

## Skličkové kultury

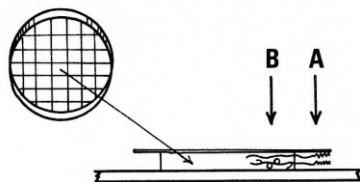
- Nokardioformní aktinomycety – pozorování **vdzušného + substrátového mycelia** nebo **pouze substrátového** (dle rodu, zda VM tvoří)
- Při snaze pozorovat neporušené VM a SM mycelium vycházíme ze skutečnosti, že při odebírání z kolonie na sklíčko a pozorování pod mikroskopem (kontrasty nebo barvené preparáty) se toto mycelium většinou poškodí a nelze jej sledovat v původní podobě nárstu
- Preparát ze skličkové kultury – pozorujeme hyfy a rozpadající se vlákna bez jejich porušení tak, jak narostly
- **Sterilní očkování ve FLOW-BOXU + práce s vyžíhanou kličkou, vyžíhanou pinzetou - !! pozor na kontaminaci !!**
- **Sledovat typ media, na kterém aktinomyceta roste, dle toho očkujeme (využíváme medií M8, M12 a m15)**

**Mikroorganismy:** *Rhodococcus erythropolis* CCM 277- **M12**, *Nocardia carnea* CCM 2756- **M8**, *Streptomyces griseus* ssp. *griseus* CCM 3362- **M15**

### **1) Vlhké komůrky – kultivace na podložním sklíčku**

Sterilní Petriho misky s kuličkami a podložním sklem, na které vyžíhaným skalpelem umístíme tenký **čtvereček agaru** dle kultivovaného mikroorganismu, *Nocardia*: M8, *Rhodococcus*: M12, *Streptomyces*: M15). Vyžíhanou kličkou **zaočkujeme podél okrajů**, překryjeme **sterilním** krycím sklíčkem. Pod podložní sklíčko (na kuličky) sterilní pasteurkou napipetujeme cca 5ml sterilní destilované vody. Misku popíšeme a kultivujeme při 30°C 3-5dní, někdy VM až za 7-14dní.

**Pozorování: přímo nárůst na sklíčku, zvětšení 200x nebo 400x, Nomarského kontrast. Agar je tenký – substrátové mycelium lze pozorovat pod imerzí – dostatečná průhlednost.**

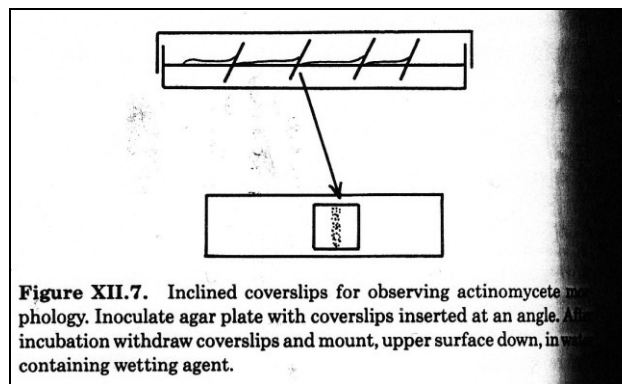


**Figure XII.6.** Slide culture. Thin agar block, cut from poured plate, is placed on a sterile microscope slide and inoculated, and a sterile coverslip is applied. After incubation in a moist chamber, view slide culture directly on microscope stage when it should be possible to see the aerial mycelium (A) and the substrate mycelium (B) within the agar.

### **2) Kultivace na krycím sklíčku**

Medium dle očkovaného kmene je v podobě silnějšího agaru na Petriho misce. Do něj vyžíhanou pinzetou **pod úhlem 45°** zapíchneme sterilní krycí sklíčko. Kulturu naočkujeme z horní strany **podél žlábků**. Substrátové mycelium prorůstá agar, vzdušné roste po sklíčku. Před pozorováním výsledků - po uplynutí 3-5ti dnů - vytáhneme sklíčko a **označíme horní stranu tečkou!** – rozpoznání vzdušného a substrátového mycelia.

Pozorování: sklíčko s narostlou kulturou položíme **nárustem dolů** na podložní sklíčko. **Pozorujeme 1000x pod imerzí, Nomarského kontrast.**



**Figure XII.7.** Inclined coverslips for observing actinomycete morphology. Inoculate agar plate with coverslips inserted at an angle. After incubation withdraw coverslips and mount, upper surface down, in water containing wetting agent.