

## Καλλιέργειες μικροοργανισμών με απλά υλικά\*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

#### ΓΕΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Οι μικροοργανισμοί είναι μονοκύτταροι ζωντανοί οργανισμοί, πάρα πολύ μικροί για να είναι ορατοί με γυμνό μάτι. Βρίσκονται σχεδόν παντού, στο περιβάλλον, στο σώμα μας, σε κάθε αντικείμενο που βρίσκεται γύρω μας. Παρόλο που δεν μπορούμε να δούμε τα μεμονωμένα κύτταρα των μικροοργανισμών με γυμνό μάτι, έχουμε τη δυνατότητα να συλλέξουμε και να καλλιεργήσουμε στο εργαστήριο τους περισσότερους από αυτούς (ειδικά τα βακτήρια και το ζυμομύκητα).

Η καλλιέργεια μπορεί να γίνει σε ειδικά παρασκευασμένα πιάτα (τρυβλία Petri), που περιέχουν στερεά θρεπτικά υλικά. Όταν ο μικροοργανισμός πολλαπλασιάζεται πάνω στη στερεή επιφάνεια, τα νέα κύτταρα που προέρχονται από ένα αρχικό κύτταρο παραμένουν κοντά σε αυτό, σχηματίζοντας μια αποικία. Η αποικία έχει χαρακτηριστική μορφολογία για τους διάφορους μικροοργανισμούς και είναι ορατή με γυμνό μάτι. Η ζελατίνη που χρησιμοποιούμε στη μαγειρική και τη ζαχαροπλαστική είναι ένα εξαιρετικό υλικό, που δημιουργεί μια στερεή επιφάνεια κατάλληλη για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, ενώ ταυτόχρονα, με την προσθήκη ζάχαρης στο θρεπτικό υλικό τους παρέχονται και τα απαιτούμενα θρεπτικά συστατικά.



Η καλλιέργεια μικροβίων είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την επιστήμη και την ιατρική. Αν έχετε πονόλαιμο για παράδειγμα, ένας ειδικός γιατρός μπορεί να πάρει δείγμα από την επιφάνεια του φάρυγγά σας με μια ειδική μπατονέτα και να το καλλιεργήσει σε κατάλληλες συνθήκες, για να μάθετε ποιος τύπος βακτηρίων μπορεί να προκαλεί τον πονόλαιμο.

#### ΜΑΘΗΣΙΑΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Μετά το τέλος της άσκησης θα μπορείτε να:

- Καλλιεργείτε μικροοργανισμούς σε στερεό θρεπτικό υλικό.
- Διαπιστώνετε μακροσκοπικά την παρουσία των μικροοργανισμών στο περιβάλλον και στο σώμα σας, παρατηρώντας τις αποικίες που σχηματίζουν στις καλλιέργειες.

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Τα περισσότερα βακτήρια που συλλέγονται από το περιβάλλον και το σώμα μας δεν είναι επιβλαβή. Ωστόσο, μόλις πολλαπλασιαστούν στις καλλιέργειες και δημιουργήσουν εκατομμύρια αποικίες γίνονται περισσότερο επικίνδυνα. Φροντίστε να έχετε πάντα καλά καλυμμένα τα τρυβλία των καλλιεργειών σας με μεμβράνη και να φοράτε γάντια μιας χρήσεως όταν τις χειρίζεστε. Συνεχίστε να καλλιεργείτε τα τρυβλία κλειστά μέχρι να ολοκληρώσετε το πείραμά σας. Όταν ολοκληρώσετε την παρατήρηση θα πρέπει να τα παραδώσετε στον καθηγητή σας για να τα πετάξει με ασφάλεια.

\* Η άσκηση αποτελεί προσαρμογή του φύλλου εργασίας με τίτλο: «**Germ Experiment-Where Do Germs Grow in Your House??!**» [https://www.bgsu.edu/content/dam/BGSU/nwo/documents/STEMinPark/2016activity\\_cards\\_web/GermExperiment\\_2016.pdf](https://www.bgsu.edu/content/dam/BGSU/nwo/documents/STEMinPark/2016activity_cards_web/GermExperiment_2016.pdf) και επιπλέον προσθήκες από το φύλλο εργασίας με τίτλο: «**Culturing Microbes on Solid Medium**» <https://www.scientistsinschool.ca/wp-content/uploads/2017/05/CELL-Teacher-Resource-Package-2019-20.pdf>

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΣΚΕΥΗ

- Μη αρωματισμένη ζελατίνη σε σκόνη
- Ζάχαρη
- Νερό
- Ξηρή μαγιά (ζυμομήκυτας)
- Κουτάλι γλυκού
- Αλουμινόχαρτο
- Μπατονέτες
- Μικρό σκεύος για βρασμό
- Εστία βρασμού
- Πλαστικά ή μεταλλικά μπολάκια
- Ανεξίτηλος μαρκαδόρος
- Πλαστική μεμβράνη περιτυλίγματος
- Κολλητική ταινία
- Γάντια μιας χρήσης

### ΕΚΤΙΜΟΜΕΝΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ

- 30 λεπτά για την προετοιμασία των τρυβλίων και αναμονή 1 ημέρας μέχρι να πήξει καλά το θρεπτικό υλικό.
- 30 λεπτά για την προετοιμασία του διαλύματος ζυμομυκήτων, τη λήψη δειγμάτων και των επίστρωση των τρυβλίων.
- 3-4 ημέρες για την επώαση μέχρι την παρατήρηση των τρυβλίων.

### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΡΥΒΛΙΩΝ ΜΕ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

1. Βράστε 1 φλιτζάνι νερό.
2. Προσθέστε 4 κουταλάκια ζάχαρης και 4 κουταλάκια μη αρωματισμένης ζελατίνης.

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Κατά την παρασκευή του θρεπτικού υλικού ακολουθείτε τις γενικές οδηγίες παρασκευής της ζελατίνης που αναγράφονται στη συσκευασία της (πχ, σε ορισμένα προϊόντα απαιτείται αρχικά ανάμιξη της σκόνης ζελατίνης με ορισμένη ποσότητα κρύου νερού, αναμονή για ορισμένα λεπτά μέχρι να φουσκώσει η ζελατίνη και στη συνέχεια προσθήκη του βραστού υγρού που θέλετε να πήξει).

3. Ανακατέψτε μέχρι να διαλυθεί τελείως η ζελατίνη στο βραστό νερό.
4. Αφήστε το μίγμα στον πάγκο για 20 λεπτά περίπου, ώστε να πέσει η θερμοκρασία του και στη συνέχεια μοιράστε το στα μπολάκια που θα αποτελέσουν τα τρυβλία σας (μέχρι ύψους 1 cm περίπου).
5. Καλύψτε τα τρυβλία αμέσως με αλουμινόχαρτο για να μην μολυνθούν και αφήστε τα να σταθούν για μία ώρα περίπου σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Τοποθετήστε τα καλυμμένα στο ψυγείο για 24 ώρες.

### ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΤΡΥΒΛΙΩΝ

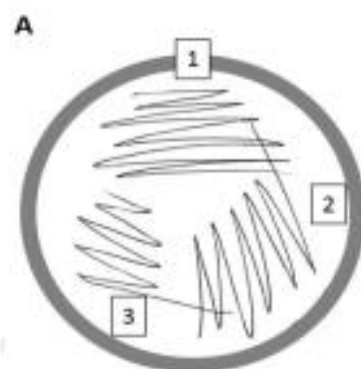
7. Διαλύστε 2 ¼ κουταλιές του γλυκού ξηρή μαγιά σε 1 κούπα χλιαρό νερό και περιμένετε για 15 λεπτά μέχρι να ενεργοποιηθεί η μαγιά.

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Για όσο διαρκούν οι χειρισμοί σας για τη λήψη των δειγμάτων και την επίστρωση των τρυβλίων, πρέπει να είστε ιδιαίτερα προσεκτικοί για να μην μολυνθούν οι καλλιέργειες. Διατηρείστε τα τρυβλία σκεπασμένα, έχετε καθαρά χέρια ή φοράτε γάντια και προσέχετε πώς αγγίζετε τις μπατονέτες, ώστε να μην τις μολύνετε. Καλύψτε καλά τα τρυβλία με διαφανή μεμβράνη αμέσως μετά την επίστρωσή τους και διατηρείστε τα κλειστά στο εξής. Για μεγαλύτερη ασφάλεια μπορείτε να χρησιμοποιήσετε κολλητική ταινία για να σταθεροποιήσετε καλύτερα τη μεμβράνη.

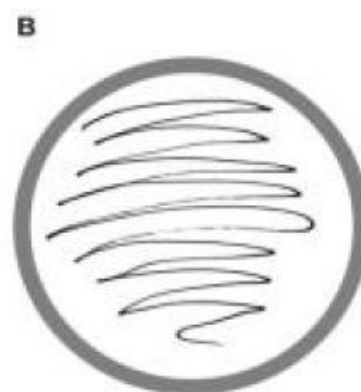
8. Αριθμήστε με τον ανεξίτηλο μαρκαδόρο τα τρυβλία πριν τη συλλογή των δειγμάτων. Τα δείγματά σας μπορεί να είναι τα ακόλουθα:

- Ένα τρυβλίο «**μάρτυρας**» το οποίο δεν θα το ανοίξετε καθόλου κατά τη διάρκεια του πειράματος.
- Ένα τρυβλίο το οποίο θα το αφήσετε **ανοιχτό** για 5 λεπτά στον πάγκο εργασίας σας και κατόπιν θα το καλύψετε.
- Ένα τρυβλίο το οποίο θα επιστρώσετε με τα κύτταρα **ζυμομύκητα**. Για την επίστρωση θα χρησιμοποιήσετε μία καθαρή μπατονέτα την οποία θα εμβαπτίσετε μέσα στο διάλυμα των κυττάρων της ζύμης και θα την ακουμπήσετε πάνω στην επιφάνεια του θρεπτικού σας υλικού (προσεκτικά, χωρίς να καταστρέψετε το θρεπτικό).

Για την επίστρωση προσπαθήστε να επαναλάβετε τις κινήσεις που βλέπετε στο διπλανό σχήμα Α, δηλαδή, ξεκινήστε επιστρώνοντας με παράλληλες κινήσεις στο πάνω μέρος του τρυβλίου και μέχρι πριν το κέντρο του (1), περιστρέψτε το τρυβλίο αριστερόστροφα και συνεχίστε με το (2) και τέλος περιστρέψτε το πάλι αριστερόστροφα και συνεχίστε με το (3). Με τις κινήσεις αυτές μπορείτε να πετύχετε την επίστρωση του δείγματος σε ραβδώσεις και την αραίωση των κυττάρων στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού, έτσι ώστε μετά την καλλιέργεια να είναι δυνατό να παρατηρήσετε μεμονωμένες αποικίες.



- Τα υπόλοιπα τρυβλία μπορείτε αν θέλετε να τα μοιράσετε στη μέση, τραβώντας μια γραμμή με το μαρκαδόρο στο κάτω μέρος της επιφάνειας του τρυβλίου και να πάρετε δείγματα από όποια **αντικείμενα** επιθυμείτε (πχ κινητό τηλέφωνο, πληκτρολόγιο, πόμολο πόρτας, λεκάνη τουαλέτας, μία γλάστρα κλπ). Για τη λήψη δείγματος **πάρτε κάθε φορά μία καθαρή μπατονέτα**, περάστε την από την επιφάνεια που θέλετε να εξετάσετε και στη συνέχεια ακουμπήστε τη μπατονέτα προσεκτικά πάνω στο θρεπτικό υλικό και επιστρώστε με κινήσεις όπως αυτές που φαίνονται στη διπλανή εικόνα Β.



**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Εάν χωρίσετε τα τρυβλία στη μέση θα πρέπει να είστε προσεκτικοί κατά την επίστρωση, ώστε να περιοριστείτε μόνο στη μισή πλευρά του τρυβλίου για κάθε ξεχωριστό δείγμα, με οδηγό την κάθετη γραμμή που έχετε σχεδιάσει.

- Μπορείτε να πάρετε δείγματα και από το **στόμα** σας, αγγίζοντας απαλά με τη μπατονέτα την εσωτερική επιφάνεια στα μάγουλά σας. Επίσης, και από τα **δάχτυλά** σας για τα οποία αρκεί να αγγίξετε απαλά την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού με τις άκρες τους. Μπορείτε να το κάνετε αρχικά με βρώμικα, και στη συνέχεια με καλά πλυμένα χέρια (για 20 τουλάχιστον δευτερόλεπτα, πλύσιμο με σαπούνι ή αντισηπτικό, προκειμένου να ελέγξετε τη δράση τους).

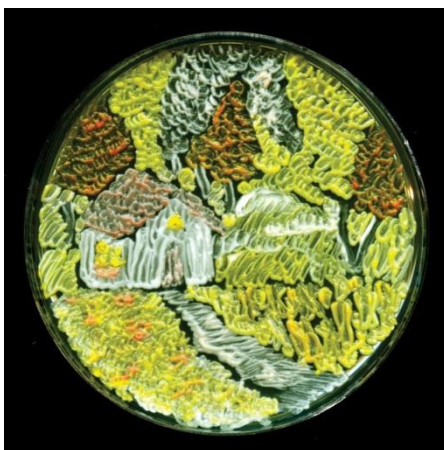
9. Τοποθετήστε τα τρυβλία σε ένα ζεστό, σκοτεινό μέρος, όπου οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν ανενόχλητα για μερικές ημέρες. Θυμηθείτε να τα αποθηκεύσετε τοποθετημένα **ανάποδα**, για να αποφύγετε την πτώση τυχόν σταγονιδίων νερού πάνω στις καλλιέργειες.

- Η ιδανική θερμοκρασία για την ανάπτυξη των βακτηρίων είναι μεταξύ 20-37 °C. Εάν είναι απαραίτητο, μπορείτε να τοποθετήσετε τις καλλιέργειες σε πιο χαμηλή θερμοκρασία, αλλά θα αναπτυχθούν πολύ πιο αργά.
- Αφήστε τους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν για 3-4 ημέρες, ελέγχοντας καθημερινά για την παρουσία αποικιών.

10. Καταγράψτε τα αποτελέσματά σας μετά από μερικές ημέρες. Θα παρατηρήσετε μια εκπληκτική ποικιλία από βακτήρια, μούχλες και μύκητες που αναπτύσσονται μέσα σε κάθε τρυβλίο, καθώς και αποικίες στο δείγμα των ζυμομυκήτων.

- Προσπαθήστε να διακρίνετε τις διαφορετικές αποικίες των μικροοργανισμών και να εντοπίσετε διαφορές μεταξύ τους όσον αφορά στο μέγεθος, το σχήμα και το χρώμα τους.
- Καταγράψτε τις παρατηρήσεις σας σχετικά με το περιεχόμενο κάθε τρυβλίου και προσπαθήστε να εξάγετε κάποιο συμπέρασμα για το ποια από τα αντικείμενα που ελέγξατε είχαν τα περισσότερα βακτήρια.
- Προσπαθήστε να διακρίνετε εάν υπάρχουν διαφορές στους μικροοργανισμούς των δειγμάτων που πήρατε από το στόμα και τα δάχτυλά σας.
- Εντοπίστε εάν υπάρχουν διαφορές στον αριθμό των μικροοργανισμών των δαχτύλων σας πριν και μετά την απολύμανσή τους.

Τα αποτελέσματα των καλλιεργειών σας μπορεί να σας εκπλήξουν!



Agar Art: Τρυβλίο με τίτλο «Harvest Season» από τη Maria Eugenia Inda, «ζωγραφισμένο» με ποικιλίες ζύμης που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ψωμιού, κρασιού και μύρας (3<sup>η</sup> θέση Διαγωνισμού ASM Agar Art 2015).

<https://www.abc.net.au/news/2015-10-22/agar-art-third-place-winner-harvest-season/6875894?nw=0>

**Ειδική σημείωση σχετικά με τη χρήση ζελατίνης:** Εάν η θερμοκρασία του δωματίου σας υψηλή (πάνω από 24 °C), μετά την πρώτη ή τη δεύτερη ημέρα μπορεί να διαπιστώσετε ότι η ζελατίνη αρχίζει να υγροποιείται. Τα μικρόβια διαλύουν τη ζελατίνη και σε υψηλότερες θερμοκρασίες, η ζελατίνη μπορεί να μην παραμείνει στερεή. Μπορείτε να τοποθετήσετε τα τρυβλία στο ψυγείο τη νύχτα και να τα φέρνετε στη θερμοκρασία δωματίου κατά τη διάρκεια της ημέρας. Τα μικρόβια θα αναπτυχθούν πιο αργά, αλλά το θρεπτικό υλικό θα παραμείνει συμπαγές για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.