsschluß: 10. Juni 1983

Bestell-Nr. 706 864 3

00370

Zum Anliegen des Buches	9
1. Einführung in die Biologie von Mikroorganismen	10
1.1. Kleine Organismen – große Bedeutung	10
1.2. Die Entdeckung der Mikroorganismen – ein mühevoller, langwieriger Prozeß	12
1.3. Mikroorganismen als Krankheitserreger	14
1.3.1. Infektionskrankheiten des Menschen	14
1.3.2. Mikroorganismen als Krankheitserreger bei Tieren und Pflanzen	15
1.4. Mikroorganismen in einigen Bereichen der Volkswirtschaft	17
2. Zur Arbeit mit Mikroorganismen	18
2.1. Arbeitsschutzmaßnahmen	18
2.2. Maßnahmen der Ersten Hilfe	20
2.3. Technische Voraussetzungen für mikrobiologisches Arbeiten	20
2.3.1. Hilfsmittel	20
2.3.2. Kulturgefäße	22
2.3.3. Chemikalien, Reagenzien und sonstige Präparate	23
2.3.4. Mikroskop und Zubehör	24
2.4. Grundlegende Techniken der Arbeit mit Mikroorganismen	27
2.4.1. Benutzung des Mikroskops	27
2.4.2. Herstellung von Nährmedien	32
2.4.3. Sterilisationsverfahren	33
2.4.4. Kultivierung von Mikroorganismen	36
2.4.5. Herstellung mikroskopischer Präparate	39
2.5. Beschaffung von Mikroorganismen	42
2.6. Anlage und Auswertung von mikrobiologischen Experimenten	42
3. Äußere Gestalt und innerer Bau der Mikroorganismen	47
3.1. Äußere Gestalt und innerer Bau der Bakterien	47
3.1.1. Formen von Bakterien	50
3.1.2. Sporen von Bakterien	51
3.1.3. Zellwand der Bakterien	53

3.1.4.	Begeißelte Bakterien	54
3.1.5.	Kernäquivalent der Bakterien	55
3.2.	Äußere Gestalt und innerer Bau der Blaualgen	57
3.2.1.	Formen von Blaualgen	58
3.3.	Äußere Gestalt und innerer Bau der Algen	59
3.3.1.	Formen von Algen	60
3.3.2.	Chloroplasten in Algenzellen	61
3.3.3.	Zellkern der Algen	62
3.4.	Äußere Gestalt und innerer Bau der Pilze	63
3.4.1.	Gestalt von Hefepilzen und Pilzmyzelien	64
3.4.2.	Sprossung bei Hefepilzen	66
3.4.3.	Sporen bei Pilzen	68
3.4.4.	Zellwand der Pilze	69
3.4.5.	Inhaltsstoffe in Hefezellen	70
3.5.	Äußere Gestalt und innerer Bau der Protozoen	72
3.5.1.	Formen tierischer Einzeller	74
3.5.2.	Silberliniensystem der Wimpertierchen	75
4.	Ökologie der Mikroorganismen	78
4.1.	Mikroorganismen in der Luft	78
4.1.1.	Keimgehalt der Luft	79
4.1.2.	Verminderung des Keimgehaltes der Luft	80
4.2.	Mikroorganismen im Boden	81
4.2.1.	Keimgehalt eines Bodens	82
4.2.2.	Unterschiede im Keimgehalt verschiedener Bodenarten	85
4.2.3.	Pilzgehalt im Acker- und Waldboden	87
4.2.4.	Mikroorganismen an Bodenkrümel	89
4.3.	Mikroorganismen im Wasser	90
4.3.1.	Keimgehalt von Trink- und Brauchwasser	91
4.3.2.	Temperatureinfluß auf Bakterien im Wasser	92
4.3.3.	Mikroorganismen des Planktons	93
4.3.4.	Vorkommen von Kieselalgen	95
4.3.5.	Mikroorganismen des Abwassers	97
4.4.	Mikroorganismen an oder in Pflanzen und Tieren	100
4.4.1.	Mikroorganismen an abgestorbenen Pflanzenteilen	100
4.4.2.	Knöllchenbakterien	101
4.4.3.	Naßfäule an Kartoffelknollen	103
4.4.4.	Echter Mehltau auf Eichenblättern	106
4.4.5.	Fliegen als Träger und Überträger von Keimen	108
4.4.6.	Gregarinen in Mehlwürmern	109
4.5.	Mikroorganismen an oder in Lebensmitteln	111
4.5.1.	Mikroorganismen im Käse	111
4.5.2.	Mikroorganismen von Kefirkörnern	112
4.5.3.	Milchsäurebakterien im Joghurt	115
4.5.4.	Schimmelpilze	116
4.5.5.	Kahmhautbildung	118

5.	Stoffwechselvorgänge bei Mikroorganismen	121
5.1.	Sauerstoffbedürftigkeit von Mikroorganismen.	121
5.1.1.	Vermehrung von Bakterien unter aeroben und anaeroben Bedingungen	121
5.2.	Kohlenhydratstoffwechsel	123
5.2.1.	Kohlendioxidbildung bei der alkoholischen Gärung	125
5.2.2.	Vergärbarkeit verschiedener Kohlenhydrate	126
5.2.3.	Bildung von Äthanol bei der Vergärung von Kohlenhydraten	128
5.2.4.	Bildung von Milchsäure durch Milchsäurebakterien	130
5.2.5.	Bildung von Äthansäure (Essigsäure) durch Essigsäurebakterien	132
5.2.6.	Abbau von Zellulose durch Bodenmikroorganismen	133
5.3.	Stickstoffstoffwechsel	135
5.3.1.	Ammoniakbildung beim Eiweißabbau durch Bodenmikroorganismen . .	137
5.3.2.	Freisetzung von Schwefelwasserstoff beim Eiweißabbau durch Boden- mikroorganismen	138
5.3.3.	Verflüssigung von Gelatine durch Mikroorganismen	139
5.4.	Abhängigkeit der Bakterienvermehrung von biotischen und abiotischen Faktoren	140
5.4.1.	Beeinflussung der Bakterienvermehrung durch ein Antibiotikum . . .	141
5.4.2.	Bakterienschädigende Wirkung von Desinfektionsmitteln	144
5.4.3.	Einfluß von UV-Strahlen auf die Bakterienvermehrung	145
5.5.	Bewegungserscheinungen bei Mikroorganismen	147
5.5.1.	Phototaxis	148
5.5.2.	Chemotaxis	149
5.5.3.	Phototropismus	150
Literatur		152
Rezepte für Nährmedien und Reagenzien		153
Register		157

Zeichenerklärung

- ▶ Merksatz, Definition
- ▼ Experiment
- Aufgabe, Auftrag
- Beispiel
- / Verweise auf andere Abschnitte des Buches oder andere Literatur
- [!] Bei der Ausführung dieser Tätigkeiten bzw. beim Umgang mit diesen Chemikalien ist besondere Vorsicht erforderlich
- Die Ausführung dieser Tätigkeiten darf nur vom Arbeitsgemeinschaftsleiter vorgenommen werden
- Mit diesem Zeichen versehene Experimente sind nur vom Arbeitsgemeinschaftsleiter zu demonstrieren
- [] Verweis auf Literatur im Literaturverzeichnis (/ S. 152)

Mikroorganismen kommen fast überall und oft in großer Anzahl vor. Sie können leicht verbreitet werden und sich unter günstigen Bedingungen schnell vermehren. In den Mikroorganismen laufen vielfältige Lebensvorgänge ab, die sich in sehr unterschiedlichen Leistungen äußern. Von besonderem Interesse für den Menschen sind solche Mikroorganismen, die nützliche oder schädliche Wirkungen ausüben. Um die nützlichen Wirkungen der Mikroorganismen möglichst optimal für den Menschen auszunutzen und ihre schädlichen Einflüsse wirkungsvoll bekämpfen zu können, ist umfassendes, anwendbares Wissen über die Mikroorganismen für jeden Menschen wichtig. Jeder kann durch Anwendung dieses Wissens beispielsweise der Verbreitung von Infektionskrankheiten vorbeugen und Lebensmittel vor Verderb schützen.

Um sich Wissen über Mikroorganismen aneignen zu können, ist es notwendig, durch Beobachten und Experimentieren ihre Besonderheiten kennenzulernen, ihre Verbreitung und ihre Wirkung in der unmittelbaren Umgebung festzustellen und daraus möglichst Schlüsse für das eigene Verhalten zu ziehen. Dabei ist es notwendig, unbedingt die erforderlichen Arbeitsschutzbedingungen einzuhalten.

In diesem Buch sind neben Informationen über äußere Gestalt, inneren Bau, Lebensweise und Verbreitung wichtiger Sippen von Mikroorganismen vor allem zahlreiche Anleitungen zur Durchführung von Experimenten enthalten. Sie sollen den Benutzer anregen, sich mit diesen Organismengruppen zu beschäftigen und ihm dazu verschiedene Möglichkeiten aufzeigen. Dabei wurde bewußt eine größere Anzahl Anleitungen aufgenommen, um jedem Leser die Möglichkeit zu geben, die seinen materiellen Möglichkeiten (z. B. Geräte und Organismen) und dem gewählten Arbeitsbereich (z. B. in einer Molkerei, einer Brauerei, einem Wasserwerk) am besten entsprechenden Experimente auswählen zu können.

Da auch sogenannte „harmlose“ Mikroorganismen unter bestimmten Bedingungen möglicherweise schädliche Wirkungen für den Menschen haben können, wird empfohlen, die Experimente in dafür geeigneten Räumen unter Anleitung eines Sachkundigen (z. B. AG -Leiter) durchzuführen. Besondere Bedeutung kommt dabei den Arbeitsschutzhinweisen im Buch zu.

Das Buch enthält auch eine Zusammenstellung von Literatur, in welcher der Benutzer weitergehende Informationen über Mikroorganismen oder Hinweise für Beobachtungen und Experimente findet. Darüber hinaus sollten für die Arbeit auch populärwissenschaftliche Zeitschriften und Zeitungen ausgewertet werden.

Die Redaktion

1. Einführung in die Biologie von Mikroorganismen

1.1. Kleine Organismen — große Bedeutung

Kleine, in der Regel nur mit Hilfe des Mikroskops sichtbar zu machende Lebewesen werden zur Gruppe der Mikroorganismen zusammengefaßt. Zu ihnen gehören Bakterien, Blaualgen, mikroskopisch kleine Algen und Pilze sowie tierische Einzeller. Gegenstand mikrobiologischer Untersuchungen sind auch die Viren, die besonders kleine Teilchen darstellen und nur im Elektronenmikroskop zu erkennen sind. Viren vermehren sich lediglich in lebenden Zellen und können deshalb nicht ohne weiteres in zellfreien Medien kultiviert werden.

Mikroorganismen sind nahezu über den gesamten Erdball verbreitet. Sie haften Gegenständen an, kommen im Wasser, der Luft und dem Boden vor. Sie sind allgegenwärtig und treten in sehr großer Anzahl auf. Eine Handvoll Ackererde kann mehr Mikroorganismen enthalten als es Menschen auf der Erde gibt. Dieses massenhafte Auftreten der Mikroorganismen hat dazu geführt, daß man die „Welt der Mikroorganismen“ auch als eine „Welt der riesigen Zahlen“ bezeichnet.

Obwohl Mikroorganismen so winzig klein sind, zeigen sie im Prinzip die gleichen Lebensvorgänge wie alle höher entwickelten Organismen. Einige Mikroorganismen vollbringen sogar besondere Leistungen. Ein sich schnell bewegendes Bakterium beispielsweise setzt im Stoffwechsel in 5 Sekunden so viel Substanz um wie seiner eigenen Körpermasse entspricht. Das beweist, daß Mikroorganismen, insbesondere Bakterien, eine sehr hohe Stoffwechselrate haben. Deshalb kann eine Bakterienzelle rasch wachsen und sich unter günstigen Bedingungen alle 20 Min. teilen.

Die große Wachstumsgeschwindigkeit und die enorme biologische Stoffproduktion bei Mikroorganismen sollen durch einige Beispiele belegt werden:

- Eine einzelne Bakterienzelle, die sich unter günstigen Bedingungen nach 20 Min. teilt, kann in 48 Std. 144 Teilungen durchlaufen, dadurch entstehen 2^{144} Bakterienzellen. Ein Rind von 500 kg Masse produziert im Verlaufe eines Tages 0,5 kg Eiweiß. 500 kg Hefezellen können an einem Tag 50 t Eiweiß erzeugen, das ist 100000mal so viel! Das eröffnet große Möglichkeiten für die Deckung des Eiweißbedarfs im Weltmaßstab, wenn es gelingt, technisch und ökonomisch günstige Lösungen für die Nutzung dieser Eigenschaft der Mikroorganismen zu finden.

Der Aufbau körpereigener Stoffe erfolgt bei Mikroorganismen entweder durch Verwertung organischer oder anorganischer Kohlenstoffverbindungen. Selbst physio-

logisch sehr schwer angreifbare Stoffe, wie beispielsweise Lignin, Paraffin und Phenol, werden von *hochspezialisierten* Mikroorganismen als Nährsubstrate genutzt.

Bestimmte Mikroorganismen sind in der Lage, unter Luftabschluß zu leben und ihren Energiebedarf durch Gärung bzw. anaerobe Atmung zu decken.

Obwohl Mikroorganismen, und unter ihnen insbesondere die Bakterien, fast überall vorkommen, hängt ihre Verbreitung stark von den Umweltfaktoren ab. Die Ansprüche verschiedener Arten oder Artengruppen von Mikroorganismen beispielsweise an Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Nährstoffverhältnisse sind sehr unterschiedlich. Im allgemeinen sind zwar Temperaturen von 20 °C bis 30 °C, eine hohe relative Luftfeuchtigkeit und ein gutes Nährstoffangebot für die Vermehrung von Mikroorganismen günstig; es gibt aber auch Organismen, die unter ausgesprochen extremen Verhältnissen gut gedeihen können oder mindestens lebensfähig bleiben.

- Manche Bakterienarten können Sporen bilden. Sporen zeichnen sich durch einen geringen Gehalt an Wasser (15 % bis 40 % Wasser gegenüber der normalen Bakterienzelle mit 75 % bis 90 % Wasser) und einen geringen Stoffwechsel aus. Solche Sporen sind äußerst widerstandsfähig gegen äußere Einflüsse: sie überstehen mehrstündiges Kochen oder trockenes Erhitzen auf 150 °C, sind unempfindlich gegen viele Chemikalien und UV-Strahlen.

Worin aber besteht die große Bedeutung dieser kleinen Organismen?

Die Wirkung der Mikroorganismen nutzte der Mensch bereits, als er die Organismen selbst noch gar nicht kannte, ja nicht einmal wußte, daß Organismen an den Prozessen beteiligt sind.

Bereits im Altertum war die Gewinnung alkoholischer oder milchsaurer Getränke weit verbreitet. Auch die Bereitung von Käse und anderen Molkereiprodukten, das Säuern von Gemüse (z. B. Sauerkraut), das Backen von „gegangenem“ Brotteig und „Hefe“-Kuchen gehören seit langem zum Erfahrungsschatz der Menschheit.

In unserem Jahrhundert wurden weitere Möglichkeiten zur Nutzung von Mikroorganismen entdeckt. Heute werden z. B. mit ihrer Hilfe Heilmittel, insbesondere Antibiotika zur Bekämpfung gefährlicher Krankheiten industriell gewonnen und eiweißreiche Futtermittel hergestellt.

Eine besondere Bedeutung haben die Mikroorganismen in der Natur. Sie zersetzen fortwährend die abgestorbene organische Substanz von höher entwickelten Lebewesen, aber auch von Mikroorganismen und führen sie durch Mineralisierung dem Stoffkreislauf in der Natur wieder zu. Ohne diese zersetzende Wirkung der Mikroorganismen wäre die Erde von bergehohen Abfallhaufen organischer Stoffe bedeckt, der gesamte Naturhaushalt gestört (↗ S. 17). Mikroorganismen können jedoch auch großen Schaden anrichten. Durch zu lange, unsachgemäße Lagerung können Nahrungsmittel, Futtermittel und organische Rohstoffe verfaulen, in Gärung übergehen, verschimmeln und dadurch ungenießbar bzw. nicht mehr verwendbar sein. Im Haushalt, in der Nahrungsmittelindustrie, in der Landwirtschaft, im Gaststättengewerbe beispielsweise müssen deshalb Lagerbedingungen geschaffen werden, die unerwünschte Lebenstätigkeiten der Mikroorganismen verhindern oder einschränken und so wertvolles Gut vor dem Verderb bewahren.

Immer wieder hielten in früheren Zeiten die von Mikroorganismen, insbesondere Bakterien, verursachten Infektionskrankheiten die Menschen in Angst und Schrecken, da sie meist in Form von Seuchen ganze Länder oder Erdteile überzogen. Millionen Menschen starben, weil ihnen keine medizinische Hilfe zuteil werden konnte. Die Erreger dieser Krankheiten waren damals nicht bekannt, man wußte nichts über ihre Lebensweise und hatte deshalb keine Möglichkeiten, Ursachen und Verbreitung der Seuchen wirksam zu bekämpfen.

1.2. Die Entdeckung der Mikroorganismen — ein mühevoller, langwieriger Prozeß

Um Mikroorganismen für den Menschen nutzen oder ihn vor ihren schädlichen Wirkungen schützen zu können, muß man sie kennen bzw. erkennen und umfangreiche Kenntnis über ihr Vorkommen, ihre Verbreitung und ihre Lebensweise besitzen. Die Mikroorganismen kennenzulernen, sie zu entdecken, ihre Wirkungsweise zu erklären war sehr kompliziert. Mikroorganismen sind mit dem bloßen Auge nicht zu sehen, ihre Lebensvorgänge können nur mit Hilfe chemischer und physikalischer Untersuchungsmethoden aufgeklärt werden. Die Entdeckung der Mikroorganismen war in erster Linie abhängig von der Entwicklung von Geräten, mit denen eine Vergrößerung von Kleinstlebewesen ermöglicht wurde. Erfindung, Verbesserung und Weiterentwicklung des Mikroskops waren wichtige Voraussetzungen für die Entwicklung einer Wissenschaftsdisziplin, deren Gegenstand die Mikroorganismen sind: der **Mikrobiologie**.

Wichtige Etappen und Ereignisse in der geschichtlichen Entwicklung der Mikrobiologie:

- 1676 A. van LEEUWENHOEK beobachtete als erster mit einem selbstgebauten Mikroskop (280fache Vergrößerung) in einem Pfefferaufguß, in Abstrichen von Zahnbelägen und anderem Material Bakterien und teilte diese Entdeckung einer wissenschaftlichen Gesellschaft, der *Royal Society*, in London mit.
- 1680 A. van LEEUWENHOEK entdeckte, daß bestimmte Bakterien unter Luftabschluß leben und sich vermehren können.
- 1796 JENNER, ein englischer Arzt, führte die erste Schutzimpfung gegen Pocken durch. Er entdeckte die schützende Wirkung einer Kuhpockeninfektion mit leicht verlaufender Erkrankung beim Menschen und wurde zum Begründer der aktiven Immunisierung.
- 1837 SCHWANN bewies mit seinen Untersuchungen, daß Gärung und Fäulnis durch Mikroorganismen aus der Luft verursacht werden können.
- 1858 PASTEUR beobachtete, daß verschiedene Formen von Gärung durch Mikroorganismen hervorgerufen werden. Er widerlegte endgültig die Theorie von der „Urzeugung“ von Lebewesen aus nichtlebenden Stoffen und verbreitete die Erkenntnis, daß Lebewesen nur aus Lebewesen entstehen können.
- 1866 PASTEUR erkannte kurzes Erhitzen als Möglichkeit zur Abtötung von Mikroorganismen in Flüssigkeiten. Diese Methode, das „Pasteurisieren“

wird heute noch angewendet (z. B. Pasteurisieren der Frischmilch in der Molkerei).

- 1874 wurde in Deutschland die Pockenschutzimpfung gesetzliche Pflicht.
- 1870 bis Der Physiker ABBE entwickelt eine auf wissenschaftlichen Erkenntnissen
- 1900 beruhende Technik zur Herstellung von vorzüglichen Objektiven und Okularen. Damit bestückte Lichtmikroskope erreichen eine hohe Leistung. Mit seinen Arbeiten begründete ABBE den Weltruf des heutigen VEB Carl Zeiss Jena.
- 1876 KOCH entdeckte Mikroorganismen als Erreger des Milzbrandes, einer damals verbreiteten gefährlichen Krankheit von Tier und Mensch.
- 1881 KOCH führte feste Nährmedien zur Kultivierung von Mikroorganismen ein.
- 1881 PASTEUR und ROUX impften erfolgreich Schafe gegen Milzbrand.
- 1882 KOCH isolierte das Tuberkelbakterium, den Erreger der Tuberkulose.
- 1885 HELLRIEGEL und WILLFARTH wiesen nach, daß in den Wurzelknöllchen der Leguminosen stickstoffbindende Bakterien leben.
- 1892 IWANOWSKI entdeckte das Tabakmosaikvirus.
- 1897 FROSCHE und LOEFFLER entdeckten ein Virus als Erreger der Maul- und Klauenseuche.
- 1929 FLEMING beobachtete die bakterientötende Wirkung des Penizillins, eines von der Pinselschimmelart *Penicillium notatum* produzierten Stoffes. Seit 1938 wird Penizillin technisch gewonnen und als Antibiotikum mit Erfolg in der Medizin eingesetzt.
- ab 1931 Die Physiker KNOLL, von BORRIES, von RUSKA, ARDENNE und MAHL entwickeln ein Mikroskop, das mit Elektronenstrahlen arbeitet (Elektronenmikroskop) und bis zu 600000fach Vergrößerungen möglich macht. Mit diesem Gerät können sogar Viren und feinste Zellstrukturen sichtbar gemacht werden.
- 1943 WAKSMAN gelang die Isolierung des Antibiotikums Streptomycin.

Auch in den folgenden Jahren sind zahlreiche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Mikrobiologie gewonnen worden. Sie sind so zahl- und umfangreich, daß es nicht mehr möglich ist, sie hier alle zu nennen. Eine der Ursachen dafür liegt darin, daß die Anzahl der auf dem Gebiet der Mikrobiologie Forschenden und das Tempo, mit dem dort heute Ergebnisse erbracht werden, stark zugenommen haben. Das liegt einerseits daran, daß die Anzahl der Wissenschaftler auf allen Gebieten wesentlich zugenommen hat, andererseits aber auch daran, daß die Bedeutung der Mikrobiologie für die Industrie, die Landwirtschaft und die Medizin und alle ihre Grenzgebiete enorm gewachsen ist. Immer stärker werden Erkenntnisse der mikrobiologischen Forschung in der Volkswirtschaft und der Medizin angewandt. Der Mensch hat gelernt, Forschungsergebnisse aus der Mikrobiologie gezielt in der Praxis einzusetzen und auch diese Teildisziplin der Wissenschaft als Produktivkraft zu nutzen. Sowohl im Perspektivplan der biologischen Forschung in der DDR als auch im Komplexprogramm des RGW stehen Probleme der Mikrobiologie mit an erster Stelle.

1.3. Mikroorganismen als Krankheitserreger

Manche Mikroorganismen sind in der Lage, Organismen zu befallen und sie zu schädigen. Sie werden damit zu Krankheitserregern. Ist der Organismus nicht in der Lage, die eingedrungenen Mikroorganismen abzuwehren, kann es zu oft heftigen, gefährlichen Erkrankungen kommen. Insbesondere bei Infektionskrankheiten sind die Erreger von Erkrankten auf Gesunde rasch übertragbar, so daß eine schnelle Ausbreitung der Krankheit erfolgen kann. Durch Mikroorganismen hervorgerufene Erkrankungen können bei Menschen, Tieren und Pflanzen auftreten.

- *Wiederholen Sie Ihr Wissen über krankheitserregende Mikroorganismen! Lesen Sie dazu im Lehrbuch Biologie Klasse 7, Seite 32 bis 36 und Klasse 8, Seite 43 bis 47 nach!*

1.3.1. Infektionskrankheiten des Menschen

Im Gegensatz zu vergangenen Jahrhunderten haben Infektionskrankheiten heute ihre Schrecken für viele Menschen verloren. In vielen Ländern werden heute Infektionskrankheiten durch Schutzimpfungen wirkungsvoll bekämpft. In den sozialistischen Staaten, in denen es ein gut organisiertes Gesundheitswesen gibt und in denen die sozialen und ökonomischen Wurzeln von Seuchen ausgerottet sind, tragen insbesondere die gesicherten sozialen Verhältnisse für alle Bürger und ein umfassendes System von Schutzimpfungen dazu bei, daß Epidemien kaum noch auftreten und einige Infektionskrankheiten praktisch völlig ausgeremt werden konnten. So ist in der DDR seit der Einführung der Schutzimpfung gegen Kinderlähmung 1961 kein Todesfall infolge dieser Krankheit mehr zu verzeichnen und seit 1963 überhaupt keine Neuerkrankung mehr aufgetreten. Durch die vielfältigen Maßnahmen zur Bekämpfung der Tuberkulose ist diese Krankheit ebenfalls stark zurückgegangen. Früher so gefürchtete Kinderkrankheiten wie Diphtherie und Keuchhusten treten dank umfassenden Impfschutzes nur noch vereinzelt auf, an der Entwicklung noch wirksamerer Impfstoffe gegen Masern und Mumps wird gearbeitet. Wundstarrkrampf und Tollwut werden ebenfalls erfolgreich durch Impfungen bekämpft.

Trotz aller Vorbeugung, trotz der Pflichtimpfungen, die nach einem Impfkalendar vorgenommen werden (/ Lehrbuch Biologie Klasse 8, Seite 42) können gelegentlich Infektionskrankheiten auftreten; einige sind in der DDR meldepflichtig. Gemeldet werden müssen beispielsweise Typhus, Paratyphus, Ruhr, Diphtherie, Scharlach, Kinderlähmung, Tuberkulose, Tollwut, bestimmte Lebensmittelvergiftungen.

In solchen Ländern, die noch schwer unter den Folgen jahrhundertelanger kolonialer Unterdrückung leiden, deren Wirtschaft noch schwach entwickelt ist und die sich erst ein umfassendes Gesundheitswesen aufbauen, treten immer wieder Seuchen auf. Im Jahre 1974 starben beispielsweise 31 362 Inder an Pocken. Anfang 1975 meldete die indische Presse, daß ein achtjähriger Junge aus dem Unionsstaat Bihar der bisher letzte Pockenfall in Indien war, die Krankheit also erfolgreich bekämpft werden konnte. Das ist ein großartiger Erfolg für das indische Volk, den es auch dank der Unterstützung sozialistischer Länder erreichen konnte.

Die UNO und ihre Organisationen, vor allem die Weltgesundheitsorganisation (WHO),

tragen durch internationale Aktivitäten wesentlich zur weltweiten Bekämpfung der Infektionskrankheiten bei. Dabei konnten beachtliche Erfolge erzielt werden. Eine völlige Befreiung der Menschheit von diesen und anderen Krankheiten ist jedoch erst möglich, wenn durch die Veränderung der Gesellschaftsordnung überall entsprechende soziale Verhältnisse für alle Menschen geschaffen werden.

Da die mikrobiologischen Krankheitserreger äußerst gefährlich werden können, ist es in der Schule nicht erlaubt, mit ihnen zu experimentieren. Experimente mit Krankheitserregern dürfen nur in speziellen medizinischen Einrichtungen unter Einhaltung strenger Sicherheitsbestimmungen durchgeführt werden, um Gesundheit und Leben der Menschen nicht zu gefährden.

Um so mehr ist zu verurteilen, daß Kenntnisse über Mikroorganismen in kapitalistischen Ländern zur Herstellung biologischer Kampfstoffe mißbraucht wurden. Diese Kampfstoffe sind gefährliche, unmenschliche Mittel, deren Einsatz verheerende Folgen haben kann. Es ist deshalb sehr zu begrüßen, daß nach jahrelangen Bemühungen der sozialistischen Staaten und vieler anderer fortschrittlicher Kräfte in der Welt ein Vertrag über das Verbot biologischer Waffen abgeschlossen werden konnte, der jedoch noch nicht von allen Staaten unterzeichnet worden ist. Deshalb müssen alle friedliebenden Menschen in der Welt weiter für die Bekämpfung solcher Mittel und aller Aggressionen eintreten.

1.3.2. Mikroorganismen als Krankheitserreger bei Tieren und Pflanzen

Durch Mikroorganismen und Viren hervorgerufene **Tierkrankheiten** sind beispielsweise Tollwut, Rotlauf, Maul- und Klauenseuche. Gegen die meisten Tierkrankheiten ist der Mensch immun, einige Erreger können jedoch auch auf den Menschen übertragen werden (z. B. Tollwut, Tuberkulose).

Werden Tiere von Infektionskrankheiten befallen, kann großer wirtschaftlicher Schaden entstehen. Die Tiere bringen geringere Leistungen (z. B. weniger Milch oder Fleisch), es kann auch zu einer Verminderung der Tierbestände kommen. Deshalb muß auch in der Tierhaltung dem Auftreten von Infektionskrankheiten vorgebeugt werden. Vorbeugungsmaßnahmen sind z. B. gesunde Tierhaltung, Schutzimpfungen, das Auslegen von Seuchennatten, das Verbot für Unbefugte, Tierställe zu betreten. Bei der zunehmenden Anzahl von Großtierbeständen im Rahmen der Industrialisierung der sozialistischen Landwirtschaft ist eine besonders strenge tierärztliche Überwachung notwendig, da ausbrechende Krankheiten, die in solchen großen Tierbeständen rasch um sich greifen können, riesige Verluste zur Folge haben.

In der DDR sind die Maßnahmen zum Schutz unserer Tierbestände im „Tierseuchenschutzgesetz der DDR“ zusammengefaßt.



Informieren Sie sich in einem Landwirtschaftsbetrieb mit tierischer Produktion über Maßnahmen zum Seuchenschutz!

Große Schäden durch Viren, Bakterien und Pilze können auch in Pflanzenbeständen der Land- und Forstwirtschaft auftreten und zu hohen Ertragsverlusten führen.

Pflanzenkrankheiten sind z. B. Naßfäule der Kartoffel (↗ Experiment 30), Mehltau (↗ Experiment 32), Blattrollkrankheit der Kartoffel, Viruskrankheiten des Tabaks.

Durch Pflanzenkrankheiten bedingte jährliche Ernteverluste in der Welt

Kulturpflanzen	Ernteertrag (in Mill. t)	Ernteverlust (in Mill. t)
Getreide	961	88
Kartoffeln	271	60
Zuckerrüben, Zuckerrohr	695	121
Gemüse	202	22
Obst	142	23
Ölfrüchte	95	9
Faserpflanzen	16	2

- Berechnen Sie den prozentualen Anteil der jeweiligen Ernteverluste am Gesamtertrag! Überschlagen Sie, wieviele Menschen von den Verlustmengen ernährt werden könnten! Überlegen Sie, welche positiven Folgen für die Ernährung der Weltbevölkerung die Senkung der Verluste um einige Prozent bringen kann!

Um die Ernteverluste möglichst gering zu halten, müssen für die Entwicklung gesunder Pflanzen günstige Bedingungen geschaffen werden.

Richtige Bodenbearbeitung, optimale Düngung und ausreichende Wasserversorgung sind wichtige landwirtschaftliche Maßnahmen, um Pflanzen vor dem Befall mit Krankheitserregern zu schützen. In der Pflanzenzüchtung bemüht man sich um die Schaffung neuer Sorten, die gegenüber bestimmten Krankheitserregern nicht anfällig (resistent) sind. Eine große Bedeutung kommt dem Einsatz von chemischen Mitteln zum Schutz vor Pflanzenkrankheiten zu. Manche Pflanzenschutzmittel haben ein breites Wirkungsspektrum, andere wirken nur gegen einen spezifischen Krankheitserreger. Am häufigsten eingesetzt werden Mittel zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten (Fungizide). Im Jahr 1972 wurden z. B. in der DDR Pflanzenschutzmittel im Werte von 190 Mill. Mark verbraucht. Durch eine leistungsfähige chemische Industrie werden die meisten Pflanzenschutzmittel in unserem Land selbst hergestellt und außerdem in viele Länder exportiert.

- Informieren Sie sich in einem Landwirtschaftsbetrieb (LPG, VEG) über häufig auftretende Pflanzenkrankheiten und deren Bekämpfung!
- Orientieren Sie sich in einem Pflanzenschutzmittelverzeichnis über einige Präparate und ihre Wirkstoffe!
- Informieren Sie sich über Betriebe der DDR, die Pflanzenschutzmittel produzieren! Werten Sie dazu die Tagespresse oder andere Veröffentlichungen aus!

1.4. Mikroorganismen in einigen Bereichen der Volkswirtschaft

Erkenntnisse der Mikrobiologie finden in verschiedenen Bereichen der Volkswirtschaft Anwendung. Für bestimmte Industriezweige sind die Mikroorganismen Produktionsgrundlage, z. B. für die Herstellung von Molkereiprodukten, Bier, Wein und Spirituosen sowie für die Backwarenherstellung. Ohne Mikroorganismen gäbe es keine Sauermilch und keinen Käse, keine Gärung oder Lockerung des Brotteiges.

Zunehmende Bedeutung gewinnen Mikroorganismen für die Produktion von Nahrungsstoffen für Tier und Mensch. So können bestimmte Abfallprodukte der Zellstoffindustrie durch Hefen zu wertvollen, eiweißreichen Futtermitteln veredelt werden. Manche Bakterien wandeln Erdöl und Erdölrückstände direkt in Futtermittel um. Grünalgen des Süßwassers und verschiedene Meeresalgen werden ebenfalls zur Gewinnung von Futtermitteln geerntet bzw. in speziellen Anlagen gezüchtet (z. B. *Chlorella*). Dadurch können mehr Schlachttiere und Milchkühe gehalten werden, der große Mangel an tierischem Eiweiß im Weltmaßstab kann allmählich beseitigt werden.

Mikroorganismen werden auch zur Gewinnung von Antibiotika genutzt.

In der Landwirtschaft haben Mikroorganismen große Bedeutung bei der Erhaltung und Steigerung der Bodenfruchtbarkeit. Der Boden ist einerseits die Umwelt vieler Mikroben, er ist andererseits aber auch das Produkt ihrer Tätigkeit. Die Lebensprozesse der Mikroben führen im Boden zu Veränderungen, die den Wert des Bodens für den Ackerbau bestimmen. Sie reichern den Boden mit Humus an, indem sie organische Rückstände in Humusstoffe umwandeln. Da Humus infolge seiner physikalischen und chemischen Eigenschaften eine wesentliche Voraussetzung für die Erzielung hoher Erträge ist, tragen Mikroorganismen auf diesem Wege zur Ertragsstabilisierung bei. Humusstoffe werden im Boden durch die Mikroorganismen weiter zersetzt; sie werden mineralisiert. Damit werden den Pflanzen anorganische Nährstoffe zur Verfügung gestellt. Es wird bereits an diesem Beispiel sichtbar, daß die Mikroorganismen des Bodens zu sehr vielfältigen physiologischen Leistungen befähigt sind, die – wenn sie vom Menschen gesteuert werden – zur Erhöhung der Erträge in der Landwirtschaft führen. Die stickstoffbindenden Knöllchenbakterien in den Wurzelknöllchen von Schmetterlingsblütengewächsen tragen wesentlich zur Anreicherung von Stickstoff im Boden bei.

Mikroorganismen sind auch für die Bereitung von Sauerfutter (Silage) von Bedeutung. Die Silierung von Grünfutter hat mit der Intensivierung und Konzentration der Tierhaltung in der sozialistischen Landwirtschaft immer mehr an Umfang zugenommen. Sie ermöglicht eine rationelle Lagerung und Verwendung des Grünfutters und erbringt Futterstoffe mit hohem Futterwert und Vitamingehalt.

2. Zur Arbeit mit Mikroorganismen

2.1. Arbeitsschutzmaßnahmen

An fast allen Gegenständen, in der Luft, dem Wasser, im Boden, am menschlichen Körper, an Tieren und Pflanzen, an Nahrungsmitteln können Mikroorganismen vorkommen. Dabei muß damit gerechnet werden, daß sich unter diesen auch krankheits-erregende (pathogene) Keime befinden. Eine Infektion mit solchen Keimen kann zu einer Erkrankung führen. Beim Arbeiten mit Mikroorganismen müssen deshalb bestimmte Regeln eingehalten werden:

► **1. Alle mikrobiologischen Arbeiten unter Aufsicht des Arbeits-gemeinschaftsleiters ausführen!**

Experimente mit Mikroorganismen dürfen nur unter Aufsicht des Leiters der Arbeits-gemeinschaft und in einem dafür geeigneten Raum durchgeführt werden. Der Leiter der Arbeitsgemeinschaft verfügt über die notwendigen Kenntnisse und ausreichende Erfahrungen, um auch unvorhergesehene Situationen, die sich beim experimentellen Arbeiten ergeben, meistern zu können.

► **2. Sauber, ruhig und überlegt arbeiten!**

Sauberes, ruhiges und überlegtes Handeln ist die Grundbedingung für erfolgreiches unfallfreies Arbeiten mit Mikroorganismen. Am Arbeitsplatz ist auf Ordnung, Übersichtlichkeit und Sicherheit zu achten. Dort sind möglichst nur die Experimente aus-zuführen. Andere Tätigkeiten (z. B. Anfertigen von Protokollen und Zeichnungen) sollten an anderer Stelle im Arbeitsraum erledigt werden.

Durch gute Organisation des Arbeitsablaufes sollten Bewegungen im Raum auf ein Mindestmaß beschränkt werden.

Grundsätzlich ist darauf zu achten, daß mit sauberen Händen gearbeitet wird. Die Hände sollten zu Arbeitsbeginn, aber auch während des Experimentierens unter Ver-wendung von Seife und Bürste mehrmals gewaschen und in 2,5%iger Fesiamon-Lösung 2 Min. desinfiziert werden. Soweit möglich, sollten Sprechen, Husten und Niesen während der Arbeit mit Mikroorganismen vermieden werden.

Es ist angebracht, beim Arbeiten mit Mikroorganismen einen kochfesten Kittel als Arbeitsschutzkleidung zu tragen. Der Kittel sollte beim Verlassen des Arbeitsraumes dort verbleiben.

► **3. Im Arbeitsraum nicht essen und trinken!**

Beim Essen und Trinken sowie beim Kauen von Kaugummi im Arbeitsraum besteht die Gefahr, daß Mikroorganismenmaterial in größerer Menge als Verunreinigung aufgenommen wird. Um das zu vermeiden, ist die Nahrungsaufnahme nur außerhalb des Raumes gestattet, nachdem zuvor der Kittel abgelegt wurde und die Hände gründlich desinfiziert worden sind.

► **4. Geräte, denen Mikroorganismen anhaften, ausglühen oder desinfizieren!**

Die zum mikrobiologischen Arbeiten benutzten Geräte und Hilfsmittel sind mit Mikroorganismen verunreinigt und müssen von lebensfähigen Keimen befreit werden. Mikroorganismen an kleinen Metallgegenständen, z. B. Impfnadeln, können durch Ausglühen oder Abflammen abgetötet werden. Mikroorganismen an Glasgeräten werden durch Einbringen der Geräte in eine Desinfektionslösung (5%ige Meleusol-lösung) vernichtet. Beim Umgang mit Meleusol ist ein direkter Kontakt der Haut mit dem Desinfektionsmittel zu vermeiden.

► **5. Zum Pipettieren mikrobienhaltiger Flüssigkeit mit Watte gestopfte Pipetten verwenden!**

Um zu verhindern, daß aus dem Mund Mikroorganismen in die zu pipettierende Flüssigkeit gelangen und daß durch zu starkes Ansaugen mikrobienhaltige Flüssigkeit in die Mundhöhle kommt, wird in das obere Ende der Pipette mit Hilfe einer Präpariernadel ein nicht zu dichter Wattepfropf gestopft. Die Watte soll nicht über das Pipettenende hinausragen. Als günstig erweist sich die Verwendung von Pipetten mit einer Kugel im Saugrohr. Zu weit hoch gesogene Flüssigkeit sammelt sich zunächst in der Kugel und gelangt nicht sofort in den Mund.

► **6. Beim Umgang mit Druckgefäßen besondere Vorsicht walten lassen!**

Für bestimmte Arbeitstechniken werden Druckbehälter (Autoklav bzw. Schnellkochtopf) verwendet. Ihre Funktionstüchtigkeit muß regelmäßig überprüft werden, um Explosionen zu vermeiden. Besondere Aufmerksamkeit ist dem Funktionieren der Ventile zu schenken. Das Öffnen eines Druckgefäßes darf erst nach dem Abkühlen erfolgen.

Neben den hier für das mikrobiologische Arbeiten besonders hervorgehobenen Arbeitsschutzregeln gelten natürlich alle anderen Anweisungen und Verfügungen zum Arbeitsschutz. In jedem Falle ist den Anweisungen des Arbeitsgemeinschaftsleiters unbedingt Folge zu leisten.

2.2. Maßnahmen der Ersten Hilfe

Trotz großer Sorgfalt kann es zu kleinen Unfällen beim Arbeiten mit Mikroorganismen kommen. In solchen Situationen ist unverzüglich der Leiter zu verständigen. Er wird entscheiden, ob der Arzt aufgesucht werden muß oder erste Hilfe am Arbeitsplatz geleistet werden kann.

Erste-Hilfe-Maßnahmen sind:

Verletzung der Haut. Mikroorganismen können auch durch sehr kleine Wunden eindringen, diese müssen daher unbedingt medizinisch versorgt werden. Kleine Wunden sollte man erst ausbluten lassen und danach durch ein Pflaster vor dem Eindringen weiterer Keime schützen.

Eindringen von Mikroorganismenmaterial ins Auge. Wenn durch Verspritzen Mikroorganismenmaterial ins Auge gelangt ist, soll am Auge nicht gerieben werden. Das Auge ist unverzüglich mit Leitungswasser zu spülen. Dabei ist das Auge unter einem Wasserstrahl mit geringem Druck geöffnet zu halten oder ein Augenspülgas bzw. eine Augenspülfflasche zu verwenden.

Eindringen von Mikroorganismenmaterial in die Mundhöhle. Wenn beim Ansaugen mit der Pipette Mikroorganismen in den Mund geraten sind, muß die Flüssigkeit sofort ausgespuckt werden. Durch mehrmaliges Spülen mit frisch bereiteter 0,1%iger Kaliumpermanganatlösung werden die im Mund befindlichen Keime entfernt und unschädlich gemacht. Sollte mikrobienhaltige Flüssigkeit abgeschluckt worden sein, ist der Leiter zu informieren. Danach ist möglicherweise der Arzt aufzusuchen. Zuvor ist durch Trinken einer starken Natriumchloridlösung (Kochsalzlösung, 1 bis 2 Eßlöffel NaCl auf 1 Glas Wasser) Erbrechen auszulösen.

Im Arbeitsraum für mikrobiologische Arbeiten ist ein Erste-Hilfe-Schränkchen anzubringen. Außerdem müssen die Arbeits- und Verhaltensregeln für alle Arbeitsgemeinschaftsmitglieder gut sichtbar ausgehängt sein.

2.3. Technische Voraussetzungen für mikrobiologisches Arbeiten

2.3.1. Hilfsmittel

Zum Übertragen von Mikroorganismenmaterial von einem Nährmedium auf ein anderes („Impfen“) und auch zur Herstellung von mikroskopischen Präparaten werden verschiedene Impfinstrumente verwendet. Man unterscheidet Halter mit Öse, Nadel, Spatel und Haken (Abb. 21/1a). Am meisten wird die Impföse verwendet (Abb. 21/1b). Sie besteht aus einem Draht, der an einem Ende zu einer Öse von 3 mm Durchmesser umgebogen und mit dem anderen Ende in einem Halter befestigt ist, dessen unterer Teil mit Isoliermaterial umhüllt wurde.

- **Während eines Experimentes dürfen die Impfinstrumente nicht auf die Tischfläche gelegt werden, sie werden in einem Holz- oder Metallblock mit senkrechten Bohrungen abgestellt (Abb. 21/1 c).**

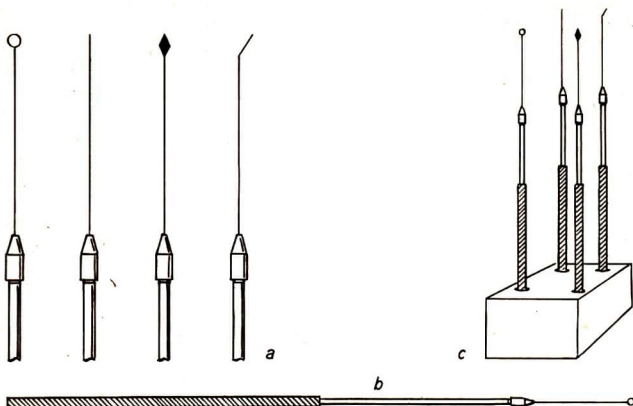


Abb. 21/1 Impfinstrumente

a) Öse, Nadel, Spatel, Haken

b) Impfföse

c) Impfinstrumente in einem Block

Für die Herstellung und Färbung mikroskopischer Präparate werden benötigt:

Zum Halten eines Objektträgers, auf dem sich das Mikroorganismenmaterial befindet, verwendet man eine Cornet-Pinzette (Abb. 21/2). Sie bietet den Vorteil, daß der Objektträger ohne Kraftaufwand und direkten Kontakt zur Hand in der Pinzette festgeklemmt ist. Zum Anfärben der Mikroorganismen werden die Präparate entweder in eine Glasküvette mit Farblösung eingestellt oder mit Farblösung bedeckt und dann auf eine Färbebank (Abb. 21/3) gelegt, die in einer Porzellan- oder Steingutschale steht (zum Auffangen von Flüssigkeiten).



Abb. 21/2 Cornet-Pinzette



Abb. 21/3 Färbebank

Zur Herstellung von Nährböden, für das Ansetzen und Abmessen von Lösungen und das Präparieren sind außerdem notwendig:

Reagenzgläser, Reagenzglasständer und -halter, Erlenmeyerkolben, Bechergläser und Pulverflaschen verschiedener Größen, Petrischalen, Kristallisier- und Abdampfschalen, Saug- und Tropfpipetten für unterschiedliche Mengen, kleine und große Meßzylinder, Spatel und Löffel, Wägegläschen, Thermometer, Glastrichter und Filtergestell, Heißwassertrichter, Filterpapier, Faltenfilter; Rundfilter, pH-Papier, Stative, Stativklammern und Muffen, Zellstoff- und Gummistopfen, Gummischlauch, Fettstifte, Etiketten, Präparierbesteck (bestehend aus Lanzette, Präpariernadel, Pinzette, Skalpell, Schere, Rasierklinge). Für spezielle Aufgabenstellungen ist diese Grundausrüstung durch zusätzliche Hilfsmittel zu ergänzen.

2.3.2. Kulturgefäße

In Gefäße, die zur Kultivierung von Mikroorganismen benutzt werden, gießt man Nährmedien, auf oder in denen sich die Mikroorganismen vermehren können. Da die Gefäße in der Regel aus Glas bestehen, kann man darin entstandene Ansammlungen von Mikroorganismen sehen, ohne die Gefäße öffnen zu müssen. Als Kulturgefäß werden Kulturtröhrchen, Petrischale, Erlenmeyerkolben oder Steilbrustflasche (Abb. 22/1) verwendet. Auch das Reagenzglas kann als Kulturgefäß benutzt werden. Allerdings hat es infolge des umgebogenen Randes den Nachteil, daß sich in unmittelbarer Nähe der Öffnung Mikroorganismen ansammeln und in das Reagenzglas hineingelangen können, die die Kultur beeinflussen. Es ist deshalb notwendig, den oberen Teil des

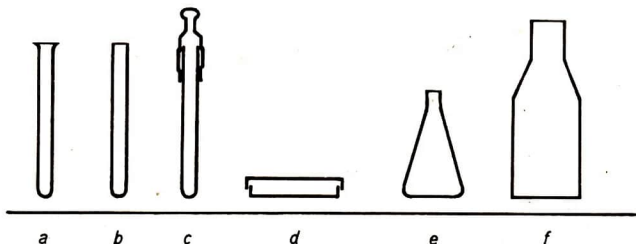


Abb. 22/1 Kulturgefäße

- | | |
|--|----------------------|
| a) Reagenzglas | d) Petrischale |
| b) Kulturtröhrchen | e) Erlenmeyerkolben |
| c) Kulturtröhrchen mit Kapsenberglappe | f) Steilbrustflasche |

Reagenzglases beim Öffnen gründlich abzuflammen. Als Verschlüsse eignen sich sowohl für Kulturröhrchen als auch für die Reagenzgläser Zellstoffstopfen. Die Kulturröhrchen können auch durch Kapsenbergkappen (Abb. 22/1 c) aus Aluminium verschlossen werden.

Wird eine große Nährbodenoberfläche benötigt, so wählt man als Kulturgefäße Petrischalen, die aus einer Schale mit übergreifendem Deckel bestehen. Als Gefäße mit größerem Rauminhalt werden Erlenmeyerkolben und Steilbrustflaschen zur Kultivierung von Mikroorganismen genutzt. Auch diese Gefäße können mit Zellstoffstopfen verschlossen werden.

2.3.3. Chemikalien, Reagenzien und sonstige Präparate

Chemikalien. Für verschiedene mikrobiologische Arbeiten wird benötigt: Äthanol, Chloroform (Lösungsmittel)

Natriumhydroxidlösung, Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure

Reagenzien. Zum Anfärben von Mikroorganismen: Methylenblau, Fuchsin und Gentanviolett (Übersichtsfärbungen). Tusche (Hervorhebung von Form und Anordnung von Mikroorganismen im Kontrast).

Zum Nachweis mikrobiell gebildeter Stoffwechselprodukte: spezielle Reagenzien, deren Zusammensetzung in den jeweiligen Experimenten angeführt ist.

Präparate. Zur Bereitung von Nährmedien für Mikroorganismen: Nähragar I, Trockennährbouillon (evtl. Brühwürfel oder Fleischbrühpaste), Biomalz, Pepton, Agar und Gelatine sowie verschiedene andere organische und anorganische Substanzen (als Zusätze). Wenn Nähragar I vorhanden ist, kann auf Trockennährbouillon, Pepton und Agar weitgehend verzichtet werden.

Nähragar I besteht aus Trockennährbouillon und Agar, er dient zur Bereitung von Nährböden.

Trockennährbouillon ist ein aus Fleischextrakt hergestelltes eiweißreiches Präparat, das vor allem zur Herstellung von Nährmedien für Bakterien verwendet wird.

Biomalz enthält vorrangig die Kohlenhydrate Maltose und Maltodextrine, die ein wertvolles Substrat für das Wachstum von Pilzen darstellen.

Peptone sind bereits teilweise abgebaute Eiweißkörper, die den Nährmedien als Stickstoffquelle zugesetzt werden (in der Trockennährbouillon ist Pepton bereits reichlich enthalten). Bei der Verwendung von Brühwürfeln oder Fleischbrühpaste empfiehlt sich ein Peptonzusatz.

Agar ist ein Verfestigungsmittel. Wenn man es einem flüssigen Nährmedium zugibt, entsteht ein Nährboden. Agar wird vorwiegend aus bestimmten Rotalgen gewonnen. Er stellt ein Gemisch aus verschiedenen Polysacchariden dar. Außerdem enthält er geringe Mengen Stickstoff, Kalzium und Magnesium, die man zum großen Teil durch Auswaschen mit Wasser entfernen kann.

Gelatine dient wie Agar als Geliermittel zur Herstellung von Nährböden und wird aus tierischen Häuten, Knorpeln und Knochen gewonnen. Die wichtigste in der Gelatine enthaltene Substanz ist das Glutin, eine eiweißähnliche Verbindung.

2.3.4. Mikroskop und Zubehör

Eines der wichtigsten Arbeitsmittel für den Mikrobiologen ist das Mikroskop (Abb. 24/1). Da die meisten Mikroorganismen sehr klein sind, müssen die Mikroskope bestimmten Anforderungen entsprechen. Schülermikroskope mit einer 50fachen bis 225fachen Vergrößerung reichen für mikrobiologische Untersuchungen meist nicht aus, da mit deren Hilfe Bakterienzellen sowie Zellstrukturen und andere Einzelheiten nicht zu erkennen sind. Während für das Mikroskopieren von Pilzen eine Vergrößerung von 100fach bis 400fach ausreicht, benötigt man zum Mikroskopieren von Bakterien eine 900fache bis 1000fache Vergrößerung. Um solche hohen Vergrößerungen zu erreichen, verwendet man Immersionsobjektive. Immersionsobjektive sind Objektive, die mit Immersionsöl als Medium zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivs benutzt werden. Die Frontlinsen müssen nach dem Mikroskopieren mit Immersionsöl besonders gereinigt werden.

Immersionsöl (oder Anisol) und Xylol zum Reinigen der Frontlinsen werden in Doppelfläschchen aufbewahrt (Abb. 25/1).

- Informieren Sie sich ausführlicher in „Mikroskopie“ [Schlüter 1983], Seite 20 und 21 über Immersionssysteme!

Außer der Vergrößerung sind für die Erkennbarkeit von Mikroorganismen Auflösung, Schärfe und Helligkeit des Bildes von großer Bedeutung. Diese Eigenschaften werden von verschiedenen Mikroskop- und Leuchtentypen in unterschiedlicher Qualität reali-

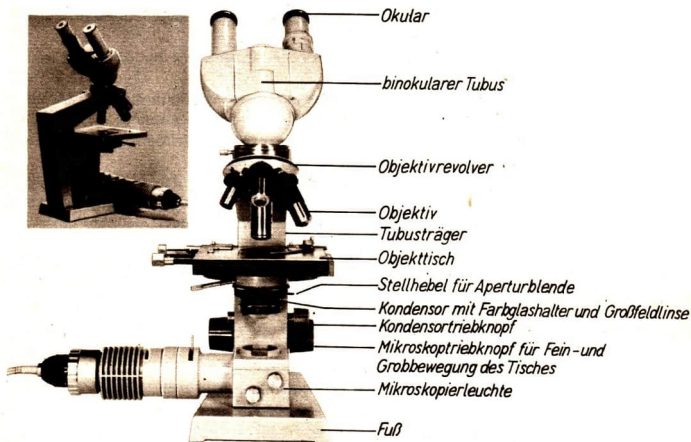


Abb. 24/1 Mikroskop Typ Laboval mit Mikroskopierleuchte 6/15

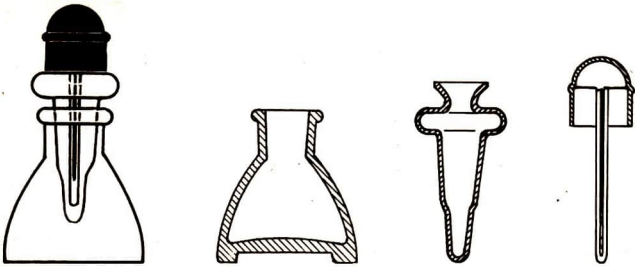


Abb. 25/1 Doppelflaschen mit Immersionsflüssigkeit (oben) und Reinigungsmittel für Frontlinsen (unten)

siert. Gut geeignet für mikroskopisches Arbeiten mit Mikroorganismen sind die beiden Mikroskoptypen Eduval und Laboval (Hersteller: VEB Carl Zeiß Jena). Auch ältere Mikroskoptypen können noch eingesetzt werden.

Ein wichtiges Zusatzgerät zum Mikroskop ist die Mikroskopierleuchte. Das ist eine Leuchte mit hoher Lichtintensität, die es gestattet, das Beleuchtungsverfahren nach KÖHLER (S. 27) durchzuführen. Für die Mikroskoptypen Eduval und Laboval wird die Mikroskopierleuchte 6/15 (Abb. 24/1) über einen Transformator an das Stromnetz angeschlossen. Während die Mikroskopierleuchte 6/15 am Fuß des Mikroskops verankert ist, müssen bei älteren Modellen Mikroskop und Leuchte durch eine T-Schiene verbunden werden, so daß ein unbeabsichtigtes Verschieben beider Geräte gegeneinander vermieden wird. Eine gute Leuchte ist auch die Voraussetzung für den Einsatz eines Dunkelfeldkondensors, der allerdings nur mit dem Mikroskoptyp Laboval und einigen älteren Mikroskoptypen kombiniert werden kann. Mit seiner Hilfe kann sowohl

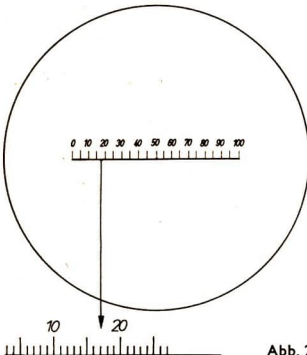


Abb. 25/2 Okularmikrometer 10 : 100

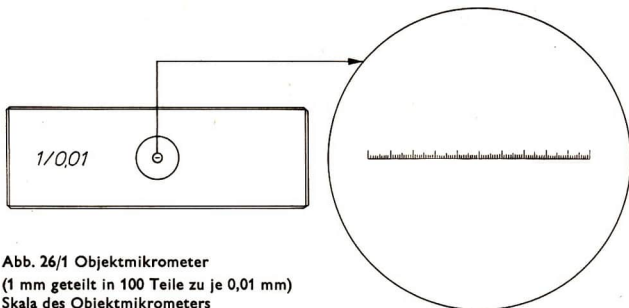


Abb. 26/1 Objektmikrometer
(1 mm geteilt in 100 Teile zu je 0,01 mm)
Skala des Objektmikrometers

von Frischpräparaten als auch von Dauerpräparaten im Mikroskop ein helles Bild auf dunklem Grund hergestellt werden.

Um Messungen an mikroskopischen Präparaten ausführen zu können, werden ein Meßokular (Abb. 30/1), ein Okularmikrometer (Okularmeßplatte) und ein Objektmikrometer (Objektmeßplatte) benötigt. Okular- und Objektmikrometer sind Glasplatten, in die Skalen eingraviert sind (Abb. 26/1).

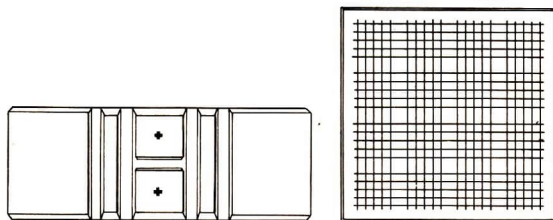


Abb. 26/2 Zählkammer und Zählnetz

Zum Auszählen von Mikroorganismen in einem bestimmten Volumen Flüssigkeit wird eine Zählkammer benutzt. Gebräuchlich ist die Zählkammer nach THOMA (Abb. 26/2l.). In die Vertiefung einer Glasplatte ist ein Zählnetz eingätzt (Abb. 26/2 r.).

Weiteres Zubehör sind Objektträger und Deckgläser. Eine besondere Form des Objektträgers ist der Hohlschliffobjektträger, der für Beweglichkeitsuntersuchungen von Mikroorganismen gut geeignet ist. Außerdem werden ein Wasserglas, ein Glasstab und ein Leinenlappen zum Putzen von Objektträgern, Deckgläsern und Linsen benötigt.

2.4. Grundlegende Techniken der Arbeit mit Mikroorganismen

2.4.1. Benutzung des Mikroskops

Die Grundlagen der mikroskopischen Optik, die Wirkungsweise und die Handhabung des Lichtmikroskops sind Ihnen bereits aus dem Unterricht bekannt (Physik, Biologie).

- *Lesen Sie in Physik in Übersichten, Seite 171 oder in Biologie in Übersichten, Seite 308 bis 312 nach!*

Hier wird nur auf solche Verfahren eingegangen, die für das Mikroskopieren von Mikroorganismen wichtig sind.

2.4.1.1. Mikroskopieren im Hellfeld

Von ausschlaggebender Bedeutung für die Qualität eines mikroskopischen Bildes ist eine einwandfreie Beleuchtung des Objektes. Sie wird garantiert, wenn man das Beleuchtungsverfahren nach KÖHLER anwendet.

Dabei wird im Prinzip so verfahren:

- Mikroskopierleuchte so vor dem Mikroskop aufstellen, daß sich Tubusträger und Achse der Leuchte in einer Linie befinden (Leuchte und Mikroskop können auch mittels einer T-Schiene miteinander verbunden werden)
- Mattscheiben aus Mikroskop und Leuchte entfernen
- Leuchte über einen Transformator an das Stromnetz anschließen
- Präparat herstellen und auf den Objektisch legen
- Durch Bewegen des Spiegels Licht durch das Präparat leiten
- Bei geringer Vergrößerung und dieser noch nicht optimalen Beleuchtung durch Bewegen des Grob- und Feintriebels auf das Präparat scharf einstellen
- Lampenwendel bei geschlossener Blende der Leuchte (Leuchtfeldblende) auf dem Planspiegel abbilden (Kontrolle kann mittels eines Stückes Pergamentpapier, das auf den Spiegel gelegt wird, erfolgen)
- Blende des Kondensors (Aperturblende) schließen
- Durch Verschieben der Lampe in der Steckhülse Lampenwendel scharf in der Mitte der Aperturblende abbilden (Abb. 28/1)
- Ins Mikroskop sehen und durch vorsichtiges Bewegen des Spiegels das Leuchtfeldblendenbild in die Mitte des Sehfeldes lenken
- Rand des Bildes der Leuchtfeldblende im Präparat durch Heben und Senken des Kondensors scharf abbilden
- Leuchtfeldblende öffnen, bis das Sehfeld gerade ausgeleuchtet ist (bei schwachen Objektiven nicht möglich, in diesen Fällen Blende bis zum Anschlag öffnen)
- Mattscheiben einsetzen

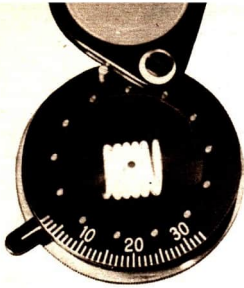


Abb. 28/1 Abbild der Lampenwendel auf der geschlossenen Aperturblende

- Okular herausnehmen, in den Tubus schauen und die Aperturblende so weit öffnen, daß ein Blendenbild sichtbar wird, dessen Durchmesser etwa die Hälfte der Objektivöffnung beträgt
- Okular in den Tubus stecken

■ Für den Typ Laboval, der dem Typ Eduval sehr ähnlich ist, gibt der Hersteller folgende Handhabung an:

- Lichtfleck auf der Mitte des Umlenkspiegels abbilden. Die Mattscheibe der Leuchte wird dazu entfernt.
- Lampenwendel auf die Mitte der geschlossenen Aperturblende abbilden. Der Kondensor steht am oberen Anschlag, die Großfeldlinse ist ausgeschwenkt. Die Fokussierung, d. h. das Vereinigen von Lichtstrahlen in einem Punkt, erfolgt durch Verändern des Abstandes Lampe – Kollektor durch Verschieben der Lampe; die Mattscheibe der Leuchte bleibt entfernt, die Öffnung der Leuchtenblende wird nach Bedarf eingestellt. Zum Zentrieren auf Mitte der Aperturblende wird der Umlenkspiegel mit den Justierschrauben entsprechend gerichtet.
- Mattscheibe in die dafür an der Leuchte vorgesehene Lagerstelle einsetzen.

- Objekt mit mittlerem Objektiv und schwachem Okular einstellen. Dazu wird die Aperturblende so weit geöffnet, daß eine zuverlässige Fokussierung möglich wird.

Im Objekt erscheint eine unscharfe Abbildung der geschlossenen Leuchtfeldblende.

- Leuchtfeldblendenbild mit dem Kondensortrieb fokussieren und durch Verstellen des Umlenkspiegels in die Feldmitte rücken
- Leuchtfeldblende öffnen, bis das Feld voll ausgeleuchtet ist
- Aperturblende so weit öffnen, daß optimaler Kontrast entsteht
Hinweis: Zu hohe Lichtintensität darf nur durch Herabsetzen der Lampenspannung (Stelltransformator) oder durch Einführen von Dämpfungsfiltern (Graugläsern) gemildert werden, nicht durch Schließen der Aperturblende.

Die einzelnen Handgriffe zum Beleuchtungsverfahren nach KÖHLER können sich in Abhängigkeit von den verwendeten Mikroskop- und Leuchtentypen ändern. Deshalb ist die für den jeweiligen Mikroskoptyp gegebene Erläuterung sorgfältig zu beachten!

Wird das Immersionsobjektiv benutzt, ist noch zu beachten:

- Präparat zunächst bei schwacher Vergrößerung ansehen
- Interessierende oder geeignete Präparatstelle durch Verschieben des Objektträgers in die Mitte des Sehfeldes bringen
- Einen Tropfen Immersionsflüssigkeit über der Mitte der Kondensorfrontlinse auf das mikrobiologische Präparat aufsetzen
- Immersionsobjektiv durch Drehen des Revolvers in den Strahlengang bringen, ohne daß es in die Immersionsflüssigkeit eintaucht
- Unter seitlichem Betrachten das Objektiv mittels des Grobtriebes vorsichtig in die Flüssigkeit einsenken
- Scharfeinstellung mittels des Feintriebes vornehmen

2.4.1.2. Mikroskopieren im Dunkelfeld

Die Dunkelfeldmikroskopie eignet sich besonders für die Beobachtung von lebenden Mikroorganismen und das Sichtbarmachen feiner kontrastarmer Strukturen. Die Objekte erscheinen bei diesem Verfahren hell auf dunklem Grund. Man verwendet zur Dunkelfeldmikroskopie einen Dunkelfeldkondensor. Außerdem wird bei sehr hohen Vergrößerungen ein Immersionsobjektiv mit Irisblende benötigt.

Die Einstellung des Dunkelfeldes geschieht auf folgende Weise:

- Mikroskopierleuchte gerade vor dem Mikroskop aufstellen
- Lampe über den Transformator an das Stromnetz anschließen
- Lampenwendel auf der Mitte des Planspiegels und der Aperturblende abbilden
- Kondensor etwas senken und herausnehmen
- Objektiv und Okular herausnehmen
- Spiegel so einstellen, daß das Licht in den Tubus fällt
- Ein Stück Pergamentpapier oder eine Mattscheibe auf das obere Tubusende legen und den Lichtfleck mittels des Spiegels so zentrieren, daß in der Tubusöffnung eine gleichmäßig ausgeleuchtete Kreisfläche zu sehen ist. Die Spiegelstellung darf nicht mehr verändert werden.
- Dunkelfeldkondensor vorsichtig einsetzen und etwas nach oben bewegen
- Präparat herstellen; der Objektträger soll eine Dicke von $1,0 \pm 0,1$ mm haben
- Einen Tropfen Immersionsflüssigkeit auf die Frontlinse des Kondensors bringen
- Präparat auf den Objektisch legen und Kondensor so weit heben, daß die Immersionsflüssigkeit luftblasenfrei an die Unterseite des Objektträgers gelangt
- Schwaches Objektiv und schwaches Okular in den Strahlengang bringen und auf das Präparat einstellen, in dem ein heller Fleck oder Ring erscheint
- Durch Zentrieren des Kondensors (wechselweises Drehen von Hebel und Flansch) Lichtfleck in die Mitte des Sehfeldes bringen
- Leuchtfeldblende schließen und Kondensor wenig heben oder senken, bis ein eventuell vorhandenes dunkles Zentrum im Lichtfleck verschwunden ist

- Durch Zuschalten eines anderen Objektivs und Einsetzen eines stärkeren Okulars gewünschte Vergrößerung herstellen. Bei der Verwendung des Immersionsobjektivs muß darauf geachtet werden, daß mit Hilfe der Irisblende des Objektivs seine Apertur auf 0,8 verringert wird.
- Leuchtfeldblende etwas öffnen, damit das Sehfeld voll ausgeleuchtet wird.

Steht kein Dunkelfeldkondensor zur Verfügung, so kann man sich helfen, indem man eine Zentralblende aus Pappe herstellt und diese in den Farbglasshalter einlegt [Schlüter 1978, S. 52].

2.4.1.3. Mikroskopisches Messen und Zählen

Das Mikroskop bietet nicht nur die Möglichkeit, die Gestalt eines Objektes wahrzunehmen, sondern auch seine Abmessungen mit Hilfe von Meßokular, Okularmikrometer und Objektmikrometer zu bestimmen.

Beim Messen wird so verfahren:

- Vom Meßokular Feldblende abschrauben und das Okularmikrometer einlegen (Abb. 30/1)
- Das Meßokular in den Tubus stecken und die Skala des Okularmikrometers mittels der verstellbaren Augenlinse scharf einstellen
- Objektmikrometer auf den Objektstisch legen, so daß die schwarze Kreismarkierung konzentrisch über der Frontlinse des Kondensors liegt
- Schwaches Objektiv benutzen und Skala des Objektmikrometers scharf abbilden
- Skala des Objektmikrometers möglichst genau in die Mitte des Sehfeldes bringen und Immersionsobjektiv in den Strahlengang schalten
- Einen Tropfen Immersionsflüssigkeit auf das Deckplättchen des Objektmikrometers bringen und Immersionsobjektiv vorsichtig hineintauchen
- Skala erneut scharf einstellen
- Skala des Okularmikrometers und Skala des Objektmikrometers zur Deckung bringen (Abb. 31/1) und den Mikrometerwert bestimmen

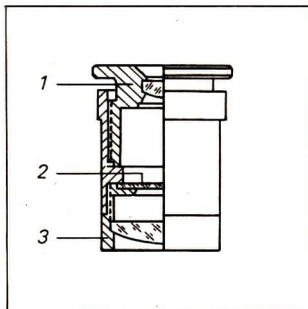


Abb. 30/1 Meßokular (Längsschnitt)

- 1 stellbare Augenlinse
- 2 in die Feldblende eingelegtes Okularmikrometer
- 3 herauserschraubbares Unterteil mit Feldlinse

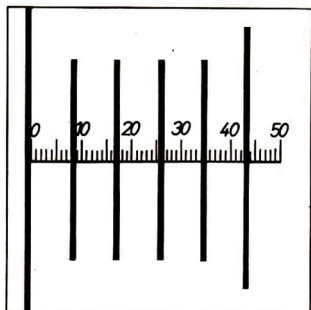


Abb. 31/1 Übereinanderliegende Skalen des Okular- und Objektmikrometers

Skala des Okularmikrometers mit Ziffern
Skala des Objektmikrometers ohne Ziffern.

Beispiel: 100 Teile der Skala des Objektmikrometers entsprechen 1 mm. Es decken sich 4 Teile des Objektmikrometers (y) mit 35 Teilen des Okularmikrometers (y'). Der Mikrometerwert (m) des Immersionsobjektivs ist

$$m = \frac{y}{y'} \cdot 0,01 \text{ mm}$$

$$m = \frac{4}{35} \cdot 0,01 \text{ mm}$$

$$m = 1,1 \mu\text{m}$$

- Abstand zwischen Objektivfrontlinse und Objektmikrometer vergrößern
- Objektmikrometer vom Objektstisch nehmen und dafür Präparat auflegen
- Scharf auf das Präparat einstellen
- Größe eines Teilchens ermitteln, indem die Anzahl der Intervalle des Okularmikrometers, die das zu messende Teilchen bedecken, ausgezählt und mit dem Mikrometerwert multipliziert wird

Beim Bestimmen von Geschwindigkeiten ermittelt man die in einer bestimmten Zeiteinheit zurückgelegte Strecke.

Zum Auszählen von Mikroorganismen in einem bestimmten Flüssigkeitsvolumen bereitet man eine Zählkammer folgendermaßen vor:

- Glasstege (Abb. 26/21.) zwischen den Rillen anfeuchten
- Deckglas unter leichtem Druck auf die Zählplatte aufschieben
- Festen Sitz des Deckglases anhand auftretender farbiger Interferenzringe an den Auflagestellen kontrollieren
- Raum unter dem Deckglas mittels einer Pipette mit zu untersuchender Suspension füllen
- Zählkammer auf den Mikroskopstisch legen und bei geeigneter Vergrößerung Mikroorganismenanzahl ermitteln

2.4.2. Herstellung von Nährmedien

- **Eine Voraussetzung für die Kultivierung von Mikroorganismen ist die Bereitung von Nährmedien. Nährmedien werden entweder in flüssiger oder in fester Form benötigt. Da die verschiedenen Mikroorganismen unterschiedliche Ansprüche an Nährsubstrate stellen, müssen Medien bestimmter chemischer Zusammensetzung für ihre Kultivierung ausgewählt werden.**

- **Beispiel für die Herstellung eines Nährmediums: Kochen von 500 ml Nähragar. In ein Becherglas mit einem Fassungsvermögen von 1 l werden 18,5 g Trockennährboden eingewogen und 500 ml Wasser daraufgegossen, anschließend wird mit einem Glasstab umgerührt. Das Becherglas wird auf einen Dreifuß mit Asbestnetz gesetzt und der Inhalt über der Bunsenflamme unter häufigem Rühren zum Kochen gebracht. Wenn sich die Bestandteile des Nährmediums gelöst haben, läßt man den flüssigen Nähragar etwas abkühlen und prüft seinen pH-Wert mit pH-Papier. Sollte der pH-Wert unter 7,0 liegen, so füllt man 50 ml Nähragar in ein Becherglas und gibt bei ständigem Rühren tropfenweise so viel N/10 Natriumhydroxidlösung zu, bis der gewünschte pH-Wert erreicht ist. Dadurch erhält man einen Anhaltspunkt, wieviel Einstellflüssigkeit notwendig ist, um für die Gesamtmenge des Nähragars den pH-Wert zu regulieren. Ähnlich verfährt man, wenn der Nähragar zu stark alkalisch ist; in diesem Fall setzt man anstelle der Natriumhydroxidlösung N/10 Salzsäure zu.**

Beobachtet man beim Kochen von Nährböden starke Verunreinigungen in Form größerer schwebender Teilchen, so muß man diese abfiltrieren. Da ein solcher Vorgang längere Zeit in Anspruch nimmt und nicht zum Erstarren des Agars führen darf, verwendet man dafür einen Heißwassertrichter. Dieser besteht aus einem mit Wasser gefüllten Metallhohlkörper, der einen locker mit Watte ausgelegten Glastrichter umgibt. Vor dem Filtrieren ist das Wasser im Mantel des Heißwassertrichters auf etwa 60 °C zu erwärmen. Der als Filtrat aufgefangene Agar erscheint als klares Medium.

Der noch flüssige Nähragar wird in Kulturröhrchen oder Reagenzgläser abgefüllt. Je nach späterer Verwendung werden Schrägröhrchen oder Hochschichtröhrchen hergestellt. Für ein Schrägröhrchen wird das Kulturröhrchen oder Reagenzglas zu $\frac{1}{4}$, für ein Hochschichtröhrchen zu $\frac{2}{3}$ mit dem Nähragar gefüllt. Nach dem Eingießen des Nährmediums sind die Röhrchen mit Zellstoffstopfen zu verschließen und zu sterilisieren. Solange der Nährboden noch flüssig ist (bis etwa 45 °C), werden die zu $\frac{1}{4}$ gefüllten, sterilisierten Röhrchen auf eine Leiste so gelegt, daß der Agar schräg erstarrt (Abb. 33/1). Die auf diese Weise erzielte Oberfläche zum Kultivieren von Mikroorganismen soll möglichst groß sein, aber es muß auch darauf geachtet werden, daß der Agar vor dem Erstarren nicht bis zum Stopfen läuft, um ein Verkleben von Nährboden und Zellstoffverschluß zu vermeiden. Die sterilisierten Hochschichtröhrchen bleiben bis zum Erstarren des Agars aufrecht stehen.

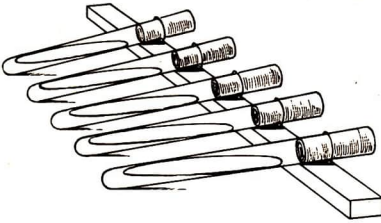


Abb. 33/1
Auslegen von Röhrchen zur
Herstellung von Schrägagar

Anstelle von Agar kann für viele Experimente zum Verfestigen des Nährmediums Gelatine verwendet werden. Bei Herstellung des Gelatine-Nährmediums muß nach der Regulierung des pH-Wertes eine Klärung erfolgen. Man nimmt dafür das Eiklar eines Hühnereis und verrührt dieses mit der flüssigen Gelatine. Anschließend stellt man das Gefäß mit der Nährgelatine 30 Min. in einen Dampftopf (s. S. 34). Danach wird die Gelatine mit dem Eiweißzusatz im Heißwassertrichter filtriert, man erhält ein völlig klares Medium.

Nach dem Sterilisieren können Nährmedien an einem kühlen Ort längere Zeit aufbewahrt werden.

2.4.3. Sterilisationsverfahren

Für zahlreiche Arbeitsschritte bei mikrobiologischen Experimenten müssen alle verwendeten Nährböden, Glasgeräte und Hilfsmittel steril, d. h. keimfrei, sein. Sterilisiert wird, indem man hohe Temperaturen, bestimmte Chemikalien oder UV-Strahlen einwirken läßt bzw. Mikroorganismen aus verschiedenen Medien durch Filtrieren entfernt.

► Das Entfernen oder Abtöten von Mikroorganismen wird als Sterilisieren bezeichnet.

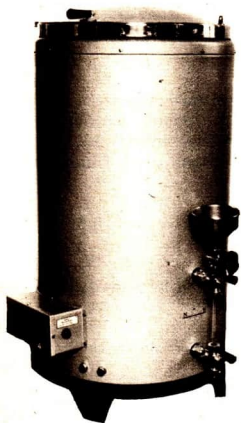
Bei der Sterilisation werden alle Mikroorganismen erfaßt. Durch Desinfektion dagegen werden gezielt pathogene (krankmachende) Mikroorganismen vernichtet oder wenigstens stark geschädigt.

Zum Sterilisieren nutzt man je nach Art des Sterilisiergutes verschiedene Verfahren:

Trockenes Erhitzen. Die einfachsten Verfahren des trockenen Erhitzens sind Ausglühen und Abflammen. Man kann damit feuerfeste Gegenstände, wie Impföse und Glasstab, keimfrei machen. Die Impföse hält man möglichst steil in den Außenkegel der Bunsenflamme, bis der Draht glüht. Es ist erforderlich, auch den Halterteil, an dem die Öse befestigt ist, abzuflammen.

Die meisten Glasgegenstände, z. B. die häufig benötigten Petrischalen, Erlenmeyerkolben und Pipetten, lassen sich am günstigsten in einem Heißluftsterilisator oder Trockenschrank sterilisieren. Vor dem Beschicken des Trockenschrankes sind Petrischalen in Sterilisierbüchsen zu stellen oder zu mehreren in Zeitungspapier zu verpacken. Zu diesem Zweck schichtet man bis zu 10 Petrischalen übereinander, legt diesen Stapel auf Zeitungspapier und rollt ihn unter Einschlagen der Enden fest ein. In derartig verpackte Petrischalen können nach dem Sterilisieren keine Mikroorganismen eindringen. Kolben und Flaschen verschließt man vor dem Einstellen in den Trockenschrank mit Zellstoffstopfen. Pipetten werden in Pipettenbüchsen gesteckt oder können auch in Zeitungspapier eingewickelt werden. Ein sicherer Sterilisationserfolg ist gewährleistet, wenn eine Temperatur von 180°C 1 Std. bis 2 Std. auf das Sterilisiergut einwirkt. Der Trockenschrank bzw. Heißluftsterilisator darf erst nach dem Abkühlen geöffnet werden.

Feuchtes Erhitzen. Wirkungsvoller als trockenes Erhitzen ist die Dampfbehandlung des Sterilisiergutes. Dazu wird das Sterilisiergut entweder in einen Kochschen Dampftopf (Abb. 34/1) oder einen Autoklaven (Abb. 34/2) eingebracht, in denen strömender Dampf erzeugt wird. Während der Dampf im Kochschen Dampftopf eine Temperatur von 100°C erreicht, kann im Autoklaven, der einen Druckbehälter darstellt, der Dampf auf Temperaturen über 100°C erhitzt werden. Durch eine einmalige Behandlung im Dampftopf werden Sporen nicht abgetötet; sie führt daher nicht zur Sterilität. Um sämtliche hitzeresistenten Keime zu erfassen, muß man das Sterilisiergut an drei aufeinanderfolgenden Tagen für jeweils 30 Min. einer Dampfbehandlung



34/1 Dampftopf



34/2 Autoklav



Abb. 34/3 Schnellkochtopf

von 100 °C unterwerfen. Die beim ersten Mal nicht abgetöteten Sporen können im Verlaufe von 24 Std. auskeimen, die Keime sind temperaturempfindlich und werden beim nachfolgenden Erhitzen vernichtet. Das dritte Dampfen dient dazu, die Sicherheit dieses Verfahrens, das man als fraktioniertes Sterilisieren bezeichnet, zu erhöhen. Da bei diesem Verfahren nur Temperaturen bis 100 °C auf das Sterilisiergut einwirken, ist es überall dort angebracht, wo bestimmte Nährböden (z. B. Gelatine) oder Flüssigkeiten (z. B. zuckerhaltige Lösungen) einer schonenden Behandlung bedürfen. Sterilisiergut, das Temperaturen über 100 °C ohne Schaden verträgt, wird vorteilhafter im Autoklaven sterilisiert, da dort eine einmalige Behandlung genügt. Die Temperatur des Dampfes im Autoklaven beträgt z. B. bei einem Überdruck von 1,1 kp/cm² bis 1,3 kp/cm² 121 °C bis 124 °C. Bei diesen Temperaturen werden innerhalb von 30 Min. alle Mikroorganismen abgetötet. Nach der Sterilisierzeit muß der Autoklav abkühlen, bevor das sterile Material entnommen wird. Die zur Benutzung eines jeden Dampfsterilisators notwendigen Handgriffe sind der jeweiligen Bedienungsanleitung zu entnehmen. Steht kein Autoklav zur Verfügung, so kann als gleichwertiger Ersatz ein Schnellkochtopf (Abb. 34/3) verwendet werden.

Filtrieren. Aus Flüssigkeiten können Keime durch Filtrieren entfernt werden. Man benutzt dazu Filter aus Glas, Porzellan oder Kieselgur, die so kleine Poren besitzen, daß sie von Bakterien nicht passiert werden können. Am häufigsten wird die Bakterienfiltrationsglocke benutzt (Abb. 35/1). Vor dem Gebrauch muß sie sterilisiert werden. Die auf die Filterfläche gegossene Flüssigkeit wird durch Anlegen eines Vakuums (z. B. durch eine Wasserstrahlpumpe) in ein ebenfalls steriles Auffanggefäß gesogen.

Chemikalienbehandlung. Für spezielle Aufgaben setzt man auch Chemikalien mit keimtötender Wirkung ein. Dazu gehören beispielsweise Schwermetallsalze, Alkalien,



Abb. 35/1 Bakterienfiltrationsglocke

Halogene, Phenolderivate. Sie werden vorwiegend zur Oberflächensterilisation von Gegenständen, Organismen oder ihrer Teile verwendet. Bei dieser Behandlung darf der Organismus, an dem die Mikroorganismen haften, vom Sterilisations- oder Desinfektionsmittel nicht geschädigt werden.

UV-Bestrahlung. UV-Strahlen dienen der Abtötung von Mikroorganismen in der Luft und auf glatten Oberflächen. Sie werden durch spezielle Lampen (Quecksilber-Niederdruck- oder Quarzlampen) erzeugt. Es muß allerdings ausdrücklich hervorgehoben werden, daß durch UV-Bestrahlung keine Sterilität gewährleistet wird, sondern lediglich eine Keimzahlminderung zu erreichen ist. Um beispielsweise eine keimarme Atmosphäre in einem Impfkasten zu schaffen, bestrahlt man den Innenraum vor dem Arbeiten mindestens 30 Min. mit UV-Licht.

2.4.4. Kultivierung von Mikroorganismen

- **Für zahlreiche Experimente benötigt man ein bestimmtes Ausgangsmaterial an Mikroorganismen, das man von verschiedenen Substraten, wie Boden, Wasser, Nahrungsmitteln, pflanzlichen und tierischen Resten, isolieren und in Kultur nehmen kann. Von diesen Substraten abgenommenes Material überträgt man zur Anreicherung der Mikroorganismen und späteren Gewinnung von Reinkulturen auf bzw. in sterile Nährmedien.**

Beabsichtigt man z. B. aus dem Boden Mikroorganismen zu isolieren, so stellt man eine Bodensuspension her. Von dieser entnimmt man mit der Impföse etwas Flüssigkeit und bringt diese in ein Röhrchen mit einer geeigneten Nährlösung. Häufig verwendet man die einfach herzustellende Bouillon. Bei der Übertragung der Suspension geht man wie folgt vor:

- Impföse sorgfältig ausglühen und zum Abkühlen in den Block stellen
- Mit der linken Hand Bouillonröhrchen fassen und dessen Öffnung in die Nähe der Bunsenbrennerflamme halten
- Mit der rechten Hand Stopfen lockern
- Reagenzglasöffnung abflammen und Stopfen herausziehen
- Impföse mit Daumen, Zeige- und Mittelfinger der rechten Hand fassen (Abb. 37/1) und die Öse in die Suspension tauchen
- Öse mit den Mikroorganismen in die Bouillon überführen und mehrmals hin und her bewegen
- Reagenzglasöffnung und Stopfen abflammen und Röhrchen verschließen
- Durch schnelles quirlartiges Bewegen des Röhrchens die Mikroorganismen möglichst gleichmäßig im Nährmedium verteilen
- Impföse ausglühen

Vermehren sich die Mikroorganismen, entstehen eine Trübung der Nährlösung, eine Kahmhaut (→ S. 118), ein Bodensatz oder ein Ring an der Glaswand an der Grenze zwischen Nährlösung und Luftraum.

In gleicher Weise verfährt man, wenn man nicht suspendiertes Mikroorganismen-

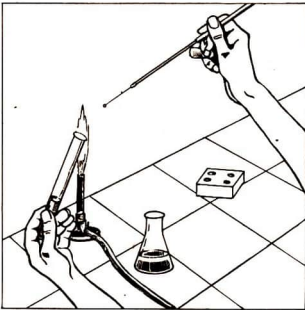


Abb. 37/1 Mikroorganismenübertragung mittels Impföse aus einer Flüssigkeit (Erlenmeyerkolben) in eine andere (Reagenzglas)

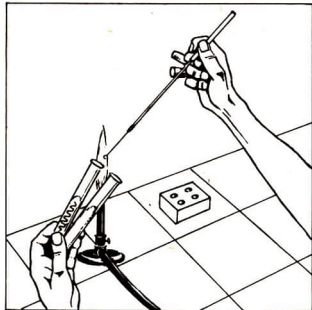


Abb. 37/2 Mikroorganismenübertragung mittels Impföse aus einem Schrägagarröhrchen in ein anderes

material in ein flüssiges Nährmedium überträgt. Dabei ist jedoch zu beachten, daß zum besseren Ablösen und Verteilen der fest an der Öse haftenden Mikroorganismen das Material mittels der Öse dicht unter der Oberfläche des Nährmediums an der Glaswand zu verreiben ist.

Mikroorganismen in einer Flüssigkeit können mit Hilfe eines Glas-(Drigalski-)spatels auf Nährbodenplatten verteilt werden, indem eine geringe Menge der Suspension auf die Nährbodenoberfläche aufgetropft und anschließend ausgespatelt wird. Der Spatel wird dabei mit der rechten Hand in kreisenden Bewegungen auf der Nährbodenoberfläche geführt; mit der linken Hand dreht man gleichzeitig die Petrischale.

Oft macht es sich erforderlich, Mikroorganismen von einem festen Nährmedium auf ein anderes festes Nährmedium zu übertragen. Man verfährt dabei in gleicher Weise wie beim Beimpfen eines flüssigen Nährmediums. Die Arbeit ist nur dann etwas schwieriger, wenn von einem Kulturröhrchen in ein zweites Röhrchen übertragen werden soll, da beide Röhrchen gleichzeitig in einer Hand gehalten werden müssen (Abb. 37/2). Mit der Impföse wird aus dem einen Röhrchen Mikroorganismenmaterial aufgenommen und auf der Nährbodenoberfläche des anderen Röhrchens (Schrägröhrchen) von unten nach oben in einer Zickzacklinie ausgestrichen. Die Nährbodenoberfläche soll dabei nicht geritzt werden. Die Führung der Impflinie trägt dazu bei, daß es in kurzer Zeit zu einer massenhaften Vermehrung der Mikroorganismen auf sehr kleiner Fläche kommt.

Eine besondere Form der Überimpfung erfolgt zum Anlegen einer Stichkultur, die über Gasbildung und Sauerstoffbedürftigkeit von Mikroorganismen Auskunft gibt. Hierbei wird eine Nadel in Mikroorganismenmaterial getaucht und anschließend in ein mit der Öffnung nach unten gehaltenes Röhrchen eingeführt. Mit der Nadel wird zentral in den Agar bis wenige Millimeter über den Reagenzglasgrund ein Kanal gestochen. Die Vermehrung der Mikroorganismen findet an der Stelle des Stichkanals statt, an der die für die jeweilige Mikroorganismenart günstigsten Bedingungen herrschen.

Mikroorganismen werden nicht nur in Röhrchen, sondern auch auf Platten kultiviert. Eine Platte stellt man wie folgt her:

- Ein sterilisiertes Hochschicht-Röhrchen im Wasserbad auf 100 °C erhitzen, bis sich der Nährboden verflüssigt hat
- Nährboden auf etwa 50 °C abkühlen lassen
- Sterile Petrischale vor einen Bunsenbrenner stellen
- Röhrchen nach dem Abtrocknen der Außenwand in die rechte Hand nehmen und das obere Ende des Röhrchens abflammen
- Stopfen entfernen und Röhrchenöffnung erneut abflammen
- Schalendeckel mit der linken Hand so weit anheben, daß das obere Ende des Röhrchens bequem zwischen Schalendeckel und -boden paßt
- Röhrcheninhalt in die Schale gießen und Deckel vorsichtig auflegen
- Durch langsames Bewegen der Petrischale den noch flüssigen Nährboden gleichmäßig auf dem Boden verteilen
- Schale auf planem Untergrund stellen und Nährboden erstarren lassen

Beim Festwerden des Nährbodens wird Wasser ausgequetscht, das die Nährbodenoberfläche mit einem Film überzieht, und im Schalendeckel scheidet sich Kondenswasser ab.

Dieser Film und herabfallende Wassertropfen können zum Ineinanderfließen von Mikroorganismenansammlungen (Kolonien) auf der Nährbodenoberfläche führen und stören damit bestimmte Untersuchungen bzw. verfälschen deren Ergebnisse. Dem kann man abhelfen, indem man die Platten im Brutschrank vor dem Beimpfen trocknet.

Kolonien auf Platten können das Ausgangsmaterial zur Gewinnung einer Reinkultur darstellen.

► **Eine Reinkultur ist eine Ansammlung von Mikroorganismen nur einer Art, die häufig aus der Vermehrung einer einzigen Zelle hervorgeht.**

Möglichkeiten zur Einzelung von Zellen sind das Fraktionieren und das Herstellen von Verdünnungsreihen. Beim Fraktionieren werden entsprechend der Abbildung 38/1 von einem einmal aufgetragenen Mikroorganismenmaterial ausgehend mehrere Impfstriche geführt, um einzeln liegende Zellen zu erhalten. Zwischen den aufeinanderfolgenden Impfschritten wird die Öse jedesmal ausgeglüht. Das Herstellen einer

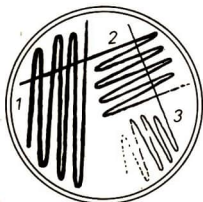


Abb. 38/1 Impfstrichführung beim Fraktionieren

Verdünnungsreihe beginnt mit dem Suspendieren von Mikroorganismenmaterial in einer Flüssigkeit. Von dieser ersten Suspension entnimmt man mit einer Öse oder Pipette eine bestimmte Menge und überträgt sie in eine abgemessene Menge der gleichen, aber mikrobefreien Flüssigkeit und verteilt die Mikroorganismen gleichmäßig darin. Diesen Vorgang wiederholt man noch einige Male (↗ S. 83), so daß allmählich eine immer stärker verdünnte Suspension entsteht. Von jeder einzelnen Verdünnungsstufe gibt man eine stets gleiche Menge Suspension in je eine sterile Petrischale und fügt verflüssigten Nährboden zu. Durch Schwenken der Schalen erreicht man eine Vermischung von Suspension und Nährboden. In den hohen Verdünnungsstufen ist die Einzelung der Mikroorganismen so weit fortgeschritten, daß aus Einzelzellen je eine Kolonie entsteht.

- **Mikroorganismen benötigen zu ihrer optimalen Vermehrung bestimmte Kulturbedingungen. Ein sehr wichtiger Faktor ist die Temperatur, sie beeinflußt die Vermehrungsrate der Mikroorganismen. Die Einwirkung einer für die Vermehrung günstigen Temperatur (Bebrüten) erfolgt im allgemeinen in einem Brutschrank.**

Will man Mikroorganismenkulturen über mehrere Monate aufbewahren, muß das Austrocknen der Nährböden weitgehend eingeschränkt werden. Deshalb werden die Zellstoffstopfen, mit denen die Kulturgefäße verschlossen sind, häufig mit Paraffin oder Plastfolie überzogen.

Die meisten Mikroorganismen brauchen zu ihrer Entwicklung Sauerstoff. Es gibt aber auch Mikroorganismen, die sich nur unter Ausschluß von Sauerstoff vermehren können. Zur Kultivierung dieser Anaerobier (↗ S. 121) ist es notwendig, den Sauerstoff aus ihrer Umgebung zu entfernen.

2.4.5. Herstellung mikroskopischer Präparate

Mikroorganismen werden zum Mikroskopieren im allgemeinen auf Objektträger gebracht, die vor dem Gebrauch gründlich gesäubert und fettfrei gemacht werden müssen. Dazu behandelt man sie zunächst mit heißem Wasser unter Fit-Zusatz und legt sie anschließend in 96%iges Äthanol. Unmittelbar vor dem Herstellen des Präparates trocknet und putzt man die Objektträger mit einem saugfähigen und nichtfasernden Lappen.

Mit einem Glasstab wird ein kleiner Tropfen Wasser auf die Mitte des Objektträgers gesetzt. In ihm verteilt man mit der Öse aufgenommenes Mikroorganismenmaterial. Dieser Suspensionstropfen wird mit der Öse auf dem Mittelfeld des Objektträgers dünn ausgestrichen (Ausstrichpräparat). Das Ausbreiten des Tropfens gelingt nicht, wenn der Objektträger nicht fettfrei ist. In diesem Fall zieht sich die Wasserfläche immer wieder zusammen.

Das Ausstrichpräparat läßt man nun ohne Hitzeeinwirkung trocknen. Nach dem Trocknen fixiert man das Präparat, indem man es dreimal langsam durch eine Bunsenbrennerflamme zieht. Der Objektträger darf sich dabei nicht erhitzen, sondern nur erwärmen. Ein so vorbereiteter Ausstrich kann anschließend gefärbt werden.

Zum Färben legt man den Objektträger auf eine Färbebank, die in einer Schale als Auffanggefäß für herablaufende oder abzuspülende Farblösung steht. Mit einer Pipette wird Farblösung auf das Objekt aufgetropft. Die Lösung muß den Ausstrich völlig bedecken und darf während der Einwirkzeit nicht eintrocknen. Es ist deshalb günstig, bei langen Färbezeiten die Färbebank mit dem daraufliegenden Präparat unter eine feuchte Glocke zu stellen. Nachdem die für jeden Farbstoff spezifische Einwirkzeit verstrichen ist (sie ist in den einzelnen Experimenten jeweils angegeben), spült man die Farblösung mit Wasser ab. Danach läßt man das Präparat lufttrocknen werden. Das Trocknen kann man beschleunigen, wenn man unmittelbar nach dem Abspülen der Farblösung den Objektträger zwischen Filterpapier legt und dieses leicht auf dem Ausstrich andrückt. Auf das trockene Präparat bringt man, ohne ein Deckglas aufzulegen, einen Tropfen Immersionsflüssigkeit. Nun können die Mikroorganismen mit einem Immersionsobjektiv mikroskopisch betrachtet werden.

Außer der Einfachfärbung gibt es die Möglichkeit, mit mehreren Farbstoffen zu färben, um verschiedene Strukturen einer Zelle oder Zellen mit verschiedenen Eigenschaften unterscheidbar zu machen.

Ein Präparat kann dann als gelungen angesehen werden, wenn die Mikroorganismen nicht zu dicht liegen und auf hellem Grund deutlich gefärbt erscheinen.

Das Herstellen einwandfreier mikroskopischer Präparate setzt sorgfältiges Arbeiten, aber auch Erfahrung voraus. Die in den Anleitungen zur Anfertigung von gefärbten Präparaten angegebenen Zeiten sind Richtwerte. Aufgrund der mikroskopischen Durchsicht ist zu entscheiden, ob evtl. ein zweites Präparat bei veränderten Einwirkzeiten hergestellt werden muß. Häufig anzutreffende Fehler sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

Tabelle 40/1 Mögliche Fehler beim Herstellen mikroskopischer Präparate

Fehler	Mögliche Ursache	Korrektur
Mikroorganismen bilden eine geschlossene, meist intensiv gefärbte Decke	Ausstrich ist zu dicht	Ausstrich weitflächiger führen weniger Mikroorganismen- material in den Wassertropfen einbringen
keine Mikroorganismen sichtbar	Objekt nicht scharf eingestellt Ausstrich ist zu dünn	Mikroskoptriebknopf langsam bewegen mehr Mikroorganismen- material in den Wassertropfen einbringen
Mikroorganismen sind überfärbt	Farblösung wirkte zu lange ein. Es wurde zu kurz gespült. Es wurde nach beabsichtigter „Überfärbung“ zu kurz differenziert (zu wenig Farbstoff ausgewaschen).	Färbezeit reduzieren Spülzeit verlängern Einwirkzeit des Differenzierungsmittels (z. B. salzsaures Äthanol) verlängern
Mikroorganismen sind nicht oder schwach gefärbt	Es wurde ein ungeeigneter Farbstoff verwendet.	anderen Farbstoff verwenden

Fehler	Mögliche Ursache	Korrektur
Mikroorganismen sind nicht oder schwach gefärbt	Färbezeit ist zu kurz bemessen. Es wurde zu lange gespült bzw. differenziert.	Einwirkzeit der Farblösung verlängern kürzere Zeit spülen bzw. differenzieren
Untergrund ist gefärbt	Präparat wurde ungenügend gespült	gründlich spülen

Neben der Anfärbung der Mikroorganismen selbst besteht auch die Möglichkeit, den Untergrund zu färben, auf dem sich dann die ungefärbten Mikroorganismen deutlich abheben. Zur Untergrundfärbung kann man beispielsweise Tusche verwenden, da sie nicht in die Zelle einzudringen vermag. Dazu wird auf die rechte Seite eines Objektträgers neben einen Suspensionstropfen ein Tuschetropfen gesetzt, beide Tropfen werden miteinander vermischt und mit einem schräg angelegten Deckglas oder Objektträger ausgestrichen (Abb. 41/1).

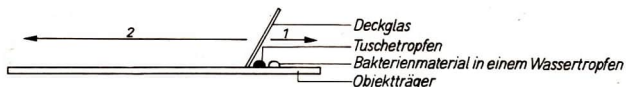


Abb. 41/1 Herstellung eines Tuschepräparates
1 und 2 bedeuten aufeinanderfolgende Ausziehrichtungen

Will man Mikroorganismen im lebenden Zustand beobachten, so bedeckt man den Suspensionstropfen auf einem Objektträger mit einem Deckglas.

Da allgemein Mikroorganismen, insbesondere Bakterien, ungefärbt nur schwer zu erkennen sind, können auch Lebendpräparate angefärbt werden. Einige Farbstoffe (Vitalfarbstoffe) eignen sich in sehr geringen Konzentrationen zur Anfärbung lebender Organismen, beeinträchtigen aber häufig ihre physiologische Leistung. Deshalb ist es günstiger, zur Lebendbeobachtung ungefärbte Objekte zu verwenden. Bei längerer Beobachtungsdauer werden manche Lebensäußerungen der Mikroorganismen eingeschränkt. Beispielsweise steht unbedingt Sauerstoff benötigenden Mikroorganismen unter dem dicht aufliegenden Deckglas zu wenig Sauerstoff zur Verfügung. Insbesondere bei beweglichen Formen ist es deshalb vorteilhaft, sie im „Hängenden Tropfen“ zu beobachten. Die Präparation geschieht in der Weise, daß ein mit Plastilina-Füßchen versehenes Deckglas, an dem ein Tropfen Mikroorganismensuspension hängt, über den Hohlsliff eines Objektträgers gesetzt wird, so daß

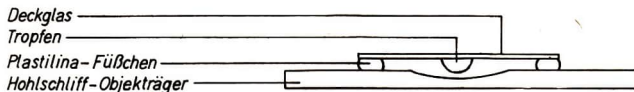


Abb. 41/2 Hängender Tropfen

seitlich Luft ungehindert hinzutreten kann (Abb. 41/2). In diesem Präparat werden außerdem durch Wasserströmung verursachte passive Bewegungen der Organismen weitgehend ausgeschlossen.

Vor der Herstellung eines mikroskopischen Präparats soll man sich genau überlegen, mit welcher Präparationsmethode das beabsichtigte Ziel am besten erreicht werden kann.

2.5. Beschaffung von Mikroorganismen

Im Gegensatz zu Chemikalien und Glaswaren kann man Mikroorganismenkulturen nicht über Handelseinrichtungen beziehen. Zwar gibt es wissenschaftliche Institutionen, die für Forschungslaboratorien Mikroorganismenkulturen zur Verfügung stellen. Für schulische Zwecke sind solche Stammkulturen in der Regel nicht zugänglich. Aus diesem Grund ist es für Arbeitsgemeinschaften notwendig, andere Quellen zu erschließen.

Einige Kulturen kann man aus Betrieben, die Mikroorganismen als Produktionsgrundlage haben, beziehen. Bestimmte Bakterien- und Pilzkulturen aus Molkereien können für viele mikrobiologische Experimente verwendet werden. Hefen sind vor allem in Bäckereien und Brauereien erhältlich.

Der größte Teil der für die Experimente erforderlichen Mikroorganismen kann natürlichen Substraten wie Boden und Wasser entnommen werden. Aus ihnen kann eine Vielzahl von Mikroorganismen isoliert werden. Nur selten wird es im Rahmen einer Arbeitsgemeinschaft möglich sein, die Mikroorganismenart zu bestimmen, die man kultiviert hat. Für viele Experimente ist das jedoch auch nicht erforderlich. In Ausnahmefällen kann sich für Arbeitsgemeinschaften auch die Möglichkeit ergeben, bestimmte Mikroorganismenkulturen von nahegelegenen wissenschaftlichen Einrichtungen zu erhalten.

2.6. Anlage und Auswertung von mikrobiologischen Experimenten

- **Das praktische Arbeiten mit Mikroorganismen führt dann zu hohem Erkenntnisgewinn, wenn die Experimente gut durchdacht, zweckmäßig angelegt und ausgewertet werden. Vor der Durchführung eines Experiments ist deshalb die gegebene Anleitung dazu gründlich durchzulesen und der Ablauf des Experiments gedanklich vorzubereiten.**

Wenn man die einzelnen Arbeitsschritte geplant hat, stellt man das erforderliche Material auf dem Arbeitstisch zusammen. Nachdem die gedankliche und die materielle Vorbereitung abgeschlossen sind, kann mit der Durchführung des Experiments entsprechend der Anleitung begonnen werden. Von Anfang an muß man darauf achten, daß alle Versuchsvarianten, aber auch die einzelnen Glieder einer jeden Variante eindeutig gekennzeichnet werden (z. B. Beschriftung, Farbmarkierung). Während

beispielsweise verschiedene Bodenarten als Varianten zu betrachten sind, stellen die einzelnen zu einer Bodenart gehörigen Proben die Glieder einer Variante dar. Im einfachsten Fall besteht eine Variante aus nur einem Versuchsglied. Es ist jedoch vorteilhaft, mehrere Glieder je Variante (Wiederholungen; Parallelen) vorzusehen, um verallgemeinernde Aussagen treffen zu können.

Zu jedem Experiment ist ein übersichtliches Protokoll zu führen, in dem alle Arbeitsschritte, Beobachtungen, Teilergebnisse und das Gesamtergebnis übersichtlich festgehalten werden. Das Protokoll enthält: die Nummer des Experiments, die Quellenangabe für die Arbeitsanleitung, die gegebene Aufgabe, die Angabe der Zeit des Ansatzes für das Experiment (Datum und bei Kurzzeitexperimenten in der Regel auch die Uhrzeit). Außerdem werden die wichtigsten Arbeitsschritte genannt. Wenn sich Änderungen bzw. Ergänzungen bei der Durchführung gegenüber der Anleitung des Experiments ergeben, ist das im Protokoll zu vermerken. Besonders wichtig ist im Protokoll die Ergebnisdarstellung. Sie umfaßt die textliche Beschreibung, die Anfertigung von Abbildungen in Form von Zeichnungen, Fotografien und grafischen Darstellungen und Übersichten (z. B. Tabellen). Die textliche Beschreibung soll kurz, prägnant und sprachlich klar abgefaßt sein. Wo sich die Möglichkeit der bildhaften und grafischen Darstellung bietet, sollte man diese bevorzugen, da sie übersichtlicher ist.

Das Anfertigen einer Zeichnung von Objekten setzt gründliches Betrachten des Präparats voraus. Die Zeichnung soll ein naturgetreues Abbild des Objekts sein, das mit deutlicher Linienführung genügend groß angefertigt wird. Eine solche Zeichnung kann verschieden stark abstrahiert werden. Skizzen und Schemata zeigen die wesentlichen Eigenschaften des Objektes unter Vernachlässigung unwichtiger Einzelheiten. Eine Fotografie liefert einen authentischen Beleg vom Objekt, der jedoch neben wesentlichen Merkmalen auch unbedeutende Einzelheiten enthält.

Zur Fotografie von Mikroorganismen benötigt man eine mikrofotografische Einrichtung, die zusammen mit der Kamera auf das Mikroskop aufgesetzt wird. Diese teure und wertvolle mikrofotografische Einrichtung wird aber nicht unbedingt im Rahmen der Arbeitsgemeinschaft „Mikrobiologie“ gebraucht, um mikrobiologische Ergebnisse festzuhalten. Für Makroaufnahmen, z. B. das Fotografieren von Nährbodenplatten, Kulturröhrchen u. ä., eignet sich bereits jede in der Amateurfotografie übliche Kamera ohne Zubehör.

Ergebnisse eines Experiments sind häufig Werte, die sich gut in Form von Kurven-, Säulen- oder Kreisdiagrammen darstellen lassen. Wenn ein Ablauf eines Prozesses wiedergegeben werden soll, empfiehlt es sich, ein Kurvendiagramm zu wählen. Handelt es sich nicht um Abläufe, sondern um die Darstellung einiger weniger Abhängigkeiten, so zeichnet man ein Säulendiagramm. Mit einem Kreisdiagramm kann man vorteilhaft das Verhältnis von Einzelteilen zur Gesamtheit ausdrücken.

In Tabellen werden in der Regel statistisch aufbereitete Zahlenwerte in übersichtlicher Anordnung zusammengefaßt. In den Anleitungen für die Durchführung der Experimente ist häufig die Art der Auswertung vorgegeben. In solchen Fällen wird die Ergebnisbeschreibung durch das Protokoll lediglich ergänzt.

Nachfolgend sollen zur **statistischen Auswertung** von Ergebnissen einige grundsätzliche Hinweise gegeben werden:

Die einzelnen Glieder einer Variante liefern Meßwerte, die nur eine Auswahl aus der Gesamtheit (Grundgesamtheit) der möglichen Glieder darstellen. Die Grundgesamtheit ist meist zu umfangreich, um alle ihre Glieder untersuchen zu können. Wollte

man z. B. die Anzahl der Mikroorganismen in einem See genau ermitteln, müßte man das gesamte Seewasser in die Untersuchung einbeziehen. Da das nicht möglich ist, nimmt man Stichproben. Die Anzahl der zu untersuchenden Proben (Stichprobenumfang) muß so bemessen sein, daß sich daraus ein repräsentativer Durchschnittswert errechnen läßt. Dieser Durchschnittswert wird als Mittelwert ($\bar{x}$) bezeichnet. Man erhält ihn, wenn man die Summe der Einzelwerte durch die Anzahl der Werte (Stichprobenumfang) dividiert.

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n} \quad \begin{array}{l} x = \text{Einzelwert} \\ n = \text{Anzahl der Werte} \end{array}$$

■ Beispiel: 10 Wasserproben zu je 1 ml werden auf ihren Mikroorganismengehalt untersucht.

Probe Nr.	Anzahl der Mikroorganismen/1 ml Wasser
1	1320
2	1211
3	709
4	309
5	3000
6	1765
7	1229
8	2778
9	705
10	1884
	$\sum x = 14910$
	$\bar{x} = \frac{14910}{10} = 1491$

Der Mittelwert beträgt 1491 Mikroorganismen.

In 1 ml Seewasser befinden sich demnach durchschnittlich 1491 Mikroorganismen. Es ist einfach, die Anzahl der Mikroorganismen im gesamten Seewasser zu berechnen, wenn das Volumen des Sees bekannt ist. Die ökologischen Besonderheiten werden hierbei natürlich nicht berücksichtigt.

Häufig werden neben dem Mittelwert auch die Streuung der Einzelwerte (Standardabweichung) und die Streuung des Mittelwertes (Standardfehler) erfaßt, da diese Auskunft über die Streubreite der Einzelwerte bzw. des Mittelwertes geben. Standardabweichungen und Standardfehler sind dann klein, wenn die Einzelwerte dicht beieinander liegen. Die Standardabweichung (s) berechnet man nach

$$s = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}} \quad \begin{array}{l} d = \text{Differenz zwischen Einzelwert} \\ \text{und Mittelwert} \end{array}$$

Die Berechnung des Standardfehlers erfolgt nach der Gleichung

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Standardabweichung oder Standardfehler werden mit positivem und negativem Vorzeichen ($\pm$) hinter den Mittelwert ($\bar{x}$) gesetzt, wodurch der Schwankungsbereich der Einzelwerte bzw. des Mittelwertes gekennzeichnet wird. Im Rahmen der Auswertung biologischer Versuche ergänzt man den Mittelwert in der Regel durch Angabe des Standardfehlers.

- Beispiel: Der Mittelwert des Mikroorganismengehaltes in 1 ml Seewasser beträgt 1491 Mikroorganismen.

$$\bar{x} = 1491$$

Probe Nr.	d	d ²
1	- 171	29241
2	- 280	78400
3	- 782	611524
4	-1182	1397124
5	+1509	2277081
6	+ 274	75076
7	- 262	68644
8	+1287	1656369
9	- 786	617796
10	+ 393	154449
		6965704

$$s = \sqrt{\frac{6965704}{9}}$$

$$s = 879,7$$

Die Standardabweichung beträgt $\pm 879,7$.

Der Standardfehler berechnet sich aus

$$s_{\bar{x}} = \frac{879,7}{\sqrt{10}} \quad s_{\bar{x}} = 278,2$$

Der Standardfehler beträgt $\pm 278,2$.

Entsprechend unserer Berechnung befinden sich in 1 ml Seewasser 1491 ± 278 Mikroorganismen.

Beim Vergleich mehrerer Varianten fallen Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwerten auf, die mit Hilfe spezieller statistischer Verfahren auf ihre Bedeutsamkeit (Signifikanz) geprüft werden können. Diese komplizierten mathematischen Verfahren sollen hier nicht behandelt werden. Als Faustregel kann aber gelten, daß im allgemeinen ein Unterschied zwischen zwei Mittelwerten dann als statistisch gesichert anzusehen ist, wenn er größer ist als der dreifache Wert des größeren der beiden Standardfehler.

Die in das Protokoll eingetragenen Ergebnisse werden im folgenden Abschnitt diskutiert. Unter der „Diskussion“ versteht man eine auf Grund der vorhandenen Kenntnisse und gemachten Erfahrungen persönliche Stellungnahme zur eigenen Arbeit und der dadurch gewonnenen Ergebnisse. Bei der Besprechung der Befunde sollte insbesondere die Richtigkeit der Ergebnisse abgeschätzt werden. Liegen un-

wahrscheinliche Resultate vor, sollte nach Fehlern und deren Erklärung gesucht werden. Die Diskussion ist mit der Formulierung von Schlußfolgerungen, die sich von den Ergebnissen herleiten, abzuschließen.

Der letzte Abschnitt des Protokolls dient der Zusammenfassung der Ergebnisse. In ihr sind die wesentlichsten durch das Experiment gewonnenen Erkenntnisse in knapper Form darzulegen.

3. **Äußere Gestalt und innerer Bau der Mikroorganismen**

- **Mikroorganismen, die sich hinsichtlich ihrer äußeren Gestalt und des inneren Baues ihrer Zellen wesentlich voneinander unterscheiden, werden verschiedenen systematischen Gruppen zugeordnet.**

Obwohl es innerhalb einer Gruppe beachtliche Größenunterschiede zwischen einzelnen Organismen geben kann, gilt, daß Bakterien und Blaualgen die kleinsten Vertreter der Mikroorganismen sind. Algen, Pilze und Protozoen sind meist um ein Mehrfaches größer (Abb. 48/1).

3.1. **Äußere Gestalt und innerer Bau der Bakterien**

- **Die Gestalt der Bakterien ist kugel-, stäbchen-, komma- oder schraubenförmig. Bakterien können einzeln oder zu mehreren zusammenliegen und dann paketartige Gruppen, Ketten oder Fäden bilden (Abb. 49/1).**

Die Größe einer Bakterienzelle ist von Art zu Art recht unterschiedlich. Während Mikrokokken, die zu den kleinsten Bakterien gehören, einen Durchmesser von $0,2\ \mu\text{m}$ bis etwa $1\ \mu\text{m}$ aufweisen, können schraubenförmige Bakterien eine Länge bis zu $100\ \mu\text{m}$ erreichen. Bakterien sind beweglich oder unbeweglich; bewegliche Formen tragen bis auf wenige Ausnahmen Geißeln.

Bakterienzellen (Abb. 49/2) haben keinen abgegrenzten Zellkern, sondern ein Kernäquivalent.

Da die meisten Bakterienarten kein Chlorophyll besitzen, führen sie keine Photosynthese durch. Als Inhaltsstoffe können bestimmte Kohlenhydrate, Fette und Eiweiße in Bakterien enthalten sein.

Einige Bakterien bilden Sporen, die gegenüber äußeren Einflüssen sehr widerstandsfähig sind und demzufolge ungünstige Verhältnisse überdauern können.

Die Vermehrung der Bakterien erfolgt durch Zellteilung, die bei stäbchenförmigen Zellen senkrecht zur Längsachse verläuft. Infolge der hohen Vermehrungsrate treten Bakterien unter günstigen Bedingungen massenhaft auf. Sie besiedeln nahezu alle Lebensräume; zahlreiche Arten sind Krankheitserreger.

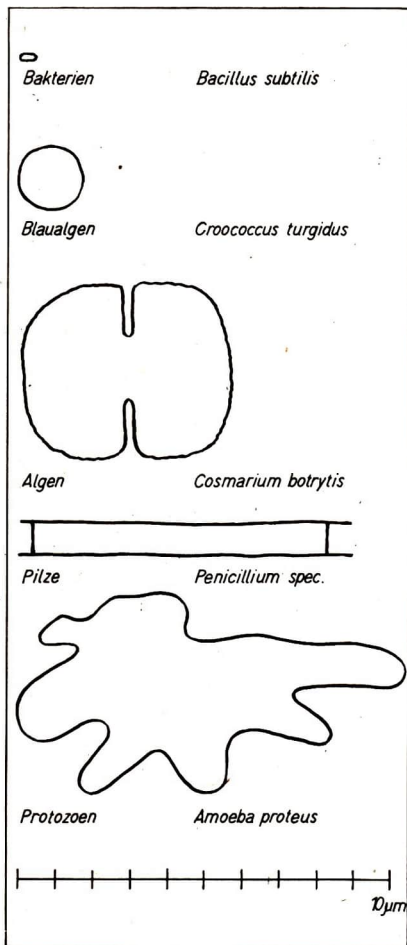
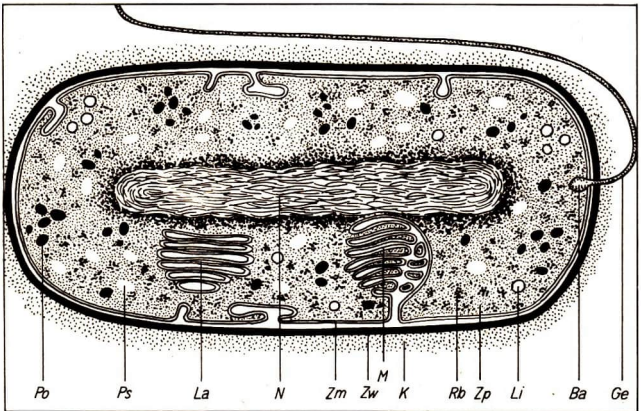
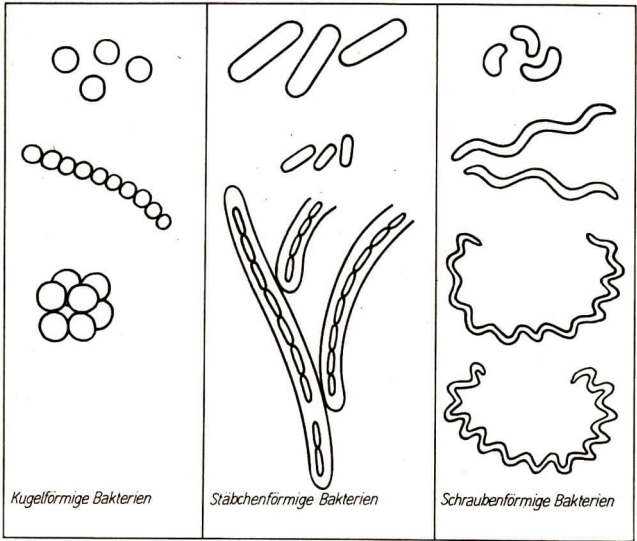


Abb. 48/1 Größe einiger Mikroorganismen

Abb. 49/1 (S. 49 oben)
Bakterienformen

Abb. 49/2 (S. 49 unten)
Bau einer Bakterienzelle

- Po Polyphosphate
- Ps Polysaccharide
- La Lamellenkörper
- N Kernäquivalent (Nukleoid)
- Zm Zytoplasmamembran
- Zw Zellwand
- M Mesosom
- K Kapsel
- Rb Ribosomen
- Zp Zytoplasma
- Li Lipidtropfen
- Ba Basalkörper
- Ge Geißel



3.1.1. Formen von Bakterien

Auf einem geeigneten Nährsubstrat kann sich eine Bakterienzelle rasch teilen. Da sich die neugebildeten Zellen immer wieder teilen, entsteht eine bereits mit bloßem Auge sichtbare Ansammlung von Bakterien, die als Kolonie bezeichnet wird und je nach der Bakterienart eine charakteristische Gestalt aufweist.

Um jedoch die Form von Einzelzellen deutlich erkennen zu können, macht es sich erforderlich, die Bakterien mikroskopisch zu beobachten, wobei es günstig ist, sie zuvor anzufärben oder auf einem dunklen Grund darzustellen.

- *Beobachten Sie das Entstehen von Mikroorganismenkolonien auf einer Fangplatte! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 1! Beachten Sie die Festlegungen zum Arbeitsschutz (/ S. 18 ff.)!*

▼ Experiment 1: Erkennen von Bakterienformen

○ Zeit:

Dauer des Experiments: 2 Tage

Ansatz: 90 Min.

Auswertung: in Abständen von mehreren Stunden je 5 Min.
nach 2 Tagen 60 Min.

Material:

sterile Petrischale

Objektträger

Deckgläser

Tusche nach BURRI

sterilisiertes Hochschichtröhrchen mit Nähragar I,

wenn Nähragar I nicht vorhanden: Nährgelatine (Rezept / S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Verflüssigen Sie den Nähragar eines Hochschichtröhrchens im Wasserbad bei 100 °C und lassen Sie ihn auf etwa 50 °C abkühlen!
Bei Verwendung von Nährgelatine Arbeitsanleitung zu Experiment 23 beachten!
- Gießen Sie den noch flüssigen Agar in eine sterile Petrischale!
- Nehmen Sie nach dem Erstarren des Agars den Petrischalendeckel ab und lassen Sie die Schale 45 Min. offen im Arbeitsraum stehen, um Mikroorganismen aus der Luft einzufangen!
- Legen Sie nach dieser Zeit den Deckel wieder auf und setzen Sie die Fangplatte mit dem Schalenboden nach oben in den Brutschrank (Bebrütungstemperatur: 28 °C)!

Beobachtung

- Prüfen Sie in mehrstündigen Abständen die Fangplatte auf Erscheinen von Kolonien!

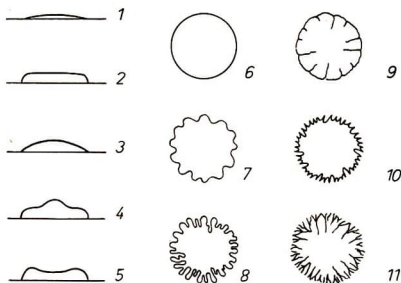


Abb. 51/1 Formen von Bakterienkolonien

Profil:

- 1 flach
- 2 erhaben
- 3 konvex
- 4 knopfförmig
- 5 nabelförmig

Rand:

- 6 glatt
- 7 wellenförmig
- 8 gelappt
- 9 schwach gekerbt (mit Vertiefungen)
- 10 gesägt
- 11 verästelt

Holen Sie nach 2 Tagen die Platte aus dem Brutschrank! Wählen Sie unter den gewachsenen Kolonien einige aus, die ein schleimiges oder teigartiges Aussehen zeigen und von denen Sie vermuten, daß es Bakterienansammlungen sein können!

- Beschreiben Sie die Formen dieser Kolonien (Abb. 51/1)!
- Entnehmen Sie mit der vorher ausgeglühten Impfpöse von jeder der ausgesuchten Kolonien etwas Material und stellen Sie davon Tuschepräparate her (→ S. 41)!
- Betrachten Sie die Präparate mit Hilfe eines Immersionsobjektivs unter dem Mikroskop! Versuchen Sie zu entscheiden, ob es sich um Bakterien oder Vertreter einer anderen Mikroorganismengruppe handelt!
- Stellen Sie von den als Bakterien erkannten Mikroorganismen die auftretenden Formen fest; vergleichen Sie, was Sie sehen mit der Abbildung 49/1! Beachten Sie auch die Art der Zusammenlagerung von Bakterienzellen!

(Achtung: Bakterienmaterial von der Fangplatte wird für Experiment 3, 4, 33, 50 und 51 benötigt.)

Auswertung: Welche Mikroorganismenformen haben Sie auf der Fangplatte gefunden? Ziehen Sie Schlußfolgerungen bezüglich des Vorkommens und der Vermehrung von Bakterien!

3.1.2. Sporen von Bakterien

- Bei bestimmten Bakterienarten bilden sich im Verlaufe der Entwicklung im Inneren von Zellen Sporen aus. Sie weisen nur eine sehr geringe Stoffwechselaktivität auf und sind relativ unempfindlich (resistent) gegenüber Austrocknung, Hitze einwirkung und dem Einfluß vieler Chemikalien. Die Sporenwand ist für zahlreiche Substanzen nicht oder nur schwer durchlässig; auch Farbstoffe werden von der Spore in nur ganz geringer Menge aufgenommen.

- Weisen Sie nach, daß Bakterien Sporen bilden können! Setzen Sie dazu einen Heuaufguß an! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung von Experiment 2!

▼ Experiment 2: Nachweis von Bakteriensporen

Zeit:

Dauer des Experiments: etwa 1 Woche

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: 60 Min.

Material:

Heu

Becherglas (1 l)

Glasplatte

Objektträger

Malachitgrünlösung (7,6% ig)

Safraninlösung (0,25% ig)

Durchführung:

Ansatz

- Kochen Sie in einem Becherglas eine Handvoll Heu, das mit Leitungswasser bedeckt wurde, etwa 5 Min.!
- Decken Sie das Becherglas ab und lassen Sie den Aufguß zur Entwicklung von Mikroorganismen einige Tage stehen!
- An der Oberfläche vermehrt sich hauptsächlich der Heubazillus (*Bacillus subtilis*).

Beobachtung

- Wenn sich auf der Oberfläche des Heuaufgusses eine Kahmhaut gebildet hat, nehmen Sie mit einer Impföse davon etwas Material ab und bringen es auf einen Objektträger!
- Stellen Sie einen Ausstrich her, und lassen Sie diesen trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat, indem Sie den Objektträger mindestens 20mal durch eine Bunsenbrennerflamme führen!
- Bedecken Sie den gesamten Ausstrich mit Malachitgrünlösung, und lassen Sie den Farbstoff 10 Min. einwirken!
- Spülen Sie danach die Farblösung mit Wasser ab!
- Tropfen Sie anschließend Safraninlösung auf, die nur 20 Sek. auf den Ausstrich einwirken darf!
- Spülen Sie das Präparat erneut mit Wasser ab, und lassen Sie es trocknen!
- Mikroskopieren Sie unter Verwendung eines Immersionsobjektivs das Präparat! Ermitteln Sie die Zellform und die Lage der Bakterien zueinander!

(Achtung: Der Heubazillus wird auch für Experiment 5 benötigt!)

Auswertung:

Prüfen Sie, ob grüne, ovale Körper auftreten, die häufig noch im Innern der ursprünglichen, im Präparat rotgefärbten Bakterienzelle liegen! Sie beweisen, daß der Heubazillus Sporen gebildet hat.

3.1.3. Zellwand der Bakterien

Die Bakterienzellen sind von einer Zellwand umgeben. Nach dem Bau der Zellwand lassen sich die Bakterien in zwei Gruppen einteilen. Diese unterscheiden sich in ihrem Verhalten gegenüber bestimmten Farbstoffen. Nach einer von GRAM 1884 eingeführten Färbung bezeichnet man die Mikroorganismen, die infolge ihrer Zellwandstruktur bestimmte Anilinfarbstoffe bei nachfolgender Jod-Kaliumjodid-Behandlung gegenüber Äthanol festzuhalten vermögen, als grampositiv. Läßt sich der Farbstoff durch den Alkohol auswaschen, so handelt es sich um gramnegative Organismen; sie können durch einen zweiten Farbstoff angefärbt werden. Die Unterschiede im Bau der Zellwand grampositiver und gramnegativer Bakterien sind in Abbildung 53/1 dargestellt.

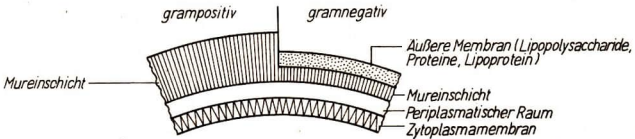


Abb. 53/1 Bau der Zellwand grampositiver und gramnegativer Bakterien

- Betrachten Sie Bakterien, die Sie nach der Anleitung zu Experiment 3 behandelt haben, unter dem Mikroskop! Stellen Sie fest, ob sich im Präparat grampositive oder gramnegative Bakterien befinden!

▼ Experiment 3: Gramfärbung von Bakterien

○ Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

Fangplatte von Experiment 1
Objektträger
kleiner Trichter
kleiner Faltenfilter
Gentianaviolettphenollösung
verdünnte Fuchsinphenollösung
Jod-Kaliumjodid-Lösung zur Gramfärbung
96%iges Äthanol
Uhr mit Sekundenzeiger oder Stoppuhr

Durchführung:

- Entnehmen Sie von einer Fangplatte (↗ S. 50) Bakterienmaterial!
- Fertigen Sie ein Ausstrichpräparat an, und lassen Sie es trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat!

- Lassen Sie durch einen kleinen Faltenfilter Gentianaviolettphenollösung auf den Ausstrich tropfen und die Farblösung 2 Min. einwirken!
- Gießen Sie die Farblösung vom Objektträger ab! Geben Sie anschließend Jod-Kaliumjodid-Lösung auf den Ausstrich!
- Spülen Sie nach 1 Min. die Jodidlösung mit 96%igem Äthanol ab, und lassen Sie den Alkohol so lange einwirken, bis vom Präparat keine Farbwolken mehr aufsteigen!
- Kippen Sie das Äthanol vom Objektträger ab, und führen Sie eine Gegenfärbung mit verdünnter Fuchsinphenollösung durch!
- Spülen Sie nach 15 Sek. die Farblösung mit Wasser ab, und lassen Sie das Präparat trocknen!

Auswertung: Beurteilen Sie durch Betrachten im Mikroskop, ob die für den Ausstrich verwendeten Bakterien grampositiv (violett) oder gramnegativ (rot) sind!

3.1.4. Begeißelte Bakterien

- **Bewegliche Bakterien können eine Geißel oder mehrere Geißeln tragen.**

Diese Bewegungsorganelle sitzen entweder polar an oder sind über die Oberfläche der Zelle verteilt. Es gibt Bakterien, beispielsweise Spirillen, die Geißelbüschel besitzen. Auf das Vorhandensein von Geißeln kann indirekt geschlossen werden, wenn die Bakterien aktiv beweglich sind. Der direkte Nachweis von Geißeln ist durch Beobachtung im Dunkelfeld oder durch eine spezifische Färbung der Bewegungsorganellen möglich.

- Prüfen Sie, ob Sie auf der Fangplatte von Experiment 1 geißeltragende Bakterien finden! Handeln Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 4!

▼ **Experiment 4: Nachweis von Bakteriengeißeln**



Zeit:

Dauer des Experiments: 120 Min.

Material:

Schweinejauche [!]

Fangplatte von Experiment 1 (Bakterienkulturen nicht älter als 48 Std.)

Hohlschliffobjektträger

Objektträger

Deckgläser

Pipette

Plastilina

96%iges Äthanol

Fuchsinlösung nach LEIFSON

Durchführung:

- A: – Untersuchen Sie etwas Schweinejauche im Hängenden Tropfen (Präparation ↗ S. 41)! Verfolgen Sie im Sehfeld die sich bewegenden Mikroorganismen! [!]
- Unterscheiden Sie zwischen Formen, die aktiv einen Ortswechsel durchführen, d. h. sich rasch über das Sehfeld bewegen, und Formen, die nicht eigenbeweglich sind und daher nur mehr oder weniger um einen Punkt pendeln!
 - Beobachten Sie in dem Jauchetropfen insbesondere die auffällig großen Spirillen! Am Rand des eintrocknenden Tropfens können Sie u. U. den langsamer werdenden Schlag der Geißelbüschel sehen.
- B: – Machen Sie die Geißeln durch Färbung sichtbar!
- Spülen Sie einen Objektträger mehrmals mit 96%igem Äthanol!
 - Setzen Sie in die Nähe des Randes der Schmalseite des getrockneten Objektträgers einen Jauchetropfen, und lassen Sie diesen längs über die Objektträgerfläche laufen!
 - Tragen Sie nach dem Trocknen der Tropfenspur Fuchsinlösung (nach LEIFSON) auf und lassen Sie die Lösung etwa 15 Min. einwirken!
 - Spülen Sie die Fuchsinlösung mit Wasser ab und lassen Sie das Präparat an der Luft trocknen!
 - Betrachten Sie das Präparat mittels Ölimmersion und suchen Sie nach Spirillen, an deren Körperenden Geißelbüschel in Form relativ dick erscheinender Stränge sitzen!
- C: – Prüfen Sie die Bakterien einer Kolonie von der Fangplatte ebenso wie den Jauchetropfen auf Beweglichkeit im Hängenden Tropfen!
- Wenn Sie aktiv bewegliche Bakterien gefunden haben, versuchen Sie, deren Geißeln ebenfalls mit der oben genannten Färbemethode nachzuweisen!

Auswertung:

Beschreiben Sie die im Experiment erhaltenen Ergebnisse! Vergleichen Sie die Ergebnisse bei den verschiedenen beobachteten Objekten!

3.1.5. Kernäquivalent der Bakterien

- **Das Kernäquivalent der Bakterien ist der wichtigste Träger ihrer Erbinformation. Sie ist in der DNS (Desoxyribonukleinsäure) lokalisiert, die durch Färbung nachweisbar ist.**

- *Weisen Sie das Kernäquivalent in Bakterien durch Färbung nach! Handeln Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 5!*

▼ **Experiment 5: Nachweis des Kernäquivalents bei Bakterien**

Zeit:

Dauer des Experiments: 1 Tag

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: 90 Min.

Material:

Bacillus subtilis (s. Experiment 2)

Objektträger

Petrischale

Meßzylinder (25 ml)

Tropfpipette

Färbeküvette mit Methanol [!]

Becherglas (50 ml) mit N/1 HCl

Giemsa-Stammlösung [!]

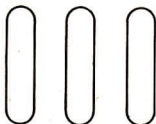
Phosphatpuffer (1,14 g Na_2HPO_4 und 0,49 g KH_2PO_4
in 1 l abgekochtem dest. Wasser lösen),
sterilisiertes Nähragar-Röhrchen (Schrägar)

Durchführung:

- Streichen Sie aus *Bacillus subtilis* bestehendes Kahlhautmaterial auf Schrägar aus!
- Kultivieren Sie die Bakterien bei 28 °C 24 Std.!
- Entnehmen Sie von dieser Kultur etwas Material, und fertigen Sie auf einem Objektträger einen Ausstrich an!
- Lassen Sie den Ausstrich an der Luft trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat 5 Min. in Methanol, und spülen Sie es anschließend mit Wasser ab! [!]
- Stellen Sie den Objektträger für 10 Min. in N/1 Salzsäure, die in einem Wasserbad bei einer Temperatur von 65 °C gehalten wird!
- Spülen Sie das Präparat erneut mit Wasser, und legen Sie es in eine Petrischale!
- Geben Sie 10 Tropfen Giemsa-Stammlösung zu 10 ml Phosphatpuffer, mischen Sie beides vorsichtig, und gießen Sie die Farblösung auf den Ausstrich! [!]
- Spülen Sie das Präparat nach etwa 30 Min. mit Phosphatpuffer, und lassen Sie es trocknen!
- Betrachten Sie die Bakterien mit dem Immersionsobjektiv! Rot gefärbte Strukturen geben die Lage der Kernsubstanz in den Heubazillus-Zellen an.
- Stellen Sie fest, ob sich rote Strukturen im Präparat befinden!

Auswertung:

Zeichnen Sie die Lage dieser Strukturen in die Umrißskizzen eines Bazillus ein!



3.2.

Äußere Gestalt und innerer Bau der Blaualgen

- **Blaualgen (Zyanobakterien) sind einzellige, meist kugelförmige oder mehrzellige, in der Regel fadenförmige Mikroorganismen.**

Die Einzelzellen sind häufig von dicken Gallertschichten umgeben, die mehrere Zellen miteinander verbinden (Abb. 57/1). Die Größe der Blaualgen schwankt in einem ziemlich weiten Bereich. Während kleine kugelige Formen einen Durchmesser von wenigen Mikrometern (μm) haben, können fadenförmige Vertreter eine Länge von mehreren hundert Mikrometern erreichen.

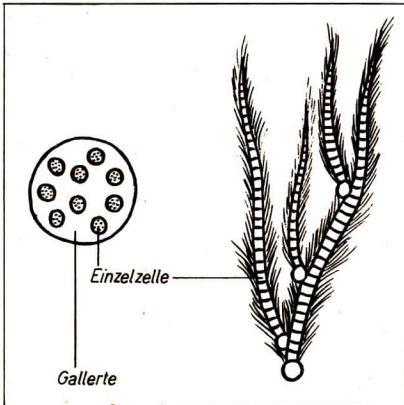


Abb. 57/1 Kugel- und fadenförmige Blaualgen

Ebenso wie die Bakterien besitzen die Blaualgen keinen deutlich abgegrenzten Zellkern, sondern ein Kernäquivalent, und keine deutlich gegen das Plasma abgegrenzten Plastiden. Als typische Farbstoffe kommen Chlorophyll a, Karotinoide, Phykozyan und bei manchen Arten Phykoerythrin vor. In den Zellen kann als Reservestoff sog. Zyanophyceenstärke in Form von Zyanophyzinkörnchen abgelagert werden. Zum Überdauern ungünstiger Bedingungen werden in manche Zellen bevorzugt verschiedene Reservestoffe eingelagert und dicke Wände ausgebildet, so daß Dauerszellen (Zysten) entstehen.

- **Die Vermehrung der Blaualgen erfolgt ungeschlechtlich durch Zellteilung, wobei sich die neuen Querwände irisblendenartig einschieben. Außerdem gibt es einige weitere ungeschlechtliche Vermehrungsformen. Blaualgen sind über die gesamte Erde verbreitet und besiedeln insbesondere Gewässer, feuchte Böden und andere feuchte Standorte.**

3.2.1. Formen von Blaualgen

- **Blaualgen werden entsprechend ihrer Gestalt zwei systematischen Gruppen zugeordnet. Die kugeligen, oft von dicken Gallertschichten umgebenen Formen gehören zu den *Chroococcales*, die fädigen Formen zu den *Hormogonales*.**

Da die Blaualgen Farbstoffe besitzen, sind sie ohne zusätzliches Anfärben im Mikroskop leicht zu erkennen.

- *Suchen Sie nach Vorkommen von Blaualgen in der Natur! Das ist nicht einfach. Ausgehend von der Lebensweise dieser Mikroorganismen kann man an sehr feuchten Blumentöpfen, an nassen Wänden in Gewächshäusern oder in sumpfigen Böden nach ihnen suchen. Im Spätsommer kann man auch Wasserproben aus Binnenseen entnehmen, deren Oberfläche blaugrün gefärbt ist („Wasserblüte“).*
Beobachten Sie Blaualgen mit dem Mikroskop! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 6!

▼ **Experiment 6: Nachweis von Blaualgen**

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

Glasgefäß mit Verschuß für Probenahme

Spatel

Präpariernadel

Objektträger

Deckgläser

Durchführung:

- Entnehmen Sie an dem von Ihnen ausgewählten Standort etwas Material, das vermutlich Blaualgen enthält!
- Stellen Sie im Labor ein Frischpräparat davon her, indem Sie etwas von dem festen Material auf einem Objektträger zerkleinern, in einem Wassertropfen suspendieren und mit einem Deckglas abdecken! Wenn eine Wasserprobe verwendet wird, bringen Sie einen Tropfen auf den Objektträger und bedecken Sie das Präparat gleichfalls mit einem Deckglas!
- Durchmustern Sie das Präparat auf Vorhandensein von mehr oder weniger blaugrünen, mitunter auch rötlichen Formen und versuchen Sie, diese den beiden Hauptgruppen der Blaualgen zuzuordnen!

Auswertung:

Zeichnen Sie die gefundenen Blaualgenformen! Tragen Sie zusammen, was Sie über die Bedeutung von Blaualgen erfahren können!

3.3. Äußere Gestalt und innerer Bau der Algen

- **Einzellige oder wenigzellige Algen werden zu den Mikroorganismen gerechnet. Zu ihnen gehören Flagellaten, Kieselalgen und viele Grünalgen (Abb. 59/1).**

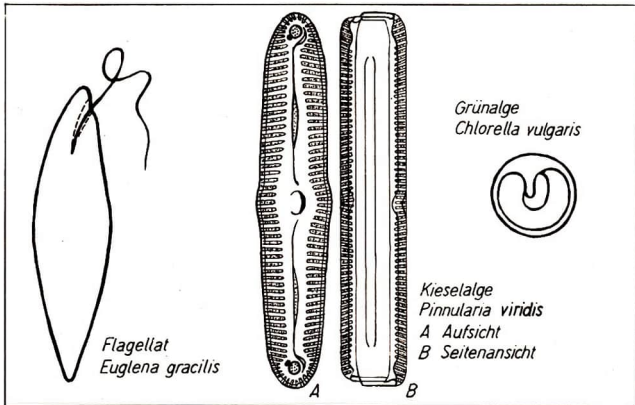


Abb. 59/1 Vertreter einiger Algen

Die äußere Form der einzelligen Algen ist sehr vielgestaltig. Es treten beispielsweise kugel-, ei-, spindel-, halbmond- und sternförmige Zellen auf. Von mehrzelligen Algen werden oft Fäden oder Flächen gebildet.

Es gibt bewegliche und unbewegliche Algen; die Fortbewegung erfolgt meist mit Hilfe von Geißeln. Während kleine einzellige Algen, z. B. Zellen der Gattung *Chlorella*, einen Durchmesser von etwa $20\text{ }\mu\text{m}$ haben, erreichen die im Meer lebenden großen vielzelligen Braun- und Rotalgen Längen bis zu 100 m. Diese Formen sind natürlich nicht Gegenstand der Mikrobiologie.

- **Alle Algenzellen besitzen einen Kern. Stets treten Plastiden auf, die sehr unterschiedliche Farbstoffe, wie Chlorophylle, Karotine und Xanthophylle enthalten.**

Die photosynthetisch aktiven Farbstoffe ermöglichen den Algen die Photosynthese. Die durch Photosynthese gebildete Stärke kann als Reservestoff gespeichert werden. Häufig kommen als weitere Reservestoffe Fette vor.

- **Die Vermehrung der mikroskopisch kleinen Algen erfolgt ungeschlechtlich durch Zellteilung oder Schwärmerbildung und geschlechtlich durch Bildung von Gameten.**

Algen sind vorwiegend Bewohner des Süß- und Meerwassers. Einige Arten findet man auch im Boden und an feuchtem Mauerwerk, auf Baumrinden oder an anderen feuchten Stellen.

3.3.1. Formen von Algen

Die verschiedenen systematischen Gruppen der Algen (z. B. Flagellaten, Kieselalgen und Grünalgen) unterscheiden sich in mehreren Merkmalen.

Flagellaten sind Geißeln (Flagellen) tragende und daher bewegliche Einzeller. Sie enthalten verschiedene Farbstoffe und sind dadurch meist grün oder gelbbraun gefärbt.

Kieselalgen sind durch zwei Kieselsäureschalen gekennzeichnet, die häufig sehr feine, kunstvoll gestaltete Strukturen aufweisen. Mehrere Einzelzellen können zu Bändern, Fächern und Sternen vereinigt sein. Obwohl die Kieselalgen eine große Formenmannigfaltigkeit zeigen, läßt sich die Gestalt der Einzelzelle auf eine rechteckige oder kreisförmige Grundfläche zurückführen. Bei den langgestreckten Formen ist eine gleitende Bewegung zu beobachten. Die Kieselalgen weisen eine braungelbe Färbung auf.

Bei den **Grünalgen** treten neben einfach gebauten Zellen (z. B. Kugelform) auch solche mit bizarrer Gestalt (z. B. asymmetrische Sternform) auf. Einzelzellen können zu charakteristisch gestalteten Zellverbänden zusammengelagert sein. Die Fortpflanzungszellen (Schwärmer bzw. Gameten) tragen häufig Geißeln. Grünalgen sind meist intensiv grün gefärbt.

- *Bestimmen Sie verschiedene Algenformen im mikroskopischen Bild! Handeln Sie nach der Anleitung zu Experiment 7!*

▼ **Experiment 7: Bestimmen verschiedener Algenformen**

Zeit:

Dauer des Experiments: 120 Min.

Material:

Becherglas (500 ml)

Pipette

Objektträger

Deckgläser

Durchführung:

- Schöpfen Sie mit einem Becherglas aus einem Tümpel oder Teich mit reicher Ufervegetation etwas Wasser!
- Stellen Sie von dieser Wasserprobe mehrere Frischpräparate her!
- Sehen Sie sich die Präparate unter dem Mikroskop an!
- Beobachten Sie unter den vorhandenen Mikroorganismen insbesondere die Algen! Stellen Sie fest, ob sich darunter Flagellaten, Kieselalgen oder Grünalgen befinden!
- Zeichnen Sie von jeder vorkommenden systematischen Gruppe die am häufigsten auftretende Form!

(Achtung: Enthält die Wasserprobe eine große Anzahl grüner Algen, kann sie für Experiment 8 verwendet werden.)

Auswertung:

Bestimmen Sie unter Nutzung einer Bestimmungstabelle für Kernlose und Algen [↗ Schubert 1972] einige der im Präparat gefundenen Algen! Zu berücksichtigen ist jedoch, daß eine systematische Zuordnung allein aufgrund des äußeren Baues der Organismen nicht immer möglich ist. Ermitteln Sie die ungefähre Anzahl der Vertreter der verschiedenen Gruppen im Präparat und schließen Sie daraus auf die Häufigkeit ihres Vorkommens in dem Gewässer, dem die Probe entnommen wurde!

Das Ergebnis solcher Untersuchungen hat große praktische Bedeutung. Vorkommen und Häufigkeit bestimmter Mikroorganismen geben Auskunft über den Zustand des Gewässers (z. B. Wassergüte, Nährstoffgehalt)! [↗ Chemie des Wassers, 1982]

3.3.2. Chloroplasten in Algenzellen

Die Chloroplasten der Algen sind im Verhältnis zum Zellvolumen häufig beachtlich groß und von ungewöhnlicher Form. Sie haben napf-, glocken-, sternförmige oder andere Gestalt.

- Suchen Sie nach verschiedenen Formen von Chloroplasten in Zellen von Grünalgen!

▼ Experiment 8: Betrachten von Chloroplasten in Algenzellen

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

Wasser aus einem Tümpel oder Teich (evtl. Material von Experiment 7)

Pipette

Objektträger

Deckgläser

Durchführung:

- Pipettieren Sie einen Tropfen der Wasserprobe auf einen Objektträger, und legen Sie ein Deckglas auf!
- Bringen Sie das Präparat auf den Objektstisch des Mikroskops, und suchen Sie bei etwa 400facher Vergrößerung nach grünen Algen!
- Verwenden Sie danach zur genauen Betrachtung der Chloroplasten das Immersionsobjektiv!

Auswertung:

Fertigen Sie Umrisskizzen verschieden gestalteter Algenzellen an, und zeichnen Sie in diese die jeweils typischen Chloroplastenformen ein!

Versuchen Sie, sich eine räumliche Vorstellung von den Chloroplastenformen zu machen!

3.3.3. Zellkern der Algen

- **Bei allen Algen und allen höher entwickelten Organismen ist ein Zellkern vorhanden, der durch eine Membran gegenüber dem Zellplasma abgegrenzt ist.**

Die DNS (Desoxyribonukleinsäure) im Zellkern von Algen kann in methodisch gleicher Weise nachgewiesen werden wie die DNS im Kernäquivalent der Bakterien.

- *Weisen Sie im Zellkern der Algen das Vorhandensein von DNS nach! Handeln Sie nach der Anleitung zu Experiment 9!*

▼ Experiment 9: Nachweis von DNS im Zellkern der Algen

Zeit:

Dauer des Experiments: 75 Min.

Material:

Grünalgen
Objektträger
Deckgläser
Petrischale
Meßzylinder (25 ml)
Tropfpipette
Färbeküvette mit Methanol [!]
Becherglas (50 ml) mit N/1 HCl
Giemsa-Stammlösung [!]
Phosphatpuffer (1,14 g Na_2HPO_4 und 0,49 g KH_2PO_4
in 1 l abgekochtem dest. Wasser)

Durchführung:

Für diesen Versuch benötigt man Material, das eine große Anzahl einzelliger Grünalgen enthält. Man entnimmt es am besten grünen Belägen auf feuchtem Mauerwerk, nährstoffreichen Tümpeln und Teichen oder Kulturen von Grünalgen (z. B. *Chlorella*).

- Stellen Sie einen dichten Ausstrich einer Algensuspension auf einem Objektträger her, und betrachten Sie ihn mikroskopisch, um festzustellen, ob sich genügend Grünalgenzellen im Präparat befinden!
- Sind reichlich Grünalgenzellen vorhanden, lassen Sie den Ausstrich trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat, indem Sie es 5 Min. in Methanol stellen! [!]
- Gießen Sie Wasser über den Objektträger, und bringen Sie ihn anschließend in 65 °C heiße N/1 Chlorwasserstoffsäure (HCl)!
- Spülen Sie nach 10 Min. das Präparat mit Wasser, und legen Sie es in eine Petrischale!
- Bereiten Sie die Giemsa-Lösung (s. S. 56), und bedecken Sie damit den Ausstrich! [!]
- Gießen Sie nach 30 Min. die Farblösung ab, und lassen Sie reichlich Pufferlösung über den Ausstrich laufen! Lassen Sie das Präparat trocknen!

Auswertung:

Die DNS-haltigen Zellkerne sind rot gefärbt. Schauen Sie sich die rotgefärbten Zellkerne bei starker Vergrößerung an! Da das Chlorophyll durch das Fixierungsmittel zumindest teilweise ausgezogen worden ist, heben sich die Kerne besonders gut ab.

3.4. Äußere Gestalt und innerer Bau der Pilze

Das System der Pilze wird zur Zeit von Pilzforschern (Mykologen) intensiv bearbeitet, da die Stellung verschiedener systematischer Gruppen bisher noch nicht sicher bestimmt werden konnte. Es ist deshalb auch schwierig, die zu den Mikroorganismen gehörenden Pilze nach systematischen Gesichtspunkten voneinander abzugrenzen. Einem neueren System folgend, gehören vorwiegend Vertreter nachstehender Gruppen zu den Mikroorganismen: Urpilze (*Chytridiomycetes*), Sproßpilze (*Endomycetes*), Jochpilze (*Zygomycetes*) und Schlauchpilze (*Ascomycetes*).

- **Der Vegetationskörper der Pilze besteht in der Regel aus Fäden (Hyphen), deren Gesamtheit ein Geflecht (Myzel) bildet. Die Hyphen können durch Querwände (Septen) unterteilt sein und sich verzweigen.**

Bei manchen Pilzen, beispielsweise den Hefen, ist das Myzel nur schwach entwickelt, häufig treten Einzelzellen auf (Abb. 64/1). Diese sind nur mit dem Mikroskop zu sehen, während Myzelien mit bloßem Auge zu erkennen sind.

- **Pilze besitzen Zellkerne, aber keine Plastiden. Die Zellwand ist meist chitinhaltig. Als Reservestoffe treten in der Pilzzelle Glykogen und Fett auf, Stärke wird nicht gebildet.**



Abb. 64/1 Einzelzellen und Hyphen von Pilzen

- **Pilze vermehren sich ungeschlechtlich und geschlechtlich, wobei beide Vermehrungsvorgänge auf sehr vielfältige Weise vonstatten gehen können.**

So werden bei der ungeschlechtlichen Vermehrung z. B. der Zerfall von Myzel, die Abschnürung von Sporen und die Entstehung von Tochterzellen durch Sprossung beobachtet. Geschlechtliche Vermehrungsformen sind die Verschmelzung von Gameten oder Gametenbehältern oder auch zweier morphologisch nicht differenzierter Zellen. Unmittelbar nach einem Geschlechtsvorgang kann eine unterschiedliche Anzahl von Sporen gebildet werden.

- **Pilze ernähren sich heterotroph (/ S. 123). Sie kommen als Zersetzer toten organischen Materials im Boden vor. Einige Arten besiedeln Pflanzen, Tiere und den Menschen und können auf bzw. in ihnen parasitisch leben. Außerdem treten Pilze im Wasser, vorwiegend im Süßwasser auf; im Meer kommen sie kaum vor.**

3.4.1. Gestalt von Hefepilzen und Pilzmyzelien

Die zu den Mikroorganismen gehörenden Pilze können Kolonien bilden. Kolonien von Bakterien und Hefepilzen lassen sich infolge ihrer teigartigen Konsistenz nicht ohne weiteres voneinander unterscheiden. Im mikroskopischen Bild erkennt man die Hefepilze daran, daß sie größer sind als die Bakterien.

- **Hefepilze sind meist kugelförmige, elliptische bzw. zitronenförmige Einzelzellen, die auch in lockeren Fäden liegen können.**

Deutlich abzugrenzen gegenüber den Kolonien der Bakterien und Hefepilze sind die der Fadenpilze, da sie ein bereits ohne Mikroskop sichtbares Myzel besitzen.

- *Beobachten Sie die Verschiedenartigkeit von Pilzkolonien auf einer Fangplatte! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 10!*

- ▼ **Experiment 10: Kultivieren und Beobachten von Hefepilzen und von Myzelien niederer Pilze**
-

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 bis 4 Tage

Ansatz: 90 Min.

Auswertung: 90 Min.

Material:

sterile Petrischale

Objektträger

Deckgläser

Glasstab

2 Präpariernadeln

Fettstift

40%iges Äthanol

sterilisiertes Hochschichtröhrchen mit Biomalzagar (Rezept / S. 153),
wenn Biomalzagar nicht vorhanden, dann Biomalzelatine (Rezept /
S. 153)

Durchführung:*Ansatz*

- Stellen Sie ein mit Biomalzagar gefülltes Hochschichtröhrchen in das Wasserbad (100 °C), um den Nährboden zu verflüssigen!
Bei Verwendung von Biomalzelatine Arbeitsanleitung zu Experiment 23 beachten!
- Lassen Sie den verflüssigten Nährboden auf etwa 50 °C abkühlen, und gießen Sie ihn danach in eine Petrischale, die Sie sofort verschließen!
- Nehmen Sie nach dem Erstarren des Nährbodens den Deckel der Petrischale ab, lassen Sie die Schale 45 Min. geöffnet stehen!
- Legen Sie nach dieser Zeit den Deckel wieder auf!
- Bewahren Sie die Fangplatte 3 bis 4 Tage bei 28 °C im Brutschrank auf!

Beobachtung

- Nehmen Sie nach dieser Zeit die Platte heraus, und betrachten Sie die Wuchsformen der auf dem Biomalzagar vorhandenen Kolonien!
 - Wählen Sie eine rosa gefärbte, teigartige und eine watteähnliche bis samtartige Kolonie aus, und kennzeichnen Sie diese auf der Unterseite der Petrischale!
 - Setzen Sie auf einen Objektträger einen Wassertropfen, auf einen zweiten Objektträger einen Tropfen 40%iges Äthanol!
 - Verrühren Sie in dem Wassertropfen etwas Material von der teigartigen Kolonie! Bringen Sie in den Äthanoltröpfchen einen Teil des Myzels der watteartigen Kolonie!
 - Dichtes Myzel muß mit Präpariernadeln zerzupft werden.
 - Legen Sie auf beide Objektträger Deckgläser auf!
 - Stellen Sie durch mikroskopische Beobachtung fest, ob die in beiden Präparaten zu sehenden Mikroorganismen zu den Pilzen gehören oder einer anderen Mikroorganismengruppe zuzuordnen sind!
- Haben Sie anstelle von Hefepilzen Bakterien gefunden, dann stellen Sie ein neues Präparat mit Material einer anderen Kolonie her!

Auswertung:

Fertigen Sie von den verschiedenen Präparaten Zeichnungen an, aus denen der Bau sowohl der Hefe- als auch der Fadenpilze hervorgeht!

Entscheiden Sie, ob der von Ihnen betrachtete Fadenpilz unseptiertes oder septiertes Myzel besitzt!

3.4.2. Sprossung bei Hefepilzen

- Für die Hefen ist die Sprossung eine typische Form der Vermehrung (Abb. 66/1). Die Sprossung beginnt mit der Kernteilung. Einer der beiden Tochterkerne wandert in den inzwischen entstandenen Auswuchs der Mutterzelle ein. Die auf diese Weise sich bildende Tochterzelle schnürt sich gewöhnlich ab, löst sich vom Mutterorganismus los und wächst bis zu dessen Größe heran.

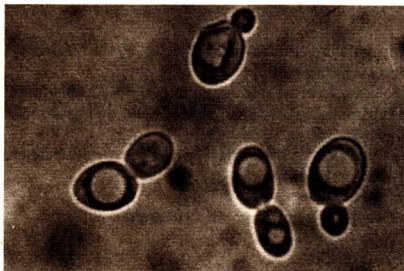


Abb. 66/1
Sprossende Hefezellen

- Beobachten Sie die unterschiedlichen Sprossungsstadien bei Hefezellen! Richten Sie sich dabei nach Experiment 11!

▼ Experiment 11: Beobachten von Sprossungsstadien von Hefepilzen

Zeit:

Dauer des Experiments: 1 Tag
Ansatz: 60 Min.
Auswertung: 120 Min.

Material:

Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)
sterile Petrischale
Reagenzglas

Pipette (10 ml)
Drigalskispatel
Objektträger
Deckgläser
Objektmikrometer
Okularmikrometer
evtl. Meßokular
sterilisiertes Hochschichtröhrchen mit Azetatagar
(Rezept / S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Gießen Sie den verflüssigten Nährboden in eine Petrischale, und lassen Sie ihn erstarren!
- Stellen Sie eine Aufschwemmung von einigen Krümeln Bäckerhefe in etwa 10 ml Wasser her!
- Pipettieren Sie einige Tropfen der Suspension auf den Agar, und spateln Sie die Flüssigkeit sorgfältig auf die gesamte Agaroberfläche aus!
- Bebrüten Sie die Platte bei 28 °C mindestens 24 Std.!

Beobachtung

- Nehmen Sie von der Agarplatte mit der Impföse wenig Hefe ab, und verreiben Sie das Material in einem Wassertropfen auf dem Objektträger!
- Legen Sie auf das Präparat ein Deckglas!
- Suchen Sie zunächst bei etwa 400facher mikroskopischer Vergrößerung nach Sprossungsstadien, die sich durch die Größe der entstehenden Tochterzellen voneinander unterscheiden!
- Nehmen Sie den Objektträger vom Mikroskoptisch!
Vermeiden Sie, daß das Präparat in der folgenden Zeit austrocknet!
- Zur Ermittlung des Größenverhältnisses von Mutter- zu Tochterzellen ist es notwendig, ein in das Okular eingelegtes Okularmikrometer mittels eines Objektmikrometers bei 900- oder 1000facher Vergrößerung zu eichen (/ S. 30).
- Nach Bestimmung des Mikrometerwertes entfernen Sie das Objektmikrometer, und legen Sie an dessen Stelle erneut das Präparat auf den Objektisch!
- Mikroskopieren Sie wieder bei geringer Vergrößerung, und schalten Sie das Immersionsobjektiv zu, sobald Sie Sprossungsstadien in der Mitte des Sehfeldes erblicken!
- Messen Sie Länge und Breite einer Mutterzelle und der daran ansitzenden Tochterzelle, und berechnen Sie aus Länge und Breite für jede der beiden Zellen einen Mittelwert! Legen Sie zur Volumenbestimmung einer Zelle die Annahme zugrunde, daß sie eine Kugel darstellt!

Auswertung:

Ermitteln Sie die Volumina von Mutter- und Tochterzelle, indem Sie in diesem Fall den gefundenen Mittelwert als Durchmesser verwenden! Setzen Sie die beiden Volumina zueinander ins Verhältnis! Wiederholen Sie die Messungen und Berechnungen an mehreren Hefezellen in unterschiedlichen Sprossungsstadien!

3.4.3. Sporen bei Pilzen

Bei den Pilzen gibt es verschiedene Sporentypen, die für die systematische Einordnung der Pilze von Bedeutung sind. Es kommen Exosporen (exo = außen) und Endosporen (endo = innen) vor. Während Exosporen (meist Konidiosporen) in der Regel an besonderen Trägern (Konidienträgern) entstehen und nach außen abgeschnürt werden, bilden sich Endosporen (z. B. Askosporen) in Sporenbehältern. Konidiosporen treten massenhaft auf und sichern eine rasche Verbreitung der jeweiligen Pilzart; Endosporen entstehen hingegen in geringer, meist festgelegter Anzahl. Bei den Hefen z. B. werden in einem Sporenbehälter 4 oder 8 Endosporen gebildet.

- Weisen Sie Sporen bei Pilzen nach! Verfahren Sie dabei nach Experiment 12!

▼ Experiment 12: Nachweis von Sporen bei Pilzen



Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 60 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

Fangplatte von Experiment 10

Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)

sterile Petrischale

Reagenzglas

Meßpipette (1 ml)

Drigalskispatel

Objektträger

Deckgläser

Pinzette

40%iges Äthanol

sterilisiertes Hochschichtröhrchen mit Azetatagar zur Sporenbildung
(Rezept / S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie ein Röhrchen mit Azetatagar in ein Wasserbad, um das Nährmedium zu verflüssigen!
- Gießen Sie das Nährmedium in eine sterile Petrischale, lassen Sie es erstarren!
- Bespateln Sie den Agar nach dem Erstarren mit 0,1 ml Hefesuspension (s. S. 37)!
- Bebrüten Sie die Platte 3 Tage bei 28 °C!

Beobachtung

- Nehmen Sie von der bewachsenen Platte mit der Impföse etwas Material ab, und suspendieren Sie es in einem Wassertropfen auf einem Objektträger!
- Bedecken Sie den Suspensionstropfen mit einem Deckglas!

- Stellen Sie ein zweites Präparat von einem auf der Fangplatte gewachsenen Fadenpilz her, indem Sie mit einer Pinzette etwas Myzel abzupfen, es in einen Tropfen 40%igen Äthanol auf einen Objektträger übertragen und ein Deckglas auflegen!
- Betrachten Sie beide Präparate im Mikroskop!

Auswertung:

Stellen Sie fest, ob Sporen gebildet wurden! Ermitteln Sie, welcher Pilz Exosporen und welcher Endosporen gebildet hat!

Geben Sie an, wie viele Sporen in dem einen und dem anderen Fall entstanden sind!

Endosporen lassen sich durch eine Färbung, wie sie im Experiment 2 für Bakterien-sporen angegeben ist, eindrucksvoll hervorheben (S. 52). Sie können dieses Experiment mit Pilzsporen wiederholen!

3.4.4. Zellwand der Pilze

- ▶ **Hauptbestandteil der Zellwand vieler Pilze ist das Chitin, ein stickstoffhaltiges Polysaccharid. Es leitet sich hinsichtlich seiner chemischen Struktur von der Zellulose ab. Außer bei den Pilzen tritt Chitin als Stützsubstanz vorwiegend bei den Gliederfüßern (z. B. bei Insekten) auf.**

- *Weisen Sie Chitin als Bestandteil der Zellwand von Pilzzellen nach! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 13!*

▼ Experiment 13: Nachweis von Chitin in der Wand von Pilzzellen

○ Zeit:

Dauer des Experiments: 8 bis 14 Tage

Ansatz: am 1. Tag 10 Min.; am 3. Tag 5 Min.

Auswertung: 60 Min.

Material:

Brot

Glasschale

Glasscheibe

Becherglas (250 ml)

3 Uhrglasschälchen

2 Tropfpipetten

Pinzette

2 Präpariernadeln

Objektträger

Deckgläser

Filterpapier

Becherglas (400 ml) mit 5% iger Saccharoselösung
gesättigte Kaliumhydroxidlösung (50 ml) [!]

96%iges Äthanol
Jod-Kaliumjodid-Lösung zum Chitinnachweis
verd: H_2SO_4 (1 : 10) [!]

Durchführung:

Ansatz

- Tränken Sie ein Stück Brot mit Zuckerwasser, und legen Sie es in eine Glasschale!
- Lassen Sie die Schale 2 Tage im Klassenzimmer stehen!
- Bedecken Sie nach 2 Tagen die Schale, und stellen Sie den Ansatz bei 28 °C im Brutschrank auf!

Beobachtung

- Nehmen Sie die Schale aus dem Brutschrank, sobald sich reichlich Myzel entwickelt hat!
- Bringen Sie viel Myzel (mit möglichst dicken Hyphen) in ein Becherglas!
- Bedecken Sie das Pilzgeflecht mit gesättigter Kaliumhydroxidlösung und kochen Sie es dann 30 Min.! [!]
- Waschen Sie anschließend das Myzel mit 96%igem Äthanol!
- Tropfen Sie auf einen Objektträger etwas Jod-Kaliumjodid-Lösung, und legen Sie in diese Lösung einige Pilzhypen!
- Decken Sie die Hypen mit einem Deckglas ab!
- Setzen Sie an eine Deckglassseite einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure, und saugen Sie diese mittels eines Stückchens Filterpapier durch, das Sie an der gegenüberliegenden Seite des Deckglases ansetzen!

Auswertung:

Beobachten Sie, ob sich die Zellwand der Pilze violett färbt!

Die Violettfärbung ist auf Chitosan zurückzuführen, das durch Einwirkung von Kaliumhydroxidlösung aus Chitin entstanden ist.

3.4.5. Inhaltsstoffe in Hefezellen

In Hefezellen sind verschiedene Inhaltsstoffe enthalten. Glykogen und Fett werden in großer Menge in Vakuolen gespeichert. Der Glykogengehalt kann bis zu 30% einer Hefezelle ausmachen. Noch höher liegt der Anteil von Fetten. Er kann bei einigen Arten bis zu 80% der Trockenmasse betragen.

- Weisen Sie in Hefezellen Fett und Glykogen als Speicherstoffe nach! Handeln Sie nach der Anleitung zu Experiment 14!

▼ Experiment 14: Nachweis von Fett und Glykogen in Hefezellen

Zeit:

Dauer des Experiments: 14 Tage

Ansatz: am 1. Tag 60 Min.; am 10. Tag 20 Min.

Auswertung: 60 Min.

Material:

Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)

sterile Petrischale

Reagenzglas

Pipette (10 ml)

Meßpipette (1 ml)

Drigalskispatel

Erlenmeyerkolben (100 ml) mit Zellstoff- oder Wattestopfen

Objektträger

Deckgläser

Filterpapier

Tropfpipette

Glasstab

Saccharose

Sudan-Glyzerin (0,02 g Sudan III in 10 ml Glyzerin-Äthanol 1 : 1)

Jod-Kaliumjodid-Lösung zum Glykogennachweis

sterilisiertes Hochschichtröhrchen mit Malzagar (Rezept ↗ S. 154),

wenn Malzagar nicht vorhanden, dann Malzgelatine (Rezept ↗ S. 154)

Durchführung:

1. Ansatz

- Verflüssigen Sie den Malzagar eines Hochschichtröhrchens im Wasserbad und gießen Sie ihn nach Abkühlen auf etwa 50 °C in eine sterile Petrischale!
Bei Verwendung von Malzgelatine Arbeitsanleitung zu Experiment 23 beachten!
- Suspensieren Sie, während das Medium in der Schale erstarrt, etwas Bäckerhefe in 10 ml Leitungswasser!
- Bespateln Sie die Agarplatte mit 0,1 ml Hefesuspension!
- Bewahren Sie die Platte 14 Tage in einem Brutschrank bei einer Temperatur von 28 °C auf!

2. Ansatz

- Stellen Sie 10 Tage nach Beimpfung der Malzagar-Platte in einem Erlenmeyerkolben 25 ml einer 1%igen Saccharoselösung her!
- Fügen Sie der Nährlösung einige Krümel Bäckerhefe zu, und schütteln Sie die Flüssigkeit, damit eine Suspension entsteht!
- Verschließen Sie den Erlenmeyerkolben mit einem Zellstoff- oder Wattestopfen!
- Bringen Sie den Ansatz für 4 Tage in einen Brutschrank (Temperatur: 28 °C)!

Beobachtung

- Nehmen Sie nach Ablauf der Bebrütungszeit die Petrischale mit dem Malzagar und den Erlenmeyerkolben mit der Saccharoselösung aus dem Brutschrank!
Verwenden Sie Hefezellen von der Agarkultur, um in ihnen Fett nachzuweisen, und Hefezellen aus der Flüssigkultur zur Untersuchung auf das Vorkommen von Glykogen!
- Stellen Sie zum Nachweis von Fett ein Ausstrichpräparat her und lassen Sie es trocknen!

- Fixieren Sie das Präparat in der Flamme!
- Tropfen Sie auf den Ausstrich Sudan-Glyzerin und lassen Sie die Farblösung 15 Min. einwirken!
- Gießen Sie die Farblösung ab, und trocknen Sie in diesem Fall das Präparat mit Filterpapier!
- Betrachten Sie die Hefezellen mikroskopisch mit Hilfe des Immersionsobjektivs!
- Stellen Sie anhand einer auftretenden Rotfärbung fest, ob sich Fett, das mit Sudan III anfärbbar ist, in Vakuolen der Hefezellen angereichert hat!
- Bringen Sie zum Nachweis von Glykogen einen Tropfen Hefesuspension auf einen Objektträger und fügen Sie Jod-Kaliumjodid-Lösung zu!
- Vermischen Sie die Flüssigkeiten, und legen Sie danach ein Deckglas auf!
- Suchen Sie beim Mikroskopieren des Präparats unter Verwendung des Immersionsobjektivs nach braun gefärbten Stellen in den Hefepilzen, die auf eine Speicherung von Glykogen hinweisen!

Auswertung:

Schätzen Sie bei allen Proben jeweils das Verhältnis der mit Farbstoffen nachgewiesenen Inhaltsstoffe (in %) zum Gesamtvolumen der Hefezelle (in %) ab! Setzen Sie zu diesen Feststellungen in Beziehung, daß Hefen immer größere Bedeutung für die Gewinnung von Nahrungs- bzw. Futtermitteln erlangen!

- Werten Sie Meldungen in Zeitungen und Zeitschriften zu diesem Sachverhalt aus!

Nennen Sie Beispiele für eine wirtschaftliche Nutzung der Hefen zur Gewinnung von Nährstoffen! Welche Schlußfolgerungen für die Lösung von Problemen der Welternährung sehen Sie in diesem Zusammenhang?

3.5. Äußere Gestalt und innerer Bau der Protozoen

- Protozoen sind einzellige Lebewesen (Abb. 73/1), die meisten von ihnen leben heterotroph (✓ S. 123). Nur die Phytoflagellaten besitzen photosynthetisch aktive Pigmente (Chlorophyll) und sind daher zur autotrophen Lebensweise (✓ S. 123) befähigt. Tierische Einzeller sind Geißeltierchen [*Zooflagellata*], Wurzelfüßer [*Rhizopoda*], Sporentierchen [*Sporozoa*] und Wimpertierchen [*Ciliata*].

Bei allen Protozoen ist mindestens ein abgegrenzter Zellkern vorhanden. Häufig sind auch noch andere Zellorganellen (z. B. zur Fortbewegung, zur Nahrungsumsetzung) ausgebildet.

Viele dieser Einzeller können sich aktiv fortbewegen. Die **Geißeltierchen** bewegen sich mittels einer Geißel oder mehrerer Geißeln. Bei den **Wurzelfüßern** werden durch Strömung des Plasmas im Zellinneren ständig Scheinfüßchen (Pseudopodien) ausgestülpt, die sowohl der Fortbewegung als auch der Nahrungsaufnahme dienen. Die parasitisch lebenden **Sporontierchen** haben keine Bewegungsorganellen. Die

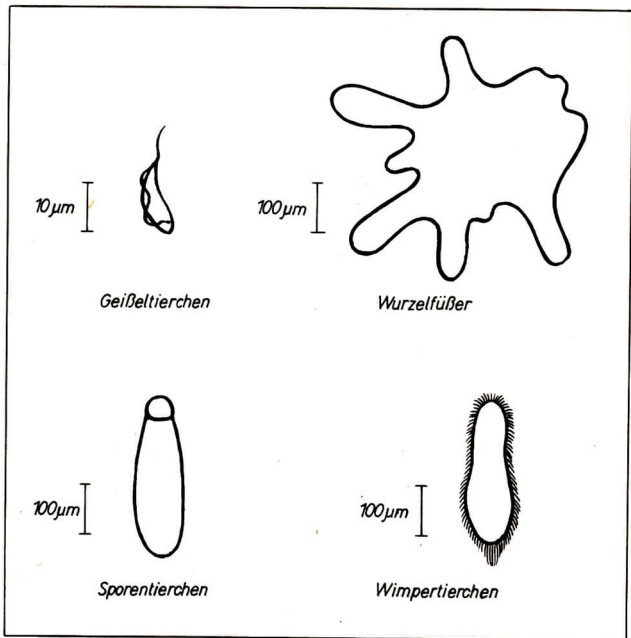


Abb. 73/1 Vertreter aus den systematischen Gruppen der Protozoen

Wimpertierchen hingegen tragen schwingende Plasmafortsätze, die als Zilien bezeichnet werden und in einer Vielzahl über den Körper verteilt sind. Während der größte Teil der tierischen Einzeller eine ausgeprägte äußere Gestalt besitzt, ändern die zu den Wurzelfüßern gehörenden Wechseltierchen (Amöben) ihre Form durch das Ausfließen und Einziehen der Plasmafüßchen ständig.

Tierische Einzeller haben eine sehr unterschiedliche Größe. Die kleinsten Formen messen wenige Mikrometer, die großen erreichen im allgemeinen eine Länge von einigen Millimetern. Ein für die meisten tierischen Einzeller typisches Organell ist die pulsierende Vakuole. Sie stellt ein Bläschen dar, das aus dem Plasma aufgenommene Flüssigkeit in die Umgebung ausscheidet.

► **Die Protozoen können sich ungeschlechtlich und geschlechtlich fortpflanzen.**

Die ungeschlechtliche Fortpflanzung vollzieht sich als Zwei- oder Vielfachteilung des Einzellers. Als geschlechtliche Fortpflanzung tritt bei den Geißeltierchen, Wurzelfüßern und Sporentierchen Kopulation, bei den Wimpertierchen Konjugation auf. Die Kopulation verläuft in Form einer Verschmelzung geschlechtlich unterschiedlicher Zellen, bei der Konjugation legen sich zwei Individuen aneinander und tauschen Kerne aus, die anschließend miteinander verschmelzen.

Protozoen bewohnen Meere und Binnengewässer, gelegentlich leben sie auch im feuchten Boden. Beim Austrocknen überdauern sie durch Bildung von Zysten. Einige Vertreter der Protozoen sind gefährliche Krankheitserreger.

- Informieren Sie sich im Lehrbuch *Biologie, Klasse 7* oder in „*Biologie in Übersichten*“ über Vorkommen und Bedeutung tierischer Einzeller!

3.5.1. Formen tierischer Einzeller

Geißeltierchen, Wurzelfüßer und Wimpertierchen sind häufig in Faulschlamm, an abgetrockneten Pflanzenteilen oder im Heuaufguß zu finden.

Unter den Wurzelfüßern gibt es nackte und Schalen tragende Arten. Die Schalen (Gehäuse) werden aus Sandkörnchen, Bruchstücken von Kieselsäureschalen und anderem widerstandsfähigem Material mit körpereigener Kittsubstanz aufgebaut, so daß beispielsweise uhrglas-, pilzhut- und birnenförmige Schalen entstehen.

- **Wimpertierchen können freibeweglich oder festsitzend leben. Der mit Wimpern besetzte Körper kann pantoffel-, trompeten- oder glockenförmig aussehen, aber auch andere Gestalt haben.**

- Suchen Sie unter dem Mikroskop in geeigneten Präparaten nach verschiedenen tierischen Einzellern! Benutzen Sie zu Ihrer Orientierung die Anleitung zu Experiment 15!

▼ **Experiment 15: Untersuchen von Faulschlamm auf tierische Einzeller**

□ **Zeit:**

Dauer des Experiments: 1 Tag

Auswertung: 60 Min.

Material:

Faulschlamm (evtl. Tümpelwasser oder Heuaufguß) [!]

Kristallisierschale (1 l)

etwa 5 Tropfpipetten

Objektträger

Deckgläser

Durchführung:

Faulschlamm von Fluß- und Bachufern und aus Einmündungsgebieten von Flüssen

enthält meist viele tierische Einzeller. Auch Faulschlamm aus Gewässern mit hoher Abwasserbelastung und ohne stark toxische Stoffe ist besonders reich an Protozoen.

- Lassen Sie die entnommenen Schlammproben sich einige Zeit in einer Kristallisierschale absetzen!
- Saugen Sie danach mit der Pipette unmittelbar über der Schlammoberfläche etwas Wasser ab!
- Pipettieren Sie einen Tropfen davon auf einen Objektträger, und decken Sie ihn mit einem Deckglas ab! [!]
- Stellen Sie mit jeweils erneut aufgesogenem Wasser weitere Präparate her! [!]
- Betrachten Sie die angefertigten Präparate zunächst bei geringer mikroskopischer Vergrößerung, um einen Überblick über auftretende Formen tierischer Einzeller zu gewinnen, und schalten Sie danach ein stärker vergrößerndes Objektiv zu!

Hinweis: Da Faulschlamm pathogene Mikroorganismen enthalten kann, ist sorgfältige Desinfektion von Händen und Geräten erforderlich.

Auswertung:

Beschreiben Sie die gefundenen Formen tierischer Einzeller und stellen Sie fest, ob sich darunter Wurzelfüßer und Wimpertierchen befinden!

Entnehmen Sie nach Möglichkeit Faulschlammproben aus verschiedenen Gewässern! Kennzeichnen Sie die Proben und die daraus gewonnenen Präparate (mit Fettstift auf dem jeweiligen Glas)! Vergleichen Sie die Ergebnisse! Falls Sie Unterschiede (z. B. vorkommende Formen, Häufigkeit der Formen) feststellen, versuchen Sie, diese zu begründen! Stellen Sie Beziehungen zur Qualität des Wassers her! [↗ Chemie des Wassers, 1976]

- *Suchen Sie andere Vorkommen tierischer Einzeller! Stellen Sie aufgrund des Vorkommens eigene Überlegungen zur Kultur dieser Organismen an! Nutzen Sie dafür die hier gegebenen Anleitungen als Anregung! Protokollieren Sie Vorhaben, Durchführung und Ergebnis Ihrer Experimente!*

3.5.2. Silberliniensystem der Wimpertierchen

Die Wimpertierchen tragen Zilien (Wimpern), die unter der Zellhülle durch Plasmafibrillen miteinander verbunden sind. Daraus ergibt sich ein Netzwerk, das mit Silbersalzen sichtbar gemacht werden kann und deshalb als Silberliniensystem bezeichnet wird. Eine Funktion dieses Systems besteht in der Aufnahme von Reizen, die von der Umwelt auf das Wimpertierchen einwirken.

- *Weisen Sie das Silberliniensystem bei Wimpertierchen nach! Handeln Sie nach der Anleitung zu Experiment 16! Beachten Sie die Arbeitsschutzanweisungen!*



Experiment 16: Nachweis des Silberliniensystems bei Wimpertieren



Zeit:

Dauer des Experiments: 1 Tag (mit längeren Unterbrechungen)

Material:

Faulschlammkultur (wie in Experiment 15 [!]) oder Oberflächenwasser eines Heuaufgusses (Ansatz nach Experiment 28)

Glasrohr (Länge etwa 50 cm, lichte Weite etwa 2 cm)

Stativ

Pipette (10 ml)

3 Tropfpipetten

Objektträger

Deckgläser

Glasstab

Petrischale

Dunkelsturz

Filterpapier

2%ige Silbernitratlösung [!]

Durchführung:

- Das Gelingen des Experimentes hängt im wesentlichen davon ab, ob ein mit Wimpertieren angereichertes Medium zur Verfügung steht. Reichern Sie deshalb mittels Faulschlamm (s. Experiment 15) Wimpertieren in Wasser an!
- Füllen Sie dazu ein etwa 50 cm langes, einseitig verschlossenes Glasrohr mit einem Medium, das Wimpertieren enthält!
- Spannen Sie dieses Rohr senkrecht in ein Stativ!
- Betrachten Sie nach einigen Stunden den Ansatz, und stellen Sie fest, ob unter der Wasseroberfläche eine Trübung entstanden ist!
- Pipettieren Sie von der getrübbten Flüssigkeit einen Tropfen auf einen Objektträger, und prüfen Sie unter Verwendung des Mikroskops, ob die Trübung durch eine Ansammlung von Wimpertieren hervorgerufen worden ist!
- Wenn im mikroskopischen Bild genügend Wimpertieren zu sehen sind, stellen Sie von der getrübbten Flüssigkeit einige Ausstriche auf Objektträgern her! Verwenden Sie zum Ausstreichen einen Glasstab!
- Lassen Sie die Präparate an einer relativ dunklen Stelle des Fachraumes trocknen!
- Bedecken Sie die Ausstriche mit Silbernitratlösung, und legen Sie diese unter einen Dunkelsturz! [!]
- Gießen Sie nach 8 Min. die Silbernitratlösung ab, und spülen Sie die Objektträger mit destilliertem Wasser!
- Legen Sie die Präparate in eine Petrischale, und überschichten Sie die Ausstriche mit destilliertem Wasser!
- Stellen Sie die Schale auf hellen Grund (z. B. Filterpapier) an das Fenster, damit bei möglichst hoher Lichtintensität das im fibrillären Netzwerk der Wimpertieren befindliche Silber reduziert wird!

- Sehen Sie sich die Präparate nach 60 Min. an, und prüfen Sie, ob sie sich braunschwarz gefärbt haben!
Sollte die Verfärbung nach 60 Min. noch nicht eingetreten sein, ist die Belichtungszeit zu verlängern.
- Spülen Sie die Präparate mit Wasser gründlich ab, und lassen Sie diese trocknen!

Auswertung:

Beobachten Sie die Präparate unter dem Mikroskop, und zeichnen Sie das Silberliniensystem mindestens eines Wimpertierchens!

4. Ökologie der Mikroorganismen

Die Organismen leben in der Natur in Lebensgemeinschaften (Biozöosen) zusammen. Es bestehen ständige Wechselwirkungen sowohl zwischen den einzelnen Organismen untereinander als auch zwischen ihnen und ihrer nicht lebenden Umwelt. Diese gegenseitigen Beziehungen zu erfassen, ist Aufgabe der Ökologie. Die Umwelt wirkt mit einer Vielzahl von veränderlichen Faktoren auf die Organismen ein. Die wichtigsten Umweltfaktoren sind Temperatur, Feuchtigkeit, Licht, chemische, mechanische und biotische Einflüsse.

4.1. Mikroorganismen in der Luft

Luft ist auf Grund ihres geringen Wassergehaltes und des Mangels an Nährstoffen kein geeignetes Medium für das Leben von Mikroorganismen. Sie ist aber nicht keimfrei, sondern in ihr schweben zahlreiche Bakterien und Pilzsporen, die zu einem großen Teil Staubpartikeln anhaften können. Eine starke Verunreinigung der Luft durch Staubteilchen ist daher meist von einem hohen Gehalt an Mikroorganismen begleitet. Infolge der Luftbewegung können diese in der Regel winzigen Organismen über weite Strecken transportiert werden. Da sich unter ihnen auch Krankheitserreger befinden, kann die Luft eine Infektionsquelle für Mensch, Tier und Pflanze sein. Auch aus diesem Grund stellt die Reinhaltung der Luft ein besonderes Anliegen der sozialistischen Gesellschaft dar [Landeskulturgesetz vom 14. 5. 1970].

In Luftschichten über Wäldern, Seen und Gebirgen ist die Anzahl der Mikroorganismen relativ niedrig. Der geringe Keimgehalt wird in diesen Gegenden durch staubarme Luft und einen hohen UV-Anteil der Strahlung bedingt. Im Gegensatz dazu liegt der Mikroorganismengehalt über und in Städten, aber auch im Inneren von Gebäuden beachtlich hoch. Hygienische Maßnahmen müssen darauf gerichtet sein, die Staubmenge in der Luft zu vermindern. Das kann erreicht werden durch Besprengen von Straßen und Plätzen und in Räumen durch gründliche Naßreinigung, häufiges Lüften, die Anwendung von Raumspray und ähnlichem.

4.1.1. Keimgehalt der Luft

Mikroorganismen der Luft lassen sich mit Hilfe der Fangplatten-Methode nachweisen. Auf einen Nährboden abgesunkene, lebensfähige Keime können sich auf ihm vermehren. Sie bilden Kolonien, deren Anzahl ermittelt werden kann.

- *Ermitteln Sie den Keimgehalt der Luft! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 17!*

▼ Experiment 17: Ermittlung des Keimgehaltes der Luft

Zeit:

Dauer des Experiments: 2 Tage

Ansatz: 90 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

12 sterile Petrischalen

Fettstift oder Etiketten

6 sterilisierte Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I, wenn Nähragar I nicht vorhanden: Nährgelatine (Rezept ↗ S. 154)

6 sterilisierte Hochschicht-Röhrchen mit Biomalzagar (Rezept ↗ S. 153), wenn Biomalzagar nicht vorhanden: Biomalzelatine (Rezept ↗ S. 153)

Durchführung:

Ansatz

- Nehmen Sie je 6 Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I (für Bakterien) und mit Biomalzagar (für Pilze), und erhitzen Sie diese im Wasserbad bei 100 °C bis zur Verflüssigung des Nährbodens!
Bei Verwendung von Gelatinenährböden Arbeitsanleitung zu Experiment 23 beachten!
- Gießen Sie das verflüssigte Nährmedium in sterile Petrischalen, achten Sie auf seine gleichmäßige Verteilung! Geben Sie auf der Schale die Nährbodenbezeichnung an!
- Nehmen Sie nach dem Erstarren des Nährbodens die Deckel der Petrischalen ab, und stellen Sie je 3 Platten mit Fleischnährboden und 3 Platten mit Biomalznährboden an zwei von Ihnen ausgewählte Standorte (z. B. Kabinett, Korridor, Toilette)!
- Schließen Sie nach 45 Min. die Petrischalen wieder! Ergänzen Sie die Beschriftung durch die Angabe des Standortes, und stellen Sie die Platten mit dem Schalendeckel nach unten (zur Vermeidung auftropfenden Kondenswassers auf die Nährbodenoberfläche) in einen Brutschrank zur Bebrütung bei 28 °C!

Beobachtung

- Protokollieren Sie nach 2 Tagen die Anzahl der Bakterienkolonien auf dem Fleischnährboden und nach 3 Tagen die Anzahl der Pilzkolonien auf dem Biomalznährboden! Berechnen Sie die beiden Mittelwerte (↗ S. 44f.) und tragen Sie diese in die folgende Tabelle ein!

Keimgehalt der Luft

Mikroorganismen	Standort I	Standort II
Bakterien		
Pilze		
Gesamtkeimzahl		

Auswertung:

Vergleichen Sie den Keimgehalt der Luft an den unterschiedlichen Standorten! Versuchen Sie die Unterschiede zu erklären! Begründen Sie aufgrund der ermittelten Werte hygienische Maßnahmen und Verhaltensregeln im Schulgebäude! Kontrollieren Sie deren Einhaltung!

(Achtung: Fangplatten mit Nähragar I können als Ausgangsmaterial für Experiment 50 benutzt werden.)

4.1.2. Verminderung des Keimgehaltes der Luft

Die beim Versprühen einer Flüssigkeit (Spray) entstehenden Tröpfchen reißen während des Absinkens Mikroorganismen mit zu Boden. Dadurch vermindert sich der Keimgehalt der Luft.

- Prüfen Sie die Wirkung von Sprühmitteln in geschlossenen Räumen auf den Keimgehalt der Luft! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 18!

▼ Experiment 18: Nachweis der Verminderung des Keimgehaltes bei Anwendung eines Raumsprays

Zeit:

Dauer des Experiments: 2 Tage

Ansatz: 165 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

6 sterile Petrischalen

Fettstift oder Etiketten

Raumspray

6 sterilisierte Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I, wenn Nähragar I nicht vorhanden: Nährgelatine (Rezept / S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Gießen Sie 6 Nährbodenplatten!
- Stellen Sie nach dem Erstarren des Nährbodens 3 Schalen mit abgenommenen Deckeln 60 Min. in einem Raum auf!
- Schließen Sie danach die Schalen, und bringen Sie diese beschriftet in einen Brutschrank mit einer Temperatur von 28 °C!
- Versprühen Sie in dem von Ihnen ausgewählten Raum ein Aerosol (Raumspray), und lassen Sie dieses eine Zeitlang sich absetzen!
- Stellen Sie im Anschluß daran die übrigen 3 Platten zum Einfangen eventuell noch in der Luft vorhandener Mikroorganismen an der gleichen Stelle auf!
- Verschließen Sie nach 60 Min. auch diese Schalen, beschriften Sie diese, und setzen Sie die Platten in den Brutschrank!

Beobachtung

- Zählen Sie nach 2 Tagen die auf dem Nährboden der 6 Platten sichtbaren Kolonien!

Auswertung:

Berechnen Sie von beiden Varianten den Mittelwert ($\bar{x}$ S. 44), und tragen Sie die Ergebnisse in die Tabelle ein!

Beurteilen Sie die Wirkung des Raumsprays!

Mikroorganismengehalt vor und nach dem Benutzen eines Raumsprays

Variante	Anzahl der Kolonien
Vor dem Sprühen	$\bar{x} =$
Nach dem Sprühen	$\bar{x} =$

Suchen Sie nach anderen Möglichkeiten, den Keimgehalt der Raumluft zu vermindern!

Beachten Sie dabei, daß Keime häufig an Staubteilchen haften!

- Wiederholen Sie das Experiment 18 vor und nach dem Fegen des Klassenzimmers, und zwar einmal ohne Verwendung von staubbindenden Mitteln und einmal nach Einsatz dieser Mittel!
Ziehen Sie Schlußfolgerungen für Ihr Verhalten im Klassenzimmer und für die Methoden der Raumreinigung!

4.2. Mikroorganismen im Boden

Die obere Schicht eines Bodens ist von einer Lebensgemeinschaft besiedelt, die aus höheren Lebewesen, aus Bakterien, mikroskopisch kleinen Pilzen, Blaualgen, Grünalgen und Protozoen besteht. Die Anzahl der in einem Gramm Boden enthaltenen Mikroorganismen erreicht viele Millionen. Davon stellen die Bakterien den Hauptanteil.

Tabelle 82/1 Zusammensetzung der mikrobiellen Lebensgemeinschaft eines Bodens

Mikroorganismengruppe	Anzahl der Mikroorganismen in 1 g Ackerboden	Masse der Mikroorganismen in kg/ha
Bakterien	600 000 000	10 000
Pilze	400 000	10 000
Algen	100 000	100

Die Menge der in einem Boden vorkommenden Lebewesen hängt in entscheidendem Maße vom Typ und der Art des Bodens ab. Ein reiner Sandboden ist infolge seiner Einzelkornstruktur und des dadurch bedingten schwachen Wasserhaltevermögens sowie des geringen Anteils an organischer Substanz keimarm. Ein intensiv bewirtschafteter Boden mit ausgeprägter Krümelstruktur hingegen bietet günstige Voraussetzungen für die Vermehrung von Mikroorganismen, die außerdem von der Durchlüftung des Bodens, seinem pH-Wert, der Feuchtigkeit und weiteren Faktoren bestimmt wird. Auch hinsichtlich der Jahreszeit sind Schwankungen im Mikroorganismengehalt des Bodens festzustellen. Ein deutlicher Anstieg der Mikroorganismenvermehrung ist dann zu beobachten, wenn im Verlaufe einer Vegetationsperiode der Boden mit organischer Substanz angereichert wird. Durch die Tätigkeit der Mikroorganismen wird die organische Substanz abgebaut und über die Mineralisierung im Stoffkreislauf der Natur wieder verwertbar (↗ S. 11).

- *Lesen Sie im Lehrbuch Biologie Klasse 7, Seite 31 und Biologie in Übersichten über den Kreislauf der Stoffe in der Natur nach!*

Unter den Bodenmikroorganismen gibt es einige Gruppen, die zu speziellen physiologischen Leistungen fähig sind. So vermögen die nitrifizierenden Bakterien Ammoniak in Nitrat umzuwandeln, denitrifizierende Bakterien können Nitrat bis zum molekularen Stickstoff abbauen. Bestimmte Vertreter der Bakterien und Blaualgen können Luftstickstoff binden (↗ S. 101). Andere Mikroorganismen zersetzen Zellulose und Lignine.

- *Lesen Sie dazu auch in Biologie in Übersichten nach!*

4.2.1. Keimgehalt eines Bodens

Die Ermittlung des Keimgehalts eines Bodens hängt wesentlich von der verwendeten Nachweismethode ab. Die durch direkte mikroskopische Zählung gefundenen Werte liegen deutlich höher als die mit indirekten Methoden gewonnenen Zahlen. Eine häufig verwendete indirekte Methode ist das 1881 von Robert KOCH eingeführte Plattengußverfahren.

- *Ermitteln Sie den Keimgehalt einer Bodenprobe! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 19!*

▼ Experiment 19: Ermitteln des Keimgehaltes einer Bodenprobe

Zeit:

Dauer des Experiments: 5 bzw. 7 Tage

Ansatz: 150 Min.

Auswertung: nach 5 Std. oder später 20 Min., nach einer Woche 90 Min.

Material:

Pulverflasche (500 ml) mit Stopfen

Löffel

8 Wägegläschen

Spatel

12 sterile Erlenmeyerkolben (500 ml)

steriler Meßzylinder (100 ml)

12 Pipetten (1 ml)

6 sterile Petrischalen

2 Erlenmeyerkolben (1 l) mit sterilem Leitungswasser

6 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Glycerin-Pepton-Agar (Rezept
S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Holen Sie aus dem Schulgarten oder von einem nahegelegenen Feld eine größere Menge Erde in einer Pulverflasche!
- Wägen Sie sofort nach Einbringen der Probe in dem Arbeitsraum 8 Portionen zu je 1 g ab!
Geben Sie diese in Wägegläschen, von denen Sie zuvor die Masse bestimmt haben!
- Stellen Sie 5 Bodenproben zur Trocknung bei 105 °C mindestens 5 Std. in den Trockenschrank, und bestimmen Sie danach deren Masse!
- Füllen Sie in 12 sterile Erlenmeyerkolben je 99 ml sterilisiertes Leitungswasser!
- Schütten Sie eine der 3 noch frischen Bodenproben in einen mit Wasser gefüllten Erlenmeyerkolben, und verschließen Sie diesen mit einem Stopfen!
- Schütteln Sie die Probe 10 Min. kräftig, ohne daß Flüssigkeit an den Stopfen gelangt!
- Stellen Sie entsprechend der Abbildung 83/1 eine Verdünnungsreihe her! Schütteln

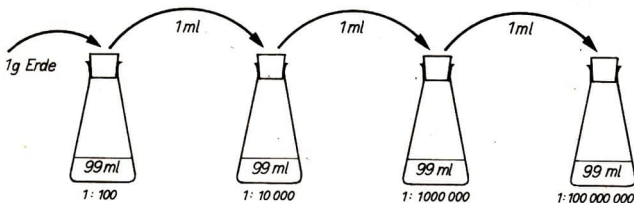


Abb. 83/1 Verdünnungsreihe

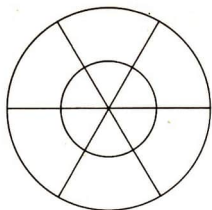


Abb. 85/1 Zählscheibe

Tragen Sie in die Tabelle ein, wieviele Mikroorganismen in 1 g trockenem Boden enthalten sind!

Sollte die Anzahl der Kolonien 100 übersteigen, dann genügt es, einen Sektor der Platte auszuzählen und durch Multiplikation die Kolonieanzahl der gesamten Platte zu berechnen.

Zum Auszählen eines Sektors eignet sich eine Zählplatte, die aus einer Pappscheibe selbst hergestellt werden kann (Abb. 85/1) und auf die Petrischale aufgelegt wird.

4.2.2. Unterschiede im Keimgehalt verschiedener Bodenarten

Böden werden unter Berücksichtigung verschiedener Eigenschaften bestimmten Bodenarten zugeordnet. Ein wesentliches Merkmal für diese Zuordnung ist der Gehalt an abschlämmbaren Teilchen. Ihre Größe liegt unter 0,01 mm. Der Gehalt an abschlämmbaren Bestandteilen nimmt vom Sandboden über Lehm- zum Tonboden zu. Optimale Lebensbedingungen finden die Mikroorganismen weder in einem reinen Sand- noch in einem schweren Tonboden, sondern in einem lockeren, milden Lehm.

- *Untersuchen Sie verschiedene Bodenarten auf ihren Gehalt an Mikroorganismen! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 20!*

▼ **Experiment 20: Ermittlung des Keimgehaltes verschiedener Bodenarten**

Zeit:

Dauer des Experiments: 5 Tage bzw. 7 Tage

Ansatz: 120 Min.

Auswertung: nach 5 Std. oder später 20 Min., nach 5 Tagen 60 Min.

Material:

2 Pulverflaschen (500 ml) mit Stopfen

2 Löffel

12 Wägegläschen

Spatel

- 8 sterile Erlenmeyerkolben (500 ml)
- steriler Meßzylinder (100 ml)
- 8 Pipetten (1 ml)
- 4 sterile Petrischalen
- 2 Erlenmeyerkolben (500 ml) mit sterilem Leitungswasser
- 4 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Glycerin-Pepton-Agar (Rezept
/ S. 154)

Durchführung:

Ansatz

- Suchen Sie in Ihrer Umgebung zwei Standorte mit verschiedenen Bodenarten aus!
- Nehmen Sie Bodenproben, und behandeln Sie diese nach der Anleitung zu Experiment 19! Damit der Aufwand an Glasgeräten nicht zu groß wird, sollte von jeder Bodenprobe nur eine Verdünnungsreihe hergestellt werden.

Beobachtung

- Tragen Sie alle gefundenen Werte in die Tabelle (/ Vorlage) ein! Ermitteln Sie den Keimgehalt beider Bodenarten ebenfalls nach den im Experiment 19 angegebenen Gleichungen!

Auswertung:

Vergleichen Sie die Keimzahlen der 2 untersuchten Bodenarten, und versuchen Sie, die Unterschiede mit den Eigenschaften dieser Böden in Beziehung zu setzen!

Keimgehalt in verschiedenen Bodenarten

Bodenart	Frisch- masse (g)	Trocken- masse (g)	Wasser- gehalt (%)	Verdünnungs- stufe	Kolonie- anzahl	Keimgehalt / g trockener Boden
	$\bar{x} =$	$\bar{x} =$	$\bar{x} =$			
	$\bar{x} =$	$\bar{x} =$	$\bar{x} =$			

4.2.3. Pilzgehalt im Acker- und Waldboden

- **Die Azidität eines Bodens ist für die Zusammensetzung seines Gehaltes an Mikroorganismen von besonderer Bedeutung.**

Während Bakterien im allgemeinen schwach alkalische bis neutrale Böden bevorzugen, kommen Pilze vorwiegend auf sauren Böden vor. Solche sauren Substrate stellen in der Regel die Waldböden dar, in denen es aufgrund der Zersetzung des reichlich vorhandenen organischen Materials zu einer starken Ansäuerung kommt. Ackerböden zeigen infolge der Bewirtschaftungsmaßnahmen, insbesondere der Düngung, meist eine nur schwach saure bis schwach alkalische Reaktion.

- *Untersuchen Sie Proben von Acker- und Waldboden auf das Vorkommen von Pilzen! Handeln Sie nach der Anleitung zu Experiment 21!*

▼ **Experiment 21: Nachweis mikroskopisch kleiner Pilze im Acker- und Waldboden**

Zeit:

Dauer des Experiments: etwa 5 Tage

Ansatz: 150 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

Erde von einem Acker- und einem Waldboden

2 Pulverflaschen (100 ml) mit Stopfen

2 Löffel

Spatel

4 Erlenmeyerkolben (100 ml)

Meßzylinder (50 ml)

2 Trichter

Faltenfilter

Filtergestell

2 Pipetten (5 ml)

2 Reagenzgläser

6 sterile Erlenmeyerkolben (500 ml)

steriler Meßzylinder (100 ml)

6 Pipetten (1 ml)

6 sterile Petrischalen

6 sterile Meßpipetten (1 ml)

6 sterile Glasspatel

Indikator zum Säurenachweis (z. B. Czerny-Indikator)

2 Erlenmeyerkolben (500 ml) mit sterilem Leitungswasser

6 sterilisierte Biomalagar-Röhrchen (Hochschicht, Rezept / S. 153)

Durchführung:

Ansatz

- Nehmen Sie von einem Acker- und einem Waldboden je eine Probe!
Achten Sie bei der Probenahme von einem Waldboden darauf, daß die obere Nadel- oder Laubstreichschicht nicht mitgenommen wird!
- Bringen Sie die beiden Proben in einem geschlossenen Gefäß in den Fachraum!
- Wägen Sie zur Bestimmung des pH-Wertes der beiden Bodenproben je 25 g Erde ab!
- Schütten Sie diese Mengen in je einen mit 50 ml Wasser gefüllten Erlenmeyerkolben!
- Schütteln Sie die Kolben etwa 5 Min. kräftig!
- Filtrieren Sie danach die Bodensuspension!
- Entnehmen Sie von jedem Filtrat 5 ml, bringen Sie diese Menge in je ein Reagenzglas und fügen Sie einige Tropfen eines Indikators zu!
- Schütteln Sie die Probe kurz, und ermitteln Sie durch einen Farbvergleich den pH-Wert der beiden Bodenproben!
- Notieren Sie die ermittelten Werte!

Um den Pilzgehalt im Acker- und Waldboden zu bestimmen, gehen Sie folgendermaßen vor:

- Füllen Sie in 6 sterile Erlenmeyerkolben je 99 ml steriles Leitungswasser!
- Wägen Sie von jeder Bodenprobe 1 g ab, und schütten Sie diese in je einen der Erlenmeyerkolben!
- Schütteln Sie die Kolben gründlich, und vermeiden Sie, daß die Stopfen benetzt werden!
- Stellen Sie von beiden Proben eine Verdünnungsreihe mit folgenden Stufen her:
1 : 100, 1 : 10000, 1 : 1000000 (↗ Experiment 19, Abb. 83/1)!
- Schmelzen Sie den Biomalznährboden von 6 Hochschichtröhrchen im Wasserbad auf und gießen Sie ihn in 6 sterile Petrischalen!
- Pipettieren Sie nach dem Erstarren des Nährbodens von jeder Verdünnungsstufe 0,1 ml Suspension auf die Nährbodenoberfläche!
- Verteilen Sie die Flüssigkeit mit Glasspateln gleichmäßig über die gesamte Oberfläche!
- Stellen Sie die Platten in einen Brutschrank bei 28 °C!

Beobachtung

- Ermitteln Sie nach etwa 5 Tagen die Anzahl der Pilzkolonien auf **den** Platten, die eine auszählbare Menge an Kolonien enthalten, und tragen Sie die Werte in eine Tabelle (↗ Vorlage) ein! Berechnen Sie auf Grund dieser Werte den Pilzgehalt in 1 g frischen Boden!

Auswertung:

Vergleichen Sie die für die beiden Böden gefundenen Zahlen, beachten Sie dabei die zuvor ermittelten pH-Werte!

Bedenken Sie bei diesem Vergleich, daß keine Umrechnung auf trockenen Boden erfolgt ist und durch den unterschiedlichen Wassergehalt der beiden Bodenproben ein gewisser Fehler bedingt sein kann!

Boden	pH-Wert	Verdünnungsstufe	Pilzgehalt/g frischer Boden
-------	---------	------------------	-----------------------------

4.2.4. Mikroorganismen an Bodenkrümeln

In der flüssigen und festen Phase des Bodens liegen Mikroorganismen in unterschiedlicher Menge vor. In Untersuchungen wurde beispielsweise festgestellt, daß 1 ml Bodenlösung 7300 Mikroorganismen, 1 g trockene Bodensubstanz aber 2500000 Keime enthielt. Jeder Bodenkrümel ist außerordentlich dicht von Mikroorganismen besiedelt, die ihrerseits zur Stabilisierung des Krümels beitragen (Lebendverbauung).

- Weisen Sie an Bodenkrümeln aus einer Probe Gartenerde Mikroorganismen nach! Sie können dabei nach der Anleitung zu Experiment 22 vorgehen.

▼ Experiment 22: Nachweis von Mikroorganismen an Bodenkrümeln

Zeit:

Dauer des Experiments: 1 Tag

Ansatz: 150 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

wenig Gartenerde

Becherglas (100 ml, Hochformat)

Stück Aluminium-Haushaltfolie

Objektträger

kleiner Spatel

Filterpapier

Glasschale (15 cm Durchmesser) mit Deckel

Agar oder Gelatine

Äthanol

Durchführung:

- Kochen Sie 70 ml 2%igen Leitungswasseragar in einem Becherglas (100 ml), bedecken Sie das Glas mit einem Stück Aluminiumfolie, und drücken Sie diese unterhalb des Glasrandes fest!
- Sterilisieren Sie den Agar 20 Min. bei 121 °C!
- Lassen Sie den Agar auf 45 °C abkühlen, und tauchen Sie in diesen einige gründlich mit Äthanol gereinigte und abgeflamte Objektträger!
- Legen Sie die so behandelten Objektträger auf eine plane Unterlage, lassen Sie den Agarfilm erstarren, und reinigen Sie die Unterseite der Objektträger!

- Streuen Sie mit einem Spatel auf die Agaroberfläche einige wenige, möglichst kleine Bodenkrümel!
- Legen Sie die Objektträger in eine mit feuchtem Filterpapier ausgekleidete Glasschale und verschließen Sie sie mit einem Deckel!
- Stellen Sie den Ansatz für 24 Std. in einen Brutschrank (28 °C)!

Zur Herstellung eines Gelatinenährbodens werden 7,5 g Gelatine in 50 ml Leitungswasser bei etwa 40 °C im Wasserbad gelöst und an drei aufeinanderfolgenden Tagen im strömenden Dampf sterilisiert. Die weiteren Arbeitsschritte entsprechen den im Experiment angegebenen. Die Glasschale mit den Objektträgern wird aber nicht in den Brutschrank gestellt, sondern bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Auswertung:

Betrachten Sie bei geringer mikroskopischer Vergrößerung die einzelnen Präparate, und stellen Sie dabei fest, ob sich um die Krümel Höfe von Bakterien gebildet haben und vom Krümel ausgehende Pilzhypen sichtbar sind!

- *Wiederholen Sie das Experiment 22, verwenden Sie dabei anstelle von Garten-erde Sand! Vergleichen Sie die Ergebnisse beider Experimente! Setzen Sie die Ergebnisse zu dem Gehalt an organischen Stoffen in den geprüften Bodenproben in Beziehung!*

4.3. Mikroorganismen im Wasser

Jede Ansammlung von Wasser stellt einen mehr oder weniger günstigen Lebensraum für Mikroorganismen dar (z. B. Wasserpfützen, Tümpel, Teiche und Seen ebenso wie Bäche, Flüsse, Ströme oder Meere). Der Mikroorganismenreichtum eines Gewässers hängt von seinen chemischen und physikalischen Eigenschaften, insbesondere von dessen Nährstoffgehalt ab. Bei günstigen Lebensbedingungen kann die Anzahl der Mikroorganismen sehr hoch sein. In einem Gewässer können sich neben ursprünglich vorhandenen Mikroorganismen auch solche befinden, die aus der Luft, dem Boden oder mit menschlichen und tierischen Ausscheidungen sowie durch Industrieabwässer in das Wasser gelangt sind.

- *Lesen Sie im Lehrbuch Biologie Klasse 9 die Seiten 136 und 137! Verschaffen Sie sich einen Überblick über die Verschmutzungsquellen für die Gewässer Ihrer Umgebung, sowie darüber, welche Auswirkungen die Verschmutzung hat und wie der Verschmutzung entgegengewirkt werden kann!*

Durch häusliche und landwirtschaftliche Abwässer verunreinigte Gewässer können beispielsweise das Darmbakterium *Escherichia coli* enthalten, das als ein Indikator für Verunreinigungen durch Fäkalien anzusehen ist und deshalb bei der hygienischen Begutachtung von Wasserproben eine entscheidende Rolle spielt. Quell- und Grundwasser sind arm an Mikroorganismen und stellen ein wertvolles Reservoir für die Gewinnung von Trinkwasser dar. Trinkwasser muß frei von toxischen Stoffen und pathogenen Keimen sein und darf maximal 100 Keime/ml enthalten.

Die Reinhaltung und der Schutz der Gewässer als gesellschaftliches Eigentum sind ein

wesentliches Anliegen des Gesetzes über die planmäßige Gestaltung der sozialistischen Landeskultur in der Deutschen Demokratischen Republik [Landeskulturgegesetz v. 14. 5. 1970].

4.3.1. Keimgehalt von Trink- und Brauchwasser

Trinkwasser ist sehr reines, aufbereitetes Wasser, das bestimmten chemischen und mikrobiologischen Qualitätsanforderungen entsprechen muß. Die Trinkwasserversorgung der Bevölkerung unterliegt einer ständigen Überwachung durch Organe der Wasserwirtschaft und Hygiene-Institute. Da Krankheitserreger, wie Typhus- und Cholerabakterien, auf dem Wasserwege sehr schnell verbreitet werden und Epidemien auslösen könnten, sind bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung der Güte des Trinkwassers unerlässlich.

Das im Haushalt oder in der Volkswirtschaft verwendete Wasser wird während seines Gebrauches mit Mikroorganismen angereichert und ist danach als Trinkwasser nicht mehr geeignet.

- *Untersuchen Sie Trink- und Waschwasser auf seinen Gehalt an Mikroorganismen! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 23!*

▼ Experiment 23: Nachweis von Mikroorganismen im Trink- und Waschwasser

Zeit:

Dauer des Experiments: 2 Tage

Ansatz: 45 Min.

Auswertung: 15 Min.

Material:

sterile Flasche (etwa 100 ml)

sterile Abdampfschale (etwa 1 l)

2 sterile Meßpipetten (1 ml)

Fettstift oder Etiketten

4 sterile Petrischalen

4 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Nährgelatine (Rezept / S. 154)

Durchführung:

- Drehen Sie den Wasserhahn voll auf, und lassen Sie das Wasser 4 Min. abfließen!
- Füllen Sie danach eine sterile Flasche mit Wasser, und verschließen Sie diese!
- Lassen Sie anschließend Leitungswasser in eine sterilisierte Schale laufen, und waschen Sie sich darin Ihre Hände, ohne Seife zu benutzen!
- Verflüssigen Sie die Nährgelatine in den 4 Hochschichtröhrchen bei etwa 37 °C im Wasserbad!
- Entnehmen Sie mit sterilen Pipetten sowohl von der Leitungswasserprobe als auch vom Waschwasser je 1,0 ml und 0,1 ml und pipettieren Sie diese Mengen in Petrischalen! Vermerken Sie auf den Schalen die Art der Wasserprobe und die entnommene Wassermenge!

- Gießen Sie die verflüssigte Nährgelatine in die 4 Petrischalen, und vermischen Sie durch vorsichtiges Hin- und Herschwenken der Schalen Gelatine und Wasserprobe!
- Lassen Sie die Gelatine erstarren, und stellen Sie danach die Platten zur Bebrütung bei 22 °C auf!

Auswertung:

Ermitteln Sie nach 2 Tagen die Anzahl der gebildeten Kolonien auf jeder Platte! Berechnen Sie den Keimgehalt von 1 Liter Trink- und 1 Liter Waschwasser! Vergleichen Sie die ermittelten Ergebnisse miteinander!

4.3.2. Temperatureinfluß auf Bakterien im Wasser

Unter den Bakterien sind die Sporenbildner in der Lage, physiologisch extreme Temperaturen zu überstehen. Sporen solcher resistenter Bakterien überdauern Einfrieren ebenso wie Kochen.

- Weisen Sie die Temperaturresistenz sporenbildender Bakterien nach! Handeln Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 24!

▼ Experiment 24: Ermittlung des Einflusses der Temperatur auf die Überlebensfähigkeit von Bakterien im Wasser

Zeit:

Dauer des Experiments: 17 Tage

Ansatz: am 1. Tag 30 Min.; nach 14 Tagen 15 Min.; nach weiteren 2 Tagen 4 Std.

Auswertung: 15 Min.

Material:

Heu

Teichwasser

Becherglas (1 l)

Mulltuch

Trichter

sterile Pipette (5 ml)

5 sterile Pipetten (10 ml)

sterile Pipette (25 ml)

4 sterile Meßpipetten (1 ml)

steriler Erlenmeyerkolben mit etwa 50 Glasperlen

4 dickwandige Reagenzgläser

4 sterile Glasspatel

Erlenmeyerkolben mit sterilem Wasser (100 ml)

sterilisiertes Nähragar-Röhrchen (Schrägagar)

4 vorgetrocknete Nähragar-Platten

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie entsprechend der im Experiment 2 (S. 52) gegebenen Anleitung einen Heuaufguß her! Durch das Kochen des Heues werden bakterienfressende Organismen (z. B. Protozoen) abgetötet.
- Wenn sich auf dem Heuaufguß eine Kahlhaut gebildet hat, entnehmen Sie davon mit der Impföse etwas Material, und streichen Sie es auf Fleischnährboden (Schrägararröhrchen) aus! In wenigen Tagen entsteht eine Rohkultur, die vorwiegend aus dem Heubazillus (*Bacillus subtilis*) besteht.
- Schwemmen Sie die Rohkultur mit 5 ml sterilem Leitungswasser ab, indem Sie nach dem Einpipettieren des Wassers in das Kulturröhrchen den Bakterienbewuchs mit einer Impföse ablösen!
Gießen Sie die Suspension in einen mit Glasperlen versehenen Erlenmeyerkolben, fügen Sie 10 ml steriles Wasser zu, und schütteln Sie den Kolben so lange, bis sich die Bakterienmasse gleichmäßig verteilt hat!
- Pipettieren Sie weitere 35 ml steriles Wasser in den Erlenmeyerkolben und schwenken Sie noch einige Male gut um!
- Entnehmen Sie von der Suspension 4 Proben zu je 10 ml, und geben Sie diese in jeweils ein dickwandiges Reagenzglas!
Behandeln Sie die Proben wie folgt:
 - Probe 1 Einfrieren im Kühlschrank (Tiefkühlfach)
 - Probe 2 Aufstellen für etwa 180 Min. bei Zimmertemperatur
 - Probe 3 Erhitzen im Wasserbad auf 100 °C
 - Probe 4 Autoklavieren bei 121 °C.
- Spateln Sie 0,1 ml der Suspensionen nach Einwirkung der unterschiedlichen Temperaturen auf zuvor getrocknete Fleisch-Agar-Platten mittels Glasspateln aus und stellen Sie die 4 Petrischalen umgekehrt in einen Brutschrank (28 °C)!

Beobachtung

Kontrollieren Sie nach 24 Std., ob die Platten von Mikroorganismen bewachsen sind!

Auswertung:

Ziehen Sie aufgrund der ermittelten Ergebnisse Schlußfolgerungen hinsichtlich der Überlebensfähigkeit sporenbildender Bakterien bei verschiedenen Temperaturen!

4.3.3. Mikroorganismen des Planktons

In stehenden Gewässern ist eine gewisse Schichtung der Mikroorganismenpopulation zu erkennen. In der gleichmäßig durchwärmten oberflächennächsten Schicht entwickelt sich eine Vielzahl von licht- und sauerstoffbedürftigen Organismen. Zahlreiche Arten sind zur Photosynthese befähigt. Mit zunehmender Tiefe des Gewässers nehmen Lichtintensität, Sauerstoffgehalt und Temperatur im Wasser ab, so daß sich die Anzahl der Organismen vermindert.

- **Die Gesamtheit der im Wasser frei schwebenden Organismen wird als Plankton bezeichnet. Die pflanzlichen Organismen des Planktons sind das Phytoplankton, die tierischen Organismen des Planktons das Zooplankton. Die auf dem Grund eines Gewässers vorkommenden Formen stellen das Benthos dar.**

Die chemisch-physikalischen Verhältnisse eines Gewässers unterliegen jahreszeitlichen Schwankungen, die im wesentlichen durch die Temperatur bedingt werden. Infolge Abkühlung der Oberflächenschicht kommt es insbesondere im Herbst zu einer Zirkulation des Wassers, die Veränderungen in der Lebensgemeinschaft des Gewässers hervorruft.

- *Untersuchen Sie Plankton in Proben aus verschiedenen Binnengewässern entsprechend der Anleitung zu Experiment 25!*

▼ **Experiment 25: Nachweis von Mikroorganismen des Planktons verschiedener Gewässer**

Zeit:

Dauer des Experiments: 8 Std.

Material:

Planktonnetz bzw. 6 Enghalsflaschen (50 ml oder 100 ml) mit Verschlüssen
Draht
Stab (2 m lang)
Etiketten und Fettstifte
Thermometer
6 Pipetten
Objektträger
Deckgläser

Durchführung:

- Wählen Sie 3 Gewässer unterschiedlicher Tiefe aus, um das darin enthaltene Plankton auf seine Zusammensetzung zu untersuchen!
- Wenn kein Planktonnetz zur Verfügung steht, verwenden Sie zum Schöpfen der Wasserproben enghalsige Flaschen von 50 ml oder 100 ml Fassungsvermögen, die Sie mittels eines Drahtes so an einen etwa 2 m langen Stab befestigen, daß sie sich beim Eintauchen in das Wasser nicht ablösen können!
- Entnehmen Sie von jedem Gewässer 2 Proben, eine Probe unmittelbar unter der Wasseroberfläche, die zweite aus 1 m Tiefe!
Achten Sie darauf, daß die Flasche schnell in das Wasser eingesenkt wird, damit nicht schon beim Hinabführen bis zu 1 m Tiefe Wasser hineinläuft!
- Gießen Sie vor dem Verschließen der Flaschen etwas Wasser ab, so daß bis zur Untersuchung des Planktons kein Sauerstoffmangel im Gefäß eintritt!
- Vermerken Sie auf den Gefäßen, wo Sie die Probe entnommen haben, und führen Sie ein Protokoll, in dem Sie das jeweilige Gewässer charakterisieren (geographische Lage, Art des Gewässers, Pflanzenbewuchs, Trübung und Temperatur)!
- Bringen Sie die Wasserproben möglichst rasch in Ihren Arbeitsraum!

- Schütteln Sie die Wasserproben vor dem Mikroskopieren einige Male um, damit eine annähernd gleichmäßige Verteilung der Organismen erreicht wird!
- Pipettieren Sie von jeder Probe einige Tropfen auf je einen Objektträger und beschriften Sie diesen!
- Nachdem Sie ein Deckglas aufgelegt haben, durchmustern Sie jeweils das Präparat nach Mikroorganismen des Planktons!
Es fallen meist eigenbewegliche, ungefärbte Formen auf, die dem Zooplankton zuzurechnen sind. Sie gehören zur Gruppe der Protozoen. Grün oder bräunlich gefärbte Organismen sind in der Regel dem Phytoplankton zuzuordnen; auch unter ihnen gibt es bewegliche Formen.
Zum Phytoplankton zählen Blaualgen, Geißelalgen, Kieselalgen, Grünalgen.

Auswertung:

Eine taxonomische Bestimmung setzt umfangreiche Artenkenntnis voraus. Versuchen Sie dennoch mit Hilfe von Bestimmungstabellen [Schubert 1972] die Gattungen der von Ihnen beobachteten Mikroorganismen des Phytoplanktons zu ermitteln!

Tragen Sie in das Protokoll ein, welche Gattungen für das jeweils ausgewählte Gewässer typisch sind! Stellen Sie fest, ob die Tiefe, aus der die Probe entnommen worden ist, einen Einfluß auf die Zusammensetzung des Planktons hat!

Bestimmungen der **Anzahl** der Planktonorganismen in einer Wasserprobe lassen sich mit Hilfe der Zählkammer nach KOLKWITZ durchführen. Eine Arbeitsanleitung dafür finden Sie in der „Praxis für Süßwasserbiologie“ [Schubert 1972, S. 63].

4.3.4. Vorkommen von Kieselalgen

Insbesondere im Frühjahr treten in unseren Binnengewässern Kieselalgen massenhaft auf. Sie sind durch kieselsäurehaltige Schalen, die wie die beiden Teile einer Schachtel ineinandergreifen, charakterisiert und zeichnen sich durch große Formenmannigfaltigkeit aus (S. 96). Kieselalgen kommen als Plankton und Benthos im Wasser vor und können infolge ihrer unterschiedlichen Ansprüche an ihre Umwelt als Indikatororganismen für Gewässerverschmutzung dienen.

- *Untersuchen Sie Proben aus Binnengewässern auf Kieselalgen! Beachten Sie die Anleitung zu Experiment 26!*

▼ Experiment 26: Nachweis von Kieselalgen in Binnengewässern

Zeit:

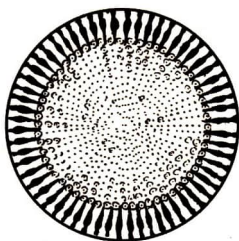
Dauer des Experiments: 150 Min.

Material:

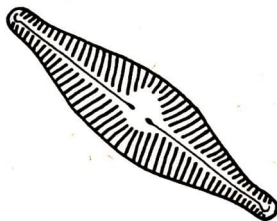
2 Enghalsflaschen (50 ml oder 100 ml)
Draht
Stab (2m lang)
Etiketten und Fettstift



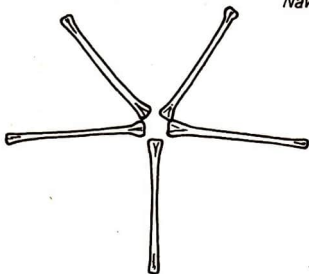
Melosira varians



Stephanodiscus dubius



Navicula salinarum



Asterionella formosa



Synedra affinis

2 Pipetten
Objektträger
Deckgläser

Durchführung:

- Gehen Sie im Frühjahr mit der im Experiment 25 beschriebenen Ausrüstung zur Entnahme einer Wasserprobe an einen Teich, Tümpel oder Bach und schöpfen Sie von der Oberfläche und vom Grunde des Gewässers je eine Probe!
- Stellen Sie davon in Ihrem Arbeitsraum Präparate für die mikroskopische Beobachtung her!
- Verschaffen Sie sich über die Anzahl der vorhandenen Kieselalgen und deren Formenmannigfaltigkeit einen Überblick! Fertigen Sie von einigen Formen Umriß- und Detailzeichnungen an, aus denen die Oberflächenstruktur der Kieselsäureschale hervorgeht!

Auswertung:

Versuchen Sie, einige der im Mikropräparat enthaltenen Kieselalgen zu benennen! Vergleichen Sie dazu mit der Abbildung 96/1 oder mit den Abbildungen in Schubert [1972] auf Seite 48 und 49!

Wenn Sie sich eingehender mit Kieselalgen beschäftigen wollen, benutzen Sie dazu die „Praxis der Süßwasserbiologie“ [Schubert, 1972] oder das Heft 467 der Neuen Brehm-Bücherei „Kieselalgen in Binnengewässern“ [Kalbe, 1973]!

4.3.5. Mikroorganismen des Abwassers

Gelegentlich findet man in stehenden oder fließenden Gewässern auf Steinen oder anderen Gegenständen fellähnliche Überzüge, die aus relativ langen, schmutziggrauen Fäden bestehen und in fließendem Wasser flottieren. Diese Überzüge werden von den Pilzen *Leptomitius lacteus* und *Fusarium aquaeductum* sowie dem Bakterium *Sphaerotilus natans* gebildet (Abb. 99/1). Diese Organismen sind typisch für abwasserbelastete, d. h. organisch stark verschmutzte Gewässer. Ihr Auftreten wird außerdem vom pH-Wert des Wassers bestimmt: *Leptomitius* und *Fusarium* wachsen im pH-Bereich 5 bis 6, *Sphaerotilus* wächst bei etwa pH-Wert 8.

- Suchen Sie in Ihrer Umgebung nach Gewässern, in denen Steine und andere Gegenstände fellartige Überzüge zeigen! Entnehmen Sie aus diesen Gewässern Proben! Weisen Sie darin Mikroorganismen nach! Handeln Sie dabei nach Anleitung zu Experiment 27! Schließen Sie aus den vorkommenden Organismenformen auf den Zustand des Wassers! Versuchen Sie zu erfahren, wodurch die Verschmutzung zustande kommt! Wie könnte man sie verhindern?

▼ Experiment 27: Nachweis von Mikroorganismen in abwasserbelasteten Gewässern



Zeit:

Dauer des Experiments: 180 Min.

Material:

Becherglas (1 l)
Thermometer
pH-Papier (z. B. Unitest-Papier)
Skalpell
dickwandiges, verschließbares Gefäß
Etiketten
Objektträger
Deckgläser

Durchführung:

- Stellen Sie für die Entnahme von Proben aus abwasserbelasteten Gewässern das erforderliche Material (s. o.) zusammen, und suchen Sie mit den Gerätschaften und dem Protokollbuch geeignete Gewässerstellen auf!
- Schöpfen Sie an diesen Stellen – ohne Schmutz aufzuwirbeln – ein Becherglas voll Wasser, halten Sie es gegen das Licht und beurteilen Sie, ob das Wasser keine, geringe oder starke Trübung zeigt! [!]
Tragen Sie dieses Ergebnis und auch die folgenden Werte in eine Tabelle ein, die Sie nach dem Muster auf Seite 98 anlegen!
- Messen Sie den pH-Wert, indem Sie einen Streifen Unitest-Papier für 30 Sek. in das Wasser tauchen und die Färbung des Papiers mit der beigegebenen Farbskala vergleichen!
- Stellen Sie mit dem Thermometer die Wassertemperatur fest!
- Schaben Sie mit dem Skalpell einen Teil der fellartigen Überzüge von den Steinen ab, bringen Sie diese in das dickwandige Gefäß und gießen Sie etwas Wasser darüber!
- Transportieren Sie das verschlossene Gefäß in den Arbeitsraum, stellen Sie Präparate her und beobachten Sie diese unter dem Mikroskop!

Hinweis: Da Abwasser pathogene Mikroorganismen enthalten kann, ist sorgfältige Desinfektion von Händen und Geräten unbedingt erforderlich.

Auswertung:

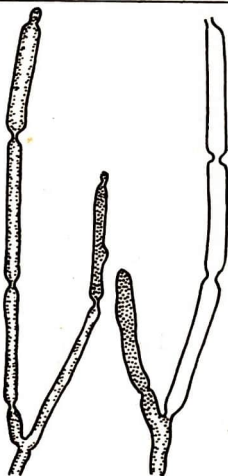
Vergleichen Sie die gefundenen Mikroorganismen mit denen auf der Abbildung (99/1) und benennen Sie die Organismen unter Beachtung des pH-Werts! Tragen Sie die Bezeichnungen der Abwasserorganismen ebenfalls in die Tabelle ein!

Mikroorganismen in Wasserproben

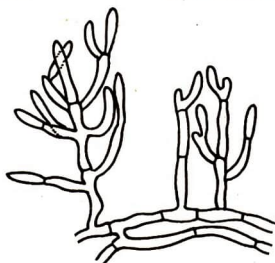
Ort der Probenahme	Trübung	pH-Wert	Temperatur	typische Mikroorganismen im Abwasser



Sphaerotilus natans



Leptomitopsis lacteus



Fusarium aquaeductum



4.4. Mikroorganismen an oder in Pflanzen und Tieren

Außer in der Luft, im Boden und im Wasser befinden sich Mikroorganismen auch an Gegenständen und Lebewesen. Sie haften äußeren Oberflächen von Pflanzen und Tieren an, leben aber ebenso im Inneren von Organismen. Diese anhaftenden Mikroben sind in der Regel harmlos und schädigen den Organismus, auf dem sie vorkommen, nicht. Mitunter treten sie zu ihm in ein Wechselverhältnis, von dem beide Partner Nutzen ziehen (Symbiose). Im Pansen der Wiederkäuer beispielsweise finden zellulosezersetzende Bakterien günstige Lebensbedingungen. Diese Pansenbakterien schließen die Zellulose der aufgenommenen pflanzlichen Nahrung auf, wodurch deren Bestandteile für das Tier verwertbar werden. Zwischen höheren Lebewesen und Mikroorganismen können sehr enge Beziehungen bestehen. Eine solche ausgeprägte Symbiose besteht beispielsweise bei Schmetterlingsblütengewächsen, die mit Knöllchenbakterien zusammenleben. Während sich bei der Symbiose ein Gleichgewicht zwischen beiden Partnern herausgebildet hat, kann in anderen Fällen des Zusammenlebens von Organismen das Gleichgewicht zugunsten der Mikroorganismen verschoben sein, so daß der Wirtsorganismus geschädigt wird. Solche Mikroorganismen bezeichnet man als Parasiten. Sie können als Krankheitserreger wirken und typische Erkrankungen hervorrufen. Die Schädigung des Wirtsorganismus kann so stark sein, daß sie den Tod herbeiführt.

4.4.1. Mikroorganismen an abgestorbenen Pflanzenteilen

Eine Vielzahl von Mikroorganismen haftet an abgestorbenen Pflanzenteilen. Ein Teil von ihnen hat infolge Wassermangels Überdauerungsformen (z. B. Zysten) gebildet, die bei Wasserzufuhr in den aktiven physiologischen Zustand zurückkehren. Die Mannigfaltigkeit der Organismenformen, die verschiedenen systematischen Gruppen angehören, und ihr zum Teil zeitlich aufeinanderfolgendes Auftreten (Sukzessionen) kann man in eindrucksvoller Weise an einem Heuaufguß untersuchen.

- Stellen Sie fest, welche Mikroorganismen an abgestorbenen Pflanzenteilen vorkommen! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 28!

▼ Experiment 28: Nachweis von Mikroorganismen an abgestorbenen Pflanzenteilen

Zeit:

Dauer des Experiments: maximal 4 Wochen

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: jeden 3. Tag 60 Min.

Material:

Heu

Becherglas (1 l)

Teichwasser

Mulltuch

Trichter
Objektträger
Deckgläser
4 Saugpipetten (an jedem Untersuchungstag)

Durchführung:

Ansatz

- Bringen Sie in ein Becherglas eine Handvoll Heu, und übergießen Sie dieses mit Wasser aus einem Tümpel oder Teich, das Sie zuvor durch Mulltuchlagen geseiht haben!
- Stellen Sie das Glas an einem hellen, nicht sonnigen, aber warmen Ort auf!

Beobachtung

- Verfolgen Sie in Abständen von 3 Tagen die Entwicklung der Mikroorganismenpopulation, indem Sie mit einer Saugpipette Proben nehmen
 1. von der Oberfläche
 2. dicht unter der Oberfläche
 3. von der Mitte
 4. vom Grunde des Aufgusses.
- Stellen Sie davon Frischpräparate her und betrachten Sie diese unter dem Mikroskop! Als besonders geeignet erweist sich die Beobachtung der Mikroorganismen im Dunkelfeld (S. 29).
- Fertigen Sie von den nach einer bestimmten Zeit häufig auftretenden Formen Skizzen an!

Auswertung:

Versuchen Sie, die beobachteten Organismen durch Vergleich mit den auf den Seiten 47 und 77 abgebildeten und in dem Buch „Mikroskopie“ [Schlüter 1972] vorgestellten Formen in größere systematische Gruppen einzuordnen!

Als einige typische Vertreter können auftreten: *Heubazillus* (*Bacillus subtilis*), *Euglena*, Amöben, Pantoffeltierchen, *Stentor*, *Vorticella*.

Stellen Sie die zeitliche Reihenfolge des Auftretens der verschiedenen Organismengruppen fest!

4.4.2. Knöllchenbakterien

Einige Mikroorganismenarten können Luftstickstoff binden. Dazu gehören neben frei im Boden vorkommenden Arten auch die mit Wurzeln von Schmetterlingsblütengewächsen in Symbiose lebenden Knöllchenbakterien (Gattung *Rhizobium*).

- Isolieren Sie Bakterien aus den Wurzelknöllchen von Erbsen- oder Bohnenpflanzen nach der Anleitung zu Experiment 29!



Experiment 29: Isolierung von Knöllchenbakterien

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 60 Min.

Auswertung: 15 Min.

Material:

Wurzeln von Erbsen- oder Bohnenpflanzen

Rasierklinge oder Skalpell

Pinzette

sterile Pinzette

steriler Objektträger

steriler Glasstab

Erlenmeyerkolben (100 ml) mit sterilem Wasser

3 Bechergläser (50 ml) mit 70%igem Äthanol

sterilisiertes Schrägagar-Röhrchen mit Nährboden nach STALDER
(Rezept / S. 155)

Durchführung:

Im Schulgarten gezogene Erbsen- oder Bohnenpflanzen werden sorgfältig ausgegraben. Es ist auch möglich, die benötigten Pflanzen im Blumentopf heranzuziehen (z. B. in der Zeit von Oktober bis Mai).

- Spülen Sie von den Wurzeln die anhaftende Erde unter fließendem Wasser ab!
An den Wurzeln werden in der Regel wenige Millimeter große Verdickungen sichtbar, die Wurzelknöllchen (/ Lehrbuch Biologie Klasse 9, S. 113). In diesen befinden sich die luftstickstoffbindenden Knöllchenbakterien (Rhizobien).
- Um die Bakterien zu isolieren, trennen Sie zunächst ein relativ großes Knöllchen mit Rasierklinge oder Skalpell von der Wurzel ab, fassen es mit einer Pinzette und tauchen es in 70%iges Äthanol!
Wiederholen Sie diesen Vorgang zweimal, um dadurch zahlreiche Keime an der Knöllchenoberfläche abzutöten!
- Bringen Sie das Knöllchen in keimarmen Atmosphäre mit einer sterilen Pinzette auf einen keimfreien Objektträger, und zerquetschen Sie es!
- Fügen Sie mit einem sterilen Glasstab einen Tropfen entkeimtes Wasser zu, und stellen Sie einen Brei her!
- Entnehmen Sie von diesem Brei mit einer ausgeglühten und abgekühlten Impföse etwas Material und verimpfen Sie es in ein Schrägagar-Röhrchen!
Das Kulturröhrchen wird beschriftet (Tag der Impfung) und bei Zimmertemperatur stehengelassen.

Auswertung

Prüfen Sie an den folgenden Tagen, ob auf der Nährbodenoberfläche ein schleimiger Bewuchs sichtbar wird. Ein solcher Bewuchs ist der Beweis für die gelungene Isolierung von Knöllchenbakterien.

4.4.3. Naßfäule an Kartoffelknollen

4.4.3.1. Erreger der Knollennaßfäule

Gelegentlich finden sich in den Kartoffelvorräten des Haushalts faulende Kartoffelknollen. Werden Sie nicht rechtzeitig entdeckt und entfernt, kann die Fäule auf andere Knollen übergehen. Ähnliche Erscheinungen können auch in Mieten oder großen Lagerhallen auftreten und erhebliche Verluste an Nahrungs- und Futterkartoffeln verursachen.

- Prüfen Sie eine bestimmte Menge (z. B. 5 kg) Kartoffeln auf das Vorhandensein von naßfaulen Kartoffelknollen! Ermitteln Sie gegebenenfalls Anzahl und Menge! Errechnen Sie den Anteil faulender Knollen in %! Schließen Sie auf mögliche Lagerverluste durch Knollennaßfäule!

Besonders häufig kommen naßfaule Knollen in niederschlagsreichen Jahren in den Lagerbeständen vor. Die als Knollennaßfäule bezeichnete Krankheit wird durch das Bakterium *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* hervorgerufen.

Auf den Kartoffelfeldern verursacht die gleiche Bakterienart die Schwarzbeinigkeit der Kartoffelpflanze.

- Untersuchen Sie, ob das Faulen der Kartoffelknollen auf den Erreger der Naßfäule zurückzuführen ist! Handeln Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 30!

▼ Experiment 30: Nachweis des Erregers der Naßfäule an Kartoffelknollen

Zeit:

Dauer des Experiments: 14 Tage

Ansatz: 45 Min.

Auswertung: 60 Min.

Material:

Je eine gesunde und je eine naßfaule Kartoffelknolle

Skalpelli

Spatel

Filterpapier

2 Einweckgläser

Reagenzglas

Objektträger

Deckgläser

Glasstab

steriles Leitungswasser

verd. Fuchsinphenollösung

Durchführung:

Ansatz

- Suchen Sie aus einem Winterlager (Keller oder Miete) eine gesunde und eine naßfaule Kartoffelknolle heraus, und spülen Sie diese unter der Wasserleitung ab!
- Schneiden Sie aus einer gesunden Knolle einen Kegel von etwa 2 cm Tiefe heraus und füllen Sie die entstandene Höhlung mit breiigem Material, das Sie der naßfaulen Knolle mittels eines Spatels entnommen haben (s. Abb. 104/1). Die naßfaule Knolle stellt auch das Ausgangsmaterial für Experiment 31 dar.
- Legen Sie die gesunde, präparierte Kartoffelknolle in ein mit feuchtem Filterpapier ausgekleidetes Einweckglas und verschließen Sie dieses mit dem Deckel!
- Sorgen Sie dafür, daß sich die Knolle über einen Zeitraum von 14 Tagen in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre befindet!

Beobachtung

- Entnehmen Sie nach dieser Zeit vom breiig fauligen Inhalt dieser Knolle etwas Material, geben Sie es in ein kleines Reagenzglas und suspendieren Sie es mit einigen Millimetern sterilem Leitungswasser.
- Bringen Sie vom trüben Überstand einen Tropfen auf einen Objektträger, streichen Sie die Flüssigkeit aus, und lassen Sie den Ausstrich trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat in der Flamme!
- Färben Sie es 1 bis 2 Min. mit verdünnter Fuchsinphenollösung!
- Spülen Sie danach die Farblösung ab, und betrachten Sie das Präparat unter dem Mikroskop! Verwenden Sie dazu ein Immersionsobjektiv!
- Achten Sie bei der Betrachtung des Präparates auf kleine ($0,6\text{ }\mu\text{m}$ bis $0,8\text{ }\mu\text{m}$ $\times$ $1,5\text{ }\mu\text{m}$ bis $2,5\text{ }\mu\text{m}$), einzeln und gelegentlich in Ketten vorkommende Stäbchen, die Erreger der Kartoffelnaßfäule sind! Außerdem treten weitere, nicht pathogene Mikroorganismen auf, die sich in der naßfaulen Kartoffelknolle angesiedelt haben und teilweise den fauligen Geruch hervorrufen.
Besonders eindrucksvoll ist die Lebendbeobachtung der Mikroflora der naßfaulen Kartoffelknolle im Dunkelfeld (s. S. 29).
- Führen Sie nach der mikroskopischen Betrachtung einen Längsschnitt durch die naßfaule Kartoffelknolle und spülen Sie mit einem scharfen Wasserstrahl das mazerierte Gewebe heraus!

Auswertung:

Schätzen Sie, wie groß der Anteil des zerstörten Gewebes ist und tragen Sie den Anteil des noch verbliebenen gesunden Gewebes in die Umrisskizze ein (Abb. 104/1).

infektiöses
Material



Informieren Sie sich in einem Landwirtschaftsbetrieb über die Höhe der Ernte- und Lagerverluste, die durch Naßfäule verursacht werden und darüber, durch welche Maßnahmen diese Verluste vermieden oder mindestens verringert werden können!

4.4.3.2. Ausbreitung der Knollennaßfäule in mit Keim-Stop behandelten Kartoffelvorräten

Als Vorratsschutzmittel wird bei der Einlagerung von Kartoffeln Keim-Stop zwischen die Knollen gestreut, um ihr vorzeitiges Auskeimen und dadurch entstehende Nährstoffverluste zu verhindern. Keim-Stop ist kein speziell gegen Krankheitserreger entwickeltes Präparat.

- Prüfen Sie, ob die Verwendung von Keim-Stop bei der Kartoffellagerung auch Einfluß auf die Ausbreitung von Naßfäule hat! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 31!

▼ Experiment 31: Prüfung des Einflusses von Keim-Stop auf die Ausbreitung von Naßfäule

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 45 Min.

Auswertung: 15 Min.

Material:

naßfaule Kartoffelknolle (✓ Experiment 30)

4 sterile Petrischalen

steriler Glasspatel

Haarlacksprüher

Fettstift oder Etiketten

Becherglas mit 10%iger wäßriger Keim-Stop-Aufschwemmung

4 sterilisierte Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I

Durchführung:

Ansatz

- Gießen Sie 4 Nähragarplatten!
- Bespateln Sie die Nährbodenoberfläche aller Platten mit Material, das Sie einer naßfaulen Kartoffelknolle entnommen haben (✓ Experiment 30)!
- Besprühen Sie 2 der bespatelten Platten mit einer 10%igen wäßrigen Aufschwemmung von Keim-Stop, so daß auf ihnen ein dünner Film entsteht!
- Beschriften Sie die Petrischalen!
- Bebrüten Sie alle 4 Platten bei 28 °C!

Beobachtung

- Prüfen Sie an den folgenden Tagen, auf welchen Platten ein Mikroorganismenbewuchs sichtbar wird!

Auswertung:

Formulieren Sie das Versuchsergebnis, und ziehen Sie Schlußfolgerungen bezüglich der Wirkung des Keim-Stops auf die Ausbreitung von Fäuleerregern in Kartoffellagern!

4.4.4. Echter Mehltau auf Eichenblättern

In den Sommermonaten fallen Eichenbäume und -büsche auf, deren Blätter bemehlte Überzüge zu tragen scheinen. Diese Erscheinung wird durch den Echten Mehltau verursacht, der bei Eichen durch einen Schlauchpilz hervorgerufen wird. Das Auftreten dieser in Europa weit verbreiteten Krankheit ist in starkem Maße von klimatischen Faktoren abhängig. Neben der Luftfeuchtigkeit ist die Temperatur für die Vermehrung des Pilzes von entscheidender Bedeutung. Unter günstigen Bedingungen werden junge Triebe und Blätter binnen weniger Wochen vom Pilzmyzel überzogen.

- *Beobachten Sie die Ausbreitung des Mehltaves auf Laubblättern nach der Anleitung zu Experiment 32!*

▼ Experiment 32: Beobachtung der Ausbreitung von Mehltau auf Eichenblättern

Zeit:

Dauer des Experiments: etwa 21 Tage

Auswertung: in Abständen von 3 bis 4 Tagen 30 Min.
— nach etwa 21 Tagen 150 Min.

Material:

Leukoplast

5 Projektionsfolien

Polylux-Stift

Thermohygrograph oder Thermometer und Hygrometer

Skalpell

Holundermark oder Polystyrol

Rasierklinge

Objekträger

Deckgläser

Millimeterpapier

Durchführung:

- Achten Sie Ende Juli/Anfang August auf Eichen, die auf ihren Blättern zunächst noch kleine, bemehlte Stellen, insbesondere auf der Blattoberseite aufweisen! Ihr Auftreten ist typisch für Mehltau-Befall.
- Markieren Sie 5 derartige Blätter, indem Sie am Blattstiel oder unmittelbar unter der Blattansatzstelle einen Leukoplaststreifen befestigen und auf ihm für das zu untersuchende Blatt mit Kugelschreiber eine Nummer vermerken!
- Um den prozentualen Anteil der vom Pilzmyzel befallenen Blattoberseite zu ermitteln, verwenden Sie für jedes nummerierte Blatt eine Projektionsfolie, die Sie

unmittelbar über die jeweilige Blattoberfläche halten, ohne sie zu berühren! Skizzieren Sie auf der Folie mit einem geeigneten Stift den Blattumriß, und tragen Sie in diesen die vom Mehltau befallenen Blattbezirke ein! Notieren Sie auf dem Rand der Projektionsfolie die Nummer des Blattes und das Aufnahmedatum!

- Wiederholen Sie diesen Vorgang in Abständen von 3 bis 4 Tagen, bis die Blattoberseite vom Pilzmyzel völlig überzogen ist!

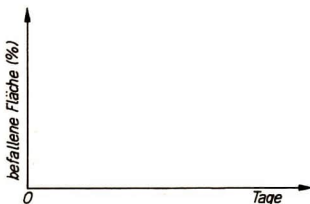
Messen Sie während des gesamten Beobachtungszeitraumes die Temperatur und die relative Luftfeuchtigkeit!

Das kann kontinuierlich mittels eines Thermohygrographen oder durch tägliches Ablesen von Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit um 7 Uhr, um 13 Uhr und 19 Uhr erfolgen.

- Schneiden Sie nach der letzten Aufnahme die Blätter ab!
- Fertigen Sie davon im Arbeitsraum Querschnitte an, indem Sie ein Blattstückchen in ein aufgespaltenes Stück Holundermark oder Polystyrol einklemmen und davon mit der Rasierklinge dünne Schnitte herstellen!
- Überführen Sie diese in einen Tropfen Wasser auf einem Objektträger, und legen Sie ein Deckglas auf!
- Achten Sie bei der mikroskopischen Beobachtung auf das die obere und untere Epidermis bedeckende Pilzmyzel, die davon sich abhebenden Trägerhyphen mit Sporen und die in die Epidermiszellen hineinragenden Haustorien!

Auswertung:

Werten Sie die Umrißskizzen auf den 5 Folien aus! Legen Sie diese dazu auf Millimeterpapier, und ermitteln Sie die Gesamtfläche der Blattoberseite und die zu den einzelnen Aufnahmen festgestellten mehltaubefallenen Flächen eines jeden Blattes! Berechnen Sie den prozentualen Anteil der vom Mehltau befallenen Blattbezirke, und tragen Sie die Werte in Abhängigkeit von der Zeit in das Koordinatensystem ein! Verbinden Sie die Punkte zu einer Kurve! Erläutern Sie den Kurvenverlauf unter Berücksichtigung von Feuchtigkeit und Temperatur!



4.4.5. Fliegen als Träger und Überträger von Keimen

Bei der Verbreitung von Mikroorganismen kommt den Insekten eine besondere Bedeutung zu, da viele von ihnen infolge massenhaften Auftretens und der Fähigkeit zum raschen Ortswechsel Keime in großer Menge und in kurzer Zeit übertragen. Auf diese Weise werden ungefährliche, möglicherweise aber auch krankheits-erregende Keime verbreitet. Gegen Insekten gerichtete Bekämpfungs- und hygienische Schutzmaßnahmen schränken daher auch die Übertragung von Mikroorganismen erheblich ein.

- Prüfen Sie, ob Fliegen Mikroorganismen verbreiten! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 33!

▼ Experiment 33: Nachweis der Verbreitung von Mikroorganismen durch Fliegen

○ Zeit:

Dauer des Experiments: 2 bzw. 4 Tage

Ansatz: 60 Min.; nach 2 Tagen 75 Min.

Auswertung: 15 Min.

Material:

2 Fliegen

intensiv gefärbte Bakterienreinkultur (↗ S. 38)

sterile Petrischale

2 Stative

2 Stativklammern geringer Spannweite

verschließbares Gefäß

Mux

2 sterilisierte Röhrchen mit Nähragar I oder Nährgelatine (Schrägnährboden)

sterilisiertes Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I oder Nährgelatine (Rezept ↗ S. 154)

Durchführung:

- Gießen Sie in eine sterile Petrischale Nährboden aus einem Hochschicht-Röhrchen, und lassen Sie den Nährboden erstarren!
- Fangen Sie eine Fliege, und schließen Sie diese in die Petrischale ein! Ein Teil der an der Fliege haftenden Mikroorganismen gelangt auf die Nährbodenoberfläche.
- Entlassen Sie nach 30 Min. die Fliege aus der Schale, indem Sie deren Deckel nur wenig anheben!
- Bebrüten Sie die Platte bei 28 °C im Brutschrank!
(Bei Verwendung von Nährgelatine Platte bei Zimmertemperatur aufbewahren.)
- Prüfen Sie nach 2 Tagen durch Betrachten der Nährbodenoberfläche, ob die Fliege ein Keimträger ist!

Um festzustellen, ob eine Fliege in der Lage ist, Mikroorganismen zu übertragen, führen Sie folgendes Experiment durch:

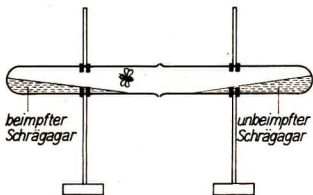


Abb. 109/1 Ansatz zum Nachweis der Keimübertragung durch eine Fliege

- Beimpfen Sie eines von zwei Schrägnährboden-Röhrchen mit einer von einer Fangplatte (Experiment 1) abgenommenen, intensiv gelb oder rot gefärbten Bakterienkultur, und bebrüten Sie diese, bis auf dem Impfstrich ein dichter Bewuchs zu erkennen ist!
- Fangen Sie eine Fliege, und sperren Sie diese in das Reagenzglas mit der beimpften Kultur ein!
- Befestigen Sie das Röhrchen mit dem unbeimpften Nährboden in Horizontallage mit einer Klemme am Stativ (Abb. 109/1), und entfernen Sie den Stopfen!
- Richten Sie das beimpfte Röhrchen mit dem Stopfen gegen die Öffnung des unbeimpften Röhrchens, entfernen Sie den Stopfen, und halten Sie sofort die Öffnungen der beiden Reagenzgläser dicht aneinander!
- Klemmen Sie in dieser Lage das zweite Röhrchen ebenfalls am Stativ fest!
- Beobachten Sie, ob die Fliege auf die unbeimpfte Nährbodenoberfläche des benachbarten Röhrchens wandert!
- Trennen Sie nach etwa 60 Min. die zwei Reagenzgläser, und entlassen Sie dabei die Fliege in ein verschließbares Gefäß, in dem sie danach mit Mux abgetötet wird! Setzen Sie Stopfen auf die Nährbodenröhrchen, und stellen Sie diese in einen Brutschrank bei 28 °C (Gelatineröhrchen bei Zimmertemperatur stehenlassen)!

Auswertung:

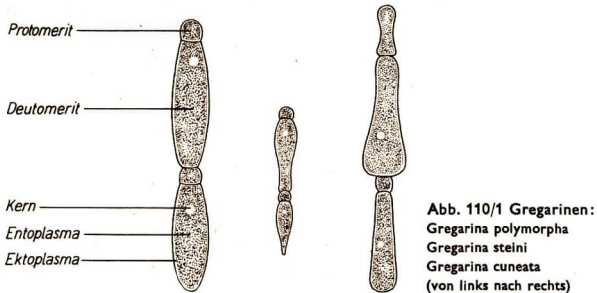
Prüfen Sie nach 2 Tagen durch Betrachten des Bakterienbewuchses in den Kulturröhrchen, ob die Fliege Keime von einem Ort auf einen anderen übertragen kann!

- Stellen Sie in einer Übersicht die Möglichkeiten zusammen, durch die Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände, die der Zubereitung und dem Verzehr von Nahrung dienen, gegen die Übertragung von Keimen durch Fliegen und andere Insekten geschützt werden können! Kontrollieren Sie sich selbst, ob Sie diese Möglichkeiten voll nutzen! Werden die erforderlichen Maßnahmen auch im Speiseraum Ihrer Schule oder in Lebensmittelgeschäften eingehalten?

4.4.6. Gregarinen in Mehlwürmern

Tierische Einzeller können auch in vielzelligen Organismen leben und als Symbionten oder Parasiten wirken. Häufig besiedeln sie das Verdauungssystem des Wirtes. Im Darm von Larven des Mehlkäfers (Mehlwürmer) treten als Parasiten große

Protozoen auf, die Gregarinen. Es können 3 Arten vorkommen: *Gregarina polymorpha*, *G. steini* und *G. cuneata* (Abb. 110/1).



- Weisen Sie mit Hilfe des Experiments 34 nach, daß in Mehlwürmern parasitische Protozoen leben!

▼ Experiment 34: Nachweis von Gregarinen in Mehlkäferlarven

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

Larven vom Mehlkäfer
 Präparierschere
 Pinzette
 Hohlschliffobjektträger
 Objektmeßplatte
 Okularmeßplatte
 Reagenzglas mit 0,9% iger Kochsalzlösung

Durchführung:

- Schneiden Sie mit einer Präparierschere die Körperenden der Mehlkäferlarve ab!
- Ziehen Sie mit einer Pinzette den Darm heraus, öffnen Sie ihn in Längsrichtung!
- Entnehmen Sie mit einer Impföse etwas Darminhalt, und übertragen Sie diesen in einen Tropfen physiologische Kochsalzlösung auf einen Hohlschliffobjektträger!
- Betrachten Sie das Präparat bei geringer mikroskopischer Vergrößerung, und suchen Sie nach Gregarinen!

Auswertung:

Bestimmen Sie anhand der Abbildung 110/1 die in der Mehlkäferlarve vorkommenden Arten der Gregarinen! Achten Sie auch auf die Art der Fortbewegung, und ermitteln Sie deren Geschwindigkeit (s. S. 31).

4.5. Mikroorganismen an oder in Lebensmitteln

Zahlreiche Lebensmittel entstehen unter Mitwirkung von Mikroorganismen. Im Verlaufe der Menschheitsgeschichte haben sich Gewerbe und Industriezweige herausgebildet, die mikrobiologische Prozesse für die Produktion oder Verarbeitung von Lebensmitteln als Grundlage haben. Von alters her werden Hefen zur Herstellung von Brot, Bier und Wein verwendet; in den Molkereien sind Milchsäurebakterien und bestimmte Schimmelpilze von besonderer Bedeutung. Bei der Herstellung von Backwaren wird dem Teig ein intensiv Kohlendioxid bildender Stamm des Hefepilzes *Saccharomyces cerevisiae* in Form von Preßhefe zugesetzt. Durch den Hefepilz werden die im Teig vorhandenen Kohlenhydrate zu Kohlendioxid und Äthanol vergoren. Das Kohlendioxid lockert den Teig. Durch die Hitzeeinwirkung während des Backvorganges werden die Hefezellen abgetötet, so daß die Kohlendioxidbildung unterbrochen wird. Das während der alkoholischen Gärung gebildete Äthanol verflüchtigt sich.

Der mikrobielle Prozeß der alkoholischen Gärung ist auch die Voraussetzung für die Herstellung von alkoholischen Getränken aus Getreideprodukten (Malz), Fruchtsäften und Milch. Die an bzw. in den Ausgangsprodukten vorhandenen Mikroorganismen genügen an sich, um die alkoholische Gärung ablaufen zu lassen. In der Regel werden jedoch zur besseren Steuerung des Prozesses bestimmte, sehr leistungsfähige Stämme zugesetzt. Bei der Produktion der meist gebrauten Biere wird *Saccharomyces carlsbergensis* verwendet. Bei der Weinherstellung werden dem gekelterten Fruchtsaft verschiedene Hefen zugefügt. Soll aus Milch Kefir gewonnen werden, so setzt man dem Ausgangsprodukt bestimmte Milchsäurebakterien und verschiedene Milchsäurehefen zu. Zur Erzeugung und Konservierung von Lebensmitteln, wie Sauerkraut und sauren Gurken, wird die während der Gärung gebildete Milchsäure ausgenutzt. Diese Milchsäuregärung wird durch Milchsäurebakterien verursacht.

● Lesen Sie in „*Mikrobiologisches Praktikum*“ [Schröder 1980] die Seiten 107 bis 116 sowie 122 und 123!

Mikroorganismen können jedoch auch den Verderb von Nahrungsmitteln herbeiführen. Verschimmeltertes Brot, fehlerhafter Käse, verdorbene Fleisch- und Fischprodukte sind allgemein bekannt. Vor dem Verzehr solcher verdorbener Lebensmittel muß eindringlich gewarnt werden, da bestimmte Mikroorganismen gefährliche Gifte (Toxine) bilden können, die zu schweren Lebensmittelvergiftungen führen können.

4.5.1. Mikroorganismen im Käse

Das Ausgangsprodukt für die Herstellung von Käse ist ein Gemisch aus Eiweißstoffen, Fett und anderen Bestandteilen, das durch mikrobielle Säuerung von Milch und bei bestimmten Käsesorten durch Labzusatz gewonnen wird. Die im Handel angebotenen Käsesorten lassen sich in Weich- und Hartkäse einteilen. Sie unterscheiden sich in ihrer Konsistenz und anderen Eigenschaften, die durch den Grad der Käsereifung bzw. die sie verursachenden Mikroorganismen bedingt werden.

- Prüfen Sie; ob im Käse Mikroorganismen enthalten sind! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 35!

▼ Experiment 35: Nachweis von Mikroorganismen in Käse

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

1 Stück Hartkäse
Skalpell
Objektträger
Chloroform [!]
Methylenblaulösung

Durchführung:

- Schneiden Sie aus einem Stück Hartkäse einen Würfel von etwa 2 cm Kantenlänge heraus, und halbieren Sie diesen mit einem scharfen Skalpell so, daß zwei glatte Schnittflächen entstehen!
- Drücken Sie diese auf einen Objektträger ab!
- Fixieren Sie das Klatschpräparat in der Bunsenflamme!
- Entfetten Sie es, indem Sie 1 Min. Chloroform darauf einwirken lassen! [!]
- Färben Sie das Präparat 4 Min. mit Methylenblaulösung, spülen Sie den überschüssigen Farbstoff mit Wasser ab, und lassen Sie es trocknen!

Auswertung:

Betrachten Sie das Abdruckpräparat unter dem Mikroskop mit Hilfe des Immersionsobjektivs!

Suchen Sie nach lokalen Mikroorganismen-Ansammlungen!

Durchmustern Sie dabei eine zusammenhängende Fläche, und tragen Sie die in den einzelnen Sehfeldern liegenden Anhäufungen von Mikroorganismen punktförmig in ein Schema ein! Zeichnen Sie dazu 8 Kreise, die jeweils einen Durchmesser von 3 cm haben! Sie erhalten dadurch einen Überblick über die Verteilung der Mikroorganismen auf der Schnittfläche des Käses.

4.5.2. Mikroorganismen von Kefirkörnern

4.5.2.1. Kefirkörner bildende Mikroorganismen

Kefir ist ein gesundes, beliebtes Sauermilchgetränk, das aus Frischmilch durch Zusatz von Kefirkörnern hergestellt werden kann. Kefirkörner sind blumenkohlartige Knöllchen, die von verschiedenen Bakterien und Pilzen gebildet werden: dem Kefirbazillus *Bacillus caucasicus*, Laktobazillen, Milchsäurestreptokokken und einigen Hefearten. Der Kefirbazillus umhüllt mit seinen langen, gewundenen Zellketten die übrigen Mikroorganismen und trägt damit wesentlich zur Stabilität der Kefirkörner bei.

- Weisen Sie mit Hilfe des Experiments 36 das Vorkommen von Mikroorganismen in Kefirkörnern nach!

▼ Experiment 36: Nachweis von Mikroorganismen in Kefirkörnern

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

Kefirkörner
Rasierklinge
Objektträger
Methylenblaulösung

Durchführung:

- Spülen Sie ein Kefirknöllchen unter einem Wasserstrahl ab! Schneiden Sie mit einer Rasierklinge ein kleines Stück von dem Knöllchen ab!
- Bringen Sie dieses zwischen 2 Objektträger, und zerquetschen Sie es! Beim Trennen der beiden Objektträger soll auf jedem ein relativ dünner Belag sichtbar sein.
- Färben Sie die Präparate etwa 4 Min. mit Methylenblaulösung!
- Spülen Sie danach den überschüssigen Farbstoff mit Wasser ab!
- Betrachten Sie die getrockneten Präparate mit dem Immersionsobjektiv!

Auswertung:

Vergleichen Sie das von Ihnen eingestellte mikroskopische Bild mit der Zeichnung (Abb. 113/1), und versuchen Sie, die Mikroorganismen zu identifizieren!

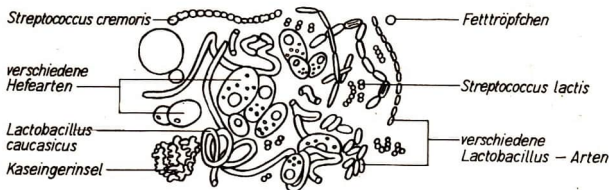


Abb. 113/1 Mikroorganismen von Kefirkörnern

4.5.2.2. Wachstum von Kefirkörnern

Unter günstigen Umweltbedingungen vermehren sich die Kefirorganismen rasch. Die Temperatur ist dabei ein wesentlicher Faktor.

- Beobachten Sie das Wachstum der Kefirkörner! Führen Sie dazu das Experiment 37 durch!



Experiment 37: Ermittlung des Wachstums der Kefirkörner

Zeit:

Dauer des Experiments: 14 Tage

Ansatz: 30 Min.; jeden 2. Tag Wechseln der Milch:
10 Min.

Auswertung: 45 Min.

Material:

Kefirkörner

alle 2 Tage 100 ml Frischmilch

Pinzette

Filterpapier

2 Milchflaschen (250 ml)

2 Druckverschlüsse für Milchflaschen

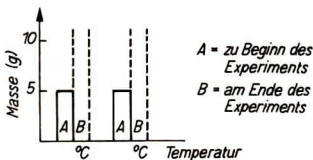
Durchführung:

Ansatz

- Entnehmen Sie aus einer Kultur von Kefirkörnern ein größeres Stück, und lassen Sie es auf Filterpapier kurze Zeit abtropfen!
- Geben Sie davon je 5 g in 2 gereinigte Milchflaschen, und übergießen Sie die Kefirkörner mit je 50 ml Frischmilch! Verschließen Sie die Flaschen mit käuflichen Verschlüssen!
- Stellen Sie die eine Flasche bei Zimmertemperatur (oder darunter) auf, und setzen Sie die andere bei 37 °C in den Brutschrank!
- Wechseln Sie in 2tägigem Abstand die Milch!

Beobachtung

- Stellen Sie nach 14 Tagen die Masse der Kefirkörner bei beiden Varianten fest, und berechnen Sie deren Zuwachs! Geben Sie das Ergebnis in Gramm an!



Auswertung

Tragen Sie die gefundenen Werte in die graphische Darstellung ein!

Schließen Sie aus dem Ergebnis auf die Vermehrungsintensität der Kefirorganismen!

4.5.3. Milchsäurebakterien im Joghurt

Durch Einwirkung der Bakterien *Lactobacillus bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus* wird aus Trink- und Frischmilch das Sauermilchprodukt Joghurt gewonnen. Joghurt ist ein eiweißreiches, gesundes, leichtverdauliches Nahrungsmittel. Es ist leicht zu beschaffen und deshalb gut geeignet, um Milchsäurebakterien nachzuweisen.

- Weisen Sie Milchsäurebakterien im Joghurt nach! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 38!

▼ Experiment 38: Nachweis von Milchsäurebakterien im Joghurt

Zeit:

Dauer des Experiments: 45 Min.

Material:

Joghurt (kein Frucht-Joghurt)

Objektträger

Deckgläser

Glasstab

Methylenblaulösung

Durchführung:

- Streichen Sie auf einem Objektträger etwas Joghurt sehr dünn aus!
- Lassen Sie den Ausstrich antrocknen!
- Färben Sie diesen mindestens 3 Min. mit Methylenblaulösung, und spülen Sie anschließend den überschüssigen Farbstoff mit Wasser ab!
- Beobachten Sie das Präparat nach Auflegen eines Deckglases bei 1000facher Vergrößerung unter dem Mikroskop!

Auswertung:

Zeichnen Sie die im Joghurt vorkommenden Bakterienformen, und prägen Sie sich besonders die für den Joghurt typischen Milchsäurebakterien (*Lactobacillus bulgaricus*) ein (Abb. 115/1)!

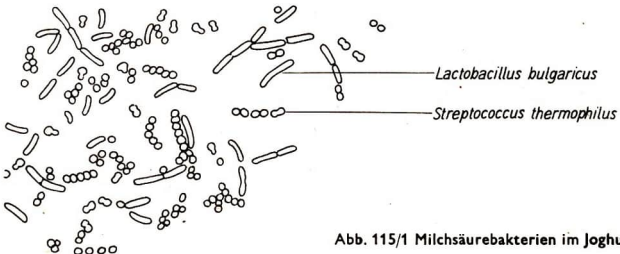


Abb. 115/1 Milchsäurebakterien im Joghurt

4.5.4. Schimmelpilze

- **Schimmelpilze kommen bei geeigneter Temperatur und ausreichender Feuchtigkeit auf organischen Stoffen vor. Sie befallen Nahrungs- und Genußmittel und können im Haushalt und in der Volkswirtschaft erheblichen Schaden verursachen.**

Vermehren sich Schimmelpilze auf Brot oder anderen Backwaren, auf nicht richtig konservierten Früchten oder Obstsaften, auf Milch oder Milchprodukten, werden Aussehen und Qualität der Nahrungsmittel wesentlich beeinträchtigt. Darüber hinaus können sich in den Lebensmitteln auch giftige Stoffwechselprodukte (Toxine) anreichern. Werden verschimmelte Nahrungsmittel verzehrt, kann das zu Vergiftungserscheinungen führen, es sollte deshalb vermieden werden. Einige Schimmelpilzarten können jedoch auch für den Menschen nützliche Wirkung haben. Beispielsweise werden sogenannte Edelschimmel zur Bereitung spezieller Käsesorten (z. B. Roquefort) genutzt.

Schimmelpilze sind relativ leicht zu kultivieren.

Beim Verschimmeln von Lebensmitteln entwickelt sich eine Mikroflora, die Pilze unterschiedlicher systematischer Zugehörigkeit umfaßt und für das jeweilige Nahrungsmittel charakteristisch ist. So spricht man beispielsweise von einer Mikroflora des Brotes.

- *Beobachten Sie die Entwicklung von Schimmelpilzen auf Brot! Führen Sie dazu das Experiment 39 durch!*

▼ **Experiment 39: Beobachtung der Entwicklung von Schimmelpilzen auf Brot**

○ **Zeit:**

Dauer des Experiments: 5 Tage

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: 120 Min.

Material:

Brot

2 Glasschalen

Prenaband

Objektträger

Glasstab

Erlenmeyerkolben (50 ml) mit einem Gemisch aus 96%igem Äthanol und Wasser (1 : 1)

Durchführung:

Ansatz

- Legen Sie in 2 Glasschalen je ein Stück Brot, und geben Sie in die eine einige Milliliter Wasser!
- Stellen Sie den Versuchsansatz an einem warmen Ort auf!

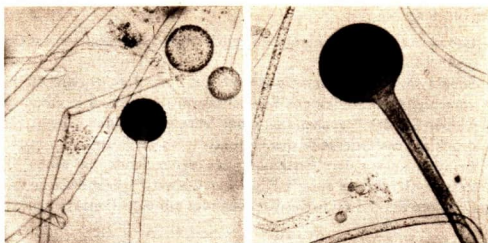


Abb. 117/1 Schimmelpilze des Brotes

von links oben nach rechts unten:

Mucor pusillus

Rhizopus nigricans

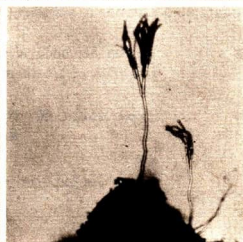
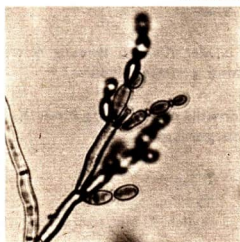
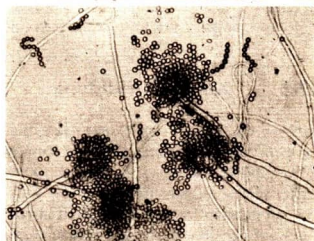
Neurospora sitophila

Alternaria alternata

Aspergillus flavus

Cladosporium herbarum

Penicillium expansum



Beobachtung

- Beobachten Sie, unter welchen Feuchtigkeitsverhältnissen das Brot zu verschimmeln beginnt!
- Sobald sich ein Schimmelpilzrasen auf dem Brot entwickelt hat, machen Sie von verschiedenen Stellen des Bewuchses mit Prenaband je einen Abdruck!
- Kleben Sie das Prenaband an einer Seite unter einen Objektträger, so daß der Abdruck auf die Oberseite des Objektträgers gerichtet ist!
- Bringen Sie vor dem Festkleben des freien Bandendes einen Tropfen des Äthanol-Wasser-Gemisches auf die Mitte der Objektträgeroberfläche (Abb. 118/1)!
- Drücken Sie das Ende des Klebebandes auf dem Objektträger fest!

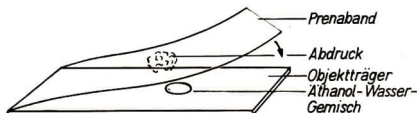


Abb. 118/1
Aufbringen des Abdruckes
auf den Objektträger

Auswertung:

Betrachten Sie die so hergestellten Präparate bei etwa 100facher Vergrößerung unter dem Mikroskop, und versuchen Sie, anhand der Abbildungen 117/1 die auf dem Brot gewachsenen Schimmelpilze den entsprechenden Gattungen zuzuordnen!

Hinweis: Mitunter rufen einige Schimmelpilzarten auch Erkrankungen der Atmungsorgane hervor, deshalb sind insbesondere beim Umgang mit diesen Mikroorganismen Luftbewegungen stark einzuschränken (nicht unnötig im Raum umherlaufen!). [!]

4.5.5. Kahlhautbildung

Auf der Oberfläche von Gurkenlake, Bier oder Wein in offenstehenden bzw. nicht luftdicht abgeschlossenen Gefäßen kann sich in kurzer Zeit eine geschlossene Decke bilden, die als Kahlhaut bezeichnet wird und aus Bakterien und/oder Hefezellen besteht. Solche Kahlhäute entstehen, weil sich sauerstoffbedürftige Mikroorganismen auf den nährstoffreichen Flüssigkeiten rasch vermehren.

Auch auf der Oberfläche von Heuauflüssen wird in der Regel wenige Tage nach dem Ansatz eine Kahlhaut sichtbar (S. 52).

- Weisen Sie nach, daß an der Kahlhautbildung Mikroorganismen beteiligt sind! Führen Sie dazu das Experiment 40 durch!

▼ Experiment 40: Nachweis der Bildung einer Kahlhaut durch Mikroorganismen

Zeit:

Dauer des Experiments: 7 Tage

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: täglich 30 Min.; am 7. Tag 60 Min.

Material:

Bier
 weites Becherglas (400 ml)
 Stück glasklare Folie
 Universal-Fettstift
 Millimeterpapier
 Objektträger
 Deckgläser
 verd. Fuchsinphenollösung

Durchführung:**Ansatz**

- Gießen Sie Bier in ein Becherglas, und lassen Sie es an einem ruhigen Ort einige Tage stehen!

Beobachtung

- Kontrollieren Sie täglich, ob auf der Oberfläche des Bieres Hautinseln auftreten und wann die Decke geschlossen ist!
 Gelegentlich bildet sich von Anfang an ein dünner Mikroorganismenfilm, der gleichmäßig die gesamte Oberfläche überzieht und in der darauffolgenden Zeit an Dicke zunimmt.
 Wenn Hautinseln entstehen, verbinden Sie die tägliche Kontrolle mit einer Ermittlung der in Abhängigkeit von der Zeit sich vergrößernden Fläche des Mikroorganismenbewuchses!
- Spannen Sie dazu glasklare Folie über das Becherglas, und zeichnen Sie mit einem Universal-Fettstift die Hautinseln im Umriß nach!

Auswertung 1:

Legen Sie die Folie auf Millimeterpapier, und ermitteln Sie so die Größe der bewachsenen Fläche, und vergleichen Sie diese prozentual mit der Gesamtfläche!
 Legen Sie nach folgendem Muster eine Tabelle an, und tragen Sie die Werte ein!

Kahmhautbildung

Beobachtungsfläche	Fläche in mm ²	Fläche in %
Oberfläche des Bieres		100
bewachsene Fläche		
1 Tag nach dem Ansatz		
2 Tage nach dem Ansatz		
3 Tage nach dem Ansatz		
4 Tage nach dem Ansatz		
5 Tage nach dem Ansatz		

Nachdem sich auf der Oberfläche des Bieres eine Kahmhaut gebildet hat, beobachten Sie diese mikroskopisch:

- Führen Sie einen Objektträger dicht unter die Kahlhaut, und heben Sie damit ein Stück von ihr ab!
- Legen Sie ein Deckglas auf, und betrachten Sie die zusammenhängende Mikroorganismenschicht unter dem Mikroskop!
- Streichen Sie auf einem zweiten Objektträger mit der Impföse etwas Kahlhautmaterial aus, und lassen Sie es trocknen!
- Fixieren Sie das Präparat in der Flamme!
- Färben Sie es 1 Min. mit verd. Fuchsinphenollösung, spülen Sie den überschüssigen Farbstoff mit Wasser ab, und lassen Sie das Präparat trocknen!

Auswertung 2:

Mikroskopieren Sie das Präparat unter Verwendung des Immersionsobjektivs!

Im Ausstrich treten neben Hefezellen bevorzugt Essigsäurebakterien (Gattung *Acetobacter*) auf. Sie sind stäbchenförmig, im allgemeinen beweglich und verursachen die Umwandlung von Alkohol in Äthansäure (s. S. 132).

5. Stoffwechselvorgänge bei Mikroorganismen

Mikroorganismen zeigen im Prinzip die gleichen Stoffwechselvorgänge wie die höherentwickelten Organismen. Infolge ihrer relativ einfachen Haltung im Labor, ihrer raschen Vermehrung und ihrer vielfältigen physiologischen Leistungen (s. S. 11) sind Mikroorganismen zur Beobachtung von Stoffwechselvorgängen besonders gut geeignet.

5.1. Sauerstoffbedürftigkeit von Mikroorganismen

- Der Sauerstoffbedarf der Mikroorganismen ist unterschiedlich. Die meisten Mikroorganismen benötigen, um ihre Lebensvorgänge aufrechtzuerhalten, unbedingt Sauerstoff; man bezeichnet sie als *obligate Aerobier*.

Relativ wenige Mikroorganismen vermehren sich nur unter Sauerstoffabschluß; es sind *obligate Anaerobier*.

Außerdem gibt es Arten, die sowohl bei Sauerstoffanwesenheit als auch bei Sauerstoffabwesenheit existieren können.

Fakultative Aerobier gedeihen am besten unter anaeroben Bedingungen, können aber auch in Gegenwart von Sauerstoff leben. Fakultative Anaerobier hingegen bevorzugen Sauerstoff, werden aber bei Sauerstoffmangel in ihren physiologischen Leistungen nicht wesentlich beeinträchtigt.

5.1.1. Vermehrung von Bakterien unter aeroben und anaeroben Bedingungen

Die Kultur von aeroben Bakterien bereitet im allgemeinen keine Schwierigkeiten, da Sauerstoff mit 21 Volumenprozent in der Luft enthalten ist und damit in ausreichender Menge zur Verfügung steht. Komplizierter ist jedoch die Kultivierung anaerober Bakterien, da zum Entzug von Sauerstoff besondere Vorkehrungen getroffen werden müssen. Der Sauerstoff kann durch sauerstoffzehrende Mikroorganismen, durch Evakuieren oder durch chemische Bindung aus dem Kulturgefäß entfernt werden.

- Beobachten Sie die Entwicklung von Bakterienkulturen in Abhängigkeit vom Angebot an Luftsauerstoff! Arbeiten Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 41!

Achtung! Die Durchführung des Experiments 41 ist nur möglich, wenn durch einen Betrieb oder eine wissenschaftliche Einrichtung mit entsprechender Arbeitsrichtung (z. B. Patenbetrieb, Vertragspartner der AG Mikrobiologie) die erforderlichen Chemikalien zur Verfügung gestellt werden können.

▼ Experiment 41: Kultivierung von aeroben und anaeroben Bakterien



Zeit:

Dauer des Experiments: 11 bzw. 13 Tage

Ansatz: am 1. Tag 15 Min.; etwa am 8. Tag 60 Min.

Auswertung: am 11. bzw. 13. Tag 60 Min.

Material:

Kartoffelknolle

Komposterde

Skalpelli

Becherglas (600 ml)

2 Glasplatten

2 sterile Petrischalen

2 kleine Rundfilter

Spatel

Objektträger

Plastilina

Pyrogallol

Kaliumkarbonat (K_2CO_3)

Kieselgur

Malachitgrünlösung (7,6% ig)

Safraninlösung (0,25% ig)

2 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Nähragar I

Durchführung:

Ansatz

Treffen Sie zur Gewinnung von anaeroben Bakterien folgende Vorbereitungen:

- Ritzen Sie mit einem Skalpell eine Kartoffelknolle etwa 0,5 cm tief ein, und reiben Sie in die Schnittstelle etwas Komposterde!
- Bringen Sie die so präparierte Knolle in ein Becherglas, und lassen Sie an der Glaswand vorsichtig Wasser zulaufen, bis die Kartoffelknolle bedeckt ist!
- Legen Sie auf das Becherglas eine Glasplatte!
- Stellen Sie den Versuchsansatz in einen Brutschrank bei 28 °C!

Beobachtung

Wenn sich nach 8 bis 10 Tagen in der Kartoffelknolle eine Bakterien-Rohkultur entwickelt hat, prüfen Sie deren Organismen auf Sauerstoffbedürftigkeit:

- Verflüssigen Sie den Fleischnährboden von zwei Hochschichtröhrchen im Wasserbad!
- Gießen Sie damit zwei Platten, und lassen Sie den Nährboden erstarren!
- Entnehmen Sie mit der Impföse etwas bakterienhaltiges Material aus der Kartoffelknolle, und streichen Sie dieses auf beiden Platten aus!
- Eine Platte dient der Kultur von Bakterien unter aeroben Bedingungen, die andere der Kultur unter anaeroben Bedingungen.

Für die Anaeroben-Kultur wird das **Pyrogallol-Verfahren** verwendet:

- Legen Sie zwei kleine Rundfilter übereinander, und mischen Sie in der Mitte mit einem Spatel 0,3 g Pyrogallol, 0,7 g K_2CO_3 und 1,5 g Kieselgur!
- Falten Sie das doppelte Rundfilter zusammen, so daß eine halbe Kreisfläche entsteht!
- Bringen Sie diese halbkreisförmige Tasche auf eine Glasplatte!
- Setzen Sie das Unterteil der Petrischale, das den beimpften Nährboden enthält, umgekehrt auf die gefaltete Tasche, so daß der halbkreisförmige Rand des Filterpapiers damit festgeklemt wird!
- Dichten Sie den Spalt zwischen Petrischale und Glasplatte mit einem dicken Plastilinablag sorgfältig ab!
- Stellen Sie die Petrischalen mit der Anaeroben-Kultur und mit der Aeroben-Kultur in den Brutschrank (Temperatur 28 °C)!
- Prüfen Sie nach 3 Tagen, ob die Nährbodenoberflächen bewachsen sind!
- Stellen Sie von den Mikroorganismen der Anaeroben-Kultur und zum Vergleich von denen der Aeroben-Kultur je ein Präparat her, das Sie mit Malachitgrün und Safranin färben (Experiment 2)!

Auswertung:

Suchen Sie mikroskopisch insbesondere nach stäbchenförmigen Bakterien, die sich u. a. durch das Auftreten von trommelschlägelähnlichen oder zitronenförmig aufgeblähten Zellen und von Sporen auszeichnen! Es handelt sich dabei um Vertreter der Gattung *Clostridium*, die typische Anaerobier sind.

5.2. Kohlenhydratstoffwechsel

Die Synthese von Kohlenhydraten erfolgt nur bei einem Teil der Mikroorganismen aus Kohlendioxid und Wasserstoff (Kohlenstoffautotrophie). Insbesondere Bakterien, Pilze und Protozoen nehmen organische Kohlenstoffverbindungen aus ihrer Umgebung auf (Kohlenstoffheterotrophie).

Ein Teil der kohlenstoffautotrophen Mikroorganismen führt Photosynthese durch, jenen für die grüne Pflanze typischen Vorgang der Kohlenstoffassimilation. Er kommt nur bei den Mikroorganismen vor, die photosynthetisch aktive Pigmente besitzen (z. B. Algen, Blaualgen und wenige Bakterien). Im Prozeß der Photosynthese wird Lichtenergie gebunden und zum Aufbau von Glukose verwendet, deren Kohlenstoffgerüst den Grundbaustein für viele andere organische Verbindungen in der Mikroorganismenzelle darstellt.

Wiederholen Sie Ihr Wissen über die Vorgänge der Photosynthese! Lesen Sie dazu im Lehrbuch Biologie Klasse 9, Seite 46 bis 55 sowie in „Biologie in Übersichten“, Seite 187 bis 192 nach!

Die Energiebereitstellung für die Biosynthese von Kohlenhydraten kann auch durch Oxydationsreaktionen an bestimmten chemischen Substanzen (z. B. Schwefelwasserstoff und Ammoniak) erfolgen. Diesen Vorgang bezeichnet man als Chemosynthese.

Die in einer Zelle synthetisierten oder ihr als Nährstoffe angebotenen Kohlenhydrate können zur Energiegewinnung abgebaut werden (Dissimilation). Die Dissimilation kann unter Verbrauch von Sauerstoff ablaufen. Dieser Prozeß wird als Atmung bezeichnet. Eine andere Form der Dissimilation, die Gärung, verläuft ohne Sauerstoffzutritt.

Je nach dem gebildeten Endprodukt unterscheidet man beispielsweise alkoholische Gärung, Milchsäure- und Buttersäuregärung. Bei Gärungen werden die Kohlenhydrate nicht bis zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut. Die entstehenden Gärungsprodukte (z. B. Alkohol) enthalten noch relativ viel Energie. Die Energiefreisetzung bei der Gärung ist also geringer als bei der Atmung.

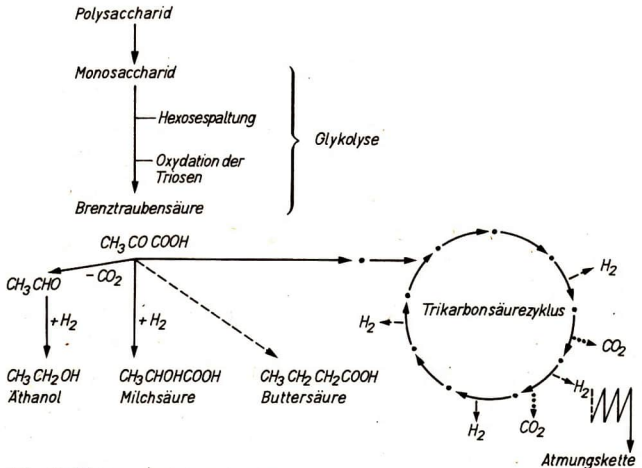


Abb. 124/1 Abbau von Polysacchariden

● Informieren Sie sich im Lehrbuch Biologie Klasse 9, Seite 61 bis 62, oder in „Biologie in Übersichten“, Seite 195 und 196 genauer über die Vorgänge bei der Dissimilation!

Die in der Regel als Gärung bezeichnete Essigsäurebildung aus Äthanol verläuft unter aeroben Bedingungen und ist daher strenggenommen kein Gärungsprozeß.

Gärungen und Atmung stimmen in den ersten Schritten der Kohlenhydratumschaltung völlig überein. Der Abbau der Monosaccharide bis zur Brenztraubensäure wird als Glykolyse bezeichnet. Die dabei freiwerdende Energie wird in Form des energiereichen Adenosintriphosphates (ATP) gebunden. Die Glykolyse wird wie alle aufbauenden und abbauenden Prozesse durch eine große Anzahl von Enzymen katalysiert. Die Brenztraubensäure stellt das Ausgangsprodukt für eine Reihe von weiterführenden Reaktionen dar (s. Abb. 124/1).

5.2.1. Kohlendioxidbildung bei der alkoholischen Gärung

Die alkoholische Gärung wird bis auf wenige Ausnahmen durch Hefepilze verursacht. Ein dabei entstehendes Endprodukt ist das Kohlendioxid. Diese Gasbildung wird seit Jahrhunderten auch zur Teiglockerung praktisch genutzt. Preßhefe (Bäckerhefe) kann deshalb als Treibmittel für Kuchen und Weißbrot verwendet werden!

● Weisen Sie Kohlendioxidbildung bei der Vergärung von Kohlenhydraten nach! Führen Sie dazu das Experiment 42 durch!

▼ Experiment 42: Nachweis der Kohlendioxidbildung bei der alkoholischen Gärung

Zeit:

Dauer des Experiments: 90 Min.

Material:

Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)

2 Schalen

Löffel

Becherglas (200 ml)

Glasstab

Meßzylinder (250 ml)

2 Meßzylinder (1 l)

Fettstift

Glukose

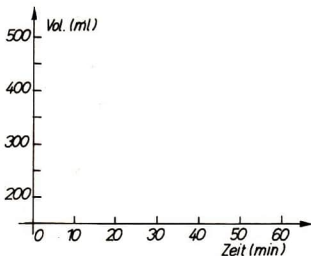
Kochsalz

Mehl

Durchführung:

- Mischen Sie in einer Schale 5 g Glukose, 2 g Kochsalz und 100 g Mehl!
- Fügen Sie 7 g in 120 ml Wasser eingerührte Bäckerhefe zu, und stellen Sie aus den genannten Zutaten einen Teig her!

- Bereiten Sie einen zweiten Teig ohne Zusatz von Hefe!
- Gießen Sie die Teigproben in je einen 1-l-Meßzylinder, kennzeichnen Sie die Gefäße!
- Warten Sie einige Minuten ab, bis die Oberfläche des Teiges in den Meßzylindern eben ist, und notieren Sie Teigvolumen und Uhrzeit!
- Stellen Sie die beiden Meßzylinder an einem warmen Ort (etwa 28 °C) auf!
- Lesen Sie im Verlaufe einer Stunde alle 10 Min. die Volumina der Teigproben ab, und tragen Sie die Werte in das Koordinatensystem ein!



Auswertung:

Verbinden Sie die Punkte zu einer Kurve! Interpretieren Sie den Kurvenverlauf beider Varianten!

5.2.2. Vergärbarkeit verschiedener Kohlenhydrate

Hefepilze vergären außer Monosacchariden auch andere Zucker. Sie sind mit einem Komplex von Enzymen ausgestattet, dadurch ist die Vergärung verschiedener Zucker möglich. Es gibt auch Zucker, deren Vergärung von den vorhandenen Enzymen nicht bewirkt werden kann.

- Weisen Sie die Vergärbarkeit verschiedener Kohlenhydrate nach! Führen Sie dazu Experiment 43 durch!

▼ Experiment 43: Nachweis der Vergärbarkeit verschiedener Kohlenhydrate

Zeit:

Dauer des Experiments: 150 Min.

Material:

- Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)
- Meßzylinder (25 ml)
- 4 Bechergläser (50 ml)
- Glasstab
- 4 Gärkölbchen nach EINHORN

Watte
 Fettstift oder Etiketten
 Glukose
 Fruktose
 Saccharose
 Laktose

Durchführung:

- Stellen Sie je 20 ml einer 10% igen Lösung von Glukose, Fruktose, Saccharose und Laktose her!
- Fügen Sie jeder Zuckerlösung 2 g Bäckerhefe zu, und verteilen Sie diese gleichmäßig darin!
- Gießen Sie von jeder Suspension soviel in ein Gärkölbchen (Abb. 127/1), daß sich der Schenkel durch Kippen luftblasenfrei füllen läßt!
Die Flüssigkeit soll bis zum unteren Rand der Glaskugel reichen.
- Verschließen Sie die Öffnung jedes Gärkölbchens mit einem Wattebausch, und beschriften Sie die 4 Kölbchen!
- Stellen Sie die Gärkölbchen in den Brutschrank (Temperatur: 28 °C)!
- Lesen Sie das Volumen des gebildeten Kohlendioxids im Verlauf von 2 Std. alle 10 Min. an der Skala des Schenkels ab!

Auswertung:

Tragen Sie die gefundenen Werte unter Verwendung der angegebenen Zeichen in das Koordinatensystem ein (✓ Vorlage), und verbinden Sie die Punkte zu Kurven!
 Stellen Sie fest, ob und mit welcher Intensität die 4 Zucker vergoren werden!

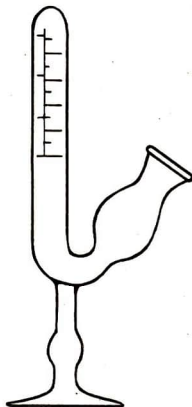
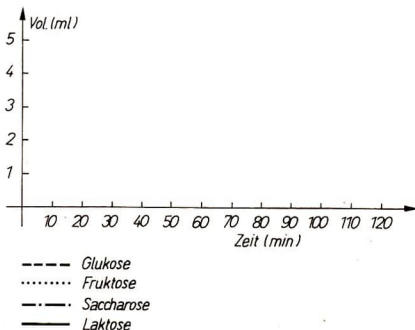


Abb. 127/1 Gärkölbchen nach EINHORN



- Wiederholen Sie das Experiment 43 mit verschiedenen zuckerhaltigen Flüssigkeiten (z. B. Fruchtsäfte)! Lassen Sie den Ansatz längere Zeit stehen! Beobachten Sie, welche Vorgänge sich abspielen! Schließen Sie daraus auf die Vergärbarkeit der verwendeten zuckerhaltigen Lösungen! Welche Schlußfolgerungen für die Aufbewahrung von Fruchtsäften und ähnlichen Produkten ziehen Sie daraus?

5.2.3. Bildung von Äthanol bei der Vergärung von Kohlenhydraten

- Bei der Vergärung von Kohlenhydraten durch Mikroorganismen wird außer Kohlendioxid (/ S. 125f.) auch Äthanol gebildet.

Für die industrielle Gewinnung von Äthanol, das vielseitig verwendet wird (z. B. als Lösungs- und Konservierungsmittel, in der Arzneimittelherstellung, als Genußmittel), werden Hochleistungstämmen (also Stämme mit hoher physiologischer Leistung) verschiedener *Saccharomyces*-Arten eingesetzt. Als Ausgangsstoff verwendet man in der Regel zuckerhaltige Säfte. Im Experiment läßt sich die alkoholische Gärung bei reinen Zuckerlösungen gut beobachten.

- Weisen Sie mit Hilfe des Experiments 44 nach, daß ein Produkt der Vergärung von Kohlenhydraten Alkohol (Äthanol) ist!

▼ Experiment 44: Nachweis der Entstehung von Alkohol bei der Vergärung von Kohlenhydraten

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage
 Ansatz: 30 Min.
 Auswertung: 90 Min.

Material:

Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*)
 Becherglas (1 l)
 Meßzylinder (1 l)
 Destillierkolben (1 l)
 3 große durchbohrte Gummistopfen für Destillierkolben
 kleiner Gummistopfen
 Gärschluß
 Korkring
 Siedesteinchen
 Thermometer (0 °C bis 100 °C)
 Kühler nach MOHR
 Erlenmeyerkolben (300 ml)
 Reagenzglas
 Saccharose
 Ammoniumsulfat

Kaliumdihydrogenphosphat
Bariumhydroxidlösung (5% ig)
Kaliumhydroxidlösung (10% ig) [!]
Jod-Kaliumjodid-Lösung zum Chitinnachweis

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie 500 ml einer 10% igen Saccharoselösung her!
- Füllen Sie damit einen 1-l-Destillierkolben zur Hälfte, und krümeln Sie ein walnuß-großes Stück Hefe hinein!
- Setzen Sie der Saccharoselösung außerdem 100 mg Ammoniumsulfat und 100 mg Kaliumdihydrogenphosphat zu!
- Schwenken Sie den Kolben, damit sich die Hefe in der Zuckerlösung gleichmäßig verteilt und sich die Substanzen gut lösen!
- Verschließen Sie die obere Öffnung des Destillierkolbens mit einem passenden Gummistopfen, in dem ein Gärverschuß steckt!
- Die seitliche Öffnung wird mit einem kleinen Gummistopfen abgedichtet.
- Füllen Sie in den Gärverschuß Bariumhydroxidlösung zum Auffangen des sich bildenden Kohlendioxids!
- Stellen Sie den Kolben auf einen Korkring, und bringen Sie den Gäransatz in einen Brutschrank bei 28 °C!
- Holen Sie nach 3 Tagen den Ansatz aus dem Brutschrank, und betrachten Sie die Bariumhydroxidlösung im Gärverschuß, deren Trübung auf die Bildung von Bariumkarbonat durch Kohlendioxid zurückzuführen ist, das bei der Gärung gebildet wurde!
- Ziehen Sie den Stopfen mit dem Gärverschuß aus dem Kolbenhals, geben Sie in

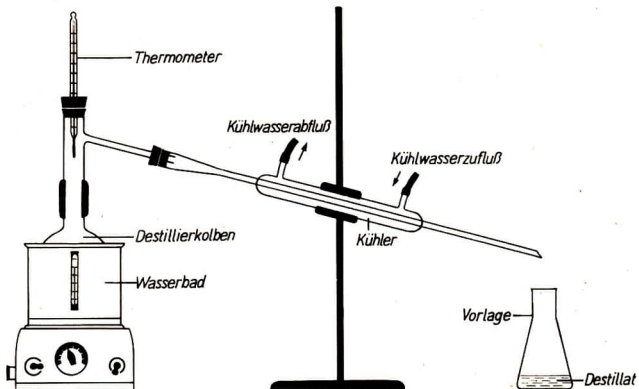


Abb. 129/1 Destillationsapparatur

den Kolben einige Siedesteinchen, und setzen Sie einen Gummistopfen mit Thermometer (0 °C bis 100 °C) auf!

- Bringen Sie den Destillierkolben in ein Wasserbad, und klemmen Sie den Kolbenhals am Stativ fest!
- Entfernen Sie den kleinen Gummistopfen von dem seitlichen Rohr, und setzen Sie mittels eines Stopfens einen Kühler nach MOHR (Abb. 129/1) an!
- Stellen Sie unter den Kühlerauslauf einen Erlenmeyerkolben!
- Lassen Sie Wasser durch den Kühler fließen, und schalten Sie die Heizung des Wasserbades an!
- Destillieren Sie bei etwa 80 °C den im Gäransatz gebildeten Alkohol!

Beobachtung

Wenn sich im Erlenmeyerkolben mehrere Milliliter Flüssigkeit gesammelt haben, weisen Sie Alkohol nach:

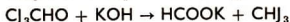
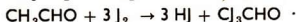
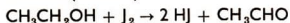
- Schütten Sie das Destillat in ein Reagenzglas, und fügen Sie wenige Tropfen 10% ige Kaliumhydroxidlösung zu! [!]
- Tropfen Sie unter kurzem Schütteln soviel Jod-Kaliumjodid-Lösung in die alkalische Flüssigkeit, bis sie sich nicht mehr entfärbt!
- Erwärmen Sie die Flüssigkeit leicht, und achten Sie auf die Entstehung einer gelblichen Trübung!

Auswertung:

Prüfen Sie unmittelbar danach den Geruch der entweichenden Dämpfe!

Aufgrund der folgenden Reaktionsschritte müßte sich bei Vorhandensein von Alkohol eine Jodverbindung, das Jodoform, gebildet haben.

Äthanol (Alkohol)



Jodoform

5.2.4. Bildung von Milchsäure durch Milchsäurebakterien

Wie für alle anderen Gärungen stellen auch für die Milchsäuregärung Kohlenhydrate die Ausgangsstoffe dar. Diese werden auf unterschiedlichen Wegen über Glukose zu Milchsäure abgebaut. Der Energiegewinn bei diesem Prozeß entspricht etwa dem bei der alkoholischen Gärung. Die die Milchsäuregärung bewirkenden Milchsäurebakterien siedeln sich vorwiegend in Milch oder auf frischen und sich zersetzenden Pflanzen an, so daß sich z. B. in Milchprodukten oder in Silage große Mengen von Milchsäure anreichern.

Wenn Sie mit einer LPG oder mit einer Molkerei zusammenarbeiten und dort die erforderlichen Materialien zur Verfügung stehen, können Sie die Bildung von Milchsäure nachweisen. In einem solchen Falle können Sie die folgende Aufgabe lösen und das Experiment 45 durchführen.

● Weisen Sie mit Hilfe des Experiments 45 Milchsäure als Produkt der Gärung nach!

▼ **Experiment 45: Nachweis der Milchsäuregärung**

Zeit:

Dauer des Experiments: 30 Min.

Material:

Silagesickersaft
Reagenzglas
Reagenzglashalter
Meßzylinder (10 ml)
Meßzylinder (50 ml)
Erlenmeyerkolben (100 ml)
4 Tropfpipetten
konz. Schwefelsäure [!]
hochprozentige Kupfersulfatlösung [!]
Thiophen [!]
Äthanol

Durchführung:

Mit folgender Methode kann Milchsäure noch in sehr geringen Mengen in verschiedenen Medien nachgewiesen werden:

- Geben Sie 5 ml Schwefelsäure in ein Reagenzglas, und pipettieren Sie dazu einige Tropfen Kupfersulfatlösung! [!]
- Fügen Sie 5 Tropfen Silagesickersaft zu, und erhitzen Sie die Mischung 2 Min. in einem siedenden Wasserbad!
- Kühlen Sie danach das Gemisch unter fließendem Wasser schnell ab! [!]
- Bereiten Sie unter dem Abzug das Nachweisreagenz für Milchsäure aus 10 Tropfen Thiophen und 50 ml Äthanol! [!]
- Geben Sie davon 3 Tropfen zu der den Silagesickersaft enthaltenden, abgekühlten Flüssigkeit!
- Schütteln Sie das Gemisch vorsichtig, und beobachten Sie dessen Verfärbung, die sich bei nochmaligem Einstellen des Reagenzglases ins siedende Wasserbad vertieft! [!]

Das Entstehen einer kirschroten Färbung zeigt das Vorhandensein von Milchsäure an.

Auswertung:

Erkundigen Sie sich in einer LPG, welche Futterpflanzen siliert werden und was bei der Silagebereitung zu beachten ist! Informieren Sie sich über die Bedeutung des Silofutters für die Tierproduktion!

5.2.5. Bildung von Äthansäure (Essigsäure) durch Essigsäurebakterien

Das Endprodukt der alkoholischen Gärung, das Äthanol, kann durch Essigsäurebakterien in Gegenwart von Sauerstoff zu Äthansäure (Essigsäure) oxydiert werden:



Dieser Prozeß verläuft über die Bildung von Äthanal.

Die insbesondere durch Bakterien der Gattung *Acetobacter* hervorgerufene Äthansäurebildung wird im großtechnischen Maßstab zur Gewinnung von Essig genutzt.

- Weisen Sie die Bildung von Äthansäure nach! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 46!

▼ Experiment 46: Nachweis der bakteriellen Äthansäurebildung

Zeit:

Dauer des Experiments: mindestens 8 Tage

Ansatz: 20 Min.

Auswertung: am 2. Tag 15 Min.

unmittelbar nach Kahmhautbildung 15 Min.

2 Tage nach Kahmhautbildung 30 Min.

Material:

Flasche Vollbier

Becherglas (400 ml)

Becherglas (50 ml)

Bürette (50 ml)

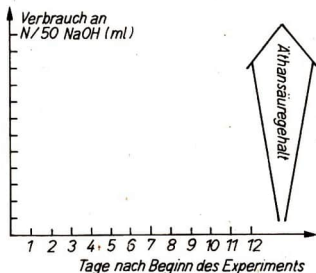
alkoholische Phenolphthaleinlösung

N/50 Natriumhydroxidlösung

Durchführung:

- Schütten Sie in ein Becherglas 3 cm hoch Bier, und lassen Sie den Ansatz bei Zimmertemperatur stehen!

Zeitpunkt der Probenahme	Verbrauch an N/50 NaOH (ml)
1.	
2.	
3.	
4.	
Differenz zwischen Probe 1 und Probe 4	ml



- Neutralisieren Sie 1 ml Bier in einem 50-ml-Becherglas unter Zugabe von 3 Tropfen Phenolphthaleinlösung mit N/50 NaOH (↗ Lehrbuch Chemie Klasse 8, S. 93)!
Tragen Sie den Verbrauch an Natriumhydroxidlösung als Maß für den Säuregrad in eine Tabelle ein!
- Wiederholen Sie die Neutralisation mit je 1 ml Bier aus dem Ansatz
 - 2 Tage nach Beginn des Experiments
nachdem sich eine Kahlhaut gebildet hat
 - 2 Tage nach der Kahlhautbildung!
- Tragen Sie die ermittelten Werte ebenfalls in die Tabelle ein, und berechnen Sie die Zunahme des Äthansäuregehaltes durch Differenzbildung zwischen dem Verbrauch an Natriumhydroxidlösung bei der Neutralisation der 1. und der 4. Probe!

Auswertung:

Zeichnen Sie anhand der erhaltenen Befunde eine Kurve, und interpretieren Sie deren Verlauf (↗ Vorlage S. 132)!

5.2.6. Abbau von Zellulose durch Bodenmikroorganismen

Mikroorganismen wirken in der Natur als Produzenten, als Konsumenten und als Reduzenten.

Als Reduzenten haben sie im Haushalt der Natur besondere Bedeutung. Sie zersetzen organische Stoffe im Boden (z. B. Zellulose), reichern ihn dadurch mit Nährstoffen an und bewirken zugleich die Beseitigung abgestorbener Organismenteile. Sie sind damit wesentlich an der Humusbildung beteiligt.

- *Wiederholen Sie Ihr Wissen über Stoffwechselvorgänge! Lesen Sie dazu im Lehrbuch Biologie Klasse 9, Seite 61, 68 und 69 sowie 128 nach!
Weisen Sie den Abbau von Zellulose durch Bodenmikroorganismen nach!
Handeln Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 47!*

▼ Experiment 47: Nachweis des Abbaus von Zellulose durch Bodenmikroorganismen

Zeit:

Dauer des Experiments: 1 Woche bis 4 Wochen

Ansatz: 120 Min.

Auswertung: alle 3 bis 4 Tage 10 Min.

Material:

Komposterde

Becherglas (250 ml)

Meßzylinder (100 ml)

Meßzylinder (10 ml)

Glasstab

Filterpapier

Meßpipette (10 ml)

Meßpipette (1 ml)
5 Reagenzgläser mit Zellstoffstopfen
Reagenzglas
Spatel
Fettstift oder Etiketten
Natriumnitrat
Dikaliumhydrogenphosphat
Magnesiumsulfat
Kaliumchlorid
Eisensulfat
Ammoniumchlorid

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie eine kohlenhydratfreie Nährlösung für Zellulosezer-setzer her (Rezept ↗ S. 155)!
- Schneiden Sie 5 etwa 1 cm breite und 8 cm lange Streifen aus Filterpapier, und legen Sie je einen in ein Reagenzglas!
- Füllen Sie die 5 Reagenzgläser mit je 6 ml der Nährlösung!
- Verschließen Sie die Reagenzgläser mit Zellstoffstopfen, und sterilisieren Sie die Röhrrchen!
- Stellen Sie eine Bodensuspension her, indem Sie eine Spatelspitze Erde in etwa 10 ml Leitungswasser geben und mehrmals kräftig schütteln!
- Öffnen Sie 4 Reagenzgläser und pipettieren Sie, nachdem sich die Erde abgesetzt hat, von der überstehenden Suspension 0,5 ml in die Nährlösung!
Das 5. Reagenzglas dient als Kontrolle und ist – wie die anderen 4 Röhrrchen – entsprechend zu beschriften.
- Verschließen Sie die Reagenzgläser wieder, und bewahren Sie alle 5 Röhrrchen bei Zimmertemperatur auf!

Beobachtung

- Prüfen Sie in Abständen von 3 bis 4 Tagen, ob auf den Filterpapierstreifen in Höhe des Nährlösungsspiegels Mikroorganismenansammlungen zu sehen sind!
Kontrollieren Sie, inwieweit eine Zersetzung der Zellulose eingetreten ist, indem Sie das Kontrollröhrrchen und die Reagenzgläser mit beimpfter Nährlösung in durchfallendes Licht halten und nach genauer vergleichender Betrachtung die Röhrrchen mehrmals kurz schütteln!
Je nach dem Zersetzungsgrad der Zellulose sind im Filterpapier durchscheinende Flecken, an denen es leicht einreißt, oder die Auflösung des Papierstreifens zu beobachten.

Auswertung:

Beschreiben Sie die Versuchsergebnisse zum Zelluloseabbau! Erläutern Sie, welche Bedeutung diese Vorgänge in der Natur haben! Nennen Sie Beispiele dafür, daß der Mensch die Vorgänge planmäßig nutzt!

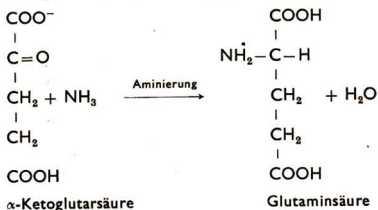
5.3. Stickstoffstoffwechsel

- **Stickstoff stellt für alle Mikroorganismen einen unentbehrlichen Nährstoff dar. Als anorganische Stickstoffquellen werden Nitrate, Ammoniumsalze und durch einige spezialisierte Mikroorganismen atmosphärischer Stickstoff genutzt.**

Stickstoff findet als Ammoniak oder Ammonium Eingang in den Stickstoffstoffwechsel der Zelle. Das Ammoniak ist die wesentliche Ausgangssubstanz für die Synthese von Proteinen und Nukleinsäuren. Es kann sowohl aus der Umwandlung anorganischer als auch organischer Stickstoffverbindungen stammen.

Einige Mikroorganismenarten sind nicht in der Lage, bestimmte notwendige stickstoffhaltige Verbindungen, z. B. verschiedene Aminosäuren, zu synthetisieren. Diese Substanzen müssen von ihnen aufgenommen werden.

Bei der Synthese der Aminosäuren vereinigt sich meist eine im Kohlenhydratstoffwechsel gebildete Ketosäure mit Ammoniak (Aminierung). So entstehen beispielsweise aus α -Ketoglutaräure und Ammoniak Glutaminsäure und Wasser.



Von den auf diese einfache Weise gebildeten primären Aminosäuren kann die Aminogruppe auf weitere Ketosäuren übertragen werden, so daß neue Aminosäuren synthetisiert werden. Es können 20 verschiedene Aminosäuren entstehen, die miteinander in unterschiedlicher Reihenfolge (Aminosäuresequenz) über Peptidbindungen verknüpft sind. Lange, hochmolekulare Aminosäureketten bilden Proteine.

- Lesen Sie in „Chemie in Übersichten“, Seite 114 und in „Biologie in Übersichten“, Seite 192 und 222 über Eiweiße nach!

Der Proteinsynthese liegt ein komplizierter molekularer Mechanismus zugrunde. Zunächst erfolgt die Übertragung der genetischen Information von der meist im Zellkern lokalisierten DNS (Desoxyribonukleinsäure) auf eine RNS (Ribonukleinsäure), die Boten-RNS (m-RNS), die von Ribosomen, den Orten intensiver Proteinsynthese in der Zelle, besetzt wird. Im Zytoplasma befindet sich eine zweite Form der RNS, die Transport-RNS (t-RNS). Die t-RNS-Moleküle zeigen eine ausgeprägte Spezifität gegenüber den verschiedenen Aminosäuren, die sie binden und an den m-RNS-Ribosomen-Komplex transportieren. Die mit einer Aminosäure beladene t-RNS lagert sich entsprechend dem Schlüssel-Schloß-Prinzip an eine passende Stelle der m-RNS. Die Aminosäure löst sich ab und verlängert die bereits vorhandene Aminosäurekette (Abb. 136/1).

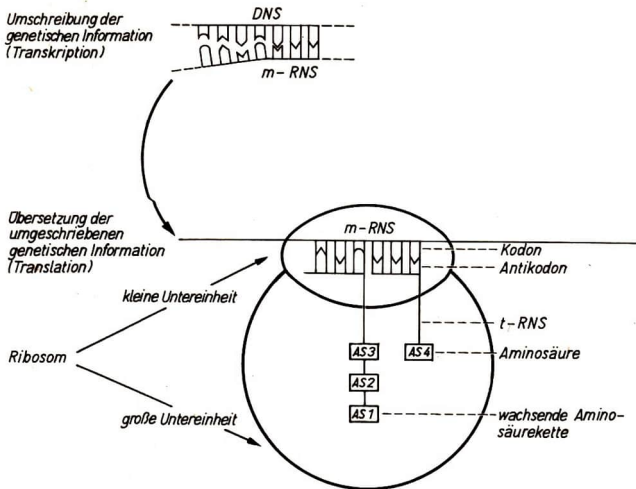


Abb. 136/1 Proteinbiosynthese

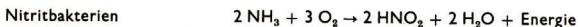
- Wiederholen oder erweitern Sie Ihr Wissen über die Proteinsynthese mit Hilfe des Lehrbuchs Biologie Klasse 10! Lesen Sie die Seiten 10, 13 und 18!

Neben den aufbauenden Prozessen laufen in der Zelle auch ständig Abbauvorgänge ab. Der Abbau von Proteinen bis zu den Grundbausteinen erfolgt über Polypeptide und Oligopeptide zu den Aminosäuren, von denen schließlich die Aminogruppe abgespalten wird (Desaminierung).

Der Eiweißzerstoß im Boden durch Mikroorganismen kommt im Stickstoffkreislauf eine große Bedeutung zu. Dabei werden Proteine unter Freisetzung von Ammoniak abgebaut.

Ammoniakbildung kann auch bei der Zersetzung anderer stickstoffhaltiger Substrate (z. B. Harnstoff) erfolgen. Einige Bakterienarten sind befähigt, einen Teil des freigesetzten Ammoniaks zur Energiegewinnung in Salpetersäure bzw. Nitrat-Ionen zu überführen (Nitrifikation).

Die Nitrifikation läuft in zwei Schritten ab:



(z. B. *Nitrosomonas*-Arten)



(z. B. *Nitrobacter*-Arten)

5.3.1. Ammoniakbildung beim Eiweißabbau durch Bodenmikroorganismen

Im Boden leben zahlreiche Mikroorganismen, die an der Eiweißzersetzung mitwirken. Da beim Abbau von Eiweißen sowie bei der Spaltung von Peptiden und Aminosäuren Ammoniak entsteht, kann die Eiweißzersetzung durch Mikroorganismen anhand des entstehenden Ammoniaks nachgewiesen werden.

- Führen Sie das Experiment 48 durch, um die Ammoniakbildung bei der Zersetzung von Eiweißen nachzuweisen!

▼ Experiment 48: Nachweis der Ammoniakbildung durch Mikroorganismen bei der Eiweißzersetzung

□ Zeit:

Dauer des Experiments: 7 Tage

Ansatz: 20 Min.

Auswertung: 20 Min.

Material:

Komposterde

Meßzylinder (50 ml)

Meßzylinder (10 ml)

Becherglas (100 ml)

Glasstab

4 Reagenzgläser mit Zellstoffstopfen

8 Reagenzgläser

Spatel

2 Trichter

Filtergestell

4 Rundfilter

4 Pipetten (2 ml)

Pipette (1 ml)

Pepton

Neßlers Reagens [!]

Durchführung:

Ansatz

- Verrühren Sie 0,3 g Pepton in 30 ml Leitungswasser!
- Füllen Sie je 6 ml Peptonwasser in 4 Reagenzgläser!
- Geben Sie in zwei mit Peptonwasser gefüllte Reagenzgläser je eine Spatelspitze Erde!
- Verschließen Sie alle 4 Reagenzgläser mit Zellstoffstopfen!

Beobachtung

Prüfen Sie alle 4 Reagenzgläser nach einer Woche, ob durch den Abbau von Pepton durch Bodenmikroorganismen Ammoniak gebildet wurde:

- Filtrieren Sie den Inhalt der 4 Röhrchen, um eine annähernd klare Flüssigkeit zu erhalten!
- Pipettieren Sie von jedem Filtrat 2 ml in je ein Reagenzglas, und fügen Sie 1 ml Neßlers Reagens zu! [!]
Eine geringe Ammoniakmenge wird durch Gelbfärbung angezeigt. Mit zunehmendem Ammoniakgehalt stellt sich eine Orangefärbung ein.

Auswertung:

Stellen Sie fest, mit welcher Intensität unter dem Einfluß von Bodenmikroorganismen aus Pepton Ammoniak gebildet wurde!

5.3.2. Freisetzung von Schwefelwasserstoff beim Eiweißabbau durch Bodenmikroorganismen

Einige der am Eiweißabbau beteiligten Aminosäuren können Schwefel enthalten. Bei der Zersetzung derartiger Eiweiße durch Mikroorganismen entsteht Schwefelwasserstoff. Die Freisetzung von Schwefelwasserstoff weist also ebenfalls Eiweißabbau nach.

- Weisen Sie den bei der Eiweißzersetzung durch Mikroorganismen entstehenden Schwefelwasserstoff nach! Richten Sie sich dabei nach der Anleitung zu Experiment 49!

▼ Experiment 49: Nachweis der Schwefelwasserstoffbildung durch Bodenmikroorganismen



Zeit:

Dauer des Experiments: etwa 8 Tage

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: alle 2 Tage 5 Min.; am vorletzten und letzten Tag je 10 Min.

Material:

Komposterde

Hühnerei

Becherglas (100 ml)

2 Reagenzgläser mit Gummistopfen

Löffel

2 Streifen Filterpapier (7 cm lang, 1 cm breit)

Becherglas mit 5%iger Bleiazetatlösung [!]

oder fertiges Bleiazetatpapier

Durchführung:

Ansatz

- Schlagen Sie ein Hühnerei auf und lassen Sie das Eiklar in ein Becherglas laufen!
- Füllen Sie je 2 Reagenzgläser zur Hälfte mit Eiklar!
- Setzen Sie dem Eiklar des einen Röhrchens etwas Komposterde zu!

- Stellen Sie die beiden Röhrchen unverschlossen in den Brutschrank (Temperatur: 28 °C)!

Beobachtung

- Prüfen Sie im Verlaufe einer Woche, ob infolge Eiweißzersetzung ein fauliger Geruch auftritt!
- Sobald dieser Geruch wahrnehmbar ist, tauchen Sie zwei etwa 7 cm lange und 1 cm breite Filterpapierstreifen in 5%ige Bleiazetatlösung! [!] (Bei Verwendung von fertigem Bleiazetatpapier entfällt das Tränken mit der Bleiazetatlösung.)
- Lassen Sie die Bleiazetatlösung abtropfen, klemmen Sie dann je einen Streifen des Bleiazetatpapiers mittels eines Gummistopfens an der Wand der Reagenzglaser fest!
- Betrachten Sie am folgenden Tag die Filterpapierstreifen, und stellen Sie fest, ob Braun- bzw. Schwarzfärbung eingetreten ist. Schwefelwasserstoff färbt Bleiazetatpapier braun bzw. schwarz.

Auswertung:

Stellen Sie fest, ob es Unterschiede in der Farbintensität des Papiers in beiden Proben gibt, und erklären Sie evtl. vorhandene Unterschiede!

Formulieren Sie für diesen Nachweis die Reaktionsgleichung!

5.3.3. Verflüssigung von Gelatine durch Mikroorganismen

Gelatine ist ein teilweise abgebautes Eiweiß. Sie kann durch bestimmte Bakterienarten enzymatisch weiter gespalten werden. Diese Spaltung äußert sich in einer Verflüssigung der Gelatine. Sie wird durch Bakterien hervorgerufen, die das Enzym Gelatinase besitzen. Die Gelatineverflüssigung ist ein wichtiges Merkmal zur Bestimmung von Bakterienarten.

- Prüfen Sie Bakterien auf ihre Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen! Verfahren Sie dabei nach Experiment 50!

▼ Experiment 50: Nachweis der Gelatineverflüssigung durch Bakterien

○ **Zeit:**

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 15 Min.

Auswertung: 15 Min.

Material:

Fangplatte von Experiment 1 oder 17

3 sterilisierte Röhrchen mit Nährgelatine (Rezept / S. 154), Röhrchen zu einem Viertel gefüllt

Durchführung:

Ansatz

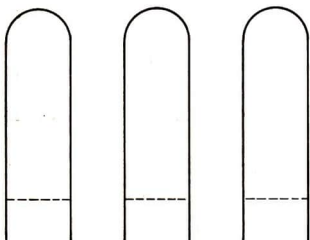
- Wählen Sie von einer Fangplatte 3 unterschiedliche Bakterienkolonien aus!
- Nehmen Sie mit einer Impfnadel davon Material ab, und legen Sie von jeder ausgewählten Kolonie eine Stichkultur (s. S. 37) in einem Gelatinenährboden an!
- Verschließen Sie die 3 Röhrchen mit Zellstoffstopfen, und stellen Sie die Reagenzgläser bei Zimmertemperatur auf!

Beobachtung

- Betrachten Sie nach 3 Tagen die Stichkulturen im durchfallenden Licht, und stellen Sie fest, an welcher Stelle des Stichkanals die Gelatine von Bakterien bewachsen ist!
- Halten Sie danach die Röhrchen mit den Stopfen nach unten, damit evtl. verflüssigte Gelatine herabläuft!

Auswertung:

Zeichnen Sie die durch die Verflüssigung entstandenen Aushöhlungen (z. B. trichter-, schüssel- oder sackförmig) in Umrißskizzen ein!



5.4. Abhängigkeit der Bakterienvermehrung von biotischen und abiotischen Faktoren

Mikroorganismen stehen wie alle übrigen Lebewesen in ständigem Kontakt mit Umweltfaktoren (biotische und abiotische Faktoren).

- Wiederholen Sie Ihr Wissen über den Einfluß von Umweltfaktoren auf die Organismen! Lesen Sie dazu im Lehrbuch Biologie Klasse 9, Seite 93 bis 110 oder in „Biologie in Übersichten“, Seite 263 bis 272 nach!

Als biotische Faktoren wirken beispielsweise Ausscheidungsprodukte von Organismen (Schleimstoffe von Schnecken, Antibiotika aus Strahlenpilzen).

Obwohl den Mikroorganismen in der Regel eine Vielzahl chemischer Stoffe zur

Verfügung steht, werden ihr Wachstum und ihre Vermehrung wesentlich durch solche Stoffe beeinflusst, die unter normalen Bedingungen nicht oder nur in geringer Konzentration im Lebensraum der Organismen anzutreffen sind. Solche Stoffe wirken als entscheidende chemische Faktoren. Dazu werden u. a. Pflanzenschutzmittel, Düngemittel und Desinfektionsmittel gerechnet. Physikalische Faktoren sind beispielsweise ultraviolette Strahlung, Röntgenstrahlen und Ultraschall, die auf die physiologischen Prozesse der Mikroorganismenzelle einwirken.

Über den physiologischen Zustand der Zellen geben Wachstum und Vermehrung Auskunft. Unter günstigen Bedingungen (z. B. optimales Angebot an Nährstoffen, Feuchtigkeit und Wärme) verläuft die Vermehrung einer Bakterienkultur in bestimmten Stadien, die in einer grafischen Darstellung veranschaulicht werden können (Abb. 141/1). Die erste Phase ist die Anlaufphase. Sie umfaßt die Zeit vom Beimpfen der Nährlösung bis zum Einsetzen rasch aufeinanderfolgender Teilungsschritte. Es schließt sich eine Phase an, in der die Zellanzahl exponentiell, also rasch zunimmt. Darauf folgt die stationäre Phase, in der die Zellanzahl einen Maximalwert erreicht. Infolge des dadurch eintretenden Nährstoffmangels und der Anhäufung giftiger Stoffwechselprodukte sterben in der letzten Phase Bakterienzellen ab. Der Verlauf dieser sogenannten Wachstumskurve kann durch die Einwirkung biotischer, chemischer und physikalischer Faktoren erheblich beeinflusst werden.

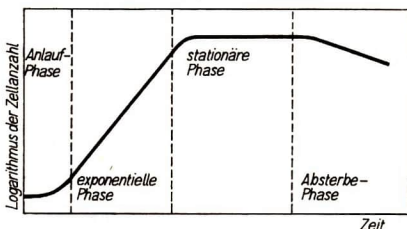


Abb. 141/1 Wachstumskurve einer Bakterienkultur

5.4.1. Beeinflussung der Bakterienvermehrung durch ein Antibiotikum

- **Antibiotika sind Ausscheidungsprodukte von Mikroorganismen, die auf bestimmte andere Arten von Mikroorganismen vermehrungshemmend wirken oder sie abtöten. Infolge dieser Eigenschaft haben sich die Antibiotika in der Medizin bei der Bekämpfung von Infektionskrankheiten einen entscheidenden Platz erobert (S. 14).**

Um die Empfindlichkeit bzw. Resistenz von Mikroorganismen gegenüber einem bestimmten Antibiotikum zu prüfen, bedient man sich verschiedener Methoden; eine der bekanntesten ist der Lochtest.

Für Experimente mit Antibiotika kann der AG-Leiter überlagerte Bestände von Apotheken, Krankenhäusern oder Polikliniken erbitten.

- Weisen Sie die vermehrungshemmende Wirkung von Antibiotika auf Bakterien nach! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 51!

▼ **Experiment 51: Nachweis der Wirkung eines Antibiotikums im Lochtest**

○ **Zeit:**

Dauer des Experiments: 10 Tage

Ansatz: am 1. Tag 10 Min.; am 3. Tag 45 Min.; am 6. Tag 10 Min.; am 8. Tag 120 Min.

Auswertung: 60 Min.

Material:

Rohkultur von *Bacillus subtilis*

Fangplatte mit Kolonien

14 sterile Petrischalen

sterile Vollpipette (1 ml)

sterile Vollpipette (5 ml)

6 sterile Meßpipetten (1 ml)

2 sterile Glasspatel

2 sterile Korkbohrer (Durchmesser 1 cm)

3 sterile Reagenzgläser

Fotoapparat

Film (NP 15)

Fettstift oder Etiketten

Erlenmeyerkolben (100 ml) mit sterilem Leitungswasser

Meßkolben (50 ml) mit Penicillinlösung (1,8 mg Penicillin in 50 ml sterilem Wasser)

6 sterilisierte Schrägagar-Röhrchen mit Nähragar I

14 sterilisierte Hochschicht-Röhrchen mit Nähragar I

Durchführung:

Das Mikroorganismenmaterial für dieses Experiment stellen eine Rohkultur von *Bacillus subtilis*, die nach Experiment 2 gewonnen werden kann, oder Kolonien von einer Fangplatte (Experiment 1) dar.

Ansatz

- Stellen Sie von der *Bacillus subtilis*-Rohkultur und einer gelbgefärbten Kolonie der Fangplatte eine Reinkultur (S. 38) her!
Steht keine Rohkultur von *Bacillus subtilis* zur Verfügung, kann von einer zweiten andersartigen Kolonie der Fangplatte Material abgenommen werden.
- Schmelzen Sie den Nähragar von 8 Hochschichtröhrchen auf, und gießen Sie ihn in 8 Petrischalen!
- Bereiten Sie vom Bakterienmaterial der beiden Reinkulturen je eine Suspension, indem Sie in jedes Schrägröhrchen 5 ml steriles Wasser geben und den Bakterienbewuchs mit der Impföse abstoßen!

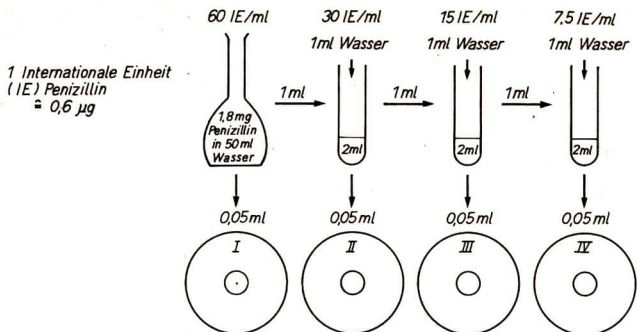


Abb. 143/1 Herstellen verschiedener Penizillinkonzentrationen zur Prüfung im Lochtest

Verteilen Sie die Bakterien durch quirlartiges Bewegen der Röhrchen annähernd gleichmäßig im zugegebenen Wasser!

- Pipettieren Sie je 0,1 ml der *Bacillus subtilis*-Suspension auf die Nährbodenoberfläche von 4 Petrischalen, und spateln Sie die Suspension sorgfältig aus!
- Bespateln Sie in gleicher Weise 4 Platten mit der Aufschwemmung der zweiten Reinkultur!
- Vermerken Sie auf allen 8 Platten die jeweils verwendete Bakterienkultur!
- Stanzen Sie aus der Mitte des Nährbodens einer jeden Petrischale mittels eines Korkbohrers ein Loch von 1 cm Durchmesser!
- Stellen Sie von der Penizillin-Ausgangslösung eine Verdünnungsreihe nach folgendem Schema her (Abb. 143/1).
- Füllen Sie von den 4 unterschiedlich konzentrierten Penizillinlösungen je 0,05 ml in die Stanzlöcher im Nährboden, so daß die Vermehrung beider Bakterienarten in Abhängigkeit von 4 verschiedenen Penizillinkonzentrationen geprüft werden kann!
- Schreiben Sie die Konzentration der eingebrachten Penizillinlösung auf die Schalen-deckel!
- Stellen Sie die 8 Petrischalen in den Brutschrank bei einer Temperatur von 28 °C!

Beobachtung

- Kontrollieren Sie nach 2 Tagen die Platten, und stellen Sie fest, ob die Bakterienvermehrung durch Penizillin beeinflusst wurde!
- Entscheiden Sie, welche Bakterienkultur penizillinresistent und welche penizillinempfindlich ist, und tragen Sie das Ergebnis in eine Tabelle (↗ Vorlage) ein!
- Messen Sie bei einer penizillinempfindlichen Kultur die Größe der auftretenden Hemmhöfe aus, indem Sie den Durchmesser der Kreisfläche (einschließlich Stanzloch) ermitteln, die keinen Bakterienbewuchs zeigt!
Tragen Sie die Meßwerte in eine Tabelle ein!

Auswertung:

Ziehen Sie aus den gewonnenen Meßwerten Rückschlüsse auf die konzentrationsabhängige Wirkung von Penizillin! Fotografieren Sie eine Agarplatte, auf der ein deutlich ausgeprägter Hemmhof zu sehen ist, um das Ergebnis zu belegen!

Penizillin-konzentration IE/ml	Bakterien- kultur penizillinempfindlich / -resistent Hemmhofdurchmesser(mm)	Bakterien- kultur penizillinempfindlich / -resistent Hemmhofdurchmesser(mm)
60		
30		
15		
7,5		

5.4.2. Bakterienschädigende Wirkung von Desinfektionsmitteln

Einige Substanzen aus chemischen Gruppen, beispielsweise Halogene, bestimmte Ammoniumsalze und Phenole, schädigen Bakterien bereits in niedrigen Konzentrationen und hemmen ihre Vermehrung (bakteriostatische Wirkung) oder töten sie ab (bakterizide Wirkung). Aus diesem Grunde werden Verbindungen der genannten chemischen Gruppen und einiger anderer in bestimmten Konzentrationen als Desinfektionsmittel angewendet.

- Beobachten Sie die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 52!

▼ Experiment 52: Nachweis der Wirkung von Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 90 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

2 gleichartige Münzen

4 sterile Petrischalen

4 sterile Pinzetten

2 sterile Pinsel

Fettstift

Erlenmeyerkolben (100 ml) mit 2%iger Fesia-mon-Lösung

Erlenmeyerkolben (100 ml) mit einer 2%igen Lösung von Fesia-sept-Konzentrat

2 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Nähragar I

Durchführung:

Ansatz

- Verflüssigen Sie den Nähragar von 2 Hochschichtröhrchen, und gießen Sie ihn, nachdem er auf etwa 50 °C abgekühlt ist, in 2 Petrischalen, die Sie durch einen Strich mit dem Fettstift auf der Bodenunterseite in 2 Hälften eingeteilt haben!
- Lassen Sie den Agar erstarren, und entnehmen Sie in der Zwischenzeit aus Ihrer Geldbörse 2 gleichartige Münzen!
- Legen Sie unter Verwendung einer Pinzette beide Münzen mit der Zahlenseite nach unten auf die Nährbodenoberfläche einer Petrischalenhälfte, und markieren Sie den Abdruck auf der Schalenaußenseite! Kennzeichnen Sie, welche Münze in welcher Schale liegt!
- Fassen Sie die Münzen erneut mit der Pinzette, und legen Sie je eine Münze in eine leere sterile Petrischale!
- Verschließen Sie unmittelbar nach dem Entfernen der Geldstücke die Agarplatten!
- Bepinseln Sie nun die Wappenseite der einen Münze sorgfältig mit der Desinfektionslösung Fesia-mon und die der anderen Münze mit der Desinfektionslösung Fesia-sept-Konzentrat!
- Lassen Sie die bepinselten Münzen trocken werden, und drücken Sie danach die Münzen mit der Wappenseite auf der jeweiligen noch freien Hälfte der Nährbodenoberfläche ab, so daß sich die Abdrücke von Zahl- und Wappenseite der gleichen Münze jeweils auf **einer** Platte befinden!
- Markieren Sie auch den zweiten Abdruck, und kennzeichnen Sie ihn!
- Entfernen Sie die Münzen vom Nährboden, und legen Sie die Petrischalendeckel auf!
- Stellen Sie die 2 Platten in den Brutschrank (Temperatur 28 °C)!

Beobachtung

- Betrachten Sie nach 3 Tagen die Platten, und stellen Sie anhand des Mikroorganismenbewuchses fest, wie die Desinfektionsmittel gewirkt haben!

Auswertung:

Protokollieren Sie das Ergebnis des Experiments! Ziehen Sie Schlüsse aus Ihren Beobachtungen hinsichtlich der Notwendigkeit hygienischer Vorschriften beispielsweise im Lebensmittelhandel! Kontrollieren Sie Ihr eigenes hygienisches Verhalten!

- *Stellen Sie eine Liste handelsüblicher Desinfektionsmittel zusammen! Wiederholen Sie das Experiment mit anderen Desinfektionsmitteln, und vergleichen Sie die Ergebnisse!*

5.4.3. Einfluß von UV-Strahlen auf die Bakterienvermehrung

Ultraviolette (UV-)Strahlen können zur teilweisen Entkeimung von Flächen und Räumen eingesetzt werden (↗ S. 36), da sie Mikroorganismen schädigen oder abtöten können.

Die Schädigung der Mikroorganismen beruht auf der Einwirkung der UV-Strahlen auf die Nukleinsäuren.

- Weisen Sie mit Hilfe des Experiments 53 nach, daß UV-Strahlen schädigend auf Bakterien wirken!

▼ **Experiment 53: Nachweis der UV-Strahlenwirkung auf die Bakterienvermehrung**



Zeit:

Dauer des Experiments: 6 Tage

Ansatz: am 1. Tag 90 Min.; am 4. Tag 75 Min.

Auswertung: am 4. Tag 10 Min.; am letzten Tag 10 Min.

Material:

2 sterile Petrischalen

Holzstempel (Stempelplatte 7,5 cm Durchmesser)

sterilisiertes Samtstück (20 cm × 20 cm)

Bindfaden

Heimsonne Q 64 (VEB Thelta, Zella-Mehlis)

Schutzbrille

2 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Nähragar I

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie eine Fangplatte her (↗ Experiment 1), und bebrüten Sie die Platte mit den eingefangenen Keimen 3 Tage bei 28 °C!
- Ermitteln Sie die Anzahl der Kolonien auf der Fangplatte, und vermerken Sie den Wert im Protokoll!
- Verflüssigen Sie den Nährboden in einem Hochschichtröhrchen, gießen Sie eine Platte, und lassen Sie den Nähragar erstarren!
- Bereiten Sie einen Samtstempel für das Übertragen von Kolonien der Fangplatte auf eine andere Agarplatte vor: Bespannen Sie die im Durchmesser 7,5 cm große Kreisfläche des Holzstempels mit sterilisiertem Samt, und binden Sie die Samtecken am Stempelgriff fest!
- Drücken Sie den Stempel auf die Fangplatte, so daß das Kolonienmuster auf der Samtfläche erscheint, und setzen Sie ihn anschließend unter Druck auf eine Nährbodenplatte! Heben Sie die Fangplatte bis zur Auswertung auf, damit ein evtl. erforderlicher Vergleich am Schluß möglich ist!
- Stellen Sie zur UV-Bestrahlung 60 cm von der bestempelten Nährbodenplatte entfernt eine Heimsonne Q 64 auf, wobei die Nährbodenoberfläche parallel zu den Strahlern gerichtet sein soll!
Da UV-Strahlen Glas nicht durchdringen, muß der Petrischalendeckel während der Bestrahlung abgenommen sein.
- Lesen Sie sich die Bedienungsanleitung zur Heimsonne durch, schließen Sie das Gerät an das Netz an, und zünden Sie die Strahler (Schutzbrille verwenden)! [!]
- Lassen Sie die UV-Strahlen 30 Min. auf die Mikroorganismen einwirken, und schalten Sie danach die Heimsonne aus!
- Legen Sie den Petrischalendeckel auf das Schalenunterteil, und stellen Sie die Platte in den Brutschrank (Temperatur 28 °C)!

Beobachtung

– Zählen Sie nach 3 Tagen die Kolonien auf der bestempelten Nährbodenplatte!

Auswertung:

Vergleichen Sie die Anzahl der Kolonien auf der Fangplatte mit der auf der bestrahlten Platte! Schätzen Sie die Wirkung der UV-Strahlen auf die Mikroorganismen ein! Um nachzuweisen, daß Infrarotstrahlen das Versuchsergebnis nicht beeinflussen, wird eine zweite Nährbodenplatte bestempelt und nur mit Infrarot bestrahlt.

5.5. Bewegungserscheinungen bei Mikroorganismen

- **Bewegungserscheinungen sind ein wesentliches Kennzeichen des Lebens. Kein physiologischer Prozeß läuft in der Einzelzelle oder in einem vielzelligen Organismus ohne Bewegung von Molekülen ab. Neben der bei allen Organismen ständig vorhandenen Bewegung und dem damit im Zusammenhang stehenden Transport auf molekularer Ebene können sich bei vielen Lebewesen Bewegungserscheinungen auch in Form von Orts- oder Lageveränderungen des gesamten Körpers oder seiner Teile sichtbar äußern. Die Bewegungen werden meist innerhalb eines relativ kurzen Zeitraumes ausgeführt.**

Bei Mikroorganismen sind verschiedene Formen der Bewegungen zu beobachten: Ein Teil der Bakterien und die Geißeltierchen (Flagellaten) besitzen Geißeln und bewegen sich mit deren Hilfe fort.

Bei verschiedenen Protozoen treten als Bewegungsorganelle Wimpern auf. Viele Kieselalgen gleiten auf einer Plasmabahn, die vom Organismus selbst erzeugt wird.

Von einigen Protozoen und Schleimpilzen werden amöboide Bewegungen ausgeführt, für die der Gestaltwechsel durch das Ausfließen und Einziehen von Pseudopodien bzw. Plasmasträngen charakteristisch ist.

Zur Bewegung befähigte Organismen beantworten einwirkende Reize mit einer Bewegungsreaktion. Reizgerichtete Ortsbewegungen frei beweglicher Organismen werden als **Taxien** bezeichnet. Entsprechend der Art des auslösenden Reizes spricht man z. B. von Phototaxis, wenn Licht, und von Chemotaxis, wenn chemische Stoffe als Reize wirken. Reizgerichtete Krümmungsbewegungen nicht frei beweglicher Organismen werden als **Tropismen** bezeichnet. Auch hier können Photo- und Chemotropismus sowie weitere Tropismen, die nach der jeweiligen Reizquelle benannt werden, unterschieden werden. Unabhängig davon, ob es sich um Taxien oder um Tropismen handelt, kann die Reizbeantwortung positiv oder negativ erfolgen. Bei positiver Reaktion auf einen Reiz wendet sich der Organismus in die Richtung, aus der der Reiz auf ihn einwirkt; bei negativer Reaktion wendet sich der Organismus von der Reizquelle ab.

- **Lesen Sie über Bewegungen als Reizreaktion im Lehrbuch Biologie Klasse 9, Seite 71 bis 76, oder in „Biologie in Übersichten“, Seite 210 bis 216 nach!**

5.5.1. Phototaxis

Unter den Mikroorganismen sind insbesondere die Flagellaten (Geißeltierchen) fähig, auf Lichtreize, also phototaktisch, zu reagieren. Durch derartige Bewegungen können die Flagellaten auch Orte aufsuchen, an denen es auf Grund des Vorhandenseins von Licht möglich ist, Photosynthese durchzuführen.

- *Beobachten Sie die Ortsbewegungen von Flagellaten! Verfahren Sie dabei nach der Anleitung zu Experiment 54!*

▼ Experiment 54: Nachweis phototaktischer Erscheinungen bei Flagellaten

Zeit:

Dauer des Experiments: 3 Tage

Ansatz: 30 Min.

Auswertung: 30 Min.

Material:

Teichwasser, das reich an Flagellaten ist

Bogen schwarzes Papier

Petrischale (Durchmesser 15 cm)

Selbstklebeband (z. B. Prenaband)

Schere

2 Pipetten (1 ml)

Objektträger

Deckgläser

Durchführung:

Ansatz

- Stellen Sie das Unterteil einer großen Petrischale auf einen Bogen schwarzes Papier!
- Füllen Sie die Schale bis zu einem halben Zentimeter unter den Rand mit Teichwasser, das reich an Flagellaten ist!
- Legen Sie den Schalendeckel auf, und hüllen Sie die Schale völlig in das schwarze Papier ein, so daß kein Licht einfallen kann!
- Kleben Sie die Papierränder mit Prenaband fest!
- Schneiden Sie aus dem schwarzen Papier, das auf der Oberseite der Schale liegt, 2 cm vom Rand entfernt ein 3 cm langes und 1 cm breites Fenster heraus!
- Bekleben Sie das Fenster mit Prenaband, damit das Papier dem Glas dicht anliegt und somit kein zusätzliches seitliches Licht einfällt!
- Tragen Sie den Ansatz vorsichtig an ein Nordfenster, und lassen Sie ihn 3 Tage stehen!

Auch während der Auswertung verbleibt der Ansatz an dieser Stelle.

- Schneiden Sie das schwarze Papier, das die Oberseite der Schale bedeckt, in der Mitte durch, klappen Sie es auseinander, und entfernen Sie den Schalendeckel!
- Klappen Sie die Papierhälften wieder zusammen, und entnehmen Sie mit der Pipette durch die Fensteröffnung etwas Flüssigkeit!

- Geben Sie davon einige Tropfen auf einen Objektträger, und legen Sie ein Deckglas auf!

Beobachtung

- Betrachten Sie das Präparat unter dem Mikroskop bei einer geeigneten Vergrößerung, und zählen Sie die im Sehfeld befindlichen Flagellaten!
- Klappen Sie das Papier erneut zurück, und entnehmen Sie mit der Pipette eine Probe von einer Stelle, die vom Fenster weit entfernt ist und damit unbelichtet war!
- Fertigen Sie auch von dieser Probe ein Präparat an, und mikroskopieren Sie es bei der gleichen Vergrößerung, die zur Betrachtung des ersten Präparates verwendet wurde!
- Zählen Sie die im Sehfeld sichtbaren Flagellaten!

Auswertung:

Vergleichen Sie die beiden ermittelten Werte, und erklären Sie auftretende Unterschiede!

5.5.2. Chemotaxis

Eine chemotaktische Reaktion kann durch verschiedene chemische Stoffe, beispielsweise Zucker, Proteine und organische Säuren ausgelöst werden.

Auch Sauerstoff kann chemotaktische Reaktionen bedingen. Die Beantwortung dieses Reizes durch frei bewegliche Mikroorganismen stellt einen speziellen Fall der Chemotaxis dar (Aerotaxis).

- *Beobachten Sie chemotaktische Erscheinungen bei Bakterien! Führen Sie dazu das Experiment 55 durch!*

▼ Experiment 55: Nachweis von Chemotaxis bei Bakterien

Zeit:

Dauer des Experiments: 60 Min.

Material:

naßfaule Kartoffelknolle
Skalpell
Uhrschälchen
Glasstab
Objektträger
Deckgläser
Präpariernadel
enges, dünnwandiges Glasrohr
Pinzette
Becherglas (50 ml) mit Bouillon

Durchführung:

- Entnehmen Sie einer naßfaulen Kartoffelknolle mit Hilfe eines Skalpells etwas bakterienreiches Material, und bringen Sie es auf ein Uhrglasschälchen!
- Fügen Sie einige Tropfen Wasser zu, und stellen Sie einen dünnflüssigen Brei her!
- Setzen Sie einen Wassertropfen auf den Objektträger, und suspendieren Sie darin eine Öse bakterienhaltiges Material!
- Lassen Sie ein Deckglas so auf den Suspensionstropfen fallen, daß in der Flüssigkeit einige Luftblasen eingeschlossen werden!
- Legen Sie das Präparat auf den Mikroskopisch, und stellen Sie unter Verwendung des Immersionsobjektivs auf den Rand einer Luftblase scharf ein!
- Beobachten Sie, ob sich am Luftblasenrand Bakterien ansammeln!
- Ziehen Sie anschließend in einer Bunsenbrennerflamme eine dünne Glaskapillare ausbrechen Sie ein etwa 2 cm langes Stück ab, und schmelzen Sie dieses an einem Ende zu!
- Tauchen Sie das offene Ende der noch warmen Kapillare in Bouillon, damit sie sich füllt!
- Entfernen Sie nun aus dem Präparat die Luftblasen, indem Sie das Deckglas anheben und einen Tropfen Wasser zugeben!
- Bringen Sie die Kapillare mit der Mündung in den Suspensionstropfen, und legen Sie das Deckglas wieder auf!
- Betrachten Sie mikroskopisch die Kapillaröffnung, um festzustellen, ob Bakterien gegenüber der herausdiffundierenden Bouillon positiv chemotaktisch reagieren!

Auswertung:

Protokollieren Sie das Ergebnis des Experiments!

5.5.3. Phototropismus

Im allgemeinen übt das Licht auf Pilzmyzelien keinen erkennbaren Einfluß aus. Bei manchen Arten können jedoch Sporangienträger als Teile des Pilzkörpers positiv phototrop reagieren. Sie krümmen sich in die Richtung, aus der das Licht einfällt.

- *Beobachten Sie Krümmungsbewegungen bei Pilzen! Führen Sie dazu Experiment 56 durch!*

▼ Experiment 56: Nachweis von Phototropismus bei Pilzen

Zeit:

Dauer des Experiments: 14 Tage

Ansatz: 120 Min.

Auswertung: 10 Min.

Material:

2 Glasschalen mit Deckel (Durchmesser 14 cm, Höhe 8 cm)

2 Bogen schwarzes Papier

Selbstklebeband (z. B. Prenaband)

Schere

Fettstift

Becherglas (50 ml) mit 5%iger Saccharoselösung

2 sterilisierte Hochschichtröhrchen mit Biomalzagar (Rezept ↗ S. 153)

Scheibe Brot

Durchführung:

Ansatz

- Verflüssigen Sie den Biomalzagar von 2 Hochschichtröhrchen im Wasserbad!
- Gießen Sie den Agar aus den 2 Reagenzgläsern in eine Glasschale, und lassen Sie ihn erstarren!
- Legen Sie währenddessen in eine zweite Schale eine Scheibe Brot, und tränken Sie diese mit 5%iger Saccharoselösung!
- Stellen Sie beide Schalen geöffnet 60 Min. zum Einfangen von Pilzsporen auf!
- Legen Sie die Deckel auf die Schalenunterteile!
- Hüllen Sie jede Schale in schwarzes Papier ein, und schneiden Sie an der Wand nahe dem Deckel je ein Quadrat von 1 cm Seitenlänge heraus!
- Setzen Sie die Schalen so an ein Fenster, daß die Öffnung im Papier dem Tageslicht zugekehrt ist!
- Markieren Sie nach 14 Tagen mit einem Fettstift die beiden Quadrate, und entfernen Sie das Papier von den Schalen!

Beobachtung

Kontrollieren Sie, ob auf den Nährsubstraten sporangientragende Pilze gewachsen sind!

Prüfen Sie, inwieweit deren Sporangienträger phototrop reagiert haben!

Auswertung:

Stellen Sie das Beobachtungsergebnis in Form einer einfachen Skizze dar! Formulieren Sie in knapper Form Ihre Feststellungen schriftlich!

- ABC Biologie, VEB F. A. Brockhaus-Verlag, Leipzig 1967
ABC Landwirtschaft, VEB F. A. Brockhaus-Verlag, Leipzig 1974
Biologie in Übersichten, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Biologie – Lehrbuch Klasse 7, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Biologie – Lehrbuch Klasse 8, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Biologie – Lehrbuch Klasse 9, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Biologie – Lehrbuch Klasse 10, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Biologie – Lehrbuch Klasse 11, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Die Chemie des Wassers, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1982
Chemie – Lehrbuch Klasse 8, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1980
Chemie in Übersichten, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1981
KALBE, L.: Kieselalgen in Binnengewässern, Neue Brehmbücherei, Heft 467, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg 1973
KAŠ, V.: Mikroorganismen im Boden, Neue Brehmbücherei, Heft 361, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg 1966
Kleine Enzyklopädie – Gesundheit, VEB Verlag Enzyklopädie, Leipzig 1973
MÜLLER, G.: Die Hefen. Neue Brehmbücherei, Heft 279, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg 1961
Physik in Übersichten, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1981
SCHLÜTER, W.: Mikroskopie, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1983
SCHRÖDER, H.: Mikrobiologisches Praktikum, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1980
SCHUBERT, A.: Praxis der Süßwasserbiologie, Volk und Wissen Volkseigener Verlag, Berlin 1972

Rezepte für Nährmedien und Reagenzien

- (1) **Fleischagar**
Trockennährbouillon 25 g (wenn auf der Originalpackung nicht anders vermerkt)
Agar 20 g
Wasser 1 l
pH 7,2
- (2) **Brühwürfelagar**
gemörserte Brühwürfel 10 g
Pepton 10 g
NaCl 5 g
Agar 20 g
Wasser 1 l
pH 7,2
- (3) **Nährbouillon**
Trockennährbouillon 25 g (wenn auf der Originalpackung nicht anders vermerkt)
Wasser 1 l
pH 7,2
- (4) **Biomalzagar**
Biomalz (ohne Kalk und ohne Lezithin) 30 g
Agar 20 g
Wasser 1 l
pH 4,5...5,5
- (5) **Biomalzgelatine**
wie (4)
anstelle von Agar Gelatine 150 g

(6)	Azetatgar	
	Kaseinpepton	10 g
	Glukose	10 g
	Natriumazetat	10 g
	KH_2PO_4	6 g
	Ammoniumzitrat	2 g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g
	Eisen-Ammoniumzitrat	0,04 g
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,01 g
	Agar	16 g
	dest. Wasser	1 l
		pH 6,0

(7)	Azetatagar zur Sporenbildung	
	wasserfreies Natriumazetat	1,4 g
	Glukose	0,4 g
	Agar	20 g
	dest. Wasser	1 l

(8)	Malzagar	
	Malzextrakt (ohne Kalk und ohne Lezithin)	40 g
	Pepton	0,5 g
	Agar	20 g
	Wasser	1 l

(9)	Malzgelatine	
	wie (8)	
	anstelle von Agar Gelatine	150 g

(10)	Glyzerin-Pepton-Agar	
	Glyzerin	20 g
	Pepton	2,5 g
	K_2HPO_4	1 g
	NaCl	3 g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 g
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,01 g
	CaCO_3	0,04 g
	Agar	20 g
	Wasser	1 l

(11)	Nährgelatine	
	wie (3)	
	Gelatine	150 g

(12)

Nährboden nach STALDER

KH_2PO_4	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g
CaCO_3	3 g
NaCl	0,2 g
Mannit	7,5 g
Glukose	2,5 g
Hefeextrakt	1 g
Agar	20 g
Wasser	1 l

(13)

Kohlenhydratfreie Nährlösung für Zellulosezer-setzer

NaNO_3	0,5 g
K_2HPO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g
KCl	0,5 g
NH_4Cl	0,2 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01 g
Wasser	1 l

pH 7,2

(14)

Gentianaviolettphenollösung zur Gramfärbung

alkoholische Gentianaviolett-lösung (gesättigt)	10 ml
frisch bereitete Phenollösung (2,5% ig)	90 ml

(15)

Fuchsinphenollösung

Stammlösung:	
alkoholische Fuchsinlösung (gesättigt)	10 ml
Phenollösung (5% ig)	90 ml
verdünnte Fuchsinphenollösung:	
Stammlösung	10 ml
dest. Wasser	90 ml

(16)

Fuchsinlösung nach LEIFSON

Lösung von $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (gesättigt)	20 ml
Tanninlösung (20% ig)	10 ml
dest. Wasser	10 ml
Äthanol (95% ig)	15 ml
alkoholische Fuchsinlösung (gesättigt)	3 ml

- (17) **Jod-Kaliumjodid-Lösung zur Gramfärbung**
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Jod | 1 g und |
| Kaliumjodid | 2 g im Mörtel unter Reiben in |
| | 5 ml Wasser lösen |
| Wasser | auf 300 ml |
- (18) **Jod-Kaliumjodid-Lösung zum Chitinnachweis**
- | | |
|-------------|--------|
| Jod | 0,2 g |
| Kaliumjodid | 2 g |
| Wasser | 100 ml |
- (19) **Jod-Kaliumjodid-Lösung zum Glykogenachweis**
- | | |
|-------------|-------|
| Jod | 0,2 g |
| Kaliumjodid | 0,6 g |
| Wasser | 90 ml |
- (20) **Methylenblaulösung nach LÖFFLER**
- | | |
|--|-------|
| alkoholische Methylenblaulösung
(gesättigt) | 30 ml |
| Kaliumhydroxidlösung (0,01% ig) | 90 ml |

A

- Abwasser 90, 97
- Abdruckpräparat 112, 117
- Acetobacter* 120, 132
- Aerobier 121
- Agar 23, 32, 153f.
- Anaerobier 39, 121
- Algen 10, 61f.
 - Bau 59
 - Form 59f.
 - Gestalt 59
 - Vermehrung 60
- alkoholische Gärung 111, 124f., 128
- Aminierung 135
- Aminosäuren 135
- Amöben 73, 101
- Anisol 24
- Antibiotika 11, 13, 17
- Arbeitsplatz 18, 20
- Arbeitsschutzmaßnahmen 18
- Ascomycetes* 63
- Askospore 68
- Äthansäurebildung 132
- Atmung, anaerobe 11
- Ausstrichpräparat 39
- Auswertung, statistische 43
- Autoklav 19, 34
- Autotrophie 123
- Azidität 87

B

- Bacillus*
 - *caucasicus* 112
 - *subtilis* 52, 56, 93, 101, 142ff.
- Bäckerhefe 66, 68, 71, 125
- Bakterien 10, 15, 47, 53f.
 - aerobe 122
 - anaerobe 122
 - Bau 47
 - filtrationsglocke 35
 - Formen 50

Bakterien Gestalt 47

- Größe 47
- vermehrung 121, 140f., 145
- Beleuchtungsverfahren nach Köhler 25, 27
- Benthos 94
- Biomalz 23
- Biozönose 78
- Blattrollkrankheit 16
- Blaualgae 10, 95
 - Bau 57
 - Form 58
 - Gestalt 57
 - Größe 57
 - vermehrung 57
- Boden 17 ff., 81f., 87, 89
 - art 85
 - fruchtbarkeit 17
 - mikroorganismen 133, 137f.
- Bouillon 36
- Brauchwasser 91
- Brot 11, 116
- Buttersäuregärung 124

C

- Chemikalien 23
- Chemosynthese 124
- Chemotaxis 149
- Chitin 63, 69
- Chlorella* 17, 59, 63
- Chroococcales* 58
- Chytridiomycetes* 63
- Ciliata* 72
- Clostridium* 123
- Cornet-Pinzette 21

D

- Dampftopf 34
- Desaminierung 136
- Desinfektion 19f., 33
- Desinfektionsmittel 19, 144
- desinfizieren 18f.

Desoxyribonukleinsäure (DNS) 55, 62, 135
Diphtherie 14f.
Dissimilation 124
DNS (Desoxyribonukleinsäure) 55, 62, 135
Dunkelfeld 25, 29
– kondensor 25, 29

E

Einzelung 38
Eiweiß 10, 17, 23, 135, 137 ff.
Elektronenmikroskop 10, 13
Endomyces 63
Endospore 68
Energie 124
– bedarf 11
Erlenmeyerkolben 22
Erste Hilfe 20 ff.
Erträge 17
Ertragsverlust 15
Erwinia carotovora var. *atroseptica* 103
Escherichia coli 90
Essigsäurebakterien 120, 132
Essigsäurebildung 125
Euglena 101
Exospore 68

F

Fäulnis 12
Faktoren
–, abiotische 140
–, biotische 140
Fangplatte 38, 50, 64, 79
Färbekbank 21
Färben 21, 40
Farbstoffe 57, 59, 72
Faulschlamm 74
Filterieren 33, 35
Fixieren 39
Flagellaten 59f., 148
Fleischextrakt 23
Fraktionieren 38
fraktioniertes Sterilisieren 35
Fuchsin 23
Fungizide 16
Fusarium aquaeductum 97
Futtermittel 11 ff.

G

Gärkölbchen 127
Gärung 11 ff., 17, 124
Gelatine 23, 33, 139
– verflüssigung 139
Gentianaviolett 23
Geißel 47, 54, 59f.
– algen 95
– tierchen 72
Glykolyse 125

Gramnegativ 53
Grampositiv 53
Gregarinen 110
Grünalgen 17, 59f., 95

H

Hängender Tropfen 41, 55
Hefe 17, 64, 66, 70, 111f., 126, 128
– zellen 10
Heißluftsterilisator 34
Hellfeld 27
heterotroph 64, 72
Heterotrophie 123
Heuaufguß 93, 100, 117
Heubazillus 52, 93, 101
Hochschichtröhrchen 32
Hohlschliffobjektträger 26, 41
Hormogonales 58
Humus 17 ff., 133
Hyphen 63

I

Immersionsobjektiv 24
Immersionsöl 24
Immunisierung 12
Impfen 20
Impfinstrumente 20
Impfnadel 19f.
– Abflammen 19, 33
– Ausglühen 19, 33
Impföse 20
isolieren 36

J

Jochpilze 63
Joghurt 115

K

Kahmhaut 93, 117
– Bier 119, 132
Kapsenbergkappen 23
Kefir 112f.
– bazillus 112
Keime 90
Keimgehalt 79f., 82, 85, 87, 89, 91
Kern 59, 66
– äquivalent 47, 55, 57
Keuchhusten 14
Kieselalgen 59f., 95f.
Kinderlähmung 14f.
Knöllchenbakterien 17, 100f.
Knollennaßfäule 103
Kohlenhydrate 23
Kohlenhydratstoffwechsel 123
Kohlenstoffverbindungen 10
Kolonie 38, 50, 64

Konidien 68
 Konjugation 74
 Kopulation 74
 Krankheiten 11 ff., 141
 Krankheitserreger 14 ff., 74, 91, 100, 106, 108, 141
 Kultivierung 13, 36, 121 f.
 Kulturbedingungen 39
 Kulturgefäße 22
 Kulturröhrchen 22

L

Lactobacillus bulgaricus 115
 Laktobazillen 112
 Landwirtschaft 11, 15, 17 ff.
 Lebendverdauung 89
 Lebensmittelvergiftung 14
 Lebensweise
 – autotrophe 72
Leptomitus lacteus 77
 Lichtmikroskop 27
 Lochtest 141
 Luft 18, 78 ff.
 – Feuchtigkeit 11

M

Masern 14
 Maul- und Klauenseuche 13, 15
 Mehlkäfer 109
 Mehltau 16, 106
 Messen von Mikroorganismen 26, 30
 Meßokular 30
 Methylenblau 23
 Mikrobiologie, industrielle 111, 128
 Mikroorganismen
 – Anfärben 21, 23
 – Anreicherung 36
 – Bau 47
 – Bebrüten 39
 – Beschaffung 42
 – Bewegung 147
 – Gestalt 47
 – Nutzung für Volkswirtschaft 17
 Mikroskop 12 f., 24
 mikroskopische Präparate 20, 41
 Mikroskoptyp 25
 Mikroskopierleuchte 25
 Milchsäure 124
 – bakterien 111, 115, 130
 – gärun 111, 130
 – streptokokken 112
 Milzbrand 13
 Mineralisierung 11, 17
 Molkereiprodukte 11
 Mumps 14
 Myzel 63, 69

N

Nähragar I 23
 Nährmedien 13, 20, 22 f., 32, 153 ff.
 Nährstoff 11
 Nahrungsmittel 11, 111, 116
 Nahrungsmittelindustrie 11
 Naßfäule 16, 103
 Nitratbakterien 136
 Nitrifikation 136
 Nitritbakterien 136
Nitrobacter 136
Nitrosomonas 136
 Nukleinsäuren 135

O

Objektmikrometer 26, 30
 Objektträger 41
 Ökologie 78
 Okularmikrometer 26, 30

P

Pantoffeltierchen 101
 Parasit 100, 110
 Paratyphus 14
 Pasteurisieren 12
 pathogen 18, 33, 90
Penicillium notatum 13
 Penizillin 13, 142
 Pepton 23
 Petrischale 22
 Pflanzenschutzmittel 16 f.
 Photosynthese 59, 123
 Phototaxis 148
 Phototropismus 150
 pH-Wert 32, 88
 Phytoflagellaten 72
 Phytoplankton 94
 Pilze 10, 15, 68 f.
 – Gestalt 63 f.
 – Vermehrung 64
 Plankton 93
 Plastiden 59, 61
 Plattengußverfahren 38, 82
 Pocken 14
 Protein 135
 Proteinsynthese 136
 Protokoll 43
 Protozoen 95
 – Bau 72
 – Form 74
 – Gestalt 72, 74
 – Größe 73
 pulsierende Vakuole 73
 Pyrogallol-Verfahren 123

R

Reagenzien 23
 Reinhaltung der Luft 78

Reinkultur 36, 38
 Reservestoff 47, 57, 59, 63, 70
 Resistenz 16, 51, 92, 141
 Rhizobium 101
 Rhizopoda 72
 RNS, Ribonukleinsäure 135
 Rotlauf 15
 Ruhr 14

S

Saccharomyces 128
 – *carlsbergensis* 111
 – *cerevisiae* 66, 68, 71, 111, 126, 128
 Sauerstoff 39, 121
 Sauermilch 17
 Scharlach 14
 Schimmelpilze 111, 116
 Schlauchpilze 63
 Schnellkochtopf 19, 35
 Schrägröhrchen 32
 Schülermikroskop 24
 Schutzimpfung 12 ff.
 Schwarzbeinigkeit 103
 Silberliniensystem 75
 Silage 17, 130
 Spatel 20
Sphaerotilus natans 97
 Spirillen 54
 Sporen 11, 34, 47, 51, 68, 92
 Sporentierchen 72
Sporozoa 72
 Sproßpilze 63
 Sprossung 66
 Steilbrustflasche 22
Stentor 101
 Sterilisation 33, 36
 StICKkultur 37, 140
 Stickstoff 17, 101
 – stoffwechsel 135
 Stoffkreislauf 11, 136
 Stoffwechsel 10, 121
Streptococcus thermophilus 115
 Streptomycin 13
 Sukzessionen 100
 Symbiose 100 f.

T

Tabakmosaikvirus 13
 Taxien 147
 Teilungen 10

Temperatur 11, 39, 92, 107, 113, 116
 tierische Einzeller 74
 Tollwut 14 ff.
 Toxine 111, 116
 Trikarbonsäurezyklus 125
 Trinkwasser 90 f.
 Trockennährbouillon 23
 Tropismen 147
 Tuberkulose 13 f.
 Typhus 14

U

Übertragung von Keimen 36, 109
 Umweltfaktoren 11, 78
 Urpilze 63
 UV-Strahlen 11, 33, 78, 145

V

Vakuole 70
 Verdünnungsreihen 38, 83, 88
 Vermehrung 11, 38 f., 47, 57, 60, 64, 66, 121, 145
 Viren 10, 15
 Vorbeugungsmaßnahmen 15
Vorticella 101

W

Wachstumskurve 141
 Wasser 18, 90 f.
 – blüte 58
 Wechseltierchen 73
 Wimpertierchen 72
 Wundstarrkrampf 14
 Wurzelfüßer 72
 Wurzelknöllchen 13, 17, 101

X

Xylol 24

Z

Zählkammer 26, 30 f., 95
 Zellkern 62 f., 72
 Zellulose
 – abbau 133
 Zellwand 53, 63, 69
 Zilien 75
 Zooplankton 94
 Zucker 126
 Zyanobakterien 57
Zygomycetes 63
 Zyste 74, 100

Abbildungsnachweis

Fotos: Hochschul-Film- und Bildstelle der Karl-Marx-Universität Leipzig, Aufn.: Golzsch; außer 66/1 Dr. S. Kluge u. Dr. G. Menzel, Leipzig; 24/1 (links), 28/1, 35/1 H. Theuerkauf, Gotha; 117/1 Dr. J. Reiß, Bad Kreuznach.

