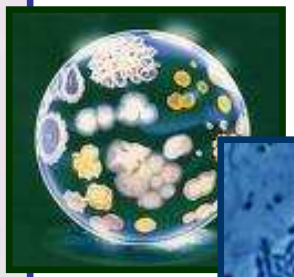
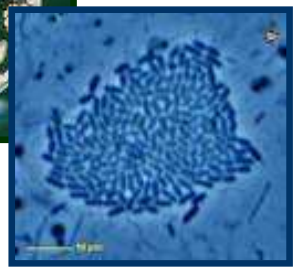
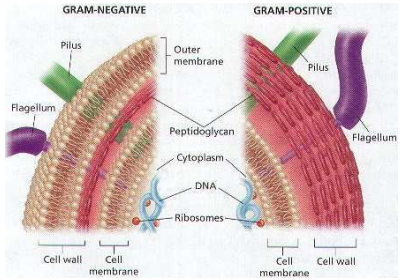
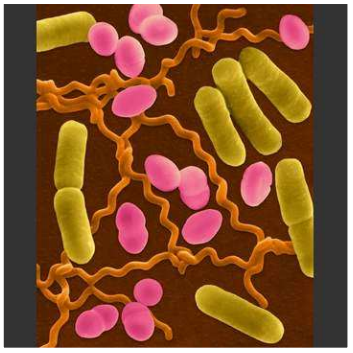
Tvary bakteriálních buněk
Morfologie kolonií
Barvení buněk





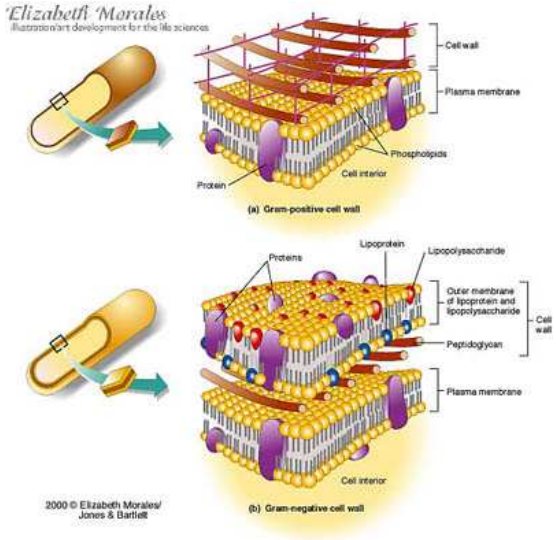


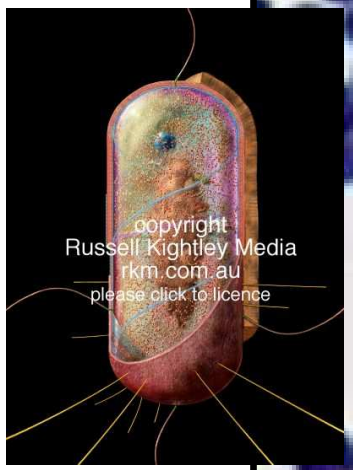
Obrazová dokumentace a zpracování obrazu

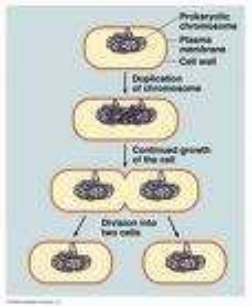


Morfologická diverzita prokaryot

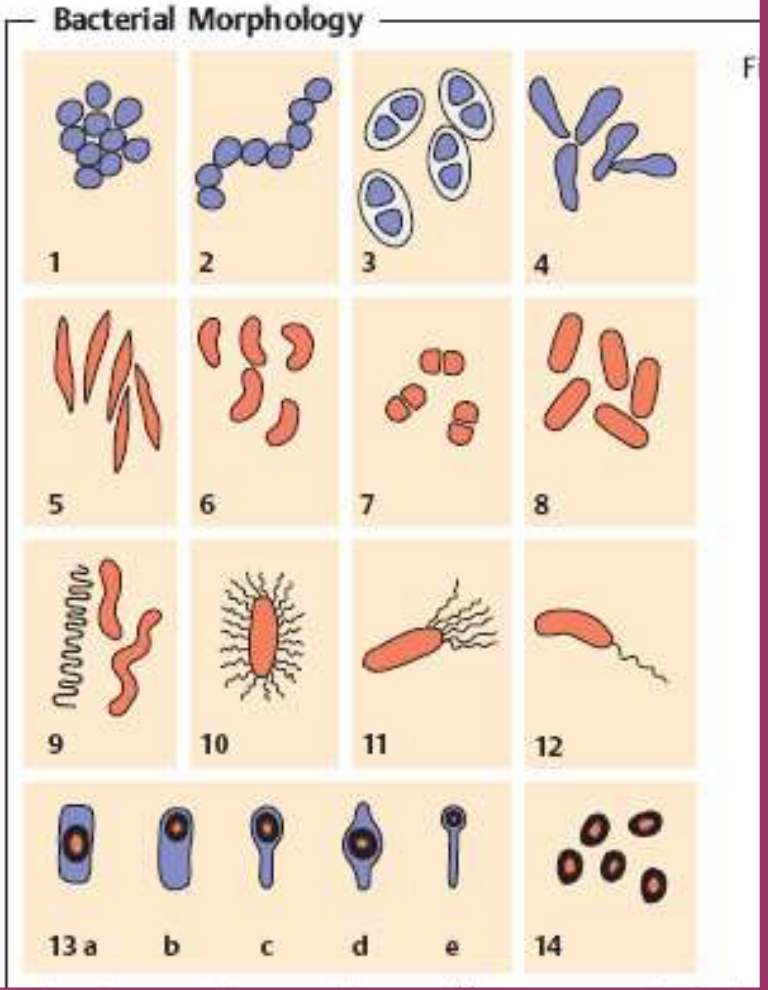
- **tvar buňky**
- **shlukování buněk**
- **buněčné povrchy**
- pohyb
- **buněčné dělení**
- adaptace k environmentálním extrémům
- diverzita vývojových cyklů
- diverzita metabolismu





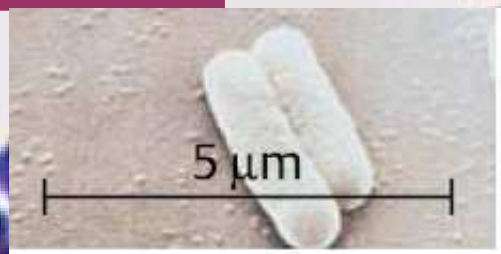


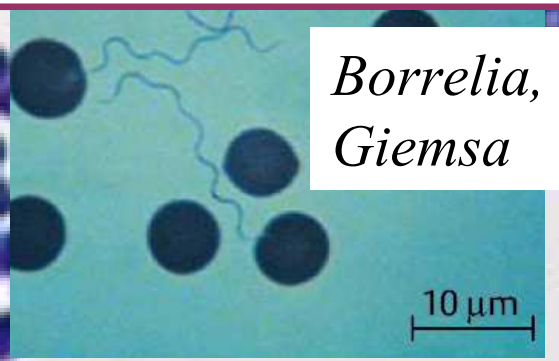
Tvary bakteriálních buněk
optimální hydrodynamické vlastnosti
využití přístupných živin



poměr povrch/ objem
- **nejmenší – kulaté buňky**
- **dlouhé tenké buňky nejvyšší**

1. Gram-positive cocci in grapelike clusters (staphylococci)
2. Gram-positive cocci in chains (streptococci)
3. Gram-positive cocci with capsules (pneumococci)
4. Gram-positive, clubshaped, pleomorphic rods (corynebacteria)
5. Gram-negative rods with pointed ends (fusobacteria)
6. Gram-negative curved rods (here commashaped vibrios)
7. Gram-negative diplococci, adjacent sides flattened (neisseria)
8. Gram-negative straight rods with rounded ends (coli bacteria)
9. Spiral rods (spirilla) and Gram-negative curved rods (*Helicobacter*)
10. Peritrichous flagellation
11. Lophotrichous flagellation
12. Monotrichous flagellation
13. Formation of endospores (sporulation) in cells of the genera *Bacillus* and *Clostridium* (spore stain)
    a) Central spore, vegetative cell shows no swelling
    b) Terminal spore, vegetative cell shows no swelling
    c) Terminal spore ("tennis racquet")
    d) Central spore, vegetative cell shows swelling
    e) Terminal spore ("drumstick")
14. Free spores (spore stain)





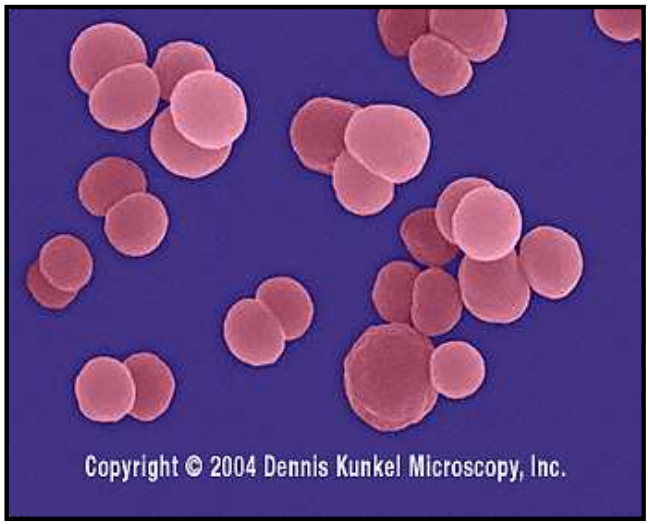
Borrelia, Giemsa

Koky

Geneticky kódováno dělení v rovinách a odloučení samostatné buňky.

Spojení buněčnou stěnou –Van Der Waalsovy síly

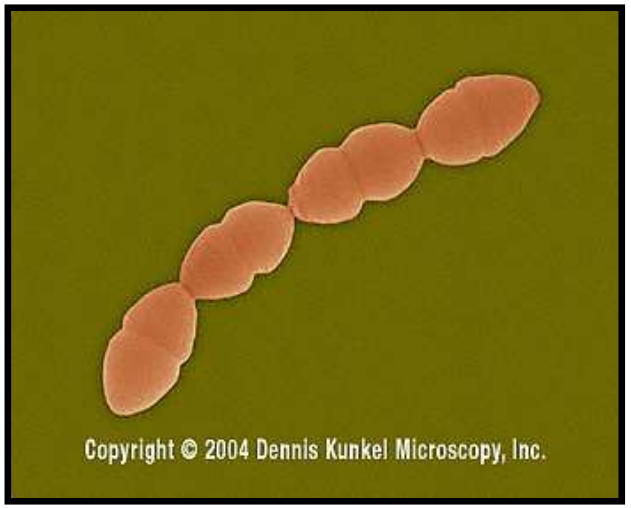
- **oploštělé**



***Neisseria meningitidis* - Gram-negative**

meningitis, Waterhouse-Friderichson syndrome

zašpičatělé



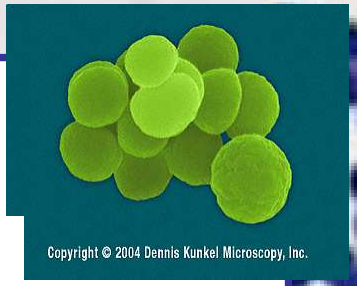
***Streptococcus pneumoniae* - Gram-positive**

Encapsulated.

Causes (lower respiratory infection) pneumonia
(upper respiratory infections) bronchitis, laryngitis, sinusitis, and otitis media.

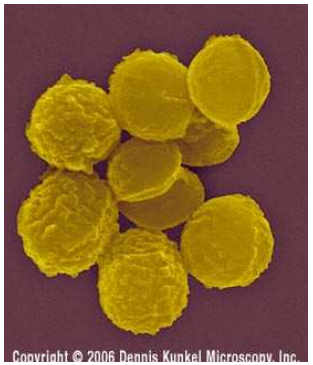
v závislosti na rovině dělení :

- **diplokoky -** jedno dělení v jedné rovině
  i shluky (dle náboje buňky a živin)

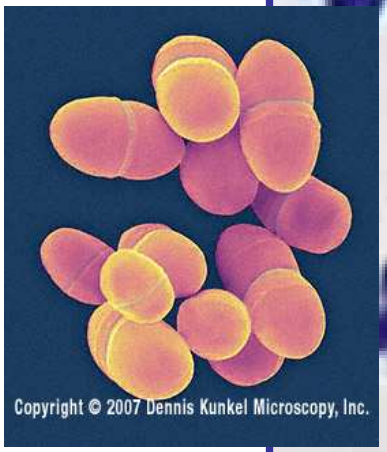


***Neisseria gonorrhoeae*, Gram-negative**

- **streptokoky -** dělení jen v jedné rovině a dělí se každá buňkam v řetízku. Jednotlivě, dvojice nebo řetízky (*Streptococcus, Lactococcus*)
- **tetrády** dělení ve dvou rovinách,
  málo časté, většinou přerůstají v balíčky
  (*Micrococcus luteus*)



Micrococcus luteus
Gram - positive



Lactococcus lactis
Gram - positive

- **pakety, sarciny**

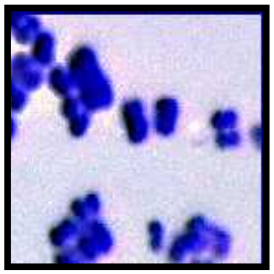
dělení ve 3 na sebe kolmých rovinách

po dělení zůstávají ve skupinách po 8

- **stafylokoky**

nepravidelné dělení

shluky, hrozníčky
typ shluku charakteristický pro každý druh,
v prostředí bohatém živinami se tvoří více shluků

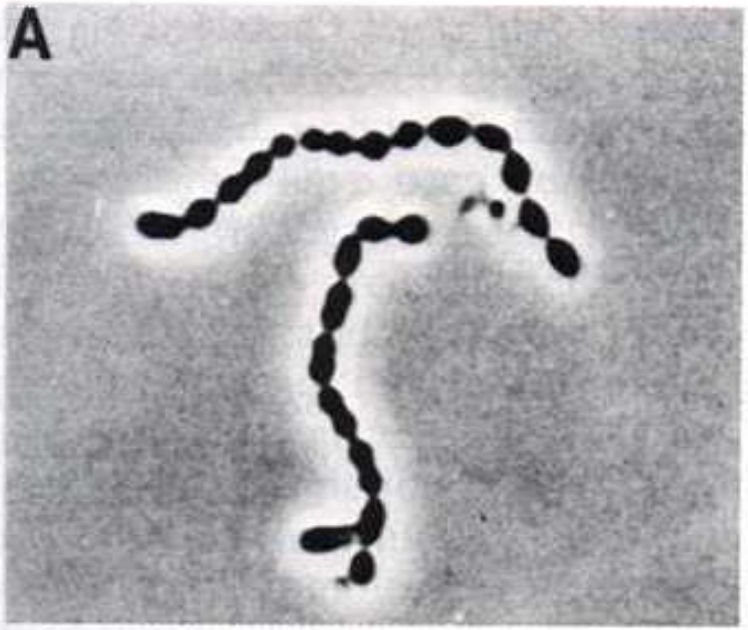


Sarcina

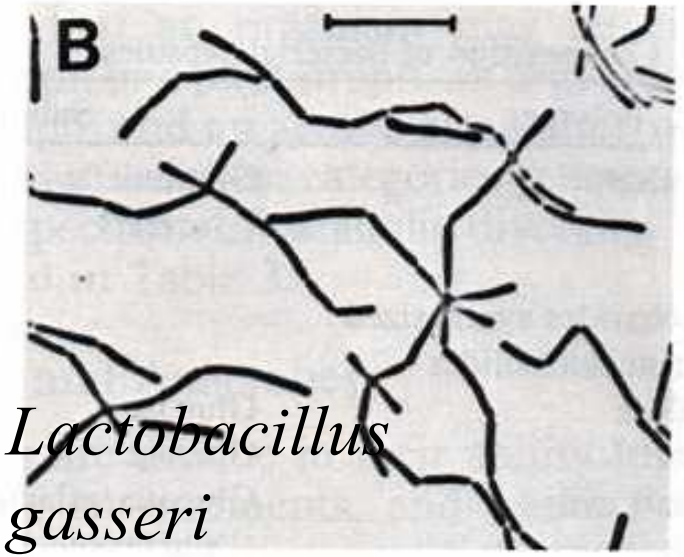
Staphylococcus aureus

Charakter shluků závisí na způsobu dělení bakteriálních buněk

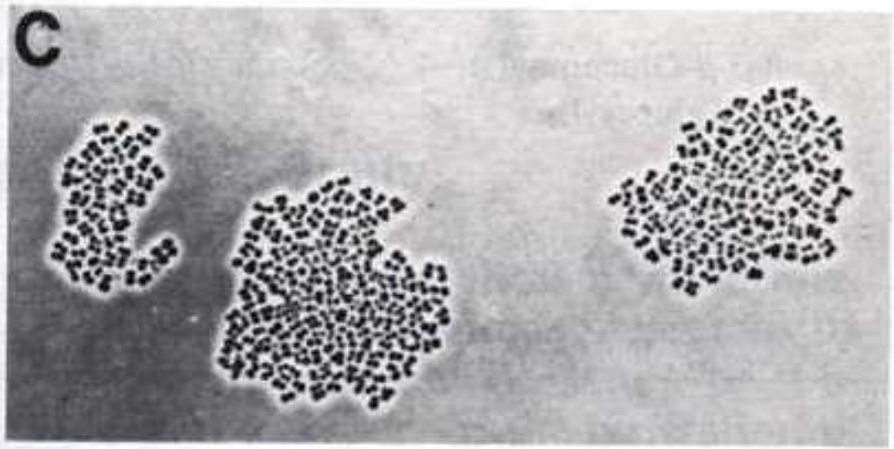
- příčiny tvorby jednotlivých typů shluků u jednotlivých skupin bakterií nejsou jasné
- myxobakterie – produkce extracelulárních enzymů a lyze nerozpustných makromolekul
- studium vztahů mezi strukturou a funkcí



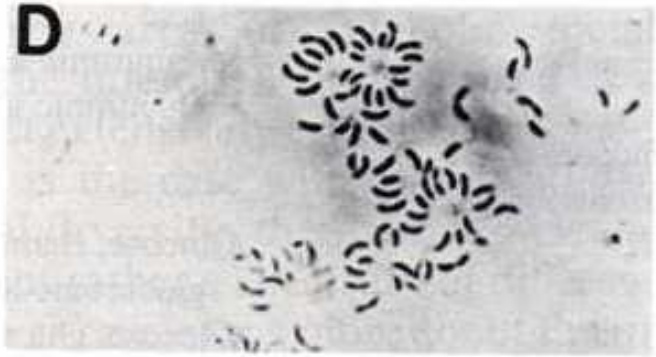
Streptococcus lactis



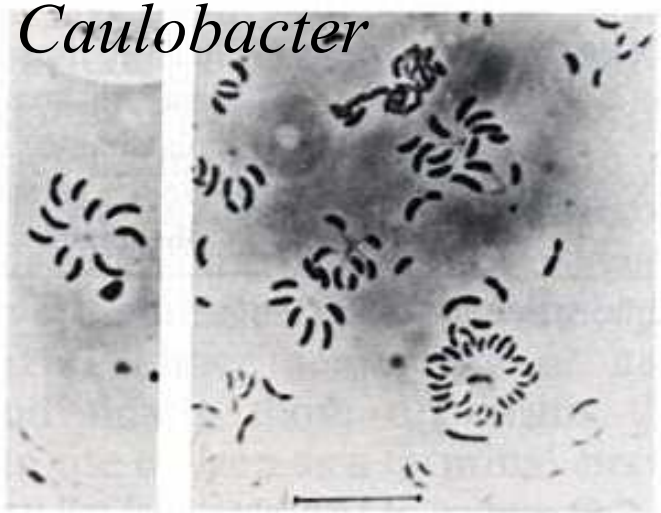
Lactobacillus gasseri

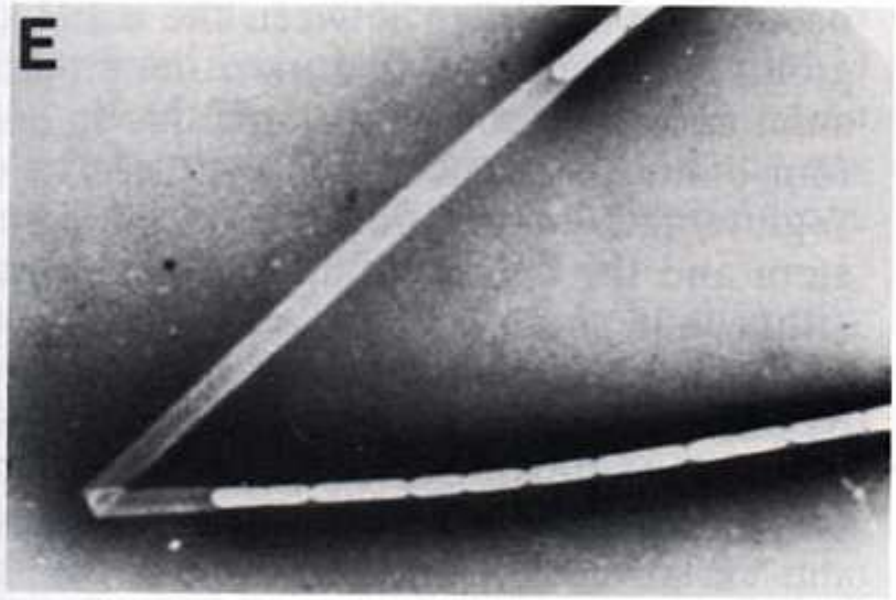


Stomatococcus mucilaginosus

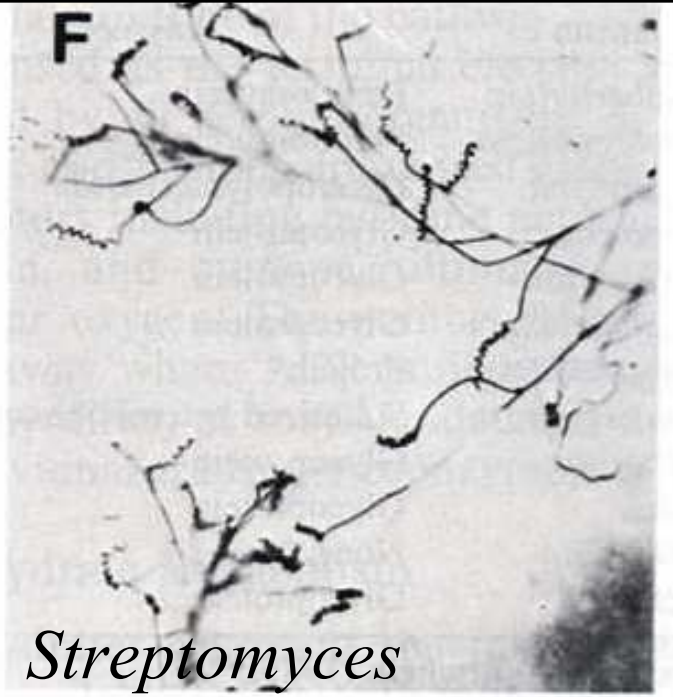


Caulobacter

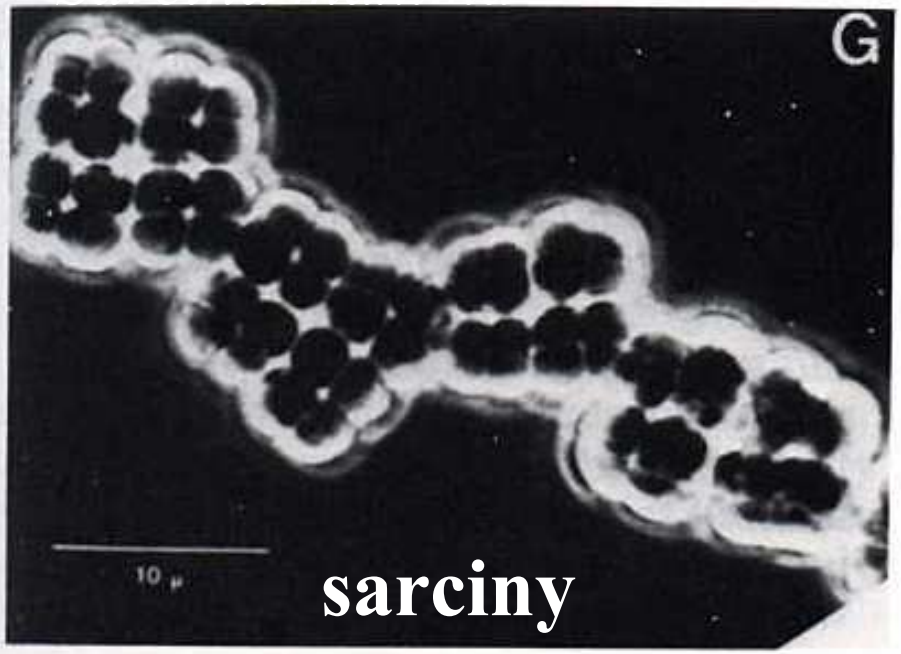




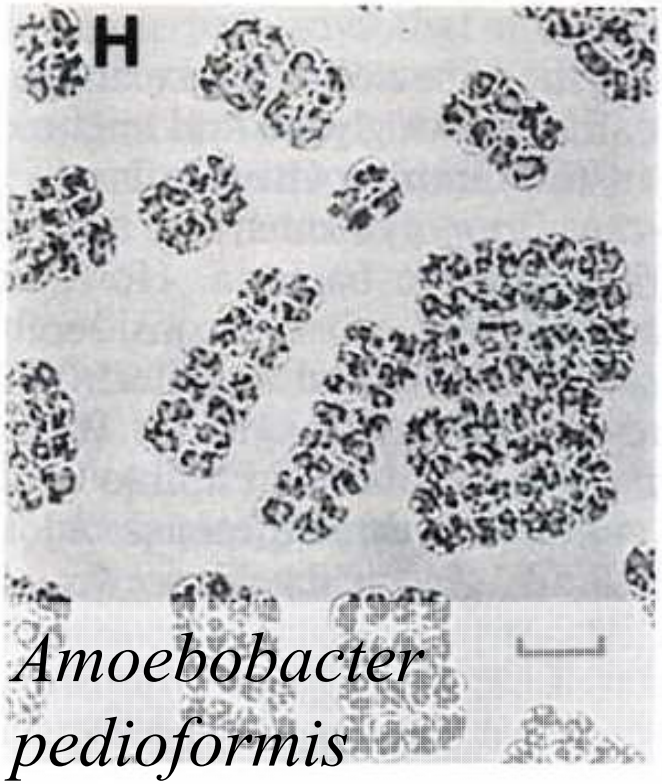
Sphaerotilus



Streptomyces



sarciny



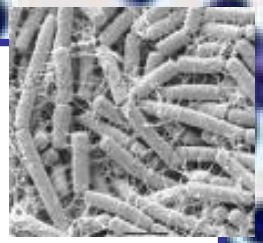
Amoebobacter pedioformis

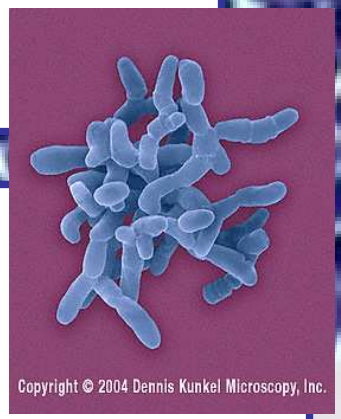
Salmonella typhi

Tyčinky, tyčky

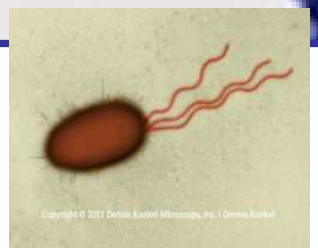
Dělení jen v 1 rovině, vždy jen příčně.

U bacilů poměr délka/šířka větší než 0,5.





Mycobacterium paratuberculosis



E. coli

rovné (většina bakterií,*E.Coli*, r.*Salmonella*…)

krátké (kokobacily viz níže)

dlouhé - vlákna (*Erysipelothrix,Actinomyces*)

štíhlé (*Mycobacterium tuberculosisi, Clostridium tetani*)

robustní (r. *Lactobacillus, Clostridium perfringens*)

rozštěpené (r. *Bifidobacterium*)

větvící se (rr. *Nocardia, Actinomyces*)

zakřivené (vibria-rr.*Vibrio, Campylobacter*) Vibria – různě prohnuté na jednu stranu, divoké kmeny více než sbírkové.Mikroskopie: vždy jednotlivě, dvojice jen na konci buněčného cyklu.

s rovnými až konkávními konci (*Bacillus anthracis*)

vřetenovité (r. *Fusobacterium*)

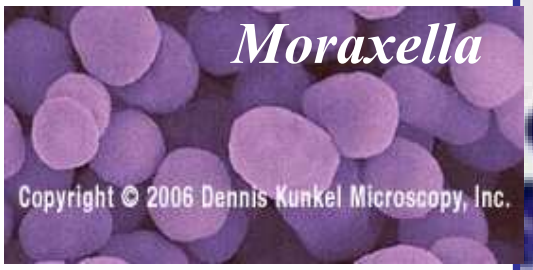
kyjovité (r.*Corynebacterium*)

pleomorfní (viz níže)

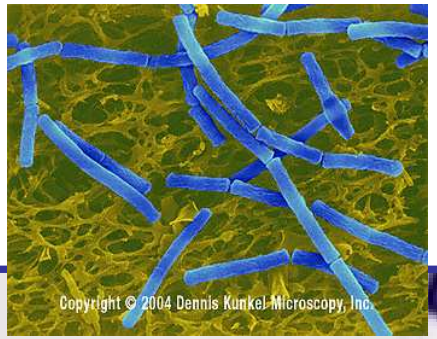
Tyčinky

Dělí se typicky jen podél své krátké osy a zůstávají většinou odděleně;

- **Diplobacily:**
- tyčky ve dvojicích s kratšími konci u sebe (např. rod *Moraxella)*



- **Streptobacily:**
- Tyčky, které zůstávají v řetízku po dělení (např. *Streptobacillus moniliformis, Erysipelothrix rhusiopatiae, Bacillus, Lactobacillus,*)



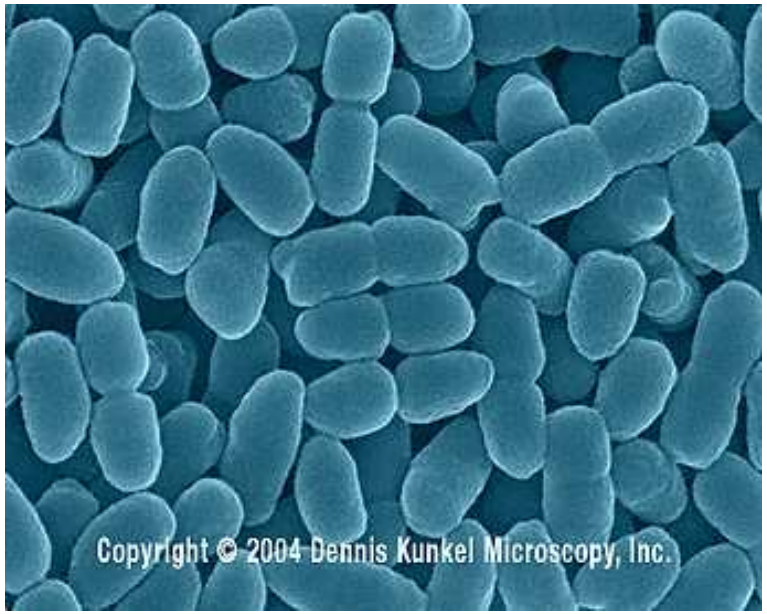
Palisádovité uspořádání, v podobě klád či římských číslic (např. rod *Corynebacterium, Mykobacterium* a tzv. nokardioformní bakterie – *Nocardia asteroides, Arcanobacterium haemolyticum, Rhodococcus equi*)

Palisády – vznikají rozpadem řetízku u buněk produkujících palisádový enzym, buňky pak sekundárně spojeny nábojem. Palisády existují v prostředí vždy krátce (výskyt proteáz).

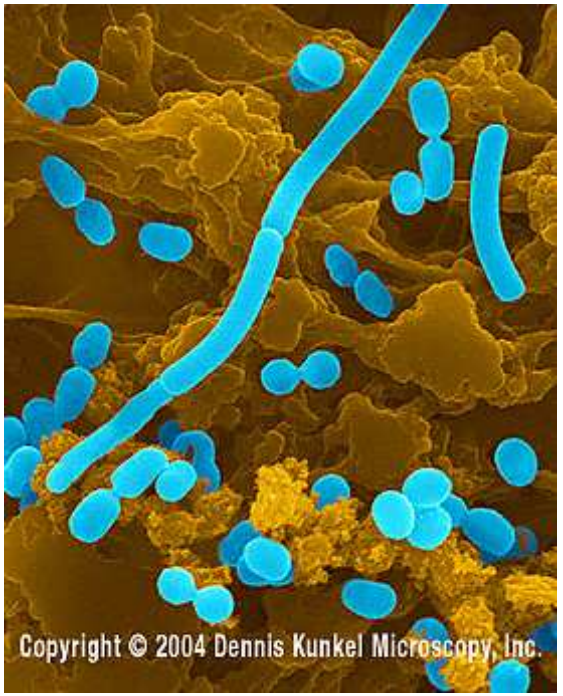
Kokobacily

kokobacily a kokotyčky dvojice nebo shluky, nikdy řetízky

- *Bordetella pertusis, Kingella, Acinetobacter*



Bordetella holmesii



Acinetobacter spp.

Další tvary tyčinek

Mycelium tvořící – aktinomycety, streptomycety

Prostéky tvořící

prostéka - buněčný výběžek s cytoplazmou,ohraničený cytoplazmatickou membránou a buněčnou stěnou (*Filomicrobium,Hyphomicrobium)*

Pupeny,pučení

Pupeny na rozdíl od kvasinek vždy na krátké straně, pučí většinou tyčky. Pupen vždy opouští mateřskou buňku.

U pučících i příčné dělení.

(Ancalomicrobium,Blastobacter, Hyphomonas)

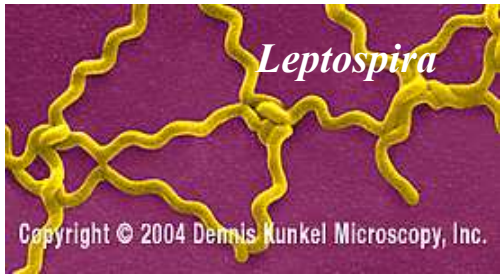
Spirálovité

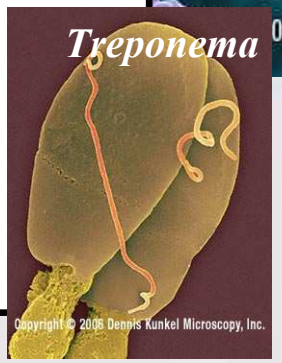
nepravidelné (rody *Spirilum, Helicobacter*)

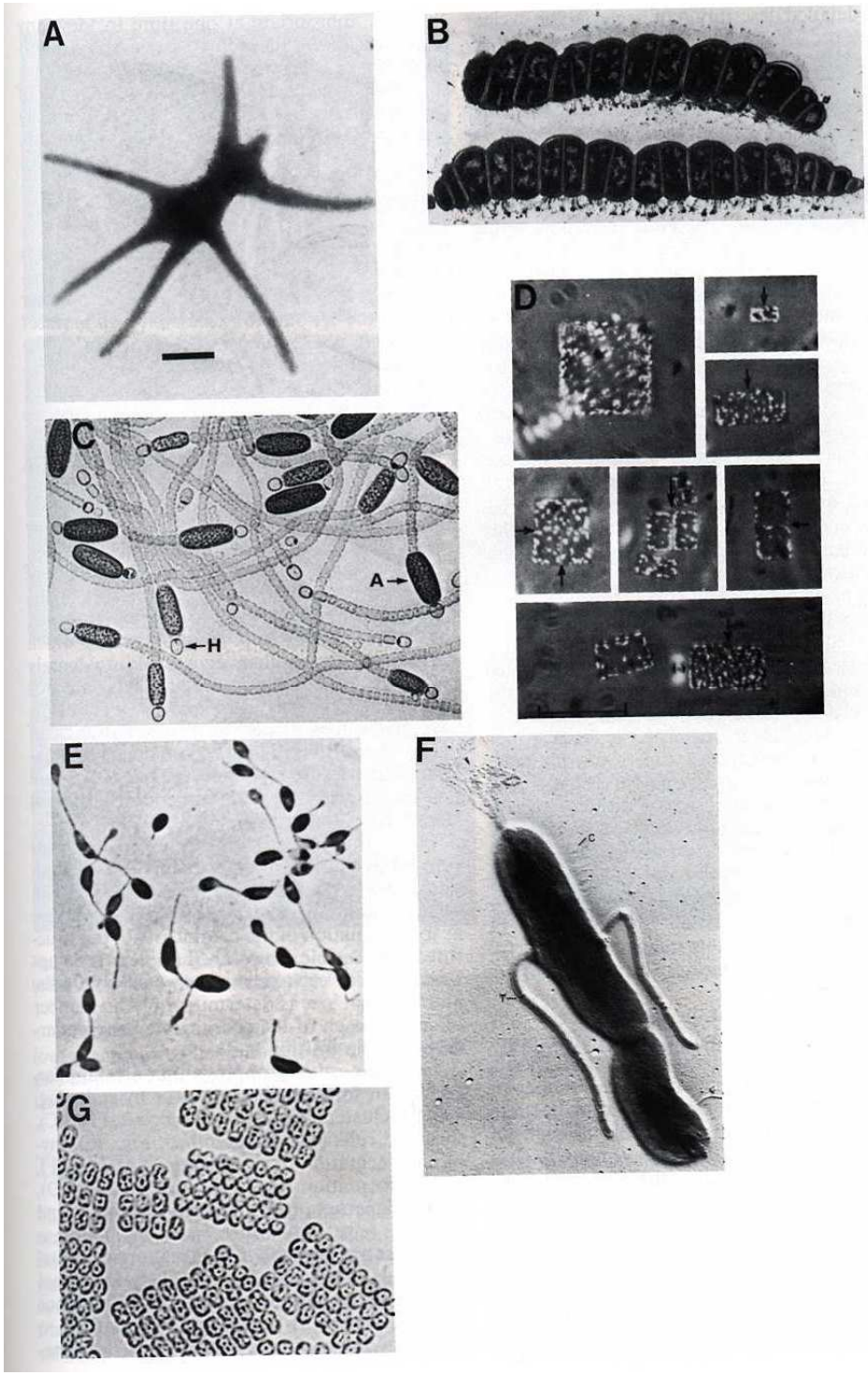
hrubé (r.*Borrelia*)

jemné (r.*Treponema*)

jemné se zahnutými konci(r.*Leptospira*)







Prosthecomicrobium

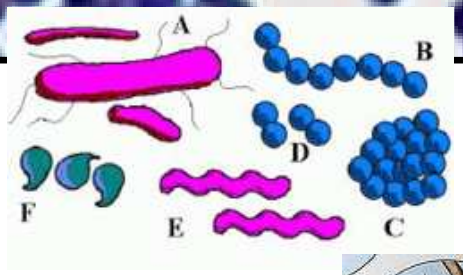
Simonsiella

Cylindrospermum

Rhodomicrobium

Asticacaulis

Thiopedia rosea

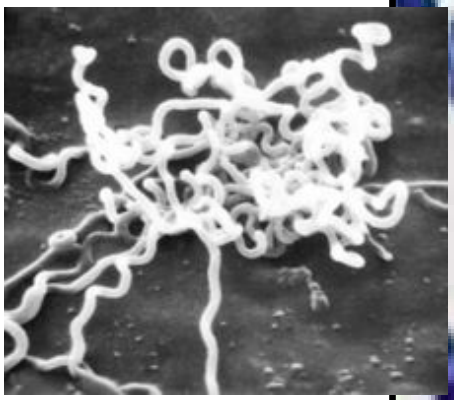


Spirilly – určitý počet závitů a vždy stejné stoupání počet závitů konstantní – max 5-7.

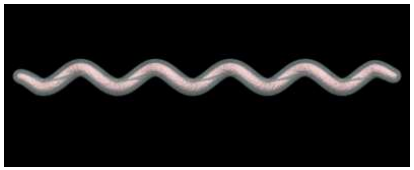
Pohyb a udržování počtu závitů vždy dle osového vlákna závity jen v 1 rovině,relativně tenké buňky.

Spirochety – více závitů, tlustší buňky, závity ve dvou či třech rovinách.

Bičíky v horním periplazmatickém prostoru, axiální bičíky vidíme až na řezu (jeden až několik desítek).



Undulující membrána – bílkovina + sacharid v 1rovině, výlučně u vodních.



U spiril i spirochet bičíky vždy na koncích, jednotlivě či ve svazku.Pokud spojení tak háčkem, ne plochou. Pro pozorování se využívá mikroskopie v zástinu.

Mikroskopie: buňky vždy jednotlivě.

Bakterie monomorfní

existence jedné morfologické formy nezávisle na podmínkách růstu

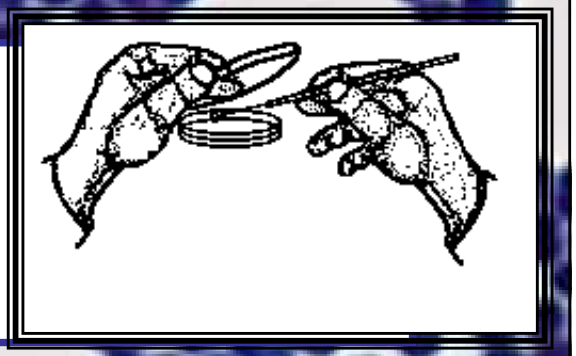
Bakterie pleomorfní (mnohotvaré, pleiomorfní)

existence odlišných morfologických forem u téhož druhu či kmene (vlivem různých podmínek pro růst, často starší kultury)
příklady:*Corynebacterium diphteriae, Mycoplasma pneumoniae, Rickettsia prowazeki, Rickettsia rickettsia*

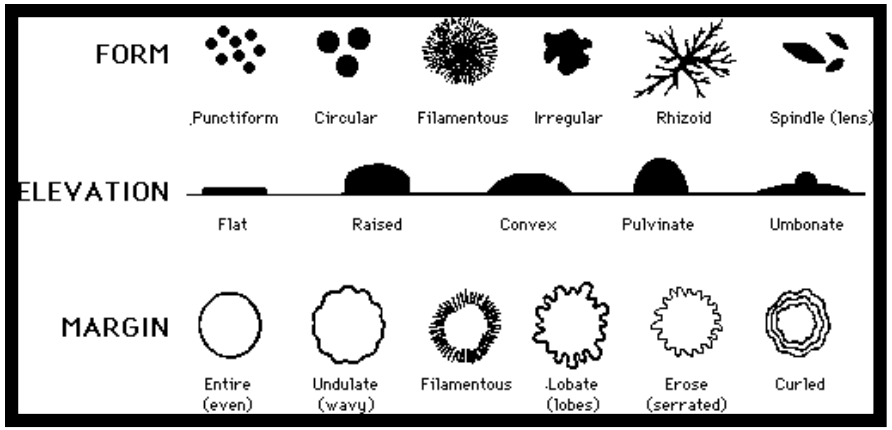
1. **mykobakterie**
2. **corynebacterium** –plectridium (ztluštění terminálně) či clostridium (ztluštění centrálně), corynebacterium mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluk.
3. **aktinomycety** – mikroskopie: jednotlivě, dvojice nebo shluky. U streptomycet např. čím delší kutivace tím větší pleomorfismus.

Morfolologie kolonií

Charakteristická pro daný bakteriální druh

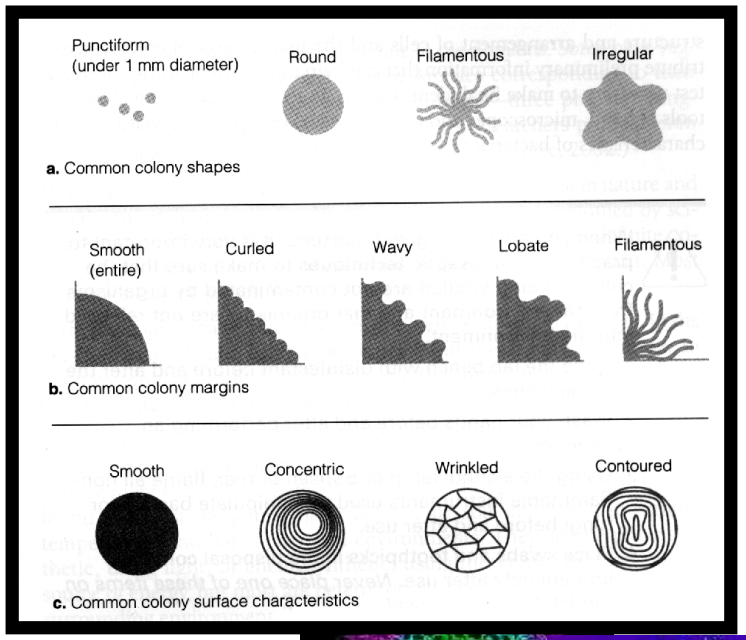


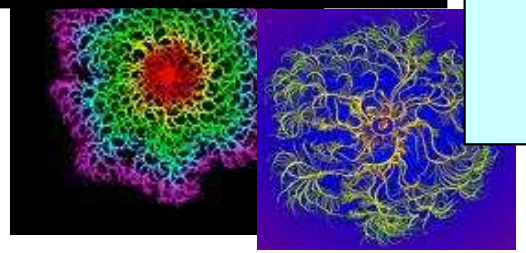
- Kolonie – tvorba a stavba, uspořádání (organizace) a dorozumívání (komunikace).
- Mezikoloniální vztahy a vlivy – komunikace mezi jednotlivými koloniemi.
- Závislost na době kultivace, teplotě a výživě.
- Kolonie bakteriální = společenství buněk vzniklé obvykle na povrchu pevné kultivační půdy z třeba i jediné životaschopné buňky.



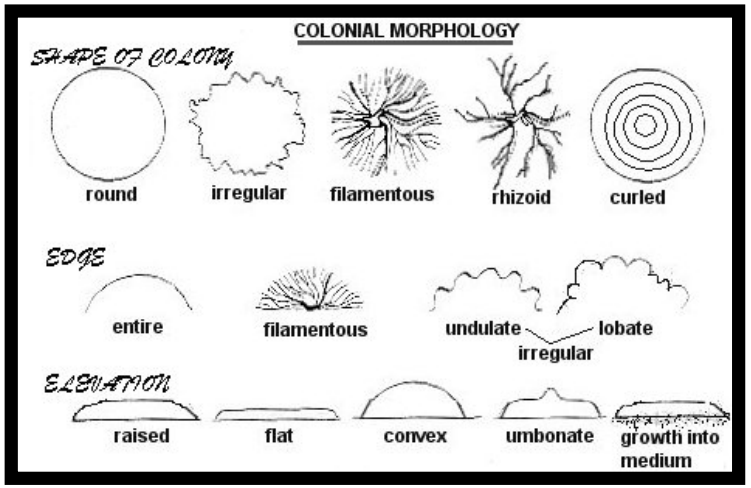
<u>Velikost</u> (průměr; mm)
<u>Tvar</u> – kolonie pravidelná kulatá, oválná, nepravidelně laločnatá, vláknitá, rhizoidní, plazící se

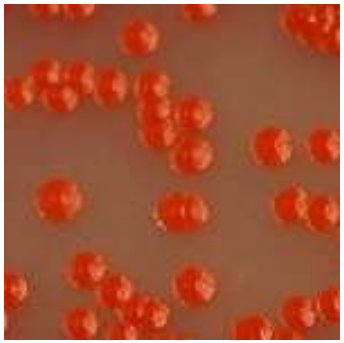
Profil – kolonie vyvýšená, plochá, pupkovitá,miskovitá …
Okraje – pravidelné, filiformní, laločnaté, okrouhlé …
Povrch – hladký, lesklý (S – fáze), matný, drsný (R- fáze)



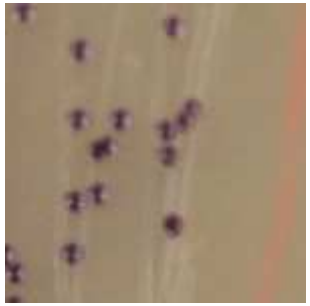


Transparence
Vůně, zápach
Tvorba mycelia
Změny media
Barva
Konzistence





Serratia



Chromobacterium violaceum

Kulaté, vypouklý profil,

pravidelné okraje

Micrococcus luteus

Drobné = tečkovité,

pravidelné, vypouklé

Klebsiella ozanae
Kulaté kolonie

Enterococcus faecalis

Kulaté, vypouklý profil,

pravidelné okraje

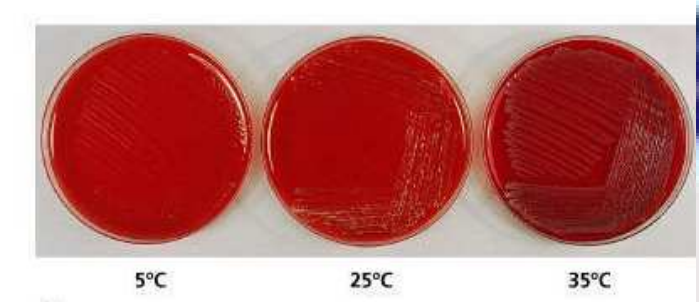
Drobné – neúčinný metabolismus

Kultivace 3-4 dny

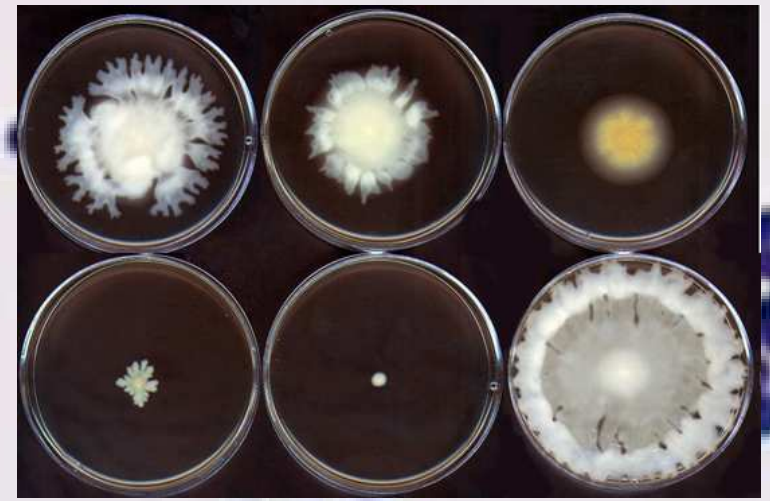
Lactobacillus plantarum

Bacillus cereus
Kolonie velké,
nepravidelné,
plochý profil, okraj vlnitý

Salmonella
Jeden druh tvoří i rozdílnou morfologii kolonií

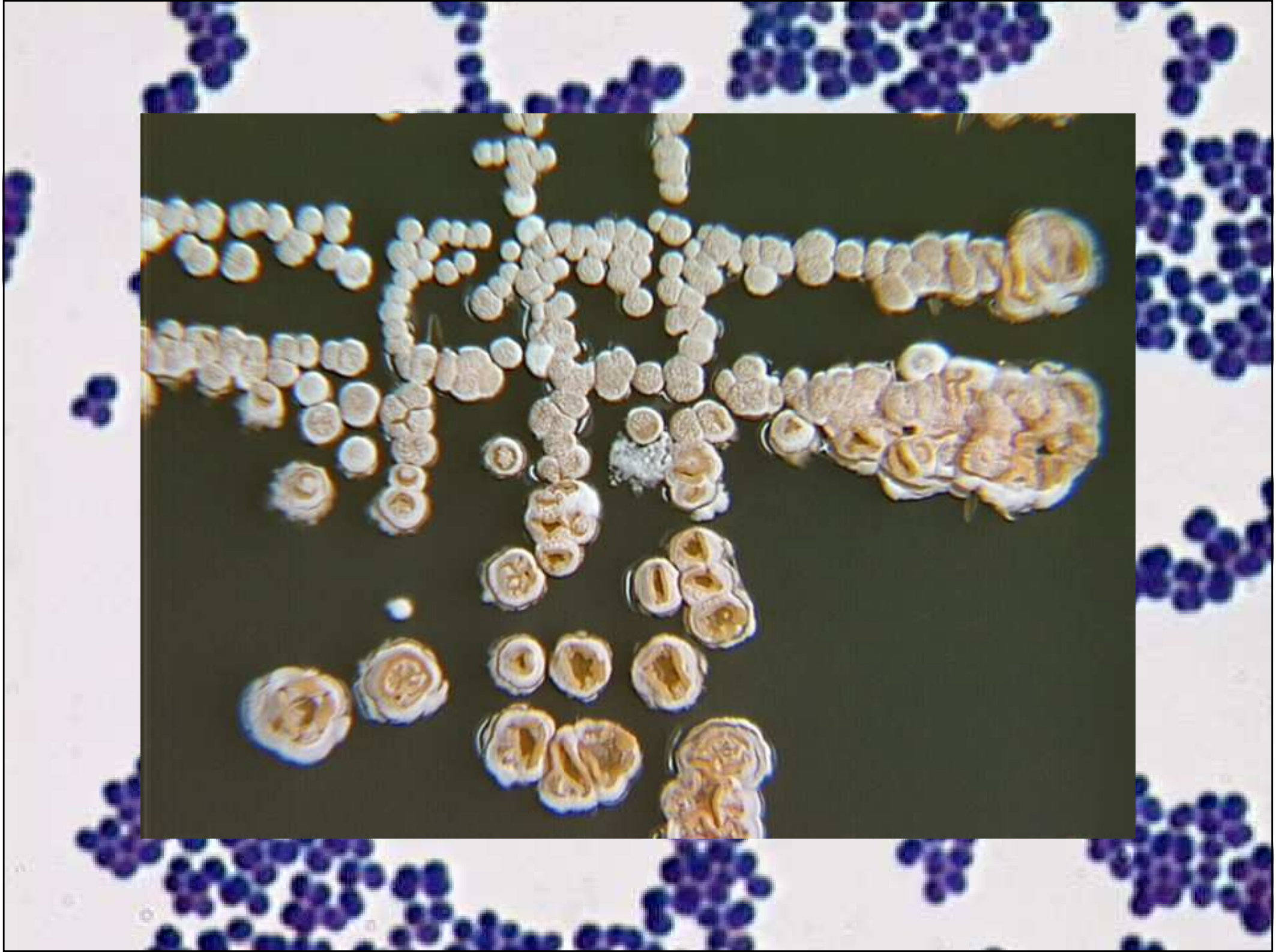


Colony morphology of an exopolysaccharide-overproducing mutant of *P. fluorescens* CHA0.

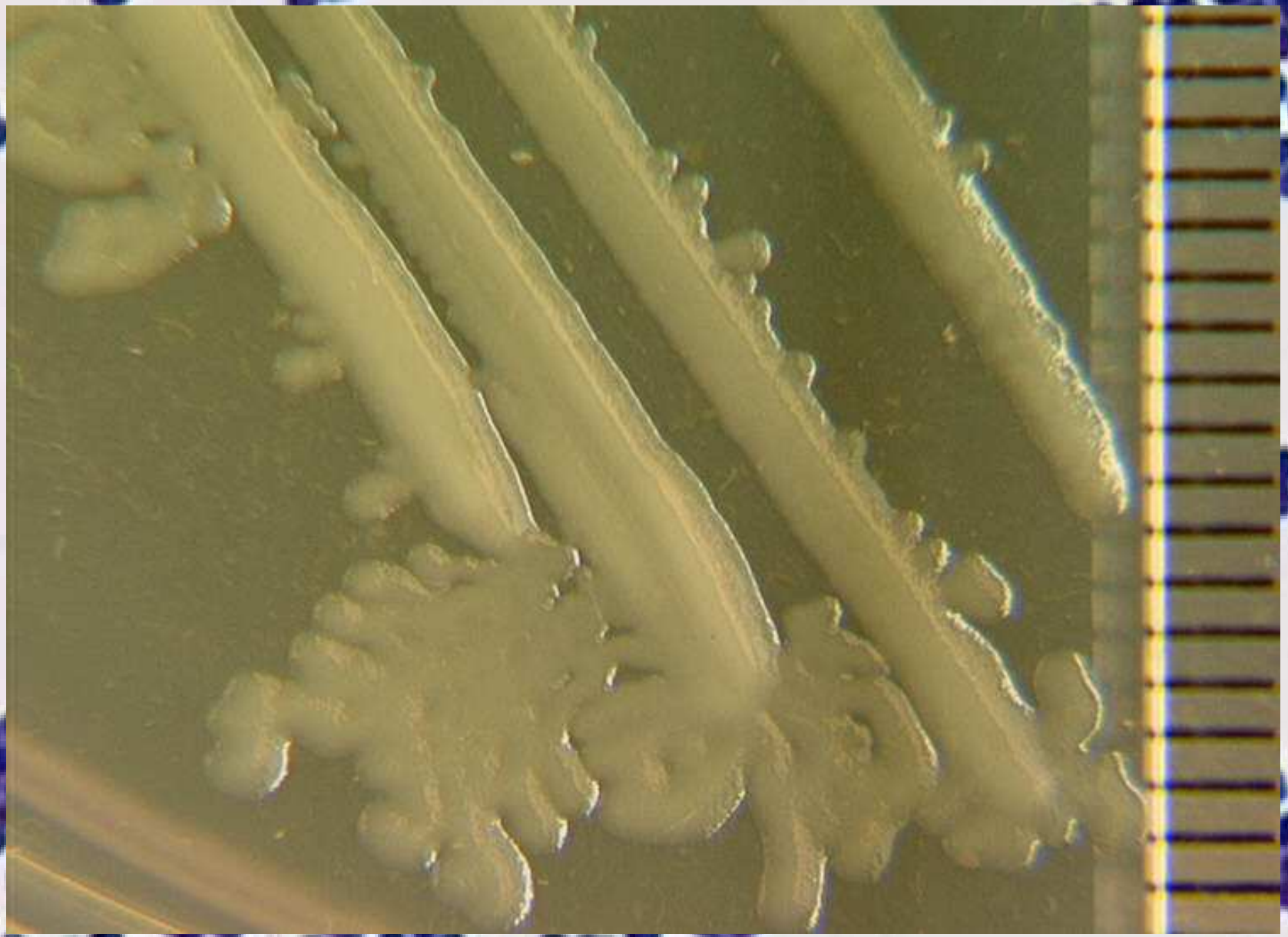


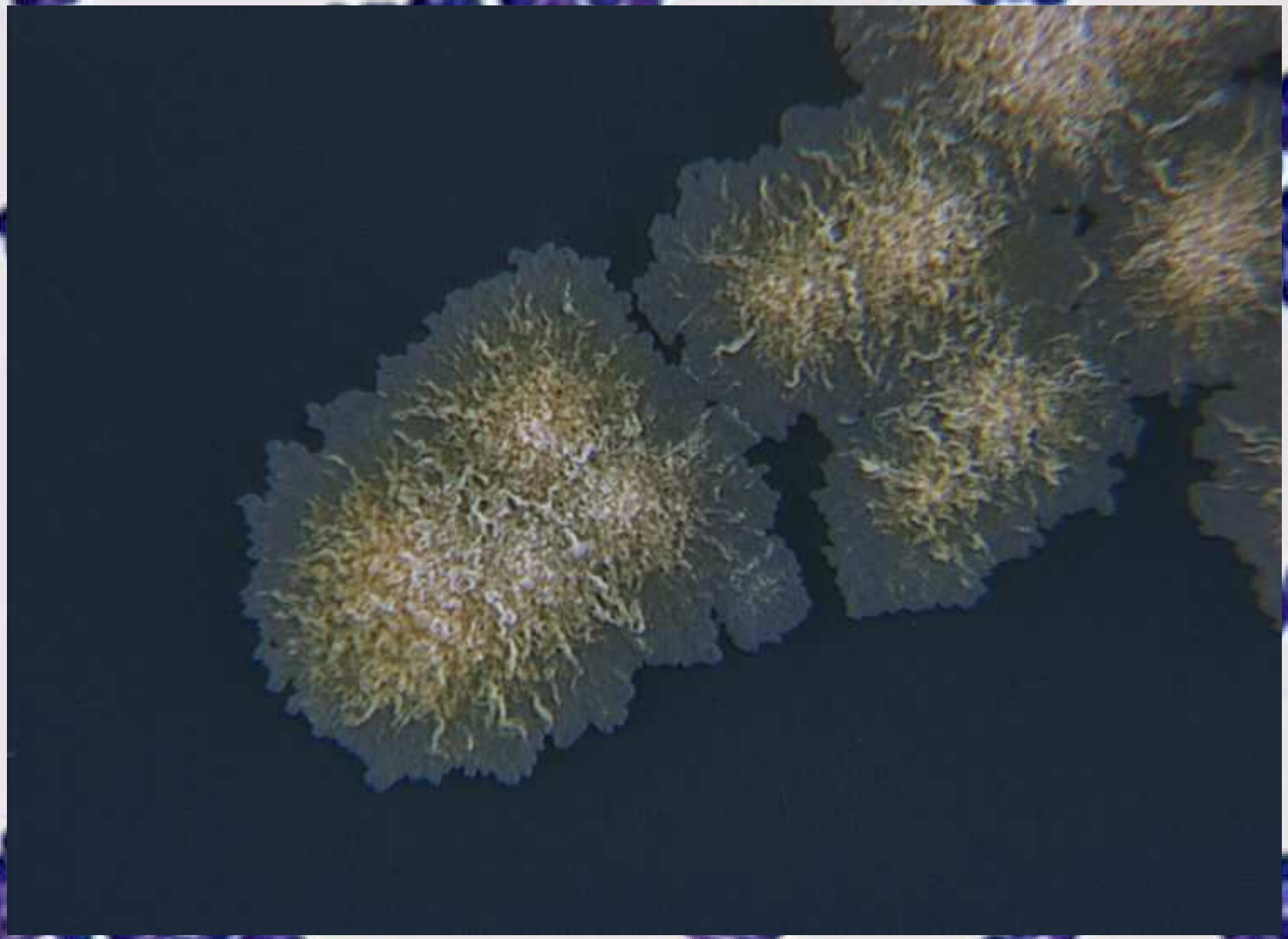
Surface motility patterns of mutant derivatives of *P. fluorescens* CHA0.

Bacillus licheniformis



Proteus vulgaris





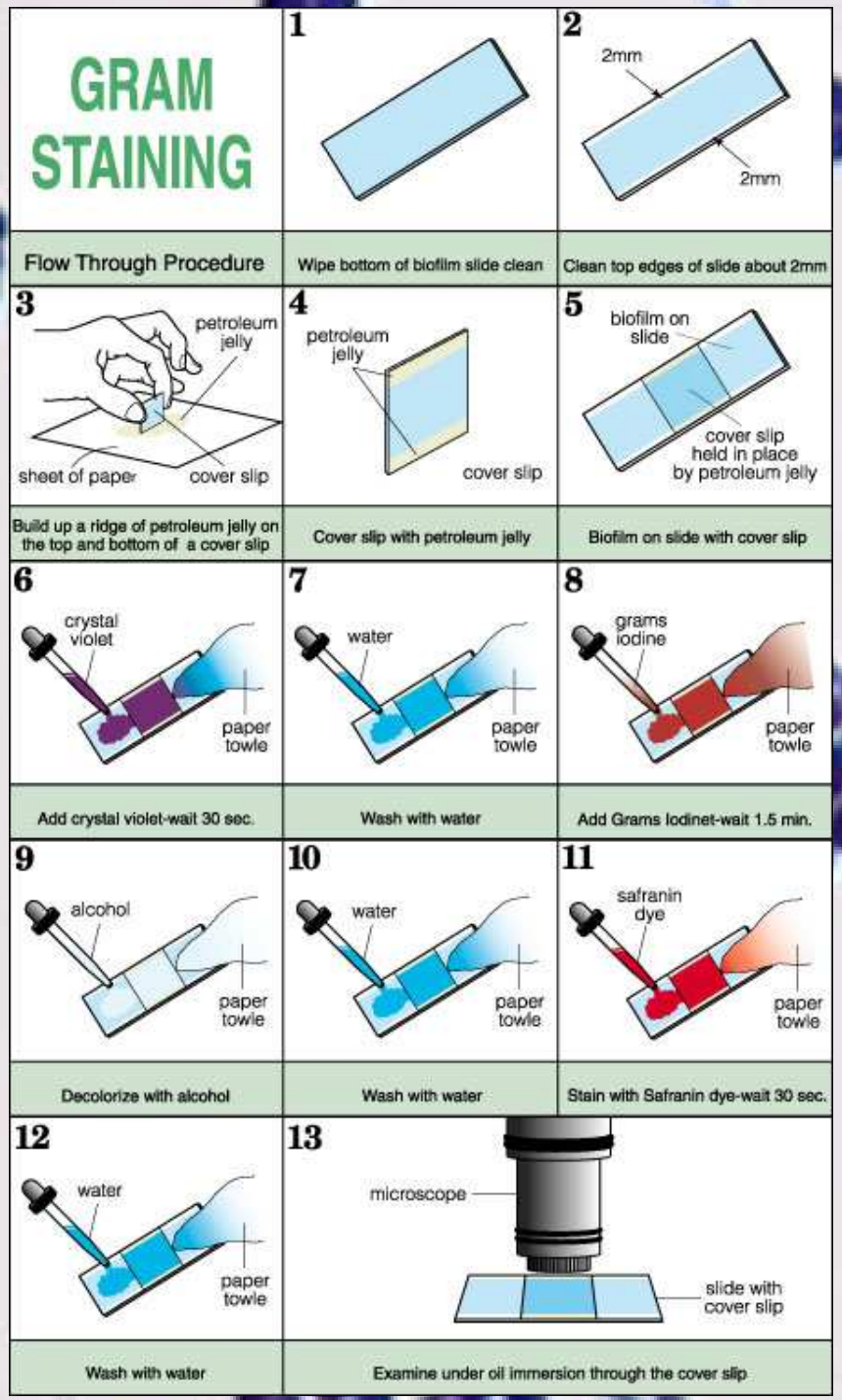
Barvení buněk

- **Proces fyzikální**

  barvivo adsorbováno na povrch Van der Waalsovými silami, dipólovými reakcemi nebo H můstky

- **nebo chemický**

  na základě reakce mezi substrátem a barvivem, ionty barviva vázány elektrony kovalentní vazby (jako u solí), produkt má nižší disociační konstantu



- **<u>Při neutrálním pH</u>** – buněčné bílkoviny většinou na alkalické straně izoelektrického bodu

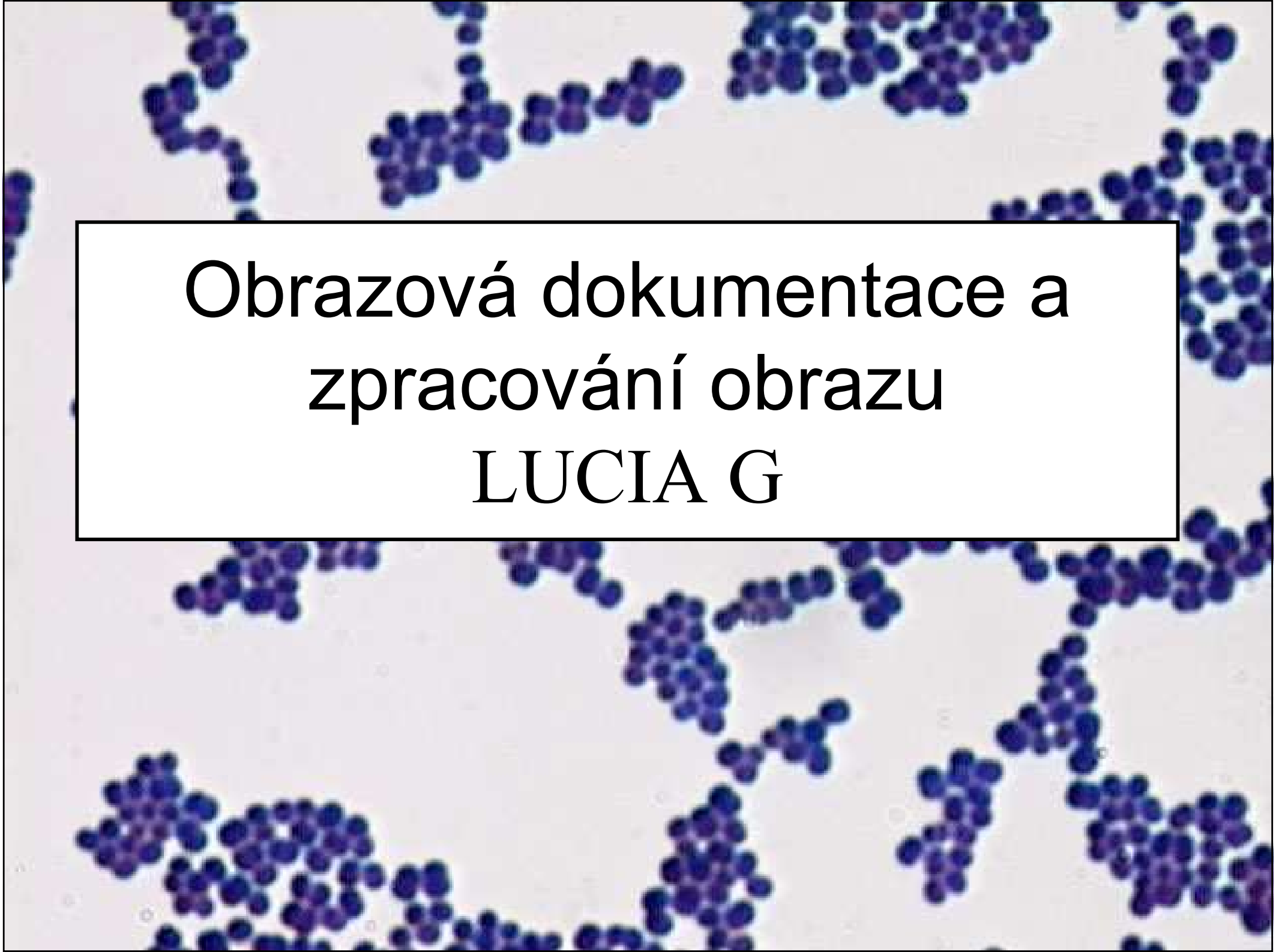
  Proto barvíme bazickými barvivy – methylenová modř, krystalová a genciánová violeť, fuchsin, safranin.
  <u>Barviva soutěží o ionty na buněč. povrchu.</u>

- **<u>Bazická barviva</u>** – barvicí složka v kationtu (methylenová modř – tetramethylthionin hydrochlorid). Reakce = výměna iontů, bazické barvivo nahradí kation adsorbovaný na buňce
- **<u>Kyselá</u>** – v aniontu (eosin – sodná sůl tetrabromfluorescinu)
- **<u>Buněčná suspenze –</u>**

  amfoterní, tvoří vazby s

  bazickými barvivy – nad izoelektr. bodem

  s kyselými – pod izoel. bodem



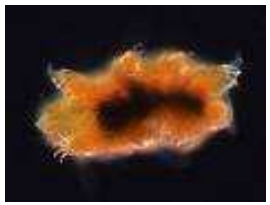
Obrazová dokumentace a zpracování obrazu

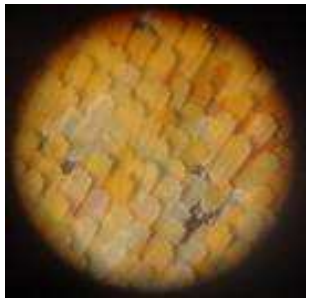
LUCIA G

Rozdělení obrazu

Makrofoto (z binokulární lupy, např. kolonie) **do Z = 30:1**

Mikrofoto (z mikroskopu) Z nad 30:1





Microphoto
butterflywing

Zařízení

konvenční a digitální fotoaparáty, video- a digitální kamery

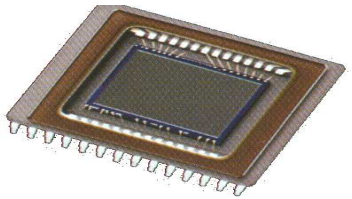
- **konvenční** - snímaný prvek je políčko filmu, princip chemické reakce
- **digitální** - snímaný prvek je CCD čip, CMOS, princip el. výboj

Jednotka rozlišení je pixel (bod výsledného obrázku; kvalitní fotoaparát 3 – 6MP)

- Kamery RGB (red, green, blue) – nejčastěji tříčipová kamera, alternativa binokulární lupy

Doplňkové zařízení – stativ, osvětlení, počítač

Světlocitlivé snímací čipy



- **CCD / CMOS čip - snímá obraz za objektivem digitálního fotoaparátu**
- **Liší se ve 1) velikosti světločivné oblasti**

  (palce, 1/2", 1/1.8", 1/2.7" a 1/3.6„)
- **2) v rozlišení - skládají se až z miliónů jednotlivých buněk (pixelů, které registrují světlo a vyhodnocují jeho intenzitu)**

Jak čip rozeznává barvy?

- **světlo lze rozložit do 3 základních barev**

  červené, zelené a modré + kombinace

  (255 + 255 a 0 =)

- **nad každou světločivnou buňkou (pixelem) je malý barevný filtr, proto některé buňky registrují jen červenou,**

  jiné jen modrou a ty poslední

  jenom zelenou.

Celkem se všem těmto filtrům na CCD či CMOS čipu říká

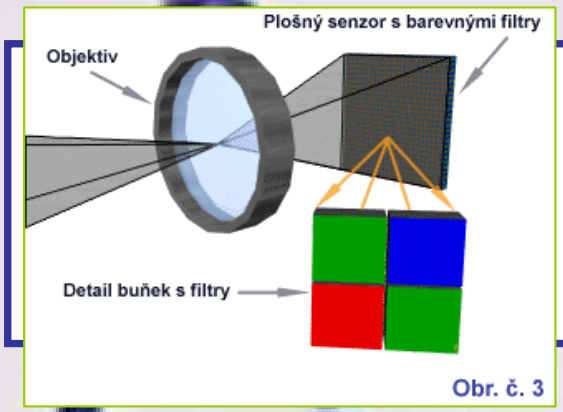
RGB filtr (Red, Green, Blue filtr).

Počet pixelů - hlavní údaj CCD/CMOS čipu

- **Ale není nejdůležitější**

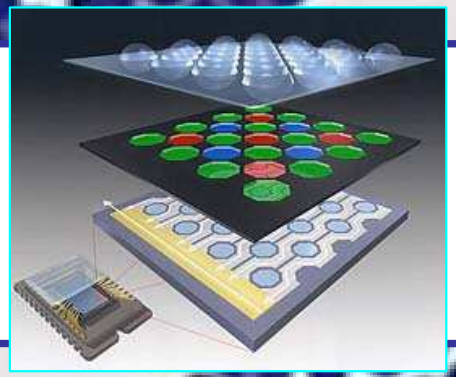
  (neudává, kolik % z něj dokáže digitální fotoaparát využít)

- **Například CANON PowerShot Pro 90 IS má 3.34 Mpix CCD čip, ale používá z něj sotva 80% pixelů.**



Obr. č. 3

CCD čip

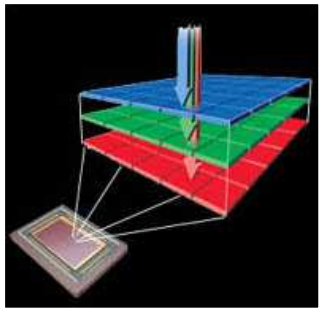


- **nejčastěji používaný obrazový čip**
- **nákladný**
- **Výstup informací z CCD čipu není digitální, ale analogový - za CCD čipem musí následovat obvody pro digitalizaci obrazu (A/D převodník) = vyšší odběr elektrické energie a zpomalení toku dat**
- **Obvody digitalizují obraz u CCD čipu pro všechny pixely postupně**

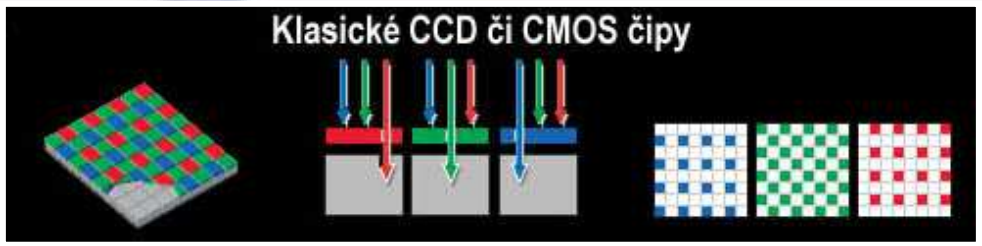
CMOS čip

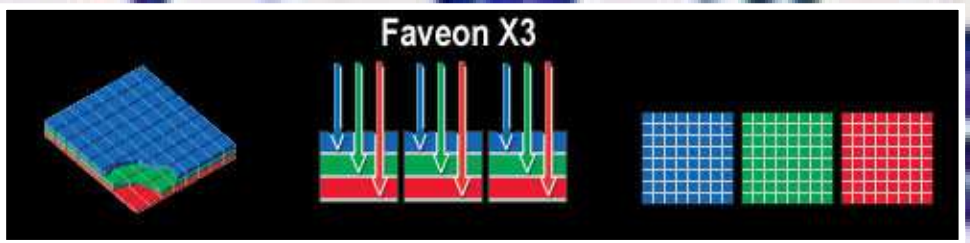
- **konstrukčně složitý, ale levnější**
- **obvody CCD čipů zde již součástí (každá světločivná buňka - pixel - má tyto obvody přímo u sebe**
- **digitalizace obrazu se provádí pro všechny pixely zvlášť a najednou. To snižuje dobu pro přečtení obrazu z CMOS čipu a snižuje spotřebu energie**
- **každá buňka dostane nad sebe kromě RGB filtru i miniaturní čočku (celkem miliony) – ta soustředí paprsky dopadající na plochu s digitalizačními obvody do místa citlivého na světlo.**

CMOS Faveon X3 čipy



- **U klasických CCD či CMOS čipů se detekují pouze tři základní barvy –RGB**
- **Světločivná buňka na CCD či CMOS čipu rozpozná pouze intenzitu dopadajícího světla**
- **Nad vlastní světločivnou buňku je filtr v inverzní barvě - pohltí všechny barvy kromě té na kterou je nastaven. (Tak nám tato buňka detekuje pouze intenzitu jedné barvy. Dohromady se detekují všechny barvy, které mohou vzniknout složením červené, zelené a modré).**





Rozlišení snímku

- **kolik bodů (pixelů) vodorovně a svisle je schopen fotoaparát rozeznat.**
- **Tak můžeme potkat fotoaparáty oba s 3.34 Mpix, ale jeden dosáhne 2048x1536 pixelů rozlišení, a ten druhý jen 1856x1322 pixelů rozlišení.**

Digitální fotoaparáty

- **nastavování rozlišení snímku**
- **k potlačení tónování barev (např.kvůli zářivkového osvětlení) při focení slouží vyvážení bílé barvy**
- **nastavení citlivosti CCD nebo CMOS čipu (v jednotkách ASA)**
- **barevná hloubka - v bitech**

  nejčastější je 24 bitů - na každou barvu připadá 8 bitů

  Čím větší je toto číslo, tím více barev je možné rozeznat na výsledném snímku.

Více než 32 bitů na barvu lidské oko nerozezná.

Nikon Coolpix 4500

http://www.dpreview.com/reviews/nikoncp4500/page2.asp

Software

- snímání a analýza obrazu
  - LUCIA G / GF
- zpracování digitálního obrazového materiálu
  - PhotoShop
  - IrfanView
  - Xnview
  - GIMP

LUCIA G

- možnosti software (snímání, akceptovatelné formáty …)
- interaktivní měření (měření, délka)
- automatické měření – binární obraz, prahování
- editace obrazu – výřezy, zoom, jas, kontrast, doplňkové barvy …

Komprimace (komprese) dat – snižuje datový objem

Formáty obrázků –

BMP –bezkompresní

TIFF-bezztátová komprese

JPG – lze volit míru komprese

Ukládání obrazových dat –digitální fotoaparát smart media karty, kamery – obraz přímo,ale počítač musí mít digitalizační kameru – grabbor

Děkuji za pozornost