

## **Identifikace prokaryotních a eukaryotních mikroorganismů (bakterií a kvasinek)**

### **Cíl, teorie:**

- a) Pozorovat prokaryotní buňku v kultuře mikroorganismů
- b) Pozorovat eukaryotní buňku v kultuře mikroorganismů
- c) Barvení buněčné kultury bakterií a kvasinek podle Grama nebo Burriho

Prokaryotní a eukaryotní buňky mikroorganismů by se podle řady zdrojů měly odlišovat velikostí buňky a vnitřní stavbou buňky. Velikost buňky patří k parametrům, které není možné uvažovat jako určující, existují velké prokaryotní buňky například u cyanobakterií (sinic) a naopak poměrně malé eukaryotní buňky u kvasinek. Studenti si velmi často zaměňují taxonomii kvasinek a řadí je i mezi prokaryotní buňky. Následující úloha proto procvičuje identifikaci prokaryot a eukaryot a pomáhá studentům pamatovat si zařazení mikroorganismů mezi prokaryota a eukaryota. V uvedené úloze se studenti učí poznávat a odlišovat buňky bakterií a buňky kvasinek.

### **Materiál a přístrojové vybavení:**

Materiál: kultura bakterií a kvasinek označovaná jako kombuchová kultura. Kultura je tvořena zejména bakteriemi octového a mléčného kvašení (*Gluconacetobacter xylinus* a bakteriemi *Lactobacillus* ssp.), dále několika druhy kvasinek rod *Zygosaccharomyces* a rod *Saccharomyces*. Může ale obsahovat i řadu dalších bakterií a kvasinek, i plísně rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Kombuchová kultura tvoří šedobéžový rosol či rosolovitý povlak. V závislosti na stáří tmavne a přechází do hnědého zbarvení.

Laboratorní vybavení: mikroskopická sklíčka – krycí a podložní, širokohrdlá kultivační nádoba, mikroskop, Pasteurovy pipety, pipetman 1 ml, 200 µl, barviva pro Grama či Burriho metodu

### **Vlastní pracovní postup**

- 1) Provedte kultivaci kombuchové kultury 3-5 dní v čajovém odvaru a provádějte odběry kultury po několika dnech, vždy následně zhotovte mikroskopické preparáty k pozorování bakterií a kvasinek.
- 2) Sledujte počet mikroorganismů v odebraných vzorcích, výpočet stanovte pomocí počítací Bürkerovy komůrky.
- 3) Provedte barvení mikrobiální kultury dle Grama (viz materiály k laboratorním cvičením) nebo Burriho.
- 4) Postup barvení podle Burriho: a) bakteriální kulturu přeneseme do tuši, následně roztáhneme po ploše sklíčka pomocí druhého skla a počkáme na zaschnutí  
b) preparát přebarvíme krystalovou violetí.
- 5) Výsledky zaznamenejte do tabulky a vyhodnoťte, které mikroorganismy – bakterie, kvasinky, plísně jste pozorovali a odhadněte, v jakém množství.

### **Získané výsledky a vyhodnocení**

Do protokolu popíšeme pozorované mikroorganismy a výsledky při barvení preparátů.

### **Diskuse a závěr**

Zjistíme, s jakými výsledky se setkali další studenti ve skupině, provedeme diskusi.