

Skličkové kultury

- Nokardioformní aktinomycey – 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 sklíčkové 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.

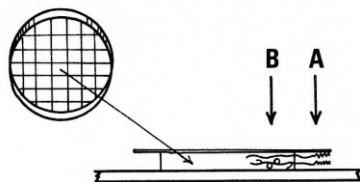


Figure XII.6. Slide culture. Thin agar block, cut from poured plate, is placed on a sterile microscope slide and inoculated, and a sterile coverslip is applied. After incubation in a moist chamber, view slide culture directly on microscope stage when it should be possible to see the aerial mycelium (A)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

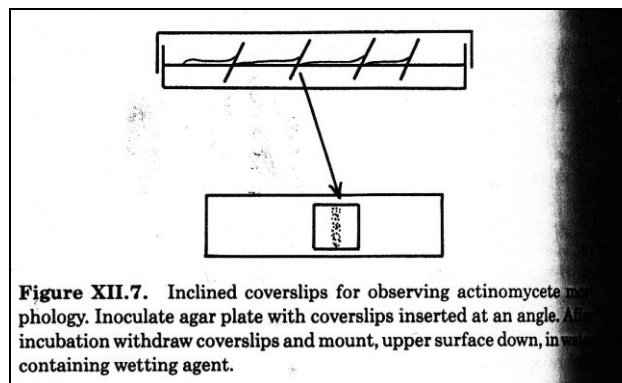


Figure XII.7. Inclined coverslips for observing actinomycete morphology. Inoculate agar plate with coverslips inserted at an angle. After incubation withdraw coverslips and mount, upper surface down, in water containing wetting agent.