

Praktikum 19. a 20. 5. 2021

Určení biochemických vlastností zadaného kmene bakterií na „pestré řadě“

Pestrá řada

- Živný bujon s jedním procentem testovaného sacharidu a indikátorem kvašení (případně plynovkou)
 - Sacharidy s plynovkou: glukóza a manitol (= 10 ml bujonu a plynovka) (G, bez označení)
 - Sacharidy bez plynovky: sacharóza, sorbitol, maltóza, laktóza (= 3 – 5 ml bujonu) (SA, SO, M, L)
- TSI – detekce tvorby H_2S s indikátorem v půdě, červenožlutý šikmý agar
- SC – detekce utilizace citrátu zelený šikmý agar
- MIU – detekce pohybu, štěpení ury a produkce indolu, oranžová rosolovitá půda

Postup práce:

- Do bujonů stačí namočit kličku s kmenem a zamíchat
- Do MIU zapíchnout kličku a vytáhnout, nemíchat, nepropíchnout dno!
- TSI udělat „hádek“ na šikmý povrch a následně vpich do hloubky agarů, až na dno zkumavky (nepropíchnout)
- Do zkumavky s TSI následně zavěsit proužek papíru s octanem olovnatým
- SC masívně vyočkovat „hádek“ na šikmý povrch, bez vpichu
Odečítání bude dle domluvy.

Stanovení citlivosti zadaného kmene difuzní metodou

Na povrch živného agarů vyočkovujeme kmen (ten samý, co jste si vybrali na pestré řadě) a rozetřeme sterilním tamponem na špejli po povrchu půdy. Následně pomocí pinzety nebo jehly (vypalovat před každým nabíráním disku) nasadíme na povrch půdy antibiotické disky (6

různých) cca na 2/3 vzdálenost mezi středem misky a okrajem a tak, aby se jejich pozice blížily rovnostrannému šestiúhelníku. Tampon hodíme do kontejneru na infekční odpad (boční stolek).

Misky označit (skupina, kalendářní den).

Odečítání dle domluvy.

Odečtení termorezistentních mikroskopických hub

Spočítáme kolonie na všech třech miskách a vyjádříme napočítané dle hmotnosti čaje jako $KTJ.g^{-1}$ (zaokrouhleno nahoru na celá čísla).

Kultivace aerobní, anaerobní, detekce spor

Materiál

Kádinka se zalitou půdou.

Metodika

Z kádinky odeberete cca 1 ml suspenze nad usazenou půdou do sterilní zkumavky.

- 1 Na první misku uděláte křížový roztěr a označíte (skupina, první miska)
- 2 Zkumavku dáte na půl hodiny do vodní lázně 85 °C.
Po tomto zákroku zůstanou v půdě pouze spóry.
- 3 Uděláte křížový roztěr na tři misky, jedna z nich s „loužičkou“ půdy na víčku
- 4 Jednu misku označíte jako svou misku č. 2 a nic dalšího s ní neděláte
- 5 Další misku označíte jako svou misku č. 3 a připravíte ji na umístění do anaerostatu
- 6 Jako poslední misku použijete tu, která má na víčku loužičku půdy. Na tuto loužičku masivně a po celé ploše vyočkujete *Serratia marcescens* a potom okraje misky a víčka u vodní lázně spojíte parafinem (bude vám ukázáno), označíte jako svou misku č. 4.

Do protokolu

Do protokolu dáte nebo zadokumentujete popis všech čtyř misek. Odečtení dle domluvy.