

Verterende bodembacteriën?

-Aanwezigheid van amylase producerende bacteriën in de bodem-

Inleiding

In de bodem leven bacteriën die het enzym amylase produceren. Amylase breekt zetmeelmoleculen (lange ketens van aan elkaar gekoppelde glucosemoleculen) af tot afzonderlijke glucosemoleculen. In dit experiment gebruiken we grondmonsters om zetmeel bevattende voedingsbodems mee te enten. Indien er amylase producerende bacteriën in het grondmonster voorkomen kunnen zij zich op de zetmeel bevattende voedingsbodems voortplanten. Hierdoor neemt de hoeveelheid zetmeel af op de plaatsen waar de amylase producerende bacteriën zich bevinden. We gebruiken jood als indicator om zetmeelafbraak -en daarmee de aanwezigheid van amylase producerende bacteriën- aan te tonen.

Doel

Het screenen van bodemmonsters op de aanwezigheid van amylase producerende bacteriën.

Theorie

Dode planten, dieren en micro-organismen blijven als organisch materiaal achter in de bodem. Dit organisch materiaal bestaat uit hoogmoleculaire stoffen, wat betekent dat ze een hoge molecuulmassa hebben. Hierdoor bevatten ze veel energie en vormen een potentiële voedselbron voor andere organismen. Veel organismen kunnen de hoogmoleculaire stoffen echter niet direct opnemen. Hiervoor moeten ze eerst worden afgebroken tot laagmoleculaire stoffen. Ze worden als het ware verteerd tot kleinere moleculen die gemakkelijker opgenomen kunnen worden. Deze extracellulaire vertering wordt ook wel de *hydrolyse* van de moleculen genoemd.

Enzymen komen op verschillende manieren in de bodem terecht. Sommigen zijn betrokken bij de stofwisseling van bacteriën: zij komen vrij wanneer deze bacteriën sterven. Levende bodembacteriën kunnen ook enzymen uitscheiden om hun werk buiten de cel uit te voeren. Deze extracellulaire enzymen worden ook wel *exo-enzymen* genoemd. Normaalgesproken verliezen *exo-enzymen* hun werking vrij snel na uitscheiding doordat ze gedenatureerd of afgebroken worden door andere enzymen. Ze zijn dan niet meer in staat de hoogmoleculaire stoffen af te breken tot laagmoleculaire stoffen.

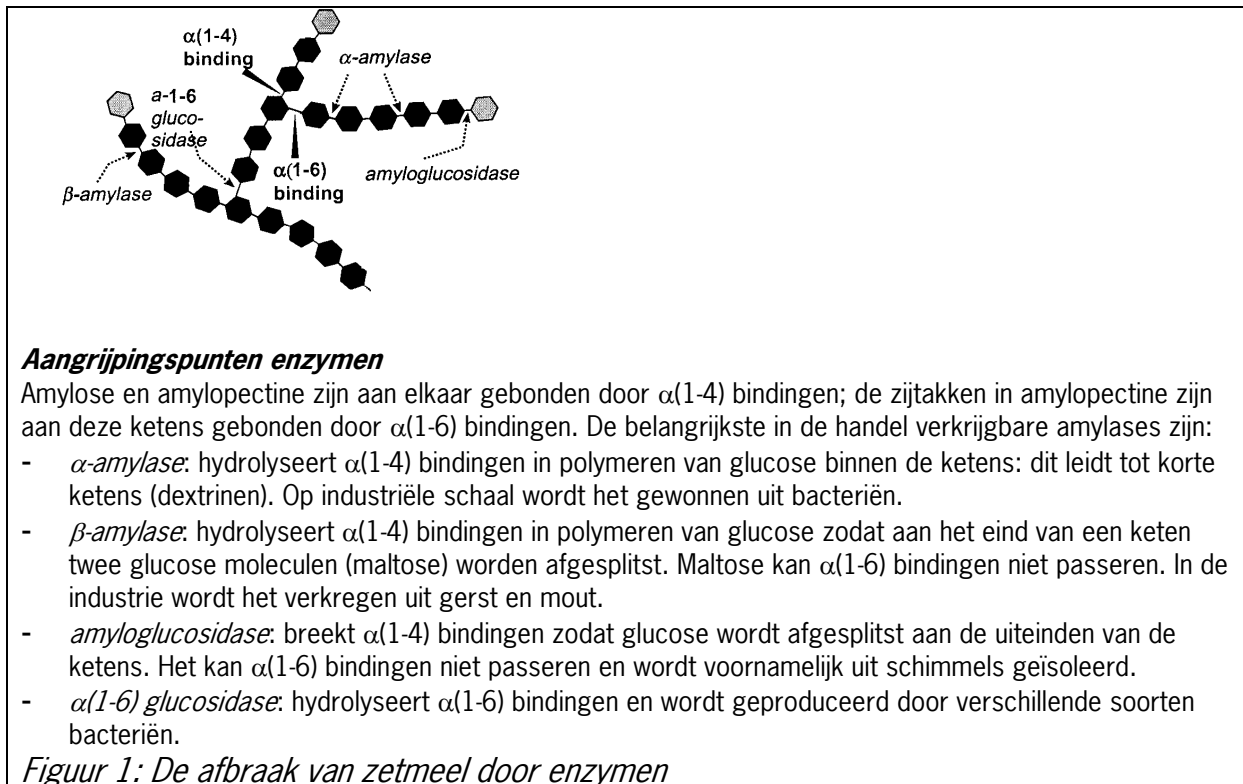
Amylase is een voorbeeld van een in de bodem voorkomend exo-enzym. Dit enzym breekt o.a. zetmeel af tot glucose. Glucose wordt gemakkelijk door bacteriën opgenomen als koolstof- en energiebron. In dit experiment testen we de amylase-productie van in de



Verterende bodembacteriën?

-Aanwezigheid van amylase-producerende bacteriën in de bodem-

grond voorkomende organismen. Zetmeel bestaat uit een keten van aan elkaar gekoppelde glucosemoleculen. Een rechte zetmeelketen wordt amylose genoemd; een vertakte polymeer amylopectine. Het exo-enzym amylase kan beide polymeren afbreken (Figuur 1). De structuurformules staan in tabel 67 van het Binas-tabellenboek.



Uitvoering

Dit experiment is een bewerking van het experiment 'Amylase uit bodembacteriën' van het Europees Initiatief voor Biotechnologische Educatie.

Materialen

- 1 gram luchtdroge grond, op 10 cm diepte verzameld
- steriele petrischalen met daarin 15 à 20 mL zetmeelvoedingsagar
- 15 mL steriel water in afgesloten flesje
- joodoplossing (in KI-oplossing)
- steriele wattenstaafjes
- markeerstift (om op petrischalen te schrijven)
- broedstoof met temperatuur van 30 °C

Veiligheid

- Pas op met Joodoplossing! Het is een giftig mengsel, ook al wordt het veel gebruikt.



Verterende bodembacteriën?

-Aanwezigheid van amylase-producerende bacteriën in de bodem-

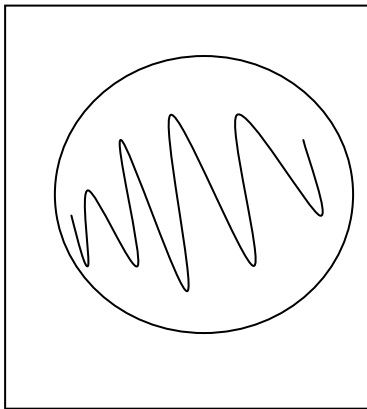
- Het is onverstandig culturen te kweken vanuit de (niet bekende) organismen op de platen.

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

Beschrijving

Het bodemmonster

We gaan micro-organismen uit de bodem bekijken, dus hebben we grond nodig. Een theelepel is meer dan voldoende, want er leven heel veel micro-organismen in de grond. Om kwalitatief goede bacteriën te krijgen, kun je het beste eerst een stukje graven: 10 cm diepte is voldoende.



Figuur 2: Een geënte petrischaal

De grond moet drogen om het overtollige vocht kwijt te raken. Zet de grond hiervoor een paar uur in de stoof (of exsiccator) of laat het een nacht in het lokaal staan. Weeg voor dit experiment 1 gram grond af.

Het suspenderen van het monster

Stop de afgewogen grond in de reageerbuis met 15 mL steriel, gedestilleerd water. Schud dit krachtig zodat de grond goed wordt gesuspendeerd.

Het uitplaten

Schrijf met een marker duidelijk je naam op zowel het deksel als de bodem van de petrischaal. Vermeld ook de plaats waar het bodemmonster vandaan kwam. Neem een steriel wattenstaafje en doop deze in de zojuist gemaakte suspensie. Strijk met het vochtige wattenstaafje over de voedingsbodem. Maak hierbij een zigzagbeweging zoals aangegeven in Figuur 2. Open de petrischaal alleen in de buurt van een gasvlam, dit om contaminatie met micro-organismen uit de lucht te voorkomen. Zet de petrischaal op zijn kop in de stoof gedurende 2 à 3 dagen bij 30 °C. De schaal moet omgedraaid zijn om te voorkomen dat eventuele condens vanaf de deksel op de voedingsbodem druppelt en zo de groeiende bacteriën laat uitvloeien. Giet voorzichtig een klein beetje van de joodoplossing over de plaat zodat er ongeveer een laagje van 1 mm over de hele plaat vloeit. Wacht een minuut en giet dan het teveel aan joodoplossing af.

Opmerkingen

- Micro-organismen zijn overal: in de bodem, in de lucht en aan je handen. Bij dit experiment is het dus extra belangrijk om steriel te werken. Door verontreiniging zou het kunnen lijken alsof er amylase producerende bacteriën in het onderzochte grondmonster aanwezig zijn, terwijl dit niet het geval is.



Verterende bodembacteriën?

-Aanwezigheid van amylase-producerende bacteriën in de bodem-

- Er wordt met steriel water en een steriele petrischaal gewerkt. Het overplaatsen van de bacteriesuspensie naar een petrischaal moet dan ook op een steriele wijze gebeuren.

Resultaten

Beschrijf nauwkeurig wat je op de plaat ziet. Maak een tekening of een duidelijke foto.

Vragen

1. Hoe verklaar je de verschillende kleuren op de plaat?
2. Op welke plekken hebben de bacteriën de amylase afgebroken?
3. Waarom zien niet alle platen er hetzelfde uit?

Suggesties voor verder onderzoek

De module N°1: Inleiding Biotechnologie (1998) van het Europees Initiatief voor Biotechnologische Educatie bevat nog meer experimenten. Ze kunnen allemaal gebruikt worden in het kader van microbiologie en DNA technologie. De module is afkomstig van de website van het Europees Initiatief voor Biotechnologische Educatie. Via deze link vind je de module: <http://archiv.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01NL.PDF>

Oriëntatie op vervolgonderwijs

Het thema van dit experiment komt aan de orde bij de volgende opleidingen van Wageningen University:

- Biologie
- Levensmiddelentechnologie
- Biotechnologie
- Moleculaire Levenswetenschappen
- Bodem, Water, Atmosfeer
- Milieuwetenschappen

Kijk voor meer informatie op www.wageningenuniversity.nl/studiekiezer.

