

### Cvičení 3

Téma: pohyb buněk

#### **Náplň cvičení:**

- porovnat pohyb buněk *Micrococcus luteus* - Brownův pohyb (nativní preparát; Nomarského kontrast)
- barvení bičků – fázový kontrast
- očkování do polotekutého media – na misky i do zkumavek (sterilní umělohmotnou kličkou)

#### **Mikroorganismy** – mladé kultury (4hodinové nebo 16ti hodinové)

*Bacillus cereus* CCM 2010 - 16ti hodinová kultura; peritrichum

*P. fluorescens* CCM 2115T - 16ti hodinová kultura, monotrichum

*Proteus vulgaris* CCM 1799 - 16ti hodinová kultura, peritrichum

*E. coli* CCM 3954 - 16ti hodinová kultura peritrichum

*Micrococcus luteus* CCM 169 – pro srovnání nativního preparátu

#### **POZOROVÁNÍ BIČKŮ**

##### **Pozorování pohybu bičku - visutá kapka**

nativní preparát

- kapka suspenze buněk v mediu na podložní sklo, nepřekrývat krycí, pozorování objektivem 20, nezanořovat!! Nomarského kontrast. Pro vitalitu buněk je důležitý dostatek kyslíku (citlivější buňky se hýbou jen nahoře). Je nutno opatrně proostřovat na horní část kapky – dostatek O<sub>2</sub>
- nesmí se pracovat se skleněnými předměty (krom sklíček), př: skleněná tyčinka bičky ulamuje (na sklíčko opatrně nanášet umělohmotnou pasteurkou, opatrně překrývat krycím sklíčkem), práce s mladými kulturami 4-16hodin!! pozorování vždy z tekutého media

##### **Barvení bičků:**

Závisí na způsobu kultivace. Kultivace buněk vhodná v tekutém mediu. Staré buňky odhazují bičky.

Fixace, speciální barvicí metody pro světelný mikroskop. Barvička obsahuje mořidlo tanin, které se obalí kolem bičku, jeho průměr se znásobí a zviditelní.

Postup:

- opatrně připravíme nativní preparát na odmaštěné podložní sklíčko
- opatrně překryjeme krycím sklem
- vedle krycího sklíčka kapka barvičky
- prosajeme filtračním papírem
- pozorování pod imerzí

Barvička na barvení bičků: roztok I (10 dílů) a II (1 díl), zamražený

Roztok I: 10ml 5% vod.roztoku fenolu, 2g taninu, 10ml Kal (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> . 12 H<sub>2</sub>O

Roztok II: nasycený roztok krystalové violeti (12g) v ethanolu (10ml, 96%)

(Pozn: **Elektronová mikroskopie** - negativní barvení, otiskové preparáty po rychlém zmražení na -150 °C)

### **Agar na testování pohybu:**

Obsahuje nízké množství agaru – je to polotekuté medium (nižší viskozita prostředí). Na polotekutý agar se očkuje vždy jen do středu misky, aby se rozrůstala 1 kolonie. Nejlépe kličkou, trošku zanořit do agaru. Pohyblivé kultury udělají rozrůstající se kruh, někdy vlnící se. Nepohyblivé rostou jen v místě vpichu do určité velikosti. Výsledky za 3-5 dní.

Složení do 100ml demineralizované vody:  
yeast extract (0,1g),  $K_2HPO_3$  (0,01g), agar (0,2g). S miskou se nesmí hýbat.



**motility test medium**, polotekuté  
Pohyblivý kmen roste i mimo inokulaci – v celém mediu

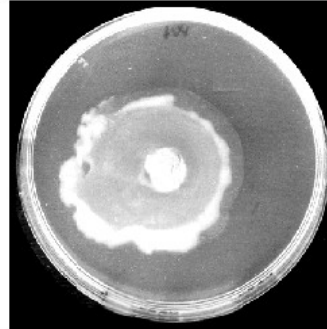
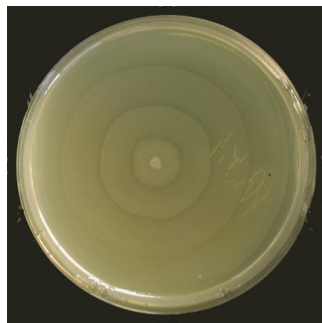


Figure 1. A swarming colony of *S. liquefaciens* approx. 600 min after inoculation. The agar concentration is 0.6% (w/v) and the casamino acid concentration is 0.2% (v/v). The shading is due to the light source reflecting off of the surface of the mostly transparent culture.

#### ***Proteus mirabilis***

- Solidní střed
- Povlak
- Konsolidovaná zóna
- Terasv



#### **Dynamika růstu kolonie:**

- Periodicita migrace
- Diferenciace plazivých buněk
- Lag perioda předcházející migraci
- Migrace plazivých buněk
- Diferenciace
- Konsolidace

#### **Způsob šíření**

##### 1. Posuvem

z konsolidovaného okraje kolonie, kde jsou buňky již diferencovány a lem je organizován

##### 2. Volným putováním

z populace vegetativních buněk, kde začíná diferenciac