

Abstrakt

Cílem této práce je využití techniky zeslabeného úplného odrazu (Attenuated Total Reflectance, ATR) u infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR) k analýze tvorby *in vitro* biofilmu *Pseudomonas syringae* v průtokové komoře a jeho následné interakce s antibakteriálními látkami. Na základě naměřených ATR spekter v kombinaci s analýzou struktury biofilmu prostřednictvím světelné a fluorescenční mikroskopie jsem navrhl model vývoje biofilmu *Pseudomonas syringae* patovar *morsprunorum* CCM 2534 v průtokové komoře s 2% Luria-Bertani (LB) komplexním médiem. V tomto modelu je rozlišena počáteční kolonizace ZnSe hranolu (adheze) a následný oplach volně uchycených bakterií v důsledku výměny inokulační suspenze za čerstvé 2% LB médium, na který navazuje krátká perioda znovuosídlení uvolněného prostoru na substrátu. Následuje restrukturační biofilmu, kdy pohyblivá část populace *Pseudomonas syringae* migruje na vršek raných mikrokolonií, kde je vyšší dostupnost živin včetně kyslíku. Poslední fází je maturace biofilmu *Pseudomonas syringae*, která již probíhá převážně mimo dosah ATR FT-IR techniky a vede ke tvorbě mohutných mikrokolonií ve tvaru houbiček. V této práci jsem také zkoumal změny ve vývoji biofilmu *Pseudomonas syringae* za modelových podmínek (inokulace usmrcenými bakteriemi, inokulace komory obrácené dnem vzhůru a pozměněná počáteční biomasa). Na závěr jsem zkoumal interakce biofilmu *Pseudomonas syringae* s antibakteriálními látkami (LEGO-lipofosfonoxiny, měděné nanočástice a CuSO_4). Ukázalo se například, že i subinhibiční koncentrace CuSO_4 ($15 \mu\text{M}$) dokáže ovlivnit vývoj biofilmu *Pseudomonas syringae*, či že vysoká koncentrace CuSO_4 ($200 \mu\text{M}$) zahubí biofilm *Pseudomonas syringae*, ale nezprostředkuje rychlé odstranění jeho zbytků ze substrátu. Celkově se potvrdila skvělá vhodnost ATR FT-IR techniky při analýze počátečních stádií vývoje biofilmu *Pseudomonas syringae*, ovšem její limitace v detekčním dosahu neumožňuje zachycení změn ve vysoce strukturovaném biofilmu této bakterie. Také jsem prozkoumal možnost využití impedančních měření k duálnímu snímání biofilmu *Pseudomonas syringae* za použití ATR FT-IR a impedanční spektroskopie, abych kompenzoval limitace techniky ATR FT-IR. Předběžné výsledky se zdají být slibné pro budoucí využití interdigitálních elektrod či integrovaných systémů s duálním snímáním vývoje biofilmu *Pseudomonas syringae*.

Klíčová slova: Biofilm, *Pseudomonas syringae*, FT-IR spektroskopie, antibakteriální látky.