



UNIVERSITAT DE BARCELONA



**PROTOCOL RESUM PER A LES
PROPOSTES DE TREBALLS PER A
L'ASSIGNATURA DE TREBALL DE
RECERCA DE BATXILLERAT**

Títol de la recerca

**TÈCNICA PER COMPTAR I DETERMINAR FONGS / BACTERIS EN SÒLS I
SUBSTRATS PEL CULTIU DE PLANTES.**

Autors

Dra. M^a Isabel Trillas
Eva Casanova
Eva Bertrán
Dpt. Biologia Vegetal (Fisiologia Vegetal). Telf: 934021463. e-mail: trillas@porthos.bio.ub.es

Àrea temàtica

BIOLOGIA
(Microbiologia de sòls, substrats)

Objectius (descriure de forma esquemàtica)

- * Complement dels coneixements que s'exposen en Biologia
- * Aprenentatge de una tècnica bàsica en Microbiologia que permet comptar bacterias / fongs (Robert Koch).
- * Familiaritzar a l'alumne amb algunes tècniques que es consideren elementals en un laboratori de microbiologia
- * Iniciació en el treballar en condicions estèrils.
- * Observació i descripció dels microorganismes a la lupa i al microscopi
- * Elaboració i presentació de resultats

Assenyalar el nivell de la pràctica

Molt baix			Mitg-Alt				Molt alt
-----------	--	--	----------	--	--	--	----------

Material necessari (si s'escau)

Lupa binocular i /o Microscopi òptic, autoclau (olla), agitador, plaques de Petri (plàstic estèrils), pipetes de plàstic (1 ml) estèrils, pipetes de vidre (10 ml), tubs, botelles,(Bunsen d'alcohol).
Components del medi de cultiu i agar
Sòl, substrat: torba, compost

1) Preparació medi

- a) selectiu: implica creixement quasi exclusiu del microorganisme pel que s'ha definit el medi, ex. bacteri (medi per *Pseudomona* spp), fong (medi per *Trichoderma* spp., etc.)
 - b) preparació medi d'ampli espectre: poden créixer bacteris i fongs (medi Patata Dextrosa Agar)
- 2) Omplir tubs (aprox. 20 ml) amb 9 ml d'aigua agar i botelles (250 ml) amb 90 ml d'aigua agar
 - 3) Esterilitzar el medi en una botella i també les botelles i els tubs d'aigua agar
 - 4) Omplir (al voltant del Bunsen i en condicions estèrils) les plaques de Petri amb el medi
 - 4) Preparar una suspensió de sòl / substrat (10 g) i afegir-los a la botella amb 90 ml aigua agar (dilució 10^{-1}). Agitar vigorosament un temps determinat.
 - 5) Transferir 1 ml (pipeta estèril) al tub amb 9 ml d'aigua agar (dilució 10^{-2}). Agitar vigorosament
 - 6) Continuar la sèrie de dilucions fins a 10^{-9} .
 - 7) De cada tub treure 1 ml i afegir-lo a la placa de Petri amb el medi de cultiu. Fer tres plaques per dilució.
 - 8) Incubació en condicions adequades
 - 9) Comptar bacteris / fongs a partir de les 24 h i fins a 1 setmana, marcant en retoladors de colors diferents)
 - 10) Determinació / observació a la Lupa binocular i/o preparació en porta - cubre sobre d'una gota d'aigua al Microscopi òptic

Proposta d'anàlisi de dades (si s'escau)

- 1) Es seleccionen aquelles plaques amb un nombre de colònies no superior a 40-50. Es compten el nombre de bacteris / fongs en aquella suspensió.
- 2) Es calcula el valor mitjà de les tres plaques amb la dilució apropiada
- 3) Es determina el nombre de colònies per gram de sòl / substrat (referit en pes fresc o sec (estufa 100 °C 2 dies), considerant el factor de dilució
- 4) Aquelles plaques amb major dilució (nombre de colònies no superior a 10) es poden fer servir per observar a la Lupa i/o al Microscopi

Resultats previstos (descriure molt breument quins resultats són previsibles trobar)

En cas de fer servir **dos medis** (selectiu i d'ampli espectre) es veurà com per a una mateixa dilució els valors són molt diferents i els microorganismes que s'hi troben també

En un **medi d'ampli espectre** es poden fer estimes totals de bacteris i fongs i es poden comparar entre materials diferents (sòl, substrats). Inclòs un mateix material, amb dos opcions: natural i en una estufa 6 dies a 60 °C (buidat microbiològic).

En un **medi selectiu** es poden fer estimes precises de la presència d'aquell microorganisme en un medi determinat. El medi selectiu es més car.