



השפעת גורמי סביבה שונים על קצב התרבות אוכלוסיית חיידקים:

מטרות המעבדה:

1. לימוד השפעת גורמים שונים על קצב גידול של אוכלוסיית חיידקי *E.coli*
2. מעקב אחר עקום גידול של חיידקים.
3. הסתכלות על חיידקים ותאי לחי במיקרוסקופ.
4. הכרת חיידקים בסביבתנו.

הסבר כללי

בחדר המעבדה ישנם 3 אמבטי טלטול שכל אחד מהם בטמפרטורה שונה: 55°C , 37°C וטמפרטורת החדר. לכל קבוצה על השולחן ישנן 3 מבחנות שבתוכן מצע שונה לגידול חיידקים. לכל קבוצה מסומנות המבחנות במדבקות בצבע שונה. המבחנות מסומנות באותיות A, B, C.

כל קבוצה תבצע ניסוי ייחודי לה על פי הפירוט הבא:

מבחנה C	מבחנה B	מבחנה A	
<i>E.coli</i> ב- 55°C	<i>E.coli</i> ב- 37°C	<i>E.coli</i> ב- 25°C	א
<i>E.coli</i> במצע עם 6% מלח	<i>E.coli</i> במצע עם 3% מלח	<i>E.coli</i> במצע עם 0.5% מלח	ב
<i>E.coli</i> במצע עם כלורמפניקול	<i>E.coli</i> במצע עם אמפיצילין	<i>E.coli</i> במצע עשיר	ג
	<i>E.coli</i> בתנאים של מעוט חמצן	<i>E.coli</i> בתנאי אוורור	ד

עליך לבדוק מהי קבוצתך, ולנהוג בהתאם להוראות לקבוצה זו.



קבוצות א', ב', ג'.

זריעת החיידקים במבחנות:

1. הוסף למבחנות A, B, C, 200µl חיידקים ממבחנת החיידקים המסומנת "E.coli".
2. ערבב את תכולת המבחנות בוורטקס.

מדידת זמן 0:

3. כוון את הספקטרופוטומטר לאורך גל 600nm.
4. אפס את הספקטרופוטומטר בעזרת המבחנה המכילה מצע LB הנמצאת במעמד המבחנות.
5. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.

גידול החיידקים: שימו לב לבצע בהתאם לקבוצה המתאימה

6. קבוצה א':

- הכנס כל מבחנה לאמבט מטלטל בטמפרטורה המתאימה:
- מבחנות A לאמבט בטמפרטורה של 25°C.
- מבחנה B לאמבט בטמפרטורה של 37°C.
- מבחנה C לאמבט בטמפרטורה של 55°C.
7. קבוצה ב' וקבוצה ג': הכנס המבחנות לאמבט בטמפרטורה של 37 מעלות. וודא שהפעלת את הטלטול באמבטים!
 8. כוון את שעון-העצר (סטופר) ל-20 דקות והפעל אותו.
 9. בזמן הנותר בצע זריעת חיידקים מהידיים על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 20 דקות:

10. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים.
11. נגב היטב את המבחנות ממי האמבט.
12. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי.
13. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.
14. החזר כל מבחנה לאמבט המתאים. וודא שהפעלת את הטלטול!
15. הפעל את השעון ל-20 דקות.
16. בזמן הנותר הסתכל בחיידקים במיקרוסקופ על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 40 דקות:

17. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים.
18. נגב היטב את המבחנות ממי האמבט.
19. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי.
20. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.



21. הוספת אנטיביוטיקה - רק קבוצה ג'

הוספת אנטיביוטיקה:

- א. הוסף למבחנה B 100µl אמפיצילין.
- ב. הוסף למבחנה C 100µl כלורמפניקול.
22. המשך בסעיף 22 והלאה.
23. חזור כל מבחנה לאמבט המתאים. וודא שהפעלת את הטלטול!
24. הפעל את השעון ל-20 דקות.
25. בזמן הנותר זרע חיידקים מהידיים על צלחות עם מצע מוצק, על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 60 דקות:

26. חזור על שלבים 10-15
27. בזמן הנותר בדוק השפעת אנטיביוטיקה על גידול חיידקים בצלחת. על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 80 דקות:

28. חזור על שלבים 10-15
29. בזמן שנותר עד לקריאה הבאה נקה וסדר את שולחן העבודה

מדידת זמן 100 דקות:

30. חזור על שלבים 10-15
31. חזור למדריך לסיכום המעבדה



קבוצה ד'

זריעת החיידקים במבחנות:

1. הוסף למבחנה A $200\mu\text{l}$ חיידקים. ערבב את המבחנה בוורטקס.
2. הוסף למבחנה B $800\mu\text{l}$ חיידקים ממבחנת החיידקים. אטום את המבחנה בעזרת נייר פאראפילם, וערבב על ידי הפיכתה בעדינות. השאר את נייר הפאראפילם על המבחנה לצורך אטימה מכניסת אויר.

מדידת זמן 0:

3. כוון את הספקטרופוטומטר לאורך גל 600nm .
4. אפס את הספקטרופוטומטר בעזרת המבחנה המכילה מצע LB הנמצאת במעמד המבחנות.
5. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.

גידול החיידקים:

6. הכנס את מבחנה A לאמבט מטלטל בטמפרטורה של 37°C .
וודא שהפעלת את הטלטול באמבט!
7. הכנס את מבחנה B לאמבט ללא טילטול בטמפרטורה של 37°C .
8. כוון את שעון-העצר (סטופר) ל-20 דקות והפעל אותו.
9. בזמן הנותר בצע זריעת חיידקים מהידיים על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 20 דקות:

10. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים
11. נגב היטב את מבחנה A ממי האמבט.
12. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.
13. החזר את מבחנה A לאמבט. וודא שהפעלת את הטלטול!
החזר את מבחנה B ללא טילטול.
14. הפעל את השעון ל-20 דקות.
15. בזמן הנותר הסתכל בחיידקים במיקרוסקופ על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 40 דקות:

16. עם הישמע צלצול השעון, הוצא את המבחנות מהאמבטים
17. נגב היטב את מבחנה A ממי האמבט.
18. קרא את הבליעה במבחנות הניסוי. רשום את הקריאות בטבלה שבמחשב.
19. החזר את מבחנה A לאמבט. וודא שהפעלת את הטלטול!
החזר את מבחנה B ללא טילטול.
20. הפעל את השעון ל-20 דקות.
21. בזמן הנותר זרע חיידקים מהידיים על צלחות עם מצע מוצק, על פי ההוראות בעמוד 6.



מדידת זמן 60 דקות:

1. חזור על שלבים 10-14
2. בזמן הנותר בדוק השפעת אנטיביוטיקה על גידול חיידקים בצלחת. על פי ההוראות בעמוד 6.

מדידת זמן 80 דקות:

3. חזור על שלבים 10-14
4. בזמן שנותר עד לקריאה הבאה נקה וסדר את שולחן העבודה

מדידת זמן 100 דקות:

5. חזור על שלבים 10-14
6. חזור למדריך לסיכום המעבדה



בזמן הפנוי שישנו במעבדה בצע את הפעילויות הבאות:

זריעת מיקרואורגניזמים מהאוויר

1. קח 3 צלחות פטרי ורשום על תחתית אחת מהן " סגור"; על השנייה "פתוח- מאוזן" ועל השלישית "פתוח- מאונך". רשום גם את שמך.
2. השאר את הצלחת עליה רשמת "סגור" סגורה. הקפד שלא תפתח!
3. הנח את הצלחת "פתוח- מאונך" על השולחן כשהיא מונחת על השולחן **פתוחה**
4. הנח את הצלחת "פתוח- מאוזן" מאוזנת כשהיא **פתוחה** (ניתן להשעין הצלחת על הפנל של השולחן)
5. לאחר 30 דקות סגור את שתי הצלחות ותן למדריך.

זריעת מיקרואורגניזמים מהידיים

1. קח צלחת פטרי ובעזרת מרקר חלק אותה לשלוש. הקפד לצייר על התחתית ולא על המכסה. רשום את שמך.
2. רשום בחלק אחד "לפני שטיפה". בחלק שני "אחרי סבון" ובחלק השלישי "אחרי אלכוהול".
3. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "לפני שטיפה", וסגור את הצלחת מיד.
4. שטוף ידיך היטב במים וסבון. נער את עודפי המים מהיד אבל **אל תנגב!!!**
5. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "אחרי סבון", וסגור את הצלחת מיד.
6. טבול את אצבעך באלכוהול. נער את עודפי האלכוהול מהאצבע אבל **אל תנגב!!!**
7. פתח את הצלחת, גע באצבעך בחלק "אחרי אלכוהול", וסגור את הצלחת מיד.

עיכוב צמיחת חיידקים ע"י חומרים אנטיביוטיים בשיטת הדיפוזיה

1. טבול מטוש בתרבית החיידקים ומרח בעזרתו באופן אחיד את כל שטחה של צלחת המכילה אגר מזין.
2. המתן מספר דקות ושים את הדיסקיות המכילות חומרים אנטיביוטיים על פני המצע.
3. הדגר ב-37°C למשך לילה ומדוד את אזורי עיכוב הצמיחה.

השוואת גודל: חיידקים – תאי אדם

- א. על השולחן תמצא קיסם עם צמר גפן בקצהו. הכנס את הקיסם לפיך וגרד בו את החלק הפנימי של הלחי. בדרך זו תאסוף על הקיסם תאים מרירית הלחי הניתקים בקלות.
- ב. מרח את החומר שאספת על מרכזה של זכוכית נושאת, בשטח שגודלו כמטבע של 10 אגורות.
- ג. הנח בעזרת פיפטת פסטר טיפה מתרבית *E. coli* על גבי אותו אזור.
- ד. טפטף טיפה של מתילן כחול על טיפת החיידקים.
- ה. כסה בזכוכית מכסה.
- ו. ספוג בעזרת נייר את עודפי הצבע שבשולי הזכוכית המכסה.
- ז. וודא שהעדשה הקרובה לשולחן המיקרוסקופ היא זו של ההגדלה הקטנה ביותר.
- ח. הנח את הזכוכית הנושאת על שולחן המיקרוסקופ כשהיא אחוזה במסגרת המתכת. וודא שמנורת המיקרוסקופ דולקת.
- ט. בעזרת המדריך התבונן בעזרת המיקרוסקופ וזהה תאי לחי ותאי חיידקים.
- י. נסה להעריך פי כמה גדול תא לחי מתא חיידק.
- יא. בסיום העבודה כבה את מנורת המיקרוסקופ וזרוק את הזכוכית הנושאת לפח.