

Protokol č. 2

# Vnější a vnitřní struktury

---

Tereza Kubasová

# Vnější a vnitřní struktury

---

- Struktury vnější (pouzdro) a vnitřní (barvení spor, volutinu, tuků, škrobu)
- Strukturální (diferenciační) barvení se používá k identifikaci bakterií (struktury jako diagnostické znaky) a ke studiu struktur samotných.

# Barvení spor

---

- pro hodnocení morfologie buňky tvořící spory a morfologii spory samotné musíme mít kulturu určitého stáří
- pro podporu sporulace medium s přídavkem  $Mn.H_2O$
- hodnotíme tvar spory, umístění a zda vyklenuje buňku
- uložení v buňce: terminální, subterminální, centrální
  
- Pozorovat neobarvené endospory můžeme **fázovým** (zářící spory) a **Nomarského kontrastem** (plastický povrch buňky); **jednoduchým barvením** nevidíme spory samotné (obarvíme pouze buněčnou stěnu), jen vyklenutí buňky (způsobené přítomností spor).
- **Přímo obarvit endosporu** ve stadiu vzniku kortexu je možné pouze **za horka** (prospora je však pro barvivo ještě propustná!).

# Barvení spor



*Paenibacillus alvei* CCM 2051T

- oválná terminální spora ztlušťující buňku



*Bacillus sphaericus* CCM 1615

- endospory kulaté, terminální,  
ztlušťuje mateřskou buňku

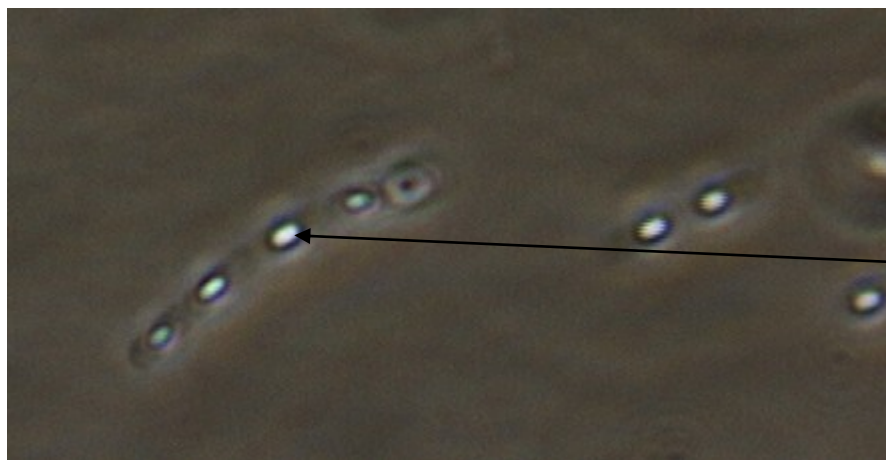


*Bacillus cereus* CCM 2010

- endospory oválné, centrální,  
neztlušťují mateřskou buňku

# Pozorování endospor fázovým kontrastem v nativním preparátu

---

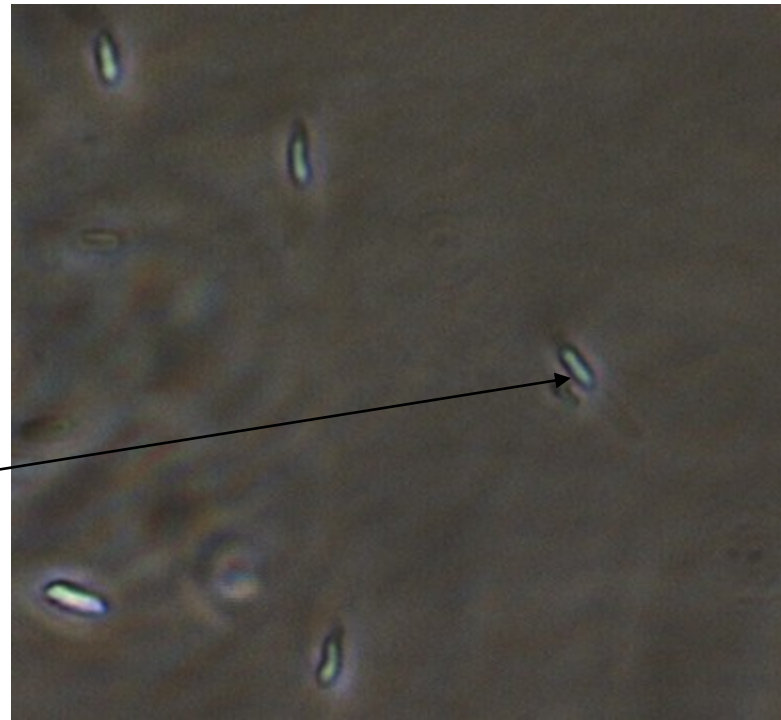


*Bacillus cereus* CCM 2010

- endospory oválné, centrálně uložena neztlušťují mateřskou buňku

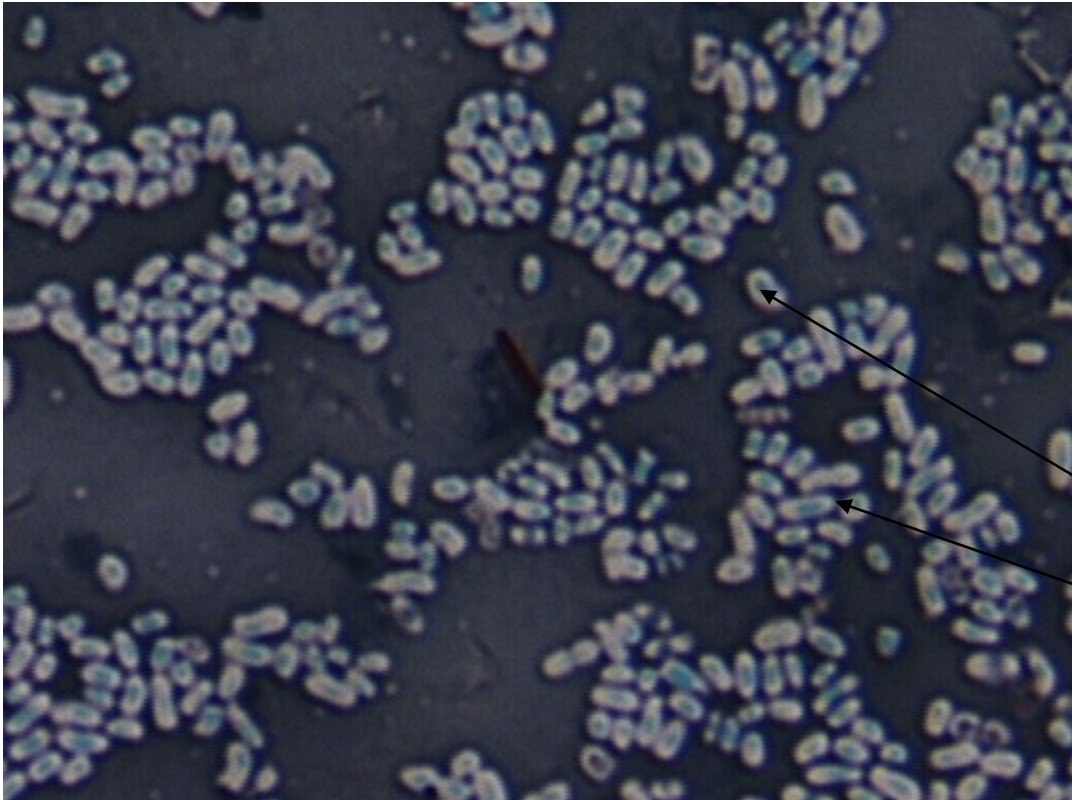
*Paenibacillus alvei* CCM 2051T

- oválná terminální spora ztlušťující buňku



# Pouzdra

---



*Klebsiella pneumoniae* CCM 4985

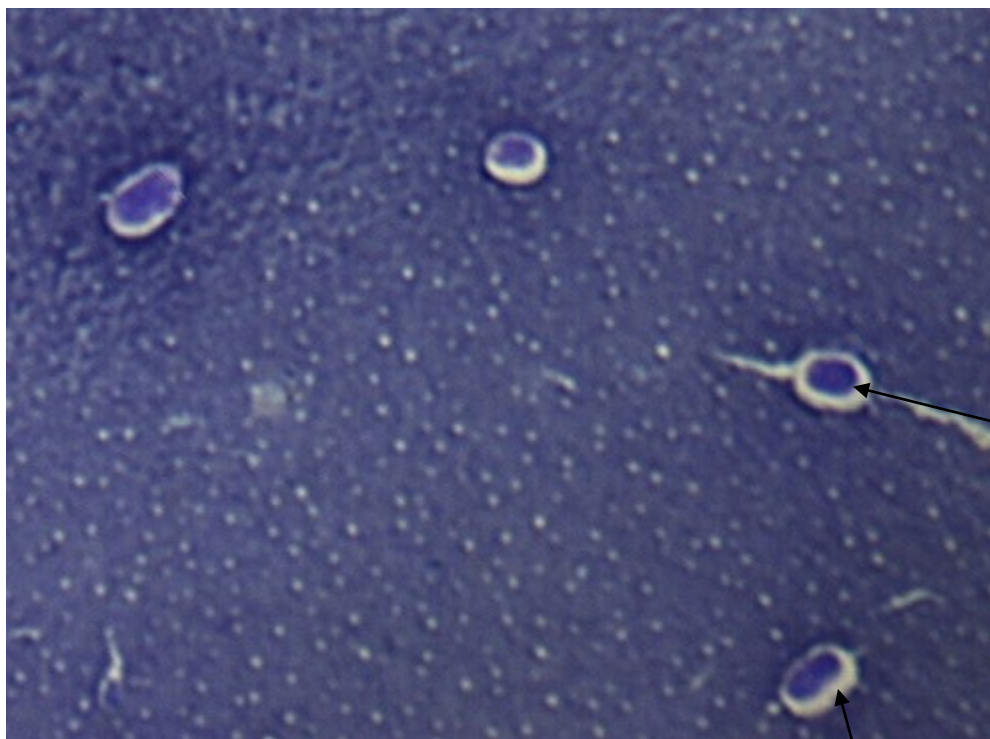
- modré buňky obklopené světlým pouzdrém

Buňka (modrá)

Pouzdro (světlé)

Zvětšení 1000x

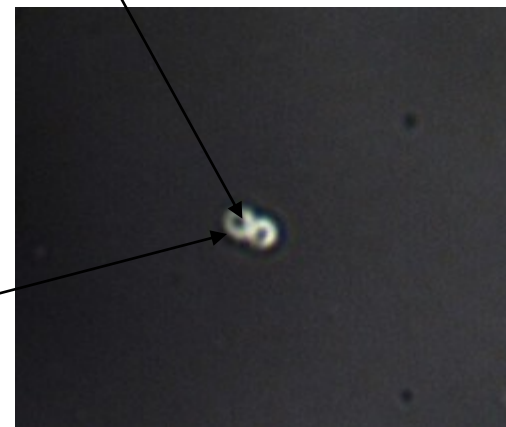
# Pouzdra



*Azotobacter vinelandii* CCM 289

buňka

pouzdro



Zvětšení 1000x

# Inkluze

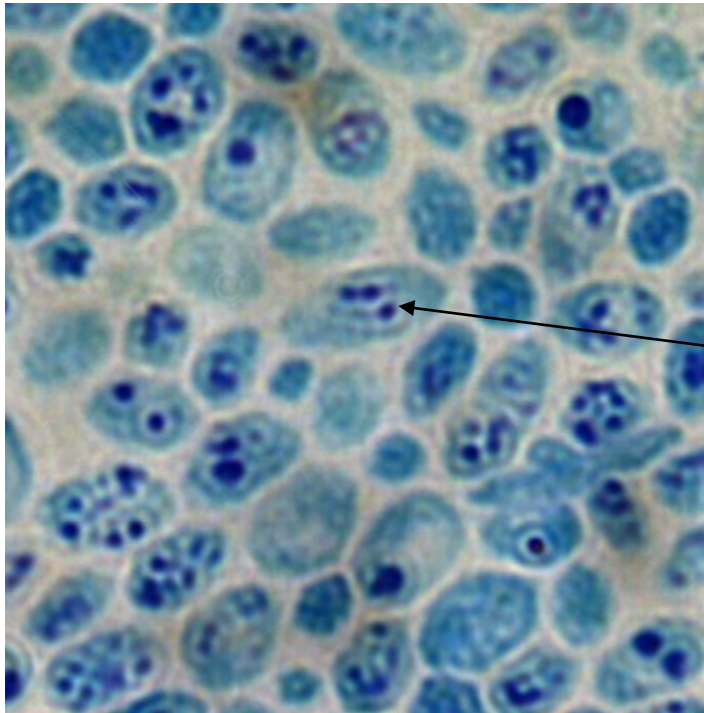
---

- **Volutin** - polyfosfátová granula (nikdy není zdrojem energie, jen fosforu, počet: 1 – mnoho, podle metabolismu. Vysoký počet je v době před přechodem do klidového stadia (známka sporulace), společně s glykogenem se objevuje ve starších buňkách.
- **Tuk** (v buňce se vyskytuje buďto rozptýlený ve vakuolách nebo zabudovaný v membránách. Shromažďuje se v přítomnosti kyslíku. V buňce běžně 2-3%. Tyto intracelulární inkluze se vyskytují zejména u kvasinek a mikromycet.)
- **Glykogen** (rozpuštěný polymer glukózy s  $\alpha$ -1,4-vazbami a  $\alpha$ -1,6 větvením na každém 8-10 monomeru, může tvořit až 50% sušiny. Ve světelném mikroskopu není viditelný, může a nemusí mít membránu, slouží jako pohotová rezerva)



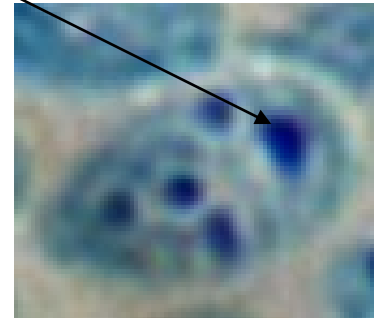
# Volutin

---



*Saccharomyces cerevisiae*

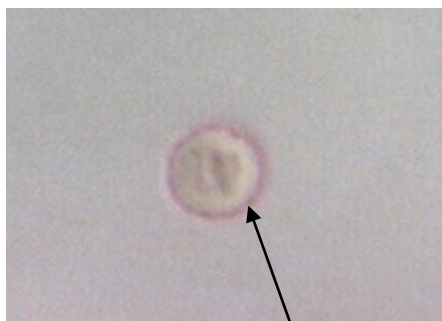
Volutin



Zvětšení 1000x

# Tuk

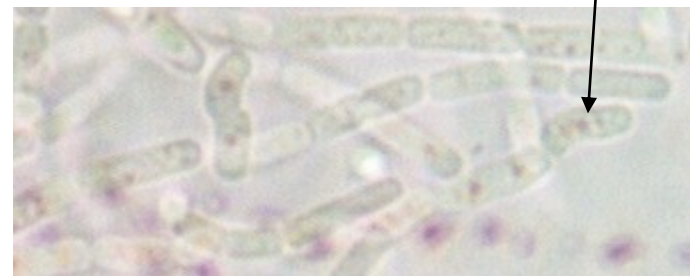
*Saccharomyces cerevisiae*



Tuk v membránách



Tukové kapénky



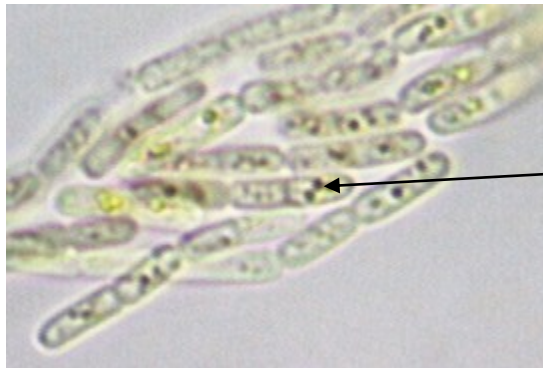
*Bacillus cereus* CCM 2010

Zvětšení 1000x

# Glykogen

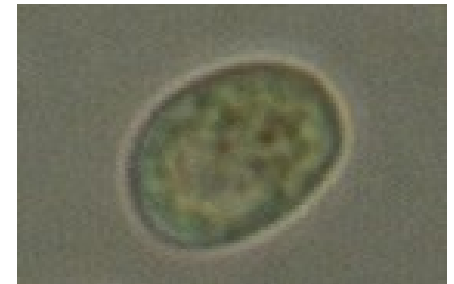
---

*Bacillus cereus* CCM 2010



Glykogen (hnědá zrnka)

*Saccharomyces cerevisiae*



Zvětšení 1000x