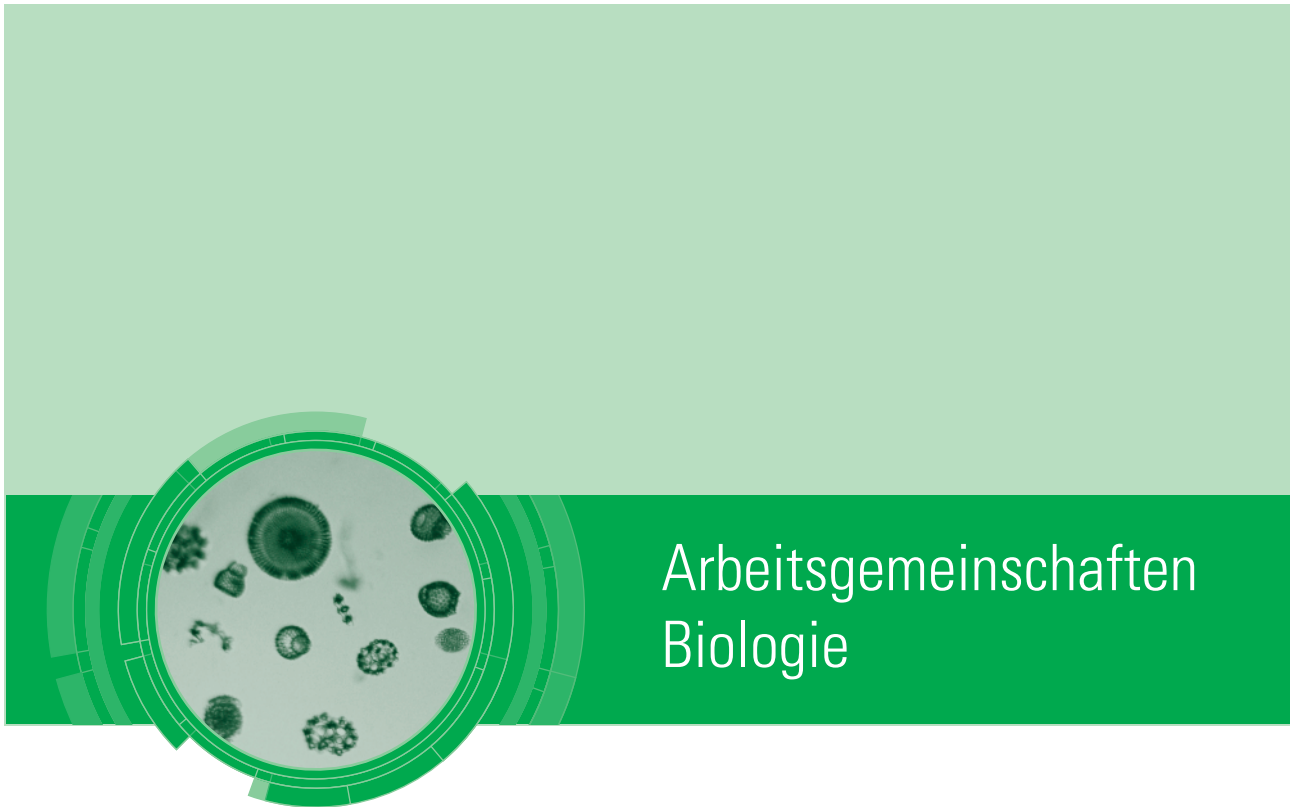


Arbeitsgebiet Biologie

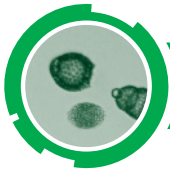
Arbeitsblätter zur Unterrichtsgestaltung
der Arbeitsgemeinschaften Biologie



Arbeitsgemeinschaften Biologie

Experimente Mikroskop

1. Aufbau des Mikroskops
2. Der Bau der Zellen
3. Pollen bricht aus
4. Fingerabdrücke von Pollen
5. Pollen in Honig



2. Der Bau der Zellen

Einführung

Am Beispiel der Zwiebel wollen wir mit Hilfe des Mikroskops den Bau der Zellen untersuchen.

Materialien:	Rote Küchenzwiebel	Deckglas
	Messer	Pipette
	Pinzette	Filterpapier
	Objektträger	Mikroskop

Chemikalien:	0.9 %-ige Kochsalzlösung (isotonisch)	Destilliertes Wasser
	10 %-ige Kochsalzlösung	Iod-Lösung

Durchführung:

Vorbereitung

1. Beschrifte vier Objektträger mit 1 – 4.
2. Schneide eine rote Küchenzwiebel in Viertel und trenne die Scheiben.
3. Schneide mit einem Messer ein kleines Quadrat auf der Innenseite einer Scheibe heraus.
4. Ziehe nun dieses Quadrat mit einer Pinzette vorsichtig ab und lege es auf den Objektträger 1.
5. Gib darauf einen Tropfen isotonische Kochsalzlösung und bedecke das Objekt mit einem Deckglas.
6. Stelle nach dieser Anleitung noch drei weitere Präparate auf den Objektträgern 2 – 4 her.

235

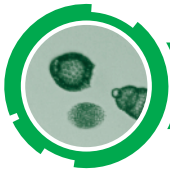
Herstellung der Präparate

1. Ziehe mit Hilfe des Filterpapiers 10 %-ige Salzlösung durch das Präparat Nr. 2.
2. Ziehe mit Hilfe des Filterpapiers destilliertes Wasser durch das Präparat Nr. 3.
3. Ziehe mit Hilfe des Filterpapiers Iodlösung durch das Präparat Nr. 4.

Mikroskopieren

1. Mikroskopiere die Epidermiszellen.
2. Fertige eine Skizze von den Bildern an.

Auswertung:	Was bewirkt die Zugabe der verschiedenen Lösungen?
--------------------	--



3. Pollen bricht aus

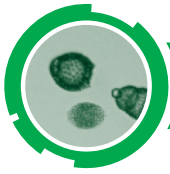
Materialien:	Objektträger Deckgläschen Petrischale Filterpapier	Mikroskop Blüten mit bereits aufgeplatzten Staubbeuteln Zuckerlösung (5 %-ig)
---------------------	---	--

Durchführung:	<ol style="list-style-type: none">1. Gib einen Tropfen Zuckerlösung auf einen Objektträger und bringe Blütenpollen aus den bereits aufgeplatzten Staubbeuteln in den Tropfen.2. Lege angefeuchtetes Filterpapier in eine Petrischale und den vorbereiteten Objektträger darauf.3. Verschließe die Petrischale mit einem Glasdeckel.4. Warte etwa eine halbe Stunde, nimm das Präparat aus der Petrischale und lege ein Deckgläschen auf das Objekt.5. Mikroskopiere und beobachte einige Zeit.
----------------------	--

236 Auswertung:	Welche Veränderungen lassen sich feststellen? Dokumentiere diese in mehreren Zeichnungen.
------------------------	---

Pollen enthalten männliche Geschlechtszellen. Versuche unter Berücksichtigung dieser Zusatzinformation die Deutung dieses Versuches.

Wie kann der Pollen auf die Narbe der Blüte gelangen? Informiere dich über verschiedene Möglichkeiten.



4. Fingerabdrücke von Pollen

Einführung

Pollen unterschiedlicher Blüten wollen wir unter dem Mikroskop untersuchen.

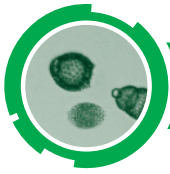
Materialien:	Uhrglas	Pipette
	Spatel	Trockenschrank
	Objektträger	Mikroskop
	Deckgläschen	Blüten

Chemikalien:	Aceton	Fruchtzuckerlösung (20 %-ig)
---------------------	--------	------------------------------

Sicherheit: Aceton nur unter einem Abzug verdunsten lassen!

- Durchführung:**
1. Gib einige Tropfen Aceton mit einer Pipette auf ein Uhrglas und wasche darin eine Blüte aus, bis eine kleine Menge Pollen ausgeschwemmt ist.
 2. Warte, bis das Aceton verdunstet ist. **Uhrglas unter den Abzug stellen!**
 3. Gib einige Tropfen der Fruchtzuckerlösung auf die angetrockneten Pollen auf dem Uhrglas und verrühre vorsichtig mit einem Spatel.
 4. Saug die Flüssigkeit mit einer Pipette auf und gib mehrere Tropfen nebeneinander auf den Objektträger.
 5. Trockne das Präparat bei 40°C etwa eine Stunde im Trockenschrank.
 6. Decke die Tropfen nach dem Trocknen mit Deckgläschen ab und mikroskopiere.

Auswertung: Stelle die größtmögliche Vergrößerung am Mikroskop ein und zeichne ein einzelnes Pollenkorn. Wenn du viele unterschiedliche Pollenkörner gezeichnet hast, kannst du ein Bestimmungsheft für die Pollenanalyse herstellen. Wofür könnte man es nutzen?



5. Pollen in Honig

Materialien:	Objektträger	Mikroskop
	Deckgläschen	Mehrere Sorten Honig
	Pipette	Wasser
	Trockenschrank	Bleistift

Durchführung:	<ol style="list-style-type: none">1. Gib etwas Honig mit der Pipette auf einen Objektträger.2. Lege ein Deckgläschen auf und verteile den Honig möglichst dünn durch vorsichtiges Andrücken des Deckgläschens mit dem stumpfen Ende eines Bleistiftes.3. Mikroskopiere das Präparat.
----------------------	--

Beobachtung:	Wie viele verschiedene Pollensorten kannst du in den einzelnen Honigsorten erkennen? Kannst du noch weitere Unterschiede erkennen?
---------------------	---

Auswertung:	Stelle die größtmögliche Vergrößerung am Mikroskop ein und zeichne die verschiedenen Pollen.
--------------------	--

Welche der untersuchten Honigsorten bezeichnest du als sortentypisch?

Was kann man mit dieser Untersuchung feststellen?

Lehrerinformation

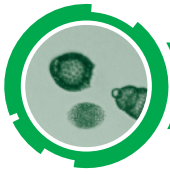
Es sollten möglichst viele unterschiedliche Honigsorten von den Schülern mitgebracht werden, damit verschiedene Pollen gefunden werden.

A circular inset image showing a microscopic view of various bacteria, including rod-shaped and spherical forms, some with flagella. The image is framed by a green, multi-layered circular border.

Arbeitsgemeinschaften Biologie

Experimente Bakterien

1. Wo leben Mikroorganismen?
2. Aufbau eines Bakteriums
3. Wie sieht *Escherichia coli* aus?
4. Herstellung von Nährmedium und Platten für *Escherichia coli*
5. Sterilisation und Desinfektion



1. Wo leben Mikroorganismen?

Einführung

Mikroorganismen nennt man die kleinsten Lebewesen auf Erden. Zu ihnen gehören u.a. die Bakterien. Sie sind die einfachsten aller bekannten Lebewesen. Sie bestehen aus einer einzigen Zelle, dem Grundbaustein aller lebenden Organismen. Bakterien waren die ersten Lebewesen auf der Erde. Es gibt sie schon mehr als 3 Milliarden Jahre.

Bakterien haben fast jeden Lebensraum auf der Erde erobert. Es gibt Bakterien, die im Erdboden, im Wasser, in oder auf anderen Lebewesen leben. Sie können mit oder ohne Sauerstoff leben. Die verschiedenen Arten haben sich auf unterschiedlichste Temperaturen eingestellt. Kein Wunder, dass auch der Mensch von Bakterien besiedelt ist. An und in jedem Menschen leben ca. 100 Trillionen (= 100.000.000.000.000.000) Bakterien. Es gibt also über 10 Millionen mal mehr Bakterien auf jedem Menschen als insgesamt Menschen auf der Erde. Auf jedem Quadratzentimeter der menschlichen Haut leben ca. 100.000 Bakterien. Ein Teelöffel Erdboden enthält mehr als 1 Milliarde (1.000.000.000) Bakterien.

240 In diesem Versuch wollen wir schauen, wie viele Keime wir in der Luft, in Flüssigkeiten und auf Oberflächen finden können.

Materialien:	Erlenmeyerkolben 1 l Wattestopfen Alufolie Magnetrührer mit Heizung und Rührfisch	Petrischalen Messzylinder 500 ml Pipetten 100 µl Papiertuch Wasserfester Eddingstift
---------------------	---	--

Chemikalien:	FP-Agar (Nähragar = Nutrient Agar, von Merck) Desinfektionsmittel Wasser
---------------------	--

Sicherheit:

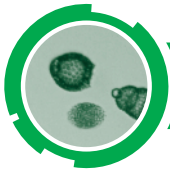


Benutze Wärmeschutz-Handschuhe, wenn du mit heißen Gefäßen arbeitest!

Durchführung:

Herstellung der Agar-Platten

1. Wiege 10 g Agar in einen Erlenmeyerkolben ein und löse es in 500 ml Wasser.
2. Gib einen Rührfisch in den Erlenmeyerkolben und verschließe den Kolben mit Alufolie.
3. Stelle den Erlenmeyerkolben auf den Magnetrührer und lass das Agar-medium unter Rühren aufkochen.
4. Lass das Medium anschließend unter Rühren auf ca. 50°C abkühlen. Bei dieser Temperatur kannst du deine Hand schon kurz an das Glas halten, ohne dass es für dich zu heiß wird. Das Glas ist aber noch so heiß, dass du besser Wärmeschutz-Handschuhe anziehst.



1. Wo leben Mikroorganismen?

Durchführung:

Herstellung der Agar-Platten (Fortsetzung)

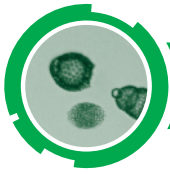
5. Bereite die Petrischalen vor und beschrifte sie mit **FP**.
6. Nimm den Erlenmeyerkolben vorsichtig mit **Wärmeschutz-Handschuhen** vom Magnetrührer, lege ein Papiertuch um den Kolbenhals zum Fixieren und entferne die Alukappe.
7. Hebe mit einer Hand den Deckel einer Petrischale an, gieße das Agarmedium in die Schale, so dass der Boden bedeckt ist, und schließe sie.
8. Schiebe die bereits gegossenen Platten vorsichtig zur Seite und lass sie aushärten.

Nachweis der Keime

1. Beschrifte eine Agarplatte mit deinem **Namen, Datum und „Luft“**.
Nimm für 10 Minuten den Deckel ab, verschließe anschließend die Platte wieder.
2. Beschrifte eine Agarplatte mit deinem **Namen, Datum und „Leitungswasser“**. **241**
Gib 100 µl Leitungswasser mit einer Pipette auf die Platte.
3. Beschrifte eine Agarplatte mit deinem **Namen, Datum und „Finger“**.
Drücke deinen Finger kurz auf den Agar und verschließe die Platte wieder.
4. Drehe alle Platten um und inkubiere sie im Dunkeln bei Raumtemperatur mehrere Tage, indem du sie in einen Schrank stellst oder in Alufolie einwickelst.
5. Statt Leitungswasser und Fingern kannst du natürlich auch andere Flüssigkeiten und Oberflächen untersuchen.

Auswertung:

1. Zähle alle Kolonien auf jeder Platte (= Gesamtkolonienzahl).
2. Gib die Zahl verschiedener Kolonien auf jeder Platte an.
3. Beschreibe einzelne Kolonien (z.B. deren Größe, Farbe, Umriss, Profil und Oberfläche).



1. Wo leben Mikroorganismen?

Lehrerinformation

Bakterien als Krankheitserreger

Die *E.coli* K12-Bakterien, mit denen wir arbeiten, sind völlig harmlose Darmbakterien. Es gibt aber auch Bakterienarten, die beim Menschen Krankheiten auslösen, da sie sich auf den Befall bestimmter Gewebe, Organe und Körperhöhlräume spezialisiert haben. Im Folgenden sind einige Beispiele für solche Bakterien und Krankheiten, die sie hervorrufen, aufgeführt:

- *Bordetella pertussis* Keuchhusten
- *Helicobacter pylori* Magenschleimhautentzündung
- *Salmonella typhi* Typhus
- *Yersinia pestis* Pest
- *Mycoplasma tuberculosis* Infektionskrankheiten, vor allem der Atemorgane
- *Clostridium tetani* Tetanus (Wundstarrkrampf)
- *Streptococcus pyogenes* Scharlach
- *Mycobacterium leprae* Lepra
- *Haemophilus influenzae* Hirnhautentzündung; Atemwegsinfekte

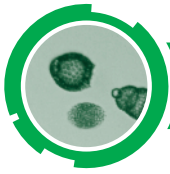
Selbst wenn wir krankheitserregenden Bakterien ausgesetzt sind, werden wir normalerweise nicht gleich krank. Das liegt daran, dass der Mensch ein natürliches System zur Abwehr von Krankheitserregern besitzt – das Immunsystem. Das Immunsystem kann die Bakterienzellen in der Regel abtöten, bevor wir überhaupt etwas spüren. Erst wenn wir großen Mengen von krankheitserregenden Bakterien ausgesetzt sind oder unser Immunsystem geschwächt ist, bemerken wir die Reaktion unseres Körpers, z.B. in Form von Fieber, Durchfall, Übelkeit, Kopfschmerzen oder Schüttelfrost. Unser Immunsystem läuft dann auf Hochtouren und wird oft im Verlauf von Tagen oder Wochen mit den angreifenden Bakterien fertig.

Wenn unser Immunsystem die Bakterien jedoch nicht effektiv bekämpfen kann, verschreibt der Arzt Medikamente, die die Bakterien in unserem Körper abtöten, sog. Antibiotika. Das erste Antibiotikum, das zur Bekämpfung von Krankheiten eingesetzt wurde, war Penicillin. Erst seit ca. 60 Jahren wird es industriell hergestellt. In den letzten Jahrzehnten haben Forscher viele weitere Antibiotika entdeckt und weiterentwickelt, mit deren Hilfe man heute die meisten bakteriellen Krankheiten wirksam bekämpfen kann.

Nützliche Bakterien

Bakterien schaden nicht nur, häufig sind sie sogar von großem Nutzen. Einige Beispiele für nützliche Bakterien:

- In unserem Verdauungssystem leben Bakterien, die uns bei der Verdauung helfen oder Vitamine herstellen, die unser Körper benötigt. Zu diesen zählen z.B. *Proteus vulgaris* und *Escherichia coli*, der im Labor leicht zu kultivieren ist.
- Zahlreiche Bakterien im Erdboden zersetzen Abfälle oder Pflanzen- und Tierüberreste und wandeln so giftige oder unnütze Stoffe in Nährstoffe um. Es gibt auch Bakterien, die Öl zersetzen können. Diese Bakterien können dazu genutzt werden, Öl schneller abzubauen, das bei einer Ölpest in das Meer ausgetreten ist. Das ist sehr wichtig, da schon eine geringe Menge Öl das Wasser so verseucht, dass viele Wassertiere sterben.
- Außerdem werden einige Bakterienarten zur Nahrungsherstellung verwendet. Ein Beispiel ist *Lactobacillus*, das bei der Joghurtherstellung eingesetzt wird.
- Bakterien können so verändert werden, dass sie nützliche Substanzen für den Menschen herstellen. Beispielsweise wird heute Insulin, ein wichtiges Medikament für Patienten mit Zuckerkrankheit (Diabetes), von Bakterien hergestellt.



2. Aufbau eines Bakteriums

Einführung

Bakterien sind klein

Mit bloßem Auge kann man Bakterien nicht erkennen – sie sind nur 1 – 5 Mikrometer lang. Ein Mikrometer ist ein Tausendstel Millimeter. Man müsste also 200 – 1000 Bakterien aneinander reihen, um eine Strecke von einem Millimeter auszufüllen. Da Bakterien so klein sind, müssen wir Mikroskope benutzen, um Bakterien beobachten zu können.

Aufbau eines Bakteriums: die Bakterienzelle

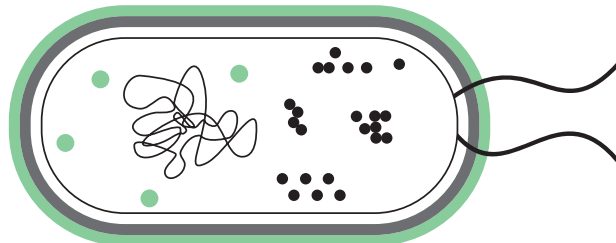
Jedes Bakterium besteht aus nur einer Zelle. Die Zelle wird von einer Hülle begrenzt, der Zellmembran. Sie umgibt das Zellplasma. Im Zellplasma laufen alle Prozesse ab, die die Zelle zur Energiegewinnung und zur Vermehrung benötigt. Dort befinden sich z.B. das Erbmateriale (DNA) und die Zellbestandteile, die zur Herstellung von Eiweißen oder Zuckern notwendig sind. Bei Bakterien wird die Zellmembran zusätzlich noch von einer Zellwand umgeben, die den Zellen ihre Festigkeit und ihr charakteristisches Aussehen verleiht. Mit zwei fadenförmigen Geißeln bewegen manche Bakterien sich fort.

Unter optimalen Wachstumsbedingungen teilen sich Bakterien alle 20 Minuten. Das bedeutet, dass aus einer Zelle nach 20 Minuten 2 Zellen entstanden sind, nach 40 Minuten 4 Zellen, nach 60 Minuten 8 Zellen usw.

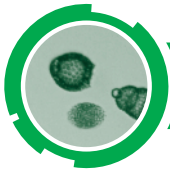
243

Aufgabe:

1. Beschrifte die schematisch dargestellte Bakterienzelle:



2. Wie viele Zellen kann eine Zelle in 80 Minuten bilden? _____
3. Und wie viele Zellen kann eine Zelle in 2 Stunden bilden? _____
4. Nach 12 Stunden entspräche die Zellmasse theoretisch der Größe eines Apfels, nach ca. 36 Stunden der Masse der Erde. Warum ist die Erde dann noch nicht von Bakterien bedeckt?



3. Wie sieht *Escherichia coli* aus?

Einführung

Es gibt Tausende von Bakterienarten. Je nach ihrer Gestalt lassen sie sich einer der folgenden Grundformen zuordnen:

- Kokken: kugelförmig
- Stäbchen: stäbchenförmig
- Spirillen: spiralförmig

Wir werden mit dem Bakterium *Escherichia coli* (*E.coli*) K12 arbeiten, einem harmlosen Darmbakterium. Wir wollen es anfärben und mikroskopieren.

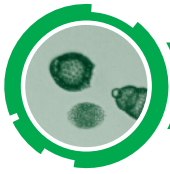
Materialien:	Mikroskop Objektträger Papiertücher Holzklammer	Glaspetrischale oder Becherglas 250 ml mit Glasdeckel (für Ethanol) Bunsenbrenner Einmalpipetten
---------------------	--	--

244

Chemikalien:	Meliseptol (Desinfektionsmittel) Ethanol Bakteriensuspension von <i>E.coli</i> (ca. 10^9 Zellen/ml)	Methylenblau-Lösung Wasser Immersionsöl
---------------------	---	---

Sicherheit:	Lange Haare müssen nach hinten zusammengebunden werden, wenn mit einer offenen Flamme gearbeitet wird! Das Ethanol muss mindestens 30 cm vom Bunsenbrenner entfernt sein!
--------------------	--

Durchführung:	Färben <ol style="list-style-type: none">1. Desinfiziere den Labortisch mit Meliseptol.2. Nimm die Objektträger aus dem Ethanolbad und trockne sie mit einem Papiertuch ab.3. Fass die Objektträger mit der Holzklammer an und ziehe sie kurz durch die Flamme des Bunsenbrenners.4. Lege die abgeflammtten Objektträger direkt auf den Labortisch.5. Gib mit einer Einmalpipette zwei Tropfen Bakteriensuspension auf den Objektträger und ziehe den Objektträger noch einmal kurz durch die Flamme (Holzklammer benutzen!).6. Lass den Objektträger abkühlen.7. Gib mit einer Einmalpipette zwei Tropfen Methylenblau-Lösung auf die Hitze fixierten Zellen und lass sie 45 Sekunden einwirken.8. Gieße die Färbelösung ab, spüle mit Wasser nach und lass den Objektträger trocknen.
----------------------	--



3. Wie sieht *Escherichia coli* aus?

Durchführung:

Mikroskopieren

1. Gib einen Tropfen Immersionsöl auf das Objekt.
2. Lege den Objektträger auf den Objektstisch des Mikroskops und stelle den Objektrevolver so ein, dass das Ölimmersionsobjektiv benutzt werden kann.
3. Jetzt fahre den Objektstisch vorsichtig mit der Grobeinstellung so weit nach oben, bis das Objektiv gerade in den Öltropfen eintaucht.
4. Beobachte durch das Okular das Objekt und reguliere mit der Feineinstellung die Schärfe.

Auswertung:

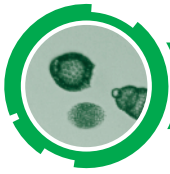
Zeichne, was du durch das Mikroskop siehst.

Zu welcher der drei Bakteriengrundformen gehört *E.coli* ?

Lehrerinformation

Zur Herstellung einer Bakteriensuspension von *E.coli* werden 10 ml Flüssigmedium (siehe Arbeitsblatt 7/11) in einem 100 ml-Erlenmeyerkolben unter Rühren aufgekocht. Der Kolben wird mit Alufolie verschlossen und nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit allen Kolonien von einer *E.coli*-Agarplatte beimpft, damit genügend Bakterien in der Suspension sind. Diese muss vor der Benutzung gründlich geschüttelt werden.

Hitzefixierung bedeutet, dass dem Tropfen Bakteriensuspension von *E.coli*, den wir auftragen, das Wasser durch die Hitze entzogen wird. Somit können die Bakterien sich auf dem Objektträger nicht mehr bewegen und sind fixiert. Sonst würden sie bei der nachfolgenden Färbung mit der Methylenblau-Lösung davon schwimmen.



4. Herstellung von Nährmedium und Platten für *Escherichia coli*

Einführung

Escherichia coli benötigt ein Flüssigmedium oder Platten, um darauf im Labor zu wachsen.

Materialien:	2 Erlenmeyerkolben Weithals 1 l Spatel Waage Messzylinder 500 ml Magnetrührer mit Heizung und Rührfisch	Petrischalen Alufolie Papiertücher Wasserfester Eddingstift
---------------------	--	--

Chemikalien:	Bacto-Tryptone (von Merck) Yeast-Extract (von Merck) Kochsalz (NaCl)	Destilliertes Wasser Agar
---------------------	--	------------------------------

246

Sicherheit:



Benutze Wärmeschutz-Handschuhe, wenn du mit heißen Gefäßen arbeitest!

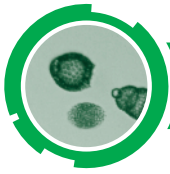
Durchführung:

Herstellung des Nährmediums LB

- Wiege in den Erlenmeyerkolben nacheinander ein:
5.0 g Bacto-Tryptone
2.5 g Yeast-Extract
5.0 g Kochsalz
Nach jeder Substanz wird der Spatel gereinigt und die Waage neu tariert.
- Gib 400 ml destilliertes Wasser aus dem Messzylinder und einen Rührfisch dazu und lass das Medium auf dem Magnetrührer rühren, bis es klar ist.
- Gib das flüssige Medium in einen 500 ml Messzylinder und fülle bis zur 500 ml Marke mit destilliertem Wasser auf.

Herstellung von LB-Platten

- Wiege 10 g Agar in den 1 l Erlenmeyerkolben ein und gieße das Medium hinzu.
- Stelle den Kolben auf den Magnetrührer und lass das Medium unter Rühren aufkochen.
- Verschließe den Kolben mit Alufolie und lass das Agarmedium unter Rühren bis auf ca. 50°C abkühlen. Bei dieser Temperatur kannst du deine Hand schon kurz an das Glas halten, ohne dass es für dich zu heiß wird. Das Glas ist aber noch so heiß, dass du besser Wärmeschutz-Handschuhe anziehst.
- Bereite die Petrischalen vor und beschrifte sie mit **LB und dem Datum** am Rande des Bodens.



4. Herstellung von Nährmedium und Platten für *Escherichia coli*

Durchführung:

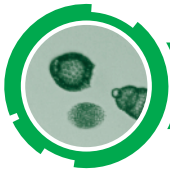
Herstellung von LB-Platten (Fortsetzung)

5. Nimm den Erlenmeyerkolben vorsichtig mit **Wärmeschutz-Handschuhen** vom Magnetrührer, lege ein Papiertuch um den Kolbenhals und entferne die Alukappe.
6. Hebe mit einer Hand den Deckel der Petrischale an, gieße Agarmedium in die Schale, so dass der Boden bedeckt ist, und schließe den Deckel.
7. Schiebe bereits gegossene Platten vorsichtig zur Seite und lass sie aushärten.
8. Wenn die Platten fest sind, drehe sie um, so dass der Boden oben ist. So tropft kein Kondenswasser auf das Medium.

Lehrerinformation

LB ist die Abkürzung für Luria und Bertani, die die Rezeptur für das Medium entwickelten.

Die fertig gegossenen Platten werden mit dem Boden nach oben luftdicht verpackt gelagert, damit sie nicht austrocknen. Im Kühlschrank sind sie ca. 7 Tage haltbar.



5. Sterilisation und Desinfektion

Einführung

Sterilisation

Sterilisation oder Sterilisieren nennt man das vollständige Entfernen oder Abtöten von Mikroorganismen.

Beispiele für Sterilisationsmethoden

- Feuchte Hitze: 15 – 20 Minuten bei 121°C in Wasserdampf gesättigter Umgebung (Autoklav = Dampfdrucksterilisator), z.B. für flüssige Nährmedien geeignet
- Trockene Hitze: 1 – 2 Stunden bei 160 – 180°C, z.B. für Glasgeräte geeignet
- Sterilfiltration: durch Filter mit einer Porengröße von 0.2 - 0.45 µm, geeignet für die Sterilisation von hitzelabilen Lösungen, kann Viren nicht entfernen
- UV- oder ionisierende Strahlung: zerstört das Erbmateriale der Zellen bzw. die Zellen selbst

Desinfektion

Im Gegensatz zur Sterilisation ist die Desinfektion die Reduktion (Verminderung) der Keimzahl durch weitgehendes Entfernen oder Abtöten von Mikroorganismen. Sporen oder Viren werden nicht unbedingt inaktiviert.

248

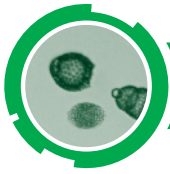
Beispiele für Desinfektionsmittel

- Alkohole (70%-iges Ethanol, Isopropanol)
- Ozon
- Verschiedene kommerzielle Mittel (z.B. Meliseptol), die häufig eine Kombination von bakterien- und virenabtötenden Substanzen enthalten.

Materialien:	7 sterile Eppendorfgefäße Thermoblock Parafilm Pipetten 200 µl Drigalski-Spatel Bunsenbrenner	Einmalspritze 1 ml Sterilfilter (Porengröße 0.2 µm) Wasserfester Eddingstift Glaspetrischale oder Becherglas 250 ml mit Glasdeckel (für Ethanol)
---------------------	--	--

Chemikalien:	3 ml Stammlösung von <i>E.coli</i> Ethanol Seifenlösung	Desinfektionsmittel 7 LB-Agarplatten (selbst hergestellt, siehe Arbeitsblatt 7/11)
---------------------	---	--

Sicherheit:	Lange Haare müssen nach hinten zusammengebunden werden, wenn mit einer offenen Flamme gearbeitet wird! Das Ethanol muss mindestens 30 cm vom Bunsenbrenner entfernt sein!
--------------------	--



5. Sterilisation und Desinfektion

Aufgabe:

Du sollst jeweils einen Teil der Stammlösung von *E.coli* K12 verschiedenen Desinfektions- oder Sterilisationsmethoden aussetzen und anschließend auf Nährbodenplatten ausplattieren.

Nach den verschiedenen Behandlungen (Einwirkzeit beachten!) sollst du jeweils 100 – 300 µl Zellsuspension ausplattieren (dies entspricht immer der gleichen Ausgangszellzahl).

In der nächsten Schulstunde sollst du analysieren, welche der Methoden wirksam waren. Als Kontrolle dient dir die unbehandelte Bakterienlösung.

Durchführung:

Vorbereitung

1. Beschrifte 7 sterile Eppendorfgefäße mit 1 – 7. Gib jeweils 200 µl der Bakterien-Stammlösung in die Eppendorfgefäße 1 – 6. Lass Gefäß 7 leer.
2. Beschrifte die LB-Agarplatten mit 1 – 7.

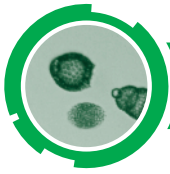
Ausplattieren

Die Methode des Ausplattierens benötigst du in den folgenden Arbeitsschritten. Gehe dazu wie folgt vor:

1. Gib die Bakterienlösung auf die Platte.
2. Tauche den Drigalski-Spatel in Ethanol und flamme das Lösungsmittel ab. Halte dabei das Dreieck des Spatels nach unten, damit dir das Ethanol nicht auf die Finger läuft. Lass den Spatel abkühlen.
3. Verteile die Bakteriensuspension mit Hilfe des Spatels gleichmäßig auf der Platte.

Herstellung der verschiedenen Platten

1. Gib 100 µl von Gefäß 1 auf die Platte 1 und plattiere aus.
2. Fixiere den Deckel von Gefäß 2 mit Parafilm. Das verhindert das Aufspringen des Deckels während des Erhitzens. Inkubiere (erwärme) die Probe 2 Minuten bei 90°C im Thermoblock. Gib anschließend 100 µl von Gefäß 2 auf die Platte 2 und plattiere aus.
3. Fixiere den Deckel von Gefäß 3 mit Parafilm und inkubiere 10 Minuten bei 90°C im Thermoblock. Gib anschließend 100 µl von Gefäß 3 auf die Platte 3 und plattiere aus.
4. Gib 400 µl Ethanol zu Gefäß 4. Gib nach 10 Minuten 300 µl von Gefäß 4 auf die Platte 4 und plattiere aus.
5. Gib 100 µl Seifenlösung zu Gefäß 5. Gib nach 10 Minuten 150 µl aus Gefäß 5 auf die Platte 5 und plattiere aus.
6. Gib 100 µl Desinfektionslösung zu Gefäß 6. Gib nach 10 Minuten 150 µl aus Gefäß 6 auf die Platte 6 und plattiere aus.



5. Sterilisation und Desinfektion

Durchführung:

Herstellung der verschiedenen Platten (Fortsetzung)

7. Ziehe den Stempel aus der Einmalspritze. Setze die Spritze auf einen Sterilfilter. **Vorsicht:** Berühre die Unterseite des Sterilfilters nicht! Gib 1000 µl der Bakterienstammlösung in die Spritze und setze den Stempel wieder auf. Presse den Spritzeninhalt langsam durch den Filter in das frische Gefäß 7. Gib davon 100 µl auf die Platte 7 und plattiere aus.

Auswertung:

Fass die Ergebnisse der unterschiedlichen Behandlungen in der Tabelle zusammen. Zähle, wenn möglich, die Kolonien auf den Platten und vergleiche mit der Kontrolle.

Versuchsbedingungen	Gefäß	Anzahl der Kolonien	Vergleich mit der Kontrolle [%]
Kontrolle	1		100
2 min bei 90°C	2		
10 min bei 90°C	3		
Ethanol	4		
Seifenlösung	5		
Desinfektionsmittel	6		
Sterilfiltration	7		

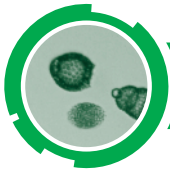
250



Arbeitsgemeinschaften Biologie

Experimente Tomaten

1. Keimungsversuche mit Tomaten
2. Düngertest mit Tomaten
3. DNA-Isolierung aus Tomaten



1. Keimungsversuche mit Tomaten

Einführung

Wir wollen die Keimung von Tomatensamen beobachten. Durch die Veränderung von Versuchsbedingungen wie Licht, Temperatur, Feuchtigkeit und Medium wollen wir die optimalen Bedingungen für eine Keimung herausfinden.

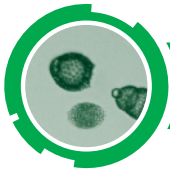
Materialien:	Petrischalen	Filterpapier
	Tomatensaatgut	Watte
	Erde	

Durchführung:	1. Beschrifte eine Petrischale mit deinem Namen, Datum und den Versuchsbedingungen , die du dir ausgesucht hast (z.B. Erde, hell, trocken und warm).
	2. Gib dein Medium (Erde, Watte oder Filterpapier) in die Petrischale und lege 10 Tomatensamen auf das Medium.
	3. Stelle die Schale an einen Ort, der deinen Versuchsbedingungen entspricht.
	4. Schau täglich nach deinem Keim und bewässere ihn entsprechend deinen Bedingungen.

Beobachtung: Welche Unterschiede siehst du nach einer Woche?

Auswertung: Fass deine Ergebnisse in der Tabelle zusammen (Länge von Wurzel und Spross). Unter welchen Bedingungen kommt das Saatgut am besten zur Keimung? Erkläre die Unterschiede.

Bedingungen				Ergebnisse	
Medium	Temperatur	Licht	Feuchtigkeit	Wurzellänge	Sprosslänge



2. Düngertest mit Tomaten

Aufgabe: Der Einfluss von unterschiedlich konzentrierten Düngerlösungen auf das Wachstum von Tomatenkeimlingen soll untersucht werden. Die Tomatenkeimlinge sollen in den folgenden Wochen mit verschiedenen Konzentrationen an Dünger regelmäßig gegossen werden:

1. 0,05%-ige Düngerlösung
2. 0,1%-ige Düngerlösung
3. 10%-ige Düngerlösung
4. nur Wasser

Materialien:

Messzylinder 100 ml	4 Blumentöpfe
4 Bechergläser 1 l	Dünger
Tomatenkeimlinge	Wasserfester Eddingstift
Erde	

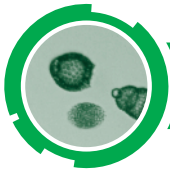
Durchführung:

1. Rechne aus, wie viel Dünger du für die einzelnen Konzentrationen benötigst, um einen Liter Düngerlösung anzusetzen.
2. Beschrifte die Bechergläser mit 1 – 4 und setze darin die unterschiedlichen Düngerlösungen an.
3. Beschrifte die Blumentöpfe mit einem wasserfesten Eddingstift ebenfalls mit 1 – 4. Der Blumentopf 1 wird später mit der Düngerlösung 1 gegossen.
4. Setze (pikiere) jeweils einen Keimling in einen Topf.
5. Gieße die Pflanzen in den nächsten Wochen täglich (nach Bedarf) mit der entsprechenden Düngerlösung.

253

Auswertung: Dokumentiere in den kommenden Wochen die Entwicklung der Pflanzen in einer Tabelle. Beachte vor allem die Größe und Anzahl der Blätter sowie die Farbe der Pflanzen.
Erkläre die Unterschiede zwischen den verschiedenen Düngerkonzentrationen. Welches ist die optimale Düngerkonzentration?

Dünger	Größe der Blätter	Anzahl der Blätter	Farbe der Pflanze
0,05%-iger Dünger			
0,1%-iger Dünger			
10%-iger Dünger			
Wasser (Vergleich)			



3. DNA-Isolierung aus Tomaten

Einführung

Das Erbmateriale, die DNA, ist in jeder einzelnen Zelle enthalten. Wir nehmen täglich mit der Nahrung ca. 8 g DNA von Pflanzen und Tieren zu uns.

Materialien:	Tomaten Küchenbrett Messer und Gabel Becherglas 100 ml Trichter Erlenmeyerkolben 250 ml	Kunststoffröhrchen mit Deckel 15 ml Eppendorfröhrchen Holzschaschlikspieße Pipetten 10 ml Papierfilter oder Zellstofftücher
---------------------	--	---

Chemikalien:	Extraktionspuffer (1 l enthält 8.8 g Natriumchlorid und 44 g Natriumcitrat)	Ethanol 95%-ig Detergens (farbloses Spülmittel-Wasser-Gemisch im Verhältnis 1:1)
---------------------	---	---

254

Durchführung:

Vorbereitung

1. Schneide ein Stück Tomate (ein Viertel) in sehr kleine Stücke und zerdrücke es mit der Gabel.
2. Mische in einem Becherglas 12 ml Extraktionspuffer und 3 ml Detergens.
3. Gib die zerdrückte Tomate hinzu und durchmische gut.
4. Filtriere das Gemisch durch einen mit Wasser angefeuchteten Filter in den Erlenmeyerkolben. Wirf den Papierfilter mit den Tomatenresten anschließend weg.

DNA-Isolierung

1. Gib 1 ml von der filtrierten Lösung in ein Kunststoffröhrchen, füge 1 ml Wasser hinzu und mische.
2. Übersichtige vorsichtig mit 8 ml Ethanol. Es bilden sich zwei Phasen: Oben ist die alkoholische Phase und unten die wässrige Phase.
3. Zwischen den beiden Phasen bildet sich eine weißliche Substanz. Das ist die DNA. Wenn man die zwei Phasen vorsichtig mischt, sollte sich noch mehr weißliche Substanz bilden.
4. Hole mit Hilfe eines Holzschaschlikspießes die DNA aus dem Röhrchen heraus und gib sie in ein Eppendorfgefäß.

Lehrerinformation

Anstelle der Tomate sind ebenso andere Pflanzen geeignet, z.B. Banane, Kiwi oder rote Paprika.