

## Bakteriální spory

Některé bakteriální rody (*Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporosarcina*, *Sporolactobacillus*, *Oscillospira*, *Thermoactinomyces*) mohou tvořit klidové formy zvané **spory** (endospory; vznikající uvnitř buňky). Povrch spor je tvořen silným, špatně propustným obalem. Proto jsou velice odolné vůči působení vnějších vlivů, toxinů. Jsou rovněž **obtížně barvitelné**. V preparátech barvených běžnými technikami se obarví pouze jejich obal. **Proto se barví po předchozím moření nebo za horka pomocí silných barviv** – takto se těžko odbarvují kyselinami (acidorezistence) i jinými sloučeninami.

### Metody pozorování:

#### 1) po barvení

- malachitovou zelení - Schaefferova-Fultonova metoda  
- Wirtzovo a Conklinovo barvení
- Möllerova metoda
- Ziehl-Neelsenovým roztokem - karbolfuchsin

#### 2) fázovým kontrastem

#### 3) Nomarského kontrastem

### Mikroorganismy:

Mikroorganismy: <i>Bacillus cereus</i> CCM 2010	1, 1 + Mn
<i>Bacillus subtilis</i> CCM 1615	1 + Mn
<i>Bacillus thuringiensis</i> CCM 19	1 + Mn
<i>Bacillus sphaericus</i> CCM 1615	1, 1 + Mn
<i>Bacillus megaterium</i> CCM 2007	1, 1 + Mn
<i>Bacillus polymyxa</i> CCM 1459	14
<i>Sporosarcina ureae</i> CCM 860	1 + U + Mn

U = urea, přídavek močoviny v médiu  
Mn = MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O v médiu

### Postupy:

#### A. Barvení malachitovou zelení - Schaefferova-Fultonova metoda

- 1) Ušchlý nátěr buněk na sklíčko fixujeme trojím protažením v plameni
- 2) Převrstvíme malachitovou zelení
- 3) Zahříváme 5 minut do výstupu par, doplňujeme barvivo
- 4) Opláchneme vodou
- 5) Dobarvíme kontrastním barvivem - safraninem nebo kongo – červení (převrstvením 5 min)
- 6) Opláchnout vodou, usušit, pozorujeme pod imerzí

Pozorování: Spory jsou zelené, ostatní buněčný obsah červený.

## B. Wirtzovo – Conklinovo barvení

- 1) Fixovaný preparát převrstvíme malachitovou zelení
- 2) Zahříváme 2-3minuty do výstupu par
- 3) Slijeme barvivo, opláchneme
- 4) Body 1-3 opakujeme 3x
- 5) Dobarvíme zředěným karbolfuchsinem 3 minuty
- 6) Opláchneme vodou, usušíme, pozorujeme pod imerzí

## C. Möllerova metoda

- 1) Fixovaný preparát moříme (5 %) kyselinou chromovou 10 minut
- 2) Opláchneme vodou
- 3) Převrstvíme karbolfuchsinem, zahříváme nad mírným plamenem 2 minuty do výstupu par, barvivo nesmí vyschnout
- 4) Po zchlazení opláchnout vodou
- 5) Odbarvit 5% kyselinou sírovou 10 – 20s
- 6) Opláchnout vodou
- 7) Odbarvené vegetativní buňky dobarvit methylenovou modří 4 – 6 minut
- 8) Opláchnout vodou
- 9) Usušit, pozorujeme pod imerzí

Pozorování: Spory jsou červené, zbytek buňky modrý.

## D. Ziehl – Neelsenovo barvení

- 1) 0,5 ml husté suspenze buněk smícháme s 0,5 ml Ziehl-Neelsenova karbolfuchsinu a 20 minut zahříváme na vařící vodní lázni
- 2) 1 malou kapku smíchat s 1 kapkou nigrosinu na podložním sklíčku
- 3) po uschnutí pozorujeme pod imerzí

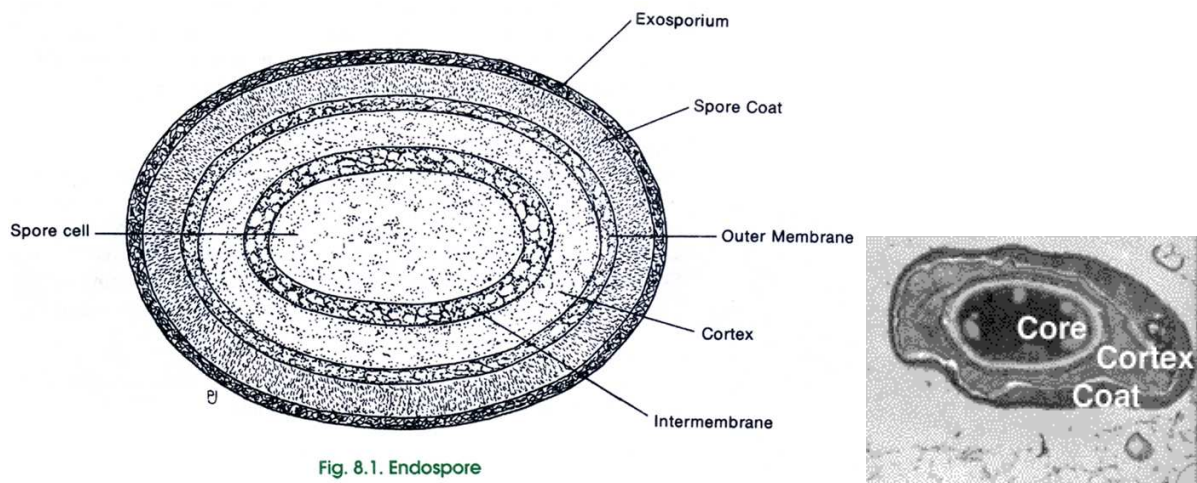
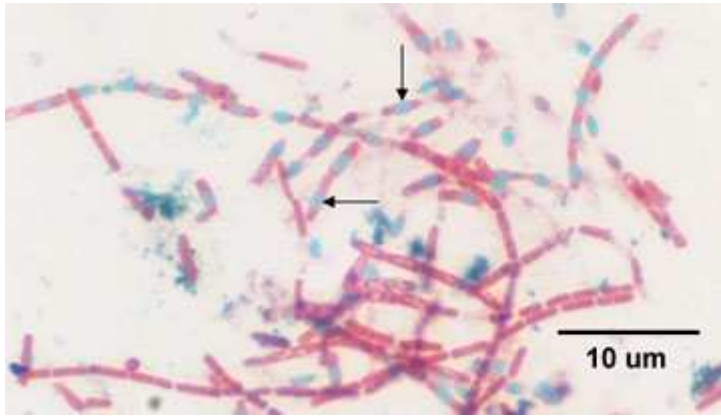


Fig. 8.1. Endospore



*Bacillus megaterium*

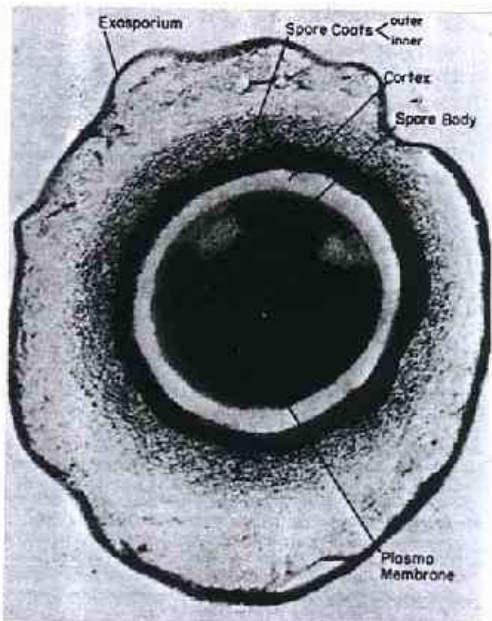
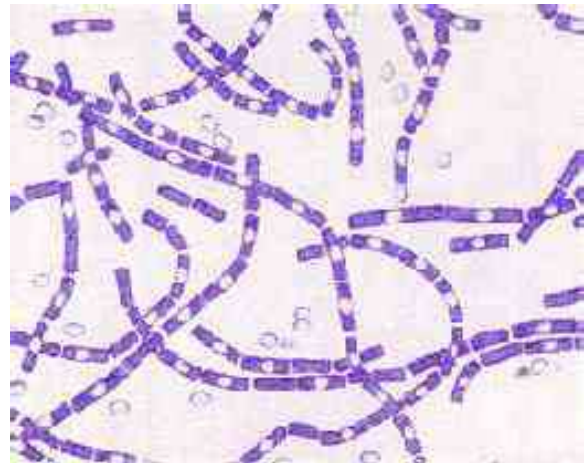
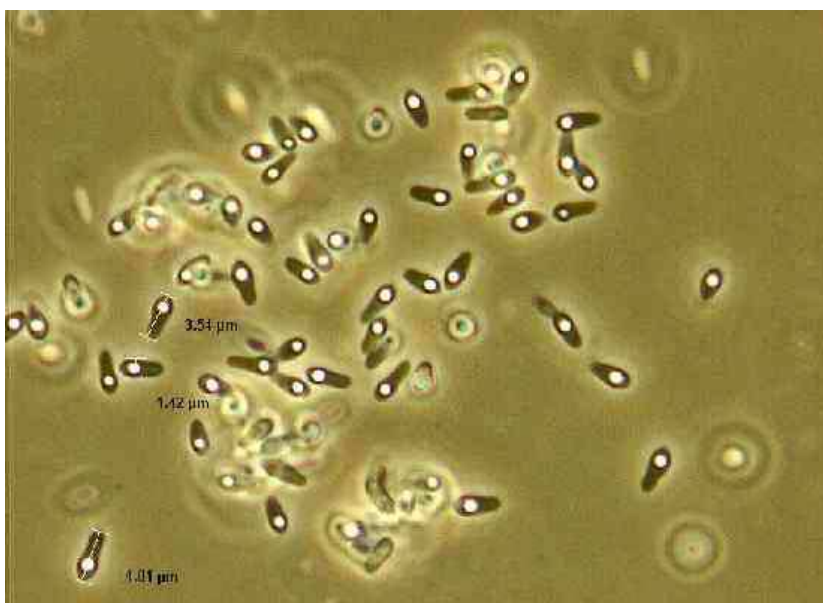


Fig. 2. Electron micrograph of a thin section of a spore of *Bacillus sphaericus*. (Courtesy of Dr. S. Holt.)



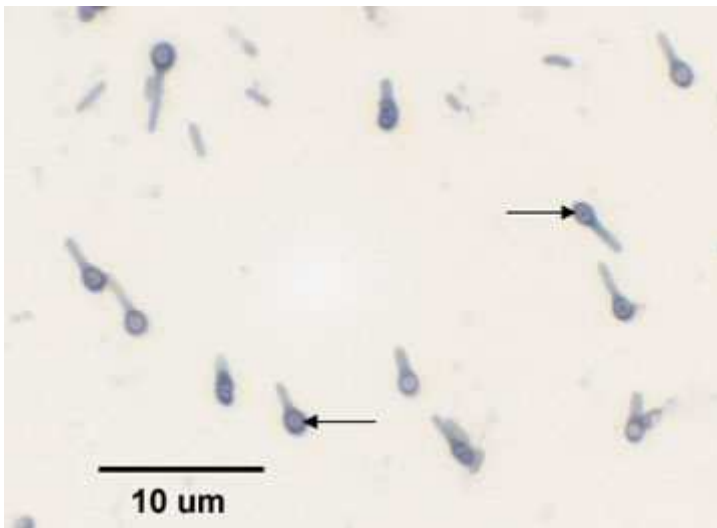
*Bacillus anthracis*



*Bacillus sphaericus*



*Bacillus cereus*

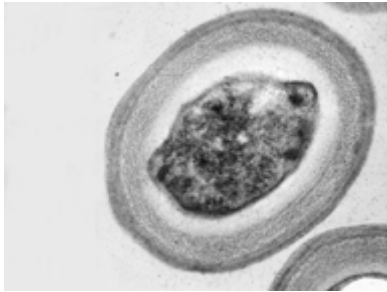


*Clostridium tetani*

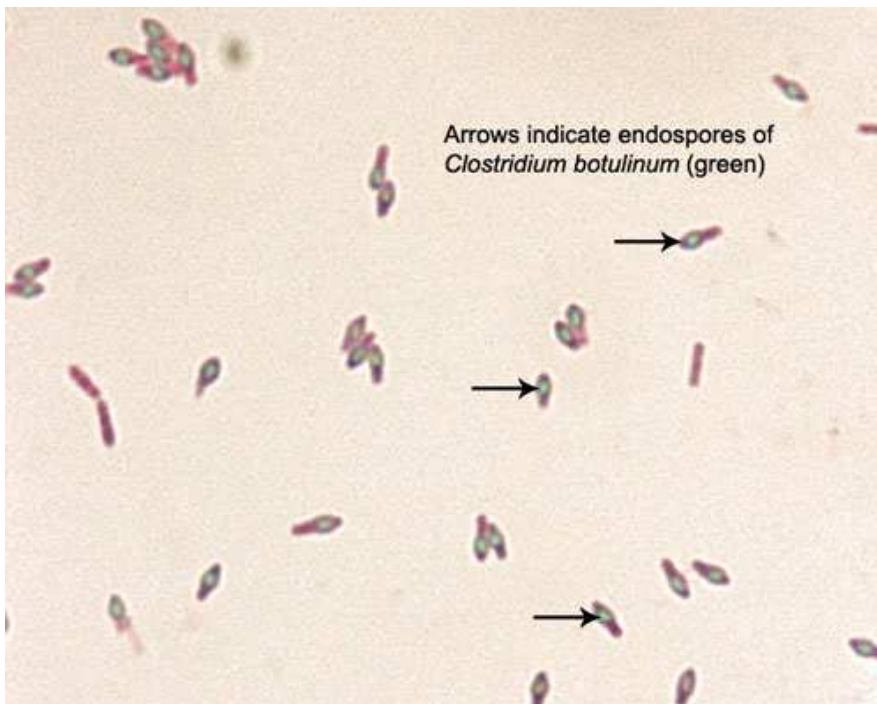


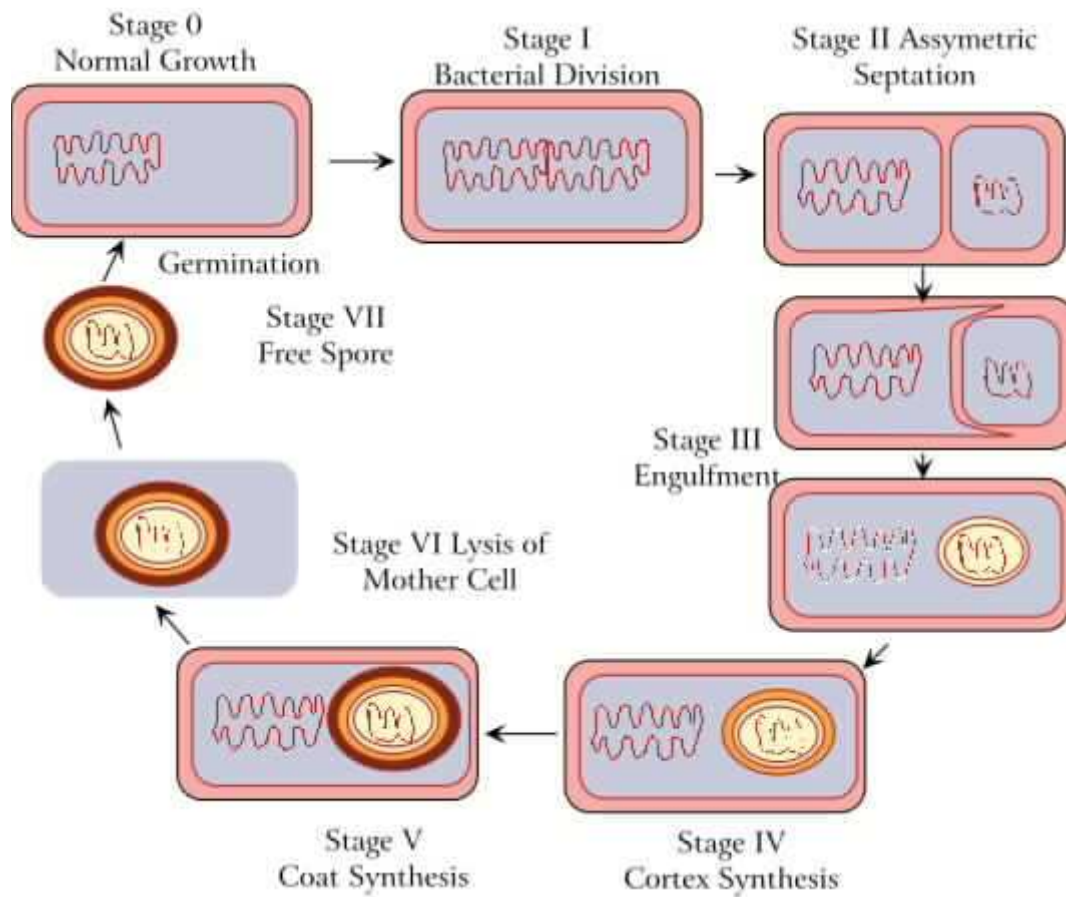


*Clostridium botulinum*



TEM, *Bacillus stearothermophilus*





Zdroje: Skripta Mikrobiologické praktikum

Obrázky: MiniAtlas mikroorganismů a dále (včetně animací):

<http://student.cbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/spore.html>