

# **Protokol č.1**

Mikroskopická a makroskopická morfologie

Petra Řezáčová

# Teorie

## Makrofota - sledování morfologie kolonií

- Velikost (průměr; mm)
- Tvar – okrouhlý, zvlněný, laločnatý, sektorovitý
- Profil – plochý, zvýšený, vypouklý, pupkovitý, knoflíkovitý, bradavčitý
- Okraje – vroubkované, zubaté, s koncentrickou stavbou, zvráštělé, myceliální, drsné (prstovité), vláknité, rizoidní, hladké
- Povrch – lesklý x matný
- Transparence
- Barva

## Preparáty

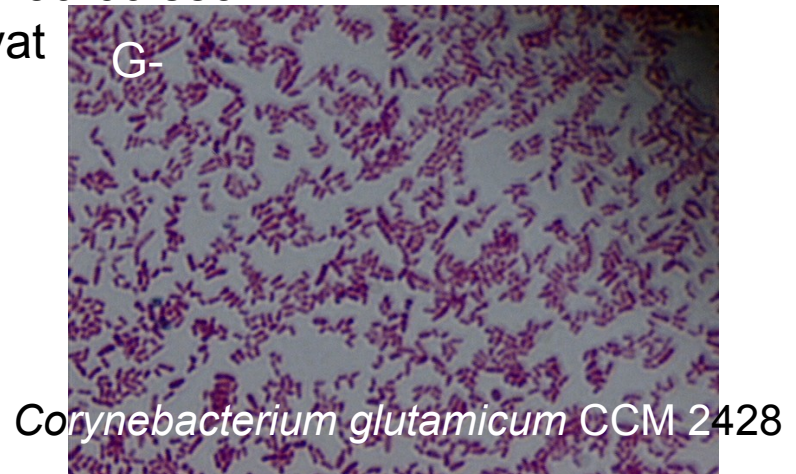
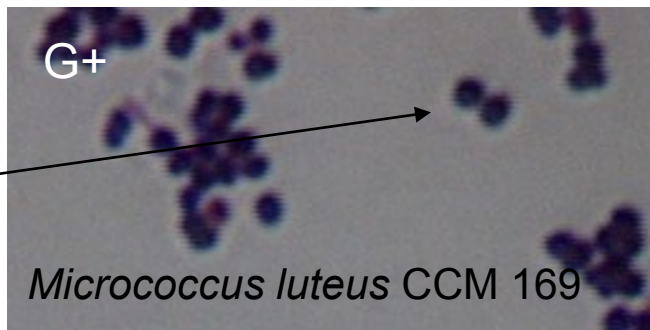
### Fázový kontrast

- možnost pozorování živých objektů – nativní preparát bez barvení
- při průchodu světelné vlny objektem se vlna zpozdí, nemění však intenzitu ani amplitudu, ale posune se její fáze – o 90
- v objektivu se mění fázová korelace, kterou nejsme schopni vnímat okem, mění na korelaci amplitudovou - čtvrťfázová destička
- struktury s vyšším  $n$  (hustší část buňky) se jeví světle (např. endospory září)

## Jasně pole: pozorujeme barvené preparáty

### Gramovo barvení

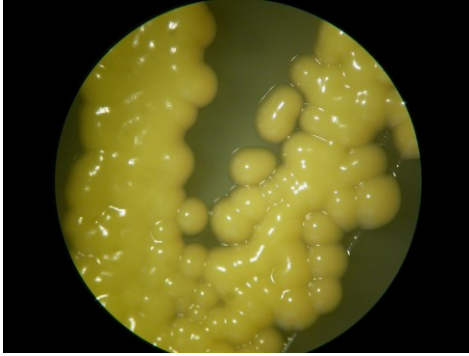
Postup: Připravíme nátěr bakteriální kultury, vysušíme a fixujeme plamenem.  
Preparát ponoříme do krystalové violeti na 30 sec.  
Opláchnout vodou.  
Preparát ponoříme do Lugolova roztoku na 30 sec – mořidlo.  
Opláchnout vodou.  
Preparát odbarvujeme etanolem či acetonem 20-30 sec.  
Opláchnout vodou.  
Preparát ponoříme do safraninu na 30-60 sec.  
Opláchnout vodou, osušit, pozorovat



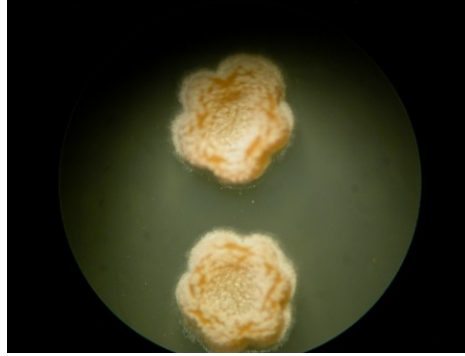
### Negativní barvení

- barvení preparátu, který se nefixuje a nebarvíme na něm buňky, ale jejich okolí (tedy sklíčko samotné; např. nigrosinem)
- využívá se pro měření přesné velikosti buněk nedeformovaných fixací a barvením

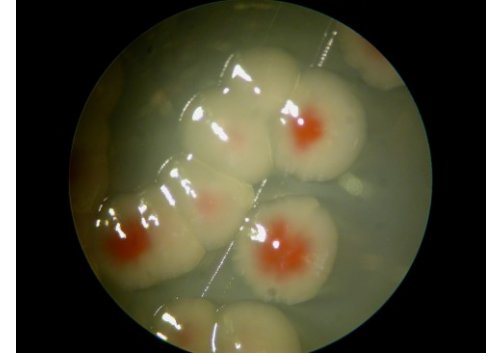
## MAKROFOTA KOLONIÍ



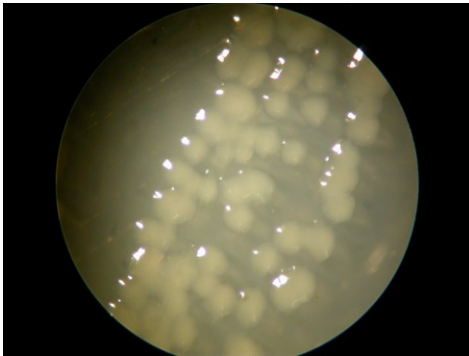
*Micrococcus luteus* CCM 169



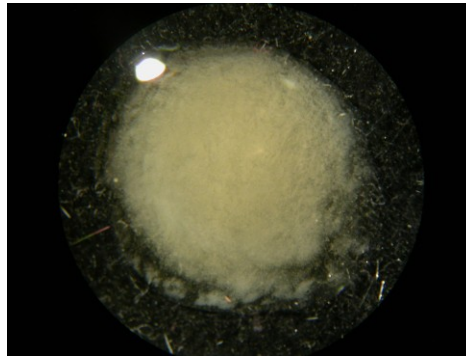
*Nocardia carnea* CCM 2756



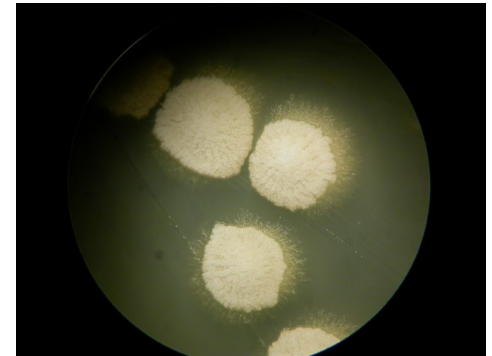
*Serratia marcescens* CCM 303



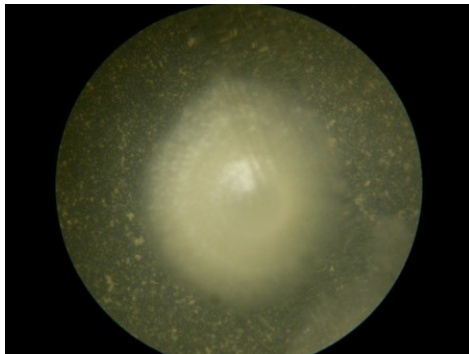
*Escherichia coli* CCM 3954



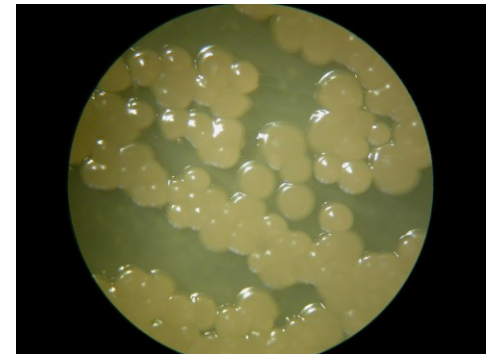
*Leuconostoc mesenteroides*  
CCM 1803



*Saccharomyces cerevisiae*



*Streptomyces griseus* ssp. *griseus* CCM 2386



*Sporosarcina ureae* CCM 860

## PREPARÁTY - pozorováno pod imerzí - zvětšení 1000x

### I) Srovnání v rámci jednoho rodu

a) G+ tyčky různé tvary, bacily 48h kultivace se sporami:

*Bacillus thuringiensis* CCM 19

*Bacillus sphaericus* CCM 1615

*Bacillus mycoides* CCM 145

*Bacillus cereus* CCM 2010

*Bacillus megaterium* CCM 2007

*Bacillus subtilis* CCM 2216

*Lactobacillus curvatus* CCM 7558T – zakřivené

*Lactobacillus rhamnosus* CCM 1825T – typické tyčky

*Lactobacillus casei* subsp. *casei* CCM 7088T - zakřivené

*Lactobacillus brevis* CCM 3805T – krátké tyčky

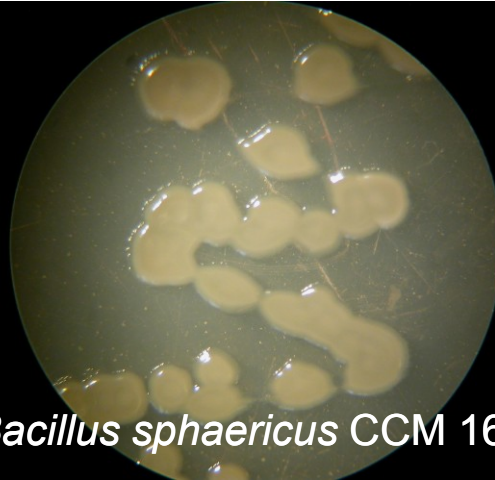
b) pokud bacilární – hledáme spory, fázový kontrast

# G+ tyčky Rod *Bacillus*

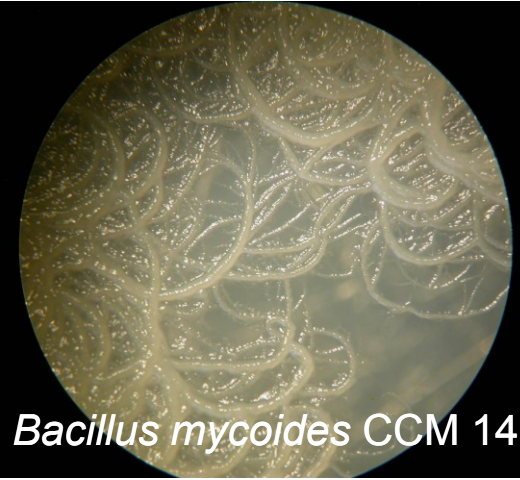
## MAKROFOTA - KOLONIE



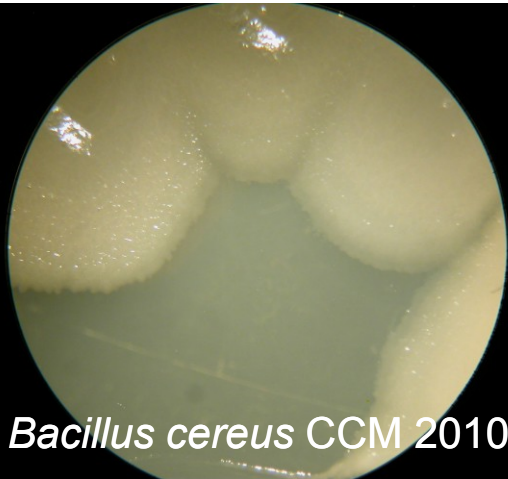
*Bacillus thuringiensis* CCM 19



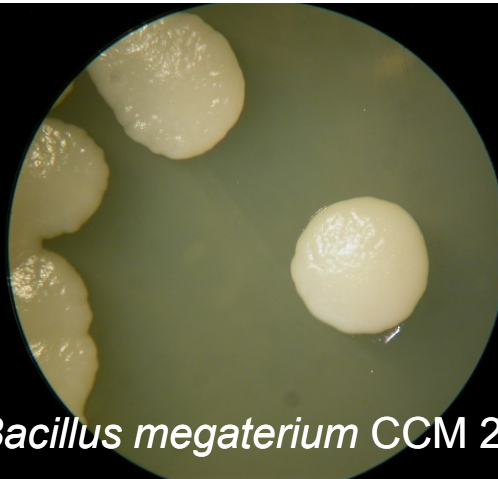
*Bacillus sphaericus* CCM 161



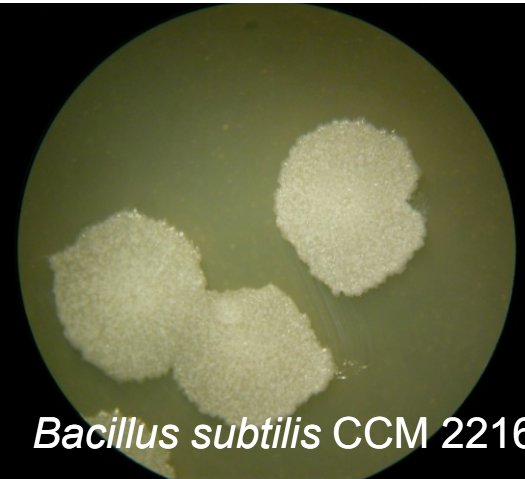
*Bacillus mycoides* CCM 145



*Bacillus cereus* CCM 2010



*Bacillus megaterium* CCM 2007

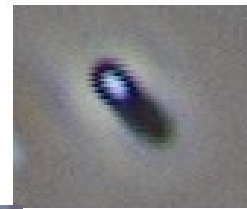


*Bacillus subtilis* CCM 2216v

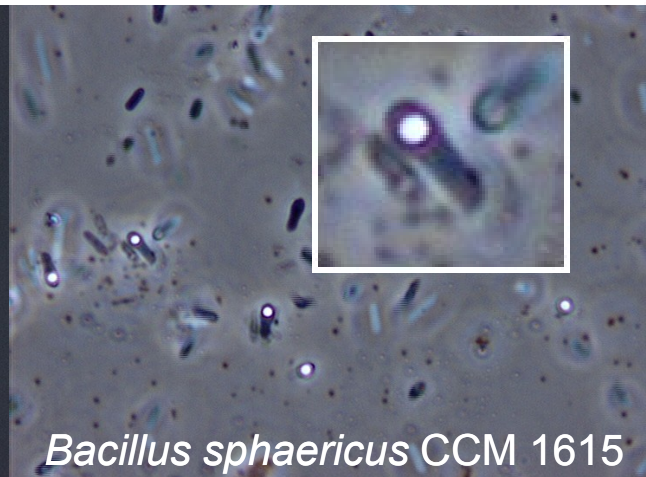
Spora oválná subterminálně



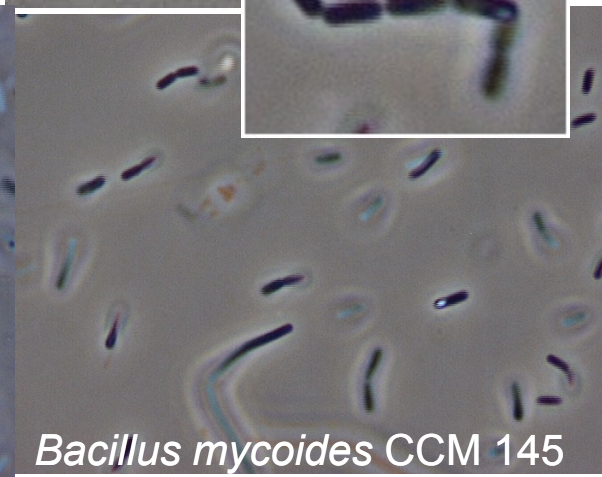
FÁZOVÝ KONTRAST



*Bacillus thuringiensis* CCM 19

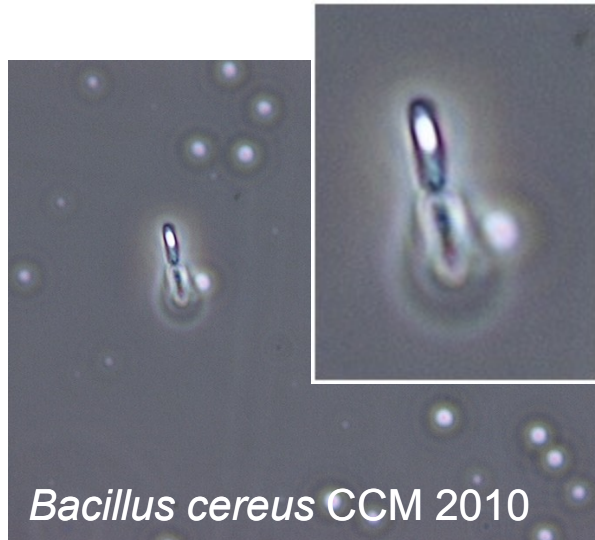


*Bacillus sphaericus* CCM 1615

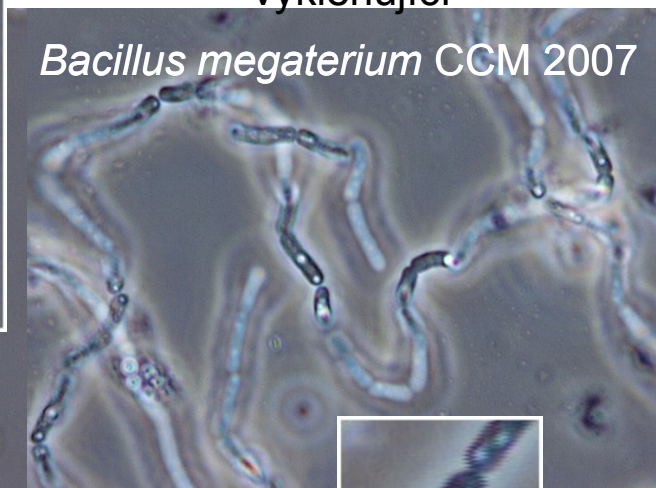


*Bacillus mycooides* CCM 145

Spora kulatá terminální  
vyklenující



*Bacillus cereus* CCM 2010



*Bacillus megaterium* CCM 2007



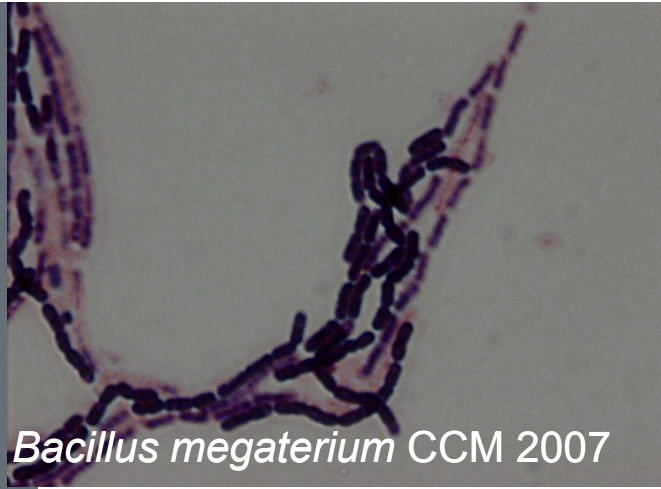
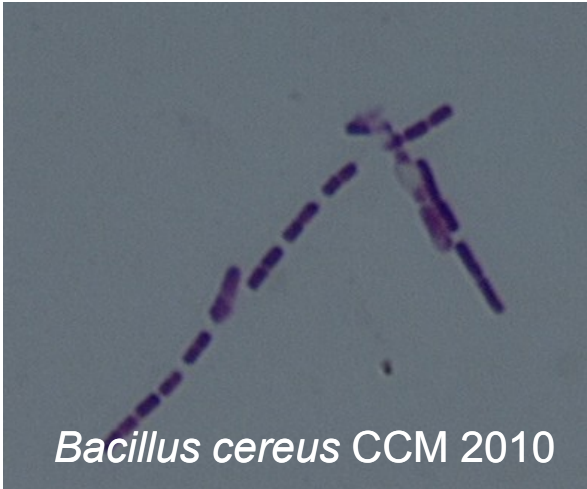
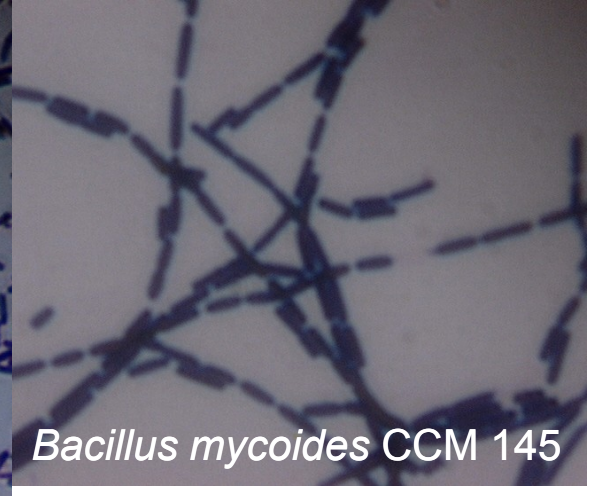
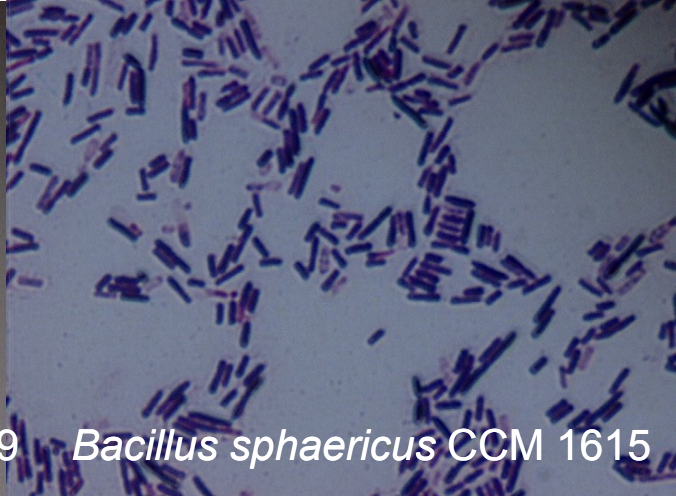
*Bacillus subtilis* CCM 2216v

Spora oválná centrálně

Spora kulatá terminální

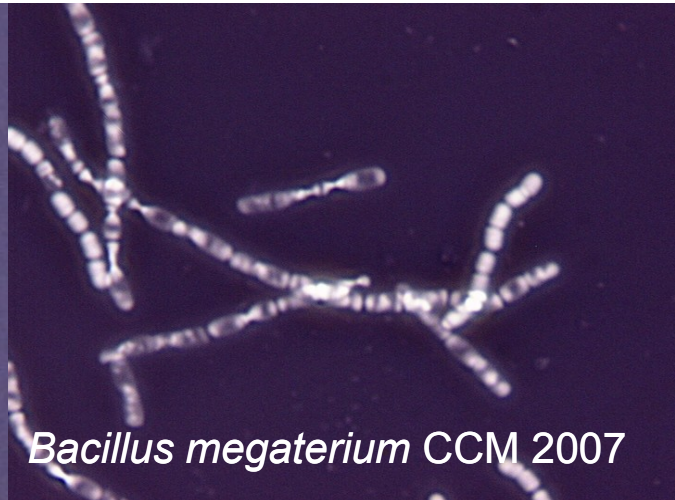
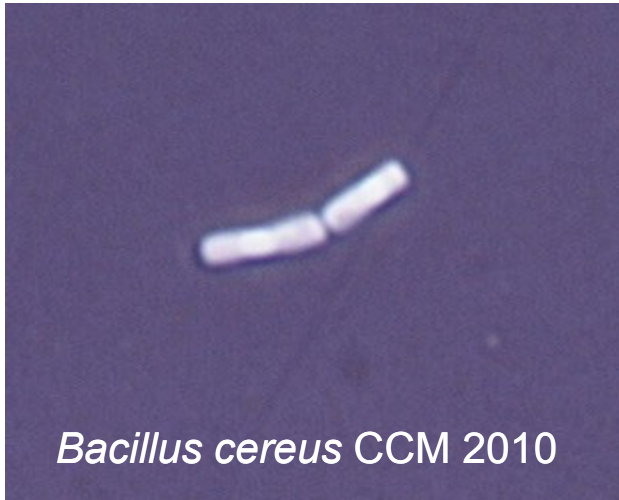
Spora oválná subterminálně

## GRAMOVO BARVENÍ



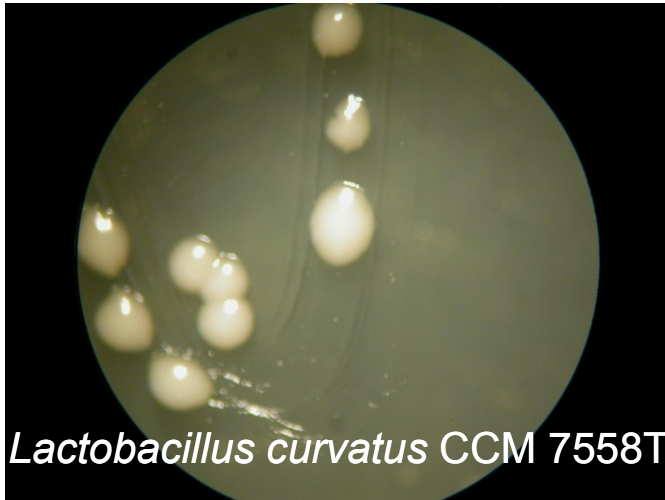


## NEGATIVNÍ BARVENÍ

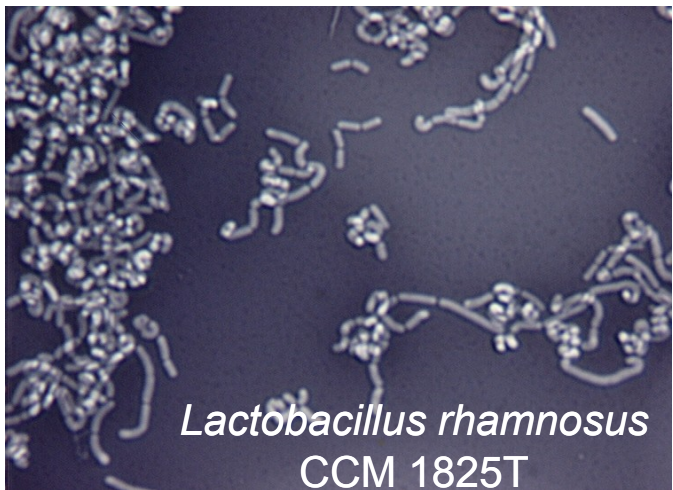
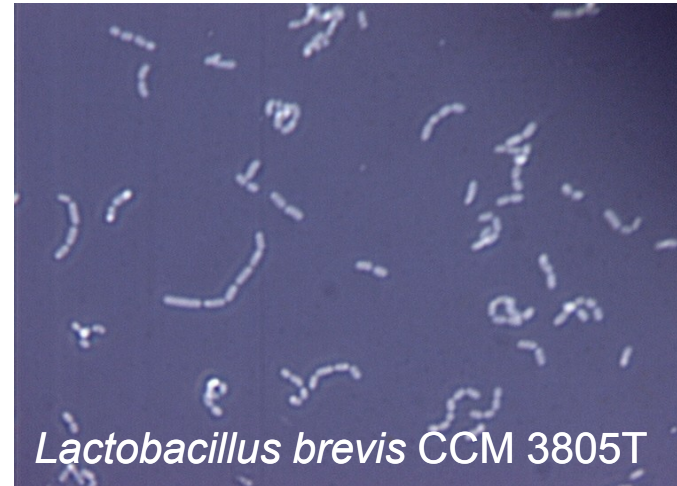


# G+ tyčky Rod *Lactobacillus*

## MAKROFOTA - KOLONIE



## NEGATIVNÍ BARVENÍ



## V) Eukaryota

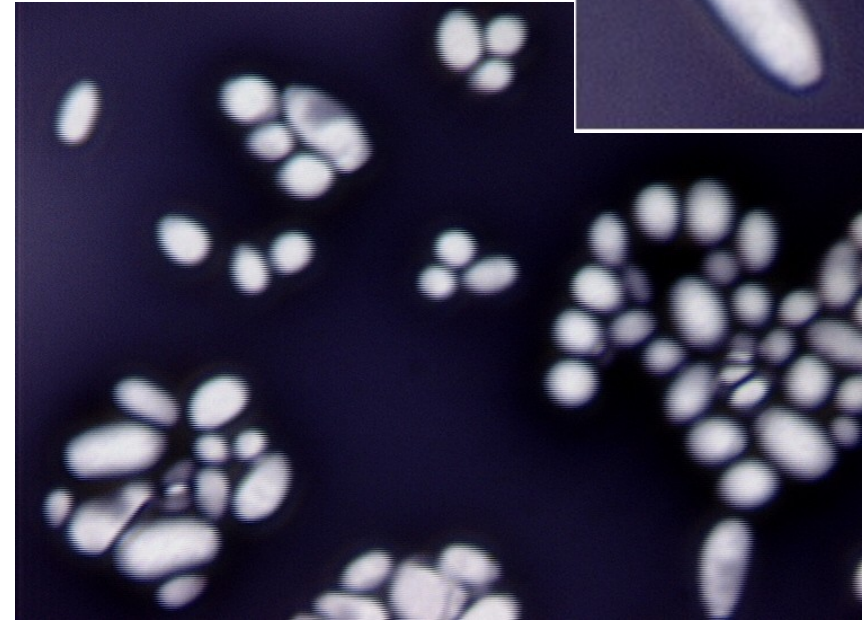
*Saccharomyces cerevisiae* – kvasinka, eukaryotní buňka

### GRAMOVO BARVENÍ



pučení

### NEGATIVNÍ BARVENÍ



MAKROFOTO - KOLONIE

- Tvar: okrouhlý
- Profil: knoflíkovitý
- Okraje: hladké
- Povrch: matný
- Transparence: neprůsvitná
- Barva: bílá až béžová

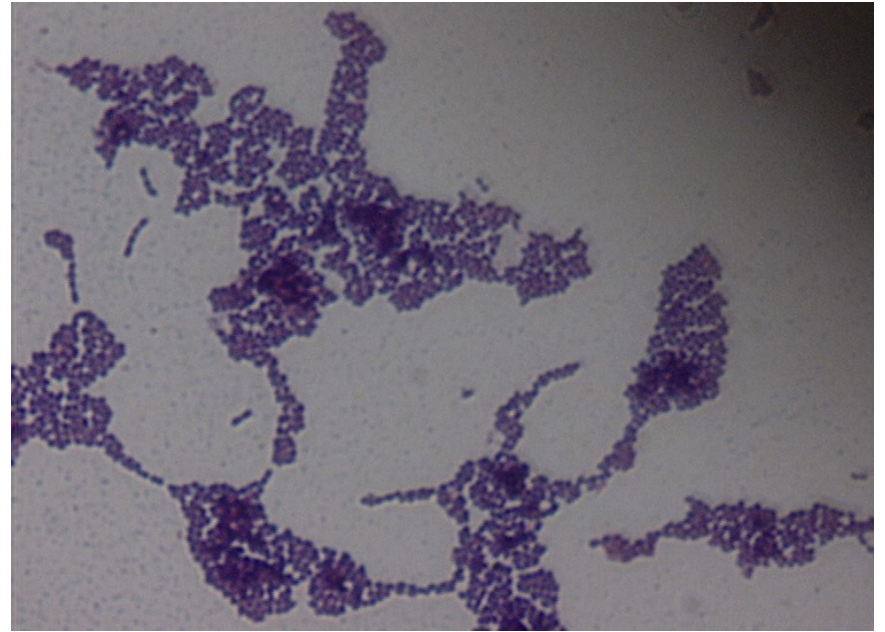
## VI) Vliv media na morfologii buňky

*Streptococcus mutans* CCM 7409T z krevního agaru a z tekutého media  
(jednou tyčky, jednou koky)

### GRAMOVO BARVENÍ



Tekuté médium



Krevní agar

kontaminace

NEGATIVNÍ BARVENÍ



Tekuté médium



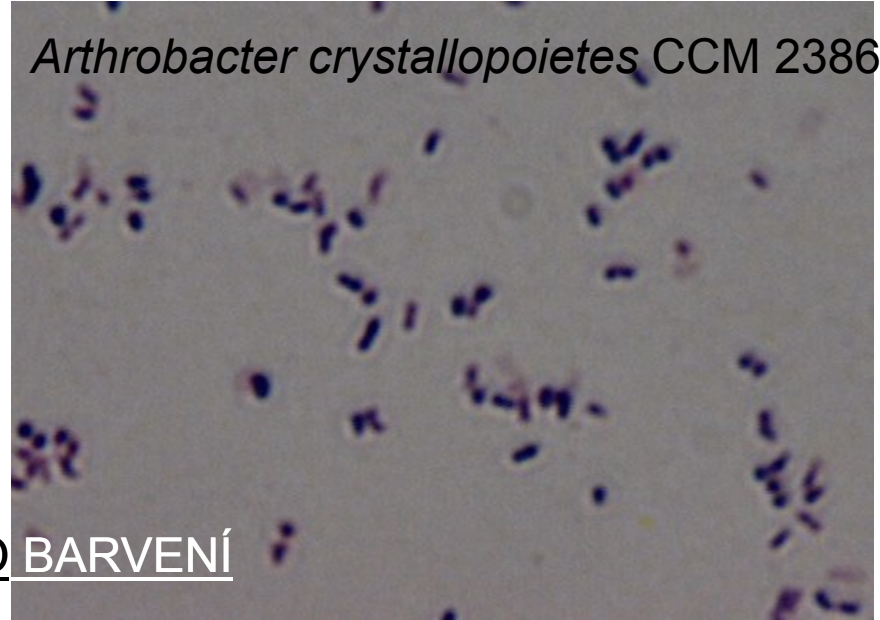
Krevní agar

# Srovnání eukaryot s prokaryoty

*Saccharomyces cerevisiae*  
– kvasinka, eukaryotní buňka



*Arthrobacter crystallopoietes* CCM 2386



GRAMOVÉ BARVENÍ

NEGATIVNÍ BARVENÍ

