

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2017

Kristýna Tejmlová

Univerzita Karlova

Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Mikroskopické houby v praktických cvičeních na ZŠ

Microscopic Fungi in Practical Exercises at Lower Secondary School

Kristýna Tejmlová

Vedoucí práce: RNDr. Lenka Pavlasová, Ph.D.

Studijní program: Učitelství pro střední školy

Studijní obor: Učitelství VVP pro ZŠ a SŠ-biologie

2017

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Mikroskopické houby v praktických cvičeních na ZŠ vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze 19. dubna 2017

.....

podpis

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování RNDr. Lence Pavlasové, Ph.D. za její cenné rady a trpělivost při vedení mé diplomové práce. Rovněž bych chtěla poděkovat RNDr. Aleně Kubátové, CSc. za vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací, podkladů a poskytnutí houbových kultur ze Sbírký kultur hub (CCF), dále paní ředitelce ZŠ ve Vinařicích Mgr. Radomile Krchové a žákům 6. třídy, kteří mi pomohli s ověřením laboratorních úloh. Firmě Symbiom za poskytnutí vzorku Symbivit bylinky. A v neposlední řadě patří velké dík mé rodině a příteli za neuvěřitelnou podporu a trpělivost.

ABSTRAKT

Mikroskopické houby (mikromycety) jsou tématem, které je na základních školách opomíjené a zmiňované jen okrajově. Jejich význam pro člověka v běžném životě, ať už negativní nebo pozitivní, je natolik důležitý, abychom přehodnotili, kdy a jak s nimi žáky seznámit.

Cílem mé diplomové práce je vytvoření vlastních návrhů pracovních úloh, které seznamují žáka základní školy se vzhledem, vlastnostmi, výskytem, využitím, metodami kultivace a v neposlední řadě s bezpečností práce s vláknitými mikroskopickými houbami.

V pracovních úlohách jsou použity základní metody práce s vláknitými mikroskopickými houbami, jako je inokulace části populace z přirozeného prostředí na sterilní živné médium, sedimentační metoda nebo metoda roztírání zředěné suspenze hokejkou na agarovou půdu. K odstranění sekundárních struktur je použito přeočkování. Dále se zabýváme možnostmi přípravy kultivačních médií. Izolované kultury mikroskopických hub identifikujeme podle makroskopických znaků, přičemž mikroskopické znaky, z důvodu bezpečnosti práce s vláknitými mikroskopickými houbami, doporučuji přenechat výuce na střední škole.

Navržená praktická cvičení byla ověřena na ZŠ ve Vinařicích se žáky 6. ročníku. Praktická cvičení se ukázala být vhodná pro práci žáků na základní škole. Zajištění materiálu, zpracování úkolů i výsledky dopadly podle očekávání a žáky problematika velice zajímala.

KLÍČOVÁ SLOVA

praktická cvičení, vláknité mikroskopické houby, kultivace, kultivační půdy, inokulace

ABSTRACT

Microscopic fungi (micromycetes) is a topic that is at lower secondary schools neglected and mentioned only marginally. Fungi are of great importance for humans in their everyday life, whether negative or positive. It is the reason to rethink how and when to inform pupils about them.

The aim of my thesis is to create my own practical exercises that acquaint the pupils of lower secondary schools with the appearance, properties, occurrence, uses, cultivation methods, and last, but not least with the safety of micromycetes.

In the practical exercises are used basic methods of work with micromycetes such as inoculation of the population from the natural environment to a sterile culture medium, the sedimentation method or the method of spreading a dilute suspension of the stick on the agar medium. The revaccination is used to eliminate secondary structures. Then we deal with the possibility of preparing culture media. Isolated cultures of microscopic fungi are identified by macroscopic characters. Due to the safety with micromycetes, I recommend to teach microscopic characteristics in high school.

The presented practical exercises were verified at the lower secondary school in Vinařice by pupils of the 6th class. The practical exercises proved to be suitable for pupils in lower secondary school. Securing material processing tasks and the results live up to expectations and pupils were very interested in the issue.

KEYWORDS

practical exercises, micromycetes, cultivation, culture media, inoculation

Obsah

1	Úvod	2
2	Teoretická část	4
2.1	Mikroskopické houby	4
2.1.1	Systematika mikroskopických hub	5
2.1.2	Morfologie a fyziologie mikroskopických vláknitých hub	9
2.1.3	Význam mikroskopických hub v životě člověka	10
2.1.4	Charakteristika důležitých rodů vláknitých mikroskopických hub	13
2.2	Likvidace vláknitých mikroskopických hub	31
2.2.1	Mechanické prostředky.....	31
2.2.2	Dekontaminace	31
2.2.3	Stanovení a identifikace vláknitých mikroskopických hub	32
2.3	Kultivace vláknitých mikroskopických hub	34
2.3.1	Živné půdy	34
2.3.2	Metody kultivace	39
2.4	Přehled výukových metod použitých při praktických cvičeních	40
2.5	Laboratorní cvičení zaměřené na mikroskopické houby v učebnicích přírodopisu pro základní školy a nižší stupeň víceletých gymnázií.....	41
3	Praktická část	44
3.1	Zásady bezpečnosti práce v mikrobiologické laboratoři.....	44
3.2	Návrh laboratorního cvičení.....	45
3.2.1	První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“	46
3.2.2	Druhá praktická úloha „Mykorhizní houby“	47
3.2.3	Třetí praktická úloha „Fermentace“	48
3.2.4	Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“	49

3.2.5	Pátá praktická úloha „Chytrá houba“	49
3.2.6	Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“	50
3.3	Faktory ovlivňující výsledek kultivace ve školních podmínkách	50
3.4	Laboratorní ověření navržených úloh	51
3.4.1	První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“	51
3.4.2	Druhá praktická úloha „Mykorrhizní houby“	53
3.4.3	Třetí praktická úloha „Fermentace“	54
3.4.4	Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“	55
3.4.5	Pátá praktická úloha „Chytrá houba“	55
3.4.6	Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“	56
3.5	Ověření návrhů laboratorních cvičení na ZŠ	57
3.6	Organizace a metodika praktických úloh	58
3.6.1	Příprava na praktické úlohy	58
3.6.2	Úvodní hodina – seznámení s mikroskopickými houbami	60
3.6.1	První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“	60
3.6.1	Druhá praktická úloha „Mykorrhizní houby“	63
3.6.1	Třetí praktická úloha „Fermentace“	65
3.6.1	Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“	66
3.6.1	Pátá praktická úloha „Chytrá houba“	68
3.6.1	Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“	69
4	Diskuse	72
5	Závěr	76
6	Seznam použitých informačních zdrojů	77
7	Seznam příloh	82
8	Přílohy	83

8.1	Příloha 1: Protokoly pro žáky	83
8.2	Příloha 2: Pracovní listy s autorským řešením.....	89
8.3	Příloha 3: Ukázka vyplněných pracovních listů	101

1 Úvod

Tato diplomová práce se zabývá návrhem a ověřením praktických cvičení zaměřených na vláknité mikroskopické houby určených pro výuku na druhém stupni základní školy.

Název mikroskopické houby (mikromycety) zahrnuje vláknité mikroskopické houby a kvasinky. Mikroskopické houby jsou organismy vyskytující se na rostlinách, na živočiších, v půdě, ale také v ovzduší nebo na jiných vlhkých stanovištích. Některé druhy jsou patogenní a mohou zapříčinit onemocnění hostitele a degradaci potravin, ale existují druhy, které jsou významné z hlediska biotechnologií. Je nadmíru jasné, že mikroskopické houby jsou a vždy budou součástí života člověka. Měl by tedy být obeznámen s kladnými i zápornými vlivy těchto hub a měl by být obeznámen s bezpečným zacházením, tak aby se zbytečně nevystavoval rizikům, která tyto organismy mohou způsobit.

Ve výuce je běžně rozšířenou laboratorní prací pozorování kvasinek, proti tomu laboratorní práce s vláknitými mikroskopickými houbami jsou na základních školách upozaděné, někdy zcela přehlížené. Nejzávažnějším důvodem může být obava o zdraví žáků, která je do jisté míry opodstatněná, ale při správném výběru praktických úloh, modelových organismů, zajištění ochranných pomůcek a dodržení pracovních postupů, zbytečná. Z toho důvodu tato práce předkládá praktické úlohy zabývající se výhradně vláknitými mikroskopickými houbami.

Celá práce je strukturována s ohledem na tvorbu praktických úloh. Dělí se na teoretickou a praktickou část.

Teoretická část je zaměřena na obecnou charakteristiku vláknitých mikroskopických hub. Zabývá se systémem, morfologií a fyziologií s ohledem na potřeby praktických cvičení.

Mikroskopické houby jsou klasifikovány do osmi skupin: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Zygomycota, Microsporidomycota, Neocallimastigomycetes a Blastodimycota. Jedna z kapitol pojednává o využití mikroskopických hub ve zdravotnictví, potravinářství a dalších oborech, ale také poukazuje na negativní vlastnosti, které mohou nepříznivě ovlivňovat zdraví člověka. Dále jsou charakterizovány vláknité mikroskopické houby, které se mohou vyskytnout v praktických úlohách. Vzhledem k praktickým úlohám je charakteristika zaměřena na vzhled kolonií,

teplotní nároky, jejich výskyt a význam. Tato část se zabývá také způsoby likvidace vláknitých mikroskopických hub. Z didaktického hlediska zmiňuje použité výukové metody a stručně se zabývá analýzou výskytu učiva a laboratorních prací učiva hub bez plodnic v učebnicích a pracovních sešitech pro základní školy a nižší ročníky gymnázií. V teoretické části jsou dále uvedeny metody kultivace vláknitých mikroskopických hub a je citován výběr vhodných živných médií pro jejich kultivaci.

Praktická část se zabývá zásadami bezpečnosti v laboratoři, samotnými návrhy praktických cvičení a jejich ověřením, organizací, metodikou a pomůckami. Diskutuje faktory, které mohou ovlivnit výsledky kultivace ve školách. Mikrobiologická práce na základní škole má svá specifika z důvodu omezených pomůcek a přístrojů, které jsou k práci zapotřebí. Samozřejmě dalším omezením je samotná bezpečnost žáků, kteří nesmí přijít do styku s nebezpečným materiálem. Bylo tedy nutné vytvořit praktické úlohy, které nebudou porušovat žádné z kritérií dané prostředím základní školy.

Cílem mé práce je navrhnout praktická cvičení, která obeznámí žáky s výskytem, využitím a některými vlastnostmi vláknitých mikroskopických hub a vybraná cvičení ověřit ve výuce.

2 Teoretická část

V teoretické části se budu zabývat systematikou mikroskopických hub (mikromycet), jejich morfologií a fyziologií, způsobem života, významem pro člověka, metodami kultivace a výskytem laboratorních úloh v učebnicích a pracovních sešitech přírodopisu pro základní školy.

2.1 Mikroskopické houby

Mikroskopické houby jsou vícebuněčné nebo jednobuněčné (kvasinky) eukaryotní organismy s heterotrofní výživou (Malíř, 2003, s. 16). Náleží k prastarým organismům, jejichž fosilní pozůstatky se datují podle nejnovějších údajů do období před 460 miliony let (Ostrý, 2014). Vlákňité mikroskopické houby dělíme z praktického hlediska na vlákňité mikroskopické houby (mikroskopické vlákňité houby, plísně), kvasinky a kvasinkové (*yeast-like*) mikroorganismy (Malíř, 2003, s. 13).

Jejich velká morfologická a fyziologická rozmanitost a adaptabilita k nejrůznějším ekologickým podmínkám, jim umožnila osídlit řadu rozdílných biotopů a tím také výskyt ubiquiterně po celém světě (Malíř, 2003).

Vlákňité mikroskopické houby tvoří rozvětvené různě zbarvené vlákňité mycelium na povrchu substrátu. Jejich zbarvení se na svrchní a spodní straně mycelia liší.

Rozmnožování mikroskopických hub může probíhat buď rozrůstáním hyf, nebo sporami, přičemž spory vznikají vegetativním způsobem, pak mluvíme o nepohlavních neboli vegetativních sporách nebo po spájení (Šilhánková, 2002). V životním cyklu převládá spíše nepohlavní rozmnožování se vznikem různých konidioforů s konidiiemi nebo chlamydospor, pohlavní rozmnožování je méně časté a je charakteristické tvorbou zygospor nebo askospor¹. Spory vlákňitých mikroskopických hub jsou jednobuněčné či vícebuněčné výtrusy sloužící k jejich rozmnožování, šíření a přežívání v nepříznivých podmínkách. V případě mnoha patogenních hub (dimorfní druhy, aspergily, kryptokoky atd.) hrají spory rovněž významnou úlohu v patogenezi mykotických onemocnění (mykózy, mykotoxikózy, mykoalergie) (Malíř, 2003, s. 17).

¹ Viz <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/uvod-h.htm>

Vláknité mikroskopické houby je možné nalézt nejen v přírodě, ale i v pracovním prostředí člověka. V přírodě plní nezastupitelnou roli destruentů při rozkladu rostlinných a živočišných zbytků (Malíř, 2003). Živiny absorbují ve většině případů z odumřelých zbytků rostlin a organismů, jen část mikroskopických hub se přizpůsobila k parazitickému způsobu života na jiných organismech člověka nevyjímaje.

Přítomny jsou v půdě, ve vodě, v krmivu, v potravinách, na povrchu i uvnitř těl vyšších organismů a v ovzduší, kde zvýšený výskyt spor či fragmentů hyf závisí na klimatických podmínkách či na stupni narušení biologické rovnováhy životního prostředí (Malíř, 2003; Fassatiová 1979).

2.1.1 Systematika mikroskopických hub

V 21. století došlo k zamítnutí několika hypotéz eukaryotické evoluce (hypotéza Archezoa, hypotéza Unikonta – Bikonta, Chromalveolátní hypotéza a částečně Exkavátní hypotéza). Současný názor na klasifikaci živých organismů je následující: živé organismy jsou klasifikovány do pěti říší: SAR (zahrnující kmeny Stramenopila, Alveolata a Rhizaria), Archaeplastida, Excavata, Amoebozoa a Opisthokonta (obr. 1).

Mikroskopické houby jsou řazeny do samostatné říše hub (Fungi) (Malíř, 2003), kterou řadíme do skupiny Opisthokonta.

Z 100000 známých druhů hub tvoří mikroskopické houby 6000 rodů s 64000 druhy. V potravinách bylo popsáno 114 druhů vláknitých mikroskopických hub a 12 druhů kvasinek. V lékařské a veterinární mykologii se uplatňuje asi 150 druhů patogenních mikroskopických hub (Ostrý, 2000). Odhaduje se, že skutečný počet druhů hub přesáhne 5 milionů.

Malíř (2003) uvádí, že s nástupem moderních molekulárních metod a studií sekvencí nukleových kyselin zaznamenává taxonomie hub dynamický vývoj, který není zdaleka ukončen a doposud vedl k řadě nových poznatků na základě, kterých bylo navrženo a reklasifikováno několik systémů.

V klasifikaci hub se nyní zabýváme osmi skupinami (obr.2): Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Zygomycota, Microsporidomycota, Neocallimastigomycetes a Blastodimycota (Kubátová, 2016).

Malíř (2003) pojednává o jedinečnosti nomenklatury houbových organismů. Pro řadu hub, včetně většiny patogenních zástupců, je charakteristický výskyt ve dvou formách, které jsou označovány jako anamorfa a telomorfa (viz kapitola Morfologie a fyziologie mikroskopických vláknitých hub). Každé stádium mělo až do roku 2011 vlastní binomické latinské jméno (tzv. duální nomenklatura). Toto uspořádání platilo do roku 2011, od roku 2012 se názvy hub řídí novým nomenklatorem kódem a pro jeden druh houby se již používá jen jedno jméno.

Oddělení Ascomycota (houby vřeckovýtrusné) zahrnuje 3 pododdělení: Taphrinomycotina, Saccharomycotina, Pezizomycotina a 17 tříd.

S přibližně 8000 druhy je největší skupinou v říši hub. Jedná se o oddělení s velkou morfologickou i ekologickou rozmanitostí, jejichž společným znakem je vřecko (meiosporangium) s tvorbou endospor, označovaných jako askospory. V životním cyklu mnohých zástupců můžeme pozorovat dikaryofázi ve formě askogenních hyf. Výživa je zajišťována saprotrofně, paraziticky i symbioticky.

Oddělení Zygomycota (houby spájkivé) zahrnuje 5 pododdělení: Mucoromycotina, Mortierellomycotina, Entomophthoromycotina, Zoopagomycotina a Kickxellomycotina s 10 řády, 168 rody a 1065 druhy.

Při nepohlavním rozmnožování vznikají spory endogenně uvnitř sporangií. Pohlavní rozmnožování probíhá spájením gametangií (gametangiogamií), příp. somatogamií. Vzniká zygosporangium s jedinou zygosporou. Dikaryofáze oproti oddělení Ascomycota zcela chybí. Tvoří rozsáhlé, převážně nepřehrádkované mycelium.

Samotný název Zygomycota nebyl platně publikován, je invalidní (bez latinské diagnózy, bez označení typu)².

Oddělení Glomeromycota zahrnuje 270 druhů s cca 23 rody a 4 řády: Glomerales, Paraglomerales, Archaesporales, Geosiphonales.

Jedná se o endomykorhizní organismy, vyskytující se pod povrchem půdy na kořenech rostlin a na povrchu půdy. Jejich schopnost tvořit symbiózu s kořeny asi 95 % druhů

² Viz <https://is.cuni.cz/studium/predmety/index.php?do=download&did=102419&kod=MB120P47>

cévnatých rostlin je využívána pro výrobu přípravků pro zlepšení zdravotního stavu pěstovaných rostlin. S výjimkou druhu *Gigaspora decipiens* se rozmnožují nepohlavně.

Oddělení Basidiomycota (houby stopkovýtrusné) je velká, morfologicky i ekologicky značně diversifikovaná skupina zahrnující 3 pododdělení: Pucciniomycotina (rzi), Ustilaginomycotina (sněti) a Agaricomycotina.

Základním společným znakem je vznik nejčastěji 4 bazidiospor (meiospor) na stopečkách vně bazidie (exospory). Bazidiospory se tvoří buď v ložisku (sněti a rzi) nebo v plodnicích. Vegetativní stélka jsou rozvětvená vlákna s přehrádkami (myceliální). Buňky primárního mycelia jsou jednojaderné, proti tomu sekundární mycelium je dikaryotické, přičemž distribuce jader probíhá pomocí konjugované mitózy s tvorbou přezek (Prášil, 2010).

Oddělení Chytridiomycota (chytridie, vodní houby) zahrnuje 5 řádů: Chytridiales, Spizellomycetales, Monoblepharidales, Neocallimastigomycetes a nepojmenovaný řád zahrnující rod *Coenomyces*, *Homolaphlyctis* a *Thalassochytrium* (Catalogue of Life 2017); se 120 rody a cca 900 druhy.

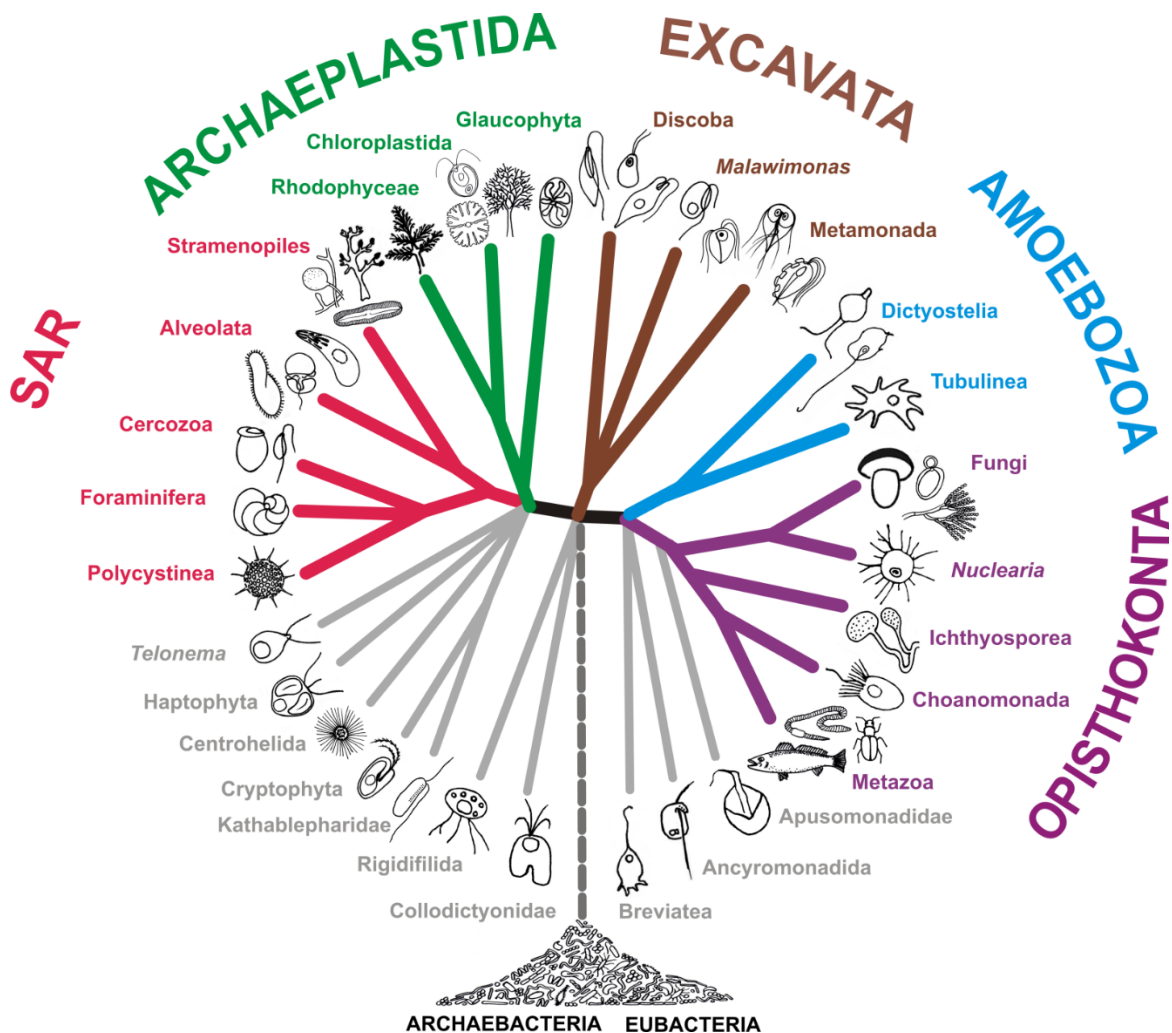
Pravděpodobně se jedná o vývojově nejpůvodnější skupinu říše Fungi. Jsou to primárně vodní organismy s hojným výskytem také v půdě. Výživa je saprotrofní nebo parazitická. Významným znakem pro vnitřní systematiku je ultrastruktura pohyblivých zoospor (Prášil, 2010).

Oddělení Blastodiomycota zahrnuje 5 čeledí a 12 rodů, které se živí saprotrofně na organických zbytcích i paraziticky (zooplankton, mořské rostliny, hmyz, i pěstované rostliny). Mají 1 bičík umístěný vzadu (stejně jako u chytridiomycetů). U některých druhů probíhá rodozměna.

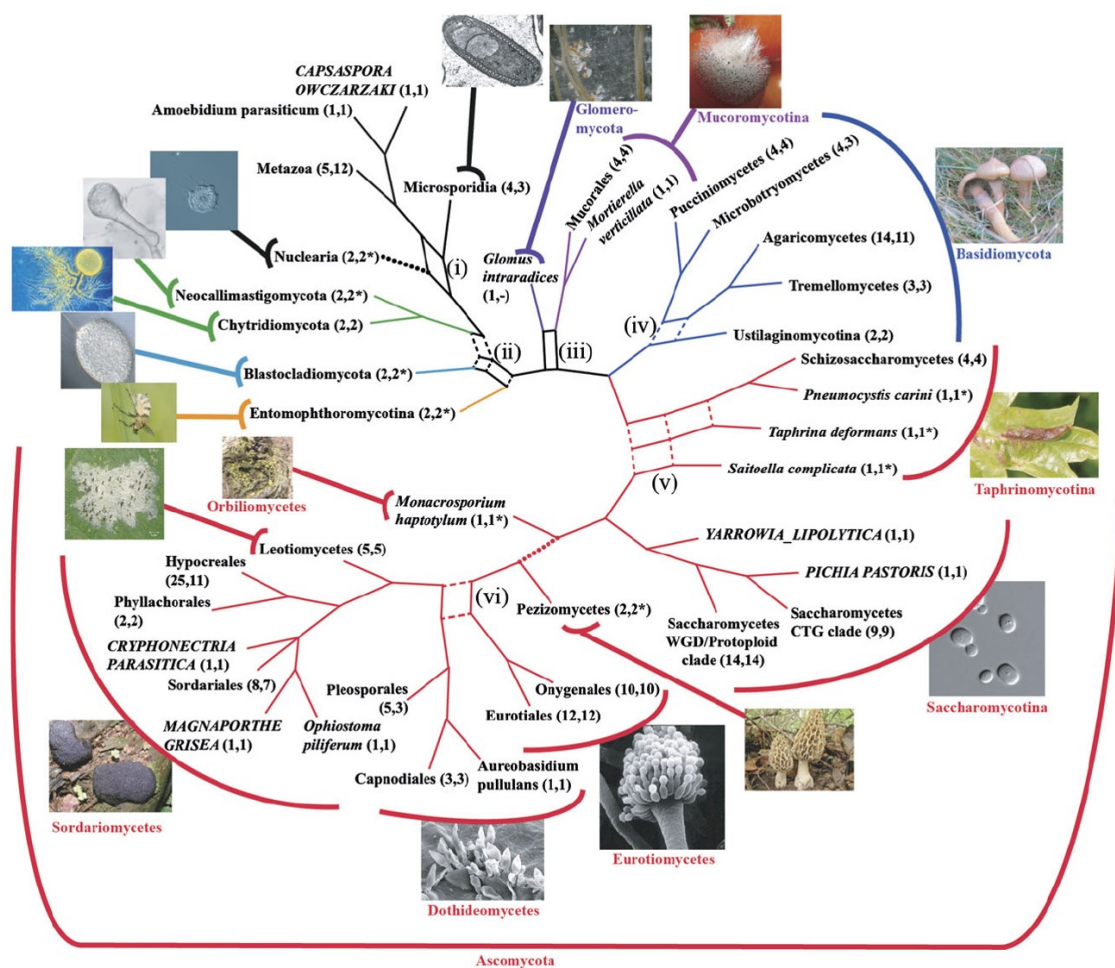
Organismy z **oddělení Neocallimastigomycota** jsou obligátně anaerobní houby žijící v trávicím traktu býložravců (saprobionti), ale i býložravých plazů. Vyznačují se zoosporami s více bičíky (avšak bez centrioly, která je známá u chytridiomycetů) a chybějícími mitochondriemi. Produkují velmi účinné enzymy, které štěpí polysacharidy v žaludku býložravců (Kubátová, 2016).

Oddělení Microsporidiomycota (mikrosporidie) zahrnuje skupinu vysoce specializovaných jednobuněčných intracelulárních parazitů živočichů (parazité hmyzu, ryb

a obratlovců včetně člověka). Od ostatních jednobuněčných zástupců říše Fungi se liší absencí mitochondrií, Golgiho aparátu, bičíků a zjednodušenou organizací buňky. Buněčná stěna jejich spor obsahuje chitin (Prášil, 2010).



Obrázek 1 - Fylogeneze eukaryot (převzato z Adl, 2012)



Obrázek 2 - Fylogeneze hub (převzato z Scazzocchio, 2014)

2.1.2 Morfologie a fyziologie mikroskopických vláknitých hub

Tělo mikroskopických hub je tvořeno vegetativní vláknitou stélkou (thallus). Základem stélky hub je duté vlákno (hyfa), pouze u nejprimitivnějších plísní se setkáváme s jednoduchou holokarpickou buňkou, která vykonává všechny životní funkce (Fassatiová, 1979). Hyfa může být opatřena přehrádkou (septum) nebo být coenocytická (bez přehrádek). Soubor hyf se nazývá mycelium. Jednotlivé buňky hyfy mohou mít jen jedno jádro (monokaryotické mycelium), dvě jádra (dikaryotické mycelium) nebo více geneticky odlišných jader (heterokaryóza) (Grégrová, 2010, s. 13 cit. podle Malíř, 2003). Hyfy se obvykle větví a splétají mycelium podhoubí. Spory (výtrusy) vznikají na sporoforech (specializovaných hyfách). Podle původu se spory dělí na pohlavní – meiospory a nepohlavní – mitospory, podle místa vzniku na exospory a endospory (Malíř, 2003, s. 22).

Spory, které vznikají bez předchozího splývání a dělení jader, se označují jako konidie a tvoří na povrchu nebo uvnitř konidioforů (Svrček, 1976). V životním cyklu hub se vyskytují dvě formy, jež se od sebe výrazně morfologicky odlišují. Pohlavní fáze (teleomorfa) se rozmnožuje pomocí askospor vznikajících po pohlavním procesu ve vřecku, která jsou uložena v plodnicích. Nepohlavní fáze (anamorfa) se rozmnožuje pomocí konidií (nepohlavně vzniklých spor), které se vyvíjejí na specializovaných buňkách (konidiogenní buňky) nesených konidioforem (Koukol, 2011).

Při kultivaci hub na pevných půdách (agarech) lze po určité době rozeznat narůstající masu houby – kolonii. Makroskopický vzhled kolonií spolu se způsobem tvorby, uspořádáním, tvarem a velikostí spor a fruktifikačních orgánů jsou základem pro jejich taxonomii a identifikaci, zvláště u vláknitých hub (např. dermatofytů, aspergilů) (Malíř, 2003).

2.1.3 Význam mikroskopických hub v životě člověka

Mikroskopické vláknité houby jsou v životním prostředí nepostradatelné. Mikromycety přispívají ke koloběhu látek a energie v přírodě a rozkládají organickou hmotu, ale také degradují potraviny, zásoby krmiv, dřevo, kůži, papír i textilie, barvy, motorový olej i další průmyslové výrobky a produkcí mykotoxinů ohrožují zdraví lidí i zvířat (Klánová, 2013). Mikroskopické vláknité houby tedy mají pro člověka pozitivní i negativní význam.

Pozitivní význam mikroskopických hub pro člověka

Člověk se naučil využívat některé vlastnosti hub v potravinářském průmyslu, lékařství a farmaceutickém průmyslu, v zemědělství a lesnictví (Malíř, 2003).

Některé vláknité mikroskopické houby jsou cíleně využívány, např. k výrobě antibiotik, výrobě potravin, získávání barviv, organických kyselin, či v biologické ochraně rostlin. Všechny vláknité mikromycety však především mají nezastupitelnou roli v přírodě, kde se podílejí na dekompozici rostlinných zbytků v půdě a opadu. Některé z nich jsou výrazně celulolytické, chitinolitické či produkují široké spektrum dalších enzymů. Některé jsou výrazněji vázané na určitý typ substrátu – např. houby entomofágní, fungikolní, koprofilní, osmoofilní (Kubátová, 2006).

Vláknité mikroskopické houby se významně uplatňují v potravinářství při výrobě fermentovaných potravin. Tradiční je výroba plísňových sýrů roquefortského a

camembertského typu a trvanlivých tepelně neopracovaných masných výrobků. Fermentací při výrobě prochází i černé čaje. V jihovýchodní Asii má dlouhou tradici výroba fermentovaných potravin především ze sóji (tempeh, sójová omáčka) a rýže (Malíř, 2003).

Negativní význam mikroskopických hub pro člověka

Vláknité mikroskopické houby se mohou podílet na vzniku mykoalergií, mykóz, onemocnění člověka nebo živočichů a mykotoxikóz, jejichž příčinou jsou toxiny produkované mikroskopickými houbami do potravin a krmiv (Malíř, 2003).

Mnohé se podílejí na kažení uskladněných produktů, ať už jsou to potraviny, různé suroviny nebo krmiva. Některé jsou navíc schopné do substrátu produkovat toxické metabolity (extrolity). Jiné způsobují hniloby pěstovaných rostlin nebo hub (Kubátová, 2006).

Mykoalergie

Mykoalergie jsou zvýšenou reakcí imunitního systému hostitele na alergeny mikroskopických vláknitých hub. Nejedná se o nedostatečnou imunitu alergika, ale naopak o jeho přehnané reakce na okolní (pro jiné neškodné) látky (Klánová, 2013, s. 21).

Výzkumy zabývající se výskytem plísní a alergického onemocnění dokazují, že nadměrné expozice plísním vedou ke vzniku alergických reakcí. Alergeny plísní se mohou uvolňovat při klíčení spor z konečků hyf.

Alergologicky významné druhy plísní (ty, které mají schopnosti vyvolat alergickou reakci) se dle sezonnosti dělí na:

1. nesezonní plísně, např.: druhy *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* a rody *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*
2. plísně sezonní ve vnějším prostředí - např.: druhy *Botrytis cinerea* a *Chrysonilia sitophila* a rody *Alternaria*, *Cladosporium* a *Fusarium*

Mykózy

Schopnost některých hub vyvolávat u člověka infekci – mykózu – patří k nejzávažnějším formám jejich působení na lidské zdraví (Malíř, 2003). Naštěstí patogenní potenciál hub je, až na výjimky (dermatofyty, dimorfní houby), velmi omezený a pouze nepatrná část (asi 0,3

‰) z odhadovaného počtu 500 tisíc druhů hub se přizpůsobila k parazitismu člověka. Navíc většina případů náleží mezi méně závažné kožní a slizniční formy.

V současnosti bylo popsáno přibližně 250 druhů hub parazitujících člověka. Za většinu případů onemocnění však odpovídají dermatofyty a několik druhů oportunních původců, především kvasinka *Candida albicans* a *Aspergillus fumigatus*.

Mykotoxikózy

Mykotoxikózy jsou onemocnění člověka vyvolané toxiny, které mikroskopické houby produkují do svého okolí.

Je známo 63 druhů hub, které vytvářejí více než 300 mykotoxinů. Mykotoxiny jsou alkoholy, ketony, aldehydy, estery a terpeny, mají vliv na imunitní systém, ale mají také mutagenní, teratogenní, neurotoxické a karcinogenní účinky. Mezi nejvíce rozšířené a zdravotně nejzávažnější patří mykotoxiny plísni rodů *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*, které produkují desítky různých mykotoxinů. I v případě, že je plíseň zlikvidována, zůstávají v substrátu mykotoxiny. Z toho důvodu je nutné potraviny kontaminované plísněmi vyhazovat (Klánová, 2013).

Tabulka 1 - Přehled lékařsky významných skupin vláknitých mikroskopických hub (Malíř, 2003)

ZYGOMYCOTA		
Mucorales	<i>Rhizomucor, Rhizopus, Mucor</i>	mukormykóza, zygomykóza
Entomophthorales	<i>Bysidiobolus, Conidiobolus</i>	subkutánní zygomykóza
ASCOMYCOTA		
Eurotiales	<i>Aspergillus</i>	aspergilóza
	<i>Penicillium</i>	
Onygenales	<i>Arthroderma, Trichophyton verrucosum, T. mentagrophytes, T. rubrum, Microsporum gypseum, M. canis, M.</i>	dermatofytóza

	<i>audouinii, Epidermophyton floccosum</i>	
	<i>Ajellomyces</i>	histoplazmóza
Pneumocystidales	<i>Pneumocystis</i>	pneumocystóza
Saccharomycetales	<i>Candida</i>	kandidóza
BASIDIOMYCOTA		
Sporidiales	Filobasidiella	kryptokokóza
	<i>Malassezia furfur</i>	pityriáza

2.1.4 Charakteristika důležitých rodů vláknitých mikroskopických hub

Rod *Penicillium*

Systematické zařazení: Ascomycota (houby vřecovýtrusné), třída Eurotiomycetes, řád Eurotiales.

Rodové označení *Penicillium* pochází od německého botanika Johanna H. F. Linka (1767–1851) pro konidiální stádium mikroskopické houby v roce 1809. Tvar rozmnožovací nepohlavní struktury dal vzniknout českému názvu, štětičkovec (Malíř, 2003).

První nález druhu rodu *Penicillium* na českém území publikoval Opiz v roce 1823 a jednalo se o *Penicillium expansum* na spadaném ovoci. Laxa v roce 1932 popsal *Penicillium nalgiovensis* na nažovském sýru, který se vyráběl v jižních Čechách (Malíř, 2003). V roce 2003 publikoval Malíř *Penicillium marneffe* jako jediný patogenní druh rodu *Penicillium*. Nicméně z účasti na vzniku lidských infekcí jsou podezřelé ještě druhy *Penicillium expansum*, *Penicillium islandicum* a druh *Penicillium veridicatum* produkuje ochratoxin, způsobující ochratoxikózy (Pražáková, 2008, cit. podle Trusková, 2007 a Votava, 2003).

Rod *Penicillium* v roce 2017 obsahuje 413 druhů (Catalogue of Life 2017).

Tabulka 2 - Základní taxonomické schéma rodu *Penicillium* (Malíř, 2003)

Říše	Oddělení	Řád	Čeď	Anamorfní rod	Podrod
------	----------	-----	-----	---------------	--------

Fungi (houby)	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergilloides</i> <i>Penicillium</i> <i>Biverticillium</i> <i>Furcatum</i>
------------------	------------	------------	----------------	--------------------	---

Příslušníci rodu *Penicillium* patří k nejrozšířenějším vláknitým vláknitých mikroskopických hub teplého a mírného klimatu (Malíř, 2003). *Penicillia* se vyskytují v půdě, ve vodě, na povrchu živých i odumřelých organismů, jejich spory jsou v ovzduší a ulpívají na nejrůznějších substrátech, na nichž dovedou při minimálních živných požadavcích vyklíčit (Fassatiová, 1979). Jejich spory jsou prakticky všudypřítomné, a proto jsou tyto vláknité mikroskopické houby také velmi častými kontaminanty potravin, životního a pracovního prostředí člověka. Některé kmeny se používají jako startovací kultury pro výrobu plísňových sýrů a fermentovaných masných výrobků s plísňovým pokrývkem v Evropě (Malíř, 2003).

Patří mezi houby tolerující nižší vodní aktivitu substrátu, a mohou tak snadno poškozovat i archiválie (Šimůnek, 2015, s. 42).

Morfologická charakteristika:

Druhy rodu *Penicillium* (štětičkovec) tvoří většinou porosty v různých odstínech zelené a jsou schopny produkovat do substrátu různé pigmenty. Jejich kolonie mohou mít sametový, lanózní či svazčitý povrh. Konidiofory mají kratší či delší stopku, hladkou či bradavčitou, na konci většinou rozvětvenou. Typy větvení (případně jeho absence) patří mezi významné mikromorfologické znaky. Na vrcholu konidioforů vyrůstají ve svazcích fialidy produkující konidie v řetízích. Konidie jsou jednobuněčné, na povrchu hladké, bradavčité či ostrité, snadno se šíří ovzduším. Jen menší počet druhů rodu *Penicillium* je schopen tvořit plodnice (kleistothecia), často až po tepelné indukci; některé druhy tvoří sklerocia (Šimůnek, 2015, s. 42).

S rodem *Penicillium* jsou spojovány teleomorfní rody *Eupenicillium*, *Talaromyces* aj. Podle současných fylogenetických studií (Šimůnek, 2015 cit. podle Samson a Houbraken s.) a v souladu s novým nomenklatorickým kódem jsou nyní druhy rodu *Eupenicillium* řazeny do rodu *Penicillium*; naopak druhy rodu *Penicillium* podrodu *Biverticillium* byly přerazeny do rodu *Talaromyces* (Šimůnek, 2015 s.).

Při určování druhů rodu *Penicillium* sledujeme makrohabitus na diagnostických půdách (CYA – Czapek agar s kvasničným extraktem a MEA – agar se sladovým extraktem), kde vytváří dobře vyvinuté vegetativní mycelium (Malíř, 2003).

Určujeme-li druhy podle makroskopického vzhledu kolonie na agarové půdě je podle Fassatiové (1979) pořadí důležitosti jednotlivých znaků kolonie následující:

1. struktura
2. velikost
3. zbarvení
4. paprscité rýhování
5. soustředná vrstevnatost kruhovitých zón
6. okrajový sterilní lem
7. výpotek v podobě různě zbarvených krůpějí na povrchu kolonie
8. zbarvení spodní strany a s ní související pigment prolínající do okolního agaru

Rozlišování jednotlivých druhů je dosti obtížné (Fassatiová, 1979).

Druhy, pravděpodobně se vyskytující na pozorovaném materiálu praktických úloh této práce:

- *Penicillium digitatum* (Kubátová, 2009, Pitt, 2009)

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

Teplotní nároky: 5–37 °C (při 37 °C již neroste)

Makromorfologická charakteristika: Velmi rychle rostoucí, sametové, světle šedozelené.

Význam a výskyt: Běžný druh, velmi častý na kazících se citronech, pomerančích či mandarinkách, případně i na jiných potravinách. Způsobuje hnilobu citrusových plodů. Produkuje tryptoquivaliny.



Obrázek 3 - *Penicillium digitatum* CCF 2676 (zdroj: archiv autora)

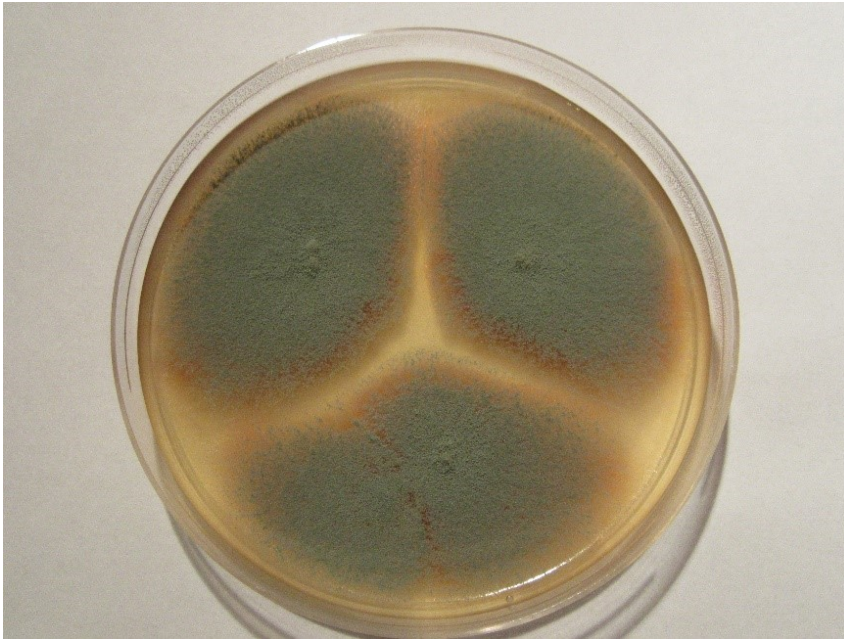
- *Penicillium italicum* (Fassatiová, 1979; Kubátová, 2009; Pitt, 2009)

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

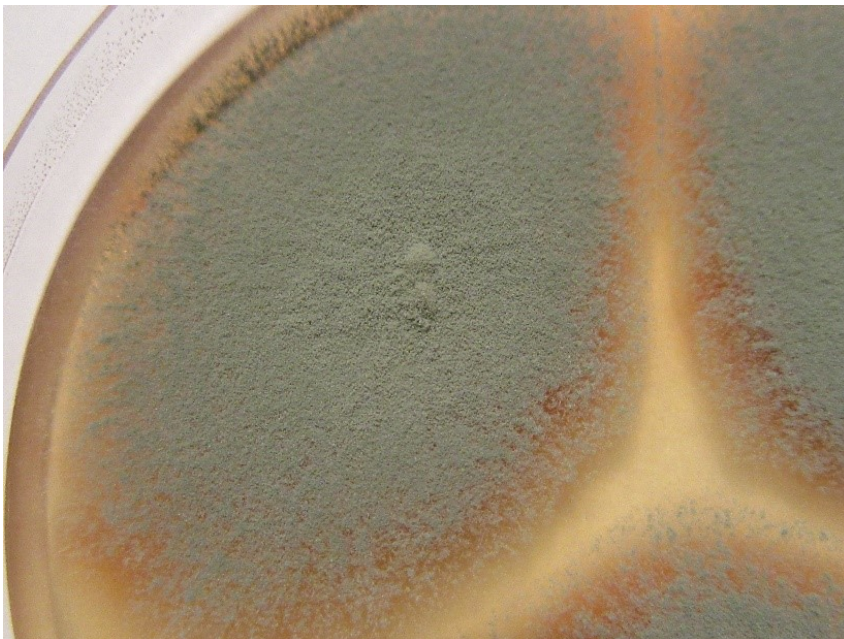
Teplotní nároky: 5–37 °C (při 37 °C již neroste)

Makromorfologická charakteristika: Poměrně rychle rostoucí, sametové až zrnité, modrozelené nebo šedozelené, s bílým okrajovým myceliem. Výpotek řídký, bezbarvý. Způsobuje modrou hnilobu citrusů.

Výskyt a význam: Poměrně hojný druh, častý na rozmanitých kazících se potravinách, zvláště na citrusových plodech. Produkuje kyselinu italikovou a verrucolon.



Obrázek 4 - *Penicillium italicum* CCF 5119 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 5 - *Penicillium italicum* CCF 5119 (zdroj: archiv autora)

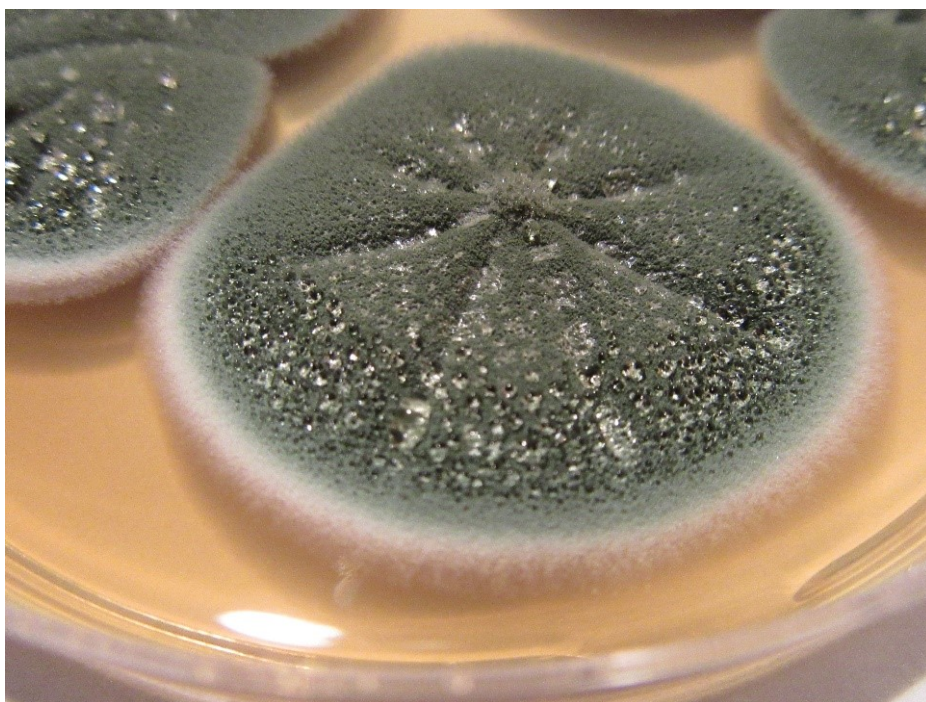
- *Penicillium chrysogenum* (Fassatiová, 1979; Pitt, 2009)

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

Teplotní nároky: 4–37 °C

Makromorfologická charakteristika: Kolonie dorůstají v průměru do 5 až 6 cm, mají sametový vzhled, jsou žlutozelené, šedozeleň nebo modrozelené, zbrázděny paprscitými rýhami na povrchu kolonie i na její spodní straně. Někdy bývá střed kolonie světle hnědý nebo žlutavý až bílý. Okrajový lem je bílý, 1 až 2 mm široký. Často se tvoří žlutý až hnědožlutý výpotek v bohatých krůpějích, které splývají ve větší kapky. Spodní strana je nejčastěji žlutá, hnědožlutá a žlutý pigment často prolíná do okolního agaru.

Výskyt a význam: Vyskytuje se hojně v půdě, na různém organickém substrátu, zvláště rostlinného původu (rýže, pšenice, ječmen, kukuřice, mouka), dále v šunkách, v sýrech, v sušených rybách, ořechách a koření, ale také v kosmetických přípravcích. Produkuje penicilin, kyselinu glukonovou a manitol.



Obrázek 6 - *Penicillium chrysogenum* CCF 5186 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 7 - *Penicillium chrysogenum* CCF 5186 (zdroj: archiv autora)

- *Penicillium nalgiovense* (Fassatiová, 1979; Pitt, 2009)

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

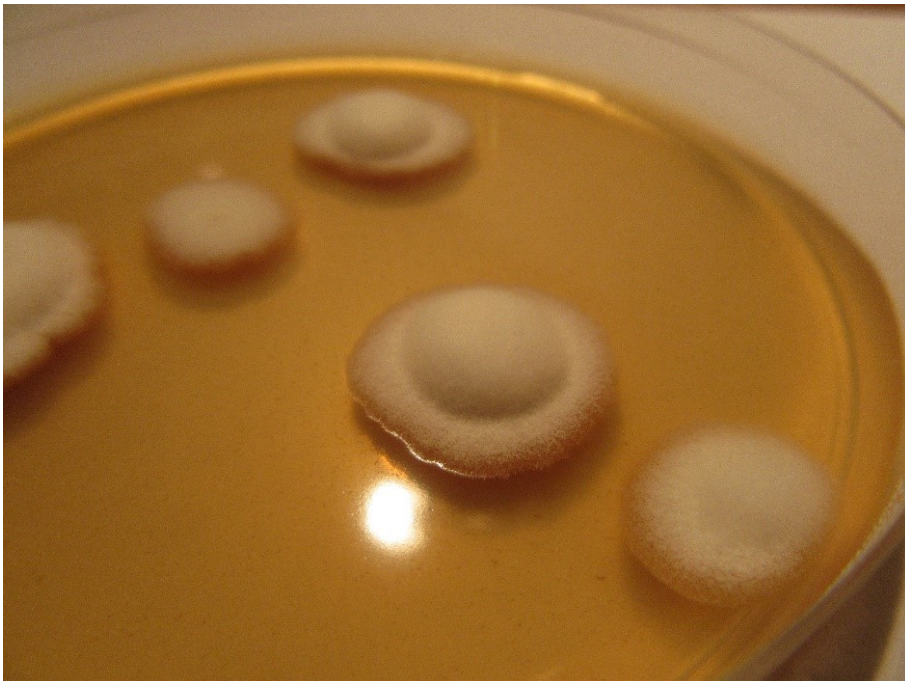
Teplotní nároky: 5 až 37 °C, optimální teplota 25 °C

Makromorfologická charakteristika: Kolonie na Czapkově agaru dosahují průměru 3 až 3,5 cm, jsou vlnaté nebo vločkovité, s porostem vysokým 2 až 3 mm, zpočátku bílé, pomalu se vyvíjející sporulace zbarvuje porost žlutozeleně. Vegetativní mycelium někdy růžově až červenavě zbarvené, lem kolonie zůstává bílý. Někdy je na povrchu produkován drobný výpotek oranžově nebo červenavě zbarvený. Spodní strana oranžově červená až hnědočervená, pigment proniká i do okolního agaru.

Výskyt a význam: Hlavní ekologickou nikou druhu *Penicillium nalgiovense* je startovací kultura masných produktů v Evropě. Dále se vyskytuje v sýrech a ořechách. *Penicillium nalgiovense* je domestikovaný druh *Penicillium chrysogenum*.



Obrázek 8 - *Penicillium nalgiovense* CCF 4101 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 9 - *Penicillium nalgiovense* CCF 4101 (zdroj: archiv autora)

- *Penicillium roqueforti*³

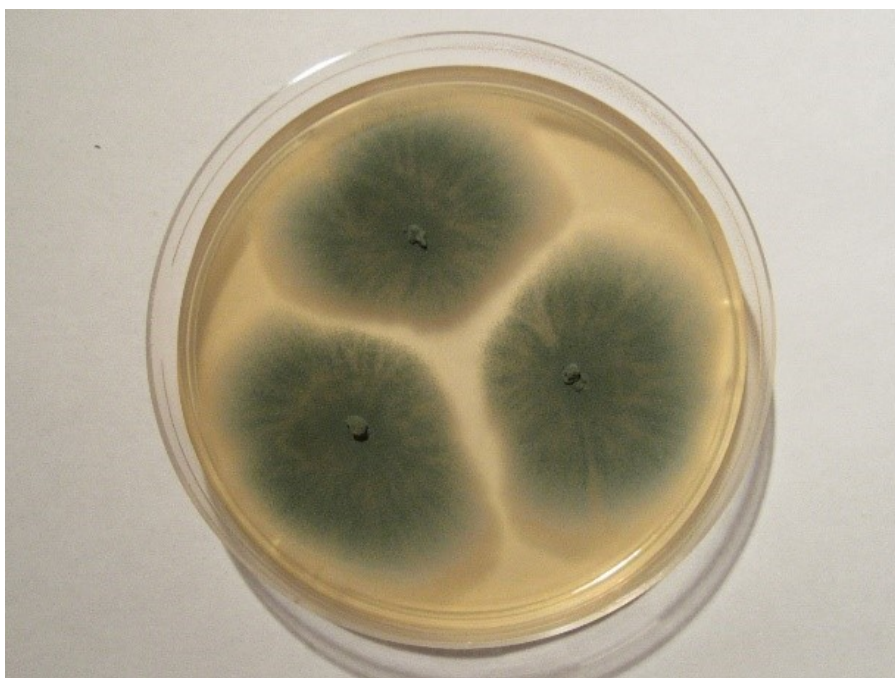
³ Viz <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/pen-roq.htm>

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

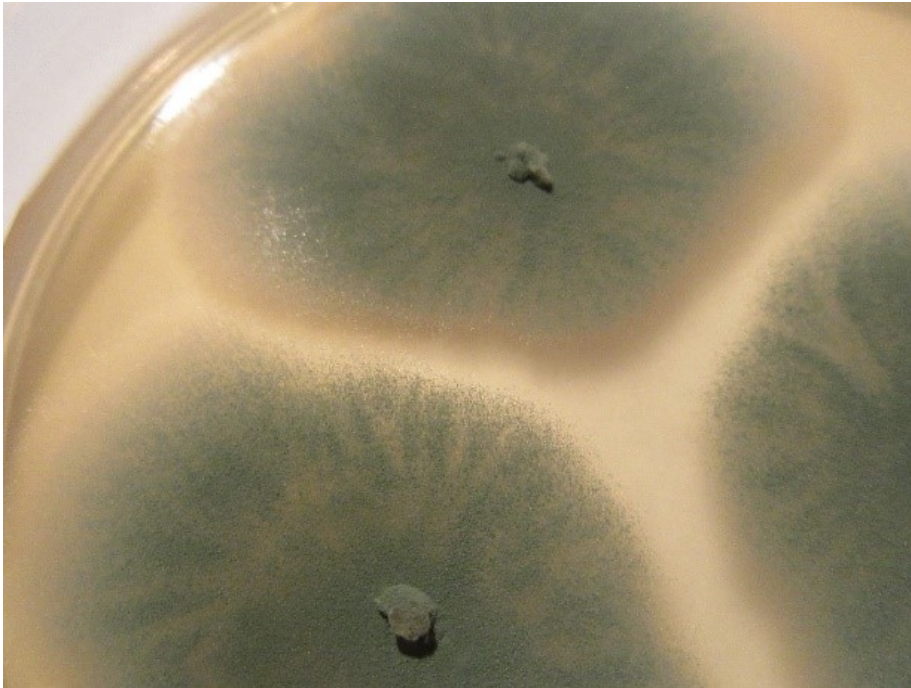
Teplotní nároky: 4–35 °C

Makromorfologická charakteristika: Kolonie rychle rostoucí, na CYA po 7 dnech při 25 °C dosahující cca 40-70 mm v průměru, sametové, většinou bez rýh, tmavozelené, často s bílým trásným okrajem. Spodní strana olivově zelená až tmavě černozeleňá.

Výskyt a význam: Používá se pro výrobu sýrů typu roquefort, může se však vyskytnout i jako kontaminanta jiných potravin či krmiv (např. siláží). V čisté kultuře je schopen produkovat PR toxin, avšak na sýrech je jeho produkce velmi slabá a látka se rozkládá.



Obrázek 10 - *Penicillium roqueforti* CCF 3838 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 11 - *Penicillium roqueforti* CCF 3838 (zdroj: archiv autora)

- *Penicillium camemberti* (Gravesen, 1994)

Domestikovaná forma *Penicillium commune*, původem z města Camembert ve Francii.

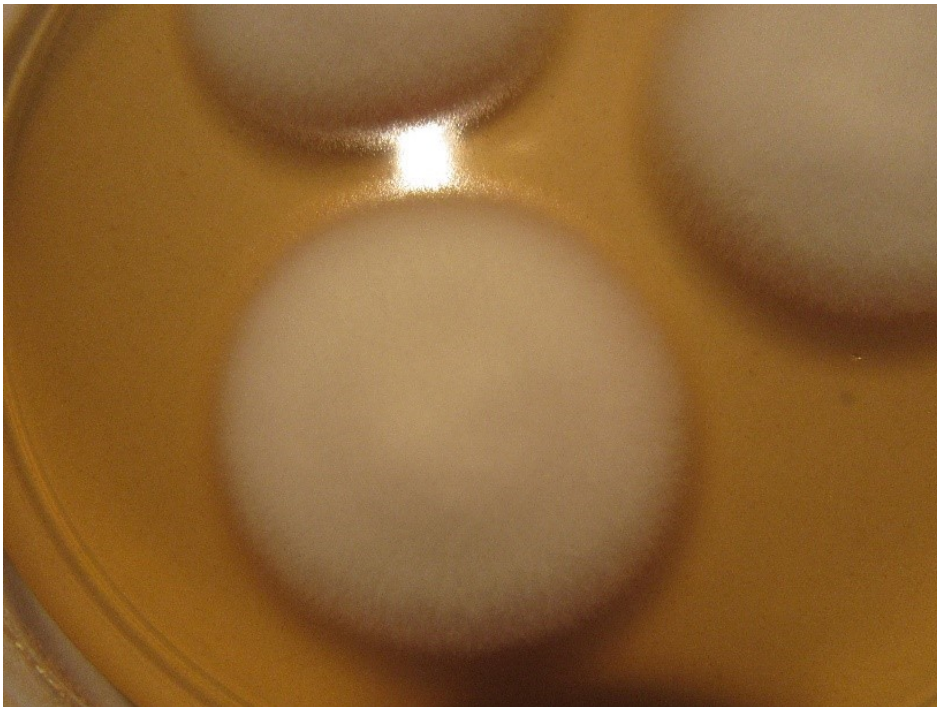
Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Eurotiales, čeleď Trichocomaceae

Teplotní nároky: Optimální teplota pro růst je 18 až 28 °C

Makromorfologická charakteristika: Kolonie jsou spíše pomalu rostoucí, 2-3,5 cm za 7 dní, bílé, zvýšené se špatnou sporulací. Mycelium se zdá být bílé, ale věkem se může změnit na žluté nebo růžové. Výskyt a význam: *Penicillium camemberti* se nachází pouze v bílých fermentovaných měkkých sýrech nebo na tvrdých sýrech, které byly touto plísní kontaminovány v obchodě. Jedná se o divoký typ, *Penicillium commune*, nacházející se na dřevě, ve vzduch uvnitř budov a také jaké kontaminant na sýru, mase a ořechách. Roste dobře na agaru s kreatinem a bromkresolovým purpurem. *Penicillium camemberti* se užívá k výrobě bílých sýrů, Brie, Camembert a dalších.



Obrázek 12 - Penicillium camemberti CCF 1899 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 13 - Penicillium camemberti CCF 1899 (zdroj: archiv autora)

Rod *Alternaria*⁴

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, třída Dothideomycetes, řád Pleosporales

Teplotní nároky: Optimum okolo 25-28 °C, minimum -5, maximum 36 °C.

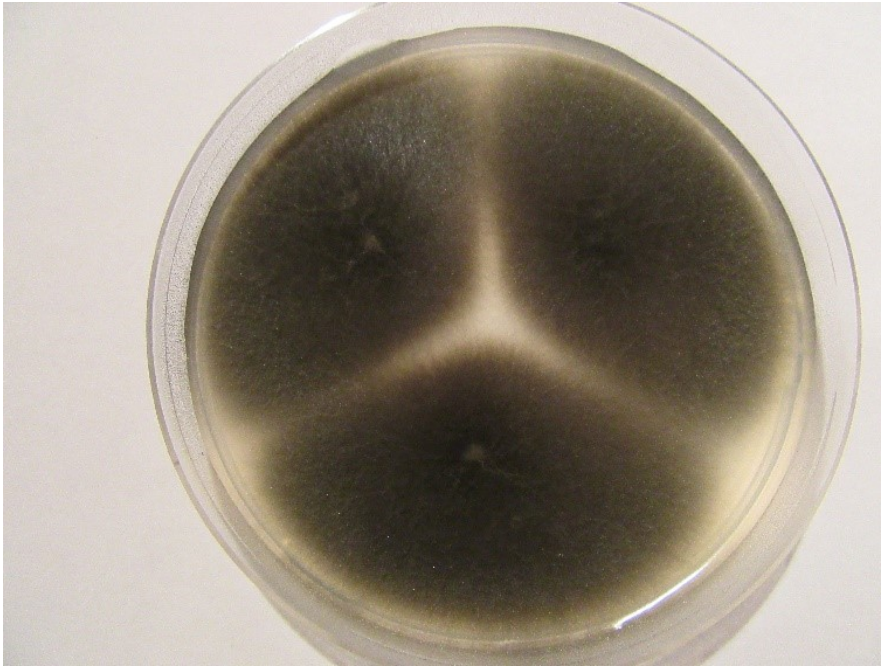
Makromorfologická charakteristika: Kolonie sametové až jemně vlnaté, tmavě černoolivově zbarvené, u některých kmenů zpočátku šedobílé. Spodní strana tmavě šedá až černá. Sporulaci podporuje vystavení kolonií záření blízkému UV. Tmavě pigmentované zdřovité konidie (obr.13).

Výskyt a význam: Rozšířen po celém světě, vysoká schopnost adaptace na dané podmínky prostředí (Prokinová, 2004). Hojně rozšířen na rostlinných zbytcích (zvláště na listech), v půdě i na živých rostlinách (Fassatiová, 1979). Druhy tohoto rodu se významnou měrou podílejí na dekompozičních procesech a rozkládají především odumřelý rostlinný materiál. Především saprotrofní a fytopatogenní druhy (Šimůnek, 2015).

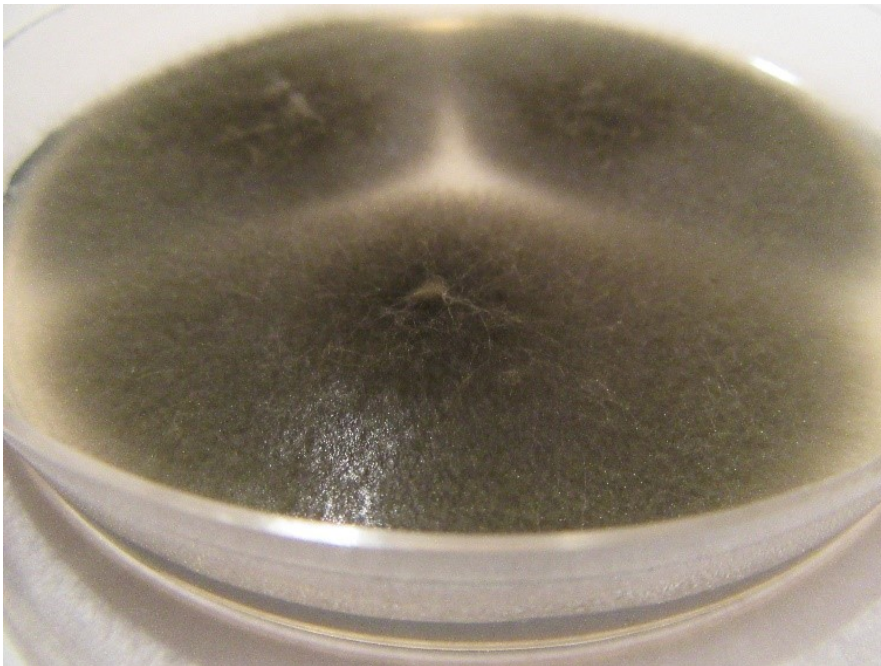


Obrázek 14 - *Alternaria alternata* CCF 2672 - Zřovité tmavě pigmentované konidie (převzato z *Miniatlas mikroorganismů* [http://http://old.vscht.cz](http://old.vscht.cz))

⁴ Viz <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/alt.htm>



Obrázek 15 - *Alternaria alternata* CCF 2670 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 16 - *Alternaria alternata* CCF 2670 (zdroj: archiv autora)

Rod *Mucor* (Pitt, 2009)

Taxonomické zařazení: oddělení Zygomycota, řád Mucorales

Některé druhy jsou schopny růst i za anaerobních podmínek.

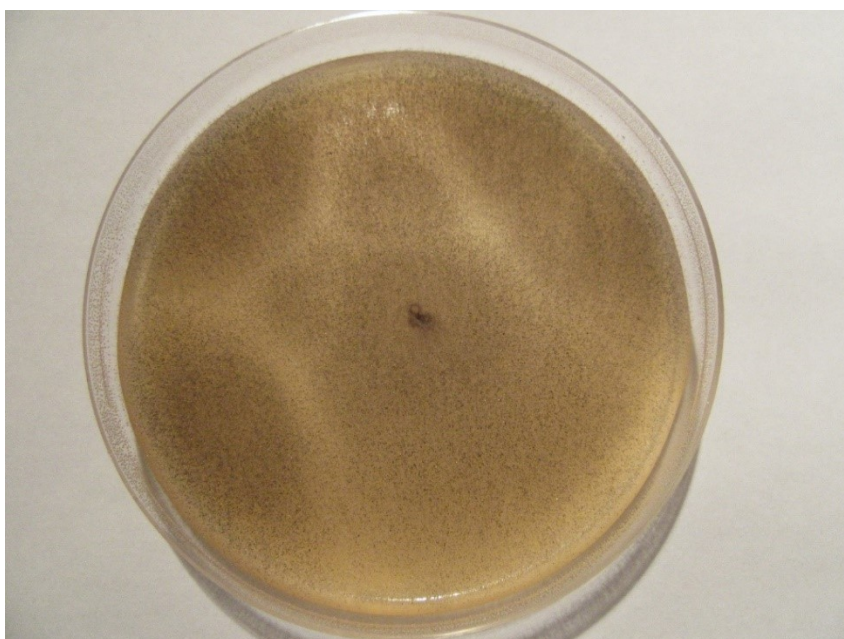
Výskyt a význam: půda, obiloviny, rýže (*black rice*), jablečný džus, sójové boby, lískové ořechy, vlhká stanoviště, produkce mykotoxinů není doložena.

Druh *Mucor plumbeus* (Kubátová, 2006)

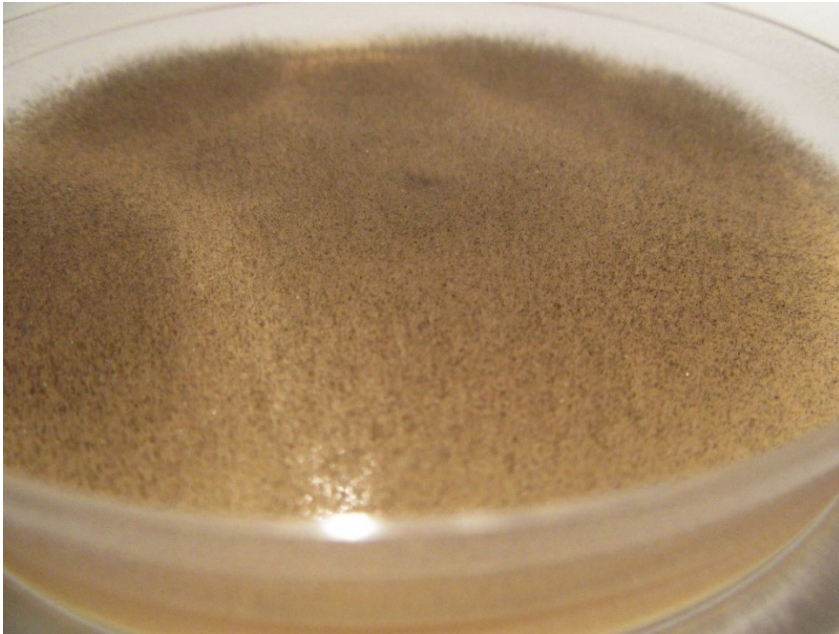
Teplotní nároky: Roste a sporuluje při 5-20°C. Roste, ale slabě sporuluje při 20-30 °C, při 37 °C neroste.

Makromorfologická charakteristika: Kolonie světle šedé až tmavošedé.

Výskyt a význam: Hojně nalézán v půdě, ve vzduchu a na mnoha jiných substrátech.



Obrázek 17 - *Mucor plumbeus* CCF 2626 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 18 - *Mucor plumbeus* CCF 2626 (zdroj: archiv autora)

Rod *Fusarium* (česky srpatka)

Taxonomické zařazení: oddělení Ascomycota, řád Hypocreales

Teplotní nároky: Optimum 25 °C, minimum 0 °C, maximum 31 °C.

Makromorfologická charakteristika: Vzdušné mycelium je řídké, nepravidelné, bílé, šedé nebo barevné (žluté, červené, růžové, fialové) tvoří dvou a vícebuněčné srpkovité makrokonidie.

Výskyt a význam: Vyskytuje se na substrátech rostlinného původu (krmiva, obiloviny, ořechy), v tucích, v másle. Produkuje významné mykotoxiny a mnohé druhy jsou fytopatogenní (hniloby rostlin), příležitostně patogenní druhy (mykózy u člověka) (Kalhotka, 2013).



Obrázek 19 - *Fusarium solani* CCF 2967 (zdroj: archiv autora)



Obrázek 20 - *Fusarium solani* CCF 2967 (zdroj: archiv autora)

Rod *Rhizopus*⁵

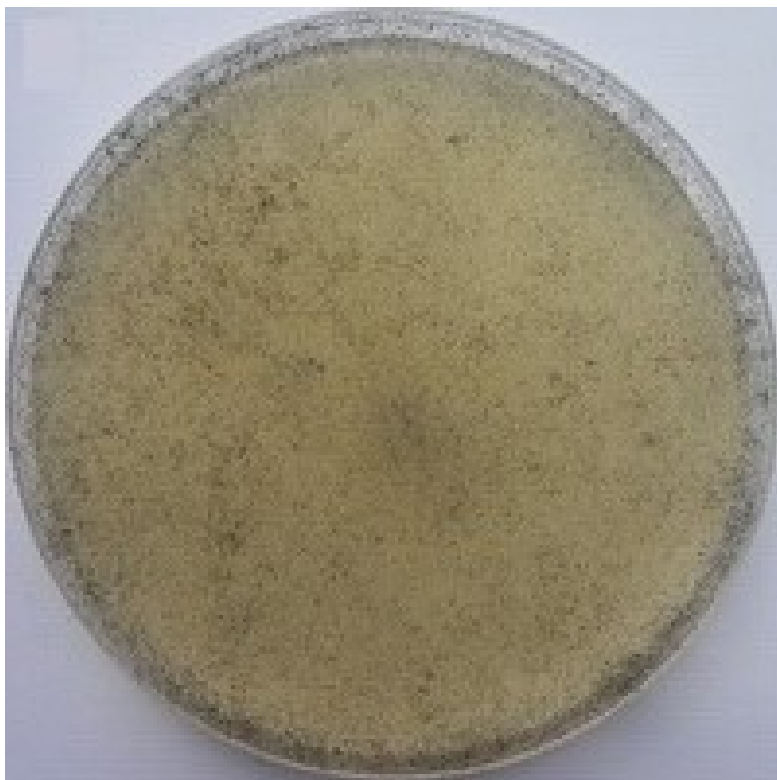
Taxonomické zařazení: pododdělení Mucoromycotina, řád Mucorales

⁵ Viz <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/rhi.htm>

Teplotní nároky: 15-30 °C, od 33 °C výše neroste

Makromorfologická charakteristika: Kolonie jsou velmi rychle rostoucí, zprvu bílé, později s černými tečkami sporangií, za 2 dny zcela vyplňují Petriho misku (obr. 20).

Výskyt a význam: Vyskytuje se v půdě, na tlejícím rostlinném materiálu; často způsobuje hnilobu skladovaného ovoce.



Obrázek 21 - *Rhizopus* Kolonie na MEA po 6 dnech při 25 °C (Kubátová, Atlas zygomycetů, 2009)

Rod *Mortierella* (Kubátová, 2016)

Zařazení: Mortierellomycotina, čeleď Mortierellaceae

Teplotní nároky: 20 až 37 °C

Makromorfologická charakteristika: Bílé vzdušné kolonie, které vykazují zonátní růžicovitý růst a česnekovou vůni (obr. 21).

Výskyt a význam: saprotrofové, půda, opad, dřevo, trus



Obrázek 22 - Kolonie druhu *Mortiella indohii* rostoucí 5 dní na bramborodextrózovém agaru při teplotě 28 °C (Yadav, 2015)

Rod *Aspergillus* (českým názvem kropidlák)

Systematické zařazení: oddělení Ascomycota, třída Eurotiomycetes, řád Eurotiales

Teplotní nároky: V přírodě se vyskytuje hlavně v teplejších oblastech světa, protože řada z nich roste při vyšší teplotě (např. 37 °C).

Morfologická charakteristika: různé zbarvení kolonií (bílé, šedé, žluté, okrové, světle či tmavě zelené, hnědé, černé) a produkce různých pigmentů do substrátu. Konidiofory se stopkou, hladkou nebo bradavčitou, rozšířenou v koncový měchýřek, na němž vyrůstají podpůrné buňky (metuly) a na nich konidiogenní buňky (falidy) produkující řetězky konidií (Šimůnek, 2009).

Výskyt a význam: Zástupci rodu *Aspergillus* produkují významné mykotoxiny (aflatoxiny, ochratoxin apod.). Jedná se o patogenní druh způsobující oportunní mykózy a alergie. V potravinářství se využívá k výrobě organických kyselin a k přípravě východoasijských specialit (Kubátová, 2016).

2.2 Likvidace vláknitých mikroskopických hub

Likvidace vláknitých mikroskopických hub v prostředí základních škol je obtížná a nejlepší možnou variantou je využít služeb specializovaných pracovišť, která disponují autokláve m a je možné zaslat tam dobře zabalený použitý materiál poštou. Použitý materiál nestačí umýt pod tekoucí vodou a neměl by být vyhazován do běžného odpadu.

2.2.1 Mechanické prostředky

Šilhánková (2002, s. 315) uvádí, že k mechanickým prostředkům boje proti vláknitým mikroskopickým houbám patří odstraňování prachu, nečistot a zbytků organického materiálu, aby se nevytvořila ložiska, v nichž by se mikroorganismy silně pomnožovaly, a odtud distribuovaly do ostatních míst. Mechanické zákroky se kombinují s fyzikálními a chemickými prostředky; při omývání horkou vodou se používají detergenční prostředky (tenzidy), které mají vysokou smáčivost, emulgují odstraňované zbytky a ničí přítomné mikroorganismy.

2.2.2 Dekontaminace

Malíř (2003) uvádí, že dekontaminace zahrnuje dezinfekci a sterilizaci, jejichž cílem je ničení a odstraňování mikroorganismů.

Dezinfekci lze definovat jako ničení či zneškodňování patogenních mikroorganismů na neživých předmětech, ve vnějším prostředí (ve vodě, ve vzduchu atd.) a v infekčním materiálu. Dezinfekci lze provádět ochrannou (profylaktická – preventivní) v místech, kde se dá předpokládat přítomnost původců nálezů nebo ohniskovou ve vztahu ke konkrétnímu známému ohnisku nálezů. Pro dezinfekci využíváme různé metody (fyzikální metody dezinfekce, fyzikálně-chemické metody dezinfekce a chemické metody dezinfekce).

Fyzikální metody dezinfekce jsou založeny na využití vhodných fyzikálních faktorů schopných inaktivovat, či usmrtit patogenní mikroorganismy varem za atmosférického tlaku po dobu 30 minut, varem v tlakových nádobách nasycenou či přehřátou vodní párou po dobu 20 minut, mycímí, pracímí a parnímí přístroji při teplotě vyšší než 90 °C, pasterizací, UV zářením, přímo ionizujícím zářením a dalšími metodami (ultrazvuk, filtrace, žihání, spalování atd.). Z nichž ve školách lze využít zpravidla jen metodu žihání (Malíř, 2003).

Chemické metody dezinfekce jsou v praxi užívány nejčastěji. K usmrcení a zastavení růstu využívají chemicky aktivní látky, které patří mezi biocidy. K biocidům jsou řazeny i fungicidy, které se užívají na likvidaci houbových organismů, organického i anorganického původu. Z nichž většinu nelze použít na základní škole, kromě alkoholů, které se používají jako dezinfekční přípravky zejména ve zdravotnictví (Malíř, 2003).

Sterilizace

Sterilizace je proces, který usmrcuje všechny životaschopné mikroorganismy (vegetativní formy bakterií, bakteriální spory, vláknité mikroskopické houby/kvasinky, kvasinkové mikroskopické houby a vláknité mikroskopické houby a spory mikroskopických hub) a inaktivuje všechny viry (Malíř, 2003, s. 308). Sterilizaci dělíme na fyzikální a chemickou.

Fyzikální sterilizace:

- horkovzdušná sterilizace
- parní sterilizace
- radiační sterilizace

Chemická sterilizace:

- sterilizace etylénoxidem
- sterilizace formaldehydem

2.2.3 Stanovení a identifikace vláknitých mikroskopických hub

Metody stanovení a identifikace vláknitých mikroskopických hub v mykologii potravin se dělí na metody kvantitativní a kvalitativní (Malíř, 2003).

Z kvantitativních metod je v této diplomové práci využita metoda stanovení termorezistentních vláknitých mikroskopických hub. Principem této metody je tepelné ošetření potravinových surovin a produktů z nich (např. ovoce, syrové mléko) kontaminovaných askosporami termorezistentních vláknitých mikroskopických hub určitou teplotou po určitou dobu a pak se kultivují na živných půdách (Malíř, 2003). Spory některých termorezistentních mikroskopických hub vydrží i krátkodobé působení teploty kolem 100 °C, tj. spory v léčivých bylinách vydrží přípravu čaje a proniknou vitální do konečného výrobku. Záleží na objemu vody, kterou jsou byliny zalévány. Při zalití vroucí vodou

v množství kolem 250 ml přežívá menší množství spor oproti opracování oplachu při teplotě 80 °C, při zalití vroucí vodou v objemu 100 ml přežívá spor naopak více (Ostrý, 2014).

Kolonie vláknitých mikroskopických hub, které rostou specifickým způsobem na diagnostických živných půdách, jsou hodnoceny podle svých makromorfologických znaků.

V posledních letech se rozvíjí k identifikaci vláknitých mikroskopických hub metody molekulárně biologické, chemické a biochemické. V prostředí školy se z kvalitativních metod stanovení vláknitých mikroskopických hub zaměříme na identifikaci podle makromorfologických znaků (makrohabitu). Tato identifikace se provádí na diagnostických živných půdách (viz kapitola živná média) podle makromorfologických znaků: struktury kolonie, její velikosti, zbarvení kolonie, paprscitého rýhování, soustředné vrstevnatosti kruhových zón, okrajového sterilního lemu, výpotku na povrchu kolonií v podobě různě zbarvených krůpějí, zbarvení spodní strany kolonie, pigmentová proliferace do okolního agaru (Malíř, 2003).

Identifikace vláknitých hub (převzato z Laichmanová, 2014)

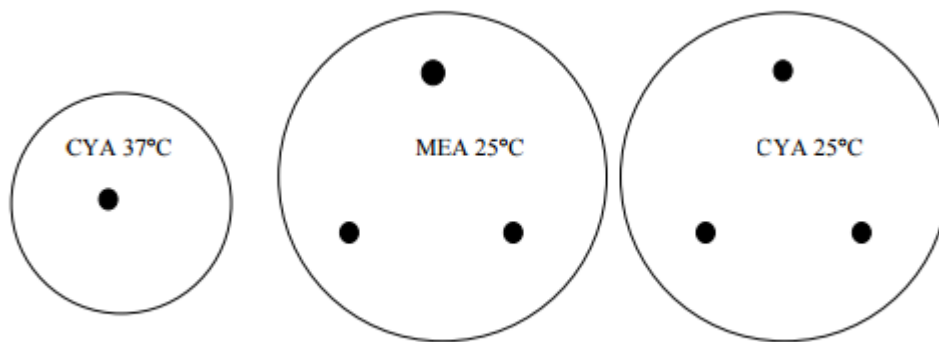
Materiál: Petriho misky s kulturou

Pomůcky: preparační jehla, Petriho miska s CYA (*Czapek Yeast Autolysate agar*), MEA (*Malt Extract Autolysate agar*), termostat

Pracovní postup:

1. Povrch příslušných médií inokulujeme konidiami vláknité houby formou vpichu na třech místech tvořících vrcholy rovnoramenného trojúhelníka (body mají být vzdáleny asi 3 cm od kraje misky). Aby se spory při očkování nerozptýlily po celé půdě, očkujeme misky zespodu, otočené dnem vzhůru.
2. Kultivujeme 7 dnů při teplotě 25 a 37 °C.

Schéma inokulace:



CYA 37 °C

MEA 25 °C

CYA 25 °C

Hodnocení: po 7 dnech kultivace provedeme vyhodnocení růstu vláknitých hub.

Sledujeme:

- znaky makroskopické
- rychlost růstu
- charakter povrchu kolonií
- barvu kolonie
- barvu spodní strany kolonie
- přítomnost pigmentu difundujícího do agaru
- přítomnost a barvu výpotku (exudát)
- přítomnost zvláštních útvarů viditelných okem (plodničky, sklerocia, aj.)
- charakteristický zápach

V hodnocení vždy uvedeme stáří kultury a použitou kultivační půdu, neboť různé půdy mnohdy modifikují a značně mění charakteristické znaky (jak makroskopické, tak mikroskopické). Čisté kultury připravujeme zpravidla na půdě, na které je popis rodu autorem uveden.

2.3 Kultivace vláknitých mikroskopických hub

2.3.1 Živné půdy

Pro kultivaci mikroskopických hub lze využívat různé typy živných médií. V zásadě je lze rozdělit na tekutá a pevná živná prostředí. Tekuté živné prostředí (živný bujón) se používá

pro množení mikroskopických hub a uchovává se ve zkumavkách. Mezi pevná živná prostředí řadíme hluboký agar, který rozléváme do zkumavek, v nichž tuhne při svislé poloze zkumavky a používají se pro kultivaci organismů vyžadujících méně kyslíku. Pro zhodnocení čistoty kultury, izolaci čistých kultur a počítání mikroorganismů se využívá pevné médium na Petriho misce (agar, plotna). Živná média se sterilizují autoklávováním ve větším objemu nebo přímo ve zkumavkách. Složení živných půd musí vyhovovat požadavkům daného organismu na výživu, pH, osmotické podmínky, musí obsahovat zdroj energie, vitamíny a aminokyseliny. (Frébortová, 2017). Živné půdy mohou být přirozené, polosyntetické a syntetické. Fassatiová (1979) uvádí příklady substrátů vhodných pro kultivaci saprofytických a vláknitých hub.

1. Přirozené substráty:

Sterilované a vodou navlhčené řízky brambor, mrkve, řepy, kousky ovoce, rýže, chleby, plody různého druhu, lodyhy bylin, kousky dřeva, kůry, sušený hmyz a další.

2. Půdy s přirozených substrátů s agarem:

Senný agar: 50 g nastříhaného sena vaříme půl hodiny v 1000 ml vody, pak se roztok prefiltruje a doplní na 1 liter, přidá se 20 g agaru a sterilizuje se.

Švestkový agar: 2,5 kg vypeckovaných švestek vaříme dvě hodiny v 5 litrech vody. Zfiltrujeme přes gázu. Získaný extrakt se použije k další přípravě.

3. Syntetické živné půdy:

Czapek-Dox Agar, glukosový agar, půda s kvasničným extraktem (vybrané syntetické živné půdy jsou uvedeny níže jako součást vybraných živných půd vhodných pro kultivaci hub v laboratorních úlohách této práce).

Vybrané živné půdy vhodné pro kultivaci hub v laboratorních úlohách této diplomové práce jsou popsány v následujícím přehledu spolu s návodem na jejich přípravu (Malíř, 2003).

- Bramboro-glukózový agar (Potato Dextose Agar – PDA)

Složení	Množství
Nakrájené brambory (bez slupky)	200 g

Glukóza	15 g
Agar	20 g
Destilovaná nebo deionizovaná voda	1 000 ml

Postup přípravy: Uvaříme brambory až změknou. Přidáme glukózu, agar a zahřejeme k varu. Směs přefiltrujeme přes gázu, doplníme vodou na 1 000 ml a sterilizujeme v autoklávu. Vysterilizované živné médium rozléváme do Petriho misek o průměru cca do 5 mm. Misku uzavřeme víčkem a necháme ve vodorovné poloze ztuhnout. Pro misku o průměru 10 cm potřebujeme 15–20 ml půdy. Přípravu provádíme podle zásad aseptické práce.

Pozn. Vhodný pro identifikaci zástupců rodu *Byssochlamys*, *Talaromyces*, *Neosartorya* a *Penicillium*.

- Czapek-Dox Agar (CDA)

Czapek – Doxův agar je vysušený granulát složený z těchto komponent:

Složení	Množství
Sacharóza	30 g
NaNO ₃	3 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,5 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,01 g
Agar	20 g
Destilovaná nebo deionizovaná voda	1 000 ml

Postup přípravy: 55 g Czapek – Doxova agaru se suspenduje v 1000 ml destilované vody, pro zvýšení tuhosti se přidává 10 g agarové řasy na 1000 ml vody (Pražáková, 2008, s.55). Sterilizujeme v autoklávu. Vysterilizované živné médium rozléváme do Petriho misek o průměru cca do 5 mm. Misku uzavřeme víčkem a necháme ve vodorovné poloze ztuhnout. Pro misku o průměru 10 cm potřebujeme 15–20 ml půdy. Přípravu provádíme podle zásad aseptické práce.

Pozn. Vhodný pro identifikaci zástupců rodu *Penicillium* a *Aspergillus*.

- Czapek Yeast Extract Agar (CYA)

Czapek Yeast Extract Agar je vysušený granulát složený z těchto komponent:

Složení	Množství
Sacharóza	30 g
Kvasničný extrakt	5 g
NaNO ₃	3 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,5 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,01 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	20 g
Destilovaná nebo deionizovaná voda	1 000 ml

Postup přípravy: Czapek Yeast Extract Agarse suspenduje v 1000 ml destilované vody. Sterilizujeme v autoklávu. Vysterilizované živné médium rozléváme do Petriho misek o průměru cca do 5 mm. Misku uzavřeme víčkem a necháme ve vodorovné poloze ztuhnout. Pro misku o průměru 10 cm potřebujeme 15–20 ml půdy. Přípravu provádíme podle zásad aseptické práce.

Pozn. Vhodný pro identifikaci zástupců rodu *Penicillium* a *Aspergillus*.

- Dichloran Chloramfenicol Pepton Agar (DCPA)

Složení	Množství
Glukóza	15 g
Pepton	5 g
K ₂ HPO ₄	1 g

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,5 g
Bengálská červeň (5% roztok v H ₂ O)	0,5 ml
Chloramfenicol	0,1 g
Dichloran (0,2% v etanolu)	1 ml
Agar	15 g
Destilovaná nebo deionizovaná voda	1 000 ml

Postup přípravy: Dichloran Chloramfenicol Pepton Agar se suspenduje v 1000 ml destilované vody. Sterilizujeme v autoklávu. Vysterylizované živné médium rozléváme do Petriho misek o průměru cca do 5 mm. Misku uzavřeme víčkem a necháme ve vodorovné poloze ztuhnout. Pro misku o průměru 10 cm potřebujeme 15–20 ml půdy. Přípravu provádíme podle zásad aseptické práce.

Pozn. Vhodná živná půda pro identifikaci zástupců rodu *Alternaria*.

- Malt Extract Agar (MEA)

Složení	Množství
Sladinový extrakt	30 g
Pepton	5 g
Glukóza	20 g
Agar	15 g
Destilovaná nebo deionizovaná voda	1 000 ml

Postup přípravy: 30 g sladinového extraktu se spolu s 5 g peptonu a 20 g glukózy rozpustí ve vodě. Přidáme agar a zahřejeme k varu. Sterilizujeme v autoklávu po dobu 20 minut. Vysterylizované živné médium rozléváme do Petriho misek o průměru cca do 5 mm. Misku uzavřeme víčkem a necháme ve vodorovné poloze ztuhnout. Pro misku o průměru 10 cm potřebujeme 15–20 ml půdy. Přípravu provádíme podle zásad aseptické práce.

Pozn. Vhodný pro identifikaci zástupců rodu *Penicillium* a *Aspergillus*

2.3.2 Metody kultivace

Mikroskopické houby se v laboratorních podmínkách kultivují na sterilních živných médiích (půdách), aby se zabránilo kontaminaci studovaného organismu přítomnými v prostředí (Frébortová, 2017). Ke studiu mikroskopických hub je třeba čistých kultur. Kultivovat houby lze na přirozeném substrátu nebo na syntetických živných půdách zpevněných agarem (Fassatiová, 1979).

Izolační metody

Jak uvádí Fassatiová (1979, s. 17) ze vzorku substrátu porostlého myceliem nebo pokrytého sporami odebíráme inokulum ožehnutou a zchlazenou kličkou nebo preparační jehlou a přenášíme buď přímo do Petriho misky na agarovou půdu, nebo do sterilní vody ve zkumavce, abychom získali nejprve suspenzi. Suspendované inokulum ve vodě můžeme dále ředit a několik kapek posledního ředění nalijeme na agarovou půdu v misce. Tento postup je běžný pro saprofytické povrchově rostoucí houby. Při izolaci půdních plísní a vláknitých hub postupujeme několika způsoby:

- a) Vyséváme půdní zrnka o velikosti do 1 mm v průměru na agarovou půdu v Petriho misce.
- b) Suspenzní metodou. Půdní vzorek o určitém objemu roztřepeme v určitém množství sterilní vody a v několika ředěních vyzkoušíme nejvhodnější koncentraci. Z konečného ředění nalijeme na agar v Petriho misce 1 ml. Tato metoda je vhodná při kvantitativním stanovení půdní mykoflóry.
- c) K izolaci celulošovorních (dřevokazných) hub z půdy používáme sterilní proužky filtračního papíru, které zakládáme do určité hloubky v půdě, kde zůstávají po určitou dobu vystaveny působení půdního prostředí. Po vyjmutí roztrháme proužek sterilní pinzetou na malé kousky, které rozprostřeme na agarovou půdu v misce. Používáme živné půdy s celulózou.
- d) K izolaci keratinofilních hub používáme Petriho misky nebo skleněné krabičky, na jejichž dno rozprostřeme půdní vzorek, který převrstvíme nastříhanými vlasy nebo nehty.

- e) Koprofilní houby izolujeme na králíčím trusu předem vysterilizovaném. Specifické koprofilní houby však můžeme získat jen na takovém trusu, na němž se v přírodě vyskytují.

Poloparazitické a parazitické houby získáváme začerstva z hostitele přenesením části napadeného pletiva nebo tkáně na speciální živnou půdu.

Při izolaci mikroskopických hub z potravin (Fassatiová s. 18 cit. podle Moreau a spol., 1975) přímé odočkování houby z povrchu vzorku nebo rozsetím částí vzorku na agarovou živnou půdu nedává tak dobré výsledky. Proto se doporučuje pořizovat ze vzorku suspenze. 0,5 g vzorku v 50 ml sterilní vody se roztřepe (nejlépe na třepačce o výkonu 700 vertikálních třepů za 1 min); přitom se oddělí jednotlivé spory. K očkování této suspenze na agarové živné půdy se používá zředění 1:100, 1:1 000, 1:10 000. 1 ml každé suspenze se nalije na dno sterilní Petriho misky a ihned přilije 20 ml rozehřáté agarové půdy (47 °C).

Každý vzorek určité koncentrace se kultivuje na dvou živných agarových půdách při dvou různých teplotách (25 a 35 °C), od každého vzorku a koncentrace po 3 miskách.

2.4 Přehled výukových metod použitých při praktických cvičeních

Klasifikace metod vyučování se u různých autorů podle Vališové (2007) liší v závislosti na formulaci dílčích kritérií členění. Na základě pramenu poznání a typu poznatků rozlišujeme slovní metody, názorně-demonstrační metody a praktické metody. Praktická cvičení, v nichž žáci nacvičují pohybové a praktické dovednosti při práci s mikroskopickými vláknitými houbami lze zařadit do metod praktických činností žáků.

Vališová (2007, s. 204) uvádí, že laboratorní práce pomáhají rozvíjet schopnosti žáků pozorovat, samostatně uvažovat, upevňovat manuální dovednosti, případně ve spolupráci s ostatními rozvíjet dovednosti komunikativní. Jsou rozlišovány laboratorní práce krátkodobé (fyzikální či chemický pokus) a dlouhodobé (vypěstování určité rostliny či podobně). Lze členit různé typy laboratorních prací:

- Ilustrační typ laboratorních prací (ilustrují obsah učiva, který žáci poznali při vyučování).
- Aplikační typ laboratorních prací (umožňuje aplikace osvojené teorie, opakování a procvičování vědomostí a dovedností).

- Laboratorní práce heuristického charakteru (které umožňují žákům problémovým řešením úkolů objevovat pro sebe nová fakta, vztahy, experimentovat a hledat a poté si osvojit nové vědomosti).

Podle klasifikace metod výuka od I. J. Lerner (1986) jsou v navrhovaných praktických úlohách využity heuristické metody (metodou částečně výzkumnou), kterou Kalhous (2002 s. 311) definuje tak, že učitel z okruhu učiva a zkušeností žáků konstruuje učební úlohy tak, aby pro žáky znamenaly určitý rozpor, určitou obtíž, aby od nich vyžadovaly samostatně řešení odpovídající některé z uvedených fází. Učitel postupně vytyčuje dílčí řešení odpovídající některé z uvedených fází. Pokud využijeme navržená praktická cvičení ve vyšších ročnících základní školy, můžeme cvičení upravit pro výzkumnou metodu, která od žáků vyžaduje samostatné hledání řešení pro celistvý problémový úkol (Kalhous, 2002).

2.5 Laboratorní cvičení zaměřené na mikroskopické houby v učebnicích přírodopisu pro základní školy a nižší stupeň víceletých gymnázií

Vybrané učebnice a pracovní sešity byly analyzovány na základě toho, zda obsahují či neobsahují učivo a laboratorní práce z tématu vláknité mikroskopické houby. Seznam vybraných učebnic podle schvalovací doložky učebnic říjen 2016 MŠMT a výsledky analýzy učebnic a pracovních sešitů jsou uvedeny v tabulce 3.

Z 5 posuzovaných učebnic a pracovních sešitů, které obsahují učivo houby bez plodnic, obsahuje pouze 1 učebnice a pracovní sešit laboratorní práce zaměřené na kultivaci a pozorování vláknitých mikroskopických hub. Z analýzy vyplývá, že se laboratorní práce vyskytují jen ve 20 % učebnic nebo pracovních sešitů, které obsahují Biologii hub.

Tabulka 3 - Výsledky analýzy učebnic a pracovních sešitů

NÁZEV	AUTOR	VYDALO	ROK VYDÁNÍ	ROČNÍK	UČIVO	LP
Přírodopis 7 pro základní školy víceletá gymnázia (učebnice a pracovní sešit)	Pelikánová, I.; Čabradová, V.; Hasch, F. a kol.	Fraus	2003	7	ne	ne
Přírodopis 8 pro základní školy a víceletá gymnázia (učebnice a pracovní sešit)	Vaněčková, I.; Skýbová, J.; Markvartová, D.; Hejda, T.	Fraus	2006	8	ne	ne

Přírodopis 9 pro základní školy a víceletá gymnázia (učebnice a pracovní sešit)	Švecová, M.; Matějka, D.	Fraus	2007	9	ne	ne
Přírodopis 6 pro základní školy víceletá gymnázia (učebnice a pracovní sešit)	Pelikánová, I.; Šimonová, P. a kol.	Fraus	2014	6	ano	ne
Přírodopis 8 pro základní školy víceletá gymnázia (učebnice a pracovní sešit)	Pelikánová, I. a kol.	Fraus	2016	8	ne	ne
Ekologická a environmentální výchova pro 2. stupeň ZŠ a příslušné ročníky víceletého gymnázia ⁶	Šimonová, P.; Činčera, J.; Jančaříková, K.; Volfová, A.	Fraus	2013	6-9	ne	ne
Přírodopis 9 (učebnice a pracovní sešit)	Zapletal, J.; Janoška, M.; Bičíková, L.; Tomančáková, M.	Prodos	2000	9	ne	ne
Přírodopis 6 (učebnice a pracovní sešit)	Dančák, M.; Sedlářová, M.	Prodos	2011	6	ano	ano
Přírodopis 6 - Rostliny (učebnice a pracovní sešit)	Dančák, M.; Mikulenková, H.; Ševčík, D.	Prodos	2015	6	ne	ne
Přírodopis 7 - Živočišné (učebnice a pracovní sešit)	Kočárek, P.; Mikulenková, H.; Ševčík, D.	Prodos	2016	7	ne	ne
Přírodopis I pro 6. ročník ZŠ	Dobroruka, L., J. a kol.	Scientia	2010	6	ano	ne
Přírodopis II pro 7. ročník ZŠ	Dobroruka, L., J. a kol.	Scientia	1998	7	ne	ne
Přírodopis III pro 8. ročník ZŠ	Dobroruka, L., J. a kol.	Scientia	2010	8	ne	ne
Přírodopis IV pro 9. ročník ZŠ	Cílek, V. a kol.	Scientia	2000	9	ne	ne
Přírodopis – Botanika (učebnice a pracovní sešit)	Skýbová, J.	Septima	2011	6	ne	ne
Přírodopis – Obecný přírodopis (učebnice a pracovní sešit)	Skýbová, J.	Septima	2011		ano	ne
Přírodopis pro 9. ročník základní školy (geologie, ekologie)	Černík, V.; Martinec, Z.; Vitek, J.; Vodová, V.	SPN, a.s.	2010	9	ne	ne
Přírodopis pro 6. ročník základní školy (zoologie, botanika)	Černík, V.; Vaněk, J.; Martinec, Z.; Hamerská, M.	SPN, a.s.	2007	6	ano	ne
Přírodopis pro 7. ročník základní školy (zoologie, botanika)	Černík, V.; Vaněk, J.; Martinec, Z.; Hamerská, M.	SPN, a.s.	2008	7	ne	ne

⁶ Hodnoceno jen podle obsahu

Přírodopis pro 8. ročník základní školy (biologie člověka)	Černík, V. a kol.	SPN, a.s.	2015	8	ne	ne
---	-------------------	-----------	------	---	----	----

3 Praktická část

Cílem mé práce je navrhnout praktická cvičení, která obeznámí žáky s výskytem, využitím a některými vlastnostmi vláknitých mikroskopických hub a vybraná cvičení ověřit ve výuce.

Dílejší úkoly praktické části jsou:

- Navrhnout praktická cvičení úlohy pro praktická cvičení.
- Ověřit navržené úlohy v laboratoři základní školy.
- Vyzkoušet navržené úlohy ve výuce na základní škole.
- Vytvořit metodické návody pro učitele.

V praktické části je nejprve navrženo a poté ověřeno šest praktických cvičení. Návody pro provádění těchto cvičení se nachází v příloze. V těchto návodech a během ověřování byla využívána sedimentační metoda, metoda přímého výsevu a metoda roztírání suspenze na živné médium.

3.1 Zásady bezpečnosti práce v mikrobiologické laboratoři

Před začátkem práce je potřeba žáky seznámit se zásadami práce v mikrobiologické laboratoři (Vlková, 2013; Brožková, 2016):

V laboratoři je zakázáno jíst a pít.

Při práci je nutno nosit ochranný oděv, nejlépe čistý bílý plášť s dlouhými rukávy. V případě potřeby používat i další ochranné pomůcky (rukavice, roušku, štít).

Před a po ukončení práce si řádně umyjte a popřípadě desinfikujte ruce a laboratorní stoly.

I drobné poranění nahlaste, aby mohlo být ošetřeno a desinfikováno.

Odpad ukládejte na určené místo.

Pečlivě označujte své vzorky.

Pracujte opatrně s kahanem, tak aby nedošlo k zahorení oděvu nebo vlasů. Dlouhé vlasy by měly být sepnuté.

Nádoby mějte otevřené jen po nezbytně nutnou dobu a před uzavřením zátku a hrdlo nádoby opět lehce ožíhejte.

Nedotýkejte se sterilních částí misek a ostatního laboratorního nádobí rukou.

Používejte pouze sterilní pomůcky.

Pracovní nástroje a pomůcky (klíčky, pinzety, zátky atd.) odkládejte na místa k tomu určená, nikoli na pracovní desku stolu.

Rozbité sklo se odkládá pouze do určené nádoby. Je-li znečištěno kulturou, musí se provést dezinfekce ponořením do dezinfekčního roztoku za použití pinzety nebo kleští. Střepey nikdy nesbíráme holýma rukama bez rukavic.

Při inokulaci se vyhýbáme mluvení, kašlání, kýčání apod. Zabraňujeme tvorbě aerosolů při práci (pipetování, používání bakteriologických klíčků). Při práci s bakteriálními kulturami pracujeme vždy v blízkosti hořícího kahanu, kultivační nádoby necháváme otevřeny pouze na nezbytnou dobu.

Při práci nesmějí být na stole nesterilní předměty.

Jakékoli předměty, které nesouvisí s pracovní činností, do laboratoře nepatří (mobilní telefon, tašky).

Před započítím vlastní práce zkontroluje každý student jemu svěřené pomůcky a přístroje. Případnou závadu ihned ohlásí vedoucímu cvičení. Po celou dobu je možné pracovat pouze na určeném místě a během práce je nutno dodržovat pořádek.

Je zakázáno používat laboratorní sklo k pití a vaření i mimo prostory laboratoří.

3.2 Návrh laboratorního cvičení

Úlohy byly navrhovány tak, aby se žáci prakticky seznámili s mikroskopickými vláknitými houbami. Jedná se o téma, které je v laboratorních úlohách na základní škole opomíjené, přestože jde o organismy, se kterými se setká bez výjimky každý člověk. Žáci se učí základní postupy při práci s mikroskopickými vláknitými houbami. Zároveň se seznamují s výskytem a vlivem těchto hub na životní prostředí a člověka.

Bylo navrženo šest praktických úloh. Podrobné návody pro jednotlivá cvičení jsou uvedena v příloze. Popis použitých laboratorních metod se nachází v teoretické části.

Každá úloha je navržena tak, aby dodržela zásady bezpečnosti práce s vláknitými mikroskopickými houbami.

3.2.1 První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“

V první úloha žákům dokazuje, že i v jejich okolí se nacházejí mikroskopické vláknité houby, přestože nemusí být viditelné okem. Pro demonstraci přítomnosti spor mikroskopických hub ve vodě, ve vzduchu a v půdě jsou využity různé metody kultivace, kterými si žáci procvičí základní pracovní postupy při kultivaci vláknitých mikroskopických hub.

Brožková (2016) uvádí, že pitná voda musí mít takové fyzikálně-chemické vlastnosti, které nepředstavují ohrožení veřejného zdraví. Pitná voda nesmí obsahovat mikroorganismy, parazity a látky jakéhokoli druhu v počtu nebo v koncentraci, které by mohly ohrozit veřejné zdraví a musí splňovat limity dané vyhláškou Ministerstva zdravotnictví č. 83/2014 Sb., kterou se mění vyhláška 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontrol pitné vody. Při kultivaci hub z pitné vody je vhodné žáky upozornit na to, že se ve vodě mikroorganismy vyskytovat mohou, ale pouze v určité koncentraci. Kultivací lze prokázat, že množství kolonií, které z pitné vody kultivujeme je malé, nicméně ne nulové.

Z ovzduší můžeme kultivovat některé z těchto druhů hub: *Cladosporium herbarum*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Epicoccum nigrum*, *Penicillium chrysogenum* a *Phoma sp.*

Brožková (2016) navrhuje vyšetřovat čistotu ovzduší pomocí spadové metody, která spočívá v pasivním přenesení mikroorganismů přítomných v ovzduší spadem na povrch živného média v Petriho misce. Otevřenou Petriho misku naplněnou živným médiem umístíme na klidném bezprašném místě a necháme exponovat nejméně po dobu 10 minut. Po ukončení expozice misku uzavřeme a nechá se kultivovat při optimální teplotě 25 °C/2-5 dní. Pokud se praktické cvičení využije u vyšších ročníků, je možné výsledky obohatit o výpočet počtu mikroorganismů.

počet mikroorganismů (S) na plochu 1 m² a expozici 10 minut:

$$S = \frac{k \cdot 10 \cdot 10\,000}{p \cdot t}$$

k.....počet kolonií

10.....přepočet na 10 minut

p.....plocha misky v cm²

t.....čas v minutách

3.2.2 Druhá praktická úloha „Mykorhizní houby“

Druhá úloha je navržena tak, aby žákům demonstrovala v praxi existenci a fungování mykorhizy.

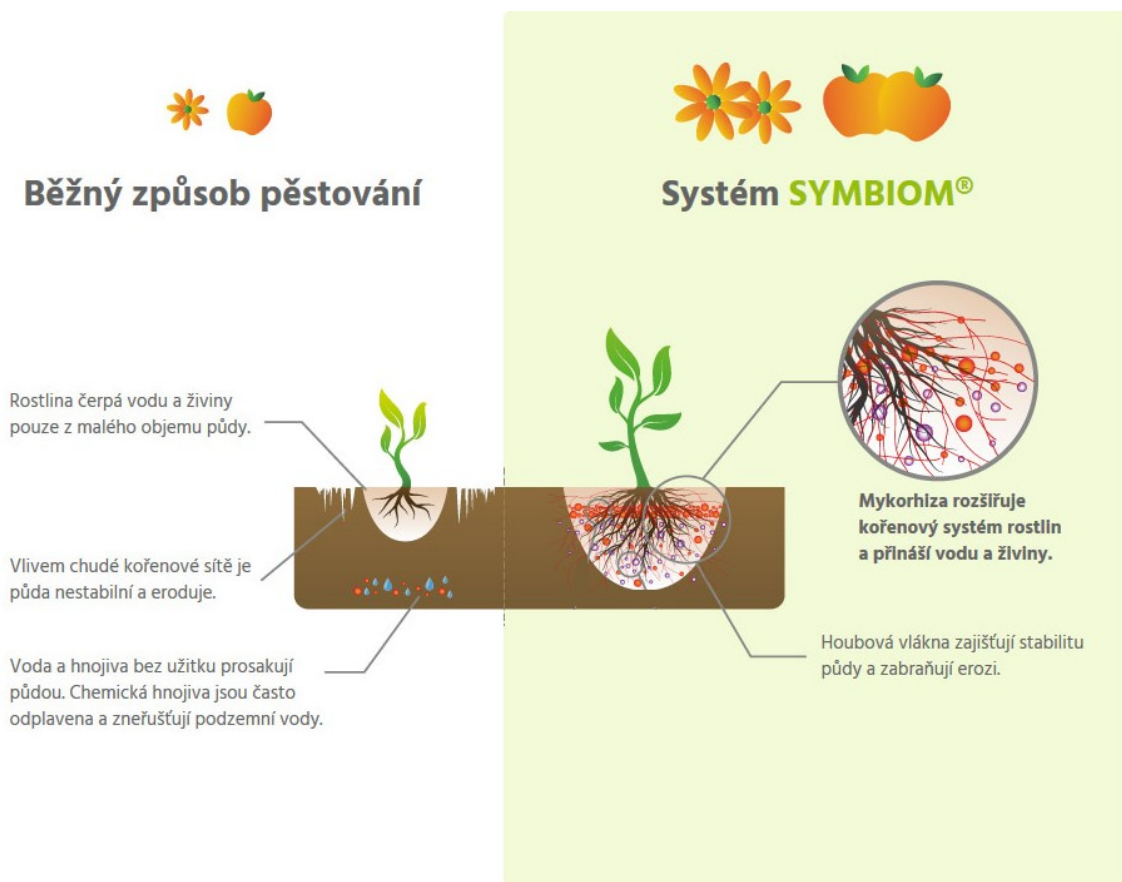
Mykorhizní symbióza (obr. 19) je mutualistické soužití specializované skupiny půdních hub s kořeny vyšších rostlin. Nejdůležitějším funkčním aspektem mykorhizní symbiózy je výživa symbiotické houby uhlíkatými látkami vytvořenými při fotosyntéze rostlinou a na druhou stranu zlepšený přísun minerálních látek rostlině (Albrechtová, 2011).

Mikroskopická vlákna půdních hub jsou mnohem rozsáhlejší než kořenový systém rostlin. Z toho vyplývá, že při použití mykorhizních hub při pěstování našich rostlin dochází k maximálnímu využívání a spotřebě veškerých dostupných živin z půdy⁷. A vede to k většímu nárůstu rostlinné hmoty, což je jednoduše měřitelný parametr.

Firma Symbiom, jejíž výrobek bude v navrženém praktickém cvičení využit, uvádí, že po použití mykorhizních přípravků lze očekávat:

- Lepší a vyrovnaný růst rostlin
- Bohatší a zdravější kořenový systém, který bude schopen ve větší míře čerpat živiny z půdy
- Větší bohatství květů a plodů
- Nižší potřeba zálivky a hnojení
- Lepší překonání období sucha
- Rostlina nebude trpět při přesazování
- Zpevnění okolní půdy
- Ochrana proti některým půdním chorobám

⁷ Viz <https://www.symbiom.cz/cs/m-4-jak-funguje-mykorhiza>



Obrázek 23 - Mykorhiza (<https://www.symbiom.cz/cs/m-4-jak-funguje-myorhiza>)

3.2.3 Třetí praktická úloha „Fermentace“

seznamuje žáky s využitím kulturní mykoflóry při výrobě potravin živočišného původu. Metodou přímého výsevu na Petriho misky s živným médiem kultivují žáci tři druhy rodu *Penicillium* a prokáží tím, že se tyto druhy účastní fermentace vybraných potravin.

Využití kulturní mykoflóry při výrobě potravin živočišného původu v evropských zemích má dlouhou tradici (Malíř, 2003). V evropských zemích jsou vyráběny za použití kulturních kmenů vláknitých mikroskopických hub především sýry camembertského, roquefortského typu a vybraný sortiment masných výrobků – specialit.

Plísňové sýry patří mezi nejpikantnější, a proto i nejoblíbenější sýry. V obchodních sítích se můžete seznámit s rozsáhlým sortimentem tuzemských plísňových sýrů (např.: hermelín a

niva) i sýrů z dovozu (např.: camembert, gorgonzola, roquefort, brie). Plísňe mohou růst na povrch sýru nebo uvnitř sýru, ale také zároveň na povrchu a uvnitř.

K mykoflóře plísňových sýrů patří *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti* a *P. nalgiovense*. Pro žáky bude jistě zajímavé, že zmínky o výrobě roquefortu jsou známy již z 11. století, ale údajně byl vyráběn již v období říše římské. Na sýru francouzského původu de Brie si pochutnával Ludvík XII, Jindřich IV. Navarský a také mušketýři ze světoznámého románu Alexandra Dumase st.

Vedle výroby plísňových sýrů se vláknité mikroskopické houby používaly i k ochraně povrchu sýra před vysycháním a růstem nežádoucí povrchové mykoflóry při technologiích výroby sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou.

3.2.4 Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“

Čtvrtá úloha demonstruje, že spory některých termorezistentních mikroskopických hub vydrží i krátkodobé působení teploty kolem 100 °C, tj. spory v léčivých bylinách vydrží přípravu čaje a proniknou vitální do konečného výrobku. Záleží na objemu vody, kterou jsou byliny zalévány. Při zalití vroucí vodou v množství kolem 1/4 l přežívá menší množství spor oproti opracování oplachu při teplotě 80 °C, při zalití vroucí vodou v objemu kolem 100 ml přežívá spor naopak více (Šimůnek, 2004, cit. podle Hořáková, 1999).

Protože není možné některé potraviny zahřívát potřebnou dobu ke zničení askospor, dochází pak k nárůstu mycelia ve sklenicích s kompoty a dalšími výrobky.

Termorezistentní houby nepředstavují ucelenou taxonomickou skupinu hub, ale spojuje je vlastnost jejich sexuálních spor – odolnost vůči teplotám blízkým bodu varu vody. Termorezistence je nejspíš vyvolána schopností houby vytvářet velmi dehydratované spory, jejichž bílkoviny se denaturují až při dlouhodobém působení vysokých teplot. Všechny dosud zaznamenané případy termorezistence se týkají askospor (Šimůnek, 2004). Pro starší žáky je možné úlohy obohatit acidorezistentním barvením, kterým jsou askospory vláknitých mikroskopických hub barvitelné a následně je pozorovat s použitím imerzního objektivu.

3.2.5 Pátá praktická úloha „Chytrá houba“

Pátá úloha je navržena pro ověření účinků „chytré houby“ (*Pythium oligandrum*) potlačující růst vláknitých mikroskopických hub na zdech obytných místností. Na místě, kam bylo

Pythium aplikováno jiné mikroskopické vláknité houby nerostou. Úloha předkládá jeden z mnoha způsobů využitelnosti vlastností vláknitých mikroskopických hub v boji proti parazitickým houbám.

Bio Repel je přípravek obsahující "chytrou houbu", která likviduje nežádoucí plísně na zdech domů. *Pythium oligandrum* (česky "chytrá houba") se přímo živí plísněmi na zdech, po jejich eliminaci se nemá čím živit a z ošetřeného zdiva vymizí. Aktivní mikroflóra je nepatogenní, nenapadá rostliny, zvířata ani lidi. Jedná se o mezidruhový parazitizmus⁸.

Životní cyklus druhu *Pythium oligandrum* na videu:

<https://www.youtube.com/watch?v=53ooEYJYK7w&t=41s>.

3.2.6 Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“

Šestá úloha demonstruje žákům, negativní význam mikroskopických vláknitých hub jako původce degradace vybraných potravin.

Vyučující by měl žákům vysvětlit, že mikroskopické vláknité houby produkují mykotoxiny, které zůstávají i ve zdánlivě nepostíženě části potraviny. Příklad: Setkají-li se se situací, že najdou krajíc chleba, na kterém bude jedna kolonie vláknité houby, musí vyhodit celý krajíc, protože kromě kolonie vláknité mikroskopické houby obsahuje také mykotoxiny, které odstranit nelze, a které jsou zdraví škodlivé.

Potraviny vybrané pro tuto praktickou úlohu jsou chléb a citrón. Na citróněch můžeme pozorovat plísň druhu *Penicillium digitatum*, který způsobuje zelenou hnilobu citrusů a druh *Penicillium italicum*, který způsobuje modrou hnilobu citrusů.

Napadená místa se nejdříve vyznačují malými hnědými skvrnami, později se objevují šedobílé plísňové poštářky s modrozelenými koloniemi konidií (Dvořáková, 2008).

3.3 Faktory ovlivňující výsledek kultivace ve školních podmínkách

Faktorů ovlivňujících výsledek kultivace buněk je celá řada (druh bakterie, teplota, použité kultivační médium, čas, světlo, vlhkost vzduchu, prostředí – přítomnost /nepřítomnost kyslíku). Většinu z nich je možné bez problémů ovlivnit v podmínkách specializované

⁸ Viz <https://www.chytra-houba.eu/8,bio-repel.html>

laboratoře, ale ne v běžné laboratoři školní. Z tohoto důvodu jsou úlohy navrhovány a ověřovány za podmínek, které jsou dosažitelné ve standardně vybavené školní laboratoři. (Hlaváčková, 2008 s. 52)

Teplota

Mikrobiologická pracoviště zpravidla kultivují mikroorganismy po dobu 24 hodin při teplotě 37°C. K dosažení a udržení takovéto teploty je však nutné použít termostat (Hlaváčková, 2008 s. 52). Většina škol tímto zařízením nedisponuje. Úlohy jsem tedy ověřovala při teplotách v rozmezí 20–25 °C. Při nižších teplotách, je obvykle nutné prodloužit dobu kultivace.

Půdy použité pro jednotlivé úlohy

V praktických úlohách je využit jediný typ pevné živné půdy a to MEA. Původní předpoklad byl, že každou úlohu provedeme na jiném živném médiu, abychom dosáhli, co nejlepších výsledků kultivace. Bohužel ve školních podmínkách není možné zajistit sterilní přípravu agarů a už vůbec není možné nakoupit potřebné suroviny. Proto jsem se obrátila na organizátory projektu Přírodovědci.cz, kteří školám poskytují výukové materiály, každá škola si může v průběhu školního roku objednat jakékoliv 2 aktivity (i materiál) zcela zdarma. Využila jsem tedy této možnosti a objednala Petriho misky s živným agarem. Vzhledem k počtu žáků bylo množství misek dostačující. Při větších třídách bych doporučila dojednat větší množství misek.

Kontaminace

Při mikrobiologické práci ve školní třídě není možné vyloučit kontaminaci jinými mikroorganismy, ať už bakteriemi nebo jinými vláknitými vláknité mikroskopické houby. Proto volíme praktické úlohy, kterým určitá míra kontaminace nevádí.

3.4 Laboratorní ověření navržených úloh

3.4.1 První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“

V první úloze byly kultivovány vláknité mikroskopické houby vyskytující se ve vodě, ve vzduchu a v půdě. Ke kultivaci hub ve vzduchu byla využita sedimentační (spadová) metoda. Kultivace hub z půdy a vody byla provedena metodou přímého výsevu.

Kultivace hub ze vzduchu

Postup

Otevřenou Petriho misku s živným médiem umístíme na klidném bezprašném místě a necháme exponovat po dobu 30 minut. Po ukončení expozice misku uzavřeme, popíšeme a inkubujeme v temnotě po dobu 5-7 dnů při minimální teplotě 20 °C.

Výsledky

Po 7 dnech narostly na Petriho misce 3 různé druhy kolonií mikroskopických hub. Kolonií bylo více než 20 a byly spíše menšího průměru, nicméně dostatečně velké k určování do rodů. Pozorovala jsem, že dvě kolonie různého druhu, které rostou v těsné blízkosti, ovlivňují růst a tím také tvar celé kolonie. Což vnímám jako zajímavý námět k pozorování se žáky.

Kultivace hub z půdy

Postup:

Do Petriho misky s MEA aplikujeme jednotlivá zrnka půdy pomocí vyžíhané pinzety tak, aby zrnka tvořila vrcholy trojúhelníku. Poté misku uzavřeme, popíšeme a inkubujeme v temnotě po dobu 5-7 dnů při minimální teplotě 20 °C.

Výsledky:

Po 7 dnech narostly na Petriho misce 3 kolonie rodu *Mortierella*. Kolonie jsou velké, dobře určitelné. K výzkumu žáků je tato úloha vhodná.

Kultivace hub z vody

Postup:

Na Petriho misky s MEA se očkuje vzorek vody z vodovodu. Pomocí kapátka umístíme na agarovou plotnu 3 kapky, každou kapku do vrcholu pomyslného trojúhelníku. Poté misku uzavřeme, popíšeme a inkubujeme v temnotě po dobu 5-7 dnů při minimální teplotě 20 °C.

Výsledky:

Po 7 dnech jsou na agarovém médiu 2 kolonie rodu *Penicillium*, kulatého tvaru a dostatečné velikosti pro pozorování a pořízení snímku. I tato úloha je vhodná pro využití ve výuce.

3.4.2 Druhá praktická úloha „Mykorhizní houby“

Ve druhé úloze testujeme tvrzení, že mykorhizní houby rodu *Glomus* tvoří symbiózu s kořeny pěstovaných rostlin. Vytvořená mykorhiza umožňuje lepší příjem vody a živin (zejména fosforu a draslíku) a jejich efektivnější dodání rostlinám. Tím zajišťuje rostlinám lepší a vyrovnaný růst, bohatší a zdravější kořenový systém, větší nasazení květů a více kvalitních plodů, vyšší odolnost proti nepříznivým vlivům⁹. K otestování tvrzení použijeme přípravek Symbivit bylinky s mykorhizními houbami, který použijeme v truhlíku se 4 rostlinami (2 rostliny od každého druhu). Druhý truhlík se stejným počtem a stejnými druhy rostlin použijeme jako kontrolní. Rozdíl výšek rostlin mezi truhlíkem se Symbivitem a kontrolním truhlíkem by měl prokázat pozitivní vliv mykorhizních hub na růst rostlinné hmoty.

Postup: Zakoupíme 8 bylinek (4x máta, 4x oregano). Do truhlíku, do kterého nasypeme mykorhizní houby (Symbivit) zasadíme 2x mátu a 2x oregano. Do truhlíku bez mykorhizních hub zasadíme stejný počet bylinek, 2x mátu a 2x oregano. Použijeme substrát pro bylinky. Truhlíky označíme, přeměříme velikost rostlinek a zaznamenáme si údaje do tabulky. Bylinky pravidelně zaléváme a po 7, 14 a 21 dnech měříme velikost jednotlivých rostlinek. Výsledky zaznamenáváme do tabulky. Spočítáme rozdíl výšky bylinek od přesazení do 21. dne a zapíšeme do tabulky.

Výsledky:

<u>VÝŠKA</u> <u>BYLINEK</u>	<u>S HOUBAMI</u>				<u>BEZ HUB</u>			
	1. máta	2. máta	3. oregano	4. oregano	1. máta	2. máta	3. oregano	4. oregano
1. den (cm)	8	9	7	8	10	6	7	9
7. den (cm)	8,5	9,5	7	8	10	6	7	9
14. den (cm)	9,5	10	9	9,5	11	6,5	7,5	10
21. den (cm)	11	11,5	10,5	11	11,5	6,5	8	10,5

⁹ Viz <http://eshop.raselina.cz/z17338-mykorhizni-houby-pro-plodovou-zeleninu-750g>

Rozdíl mezi 1. a 21. dnem (cm)	3	2,5	3,5	3	1,5	0,5	1	1,5
--------------------------------	---	-----	-----	---	-----	-----	---	-----

Po 7 dnech nebyl znatelný žádný růst, což bylo pravděpodobně způsobeno přesazením rostliny. Rozdíl v růstu mezi bylinkami s houbami a bez hub po 7 dnech nebyl dostatečný, proto jsem prodloužila dobu pěstování. Narůst po 21. dnech byl opravdu znatelný, doporučuji proto bylinky pěstovat 21 dnů. Bylinky s mykorrhizními houbami za stanovenou dobu vyrostly znatelně více než bylinky bez mykorrhizních hub. Průměrný výškový přírůstek bylinek za 21 dní se Symbivitem byl 3 cm. Průměrný výškový přírůstek bylinek za 21 dní bez Symbivitu byl 1,5 cm. Mykorrhizní houby zlepšily růst bylinek dvojnásobně proti růstu bylinek bez mykorrhizních hub.

3.4.3 Třetí praktická úloha „Fermentace“

Ve třetí úloze prokazujeme účast mikroskopických hub na fermentaci vybraných potravin (niva, camembert a trvanlivý fermentovaný salám) a určujeme, o které druhy mikroskopických hub se jedná. Ke kultivaci používáme metodu přímého výsevu.

Postup:

Z běžně dostupných sýrů typu camembert a niva a trvanlivého salámu s bílou plísní na povrchu odebíráme inokulum sterilní klíčkou nebo jehlou a přenášíme přímo na agarovou plotnu. Očkujeme do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, potravina a typ živné půdy). Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. Po 7 dnech kolonie nafotíme a určíme s pomocí klíče.

Výsledky:

Na 7 dnech narostly na Petriho miskách kolonie hub pocházející z vybrané potraviny, *Penicillium camemberti* původem ze sýru typu camembert, *Penicillium nalgiovense* ze salámu s bílou plísní a *Penicillium roqueforti* ze sýru typu niva. Velikost kolonií *P. camembert* a *P. roqueforti* byla po 7denní kultivaci dostatečná. Kolonie *P. nalgiovense* byly po 7denní kultivaci velmi malé, po 14denní kultivaci již měly tvar i velikost vhodnou k určení podle makroskopických znaků. Žádné médium nebylo kontaminováno jinými

vláknitými vláknitými mikroskopickými houbami. Úloha je vhodná pro práci žáků na základní škole. U kultivace *P. nalgiovense* je nutné prodloužit dobu kultivace z 7 na 14 dní.

3.4.4 Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“

Ve čtvrté úloze se přesvědčíme, že spory některých mikroskopických hub jsou schopny přežít vystavení teplotě 100 °C.

Postup:

Do vysterilizované kádinky nasypeme bylinky. Zalijeme je 100 ml vroucí destilovanou vodou a překryjeme sterilním víčkem. Po 30 minutách kapátkem očkujeme suspenzi z kádinky přímo do misky s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, bylinky a typ živné půdy). Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C.

Celý postup opakujeme se 3 různými druhy bylinek (kopřiva, lípa, šalvěj).

Výsledky:

Přestože byl postup pro účely praktických cvičení značně zjednodušen, narostly na agarových plotnách v malém množství (kopřiva - 4, lípa - 2, šalvěj -3) kolonie rodu *Penicillium*, takže můžeme říci, že je cvičení vhodné pro použití na základní škole.

3.4.5 Pátá praktická úloha „Chytrá houba“

V páté úloze prokazujeme účinky druhu *Pythium oligandrum* na růst vláknitých hub na zdech.

Použijeme metodu očkování roztěrem.

Postup:

Připravíme roztok přípravku Bio Repel. Mikrobiologickou kličkou nanese roztok do kruhu o průměru cca 0,5 cm do středu živného média na Petriho misce. Vytvoříme suspenzi z mycelia a destilované vody a kapátkem očkujeme suspenzi ze zkumavky do Petriho misky s aplikovaným přípravkem Bio Repel. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C.

Výsledky:

Po 7 dnech kultivace narostla na Petriho misce kolonie druhu *Rhizopus stolonifer*. Bio Repel má po 7 dnech kultivace účinek pouze v místě, kam byl aplikován. Toho bude možné využít při aplikaci Bio Repelu žáky. Mohou aplikovat přípravek do různých tvarů, které potom lze pozorovat po kultivaci.

3.4.6 Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“

V šesté úloze jsou kultivovány mikroskopické houby rostoucí na citrusech a pečivu.

Postup:

Do 1 kelímku vložíme kousek chleba a do 1 kelímku vložíme polovinu citrónu, zalijeme 1 až 2 lžičkami destilované vody. Kelímky uzavřeme potravinářskou fólií a necháme mikroskopickým houbám cca 7 dní, aby narostly.

Z mycelia vláknitých mikroskopických hub a destilované vody připravíme suspenzi, kterou kapátkem očkujeme na misky s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme. Necháme kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C.

Výsledky:

Po 7 dnech kultivace se na Petriho miskách z vláknité mikroskopické houby z citrónu rozrostlo velké množství kolonií. Jejich velikost byla velmi malá a těžko identifikovatelná. Byla tedy prodloužena doba kultivace, nicméně i přesto zůstaly kolonie malé, ale bylo možné určit rod *Penicillium*. Předpokládám, že důvodem byla nízká teplota kultivace, při zvýšení by se mohly kolonie rozrůst více.

Po 7 dnech kultivace se na Petriho miskách s vláknité mikroskopické houby z chleba rozrostly 3 velké kolonie vláknitých mikroskopických hub rodu *Penicillium*. Kultivace vláknitých mikroskopických hub z chleba je velmi vhodná, kultury z citrónu lze využít především k počítání narostlých kolonií.

3.5 Ověření návrhů laboratorních cvičení na ZŠ

Praktické úlohy byly ověřeny na ZŠ a MŠ Vinařice, okres Kladno, VI. ulice 165, Vinařice 273 07. Ověření bylo prováděno v hodinách přírodopisu šestého ročníku, kterých se účastnilo celkem 12 žáků 6. třídy, v plném počtu žáků šestého ročníku.

Ověření navržených praktických cvičení bylo uskutečněno ve fyzikální učebně, ve které bylo plánováno také ověření se žáky. Učebna je uspořádána schodovitě. Má k dispozici tekoucí vodu a dřez, velká okna nutná pro větrání místnosti. Lavice mají povrch, který je možné snadno čistit a desinfikovat.

Praktické úlohy byly do výuky zařazeny mimo výuku tématu Biologie hub. Bylo tedy nutné zařadit úvodní hodinu a žákům připomenout teoretické znalosti. Výuka probíhala v učebně fyziky, která je dispozičně nejvhodnější k provádění a demonstraci pokusů.

Praktické úlohy byly žáky ověřeny v průběhu tří dvouhodinových bloků, ve kterých jsme měli možnost se praktickým úlohám věnovat. Byly vypěstovány vláknité mikroskopické houby z odebraných vzorků, zodpovězeny výzkumné otázky, nafoceny Petriho misky s narostlými koloniemi hub, určeny rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub a vypracovány laboratorní protokoly.

Harmonogram ověřování úloh byl následující:

1. dvouhodinovka – úvodní hodina + vypracování 1., 2., 4. a 5. praktické úlohy
2. dvouhodinovka – řešení 1., 4. a 5. praktické úlohy + vypracování 3. a 6. praktické úlohy
3. dvouhodinovka – řešení 2., 3. a 6. praktické úlohy + závěrečné shrnutí

Žáci šestého ročníku základní školy nebyli příliš obeznámeni s běžnými postupy při laboratorní práci, bylo nutné postupovat synchronně s žáky krok za krokem. Nicméně do práce se zapojovali velmi aktivně a s chutí, se zjevným zájmem o problematiku. Motivačně na žáky nečekaně působilo použití ochranných pomůcek, které jim navozovaly pocit vědecké práce. Bylo potřeba věnovat dostatek času provedení úloh a vypracování protokolů. Po pečlivém vysvětlení a předvedení postupu, zvládli žáci inokulaci živných médií kultura mi mikroskopických vláknitých hub samostatně. Fotografie byly pořízeny bez účasti žáků, aby bylo možné vyfotografovat kolonie bez vrchní části Petriho misky. Určování rodů vláknitých

mikroskopických hub a zpracování výsledků bylo možné pouze s vedením vyučující. Makroskopická struktura kolonií většiny druhů hub žáky nadchla a popisem vzhledu kolonií jsme strávili velké množství času. Každý žák potřeboval vyjádřit, jak kolonie vypadá a co připomíná. Naopak zápach kultur si vyžádal znepokojení žáků a pár minut, kdy žáci toto znepokojení potřebovali vyjádřit. Po skončení praktických cvičení se tématem dále zabývali samostatně. Z osobního zájmu předkládali další možná témata na praktická cvičení, ve kterých by zkoumali mikroskopické vláknité houby. Pořízené snímky upravovali žáci ze své iniciativy v rámci výuky informatiky. Lze využít plánovaně, jako mezipředmětové vztahy.

3.6 Organizace a metodika praktických úloh

Navržené praktické úlohy doporučuji zařadit nejlépe v průběhu výuky nebo těsně po dokončení výuky učiva „houby bez plodnic“. V této době mohou navržené úlohy doplnit a rozšířit probírané učivo. Úlohy je možné zařadit také do přírodovědného semináře, přičemž pro vyšší ročníky je lze dále modifikovat.

Je nutné, aby mezi provedením praktické úlohy a zpracováním výsledků byl odstup minimálně 5 dní, kvůli nárůstu kolonií vláknitých mikroskopických hub. Přičemž druhá praktická úloha vyžaduje nejdelší časový úsek kvůli růstu bylinek. V případě, že se vyučující rozhodne provést všechna praktická cvičení je minimální časová dotace 3 x 2 hodiny. Ale je samozřejmě možné využít jen vybrané úlohy a časovou dotaci si následně přizpůsobit vlastním potřebám.

Pro popis Petriho misek doporučuji zakoupit kvalitní slabý popisovač, který se z plastových misek nesetře a zároveň nebude silný, aby bylo možné pozorovat mikroskopické vláknité houby i přes víčko.

3.6.1 Příprava na praktické úlohy

Pomůcky nutné pro provádění praktických úloh:

Pro přehlednost zde uvádím seznam pomůcek potřebných pro každé praktické cvičení zvlášť.

1. laboratorní práce

- voda z vodovodu, půda, plynový kahan, protokoly pro žáky, roušky, laboratorní pláště, rukavice, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, zkumavky s víčkem, pinzety, popisovače slabé, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie, desinfekce

2. laboratorní práce

- Symbivit bylinky, bylinky, substrát pro bylinky, truhlíky, protokoly pro žáky, laboratorní pláště, rukavice, Petriho misky s agarem, pravítka, popisovače slabé, fotoaparát, desinfekce

3. laboratorní práce

- hermelín, plísňový sýr, fermentovaný salám s bílou plísní na povrchu, černý čaj porostlý houbou, protokoly pro žáky, roušky, laboratorní pláště, rukavice, hodinky, fotoaparát, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, pinzety, popisovače slabé, potravinová fólie, desinfekce

4. laboratorní práce

- Byliny pro přípravu čajů, protokoly pro žáky, roušky, laboratorní pláště, rukavice, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, zkumavky s víčkem, popisovače slabé, destilovaná voda, rychlovarná konvice, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie, desinfekce

5. laboratorní práce

- "Chytrá houba" *Pythium oligandrum*, plíseň ze zdi, protokoly pro žáky, roušky, laboratorní pláště, rukavice, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, zkumavky s víčkem, pravítka, pinzety, popisovače slabé, destilovaná voda, rychlovarná konvice, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie, desinfekce, obrázek

6. laboratorní práce

- houbou porostlé potraviny (citrón, chléb), protokoly pro žáky, roušky, laboratorní pláště, rukavice, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, popisovače slabé, fotoaparát, potravinová fólie, desinfekce

3.6.2 Úvodní hodina – seznámení s mikroskopickými houbami

Cílem úvodní hodiny je zopakování teoretických poznatků o mikroskopických houbách, které je podle RVP probíráno v rámci oboru Přírodopisu ve vzdělávacím obsahu Biologie hub v rámci učiva "houby bez plodnic". Učivo zahrnuje základní charakteristiku a pozitivní a negativní vliv na člověka a živé organismy ¹⁰.

Seznam témat, která by žáci měli znát, než začnou s praktickými úlohami:

- mikroskopické houby a jejich výskyt
- morfologie a fyziologie mikroskopických hub
- hlavní makroskopické rozlišovací znaky mikroskopických hub
- metabolismus mikroskopických hub – zdroje energie a způsob výživy
- růst a množení mikroskopických hub, vztah k teplotě
- pozitivní a negativní vliv mikroskopických hub na člověka a další organismy

Výše uvedená témata je možné zopakovat formou pracovních listů, vhodnou didaktickou hrou, otázkami, myšlenkovou mapou, diskusí nebo nejlépe kombinací výukových metod. Pokud by se cvičení konalo záhy po výuce tématu "houby bez plodnic", lze tuto hodinu vynechat.

3.6.1 První praktická úloha „Mikroskopické houby v prostředí“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Výskyt mikroskopických vláknitých hub v okolí člověka“ a jeho hlavní úkoly:

- Odběr a kultivace mikroskopických hub v bezprostředním okolí člověka (ve vodě, ve vzduchu a v půdě).
- Ověřování výskytu mikroskopických hub.
- Určování mikroskopických hub izolovaných z odebraných vzorků podle makroskopických znaků.
- Pořízení snímků kolonií izolovaných hub.

¹⁰ Viz http://www.nuv.cz/file/433_1_1/

Seznámíme žáky se zásadami bezpečnosti práce v laboratorním cvičení (viz Zásady bezpečnosti práce v mikrobiologické laboratoři) a zkontrolujeme u všech žáků ochranný oděv a ochranné pomůcky.

Představíme žákům základní mikrobiologické pomůcky (Petriho misky s agarem, mikrobiologické kličky a jehly), způsob jejich použití a místo, kam odkládat použitý materiál.

Popíšeme složení kultivačního média, předvedeme způsob inokulace a princip kultivace (kultivace probíhá několik dní, zpracování a vyhodnocení cvičení bude probíhat po týdnu další vyučovací hodinu).

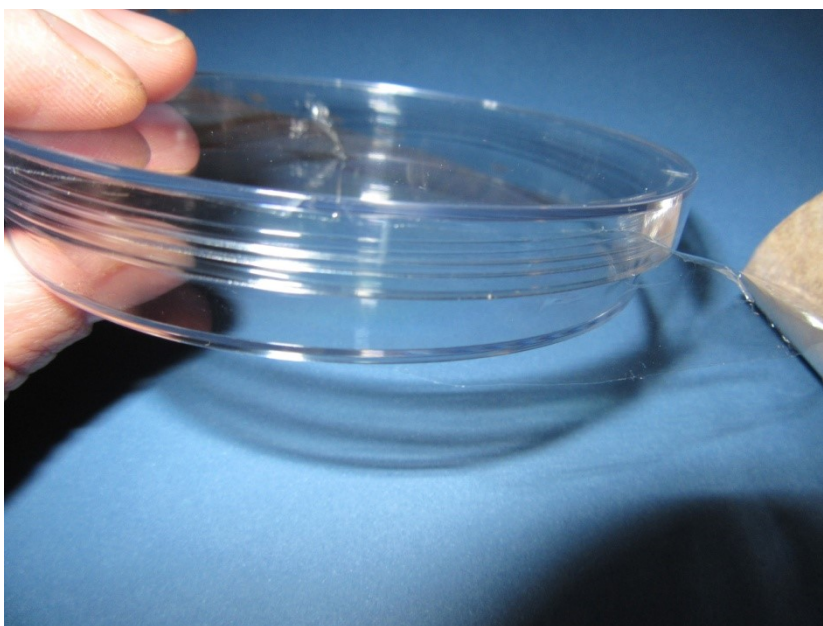
Motivace

Zeptáme se žáků, kde by ve svém okolí hledali mikroskopické houby. Žáci by měli být srozuměni s tím, že se mikroskopické houby vyskytují v našem bezprostředním okolí a mohou být tedy nejen na potravinách nebo na zdech, ale také na rostlinách, na předmětech v našem okolí, v půdě, ve vodě, a dokonce ve vzduchu, přestože je nevidíme. Navrhne žákům, že se o pravdivosti tohoto tvrzení lze přesvědčit jednoduchými pokusy.

Vysvětlení úloh

První úlohou je ověření výskytu mikroskopických hub ve vzduchu. Tato jednoduchá úloha vyžaduje přibližně 30 minut, než sedimentační metodou získáme potřebné vzorky mikroskopických hub ze vzduchu, proto je výhodné začít právě touto úlohou.

Vysvětlíme žákům princip sedimentační metody, kterou využijeme ke sběru vzorků. Úkolem žáků bude rozmístit své Petriho misky s živným médiem v místnosti, ve které nebudou přítomny žádné osoby, a nechat ji otevřenou po dobu 30 minut. Po-té Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 1) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.



Obrázek 24 - Potravinová fólie uzavírající Petriho misku (zdroj: archiv autora)

Druhou úlohou je ověření výskytu mikroskopických hub v půdě. K této úloze je potřeba donést vzorek půdy. Záleží na rozhodnutí učitele, jestli žákům materiál ke zkoumání donese nebo jim dá za úkol si půdu přinést. Časově se jedná o velice nenáročnou úlohu, na přímou práci postačí 5–10 minut. Upozorníme žáky na bezpečnost při práci s kahanem, který mají k dispozici pro vyžihání pinzety.

Vysvětlíme žákům princip metody přímého výsevu, kterou inokulujeme Petriho misky s živným médiem. Úkolem žáků bude inokulovat Petriho misky s živným médiem přímo drobnými zrníčky zeminy. K tomu musí použít vyžíhanou, ale ne horkou, pinzetu. Po inokulaci musí žáci Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 18) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Třetí úlohou je ověření výskytu mikroskopických hub ve vodě. Tato úloha je opět časově nenáročná, přímá práce zabere přibližně 5–10 minut.

Úkolem žáků bude nabrat do zkumavky s víčkem vzorek vody z vodovodu, vzorek nechat 30 minut odstát a následně vzorek rozetřít na živné médium pomocí mikrobiologické kličky.

Po inokulaci musí žáci Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 18) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky (příloha x). Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti, proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu.

Po ukončení kultivace, cca po týdnu, žáci nafotí narostlé kolonie a společně s vyučujícím přibližně určí podle makroskopických znaků rody hub (k určování lze využít Klíč k určování bezcévných rostlin nebo Atlasy mikroskopických hub z PřF UK).

Závěr cvičení

Žáci prezentují fotografie narostlých kolonií a diskutují své výsledky s ostatními žáky ve třídě. Odpoví, zda se mikroskopické houby opravdu vyskytují ve vodě, ve vzduchu a v půdě.

3.6.1 Druhá praktická úloha „Mykorrhizní houby“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Symbióza mezi kořeny rostlin a mikroskopickými houbami“ a jeho hlavní úkoly:

- Ověřování symbiotické interakce mezi kořeny rostlin a mikroskopickými houbami.
- Fotografie bylinek před a po skončení pokusu.

Upozorníme žáky na bezpečnost práce s horkou vodou.

Pokud jsme žákům k vypracování vybrali pouze tuto jednotlivou úlohu postupujeme po úvodu hodiny seznámením se zásadami bezpečnosti a s pomůckami, viz První laboratorní cvičení.

Představíme žákům pomůcky (Symbivit bylinky, bylinky, substrát pro bylinky) a vysvětlíme způsob přesazení bylinek.

Popíšeme složení Symbivitu, předvedeme způsob aplikace a vysvětlíme jeho účinky.

Motivace

Zeptáme se žáků, kdo si myslí, jestli jsou houby prospěšné nebo nebezpečné ostatním rostlinám. Vzniknou-li nám dvě skupiny s opačným názorem, využijeme toho a vyhlásíme soutěž o nejvyšší a nejsilnější bylinku. Skupina, která si myslela, že jsou houby rostlinám nebezpečné, bude pěstovat bylinky bez použití mykorrhizních hub. Druhá skupina, která si myslela, že houby jsou rostlinám prospěšné, bude pěstovat bylinky s použitím mykorrhizních hub. Po 14 dnech bylinky přeměříme a vyhlásíme vítěze.

Vysvětlení úlohy

Časová dotace: 10–15 minut přesazení bylinek a aplikace přípravku Symbivit; 21 dní pěstování bylinek

Zakoupíme bylinky od jednoho druhu alespoň 4 rostliny

Bylinky přesadíme do truhlíků/květináčů.

Do substrátu k jedné polovině připravených bylinek přidáme Symbivit bylinky podle návodu na obalu, druhá polovina bude kontrolní bez Symbivitu. Nezapomeňte vše pečlivě označit štítky.

Bylinky pravidelně zaléváme a na konci změříme a fotografujeme.

Cílem této praktické úlohy je ověření symbiotické interakce mezi kořeny rostlin a mikroskopickými houbami. Jedná se o dlouhodobý úkol, který vyžaduje pravidelnou péči o zasazené bylinky.

Vysvětlíme žákům, co je mykorrhiza, kterou budeme odebírat vzorky. Úkolem žáků bude rozmístit své Petriho misky s živným médiem v místnosti, ve které nebudou přítomny žádné osoby, a nechat ji otevřenou po dobu 30 minut. Po-té Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 1) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky. Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti, proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu.

Po uplynutí plánované doby růstu bylinek žáci odečtou výšku jednotlivých rostlinek a zapíší hodnoty to tabulky v protokolu pro žáky (příloha 1). Určí rozdíl výšky jednotlivých bylinek mezi 1. a 21. dnem. Vytvoří graf

Závěr cvičení

Žáci prezentují výsledky měření a diskutují své výsledky s ostatními žák ve třídě. Potvrdí, že mykorhizní houby pozitivně působí na růst bylinek.

3.6.1 Třetí praktická úloha „Fermentace“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Účast mikroskopických hub na fermentaci vybraných potravin“ a jeho hlavní úkoly:

- Seznámení s vláknitými mikroskopickými houbami využívanými v potravinářském průmyslu.
- Odběr a kultivace mikroskopických hub z potravin.
- Určování mikroskopických hub izolovaných z odebraných vzorků podle makroskopických znaků.
- Pořízení snímků kolonií izolovaných hub.

Pokud jsme žákům k vypracování vybrali pouze tuto jednotlivou úlohu, postupujeme po úvodu hodiny seznámením se zásadami bezpečnosti a s pomůckami, viz První laboratorní cvičení.

Motivace

Žáci byli v předchozích úlohách seznámeni s tím, že se mikroskopické houby vyskytují všude kolem nás. A jsou obeznámeni s tím, že můžeme využívat houby v přípravných podporujících růst rostlin. Jistě ví, že vláknité mikroskopické houby mohou člověku také škodit. Zeptáme se žáků, jestli existují vláknité mikroskopické houby, které jsou využívány

v potravinářském průmyslu a jsou člověku prospěšné. Vedeme diskusi tak, aby žáci zmínili alespoň hermelín, příp. i nivu a salám.

Vysvětlení úloh

Časová dotace: 10-15 minut; 7 dní kultivace (*Penicillium nalgiovense* kultivujeme 14 dní)

Úkolem žáků bude odebrat vzorky mikroskopických vláknitých hub z potraviny a naočkovat jimi pomocí mikrobiologické jehly Petriho misky s agarem. V rámci tréninku necháme žáky očkovat do Petriho misky zespoda, otočené dnem vzhůru. Tento postup se užívá v případě inokulace sporulujících hub, aby se spory při očkování nerozptýlily po celé půdě. Po inokulaci musí žáci Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 18) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky (příloha 1). Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti, proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu.

Po ukončení kultivace, cca po týdnu, žáci nafotí narostlé kolonie a společně s vyučujícím přibližně určí podle makroskopických znaků rody hub (k určování lze využít Klíč k určování bezcévných rostlin nebo Atlasy mikroskopických hub z PřF UK).

Závěr cvičení

Žáci prezentují fotografie narostlých kolonií a diskutují své výsledky s ostatními žáky ve třídě. Odpoví, zda se mikroskopické houby opravdu vyskytují ve vodě, ve vzduchu a v půdě.

3.6.1 Čtvrtá praktická úloha „Termorezistence hub“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Termorezistence hub“ a jeho hlavní úkoly:

- Odběr mikroskopických hub z tepelně ošetřeného vzorku bylinek
- Kultivace termorezistentních mikroskopických hub.

- Určování rodů termorezistentních mikroskopických hub podle makroskopických znaků.
- Pořízení snímků kolonií izolovaných hub.

Pokud jsme žákům k vypracování vybrali pouze tuto jednotlivou úlohu postupujeme po úvodu hodiny seznámením se zásadami bezpečnosti a s pomůckami, viz První laboratorní cvičení.

Motivace

Uvaříme destilovanou vodu v rychlovarné konvici. Před žáky zalijeme vroucí vodou připravené bylinky v kádince a přiklopíme ji víčkem. Zeptáme se žáků, co se právě stalo s mikroorganismy, které v bylinkách mohli být. Většina žáků odpovídá, že je vroucí voda zničila. Navrhne jim, že se dá snadno ověřit, jestli vroucí voda dokáže zničit všechny mikroorganismy v bylinkách. A provedeme pokus.

Vysvětlení úloh

Časová dotace: 5 minut + 7 dní kultivace

V této úloze je úkolem žáků zjistit, zda některé spory mikroskopických hub přežijí vystavení vroucí vodě. Tato úloha není časově náročná, přímá práce žáků zabere přibližně 5 minut.

Úkolem žáků bude suspenzi (bylinky + vroucí voda) připravenou vyučujícím vzorek rozetřít na živné médium pomocí mikrobiologické kličky. Po-té Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 1) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky (příloha 1). Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti, proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu.

Po ukončení kultivace, cca po týdnu, žáci nafotí narostlé kolonie a společně s vyučujícím přibližně určí podle makroskopických znaků rody hub (k určování lze využít Klíč k určování bezcévných rostlin nebo Atlasy mikroskopických hub z PřF UK).

Závěr cvičení

Žáci prezentují fotografie narostlých kolonií a diskutují své výsledky s ostatními žáky ve třídě. Odpoví, zda je možné, aby vláknité mikroskopické houby přežily vystavení vroucí vodě.

3.6.1 Pátá praktická úloha „Chytrá houba“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Působení "Chytré houby" na růst vláknitých mikroskopických hub na zdech" a jeho hlavní úkoly:

- Kultivace vláknitých mikroskopických hub z napadené zdi.
- Prokázání účinků „Chytré houby“ (*Pythie oligandrum*) na růst vláknitých mikroskopických hub.
- Určování rodu mikroskopické houby podle makroskopických znaků.
- Pořízení snímků kolonií izolovaných hub.

Pokud jsme žákům k vypracování vybrali pouze tuto jednotlivou úlohu postupujeme po úvodu hodiny seznámením se zásadami bezpečnosti a s pomůckami, viz První laboratorní cvičení.

Motivace

Zeptáme se žáků, jestli se již setkali s „plísněmi“ rostoucími na zdech. Jistě se ve třídě najde žák, který ano. Pobavíme se, jakým způsobem proti „plísním“ lze bojovat a jak se jejich nepříjemné přítomnosti zbavit. V domácnostech je běžné používat Savo proti plísním. „Chytrá houba“ do povědomí běžné společnosti ještě zcela nepronikla. Vysvětlíme žákům, že existují mikroskopické houby, které se jinými houbami živí a že toho můžeme využít v boji proti houbám, které pro nás představují riziko. Vyučující může žákům pustit motivační video.

Vysvětlení úloh

V této úloze je úkolem žáků zjistit, zda „Chytrá houba“ *Pythium oligandrum* dokáže potlačovat růst vláknitých mikroskopických hub.

Časová dotace: 15–20 minut

Úkolem žáků bude aplikovat na živné médium „Chytrou houbu“ a inokulovat Petriho misky s živným médiem vzorkem vláknité mikroskopické houby ze zdi. K tomu musí použít sterilní mikrobiologickou jehlu nebo kličku. Po inokulaci musí žáci Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 18) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky (příloha 1). Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti, proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu.

Po ukončení kultivace, cca po týdnu, žáci nafotí narostlé kolonie a společně s vyučujícím přibližně určí podle makroskopických znaků rod mikroskopické houby, která jim na agaru narostla (k určování lze využít Klíč k určování bezcévných rostlin nebo Atlasy mikroskopických hub z PřF UK).

Závěr cvičení

Žáci prezentují fotografie narostlých kolonií a diskutují své výsledky s ostatními žáky ve třídě. Odpoví, zda „Chytrá houba“ dokáže zamezit růstu vláknitých mikroskopických hub.

3.6.1 Šestá praktická úloha „Houby na potravinách“

V úvodu hodiny žákům vysvětlíme téma celého laboratorního cvičení „Houby na potravinách“ a jeho hlavní úkoly:

- Odběr a kultivace vláknitých mikroskopických hub z napadených potravin.

- Určování rodů mikroskopické houby podle makroskopických znaků.
- Pořízení snímků kolonií izolovaných hub.

Pokud jsme žákům k vypracování vybrali pouze tuto jednotlivou úlohu postupujeme po úvodu hodiny seznámením se zásadami bezpečnosti a s pomůckami, viz První laboratorní cvičení.

Motivace

Ukážeme žákům houby narostlé na citrónu a chlebu. Zeptáme se, kolik různých druhů může na potravině narůst. Žáci se nejspíš pokusí kolonie počítat přímo na „plesnivé“ potravině. Navrhne jim, že můžeme vláknité mikroskopické houby kultivovat na agaru a potom přibližný počet druhů spočítat snáze.

Vysvětlení úloh

V této úloze je úkolem žáků přesvědčit se, že na potravinách mohou růst vláknité mikroskopické houby a po kultivaci se pokusí určit nejběžnější rody hub, které se na potravinách vyskytují.

Časová dotace: 15-20 minut

Úkolem žáků bude inokulovat Petriho misky s živným médiem vzorky vláknitých mikroskopických hub ve formě suspenze. Vzhledem k polétavosti spor doporučuji pro bezpečnou práci žáků s vláknitými mikroskopickými houbami připravit suspenzi skládající se z vláknité mikroskopické houby a destilované vody. K inokulaci žáci použijí sterilní mikrobiologickou kličku nebo kapátko. Po inokulaci musí žáci Petriho misky neprodyšně uzavřít, k tomu lze využít proužek potravinové fólie, kterým žáci zajistí místo styku obou částí Petriho misky (obr. 18) a popsat (živné médium, datum, název vzorku, jméno žáka). Následně kultivovat ve tmě po dobu 7 dnů, pokud možno při teplotě 25 °C. Pokud tuto teplotu nelze zajistit, necháme žáky umístit Petriho misky na místo, kde dokážeme zajistit, co nejvyšší teplotu.

Vlastní práce žáků

Žáci pracují ve dvojicích podle protokolů, viz Protokoly pro žáky (příloha 1). Jedná se o žáky šestých tříd, kteří s laboratorními pracemi nemají téměř žádné zkušenosti,

proto nakopírované protokoly ušetří hodně času a usnadní jim práci s vypracováním protokolu. Vyučující po celou dobu trvání úlohy práci kontroluje a žákům pomáhá.

Po ukončení kultivace, cca po týdnu, žáci nafotí narostlé kolonie a společně s vyučujícím přibližně určí podle makroskopických znaků rody mikroskopických hub, které jim na agaru narostly (k určování lze využít Klíč k určování bezcévných rostlin nebo Atlasy mikroskopických hub z PřF UK) a zkusí spočítat kolik různých druhů vláknitých mikroskopických hub na potravíně rostlo.

Závěr cvičení

Žáci prezentují fotografie narostlých kolonií a diskutují své výsledky s ostatními žáky ve třídě. Společně určíme rody kolonií vláknitých mikroskopických hub, které na živné půdě po kultivaci narostly.

4 Diskuse

Cílem mé diplomové práce bylo navrhnout praktická cvičení, která obeznámí žáky s výskytem, využitím a některými vlastnostmi vláknitých mikroskopických hub a vybraná cvičení ověřit ve výuce.

Navržená praktická cvičení je vhodné zařadit do vzdělávací oblasti Člověk a příroda do vzdělávacího oboru Přírodopis. V jejím rámci odpovídá vzdělávacímu obsahu Biologie hub a učivu houby bez plodnic. Praktické úlohy je vhodné zařadit jako doplnění teoreticky probírané látky této oblasti přírodopisu.

Před samotným návrhem praktických cvičení byla provedena rešerše učebnic a pracovních sešitů se schvalovací doložkou z r. 2016. Ředitelé škol si mohou pro výuku zvolit i učebnice bez platné schvalovací doložky. Nicméně v této práci jsem se zaměřila výhradně na učebnice, které schvalovací doložku z r. 2016 získaly a měly by tedy obsahovat veškeré učivo dané Rámcovým vzdělávacím programem pro základní vzdělávání (rok). V učebnicích a pracovních sešitech přírodopisu pro základní školy jsou laboratorní práce omezeny na vypěstování mikroskopické vláknité houby na pečivu, případně s drobnou úpravou na jiné potraviny a mikroskopování znaků. To bylo také prvotním impulzem při volbě tématu diplomové práce a jejího cíle, tedy rozšíření nabídky jednoduchých praktických cvičení snadno proveditelných ve školním prostředí.

Jedním ze základních problémů práce s mikroorganismy ve škole je bezpečnost práce. Vzhledem k tomu, že jsou mikroskopické houby původci alergií a mykóz, je nutné přistupovat k práci s vláknitými mikroskopickými houbami obezřetně. Pro žáky 6. ročníků základních škol je práce v laboratoři a s mikroskopem novinkou. Přímá práce s vláknitými mikroskopickými houbami může být proto delší, než je nezbytně nutné a než původně učitel plánoval. Chybějící zručnost žáků a tím způsobené prodlevy v jejich vlastní činnosti může způsobit zvýšenou koncentraci spor z kultivovaných organismů ve vzduchu a tím vyšší riziko působení mykoalergenů na žáky. Z těchto důvodů byly navrhovány praktické úlohy tak, aby žáci s poletujícími spory, pokud možno do styku nepřišli, výjimku tvoří spory běžně se vyskytující v ovzduší. V závěru většiny cvičení byly pořizovány snímky kolonií narostlých na živném médiu v Petriho miskách. Abychom se i v tomto případě vyhnuli zbytečnému uvolnění spor vláknitých mikroskopických hub do ovzduší, může pořídit

snímky vyučující mimo čas vyhrazený pro praktikum. V našem případě, kdy je v šestém ročníku pouze 12 žáků, nebylo pro vyučující problém fotografie pořídit. Při větším množství kultur by to mohlo být časově velice náročné. Doporučila bych tedy, aby snímky kolonií pořídili žáci, ale pouze při zavřených Petriho miskách. Aby byla zachována kvalita snímků a bylo možné s nimi dále pracovat, je nutné se předem na tuto možnost připravit a vyzkoušet světlené podmínky, nastavení fotoaparátu a vybrat správný podklad. Pokud ale přece jen dojdeme k závěru, že fotografie otevřených Petriho misek s koloniemi hub pořídí žáci, doporučuji použít roušky a lékařské rukavice. Místnost, ve které chceme praktická cvičení provádět, musí být dobře větratelná. Vyučující musí počítat s charakteristickým zápachem některých hub, který může být u určitých druhů velmi silný (např. *Penicillium camemberti*) a je cítit i přes potravinovou fólii uzavřené Petriho misky. Žáci by měli být upozorněni, aby k Petriho miskám s narostlými kulturami nečichali a pracovali na délku paže. Z ochranných pomůcek by žáci měli mít k dispozici roušky, lékařské rukavice, laboratorní pláště, desinfekci a ochranné štíty v případě, že budou žáci sterilizovat laboratorní sklo. Před uskutečněním praktického cvičení je vhodné připravit zvlášť odpadkový koš na použitý materiál. Použitý materiál a Petriho misky s narostlými kulturami je nutné zlikvidovat v autoklávu, který základní školy nemají k dispozici. Je možné využít autokláv na oddělení mykologie Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, kde jsou velmi ochotní a materiál tam stačí zaslat.

Materiál k praktickým cvičením je běžně dosažitelný a vyučující by neměli mít problém s jeho pořízením. Bio Repel, přípravek s druhem *Pythium oligandrum*, lze zakoupit za 219,- Kč + přibližně 100,- Kč poštovného na internetových stránkách výrobce <https://www.chytrahouba.eu>. Symbivit bylinky, přípravek s mykorhizními houbami rodu *Glomus*, lze zakoupit za 85,- Kč + přibližně 120,- Kč poštovného na internetových stránkách výrobce <https://www.symbiom.cz/>. Spolu s přípravkem Symbivit bylinky je nutné zakoupit substrát pro bylinky a živé bylinky připravené k přesazení např. levandule, rozmarýn, máta, bazalka, tymián, mateřídouška, majoránka, šalvěj, petržel a jiné aromatické rostliny. Symbivit bylinky není určen pro rostliny z čeledi brukvovitých a merlíkovitých. Pitná voda, vzduch a půda jsou materiály, které není nutné shánět předem. Sýry typu niva a camembert lze běžně zakoupit v potravinách, stejně jako trvanlivý fermentovaný salám, který může a nemusí být českého původu. Z českých fermentovaných salámů máme k dispozici např.: Herkules,

Lovecký salám, Paprikáš, Poličan, Uherský salám, Kostelecký uherák, Křemešník a Čajovka. Chléb a citróny můžeme vybírat libovolně, protože na nich dochází k nárůstům vláknitých mikromycetů vždy. Léčivé bylinky pro zjišťování termorezistentních mikroskopických hub volíme sušené a můžeme použít jakékoli máme právě k dispozici (lípa, heřmánek, šalvěj, dobromysl atd.).

Pomůcky potřebné k praktickým cvičením nejsou běžnou výbavou laboratoří základních škol a je tedy nutné je před začátkem pořídit. Náklady na pomůcky nejsou vysoké, ale na rozdíl od laboratorních pomůcek používaných na běžné laboratorní práce, je lze využít jen jednorázově. Možnou variantou pro opakované použití by bylo domluvit se na pracovišti s autoklávem, jestli by vysterilizované pomůcky mohli vrátit k opětovnému použití. Potom je nutné nakupovat pomůcky, které je možné sterilizovat v autoklávu. Příklady pomůcek a jejich pořizovacích cen: Sterilní mikrobiologické klíčky 10 µl/jehly v balení po 20 ks (cena 20,- Kč), pasteurova pipeta 3 ml (cena 7,- Kč), mikrozkuhavky typu Eppendorf 2 ml v balení po 1000 ks (cena 560,- Kč), petriho misky plast v balení po 25 ks (cena 60,- Kč).

Zásadní problém může nastat při shánění živných půd. Existují živné půdy, které je možné připravit za poměrně zanedbatelné náklady např. bramborovo-mrkvový agar. Ale příprava živné půdy ve školním prostředí může způsobit pozdější problémy s kontaminací kultivovaných mikroskopických hub a úplným znehodnocením pokusu. Další variantou je zakoupení již hotových Petriho misek s živným médiem, které se dají koupit po 10 ks. Lze zakoupit již připravená prášková živná média, ty jsou dodávány ve větších balení a pro potřeby základní školy se příliš nehodí. Další možností, která byla využita v praktických cvičeních této diplomové práce, je objednat Petriho misky s živným médiem z projektu Přírodovědci.cz. Služba je zdarma, v případě, že je v projektu škola zaregistrována a je-li objednávka Petriho misek jednou ze dvou aktivit, které projekt nabízí školám ročně zdarma.

Dalším problémem při školních pokusech je dodržení podmínek kultivace. Označené Petriho misky s naočkovanou půdou se kultivují v temnu po dobu několika dnů při určitých teplotách, doba a teplota kultivace je charakteristická pro každý jednotlivý druh. V laboratorních podmínkách se mikroskopické houby kultivují v termostatech. Ve školním prostředí není obvyklé mít termostat k dispozici. Pokud snížíme teplotu kultivace, musíme prodloužit její délku. Během praktických cvičení na základní škole, jsme nemohli zaručit

konstantní teplotu. Vlákňité mikroskopické houby tedy byly vystaveny přes den vyšším a v noci nižším teplotám. Aby byl zajištěn nárůst dostatečně velkých kolonií mikroskopických hub během praktických cvičení žáků, byl testován jejich růst za stejných podmínek. Pro většinu druhů mikromycet bylo 7 dní dostatečných, aby narostly kolonie, které bylo možné určovat do rodů podle jejich makroskopických znaků. U druhu *Penicillium nalgiovense* byla prodloužena doba kultivace na 14 dní.

Použité metody v praktických cvičeních byly upraveny na základě možností žáků a vybavení laboratoří na základní škole. Některé postupy, které se běžně provádějí přímou inokulací mycelia na živné médium Petriho misek, byly upraveny, tak aby žáci nepřišli do kontaktu s poléťavými spory. Z mycelií odebraných ze substrátu a destilované vody byly vytvořeny suspenze, čímž se riziko výskytu poléťavých spor snížilo na nulu. Další úpravou zavedených metod byl postup v praktickém cvičení testujícím termorezistenci vláknitých mikroskopických hub. Varianty s různými teplotami působícími na bylinky byly zcela vynechány a nebyly ani testovány z důvodu názornosti. Žáci si teplotu 80 °C nedokáží představit, často uvádí, že v tak horké vodě ještě udrží ruku. S teplotou 100 °C už je to jiné, ví, že se jedná o teplotu varu vody a také ví, že při takové teplotě se ničí většina mikroorganismů. Proto je v této úloze použita právě voda o teplotě 100 °C. Abychom dosáhli vyšší míry přežití spor bylo použito menší množství vody (100 ml) než by bylo použito v případě vody s teplotou 80 °C.

Praktická cvičení je možné dále modifikovat pro využití na středních školách, kde lze zapojit již přípravu mikroskopických preparátů a tím prohloubit znalosti o mikroskopických vláknitých houbách a laboratorní dovednosti.

5 Závěr

Cílem předložené diplomové práce bylo navrhnout praktická cvičení, která obeznámí žáky s výskytem, využitím a některými vlastnostmi vláknitých mikroskopických hub a vybraná cvičení ověřit ve výuce.

V teoretické části diplomové práce byla zpracována odborná literatura nutná pro návrh praktických úloh. Kapitoly se zabývají stručnou charakteristikou vláknitých mikroskopických hub. Tento přehled základních informací o mikroskopických houbách, mohou učitelé také využít jako informační zdroj při přípravě na praktické cvičení. V této části je zařazena stručná charakteristika použitých výukových metod.

Praktická část byla zaměřena na návržení jednotlivých úloh, které budou v laboratorním cvičení využity a na jejich ověření. V rámci ověření použitelnosti praktických úloh ve výuce byly navržené úlohy prakticky ověřeny na ZŠ ve Vinařicích, okres Kladno. Metodické návody vznikaly během ověřování navrhovaných praktických cvičení na základní škole. V poslední fázi praktické části byly vytvořeny podrobné návody pro učitele.

Praktická cvičení si kladou za cíl doplnit ve výuce absenci laboratorních prací k tématu vláknité mikroskopické houby. Rádi bychom, aby tato práce přispěla k obeznámení žáků s všudypřítomnými vláknitými mikroskopickými houbami.

Na závěr lze konstatovat, že cíle stanovené pro tuto práci byly splněny.

6 Seznam použitých informačních zdrojů

ADL, Sina M., 2012. *The Revised Classification of Eukaryotes*. J. Eukaryot. Microbiol. **59**(5), 429-493.

ALBRECHTOVÁ, Jana, 2011. *Praktikum fyziologie rostlin* [online]. Praha: UK [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/edmunz/praktika_fr/mb130c74/navody/8_mykorhiza.pdf

Bio Repel [online]. Semily: Chytrá-houba, 2011 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://www.chytra-houba.eu/8,bio-repel.html>

BROŽKOVÁ, Iveta, Petra MOŤKOVÁ, Marcela PEJCHALOVÁ a David ŠILHA, 2016. *Laboratoře z potravinářské mikrobiologie*. Pardubice: Univerzita Pardubice. ISBN 978-80-7395-997-5.

Catalogue of Life [online]. Leiden: Species 2000 Secretariat, ©2015 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://www.catalogueoflife.org/>

ČERNÍK, Vladimír, Jan VANĚK, Zdeněk MARTINEC a Marta Hamerská. *Přírodopis pro 6. ročník základní školy, Zoologie a Botanika*. Praha: SPN – pedagogické nakladatelství, 2007. ISBN 978-80-7235-576-1.

DANČÁK, Martin a Michaela SEDLÁŘOVÁ. *Přírodopis 6: vývoj života na Zemi, obecná biologie, biologie hub: učebnice pro 6. ročník základní školy*. Olomouc: Prodos, 2011. ISBN 978-80-7230-257-4.

DOBRORUKA, Luděk J. a Martina BALZAROVÁ. *Přírodopis I pro 6. ročník základní školy*. 3. vyd. Ilustroval Zdeněk BERGER. Praha: Scientia, 2010. ISBN 978-80-86960-59-3.

DVOŘÁKOVÁ, Lenka, 2008. *Kontaminace ovoce a zeleniny plísněmi*. Brno.

FASSATIOVÁ, Olga, 1979. *Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.

FRÉBORTOVÁ, Kateřina, 2017. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. Dostupné také z: http://www.rustreg.upol.cz/_materials/microbiology/skripta_Laboratorni-cviceni-z-mikrobiologie_2017.pdf

GRAVESEN, Suzanne, Jens C. JENS C. FRISVAD a Robert A. ROBERT A. SAMSON, 1994. *Microfungi*. Copenhagen, Denmark: Munksgaard. ISBN 87-161-1436-1.

GRÉGROVÁ, Nina. *Mykotoxiny produkované plísněmi v potravinách*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010.

HLAVÁČKOVÁ, Martina, 2008. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie se zaměřením na mediální a enviromentální výchovu na SŠ*. Praha. Diplomová práce.

Jak funguje *mykorhiza*? [online]. Lanškroun: Symbiom, ©2017 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://www.symbiom.cz/cs/m-4-jak-funguje-mykorhiza>

KALHOTKA, Libor, 2013. *Plísně* [online]. Brno: Mendelova univerzita [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/21/21-plisne.pdf cit. podle Nelson, Tousson, Marasaa (1983)

KALHOUS, Zdeněk, 2002. *Školní didaktika*. Praha: Portál. ISBN 80-7178-253-x.

KLÁNOVÁ, Kateřina, 2013. *Plísně v domě a bytě: odstraňování a prevence*. Praha: Grada. Profi. ISBN 978-80-247-4790-3.

KOUKOL, Ondřej, 2011. Mikroskopické vřeckovýtrusné houby na opadu jehličnatých dřevin. *Živa*. **2011**(1), s. 7.

KUBÁTOVÁ, Alena, 2006. *Atlas mikroskopických saprotrofních hub (Ascomycota)* [online]. Praha: UK, 2006 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-mikroskopickyh-saprotrofnich-hub-ascomycota>

KUBÁTOVÁ, Alena, 2009. *Atlas zygomycetů* [online]. Praha: UK [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-zygomycetu>

KUBÁTOVÁ, Alena, 2016. *Mykologie (pro učitele): Askomycety* [online]. Praha: UK [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://is.cuni.cz/studium/predmety/index.php?do=download&did=119156&kod=MB120P124>

LAICHMANOVÁ, Alena, 2014. *Lékařská mykologie – cvičení* [online]. Brno: MU [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2014/B3390c/um/Lekarska_mykologie_cviceni.pdf

MALÍŘ, František a Vladimír OSTRÝ, 2003. *Vláknité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. ISBN 80-701-3395-3.

Miniatlas mikroorganismů [online]. Brno: MU, 2006 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/pen-roq.htm>

Miniatlas mikroorganismů [online]. Brno: MU, 2006 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/rhi.htm>

Miniatlas mikroorganismů [online]. Brno: MU, 2006 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/uvod-h.htm>

Miniatlas mikroorganismů: Alternaria alternata [online]. Brno: MU, 2013 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/alt.htm>

Mykorhizní houby pro plodovou zeleninu [online]. Soběslav: Rašelina, ©2015 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://eshop.raselina.cz/z17338-mykorhizni-houby-pro-plodovou-zeleninu-750g>

OSTRÝ, Vladimír, 2000. *Mikroskopické vláknité houby: Účinky mykotoxinů na lidské zdraví*. Vesmír. **79**(4), 187-189.

- OSTRÝ, Vladimír, 2014. *Plísň v potravinách: charakteristika plísní* [online]. Hradec Králové: KHSHK [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: http://www.khshk.cz/e-learning/kurs7/kapitola_1__charakteristika_plsn2.html
- PELIKÁNOVÁ, Ivana. *Přírodopis 6 pro základní školy a víceletá gymnázia*. Plzeň: Fraus, 2014. ISBN 978-80-7489-009-3.
- PITT, John I. a Ailsa D. HOCKING, 2009. *Fungi and food spoilage*. 3rd ed. New York: Springer. ISBN 978-0-387-92206-5.
- PRÁŠIL, Karel, 2010. *Botanika bezcévných rostlin* [online]. Praha: UK [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://botany.natur.cuni.cz/prasil/odborna-pred/7.%20lekce%20ODB%202010.pdf>
- PRAŽÁKOVÁ, Kateřina, 2008. *Termorezistentní plísň v prostředí*. Brno.
- PROKINOVÁ, Evženie, 2004. *Druhy rodu Alternaria: původci chorob rostlin, producenti toxinů a alergenů* [online]. Praha-Ruzyně: VÚRV [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://www.phytopsanitary.org/projekty/2004/vvf-04-04.pdf>
- Rámcový vzdělávací program pro základní vzdělávání*, 2013. [online]. Praha: MŠMT. 142 s. [cit. 2017-04-19]. Dostupné z http://www.nuv.cz/file/433_1_1/
- SCAZZOCCHIO, Claudio, 2014. *Fungal biology in the post-genomic era*. *Fungal Biology and Biotechnology*. 1(7), 1-18.
- SKÝBOVÁ, Jana. *Obecný přírodopis*. Ilustroval Andréa KORBELÁŘOVÁ. Praha: Septima, 2008. ISBN 978-80-7216-251-2.
- SVRČEK, Mirko, 1976. *Klíč k určení bezcévných rostlin: sinice, řasy, hlenky, houby, lišejníky a mechorosty*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství.
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila, 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia. ISBN 80-200-1024-6.
- ŠIMONOVÁ, Petra a Jan ČINČERA. *Ekologická a environmentální výchova: pro 2. stupeň ZŠ a odpovídající ročníky víceletých gymnázií*. Plzeň: Fraus, 2013-. ISBN 978-80-7238-452-5.

ŠIMŮNEK, Jan, 2003. Mykotoxiny: Termorezistentní houby [online]. Brno: MU [cit. 2017-04-19]. Dostupné z:

<http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/houby/mtterm.htm>

ŠIMŮNEK, Jan, 2004. *Plísňe a mykotoxiny* [online]. Brno: MU, 2004 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf

ŠIMŮNEK, Jan, Danuše LEFNEROVÁ, Alena KUBÁTOVÁ, Jana CHALOUPKOVÁ, Karel PRÁŠIL, Jindra PAVELKOVÁ a Vít HUBKA, 2015. *Mykologické vyšetření knih a prostředí knihovny benediktinského kláštera v Rajhradě*. Brno: Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-8069-0.

VALIŠOVÁ, Alena a Hana KASÍKOVÁ, 2007. *Pedagogika pro učitele*. Praha: Grada. Pedagogika (Grada). ISBN 978-80-247-1734-0.

VLKOVÁ, Eva a Vojtěch RADA, 2013. *Cvičení z potravinářské mikrobiologie: pro posluchače FAPPZ*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. ISBN 978-80-213-2402-2.

YADAV, Dil Raj et al, 2015. Three New Records of *Mortierella* Species Isolated from Crop Field Soil in Korea. *Mycobiology* [online]. **43**(3), 203-209 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.3.203>

<https://www.youtube.com/watch?v=53ooEYJYK7w&t=41s>

7 Seznam příloh

Příloha 1 – Protokoly pro žáky

Příloha 2 – Pracovní listy s autorským řešením

Příloha 3 – Ukázka vyplněných pracovních listů

8 Přílohy

8.1 Příloha 1: Protokoly pro žáky

Laboratorní práce č. 1				
Mikroskopické vláknité houby				
Téma:	MIKROSKOPICKÉ HOUBY V PROSTŘEDÍ			
Jméno a příjmení:				
Třída:		Datum hodnocení:		
Školní rok:		Hodnocení:		
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:		
Zadání:	Zjistěte, jestli se mikroskopické houby nacházejí i ve vašem bezprostředním okolí (ve vodě, ve vzduchu i v půdě).			
Pomůcky:				
Materiál:				
Postup:				
Řešení:		VODA	VZDUCH	PŮDA
	Počet kolonií			
	Počet druhů kolonií			
	Rody kolonií			
Závěr:				

Laboratorní práce č. 2

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	MYKORHIZNÍ HOUBY				
Jméno a příjmení:					
Třída:		Datum hodnocení:			
Školní rok:		Hodnocení:			
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:			
Zadání:	Podporují mykorhizní houby růst bylinek?				
Pomůcky:					
Materiál:					
Postup:					
Řešení:	<u>VÝŠKA BYLINEK</u>	<u>S HOUBAMI</u>		<u>BEZ HUB</u>	
		1. bylinka	2. bylinka	3. bylinka	4. bylinka
	1. den (cm)				
	21. den (cm)				
	Rozdíl mezi 1. a 21. dnem (cm)				
	<u>GRAF:</u>				
Závěr:					

Laboratorní práce č. 3

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	FERMENTACE		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Které mikroskopické houby se podílejí na fermentaci vybraných potravin?		
Pomůcky:			
Materiál:			
Postup:			
Řešení:	Počet kolonií z camembertu: Počet kolonií z nivy: Počet kolonií ze salámu: Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub: Vzhled kolonií kultivovaných hub z camembertu: Vzhled kolonií kultivovaných hub z nivy: Vzhled kolonií kultivovaných hub ze salámu:		
Závěr:			

Laboratorní práce č. 4

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	TERMOREZISTENCE HUB		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Přežijí spory mikroskopických hub vystavení teplotě 100 °C?		
Pomůcky:			
Materiál:			
Postup:			
Řešení:	Počet kolonií: Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub: Vzhled kolonií kultivovaných hub:		
Závěr:			

Laboratorní práce č. 5

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	CHYTRÁ HOUBA		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Potvrďte, že „Chytrá houba“ potlačuje růst vláknitých hub na zdech.		
Pomůcky:			
Materiál:			
Postup:			
Řešení:	Fotografie narostlých kolonií. Počet kolonií: Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub: Roste na obrázku vláknitá houba?		
Závěr:			

Laboratorní práce č. 6

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	POTRAVINY		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Vyskytují se na potravinách spory mikroskopických hub?		
Pomůcky:			
Materiál:			
Postup:			
Řešení:	Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub – citrón: Počet kultivovaných druhů – citrón: Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub – chléb: Počet kultivovaných druhů – chléb:		
Závěr:			

8.2 Příloha 2: Pracovní listy s autorským řešením

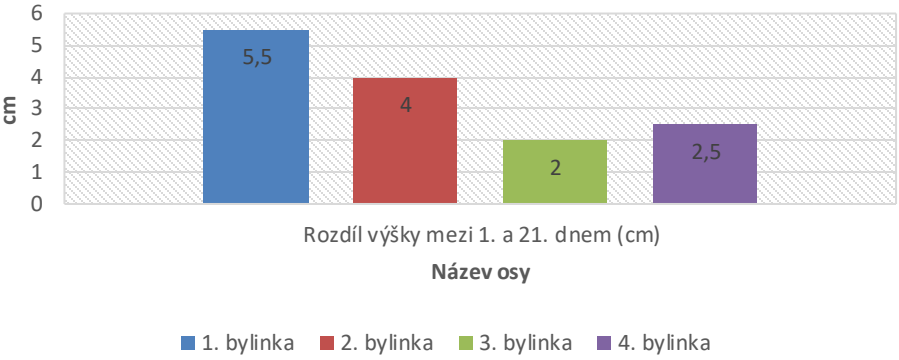
Laboratorní práce č. 1			
Mikroskopické vláknité houby			
Téma:	MIKROSKOPICKÉ HOUBY V PROSTŘEDÍ		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Zjistěte, jestli se mikroskopické houby nacházejí i ve vašem bezprostředním okolí (ve vodě, ve vzduchu i v půdě).		
Pomůcky:	plynový kahan, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, zkumavky s víčkem, pinzety, popisovač slabý, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie		
Materiál:	pitná voda, půda		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. V místnosti, ve které se následující hodinu nebude nikdo pohybovat, umístíme otevřené Petriho misky. Po-té Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, vzduch a typ živné půdy). 2. Zrnka půdy umístíme vyžíhanou pinzetou do vrcholů pomyslného trojúhelníku. Po-té Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, půda a typ živné půdy). 3. Kapátkem očkujeme pitnou vodu z kádinky přímo na misku s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. Po-té Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, voda a typ živné půdy). 4. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. 5. Po 7 dnech kolonie nafotíme, vyplníme tabulku v řešení a určíme rody s pomocí klíče. 		

	VODA	VZDUCH	PŮDA	
Příklad řešení:	Počet kolonií	2	31	2
	Počet druhů kolonií	2	3	4
	Rody kolonií	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	<i>Mortierella</i> , <i>Penicillium</i>
Závěr:	<p>Z vody jsme vypěstovali dva druhy hub, jeden druh z rodu <i>Penicillium</i> a jeden druh z rodu <i>Aspergillus</i>. Ze vzduchu jsme vypěstovali velké množství kolonií různých druhů hub, které nejspíš patří do rodu <i>Penicillium</i> a do rodu <i>Aspergillus</i>. Z půdy jsme vypěstovali bílé kolonie rodu <i>Mortierella</i> a zelené kolonie rodu <i>Penicillium</i>. Výsledky potvrzují, že se mikroskopické houby nacházejí všude kolem nás.</p>			

Laboratorní práce č. 2

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	MYKORHIZNÍ HOUBY				
Jméno a příjmení:					
Třída:		Datum hodnocení:			
Školní rok:		Hodnocení:			
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:			
Zadání:	Podporují mykorhizní houby růst bylinek?				
Pomůcky:	substrát pro bylinky, truhlík, Petriho misky s agarem, pravítko, popisovač slabý, fotoaparát,				
Materiál:	Symbivit bylinky, bylinky				
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vybrat si 4 bylinky – 2x mátu a 2x oregano 2. Připravit 2 truhlíky, substrát a mykorhizní houby 3. Označit truhlík s houbami písmenem „S“ a truhlík bez hub písmenem „B“ 4. Do truhlíku označeného „S“ zasadíme 1x mátu a 1x oregano a ke kořenům přisypeme potřebné množství Symbivitu. 5. Do truhlíku označeného „B“ zasadíme 1x mátu a 1x oregano. 6. Nyní bylinky změříme pravítkem a výšku zaznamenáme do tabulky. 7. Umístíme truhlíky na místo určené vyučujícím a pravidelně zaléváme. 8. Po 21. dnech bylinky znovu přeměříme a výsledky zaznamenáme do tabulky. 9. Spočítáme rozdíl výšky bylinek mezi 1. a 21. dnem a zapíšeme do tabulky. 10. Narýsujeme sloupcový graf, ve kterém zobrazíme rozdíl v růstu bylinek s mykorhizními houbami a bez hub. 				
Příklad řešení:	<u>VÝŠKA BYLINEK</u>	<u>S HOUBAMI</u>		<u>BEZ HUB</u>	
		1. bylinka	2. bylinka	3. bylinka	4. bylinka
	1. den (cm)	11	12	8	9
	21. den (cm)	16,5	16	10	10,5

	Rozdíl mezi 1. a 21. dnem (cm)	5,5	4	2	2,5										
Závěr:	<p style="text-align: center;">Rozdíl v růstu bylinek s mykorhizními houbami a bez nich (cm)</p>  <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Název osy</th> <th>Rozdíl výšky (cm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. bylinka</td> <td>5,5</td> </tr> <tr> <td>2. bylinka</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>3. bylinka</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>4. bylinka</td> <td>2,5</td> </tr> </tbody> </table>					Název osy	Rozdíl výšky (cm)	1. bylinka	5,5	2. bylinka	4	3. bylinka	2	4. bylinka	2,5
Název osy	Rozdíl výšky (cm)														
1. bylinka	5,5														
2. bylinka	4														
3. bylinka	2														
4. bylinka	2,5														
<p>Z výsledků vyplývá, že bylinky s mykorhizními houbami vyrostli za 21 dní více než bylinky bez hub. Potvrdili jsme, že mykorhizní houby podporují růst bylinek.</p>															

Laboratorní práce č. 3

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	FERMENTACE		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Které mikroskopické houby se podílejí na fermentaci vybraných potravin?		
Pomůcky:	hodinky, fotoaparát, Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, pinzety, popisovač slabý, potravinová fólie, destilovaná voda		
Materiál:	hermelín/camembert, plísňový sýr, fermentovaný salám s bílou plísní na povrchu		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ze vzorku substrátu porostlého myceliem (sýry a salám) odebíráme inokulum sterilní klíčkou nebo jehlou a přenášíme přímo na agarovou plotnu. Očkujeme do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. 2. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, potravina a typ živné půdy). 3. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. 4. Po 7 dnech kolonie nafotíme a určíme s pomocí klíče. 		
Řešení:	<p>Fotografie narostlých kolonií.</p> <p>Počet kolonií z camembertu: 3</p> <p>Počet kolonií z nivy: 8</p> <p>Počet kolonií ze salámu: 5</p>		

	<p>Rody kultivovaných mikromycet: <i>Penicillium</i></p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub z camembertu: Bílé nadýchané kulaté mycelium</p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub z nivy: Sametové kolonie, bez rýh, tmavozelené, s bílým třásnitým okrajem. Spodní strana olivově zelená až tmavě černozeleňá.</p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub ze salámu: Vločkovité kolonie, okraj nižší než střed, zpočátku bílé. Na povrchu produkován drobný výpotek oranžově zbarvený.</p>
Závěr:	<p>Fermentaci camembertu zajišťuje <i>Penicillium camemberti</i>.</p> <p>Fermentaci plísňového sýru zajišťuje <i>Penicillium roqueforti</i>.</p> <p>Bílá plíseň na povrchu salámu je <i>Penicillium nalgiovense</i>.</p> <p>Mikroskopické houby jsou důležité pro potravinářský průmysl.</p>

Laboratorní práce č. 4			
Mikroskopické vláknité houby			
Téma:	TERMOREZISTENCE HUB		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Přežijí spory mikroskopických hub vystavení teplotě 100 °C?		
Pomůcky:	Petriho misky s agarem, kádinka, popisovač slabý, destilovaná voda, rychlovarná konvice, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie		
Materiál:	Byliny pro přípravu čajů		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Do vysterilizované kádinky nasypeme bylinky. 2. Vyučující zalije bylinky 100 ml vroucí vodou a překryje sterilním víčkem. 3. Po 30 minutách kapátkem očkujeme suspenzi z kádinky přímo do misky s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. 4. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, druh bylinky a typ živné půdy). 5. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. 6. Po 7 dnech kolonie nafotíme a určíme s pomocí klíče. 		
Příklad řešení:	<p>Fotografie narostlých kolonií.</p> <p>Počet kolonií: 3</p> <p>Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub: <i>Penicillium</i></p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub: kulaté kolonie, sametový porost, barvy modrozelené, okraj bílý.</p>		

Závěr:

Některé spory mikroskopických hub dokáží přežít teplotu blízkou bodu varu.

Laboratorní práce č. 5

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	CHYTRÁ HOUBA		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Potvrďte, že „Chytrá houba“ potlačuje růst vláknitých hub na zdech.		
Pomůcky:	Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické kličky a jehly, zkumavky s víčkem, pinzeta, popisovač slabý, destilovaná voda, hodinky, fotoaparát, potravinová fólie, obrázek		
Materiál:	"Chytrá houba" <i>Pythium oligandrum</i> , vláknité mikroskopické houby ze zdi		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vyučující vytvoří podle návodu roztok z přípravku proti houbám na zdech a rozlije ho do zkumavek s víčkem. Zároveň připraví suspenzi z mycelia a destilované vody do zkumavek s víčkem. 2. Pod agarovou plotnou umístíme malý obrázek, který jsme si připravili na list papíru (sluníčko, mrak, kytičku). Do jedné ruky si vezmeme zkumavku s roztokem z přípravku proti houbám a mikrobiologickou kličkou nanese roztok na agar podle obrázku. 3. Kapátkem očkujeme suspenzi z mycelia ze zkumavky přímo do misky s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku (snažíme se neumístit kapku na nanesený roztok Chytré houby). 4. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, <i>Pythium</i> a typ živné půdy). 5. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. 6. Po 7 dnech kolonie nafotíme, spočítáme kolonie a určíme s pomocí klíče. 		

Příklad řešení:	<p>Fotografie narostlých kolonií.</p> <p>Počet kolonií: nelze určit</p> <p>Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub: <i>Rhizopus stolonifer</i></p> <p>Roste na obrázku vláknitá houba? ne</p>
Závěr:	<p>„Chytrá houba“ <i>Pythium oligandrum</i> potlačuje růst vláknitých mikroskopických hub na zdech.</p>

Laboratorní práce č. 6

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	POTRAVINY		
Jméno a příjmení:			
Třída:		Datum hodnocení:	
Školní rok:		Hodnocení:	
Datum provedení:		Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Vyskytují se na potravinách spory mikroskopických hub?		
Pomůcky:	Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické klíčky a jehly, popisovač slabý, fotoaparát, potravinová fólie, destilovaná voda, kelímky, zkumavky s víčkem, kapátko		
Materiál:	houbou porostlé potraviny (citrón, chléb)		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Do kelímku vložíme chléb/citrón a zalijeme 1 až 2 lžičkami destilované vody. Kelímek uzavřeme potravinářskou fólií a necháme houbám cca 7 dní, aby narostly. 2. Vyučující připraví suspenzi z mycelia a destilované vody do zkumavek s víčkem. 3. Kapátkem očkujeme suspenzi ze zkumavky přímo do misky s agarem. Očkujeme po jedné kapce do třech vrcholů pomyslného trojúhelníku. 4. Petriho misku uzavřeme, okraje překryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, potravina a typ živné půdy). 5. Necháme 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20 °C. 6. Po 7 dnech kolonie nafotíme, spočítáme kolonie a určíme s pomocí klíče. 		
Příklad řešení:	<p>Fotografie narostlých kolonií.</p> <p>Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub citrón: různé druhy rodu <i>Penicillium</i> a neurčený druh</p> <p>Počet kultivovaných druhů – citrón: 28</p>		

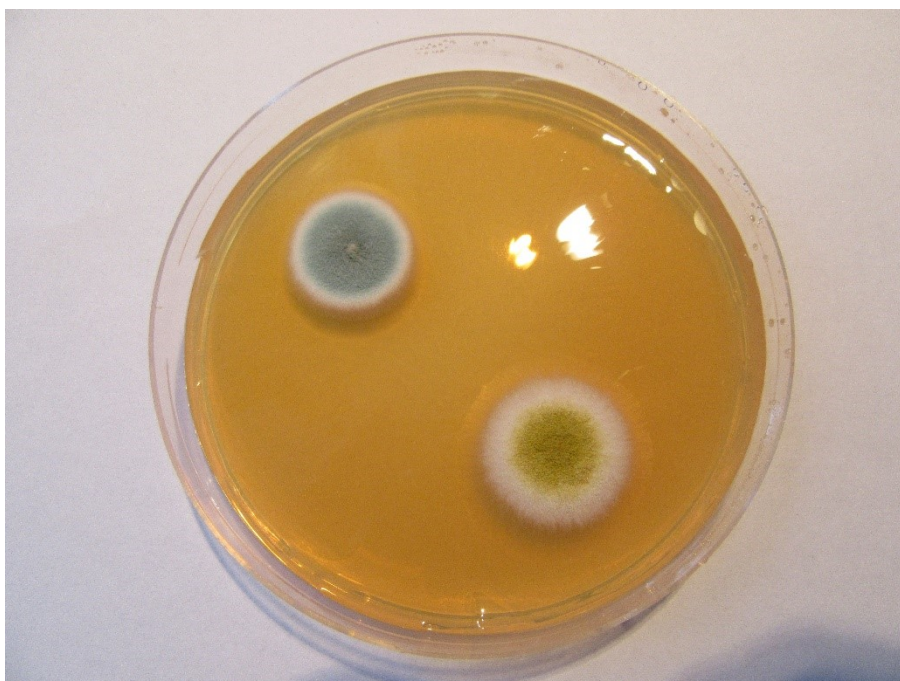
	Rody kultivovaných vláknitých mikroskopických hub chléb: různé druhy rodu <i>Penicillium</i> Počet kultivovaných druhů – chléb: 6
Závěr:	Na potravinách se vyskytují spory mikroskopických hub.

8.3 Příloha 3: Ukázka vyplněných pracovních listů

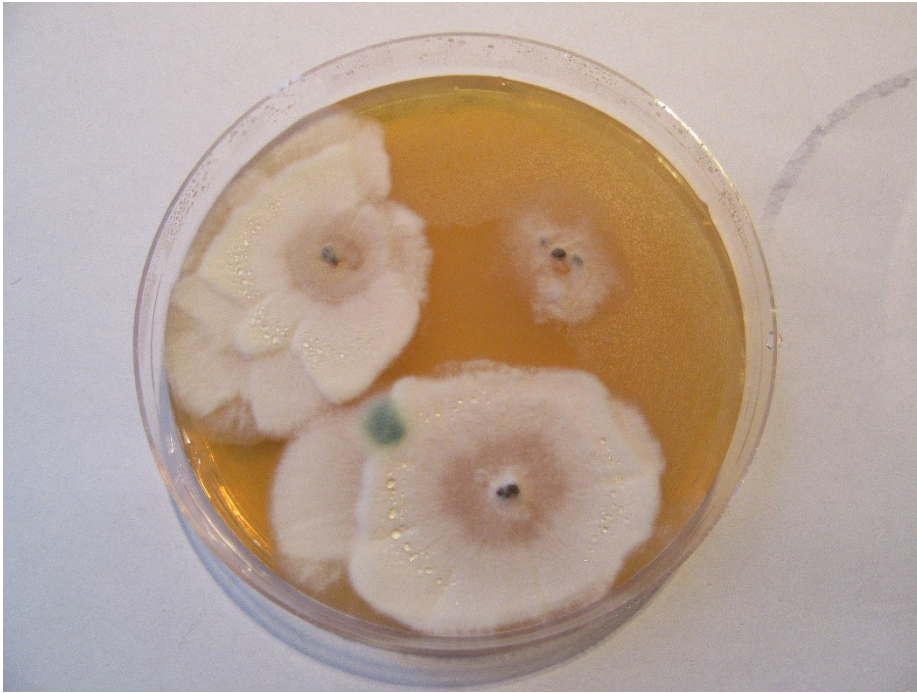
Laboratorní práce č. 1			
Mikroskopické vláknité houby			
Téma:	MIKROSKOPICKÉ HOUBY V PROSTŘEDÍ		
Jméno a příjmení:	Milan Pačka		
Třída:	6.	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/2017	Hodnocení:	
Datum provedení:	23. března 2017	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Zjistěte, jestli se mikroskopické houby nacházejí i ve vašem bezprostředním okolí (ve vodě, ve vzduchu i v půdě).		
Pomůcky:	plynový kahan, Petriho misky s agarem, sterilný mikrobiologické kličky a žhly, zřezávací nůžkem, pinzety, popisovací štítek, hodinový fotoaparát, potravinová fólie		
Materiál:	voda z vodovodu, půda		
Postup:	<p>a. V místnosti, ve které si následující hodiny nebude nikdo pohybovat, umísťujeme sterilné Petriho misky. Po 1 hodině pokrýváme 2. bodem postupu</p> <p>b. Vzorok půdy umísťujeme vzácně pro pinzety do vrcholku pomístního krojitelu nebo sárno půdy a ihned uzavřeme 2. bodem postupu. 2. Po se Petriho misku uzavřeme, dobře přikryjeme potravinovou fólií a popíšeme (jméno, datum, pokus a An. číselní číslo). 3. Necháme 7 dní kultivovat a v konci vše deponovat 20°C. 4. Po 7 dnech kolonie nafotíme, vyplníme Petriku a všimněme si, jak se rozvíjí</p>		

Řešení:	VODA	VZDUCH	PŮDA
	Počet kolonií	2	37
Počet druhů kolonií	2	3	4
Rody kolonií	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Mucor</i>	<i>Morchella</i> <i>Penicillium</i>

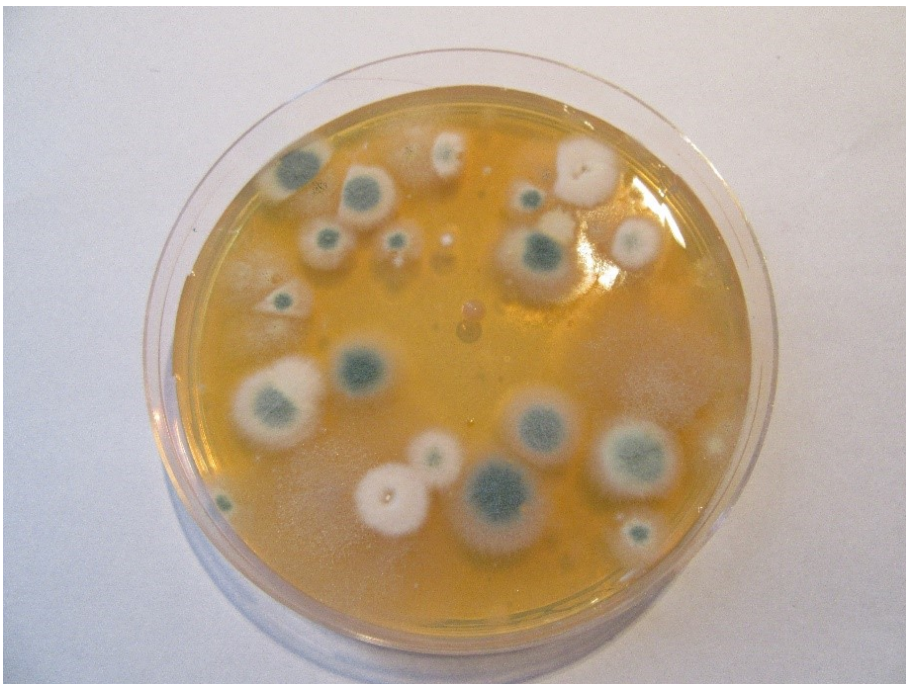
Závěr:
 3 vody jsou vyšetřovány. první druzky hub, jeden druh a voda
Penicillium jeden druh a voda *Aspergillus*.
 Ze vzduchu je vyšetřováno velké množství bakterií různých druhů
 hub. První vyšetřováno voda a voda *Penicillium* a do vody *Aspergillus*.
 3 vody jsou vyšetřovány. tři kolonie rodu *Morchella* a jeden
 kolonie rodu *Penicillium*.
 Všechny pokrývají, se se mikroskopické kvasinky, rodu *Aspergillus* a
 jeden nář.



Obrázek 25 – Kultivace z vody (zdroj: archiv autora)



Obrázek 26 – Kultivace z půdy (zdroj: archiv autora)



Obrázek 27- Kultivace ze vzduchu (zdroj: archiv autora)

Laboratorní práce č. 2

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	MYKORHIZNÍ HOUBY		
Jméno a příjmení:	Karolína Čochová		
Třída:	6	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/2017	Hodnocení:	
Datum provedení:	23. března	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Podporují mykorrhizní houby růst bylinek?		
Pomůcky:	substrát pro bylinky, kruhlika, petriho miska, s agarem, pravítko, popisovací štítek, fotoaparát		
Materiál:	Symbioza bylinek, bylinky		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vybrat si 4 bylinky - 2x máta a 2x oregáno 2. Připravit 2 kruhličky, substrát a mykorrhizní houby 3. Označit kruhliku s houbami průměrem „5“ a kruhliku bez hub průměrem „B“ 4. Do kruhliku označeného „5“ zasadíme 1x mátu a 1x oregáno a ke hoření přispeme potřebné množství symbiozy 5. Do kruhliku označeného „B“ zasadíme 1x mátu a 1x oregáno 6. Nyní bylinky umístíme pravítkem a výšku sáhneme do tabulky 7. Umístíme kruhličky na místa určená vyučujícími a výsledky z pravidelně sáleáme * 8. spočítáme rozdíl výšky bylinek mezi 1. a 21. dnem 		

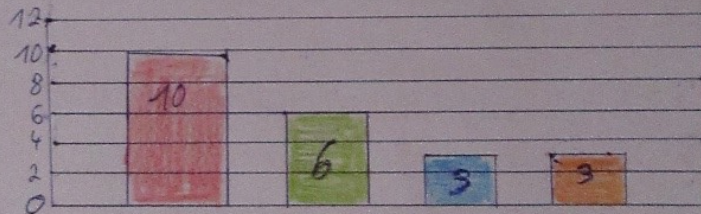
do tabulky
 90. Narисуeme sloupcový graf, ve kterém zobrazíme rozdíl v růstu bylinek s mykorrhizními a bez hub * 8. Po 21 dnech bylinky znovu změříme a výsledky zaznamenejeme do tabulky!

ROZDÍL V RŮSTU BYLINEK	S HOUBAMI		BEZ HUB	
	1.	2.	3.	4.
	bylinka	bylinka	bylinka	bylinka
1. den (cm)	5	6	5	6
21. den (cm)	11	12	8	9
Rozdíl mezi 1. a 21. dnem (cm)	6	6	3	3

Řešení:

Graf:

Rozdíl v růstu bylinek s mykorrhizními houbami a bez nich (cm)



Rozdíl výšky mezi 1. a 21. dnem (cm)

naše osky

■ 1. bylinka ■ 2. bylinka ■ 3. bylinka ■ 4. bylinka

Závěr:

Z výsledků vyplývá, že bylinky s mykorrhizními houbami vyrostly za 21 dní více než bylinky bez hub. Potvrdili jsme, že mykorrhizní houby podporují růst bylinek.



Obrázek 28 - Bylinky s mykorhizními houbami (zdroj: archiv autora)



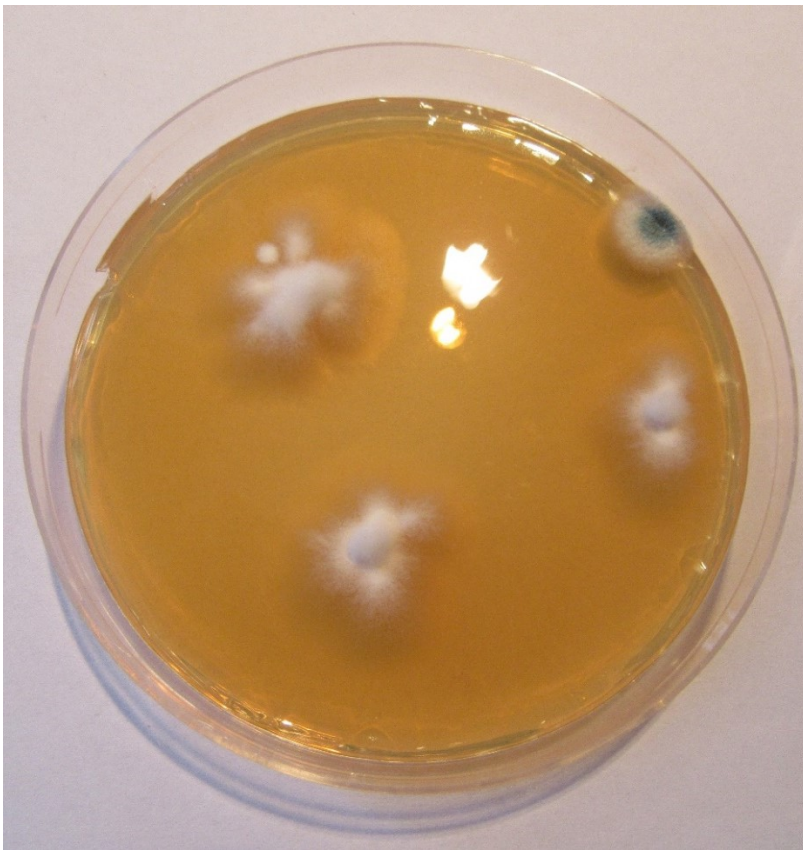
Obrázek 29 - Mykorhizní houby Symbivit (zdroj: archiv autora)

Laboratorní práce č. 3

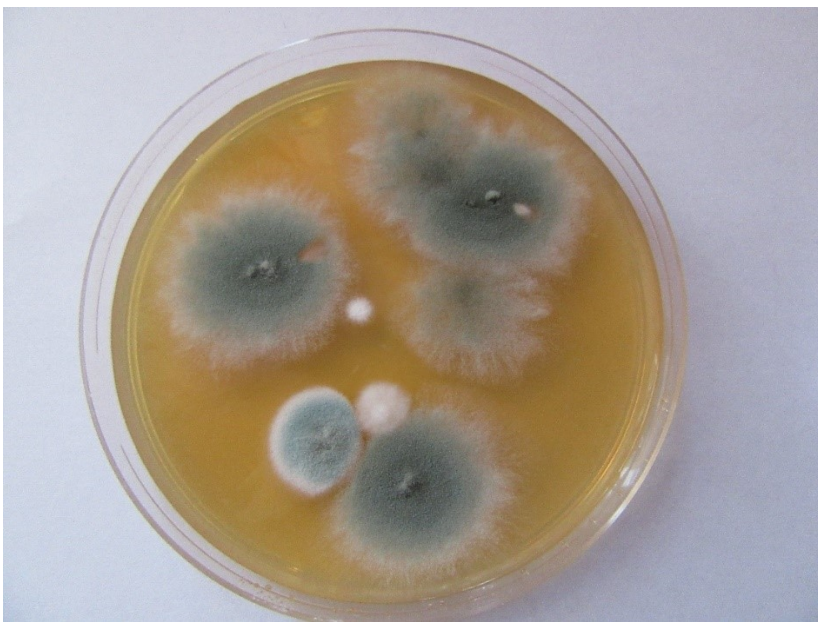
Mikroskopické vláknité houby

Téma:	FERMENTACE		
Jméno a příjmení:	Kevin Smolka		
Třída:	6.	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/17	Hodnocení:	
Datum provedení:	23. březen 2017	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Které mikroskopické houby se podílejí na fermentaci vybraných potravin?		
Pomůcky:	lupulinky, fotografovat, Petriho miska - agarová, sterilní mikrobiologické kličky a petly, pinety, popisovací štítek, sterilizovaná fólie, sterilizovaná voda.		
Materiál:	kvasnice / ferment, plísňový výživný agar, fermentovaný salám s kůrou plísňů na sůmku.		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ze vzorku sterilizovaného rozsového mycelium (výživ, salám) odeberáme inkubaci - sterilní kličkou nebo petlou přeneseme množství na agarovou plochu. Očijeme do kličky několik vzrostlých kvasnicových kvasnicových kvasnic. 2. Petriho misku uzavřeme, obepje přikryjeme sterilizovanou fólií a popíšeme (jméno, datum, místo, místo a typ kvasnicové kvasnice) 3. necháme 7 dní kultivovat v teple při teplotě 20°C 4. Po 7 dnech delší dobu vubohá a uzavřeme s pomocí kličky. 		

<p>Řešení:</p>	<p>Počet kolonií z camembertu: 3 Počet kolonií z nivy: 8 Počet kolonií ze salámu: 5 Rody kultivovaných mikromycet: <i>Penicillium</i></p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub z camembertu: Bílé nadýchané kulaté mycelium</p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub z nivy: Tlusté bílé, bez výřků, hrubovlnné, s bílým krásným okrajem. Spodní strana obinové vlny v hrubě vlněná</p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub ze salámu: Vlnitá bílá kolonie, dlouhá, měkká, měkká, vlnitá bílá na povrchu podobně dlouhý výřek oválné vlny</p>
<p>Závěr:</p>	<p>Documentaci camembertu najít je <i>Penicillium camemberti</i> Dokumentaci vlnitého výřku najít je <i>Penicillium Roqueforti</i> Bílá vlnitá na povrchu salámu je <i>Penicillium italicum</i> Mlékárnické kvasné jsou důležité pro ochucování mléka</p>



Obrázek 30 - Kultivace ze salámu (zdroj: archiv autora)



Obrázek 31 - Kultivace z nivy (zdroj: archiv autora)



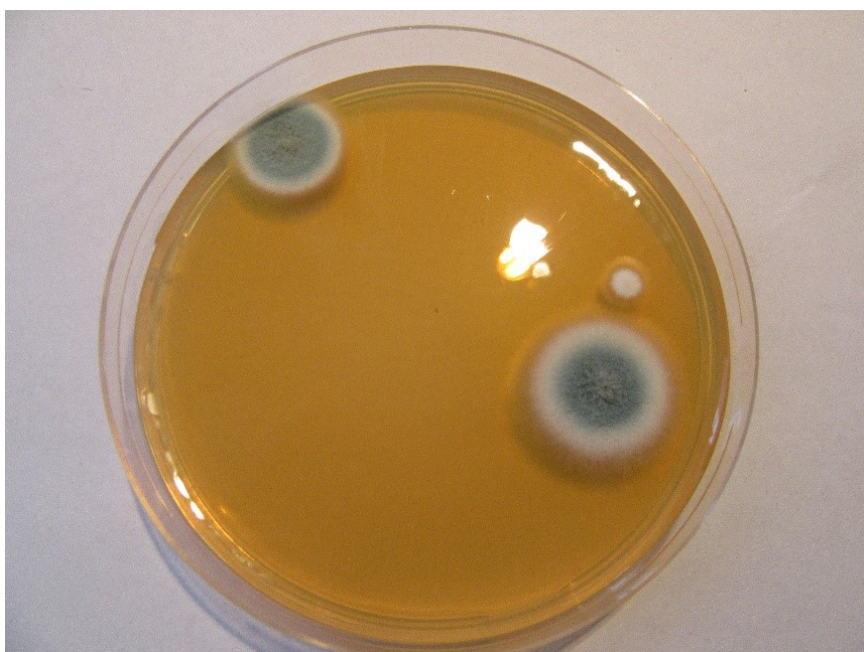
Obrázek 32 - Kultivace z camembertu (zdroj: archiv autora)

Laboratorní práce č. 4

Mikroskopické vláknité houby

Téma:	TERMOREZISTENCE HUB		
Jméno a příjmení:	David Julie		
Třída:	6.	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/2017	Hodnocení:	
Datum provedení:	23. března 2017	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Přežijí spory mikroskopických hub vystavení teplotě 100 °C?		
Pomůcky:	Petrichor misky, ságarcem, hadlinkou, popisovací tabule		
Materiál:	Oxyling pro přípravu záře		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Do vysterilizované hadlinky nasypeme Oxyling 2. Vypracují záře Oxyling 100 ml roztoku roztoku a přechytkem sterilním víčkem 3. Po 30 min tepelným ovlivíme suspenzi hadlinky přímo do misky s ohebn. Odložíme na petrichor do 3 sekce pro kontrolu 4. Petrichor misku uzavřeme, dobře přechytkem netrasíme (bát se nepišeme (jméno, datum, Oxyling a typ roztoku (misky) 5. Necháme 7 dní kulturovat v lomu při teplotě nad 20 °C 6. Po 7 dnech kolonie nafotíme a vezme s pomocí lupy. 		

Řešení:	<p>Počet kolonií: Voda 2, rodu 31, půda 2</p> <p>Rody kultivovaných mikromycet: Citroni, různé druhy, rodu <i>Penicillium</i> asporogenní <i>obed</i></p> <p>Vzhled kolonií kultivovaných hub: různé druhy <i>Penicillium</i></p>
Závěr:	<p>Na neobezpečené se vyvíjejí spory mikroskopických hub.</p>



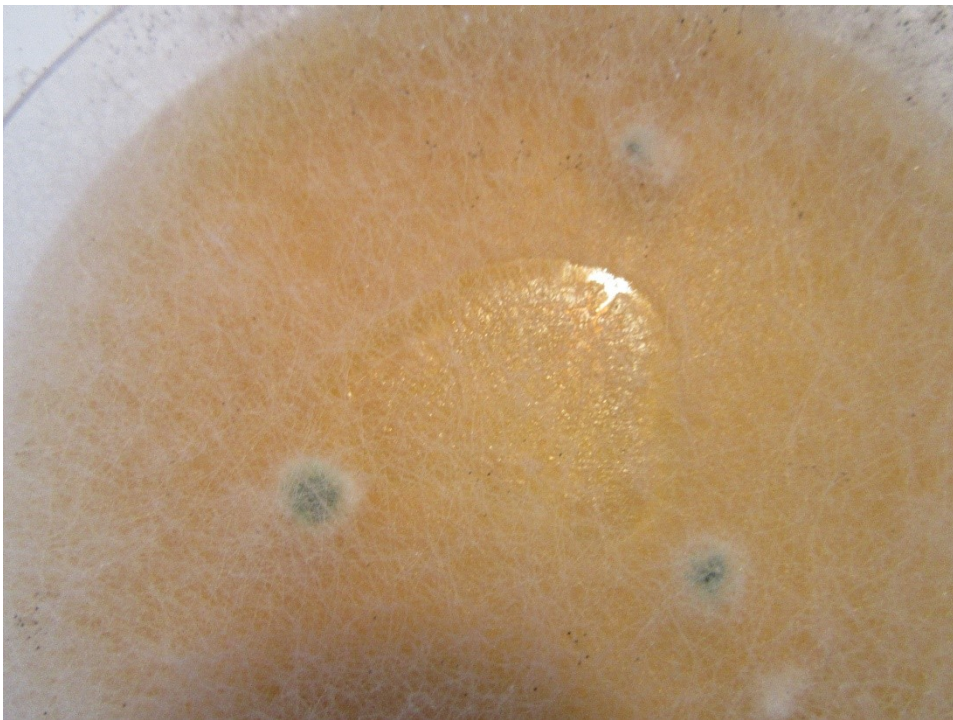
Obrázek 33 - Kultivace termorezistentních hub (zdroj: archiv autora)

Laboratorní práce č. 5

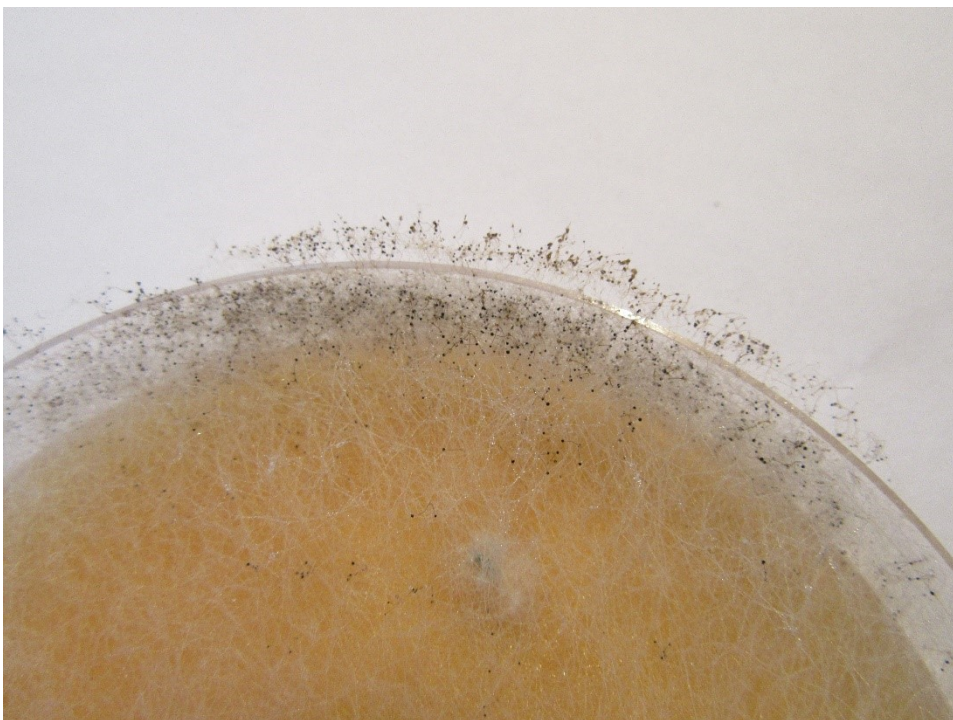
Mikroskopické vláknité houby

Téma:	CHYTRÁ HOUBA		
Jméno a příjmení:			
Třída:	6.	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/2017	Hodnocení:	
Datum provedení:	23 března 2017	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Potvrďte, že „Chytrá houba“ potlačuje růst vláknitých hub na zdech.		
Pomůcky:	Petriho misky s agarem, sterilní mikrobiologické kletky a gelky, skumavky a vřeteno, pipeta, popisovací štítek, destilovaná voda, lednice, laboratorní pohraniční fólie, obráběč		
Materiál:	"Chytrá houba" <i>Pylkiumdidymum</i> , mikrospora ze soli		
Postup:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vyučující připraví dle návodu rostky a připraví protu houby na zdech a rostky do skumavky s vřetem. Zdrojem kvasnic suspenzi s myceliu a destilovanou vodou do skumavky s vřetem. 2. Poč. agarovou plátnou umístíme malý dřevěný, který jsme si připravili na hot. papír (dumetax, mocha, bytka). Do gelky ruky si vezmeme skumavku s rostkem a mikrobiologickou kletkou naseme rostky na agar podle obrátka. 3. Jednotlivou obklopenou suspenzi se skumavky přenes do misky s agarem (obklopeno) do gelky kape do třích vrcholů kompletně krytých (umístíme se umístěte kletku na nasazený rostek <i>Pylkium</i>). 4. Petriho misku uzavřeme, obklopeno přikryjeme laboratorní fólií a pošleme (zima, ledna, potruce a dva třinec kletky) 5. Inkubace 7 dní kultivovat v temnu při teplotě nad 20°C. 		

	6 Do 7 dnů kolonie nejdříve, spórové kolonie a určité a formou hlíve.
Řešení:	Fotografie narostlých kolonií. Počet kolonií: více určit Rody kultivovaných mikromycet: <i>Aspergillus holmbergii</i> Roste na obrázku vláknitá houba? ne
Závěr:	"Chybná houba" <i>Pythium oligosporum</i> roste rychle a kolonie mikro- myceti na sádkách.



Obrázek 34 - Kultivace ze zdi (zdroj: archiv autora)



Obrázek 35 - Kultivace ze zdi (zdroj: archiv autora)

Laboratorní práce č. 6

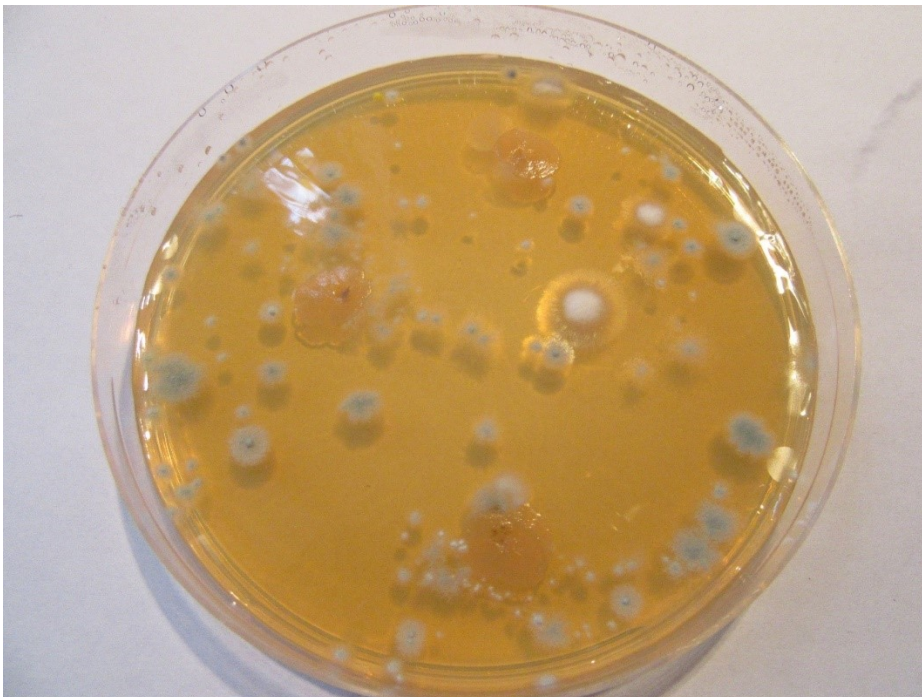
Mikroskopické vláknité houby

Téma:	POTRAVINY		
Jméno a příjmení:	ANCIKA HOMOLKOVÁ		
Třída:	6.	Datum hodnocení:	
Školní rok:	2016/2017	Hodnocení:	
Datum provedení:	23. března 2017	Podpis vyučujícího:	
Zadání:	Vyskytují se na potravinách spory mikroskopických hub?		
Pomůcky:	PEŘIHO MISKY S AGAREM, STERILNÍ MIKROBIOLOGICKÉ KLÍČKY A JEHLY, POPI SOVAČ SLABÍ, FOTOPAPARÁT, POTRAVINOVÁ FOLIE, DESTILOVANÁ VODA, KELÍMKY, ZKUMARKY S VÍČKEM, KAPÁTKO		
Materiál:	HOUBOU POROŠILE POTRAVINY (CITRÓN, CHLÉB)		
Postup:	<p>1. Do kelímku vložíme chléb chléb / citron a zalijeme 1 až 2 lžičkami destilované vody. Kelímek uzavřeme potravinářskou fólií a necháme hubám ca 7 dní, aby narostly.</p> <p>2. Vychůzku připravíme suspenzi ve křemíkové směsi přímo do misky s agarem.</p> <p>Odčerpáme po jedné kapce pce do lžičky vhodné pomyslného trojhráčku</p> <p>4. Petliho misku uzavřeme, ohřejeme, vložíme potravinovou fólii a popíšeme (jméno, datum, potravina a typ živné půdy).</p> <p>5. Necháme 7 dní kultivovat v lince</p>		

	<p>při teplotě rozt 20°C.</p> <p>6. Po 7 dnech kolonie nejdříve, spojit- uně kolonií a určité s poměr- níci.</p>
Řešení:	<p>Rody kultivovaných mikromycet citron: kůžoví houby rodu <i>Penicillium</i> a <i>Aspergillus</i> houby.</p> <p>Rody kultivovaných mikromycet chléb: kůžoví houby rodu <i>Penicillium</i></p> <p>Fotografie narostlých kolonií</p>
Závěr:	<p>Na potravinach se vyskytují spory mikroskopických hub.</p>



Obrázek 36 – Kultivace – chléb (zdroj: archiv autora)



Obrázek 37 – Kultivace z citrónu (zdroj: archiv autora)