

# Metody studia vodních bakterií pomocí fluorescenční mikroskopie

Akademie věd České republiky udělila v prosinci 2015 čestnou oborovou medaili Gregora Johanna Mendela za zásluhy v biologických vědách hydrobiologovi prof. Karlu Šimkovi, působícímu na Hydrobiologickém ústavu Biologického centra AV ČR, v. v. i. Při této příležitosti jsme požádali ředitele ústavu prof. Jana Kubečku o rozhovor s K. Šimkem, který najdete na str. XXVII–XXIX následující kulérové přílohy. Ve svém oboru patří prof. Šimek v České republice k předním odborníkům. Zaměřuje se na vztahy mezi mikroorganismy ve sladkých vodách – především vztahy mezi rozpuštěnými organickými látkami, bakteriemi, prvky a řasami, jejichž interakce jsou zásadní pro samočisticí procesy ve sladkovodních ekosystémech, ale i pro tok uhlíku do vyšších trofických úrovní. V této oblasti mikrobiální ekologie sladkých vod se Karel Šimek řadí ke světové špičce. Zde uvádíme několik mikroskopických snímků jako ukázkou postupů, které při svém výzkumu používá. Tyto specifické metody barvení mohou kombinovat více fluorescenčních barviv současně, a lze tak různé buňky nebo objekty v buňkách vizualizovat při přepínání několika vlnových délek ve fluorescenčním mikroskopu.

Uvedené metody slouží např. při studiu rychlosti odstraňování bakterií v přírodních vodách, neboť jejich eliminace přímo souvisí s rychlostí procesů samočištění.

**1 a 2** Buňky v kolonii zlativky rodu *Dinobryon* (obr. 1) a buňka mixotrofního nálevníka (2) s pohlcenými fluorescenčně značenými bakteriemi, což jsou žluté fluoreskující malé buňky, které se přidávají v malé proporcí do přírodního bakterioplanktonu jako „stopovač“ rychlosti příjmu bakteriálních buněk. Protože jde o mixotrofní prvky, tedy mikroorganismy kombinující příjem partikulované potravy – bakterie – a současně fotosyntézu podobně jako řasy, při použití vlnové délky 530 nm v epifluo-

Vodní bakterie přijímají do svých buněk organické látky rozpuštěné ve vodě, a následně jsou tyto bakterie pohlcovány různými prvky – zejména heterotrofními

rescencčním mikroskopu v pozadí červeně prosvítají i chloroplasty uložené v cytoplasmě buněk těchto prvků.

**3 až 5** Buňky heterotrofních bičíkovců (kulatý modrý objekt v buňkách je jádro obarvené fluorochromem DAPI, který se váže na DNA v jádře) s pohlcenými zelenožlutě fluoreskujícími buňkami bakterií hybridizovanými s fluorescenčně značenou RNA-sondou pro třídu *Beta-proteobacteria* (obr. 3) a rod *Limnohabitans* (4 a 5). Bílé úsečky představují délku 5  $\mu\text{m}$ . Všechny snímky K. Šimka

bičíkovci, nálevníky, ale i dalšími mixotrofními prvky (obr. 1 a 2).

Můžeme však také využít vysoce specifické fluorescenčně značené RNA-sondy, které se vážou (hybridizují) na RNA bakterií, což umožňuje i přesnou taxonomickou identifikaci druhů bakterií, pohlcovaných prvky (obr. 3–5).

