

Praktikum 28. a 29. 4. 2021

Vnitřní mikroflóra zrní ke klíčení

Do erlenky s cca 50 ml sterilního fyziologického roztoku (vyrobíte si sami nalitím fyziologického roztoku do sterilní Erlenky) přidejte 100+ zrn čočky. Za třepání (na třepače) nechte 20 minut zalité. Odeberte 1× 1 ml (automatické pipety, špičky z krabice na poličce) na Petriho misku (prázdnou) a 4× 1 ml vyhoďte (do „vylévací“ kádinky na pracovním stole). Přidejte 5 ml roztoku chlornanu (Sorun) (odměrný váleček). Občas na stole promíchejte. Po 15, 30, 60, 120 minutách odeberte vždy 25 zrníček (pinzeta), propláchněte sterilním fyziologickým roztokem a naskládejte pinzetou na povrch půdy v Petriho misce (červená půda DRBC). Mezi touto prací:

- a– Provádějte další úkoly
 - b– Zalijte (až bude přinesena navařená a zchládlá půda DRBC) 1 ml odpipetovaného výtřepku ze zrn půdou DRBC
- Misky popište a nechte na pracovním místě. Odpočet bude za týden.

Další barvení

Barvení na spory

- Kultura: *Bacillus cereus* na živném agaru, starší. Nebo sporuláty ze stré konzervy.
- Postup: Fixovaný preparát převrstvíte malachitovou zelení o koncentraci (5%) a zahřejete třikrát do výstupu par (dolévat barvu, aby nevyschlo). Potom slejete a krátce opláchnete vodou nebo fyziol. roztokem, nalijete na několik sekund eosin slijete, opláchnete vodou nebo fyziol. roztokem, necháte zaschnout.
- Mikroskopický obraz: Špinavě zelené až zelené spory, ostatní útvary „starorůžové“

• Barvení acidoresistentní

- Kultura: Starší kultura *Saccharomyces cerevisiae*
- Postup: Jako předchozí, k moření se užije karbolfuchsin (může vzplanout), odbarvuje se kyselým alkoholem proto „acidorezistentní“, dobarvuje se 1,2% malachitovou zelení
- Mikroskopický obraz: Červené – červenohnědé askospory uvnitř šedo zeleně vybarvených buněk + buňky beze spor

• Barvení na pouzdra

- Kultura: maz z povrchu Romadůru
- Postup: Kousek mazu rozetřete kličkou na podložním sklíčku v kapce tuše. Potom roztáhnete do plochy, rovněž kličkou. Nechte zaschnout a fixujte. Barvíte 3 – 5 minut metylénovou modří s KOH, opatrně opláchněte, nechte zaschnout.
- Mikroskopický obraz: V místech preparátu, která nejsou ani moc hustá, ani moc řídká jsou modrofialové oválné bakterie, kolem nich bílá místa a vně těch prázdných míst zrníčka tuše. Bílá místa odpovídají pouzdrům.