

# Nativní preparát

Preparáty pro pozorování ve světelném mikroskopu, lze zhotovovat nativní (čerstvé), anebo trvalé. U nativních preparátů se pracuje z živými biologickými objekty a používají se např. při sledování buněčného dělení, zjišťování tvaru, velikosti, skutečné barvy a struktury buněk rostlin, živočichů i hub.

Mikroskopická technika nativního preparátu využívá odlišné světlolomnosti částic v pozorovaném objektu. Některé buňky se nebarví vůbec, a nebo se používá tzv. **vitální barvení**.

U nativního preparátu pozorujeme objekt přímo ve vodě nebo v tzv. fyziologických roztocích. To jsou tekutiny plnohodnotně nahrazující přirozené prostředí organismu a účelem jejich použití je udržet zkoumaný objekt co nejdéle naživu.

Zvláštním případem nativního preparátu je metoda **visuté kapky**. Používá se v mikrobiologii a slouží ke zjištění pohyblivosti mikroorganismů. Pracuje se speciálním podložním sklem, které není rovné, ale má uprostřed na jedné straně vybroušenou jamku.

Při mikroskopickém pozorování nativního preparátu je nutné rozlišovat tři druhy **pohybu** organismů:

a) vlastní pohyb – projevuje se jistou pravidelností, bývá kývavý, krouživý, přímočarý, vířivý, nepodléhá případnému proudu tekutiny a ustává po přidání smrtícího prostředku

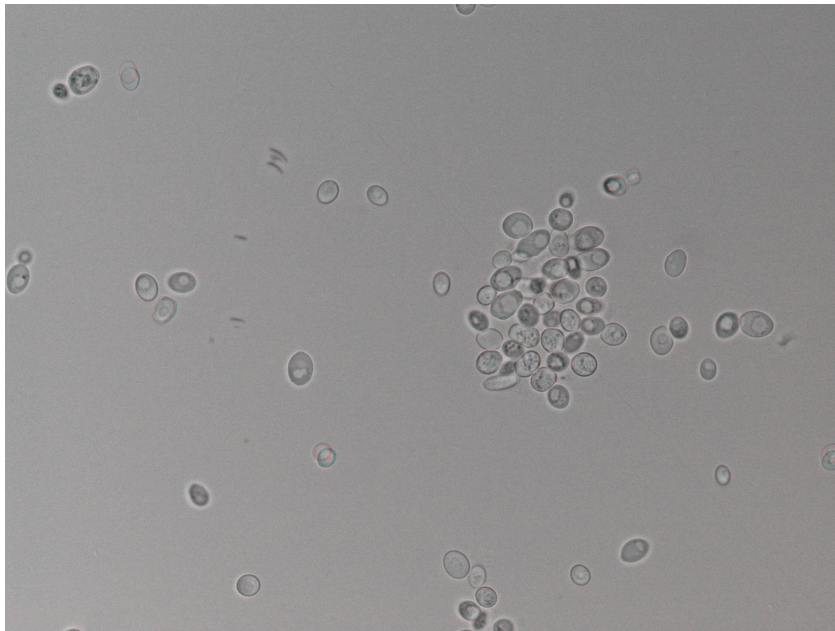
b) Brownův pohyb – fyzikální úkaz způsobený pohybovou energií molekul kapaliny.

Tato energie je nárazy molekul přenášena na jednotlivé buňky, které pak jeví pohyb pasivní, nepravidelný, koncentrovaný na jedno místo a neustávající po přidání smrtícího prostředku.

c) pohyb buněk způsobený pohybem tekutiny, v níž jsou suspendovány. Nastává pokud není preparát, nebo mikroskop v horizontální poloze. Tekutina proudí jedním směrem a unáší i buňky, které pak jeví pasivní jednosměrný pohyb.

## 1. Zhotovení nativního preparátu kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*)

Kvasinky druhu *S. cerevisiae*, nebo také kvasinky pивní jsou jednobuněčné organismy patřící do skupiny hub vřeckovýtrusých. Rozmnožují se pučením a tvoří pučivá pseudomycelia. Buněčnou stěnu mají převážně z chitinu. Buňky pravých hub (*Eumycota*) nemají žádný pohybový aparát (např. bičíky, fimbrie), a proto se nemohou aktivně pohybovat.



Obr.1: *Saccharomyces cerevisiae* ve světlem poli

### **Pomůcky:**

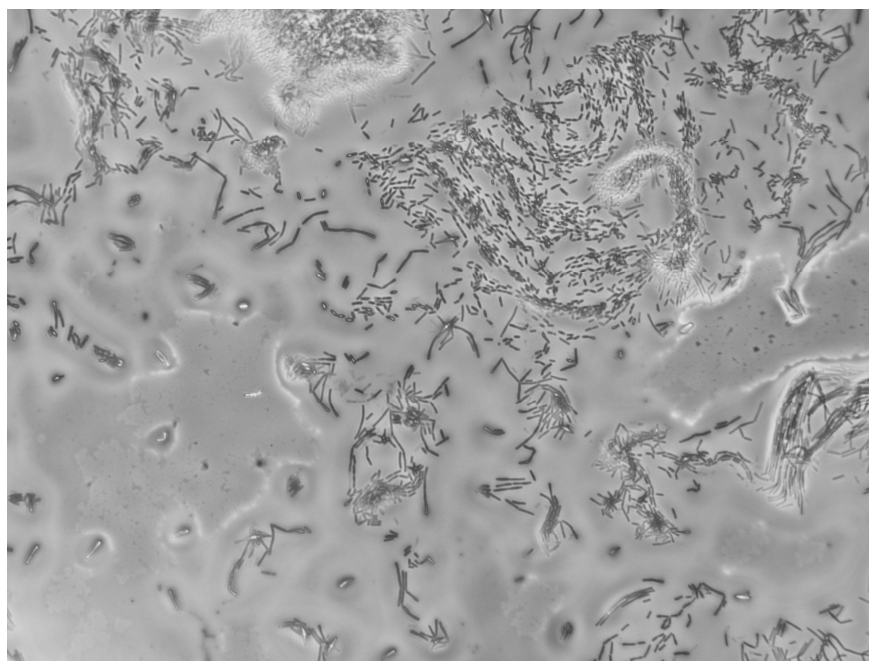
Sterilní voda, nebo fyziologický roztok, bakteriologická klička, Pasteurova pipeta, kultura kvasinek, potřeby pro mikroskopování.

### **Postup:**

Na podložní sklíčko kápneme Pasteurovou pipetou kapku vody, nebo fyziologického roztoku. Ožehnutou a vychladlou bakteriologickou kličkou nanese do kapky malé množství kultury kvasinek a rozetřeme. Nesmíme vnést do kapky příliš mnoho kultury, aby preparát nebyl příliš hustý. Preparát přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme v mikroskopu pod objektivem 40x.

### **Pozorování bakterie *Bacillus subtilis* ve visuté kapce**

Metoda visuté kapky se používá v mikrobiologii zejména pro sledování pohybu mikroorganismů. Metoda je založena na umístění kapičky s mikroorganismy na krycí sklo, jež je přiklopeno podložním sklem s vybroušenou jamkou. Takovéto podložní sklo označujeme jako Kochovu komůrku. Bakterie druhu *Bacillus subtilis* mají bičíky, mohou se tedy aktivně pohybovat, a proto jsou vhodné pro pozorování ve visuté kapce.



Obr.1: *Bacillus subtilis* ve fázovém kontrastu

### **Pomůcky:**

Kultura *Bacillus subtilis*, podložní sklo s jamkou, krycí sklíčko, Pasteurova pipeta, bakteriologická klička, ajatin.

### **Postup:**

Kapku s mikroorganismem, přeneseme sterilní bakteriologickou kličkou doprostřed na krycí sklíčko. Do všech čtyř rohů krycího sklíčka opatrně kápneme po jedné malé kapce vody. Potom na krycí sklíčko přiložíme podložní sklíčko s vybroušenou jamkou tak, aby kapka s buňkami byla uprostřed jamky. Sklíčko přilne k obvodu jamky a rychlým pohybem otočíme podložní sklíčko do normální polohy. Preparát prohlížíme v mikroskopu pod objektivem 40x. Zjistíme, zda se buňky pohybují aktivně.

Druhý preparát připravíme stejným způsobem, ke kapce s mikroorganismem však přidáme kapku dezinfekčního činidla (ajatinu). Zjistíme, zda se buňky pohybují.

## **Pozorování:**

Pozorované objekty nakreslíme, popíšeme a napíšeme závěr. Obrázky kreslíme obyčejnou tužkou, nevybarvujeme, nešrafujeme, obrázky musí být dostatečně velké a popsané. U každého obrázku musí být napsané celkové zvětšení, pod kterým byl objekt pozorován.

Preparáty pozorujte ve světlém poli, tmavém poli a ve fázovém kontrastu. Napište, která technika je pro pozorování daného objektu nejvhodnější.

