

Blok cvičení č.1 – protokol č.1

Organizmy :

- *Escherichia coli* CCM 3954 (24 hod.)
- *Azotobacter vinelandii* CCM 289 (5 dní)
- *Bacillus cereus* CCM 2010 (48 hod.)
- *Lactobacillus curvatus* 7558T (24 hod.)
- *Streptococcus mutans* CCM 7409T (2 dni)

Metódy I.

Gramovo farbenie - metóda založená na rozdieloch zloženia bunkových stien G+ a G- baktérií.

Do kvapky vody vnesieme kličku bakt. Kultúry – rozotrieme na sklíčku

Necháme zaschnúť na vzduchu

Fixujeme trojitým pretiahnutím sklíčka v plameni kahana

Kryštáľová violet' – 30 s

Opláchnutie vodou

Lugolov roztok – 30 s

Opláchnutie vodou

Prevrstvíme ethanolom – 18 s

Opláchnutie vodou

Dofarbíme safranínom – 1 min.

Osušíme a pozorujeme

- G+ bunky sú sfarbené na modro, G- na červeno

Metódy II.

Negatívne farbenie nigrozínom – využívame ho pre pozorovanie tvaru buniek, meranie ich veľkostí, pozorovanie tvorby puzdier - nefixujeme teda nedochádza k zmene tvaru buniek .

Do kvapky vody vnesieme kličku s bakt. kultúrou

Prikvapneme kvapku nigrozínu

Pomocou hrany druhého sklíčka rozotrieme kvapku rovnomerne po celej dĺžke sklíčka a necháme zaschnúť

Pozorujeme

Metódy III.

Negatívne farbenie Kongo – červeňou -
využíva sa najmä na farbenie púzdiar napr. u *Azotobactera*

Kvapneme kvapku Kongo červene na sklíčko a vnesieme do nej
kličku bakt.kultúry

Rozotrieme po povrchu sklíčka a necháme voľne zaschnúť

Prevrstíme na pár sekúnd HCl

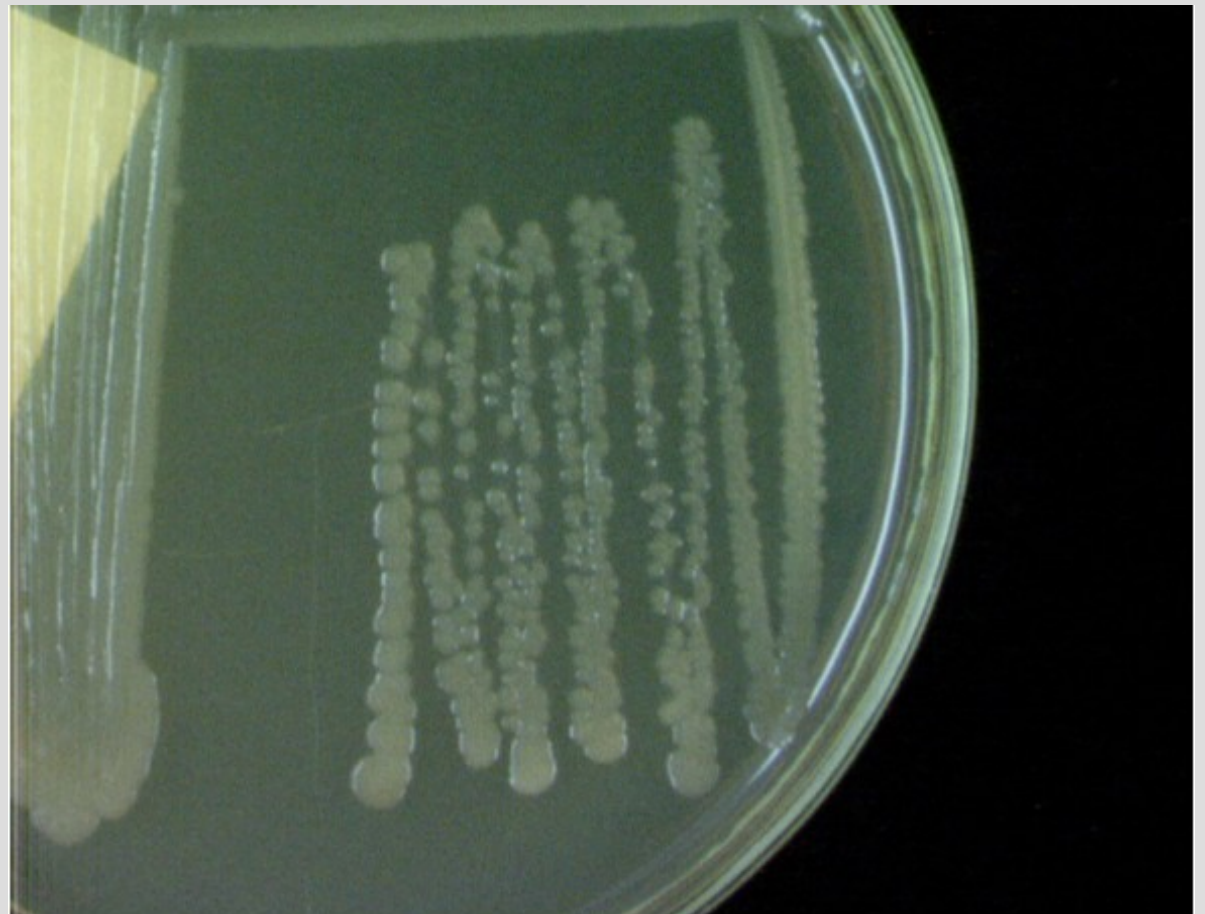
Zlejeme HCl a vysušíme filtračným papierom

Pozorujeme

***Escherichia coli* CCM 3954**

Makroskopia

- tvar : pravidelný
- okraje : hladké
- profil : vyvýšený
- povrch : hladký, lesklý
- farba : biela až mierne nažltlá
- transparentnosť : priesvitná

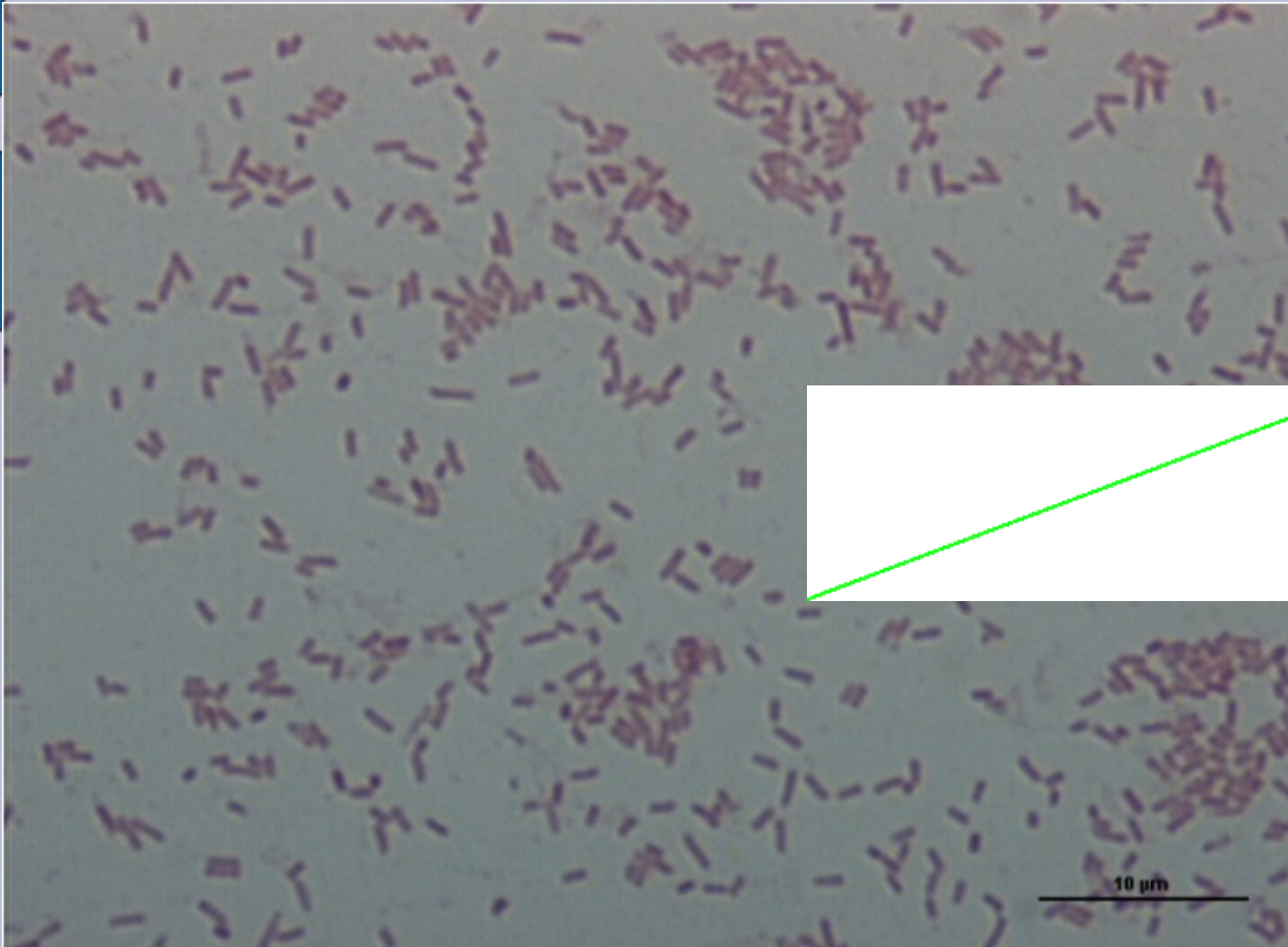


Mikroskopia

V jasnom poli

Grammovo farbenie

G- tyčky → ružové sfarbenie



imerzia - 1000x

mikroskop Olympus BX 50 RGB + videokamera Hitaschi + systém analýzy obrazu LUCIA G 4.61

Mikroskopia

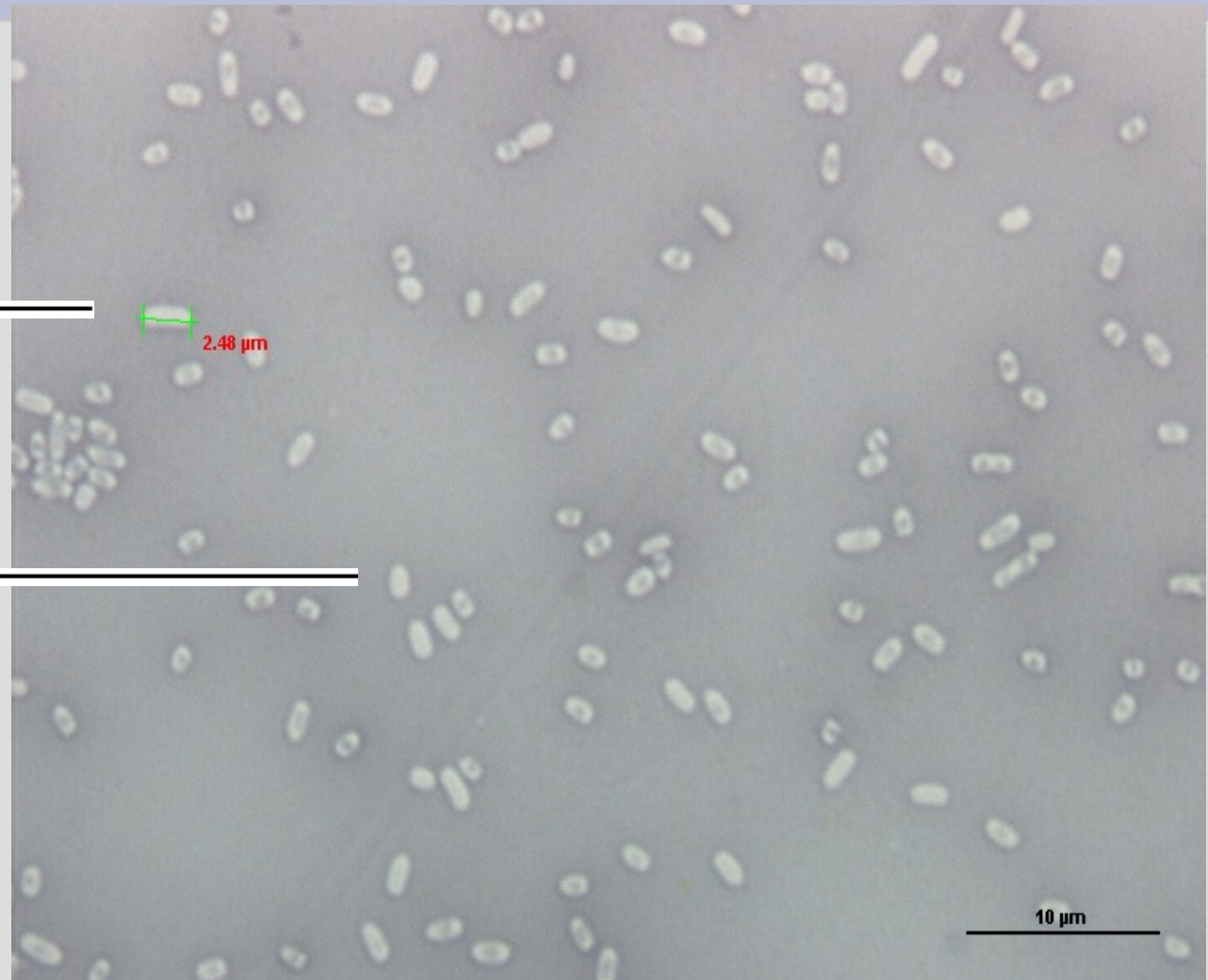
V jasnom poli

Negatívne farbenie
nigrozínom

2,48 μm – odmeraná
veľkosť tyčkovitej
bunky *E. coli*

Svetlé bunky na
ofarbenom tmavom
pozadí

imerzia - 1000x



mikroskop Olympus BX 50 RGB + videokamera Hitaschi + systém analýzy obrazu LUCIA G 4.61

***Azotobacter vinelandii* CCM 289**

Makroskopia

- tvar : pravidelný
- okraje : hladké
- profil : vypuklý
- povrch : hladký, lesklý
- farba : nažltlá
- transparentnosť : nepriesvitná

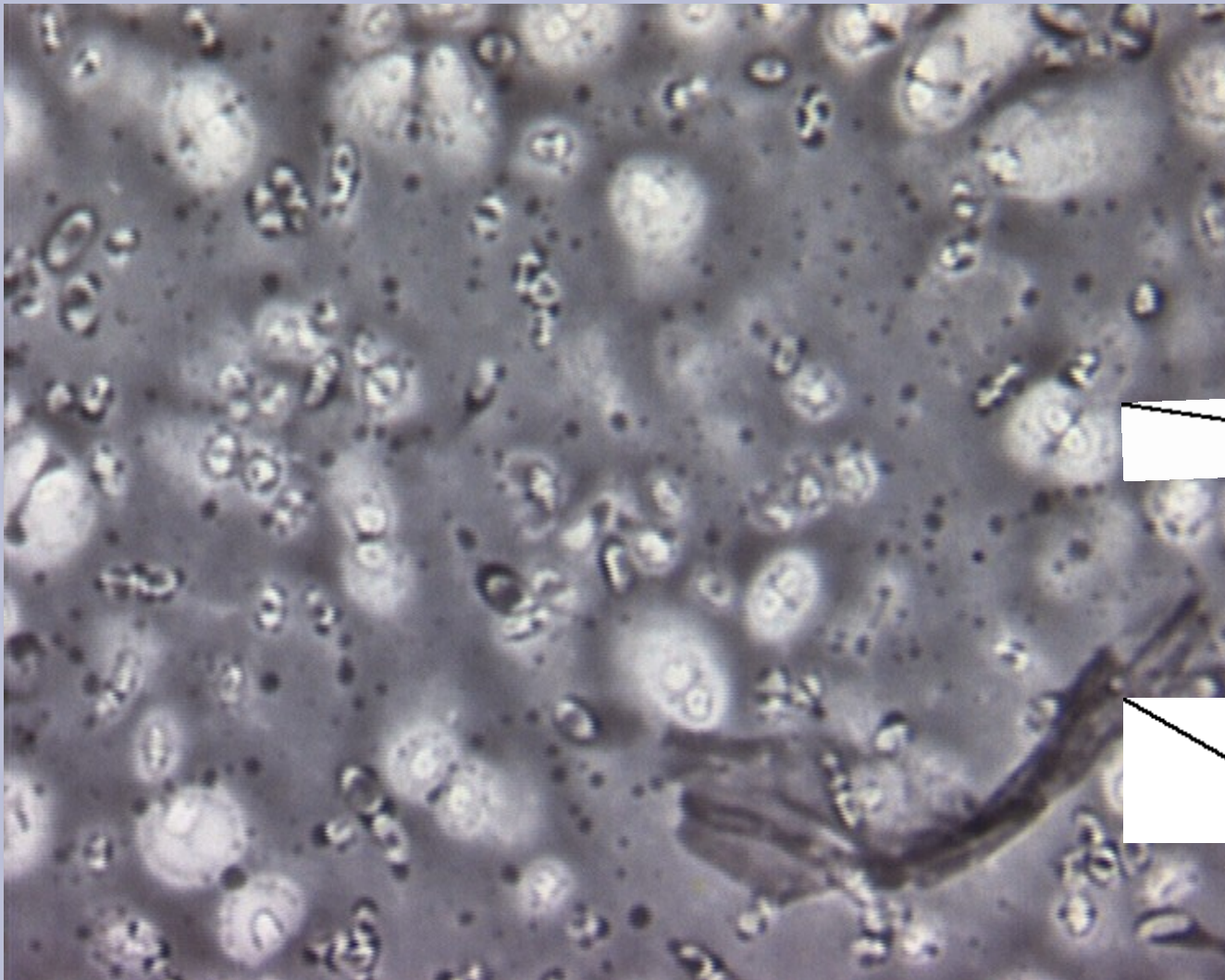


Mikroskopia

V jasnom poli

imerzia - 1000x

Negatívne farbenie
nigrozínom – farbenie
púzdiar



púzdra okolo buniek

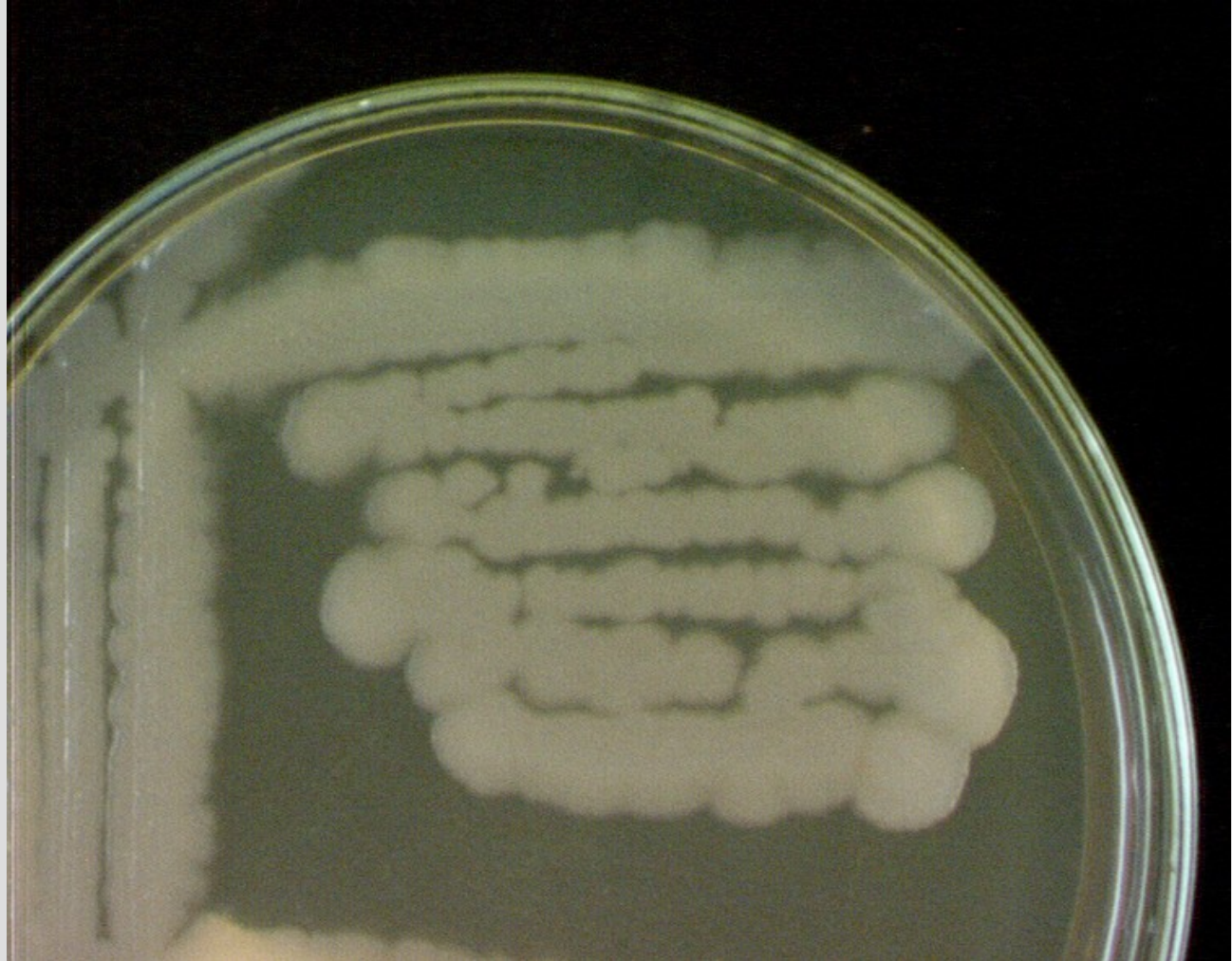
zrazená farba alebo
artefakt z prípravy

mikroskop Olympus BX 50 RGB + videokamera Hitaschi + systém analýzy obrazu LUCIA G 4.61

***Bacillus cereus* CCM 2010**

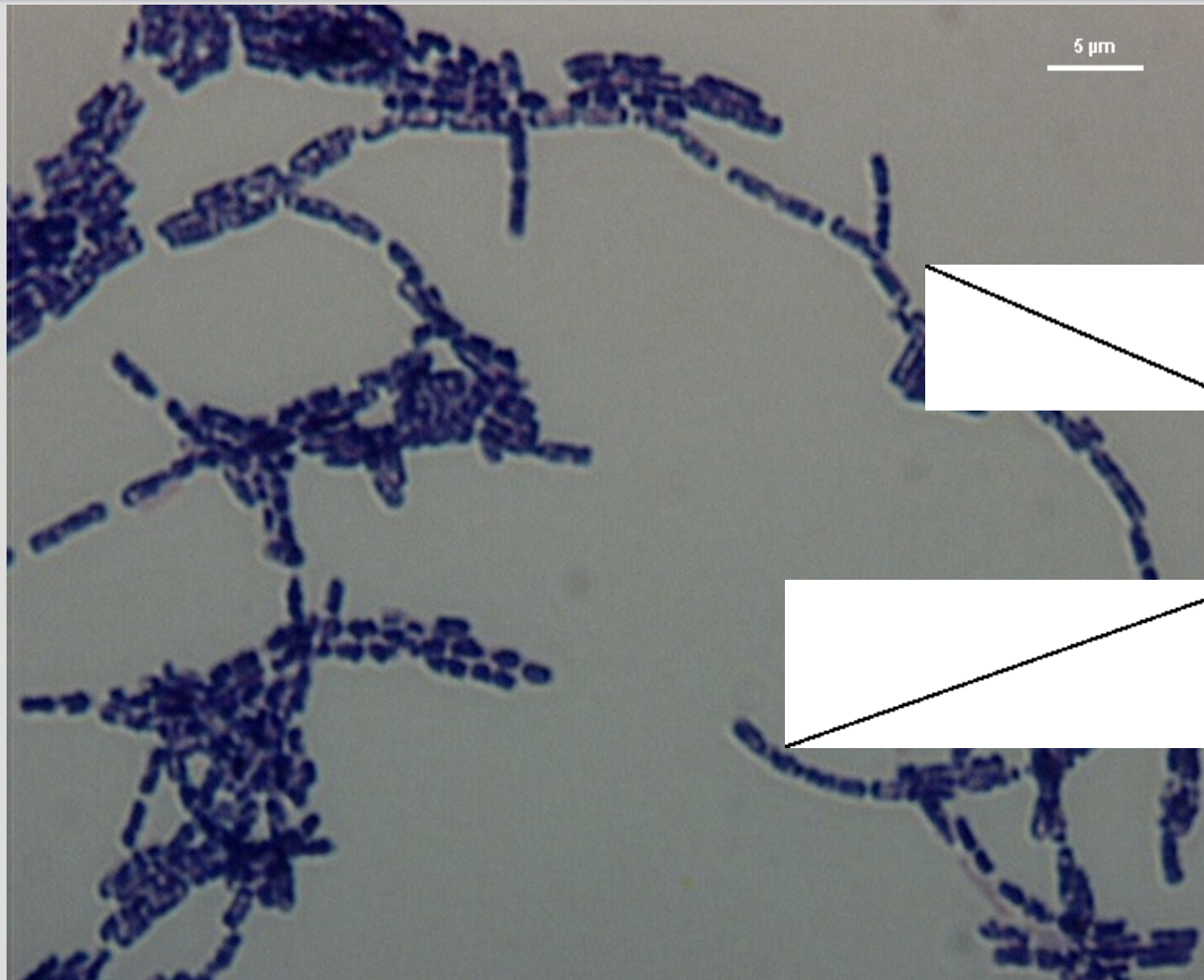
Makroskopia

- tvar : nepravidelný
- okraje : vlnité
- profil : zvrásnený
- povrch : drsný, matný
- farba : biela
- transparentnosť : nepriesvitná



Mikroskopia

V jasnom poli



Grammovo farbenie

G+ tyčky – modré sfarbenie

Tvorba retiazok

imerzia - 1000x

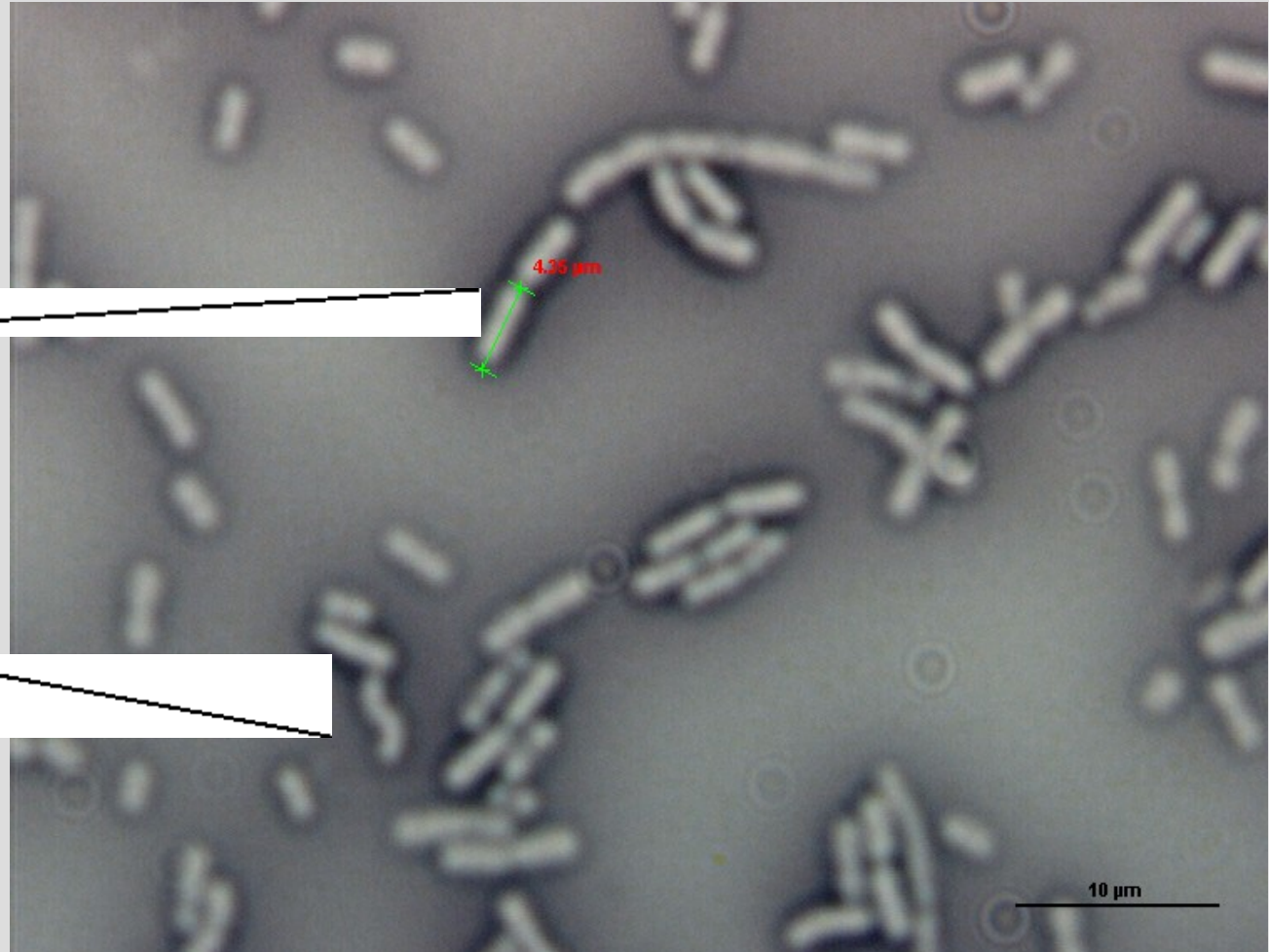
Mikroskopia

V jasnom poli

Negatívne farbenie
nigrozínom

4,35 μm –
odmeraná veľkosť
tyčkovitej bunky

Svetlé bunky na
tmavom ofarbenom
pozadí



imerzia - 1000x

mikroskop Olympus BX 50 RGB + videokamera Hitaschi + systém analýzy obrazu LUCIA G 4.61

***Lactobacillus curvatus* CCM 7558T**

Mikroskopia

V jasnom poli

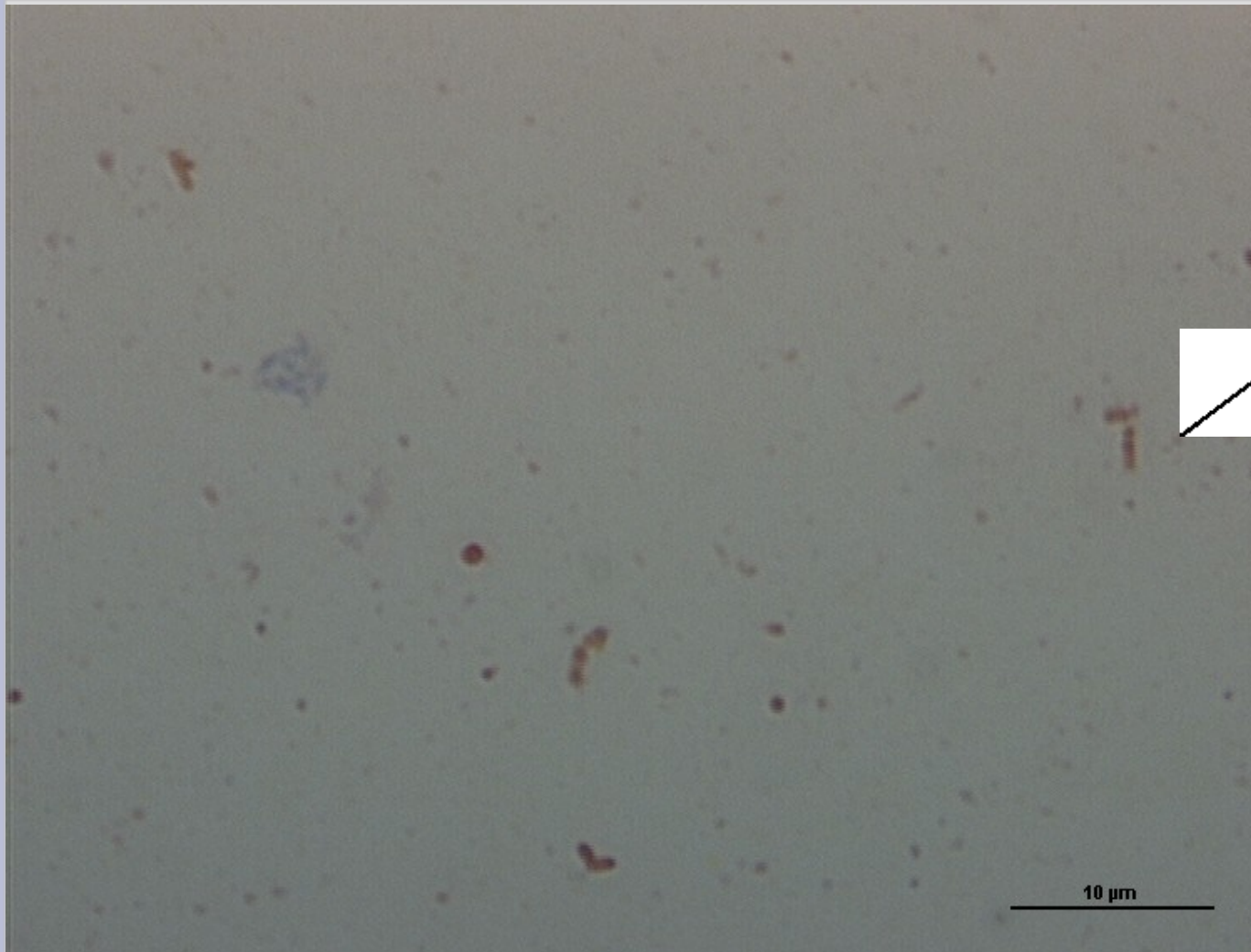
imerzia - 1000x

Grammovo farbenie

G+ tyčky – doružova
sfarbené

Farbenie je nedostatočné
kôli dĺžke farbenia kryšt.
violet'ou – preparát sa mal
farbiť min. 60 s.

Hustota preparátu odpovedá
kultúre z tekutého média
príliš zriedenej s vodou



mikroskop Olympus BX 50 RGB + videokamera Hitaschi + systém analýzy obrazu LUCIA G
4.61

Mikroskopia

V jasnom poli

imerzia - 1000x

Negatívne farbenie
nigrozínom

Biele bunky na
tmavom ofarbenom
pozadí

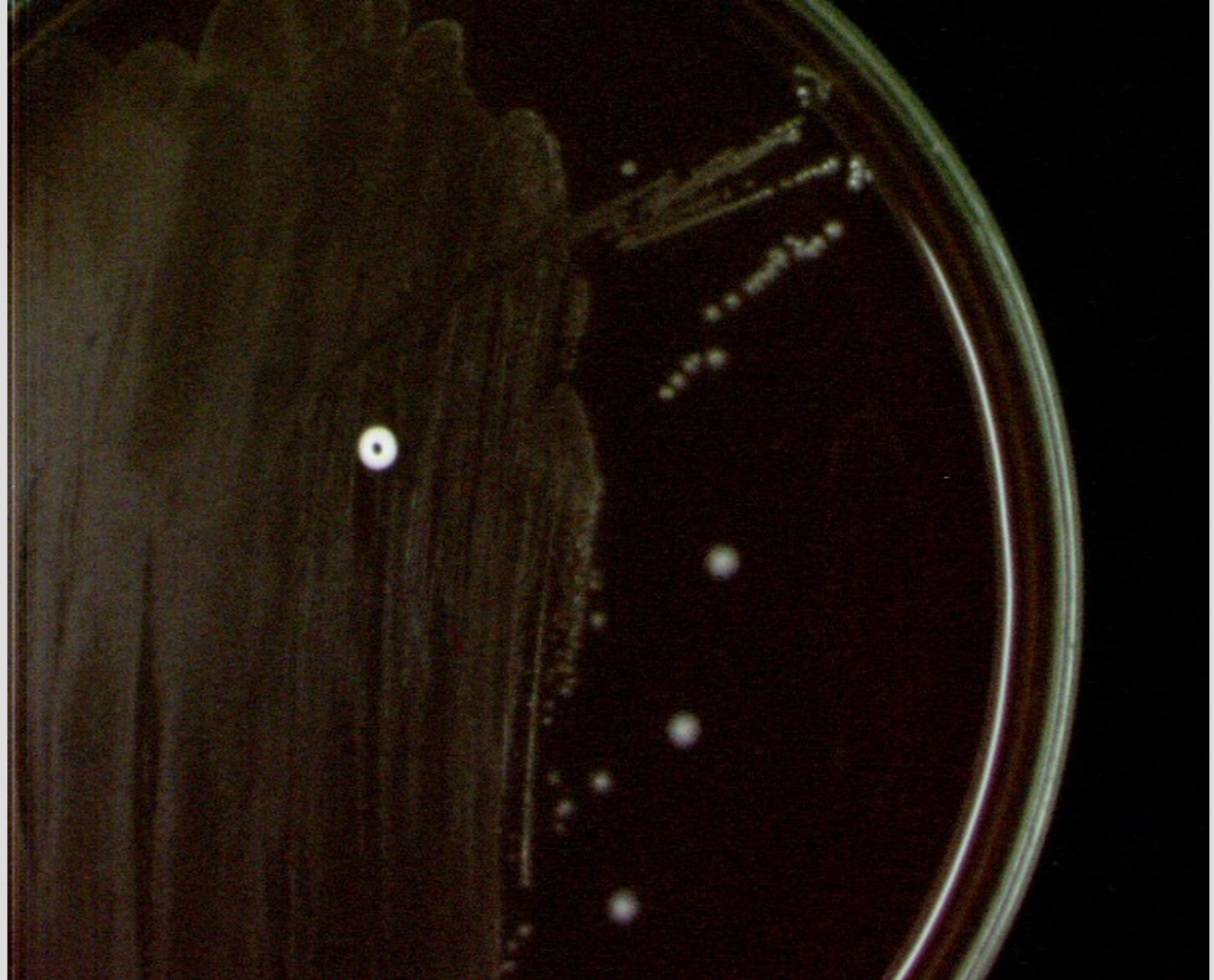
Hustota preparátu odpovedá
kultúre z tekutého média
príliš zriedenej s vodou



***Streptococcus mutans* CCM 7409T**

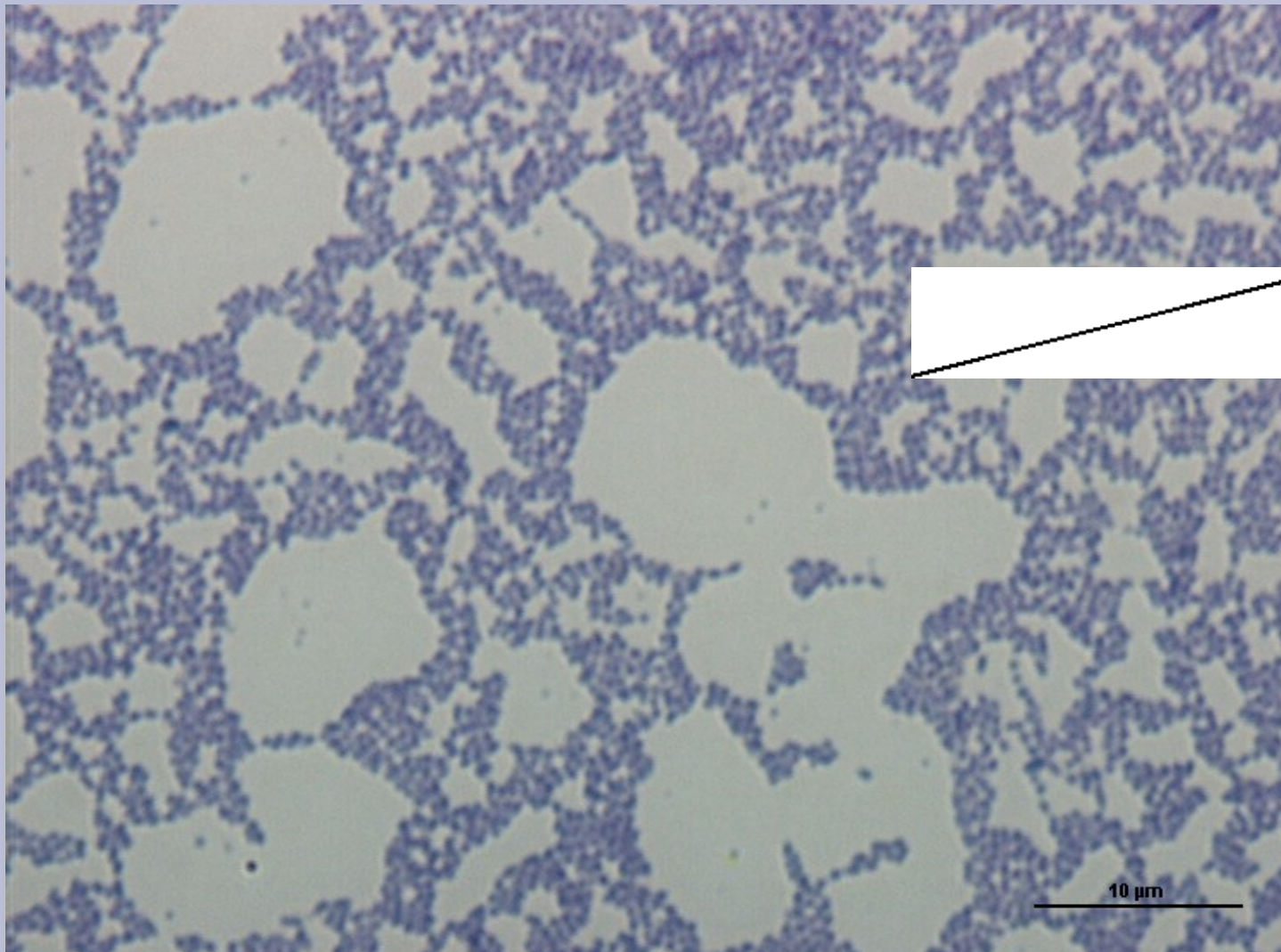
Makroskopia

- tvar : pravidelný
- okraje : hladké
- profil : vypuklý
- povrch : hladký, lesklý
- farba : biela
- transparentnosť : nepriesvitná



Mikroskopia

V jasnom poli



Grammovo farbenie

G+koky – modré
sfarbenie

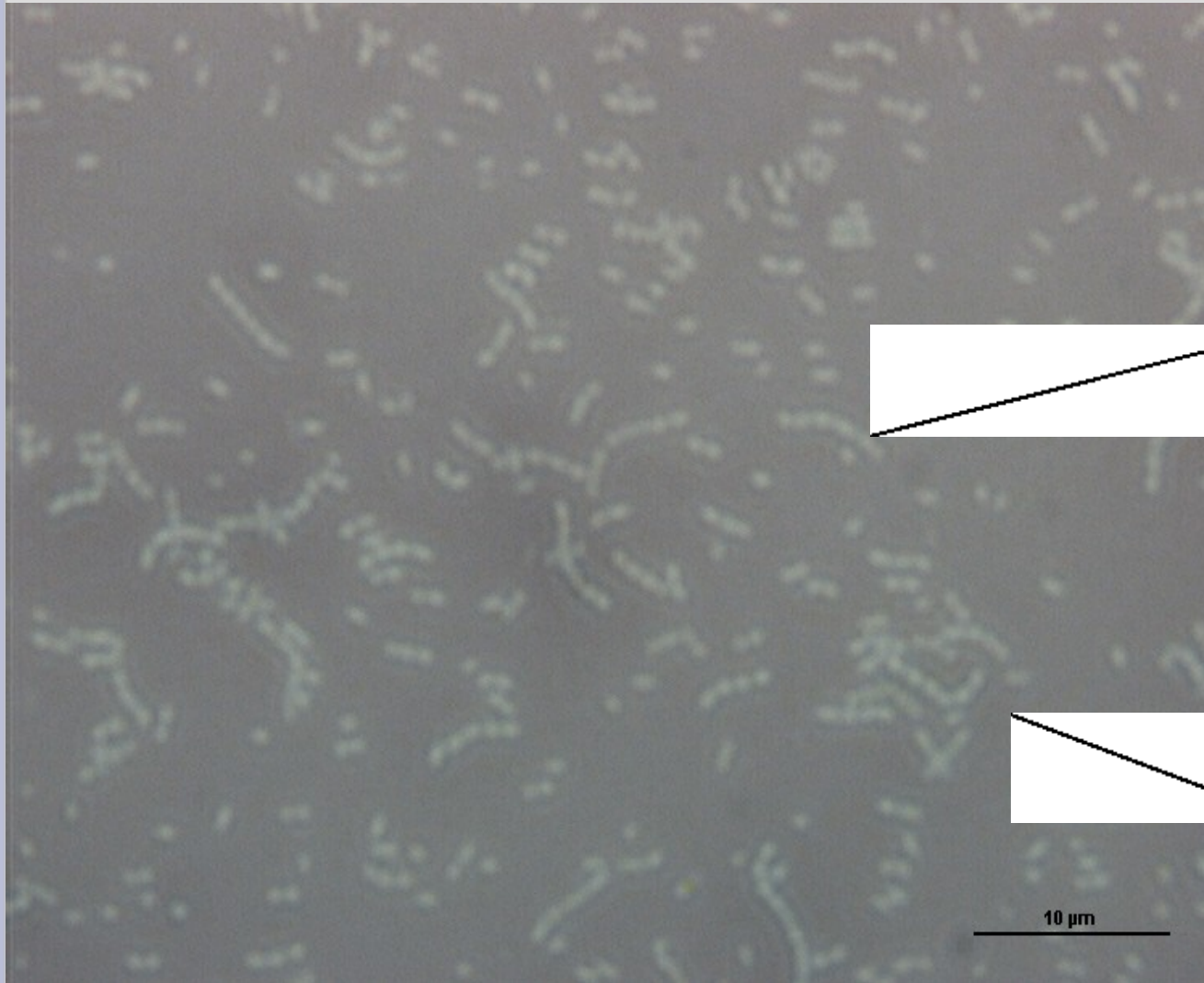
imerzia - 1000x

Mikroskopia

V jasnom poli

imerzia - 1000x

Negatívne farbenie
nigrozínom



Retiazky kokov

Biele bunky na
tmavom ofarbenom
pozadí