

**Strukturální barvení** se používá k identifikaci a studiu struktury bakterií. Př: barvení endospor, pouzder a bičíku (flagely).

A. Barvení spor malachitovou zelení - Schaefferova-Fultonova metoda

- Ušchlý nátěr buněk na sklíčko fixujeme trojím protažením v plameni
- Převrstvíme malachitovou zelení, překryjeme filtračním papírem
- Zahříváme 5 minut do výstupu par, doplňujeme barvivo
- Opláchneme vodou
- Dobarvíme kontrastním barvivem - safraninem nebo kongo – červení (převrstvením 30s)
- Opláchnout vodou, usušit, pozorujeme pod imerzí, Z 1000x
- Pozorování: Spory jsou zelené, ostatní buněčný obsah červený.

B. „Barvení pouzder“ – negativní barvení = zvýraznění pozadí kongo červení

- Na sklíčko kápněte Kongo červeně a přímo v ní suspendujte kulturu *A. vinelandii*.
  - Suspenzi rozetřete po povrchu sklíčka a nechte dobře zaschnout.
  - Převrstvěte na několik sekund kyselinou chlorovodíkovou, potom kyselinu slijte
  - Neoplachujeme vodou
  - Buňky dobarvíme methylenovou modří (3 minuty převrstvit)
  - zbytek osušte filtračním papírem a dosušte na vzduchu.
- Pozorujte imerzním objektivem světle modré buňky, světlá pouzdra a modré pozadí.

C. Barvení pouzder karbolfuchsinem a negativní barvení pozadí nigrosinem

- Klička bakteriálních buněk z Ashbyho agaru se resuspenduje v kapce vody
- Rozetře se po povrchu sklíčka a nechá se zaschnout
- Podložní sklíčko se převrství karbolfuchsinem do výstupu par 1 min
- Opalch vodou a negativní dobarvení nigrosinem rozetřeným do tenké vrstvy a vysušeným, aby se nezbarvily i buňky; neoplachujeme
- Pozorujeme pod imerzí červené buňky, růžová pouzdra a šedé pozadí

D. Negativní barvení buněk rodu *Bacillus* nebo *Clostridium*

- Klička bakterií se rozetře v kapce destilované vody, přidá se kapka nigrosinu
- Rozmíchá se kličkou a rozetře se druhým sklíčkem
- Bez oplachování se nechá zaschnout na vzduchu

Jedinečně: Kalcium dipikolinát, Proteiny stabilizující DNA, Kortex, DNA reparační enzymy v procesu germinace