

## 8. Přílohy

8.1.	Příloha 1 – pre-test, post-test 1, post-test 2 .....	II
8.2.	Příloha 2 – zadání pracovního listu .....	XI
8.3.	Příloha 3 – obrazové přílohy .....	XVII
8.4.	Příloha 4 – obrázková nápověda s popisky .....	XIX
8.5.	Příloha 5 – metodika a řešení jednotlivých zadání.....	XX
8.6.	Příloha 6 – prezentace .....	XXXI
8.7.	Příloha 7 – komentář k prezentaci.....	XXXVII
8.8.	Příloha 8 – seznam preparátů .....	XLIV
8.9.	Příloha 9 – ukázka webových stránek .....	XLVI
8.10.	Příloha 10 – ukázka vyplněného pracovního listu .....	XLVIII
8.11.	Příloha 11 – dotazník pro učitele .....	LI
8.12.	Příloha 12 – grafy.....	LII

## 8.1. Příloha 1 – pre-test, post-test 1, post-test 2

(pre-test v přesném znění, post-test 1 (pouze otázky 7 – 16), post-test 2 (navíc oproti post-testu 1 otázka označená \* na konci oddílu přílohy))

Dobrý den,

jsem studentka magisterského oboru učitelství chemie a biologie a ráda bych Vás touto cestou požádala o spolupráci. Cílem mé diplomové práce je vytvořit učební materiály pro práci studentů s fluorescenčním mikroskopem a následně otestovat vliv těchto materiálů na znalosti a zájem studentů ohledně této problematiky.

Součástí mé práce je dotazník, který leží před Vámi. První část obsahuje otázky všeobecného rázu, týkající se hlavně zájmu o biologii. Ve druhé části jsou odborné otázky. Nemusíte se jich bát, v žádném případě nejde o test na známky. Přesto bych byla ráda, kdybyste odpovídali, jak nejlépe dokážete.

Děkuji za Váš čas, Bc. Jana Filipová

---

Pokud není uvedeno jinak, správné odpovědi zakroužkujte. Pokud je možné uvést více odpovědí, je to napsáno u dané otázky. Pokud chcete svoji odpověď upravit, škrtněte původní odpověď křížkem a zakroužkujte novou odpověď.

Prosím vypište:

**Kód (poslední 4 číslice rodného čísla – ty za lomítkem + iniciály Vašeho jména):**

.....

**Datum:** .....

**Škola:** .....

**Třída:** .....

**Věk:** .....

**Pohlaví:**        a) žena        b) muž

**Známky z biologie na vysvědčení za poslední dvě pololetí (chronologicky):**

.....

**1) Chtěl/a bych z biologie maturovat (zakroužkujte správnou odpověď):**

- a) ano
- b) ne
- c) nevím

**2) Účastnil/a jsem se BiO nebo SOČ:**

- a) více než jednou
- b) jednou – z vlastní iniciativy
- c) jednou – na přání vyučujícího
- d) nikdy

**3) Označte předměty podle oblíbenosti jako ve škole** (1 – nejoblíbenější, 2 – oblíbený, 3 – neutrální, 4 – neoblíbený, 5 – nejméně oblíbený, 0 – tento předmět se nevyučuje), více předmětů může obdržet stejnou známku.

Zeměpis	1	2	3	4	5	0
Dějepis	1	2	3	4	5	0
Biologie	1	2	3	4	5	0
Chemie	1	2	3	4	5	0
Matematika	1	2	3	4	5	0
Fyzika	1	2	3	4	5	0
Základy společenských věd	1	2	3	4	5	0
Český jazyk	1	2	3	4	5	0
Cizí jazyk 1 – (vyplňte):	1	2	3	4	5	0
Cizí jazyk 2 – (vyplňte):	1	2	3	4	5	0
Informatika a výpočetní technika	1	2	3	4	5	0
Výtvarná výchova	1	2	3	4	5	0
Hudební výchova	1	2	3	4	5	0
Tělesná výchova	1	2	3	4	5	0
Další předmět (vyplňte):	1	2	3	4	5	0

**4) Označte náplň praktických cvičení podle oblíbenosti jako ve škole (1 – nejoblíbenější, 2 – oblíbený, 3 – neutrální, 4 – neoblíbený, 5 – nejméně oblíbený, 0 – nemohu posoudit), více možných náplní cvičení může obdržet stejnou známku.**

1. Pitva	1	2	3	4	5	0
2. Poznávání rostlin, práce s nimi	1	2	3	4	5	0
3. Poznávání živočichů, práce s nimi	1	2	3	4	5	0
4. Mikroskopování živých buněk/organismů, práce s nimi	1	2	3	4	5	0
5. Mikroskopování trvalých preparátů	1	2	3	4	5	0
6. Poznávání neživých přírodnin, práce s nimi	1	2	3	4	5	0
7. Vymyšlení děletrvajících pokusů (chování živočichů, klíčení rostlin apod.)	1	2	3	4	5	0
8. Zakládání a provádění děletrvajících pokusů (chování živočichů, klíčení rostlin apod.)	1	2	3	4	5	0
9. Vyhodnocování děletrvajících pokusů (chování živočichů, klíčení rostlin apod.)	1	2	3	4	5	0
10. Úlohy prováděné na sobě (fyziologie člověka)	1	2	3	4	5	0
11. Modelování fyzicky – např. buňky apod. (z plastelíny, sádry, ...)	1	2	3	4	5	0
12. Hraní rolí (inscenace biologických dějů pro ostatní spolužáky)	1	2	3	4	5	0
13. Počítání teoretických úloh (např. v genetice nebo ekologii)	1	2	3	4	5	0
14. Jiné (vypište):	1	2	3	4	5	0

**5) Jaký způsob výuky upřednostňujete? Zakroužkujte alespoň jednu možnost.**

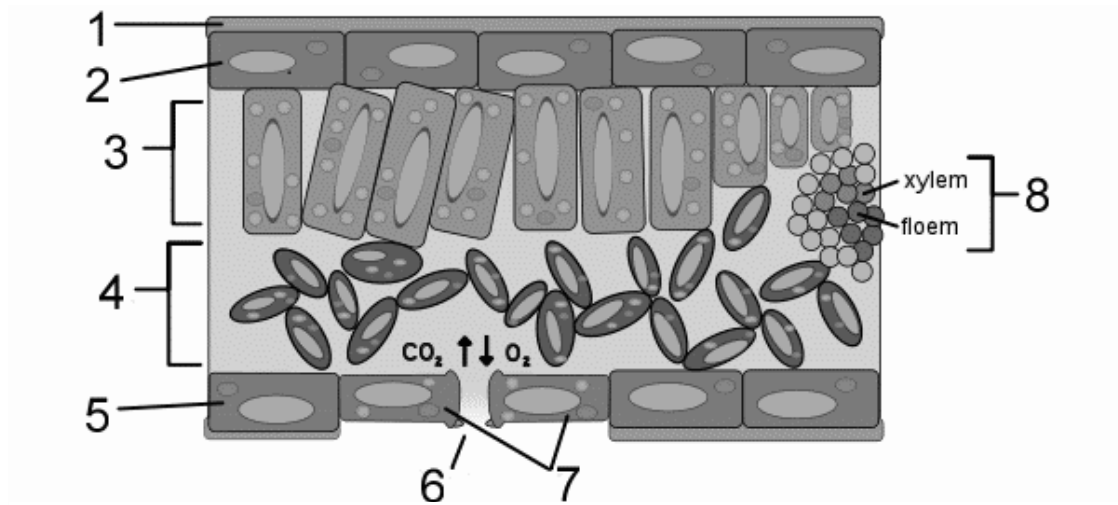
- a) výuka v normálních hodinách, kdy vykládá převážně učitel
- b) výuka v normálních hodinách, kdy pracuji převážně sám / sama, nebo se spolužáky
- c) výuka v normálních hodinách, kdy je kombinován výklad učitele se samostatnou prací studentů (individuálně i ve skupinách)
- d) praktická cvičení nebo laboratorní práce
- e) exkurze (řádově několik hodin)
- f) terénní kurz (více dní)
- g) bloková výuka (jeden nebo více dní strávených s jedním předmětem)
- h) jiné (prosím, vypište):.....

**6) Po ukončení středoškolského vzdělání chci (vyberte alespoň jednu možnost a tu/ty zakroužkujte:**

- a) pokračovat ve studiu na VŠ humanitního zaměření (psychologie, sociologie, politologie, práva, dějiny)
- b) pokračovat ve studiu na VŠ přírodovědného zaměření
- c) pokračovat ve studiu na VŠ – medicíně
- d) pokračovat ve studiu na VŠ zemědělského zaměření
- e) pokračovat ve studiu na VŠ technického zaměření
- f) pokračovat ve studiu na VŠ ekonomického zaměření
- g) pokračovat ve studiu na VŠ jiného zaměření (vypište): .....
- h) pokračovat ve studiu na VOŠ
- i) pracovat jako (vypište): .....
- j) cestovat
- k) jiné (vypište): .....
- l) nevím

**Pokud bylo v otázkách 5 a 6 zvoleno více možností, napište prosím k jednotlivým možnostem čísla podle oblíbenosti (1 – nejoblíbenější).**

7) Do tabulky pod obrázkem zobrazujícím řez listem doplňte názvy struktur 1- 8 z nabídky pojmů:



Zdroj: [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/96/Leaf\\_anatomy\\_cs.svg/600px-Leaf\\_anatomy\\_cs.svg.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/96/Leaf_anatomy_cs.svg/600px-Leaf_anatomy_cs.svg.png) – upraveno

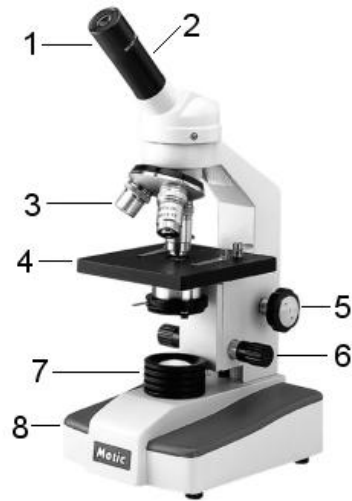
**spodní pokožka, svrchní pokožka, houbový parenchym, kutikula, palisádový parenchym, cévní svazek, průduch, svěrací buňky**

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

8) Která z definic je správná pro trichom a která pro emergenci? Spojte pojem s definicí, pouze jedna definice pro každý pojem je správně.

- trichom**
- jednobuněčný výrůstek z pokožkových a podpokožkových buněk
  - vícebuněčný výrůstek z pokožkových a podpokožkových buněk
- emergence**
- jednobuněčný nebo vícebuněčný, jednoduchý nebo větvený výrůstek pokožky
  - jednobuněčný větvený výrůstek pokožky

9) Do tabulky pod obrázkem popište části optického mikroskopu 1 – 8:



Zdroj: <http://files.mikroskop-mikroskopy.cz/200000062-9bfc79cf66/Popis%20mikroskopu%20Motic.PNG> – upraveno

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

10) Která struktura na kopřivě má na svědomí známé „popálení“ při kontaktu s ní? (více odpovědí může být správně)

- a) pokožka
- b) trichomy
- c) části palisádového parenchymu vyčnívající na povrch listu
- d) stonkové lišty
- e) ostré zuby na okrajích listů

**11) Jaké funkce mohou mít trichomy? (více odpovědí může být správně)**

- a) ochrana před herbivory
- b) rozmnožování
- c) lapání kořisti
- d) tepelná izolace
- e) přichytávání k podkladu
- f) odpuzování vody
- g) zachytávání vody
- h) zvětšují povrch průduchů

**12) Spojte označení v levém sloupci s definicemi v pravém sloupci tabulky, dvojice запиšte pod tabulku.**

A	luminiscence	1	světlo vydává živý organismus
B	fosforescence	2	objekt vydává světlo, ale nezahřívá se (obecný pojem)
C	triboluminiscence	3	objekt světélkuje se zpožděním – i po zhasnutí excitačního paprsku
D	bioluminiscence	4	po ozáření excitačním světlem objekt světélkuje ihned, po zhasnutí excitačního paprsku okamžitě svítit přestane
E	chemiluminiscence	5	světlo se uvolňuje vlivem mechanických sil
F	fluorescence	6	světlo vydává neživý objekt

A	B	C	D	E	F



**13) Jaká je hlavní funkce dřevní části vodivých pletiv (xylému)? (pouze jedna odpověď je správně)**

- a) transport asimilátů (organických látek) z kořene do zelených částí rostliny
- b) transport vody a minerálních látek z kořene do zelených částí rostliny
- c) transport asimilátů (organických látek) z listů do nezelených částí rostliny
- d) transport vody a minerálních látek z listů do nezelených částí rostliny

**14) Jak se nazývají buňky lýka (floému)? (pouze jedna odpověď je správně)**

- a) cévy
- b) sítkovice
- c) cévice
- d) vény

**15) U kterých buněčných struktur a objektů můžeme pozorovat přirozenou fluorescenci pod UV světlem? (více odpovědí může být správně)**

- a) cytoplazma
- b) jádro
- c) buněčná stěna
- d) chitinové struktury
- e) struktury z keratinu
- f) silice a pryskyřice
- g) pylová zrna
- h) chlorofyl

**16) Fotografie preparátů z fluorescenčního mikroskopu v publikacích bývají vícebarevné. Jakým způsobem vznikají takovéto obrázky? (více odpovědí může být správně)**

- a) každá struktura fluoreskuje svojí vlastní barvou, při osvětlení preparátu vzniká při absenci emisního filtru většinou vícebarevný obrázek
- b) každá struktura fluoreskuje jinou barvou pod jinou vlnovou délkou světla, při jednom emisním filtru vidíme jednobarevné obrázky a ty se musí složit až dodatečně na počítači
- c) struktury, které fluoreskují, se dodatečně dobarvují v počítači podle uměle vytvořeného barevného systému (jádro vždy modře, chlorofyl červeně a podobně)
- d) barevné fotografie se objevují pouze v neseriózních publikacích, jde o marketingový tah – ve vědeckých člancích se vícebarevné obrázky nepoužívají, protože takové reálně nelze v mikroskopu vidět

děkuji za vyplnění testu, Jana Filipová

**\*Vyhovovala Vám práce s fluorescenčním mikroskopem/práce pouze s obrazovým materiálem?**

- a) ano, uspořádání, kterého jsem se účastnil/a mi naprosto vyhovovalo, ve druhé skupině bych pracovat nechtěl/a
- b) ne, byl/a bych raději, kdybych se mohl/a zúčastnit práce s druhou skupinou s mikroskopem/pouze s obrazovým materiálem
- c) je mi to jedno, obojí má jistě své přínosy
- d) je mi to jedno, stejně mě to vůbec nebavilo

## 8.2. Příloha 2 – zadání pracovního listu

odlišné pasáže pro skupinu „BEZ“ jsou zvýrazněny podtržením

### STAVBA LISTU

**1. Zhotovte vodní preparát příčného řezu listem jehlicí smrku (*Picea*). Pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kukuřice (*Zea*) a jabloně (*Malus*) nebo hrušně (*Pyrus*). Nakreslete všechny pozorované preparáty a popište pozorované struktury, uveďte zvětšení.**

List jednoděložný:

List dvouděložný:

Jehlice:

## **OPTICKÝ A FLUORESCENČNÍ MIKROSKOP**

**1. Nakreslete a popište optický mikroskop, který máte před sebou. Při popisu použijte tyto pojmy:**

**mikrošroub, makrošroub, posuvný stolek, světlo/zrcátko, okulár, objektiv, tubus, základna mikroskopu**

2. Do předchozího obrázku jinou barvou zakreslete a popište ty části, které jsou u fluorescenčního mikroskopu jiné.

Jaké jsou hlavní rozdíly mezi klasickým a tímto putovním fluorescenčním mikroskopem?

3. Doplňte tabulku:

jev	charakteristika	Příklad
incandescence		
	produkce světla bez produkce tepla – obecný pojem	-----
triboluminiscence		
	vznik světla chemickou reakcí	
		světlušky, d'as mořský
fluorescence		
	produkce světla po excitaci (ozáření) se zpožděním, po ukončení excitace svítí (řádově sekundy)	

4. Do obrázků z úlohy 1. – stavba listu – zakreslete barevně struktury, které svítí ve fluorescenčním mikroskopu – použijte obrazový materiál. Pokud nemáte pastelku té barvy, napište k nim barvu slovy.

## ROSTLINNÉ CHLUPY

1. Jaký je rozdíl mezi trichomem a emergencí? Najděte definice v materiálech, které máte k dispozici.

Ověřte pozorováním preparátu – trvalý preparát trnu růže (*Rosa*). Jak se liší fluorescence trvalého preparátu trnu růže při pozorování ihned a po několika měsících? Proč? Použijte obrazový materiál.

Vytvořte dočasný vodní preparát z listu rosnatky (*Drosera*). Uřízněte úzký proužek, položte ho do kapky vody na podložním sklíčku na bok a pozorujte. Zakreslete, uveďte zvětšení a popište.

Pozorujte Váš preparát v optickém i fluorescenčním mikroskopu. Napište, jaký je rozdíl v barevnosti obou zobrazení. / Jakou barvou svítí pozorované struktury ve fluorescenčním mikroskopu? Použijte obrazový materiál.

2. Utvořte vodní preparát trichomů z listu tillandsie. Skalpelem nebo hranou nůžek seškrábněte trichomy do kapky vody, přiklopte krycím sklíčkem a pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kopřivy (*Urtica*) s trichomem.

Všechna pozorování zakreslete, uveďte dané zvětšení a popište.

kopřiva:

tillandsie:

porovnejte Váš preparát s fotografií v obrazovém materiálu. Napište, jaký je mezi nimi rozdíl

**3. K části listu tillandsie, která není poškozená z předchozího odebrání preparátu, přiložte preparační jehlu s kapkou vody. Pozorujte, co se stalo. Popište, k čemu tento jev rostlině slouží.**

**4. Určitě už se Vám někdy stalo, že Vás „popálila“ kopřiva. Která struktura na těle kopřivy je za „popáleniny“ zodpovědná?**

**Jakým způsobem je spouštěn mechanismus „popálení“? (Nápověda: Výše uvedená dutá struktura je ve špičce vyztužena anorganickými solemi, což zvyšuje její křehkost.)**

**5. Možná jste se někdy v lese nebo na louce omylem otřeli o kakost. Tato celkem nezajímavá bylina vás pak odměnila silným nepříjemným oděrem. Ten mají na svědomí trichomy na listech.**

**Prohlédněte si pozorně obrázek listu kakostu z fluorescenčního mikroskopu (v obrazovém materiálu). Která část trichomu je za oděr zodpovědná?**

Znáte ještě nějakou další rostlinu, která má stejnou vlastnost? Napište alespoň tři.

K čemu taková vlastnost rostlinám je?

6. Z listu divizny seškrábněte „chlupy“ do kapky vody na podložním sklíčku, přiložte krycí sklíčko a pozorujte stavbu pod mikroskopem. Zakreslete, uveďte dané zvětšení a popište. Jakou barvou svítí dané struktury pod fluorescenčním mikroskopem (viz obrazový materiál)?

7. Obdobné struktury můžeme nalézt na rostlině plesnivec alpský. V přírodě roste například ve slovenských Tatrách, ale je to i oblíbená skalnička. Vzhled rostlin z hor a zahrádek v nížině se ale liší



v nížinách



v horách

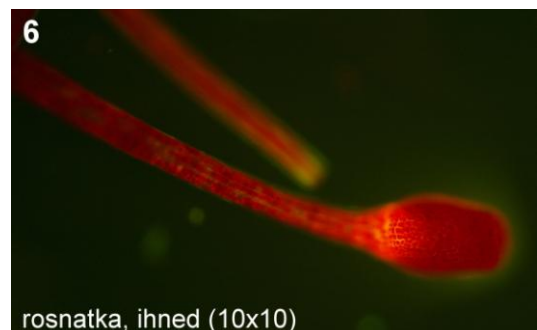
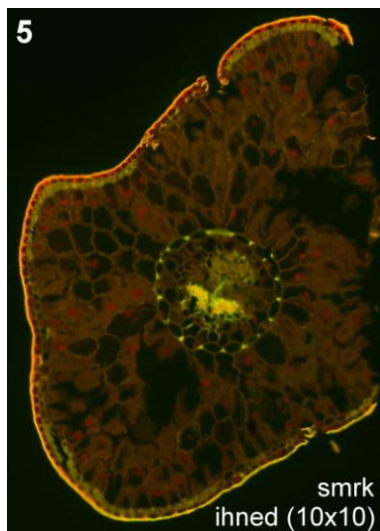
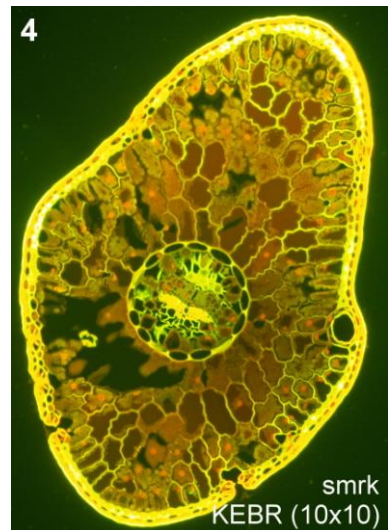
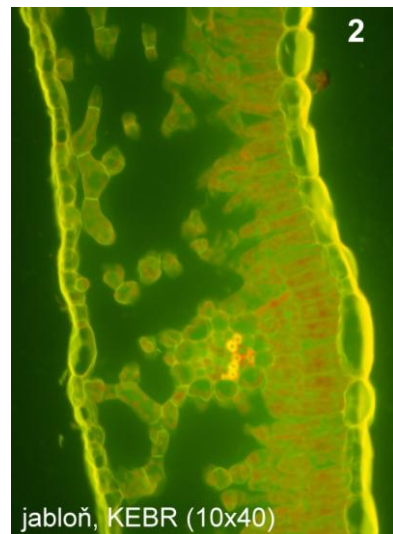
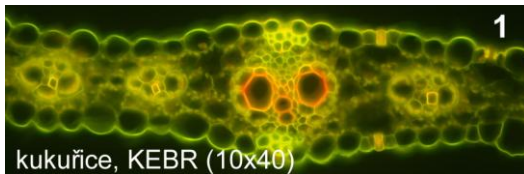
a) Jaký je rozdíl mezi rostlinnými jedinci z hor a nížiny co se týče jejich povrchu a trichomů?

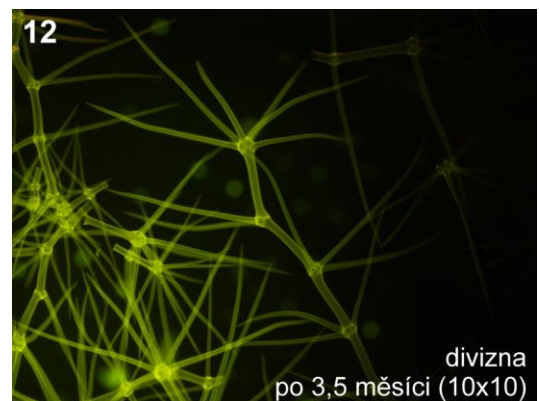
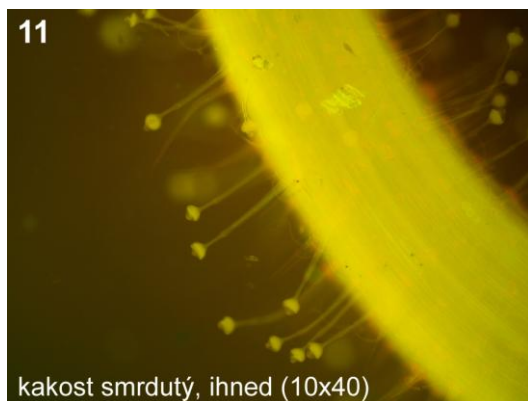
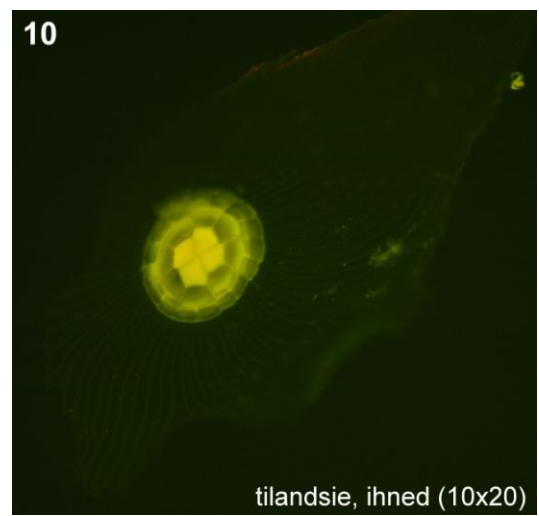
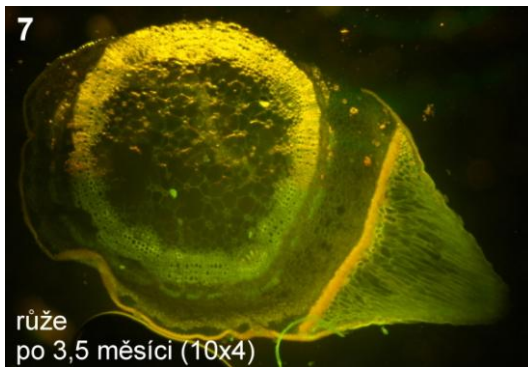
b) Jakou funkci plní tyto trichomy?



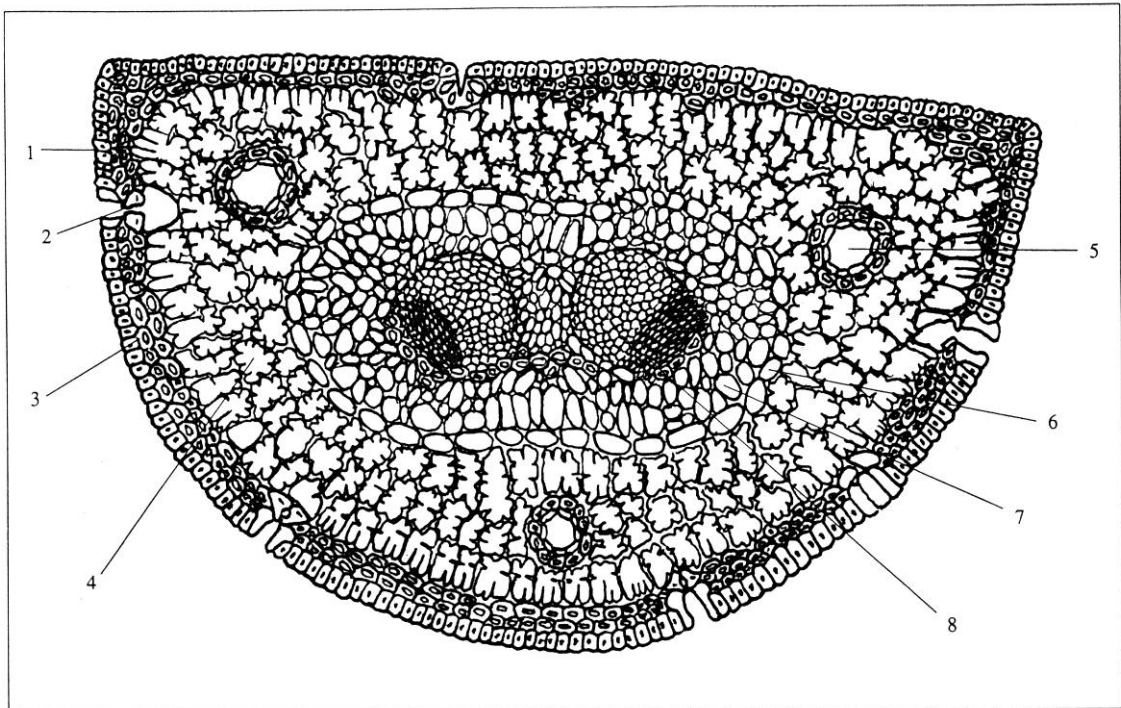
### 8.3. Příloha 3 – obrazové přílohy

(rozdílné pro skupinu „S“ a „BEZ“ – u skupiny „S“ jen obrázky 7, 8 a 11)

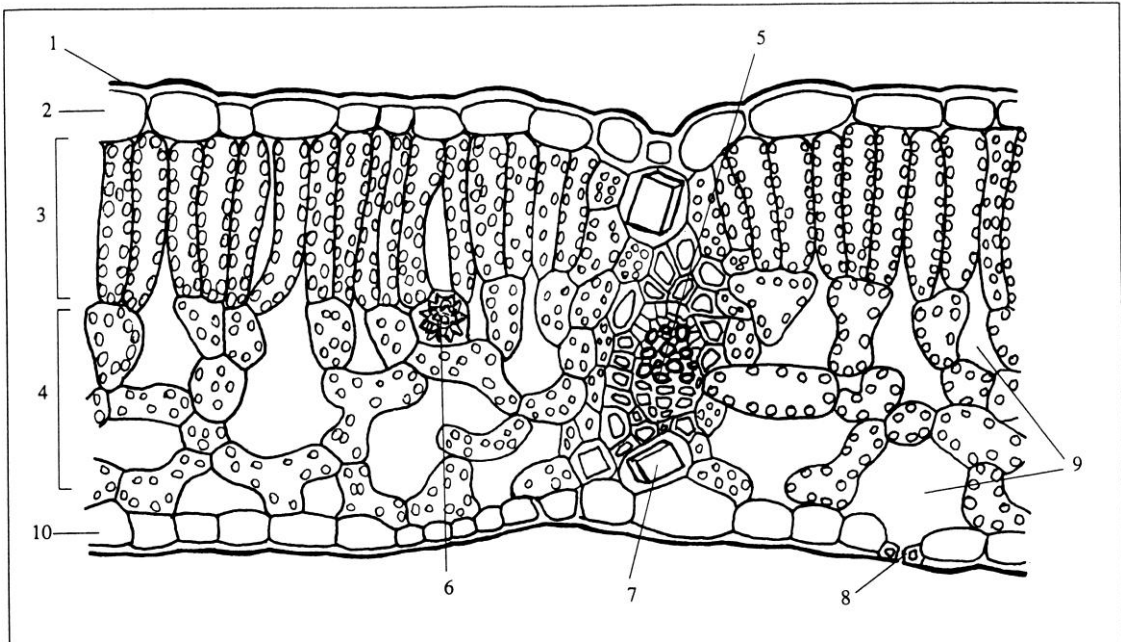




#### 8.4. Příloha 4 – obrázková nápověda s popisky



**Obr. 67** Příčný řez jehlicí borovice černé (*Pinus nigra*): 1 – epidermis, 2 – průduch, 3 – sklerenchymatická hypodermis, 4 – parenchym, 5 – pryskyřičný kanálek, 6 – endodermis, 7 – transfúzní pletivo, 8 – cévní svazek



**Obr. 66** Příčný řez bifaciálním listem buku lesního (*Fagus sylvatica*): 1 – kutikula, 2 – svrchní pokožka, 3 – palisádový parenchym, 4 – houbový parenchym, 5 – cévní svazek se sklerenchymatickou pochvou, 6 – buňka s krystalickou inkluzí (drůzou), 7 – buňka s krystalickou inkluzí (krystalem), 8 – průduch, 9 – mezibuněčné prostory, 10 – spodní pokožka s kutikulou

(Slavíková, 2002)

## 8.5. Příloha 5 – metodika a řešení jednotlivých zadání

### Řešení a metodické pokyny k návrhům na praktika s použitím optického a putovního fluorescenčního mikroskopu

1. Stavba listu
2. Optický a fluorescenční mikroskop – popis částí
3. Rostlinné chlupy

Zhotovila: Bc. Jana Filipová

**ZAŘAZENÍ DO RVP:** biologie – *biologie rostlin* – rostlinná anatomie, stavba listu

**PŘESAHY DO JINÝCH PŘEDMĚTŮ:** chemie – *obecná chemie* – stavba atomu, *anorganická chemie* – reakce peroxidu vodíku, chemiluminiscence; fyzika – *pohyb těles a jejich vzájemné působení* – mechanické kmitání a vlnění, vlnová délka a rychlost vlnění, *elektromagnetické jevy, světlo* – elektromagnetické záření, vlnové vlastnosti světla, *mikrosvět* – světlo, fotony, atomy, excitace

#### CÍLE:

podle RVP, Žák:

Popíše stavbu těl rostlin, stavbu a funkci jednotlivých orgánů.

Využívá zákony zachování některých důležitých fyzikálních veličin při řešení problémů a úloh.

Využívá znalosti o částicové struktuře látek k předvídání některých jejich fyzikálně-chemických vlastností.

Charakterizuje významné zástupce prvků a zhodnotí jejich využití v praxi.

konkrétní cíle, Žák:

Popíše vnitřní stavbu listu podle preparátu v optickém a fluorescenčním mikroskopu.

Vysvětlí princip fluorescence.

Uvede hlavní rozdíly mezi optickým a fluorescenčním mikroskopem.

Definuje pojmy trichom a emergence.

**FORMY:** frontální, individuální, ve dvojicích

**METODY:** výklad, samostatná práce, práce s pracovním listem, práce s textem

#### POMŮCKY:

mikroskop (optický, fluorescenční); podložní a krycí sklíčka, žiletky, kapátko, voda, kádinka, skalpel (pítevní sada), pracovní list

pro úlohu „Optický a fluorescenční mikroskop – popis částí“ – prezentace Fluorescence

pro úlohu „Rostlinné chlupy“ – sada fotografií (obrazový materiál), zdroje pro definice trichomů a emergencí (viz použitá literatura)

**DIDAKTICKÁ TECHNIKA:** PC, projektor

pro pozorování fluorescenčních preparátů je důležité dobré zatemnění místnosti

### **PŘÍRODNINY:**

pro úlohu „Stavba listu“ – jehlice smrku (popřípadě borovice), (list kukuřice)

trvalý preparát z listu jabloně (nebo hrušně), (trvalý preparát z jehlice), trvalý preparát z listu kukuřice

pro úlohu „Rostlinné chlupy“ – tillandsie, rosnatka, list divizny (lze i sušený), trvalý preparát z trnu růže – emergence

Trvalé preparáty jsou zpracovány:

A) ručním řezem, zamontovány v médiu CMCP 10

B) řezem na mikrotomu (tloušťka řezů 12 um), Barvení: safranin + anilinová modř, zamontovány v solakrylu.

### **ČASOVÉ ROZVRŽENÍ (hrubý odhad):**

#### **Stavba listu (50 minut)**

30 M – tvorba a pozorování vodních preparátů na optickém mikroskopu – stavba listu

20 M – pozorování preparátů ve fluorescenčním mikroskopu

#### **Optický a fluorescenční mikroskop – popis částí (50 minut)**

30 M – teoretický úvod k fluorescenci – prezentace + motivační pokusy (doporučuji zařadit do klasické vyučovací hodiny, která předchází praktickému cvičení)

20 M – popis rozdílů optického a fluorescenčního mikroskopu – nákres + vyplnění tabulky

#### **Rostlinné chlupy (50 minut)**

10 M – trichom vs. emergence – práce s literaturou, definice

20 M – tvorba a pozorování vodních preparátů na optickém a fluorescenčním mikroskopu – trichomy

10 M – úlohy s trichomy

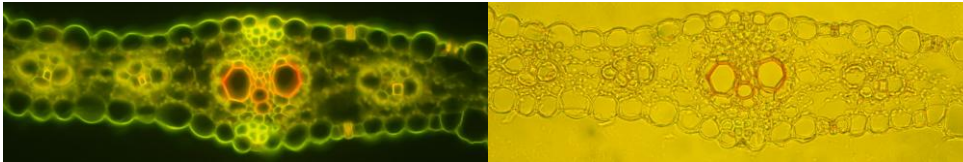
10 M – divizna a plesnivec

---

## 1. STAVBA LISTU

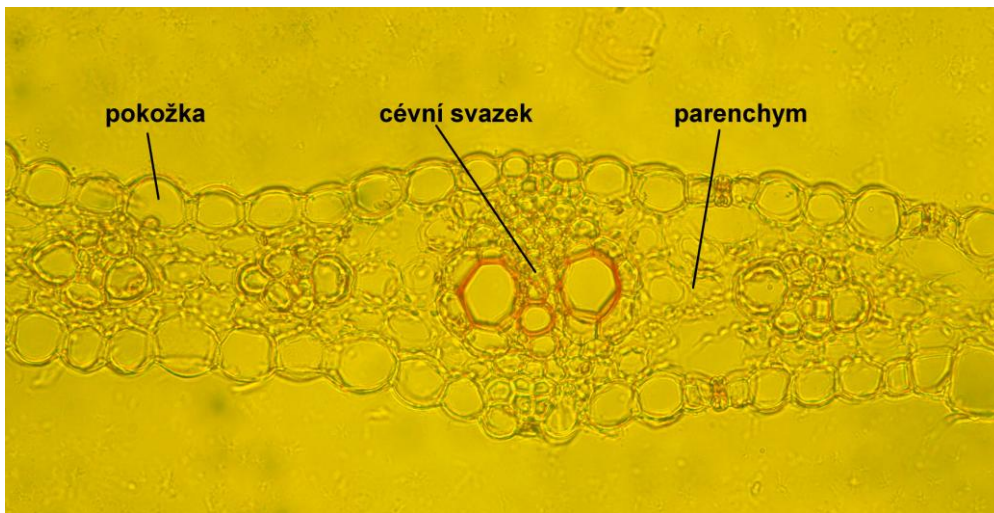
1. Zhotovte vodní preparát příčného řezu listem jehlicí smrku (*Picea*). Pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kukuřice (*Zea*) a jabloně (*Malus*) nebo hrušně (*Pyrus*). Nakreslete všechny pozorované preparáty a popište pozorované struktury, uveďte zvětšení.

List jednoděložný (kukuřice):

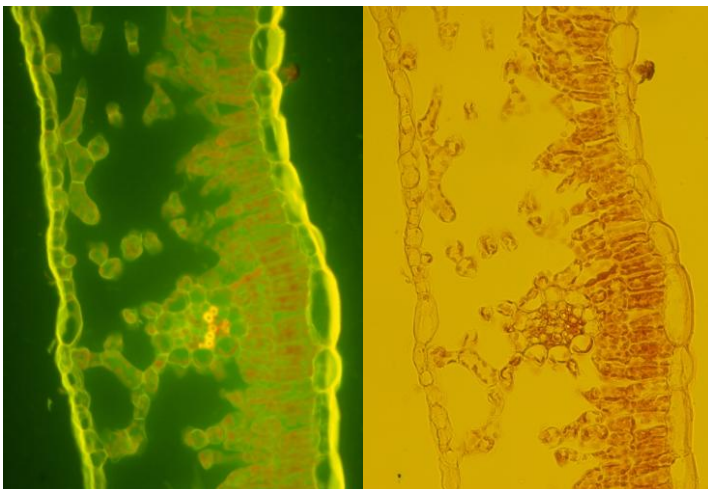


(10×40) – fluorescenční – Katedra experimentální biologie rostlin (KEBR), optický KEBR

Pozorované struktury: pokožka, parenchym, cévní svazky (velké buňky náleží xylému) (obrázek při zvětšení 10×40)

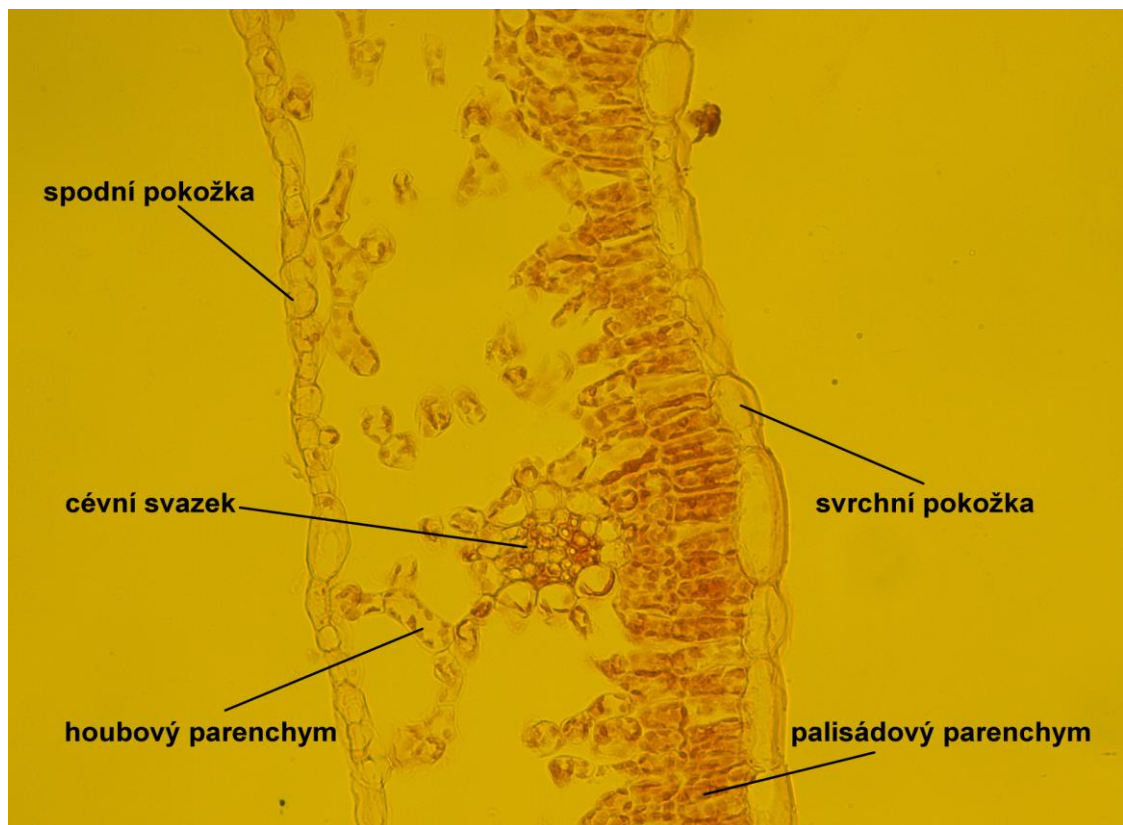


List dvouděložný (jabloň):

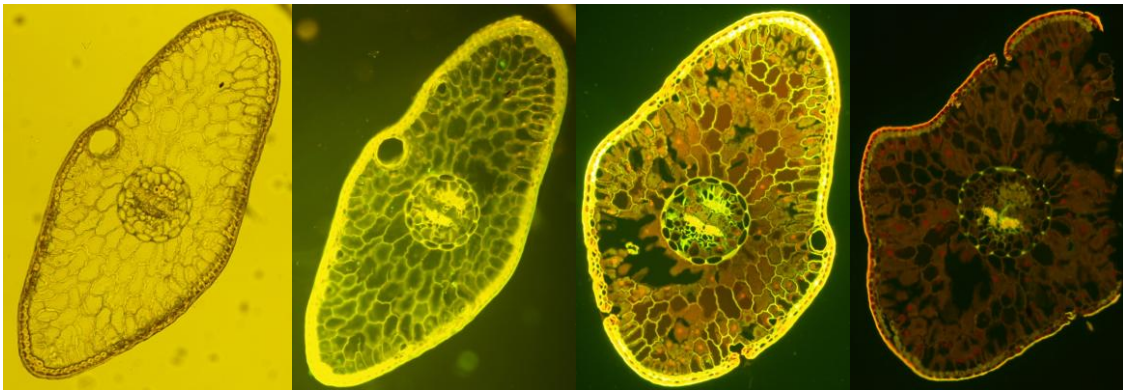


(10×40) – fluorescenční KEBR, optický KEBR

Pozorované struktury, svrchní pokožka, spodní pokožka, palisádový parenchym, houbovitý (houbový) parenchym, cévní svazek (obrázek při zvětšení 10×40)

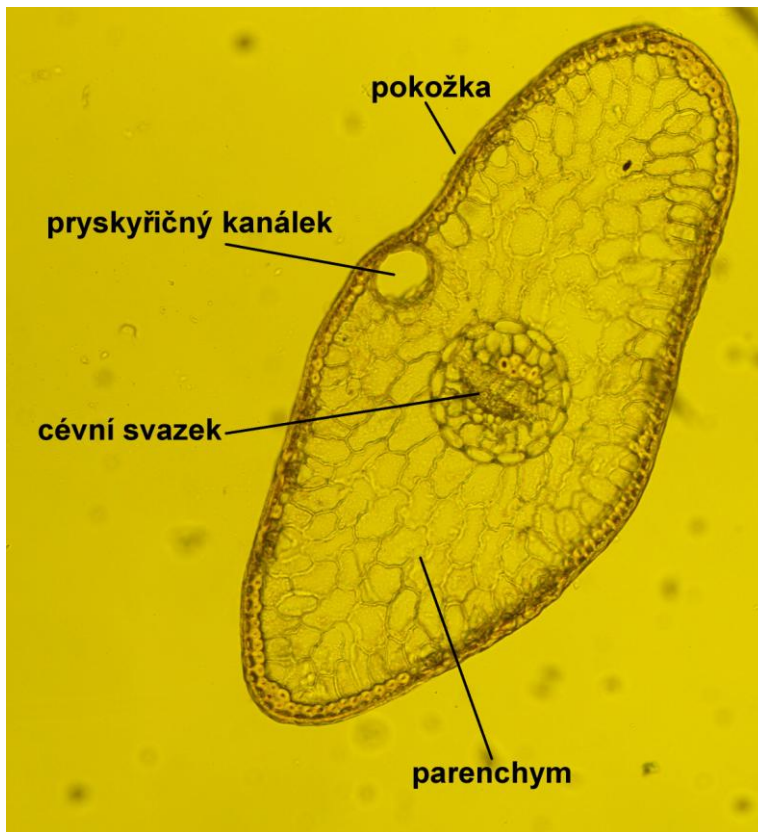


Jehlice:



(10×10) – optický, fluorescenční trvalý po 3,5 měsíci, fluorescenční KEBR, fluorescenční trvalý hned

Pozorované struktury: pokožka, cévní svazek, parenchym, pryskyřičné kanálky (lépe při větším zvětšení) (obrázek při zvětšení 10×10)

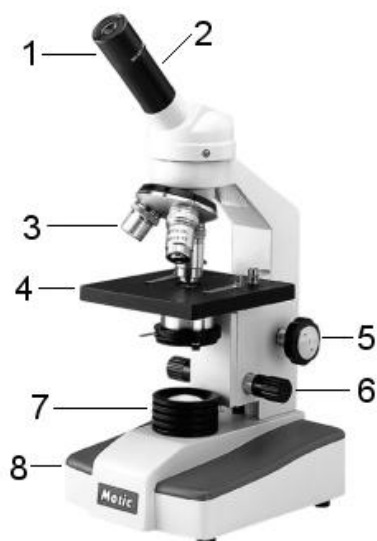


2. Do obrázků z úlohy 1. – stavba listu – zakreslete barevně struktury, které svítí ve fluorescenčním mikroskopu. Pokud nemáte pastelku té barvy, napište k nim barvu slovy.



## 2. OPTICKÝ A FLUORESCENČNÍ MIKROSKOP

1. Nakreslete a popište optický mikroskop, který máte před sebou. Při popisu použijte tyto pojmy:



mikrošroub, makrošroub, posuvný stolek, světlo/zrcátko, okulár, objektiv, tubus, základna mikroskopu

1	okulár
2	tubus
3	objektiv
4	posuvný stolek
5	makrošroub
6	mikrošroub
7	světlo/zrcátko
8	základna mikroskopu

Zdroj obrázku: <http://files.mikroskop-mikroskopy.cz/200000062-9bfc79cf66/Popis%20mikroskopu%20Motic.PNG> – upraveno

2. Do předchozího obrázku jinou barvou zakreslete a popište ty části, které jsou u fluorescenčního mikroskopu jiné.

zdroj světla je jak ve viditelném spektru, tak v modré oblasti (480nm)

pro přepínání mezi oběma zdroji slouží zrcátko

v dráze světla od zdroje do okuláru je vložen filtr, který nepropouští excitační světlo

tento putovní fluorescenční mikroskop má navíc možnost zapojení fotoaparátu (v místě hlavičky mikroskopu)

**Jaké jsou hlavní rozdíly mezi klasickým a tímto putovním fluorescenčním mikroskopem?**

fluorescenční mikroskop má kromě zdroje světla pro viditelné spektrum ještě zdroj modrého světla 480nm

fluorescenční mikroskop má filtr na pohlcení excitačního světla, které by jinak rušilo obraz, navíc poškozují zrak

cena – přídatný zdroj excitačního záření a jiné doplňky cca 40,000, profesionální mikroskop několik milionů ☺ (nejlevnější za „pár“ set tisíc).

### 3. Doplňte tabulku:

jev	charakteristika	Příklad
<b>incandescence</b>	produkce světla i tepla	slunce, oheň, láva, roztavené kovy, žárovka
luminescence	<b>produkce světla bez produkce tepla – obecný pojem</b>	-----
<b>triboluminescence</b>	produkce světla vlivem mechanických sil	drcení krystalů např. cukru
chemiluminescence	<b>vznik světla chemickou reakcí</b>	luminol, svítilny tyčinky
bioluminescence	světlo v živých organismech	<b>světlušky, d'as mořský</b>
<b>fluorescence</b>	produkce světla po excitaci (ozáření) ihned, po ukončení excitace nesvítil	Chlorofyl, bankovky, tonic
fosforescence	<b>produkce světla po excitaci (ozáření) se zpožděním, po ukončení excitace svítí (řádově sekundy)</b>	fosforeskující hračky

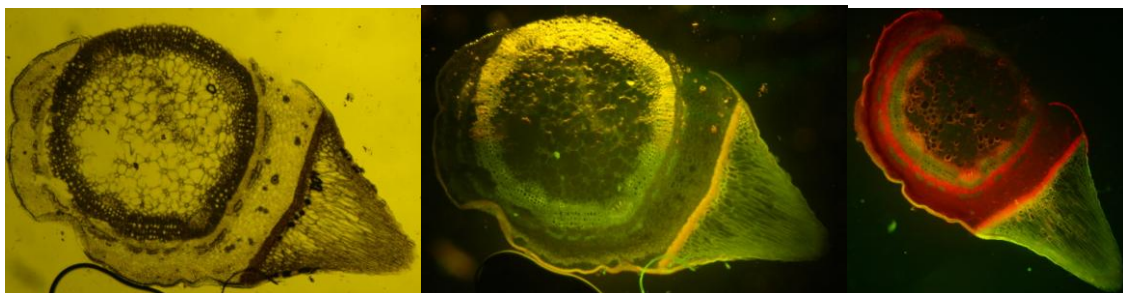
### 3. ROSTLINNÉ CHLUPY

**1. Jaký je rozdíl mezi trichomem a emergencí? Najděte definice v materiálech, které máte k dispozici.**

trichomy jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné výrůstky pokožky

emergence jsou deriváty pokožky a ostatních pletiv

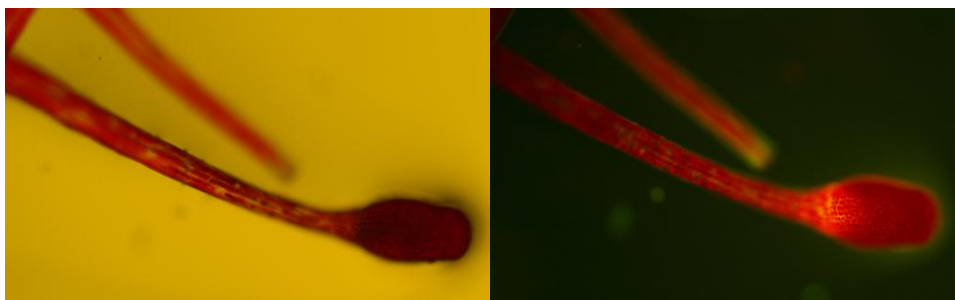
**Ověřte pozorováním preparátu – trvalý preparát trnu růže (*Rosa*). Jak se liší fluorescence trvalého preparátu trnu růže při pozorování ihned a po několika měsících? Proč? Použijte obrazový materiál.**



(10×4) – optický, fluorescenční po 3,5 měsíci, fluorescenční ihned – trn růže

Chlorofyl se časem a působením média CMCP 10 rozkládá. V čerstvém preparátu svítí chlorofyl červeně a to překryje žlutou fluorescenci buněčných stěn. V preparátu po několika měsících jsou vidět už jen buněčné stěny.

**Vytvořte dočasný vodní preparát z listu rosnatky (*Drosera*). Uřízněte úzký proužek, položte ho do kapky vody na podložním sklíčku na bok a pozorujte. Zakreslete, uveďte zvětšení a popište.**



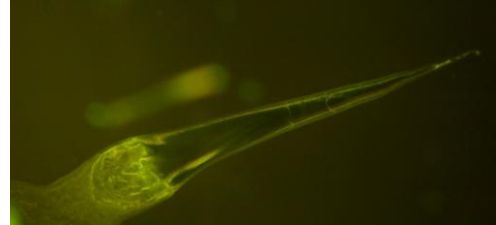
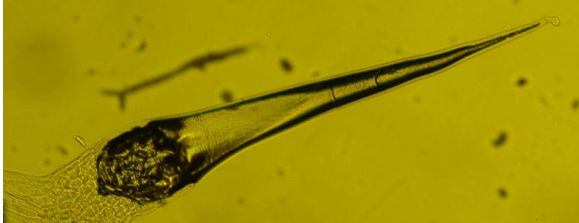
(10×10) – optický, fluorescenční vodní ihned, konec emergence je rozšířený, obalený lepivou tekutinou (v preparátu lepkavá tekutina chybí – rozplyne se v médiu) – rosnatka

**Jakou barvou svítí pozorované struktury ve fluorescenčním mikroskopu?**

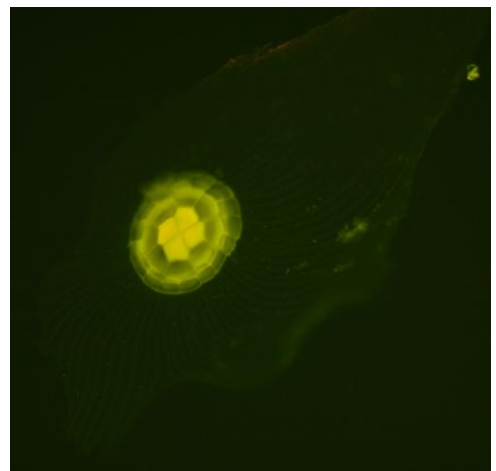
červeně

2. Utvořte vodní preparát trichomů z listu tillandsie. Skalpelem nebo hranou nůžek seškrábněte trichomy do kapky vody, přiklopte krycím sklíčkem a pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kopřivy (*Urtica*) s trichomem.

Všechna pozorování zakreslete, uveďte dané zvětšení a popište.



(10×10) – optický, fluorescenční po 3,5 měsíci, špička trichomu je inkrustovaná – kopřiva



(10×20) – optický, fluorescenční ihned, trichom má šupinovitý tvar, mezi povrchem a trichomem je úzký prostor (adheze vody) – tillandsie

3. K části listu tillandsie, která není poškozená z předchozího odebírání preparátu, přiložte preparační jehlu s kapkou vody. Pozorujte, co se stalo. Popište. K čemu tento jev rostlině slouží?

chlupy na listu kapku „vstřebaly“ a roztáhly jí po větší ploše listu

tillandsie je epifyt, vodu získává ze vzdušné vlhkosti, tento mechanismus jí pomáhá vstřebat a distribuovat vodu, která ulpí na jejím povrchu – adheze vody na povrchu

4. Určitě už se Vám někdy stalo, že Vás „popálila“ kopřiva. Která struktura na těle kopřivy je za „popáleniny“ zodpovědná?

trichomy na listech a stonku

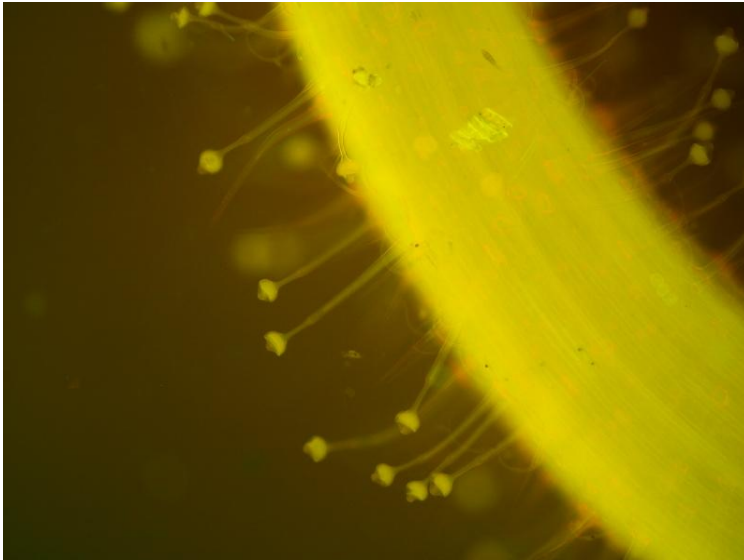
Jakým způsobem je spouštěn mechanismus „popálení“? (Nápověda: Výše uvedená dutá struktura je ve špičce vyztužena anorganickými solemi, což zvyšuje její křehkost.)

Vyztužený hrot trichomu se snadno ulomí, v dutině je uložena kyselina mravenčí, která se po odlomení hrotu dostane ven. Tvrdý hrot navíc způsobuje drobná poranění na kůži, do kterých se pak kyselina dostane, což způsobuje ono známé pálení.

**5. Možná jste se někdy v lese nebo na louce omylem otřeli o kakost. Tato celkem nenápadná bylina vás pak odměnila silným nepříjemným oděrem. Ten mají na svědomí trichomy na listech.**

**Prohlédněte si pozorně obrázek listu kakostu z fluorescenčního mikroskopu. Která část trichomu je za oděr zodpovědná?**

rozšířená část (kulovitá struktura) na konci trichomu – vylučuje páchnoucí tekutinu



(10×40) – fluorescenční ihned

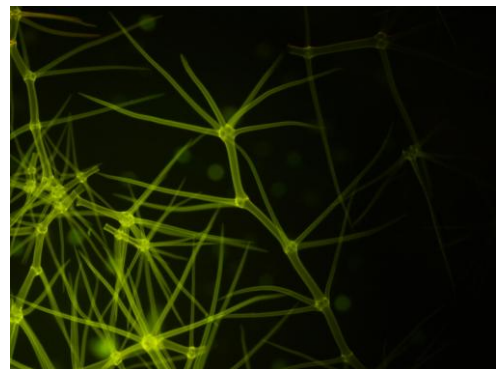
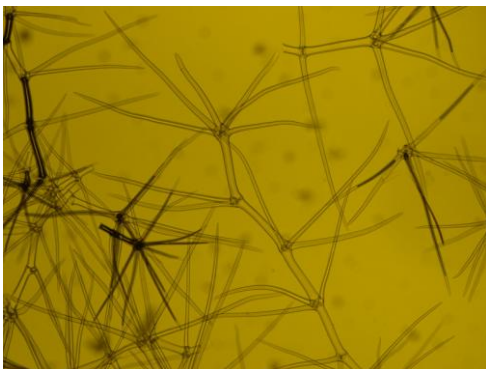
**Znáte ještě nějakou další rostlinu, která má stejnou vlastnost? Napište alespoň tři.**

rajče, muškát, tabák, některé hluchavkovité – máta, šalvěj, mateřídouška, meduňka – ty nám ale voní spíše „pozitivně“

**K čemu taková vlastnost rostlinám je?**

odpuzuje býložravce

**6. Z listu divizny seškrábněte „chlupy“ do kapky vody na podložním sklíčku, přiložte krycí sklíčko a pozorujte stavbu pod mikroskopem. Zakreslete, uveďte dané zvětšení a popište. Jakou barvou svítí dané struktury pod fluorescenčním mikroskopem**



(10×10) – optický, fluorescenční po 3,5 měsíci – mnohobuněčné trichomy divizny

7. Obdobné struktury můžeme nalézt na rostlině plesnivec alpský. V přírodě roste například ve slovenských Tatrách, ale je to i oblíbená skalnička. Vzhled rostlin z hor a zahrádek v nížině se ale liší



v nížinách



v horách

a) Jaký je rozdíl mezi rostlinnými jedinci z hor a nížiny co se týče jejich povrchu a trichomů?

horské rostliny jsou chlupatější než rostliny v nížinách

b) Jakou funkci plní tyto trichomy?

trichomy plní funkci tepelné izolace, rostliny rostoucí v nížinách, tedy v mírnějších podmínkách, nemají tolik trichomů jako rostliny z hor.

#### POUŽITÁ LITERATURA:

materiál pro studenty:

Hančová, H., Vlková, M.: *Biologie I. v kostce pro SŠ*, Fragment, Havlíčkův Brod, 1999, s. 46.

Rosypal, S.: *Nový přehled biologie*, Scientia, Praha, 2003, s. 203.

Votrubová, O.: *Anatomie rostlin*, Karolinum, Praha, 2010, s. 90 – 94, 138.

Slavíková, Z.: *Morfologie rostlin*, Karolinum, Praha, 2002, s. 30, 59, 60.

ostatní:

Srba, M., Frýzková, M., 2008.: *Rostlinné „chlupy“*, Interní výukový materiál Katedry učitelství a didaktiky biologie PŘF UK.

Vinter, V.: *Rostliny pod mikroskopem*, základy anatomie cévnatých rostlin, Olomouc, 2009

mikroskop – upraveno, dostupné z: <http://files.mikroskop-mikroskopy.cz/200000062-9bfc79cf66/Popis%20mikroskopu%20Motic.PNG> [citováno 2. 5. 2013]

plesnivec v nížinách, dostupné z:

<http://www.kolibrikerteszet.hu/files/Kepek/evelo%203/Leontopodium%20alpinum.jpg> [citováno 26. 3. 2013]

plesnivec v horách, dostupné z:

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c2/Leontopodium\\_alpinum\\_detail.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c2/Leontopodium_alpinum_detail.jpg) [citováno 26. 3. 2013]

## 8.6. Příloha 6 – prezentace

Snímek 1



Snímek 2

### Co je fluorescence?

- ve skutečnosti to není tak jednoduché

```
graph TD
    A[emission of light] --> B{with heating?}
    B -- yes --> C[incandescence]
    B -- no --> D[luminescence]
    D --> E{from mechanical forces?}
    E -- yes --> F[triboluminescence]
    E -- no --> G{with excitation by light?}
    G -- yes --> H{immediately?}
    H -- yes --> I[fluorescence]
    H -- no --> J[phosphorescence]
    G -- no --> K{inanimate?}
    K -- yes --> L[chemiluminescence]
    K -- no --> M[bioluminescence]
```

Figure 1. Possible luminescent fates for an atom or molecule after electronic excitation.

Snímek 3

### Incandescence

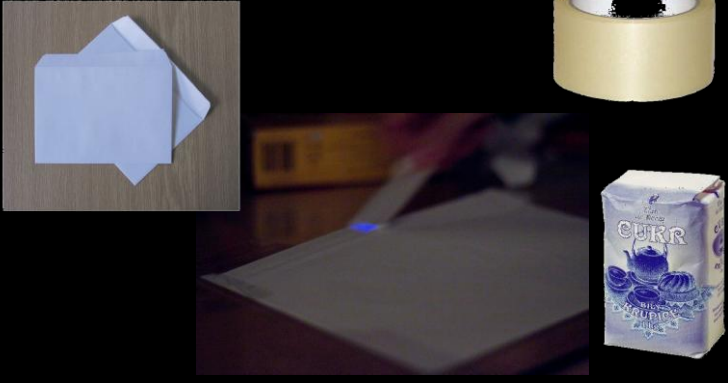
- produkce světla i tepla

The slide illustrates various forms of incandescence: a glowing orange sun, a fire, a lit lightbulb, and a lava flow.

Snímek 4

## Triboluminescence

- produkce světla mechanickými silami




The image collage shows various examples of triboluminescence. On the left, a stack of white paper is shown. In the center, a piece of paper is being rubbed, producing a small blue glow. On the right, a roll of yellow tape is shown, and below it, a carton of CURR milk is shown glowing with a blue light.

Snímek 5

## Chemiluminescence

- produkce světla chemickou reakcí

1. uvolnění energie
2. absorpce energie
3. vyzáření světla



The image collage shows various examples of chemiluminescence. On the right, a beaker of blue liquid is shown glowing. Below it, a petri dish is shown glowing. On the left, a row of test tubes is shown, each containing a different colored liquid and glowing.

Snímek 6

## Bioluminescence

- chemická reakce v živých organismech
- světluška větší
- mořské organismy – Noctiluca miliaris, Aequorea victoria, mořský ďas



The image collage shows various examples of bioluminescence. On the left, a firefly is shown glowing. In the center, a jellyfish is shown glowing. On the right, a fish is shown glowing.



Snímek 7

### Atom

- jádro, elektrony
- valenční orbitaly

6 protons  
+ 6 neutrons

electron  
proton  
neutron

Carbon atom

Snímek 8

### Fluorescence

- excitace světlem, emise okamžitě
- excitace = přechod do vyššího energetického stavu
- emise = vyzáření

E 3  
E 2  
E 1  
E 0

E

Snímek 9

### Fosforescence

- excitace světlem, emise se zpožděním

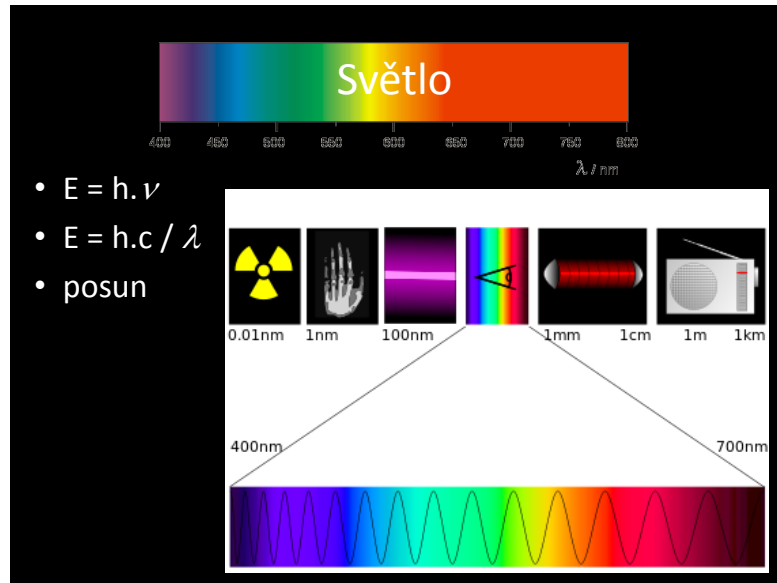
E 2  
E 1  
E 0

E

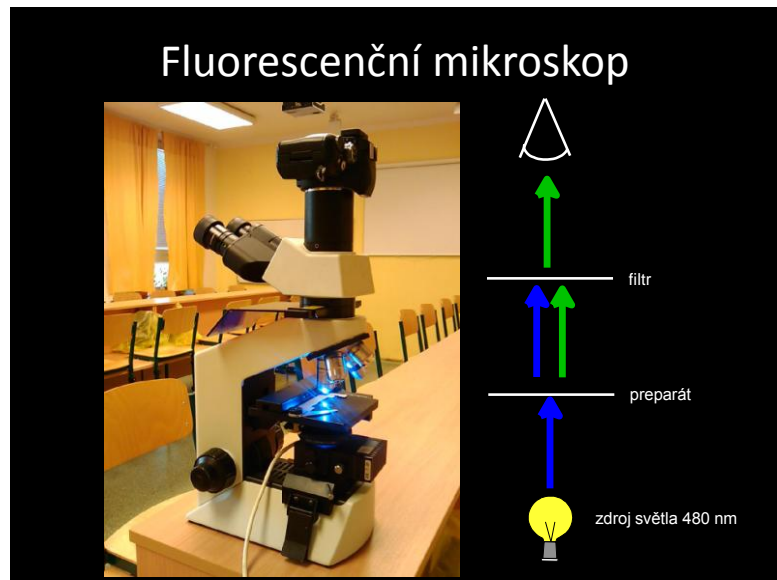
vibrace, teplo

přeskoky spinů → zpoždění

Snímek 10



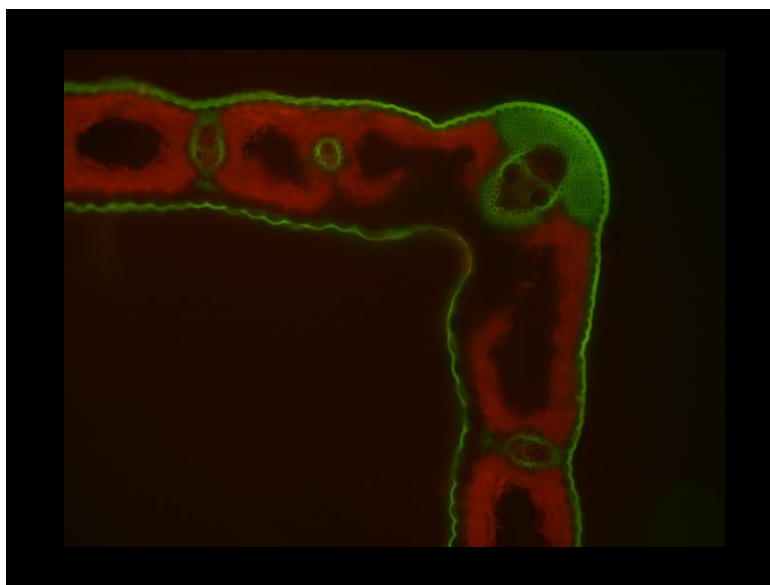
Snímek 11



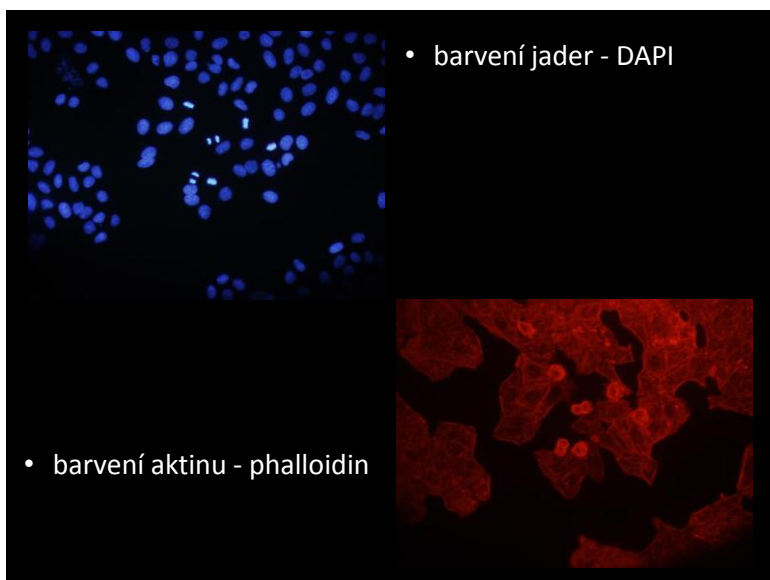
Snímek 12



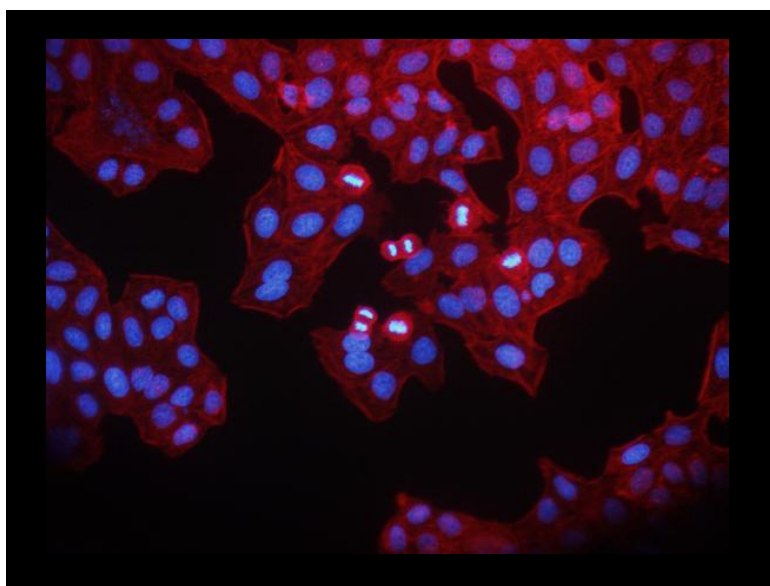
Snímek 13



Snímek 14



Snímek 15



Snímek 16

## využití

- zdravotnictví – fluorescenční značení, NK, TBC, imunologie, vitamíny
- GMO organismy – fluorescence podle prostředí
- zářivky
- monitoring vodních toků – fluorescein
- kriminalistika – luminol
- bankovky

Snímek 17

Snímek 18

- <http://www.aipenergy.cz/zarovka.jpg>
- <http://www.zschemie.euweb.cz/vodik/slunce.jpg>
- [http://i.idnes.cz/08/103/gal/MBB20f40a\\_42\\_15325106.jpg](http://i.idnes.cz/08/103/gal/MBB20f40a_42_15325106.jpg)
- <http://photography.nationalgeographic.com.au/staticfiles/NGS/Shared/StaticFiles/Photography/Images/POD/k/kilauea-lava-214635-sw.jpg>
- [http://www.otto-office.com/oocz/b2b/ces/mediadatacat/art/600/OOCZ\\_ART\\_62/OOCZ\\_ART\\_62584\\_00.jpg](http://www.otto-office.com/oocz/b2b/ces/mediadatacat/art/600/OOCZ_ART_62/OOCZ_ART_62584_00.jpg)
- [http://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P\\_1527\\_1.jpg](http://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P_1527_1.jpg)
- [http://www.drinkservice.cz/fotky15726/fotos/\\_vyr\\_7Cukr-krupice.jpg](http://www.drinkservice.cz/fotky15726/fotos/_vyr_7Cukr-krupice.jpg)
- [http://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P\\_1527\\_1.jpg](http://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P_1527_1.jpg)
- [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fe/Luminol\\_-\\_%281%29.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fe/Luminol_-_%281%29.jpg)
- [http://1.bp.blogspot.com/\\_NIS5qhMtFCA/TFaPK4GJRvI/AAAAAAAAAApi/UyxRH3WBXVY/s1600/noctiluca.jpg](http://1.bp.blogspot.com/_NIS5qhMtFCA/TFaPK4GJRvI/AAAAAAAAAApi/UyxRH3WBXVY/s1600/noctiluca.jpg)
- <http://www.dmlim.net/img/aeq/RaskoffAequorea.jpg>
- <http://zivazeme.cz/images/das-morsky02.jpg>
- <http://www.cartinafinland.fi/en/imagebank/image/80/80913/european+glow+worm+larva+-+lampyris+noctiluca+80913.jpg>
- [http://www.hk-phy.org/articles/laser/c-atom\\_e.gif](http://www.hk-phy.org/articles/laser/c-atom_e.gif)
- <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/fc/Spectre.svg/400px-Spectre.svg.png>
- <http://www.labo.cz/mft/img/spektrum.gif>
- [http://www.wigym.cz/nv/wp-content/gallery/11\\_10\\_mikroskop/image\\_026.jpg](http://www.wigym.cz/nv/wp-content/gallery/11_10_mikroskop/image_026.jpg)
- O'Hara, P. et al.: Turning on the Light: Lessons from Luminescence, Journal of Chemical Education, Vol. 82, No.1

## 8.7. Příloha 7 – komentář k prezentaci

### KOMENTÁŘ K PREZENTACI „FLUORESCENCE“ A MOTIVAČNÍ DEMONSTRAČNÍ POKUSY

#### slide 1: úvod

#### slide 2: Co je fluorescence?

Předpokládám, že žáci odpoví něco ve smyslu „světlo“, „svícení“...

Ve skutečnosti „světlo“ jsou všechny pojmy zmíněné ve schématu a fluorescence je jen malou částí z nich.

#### slide 3: Incandescence

Podle obrázků žáci mohou hádat, jaká fyzikální veličina kromě světla se uvolňuje u znázorněných procesů.

Incandescenci lze také přeložit jako zářivost, oba pojmy jsou však velice málo používané, proto jsem se přiklonila k zachování anglického výrazu. Navzdory tomu, že pojem je využíván málo, je tento jev velice častý. Jedná se uvolnění energie ze systému produkcí světla a zároveň tepla. Děje se tak například u žárovky, slunce, plamenu nebo u roztavených kovů či hornin – lávy. Demonstrace studentům ve výuce s použitím plamene či žárovky se přímo nabízí.

#### **následující pojem není v prezentaci uveden a shrnuje do sebe všechny následující jevy:**

Luminiscence je pojem pocházející z latiny, který byl poprvé použit již v roce 1888 Elhardem Wiedemannem. Soustřeďuje v sobě všechny jevy, při kterých dochází k produkci světla, ale nikoliv tepla. Často je označována jako studené světlo.

#### slide 4: Triboluminiscence

Triboluminiscence je emise světla vznikající působením mechanických sil na uspořádané krystaly. Jiné jevy využívající ke vzniku světla taktéž mechanickou sílu lze sdružit pod pojem mechanoluminiscence. Sem patří například světlo vznikající natahováním lepidla při rozlepování samolepicí obálky. Zdrojem energie pro excitaci atomů je právě tato mechanická energie (tento pojem ale nebyl zahrnut v převzatém úvodním obrázku v prezentaci, proto jsem pojmy zahrnula do sebe.

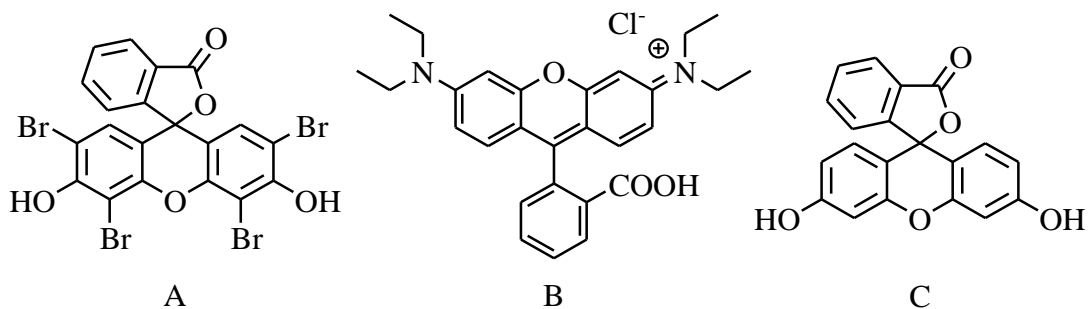
- při rozlepování zalepené samolepicí obálky vzniká světlo (musí být absolutní tma, ve výuce je špatně pozorovatelné; doporučuji zadat za domácí úkol

- světlo při drcení krystalů není v „domácích“ podmínkách pozorovatelné (pravděpodobně kvůli malé síle působící na krystaly a neprůhledné třecí misce

#### slide 5: Chemiluminiscence

Jak název napovídá, je chemiluminiscence jev, kdy světlo vzniká jako produkt chemické reakce. Respektive chemickou reakcí se uvolňuje energie, která je následně využita k excitaci atomů (absorpce energie). Ty pak přijatou energii vyzáří ve formě světla.

Ve většině chemiluminiscenčních reakcí se energie uvolní reakcí dvou látek, třetí látka zvaná luminofor je schopna energii přijmout a následně vyzářit ve formě světla (například u zábavních „lightstick“ tyčinek). Existují však i látky, které po zreagování mohou energii přijmout a vyzářit samy bez přítomnosti luminoforu (např. luminol). Luminofory (například eosin, rhodamin B, fluorescein – viz obrázek 1) jsou látky s rozsáhlým systémem konjugovaných vazeb, jimi emitované barvy se mohou nacházet v široké části světelného spektra (Tabulka 1).



Obrázek 1: A – eosin, B – rhodamin B, C – fluorescein

**Tabulka 1: Fluorescenční barviva (luminofory) a barvy jimi emitovaného světla**

<i>Barvivo</i>	<i>Emitovaná barva</i>
fluorescein	zeleno-žlutá
rhodamin B	červená
eosin	žlutá
nilská modř A	červená
kumarin	zelená

### **Pokusy vhodné k demonstraci:**

#### **1. luminol**

- oxidace luminolu peroxidem vodíku v zásaditém prostředí s katalyzátorem  $\text{Fe}^{2+}$
- světlo vzniká smísením roztoků A a B 1:1 (je možno je připravit předem)

roztok A: V 60 ml destilované vody rozpustíte 0,4 g uhličitanu sodného a 0,1 g luminolu. Po rozpuštění obou látek přidejte 2,4 g hydrogenuhličitanu sodného, 5 g uhličitanu amonného a 0,4 g červené krevní soli (hexakvanoželezitan draselný). Po rozpuštění všech látek doplňte vodou na 100 ml.

(někdy uváděný katalyzátor  $\text{Cu}^{2+}$  není příliš vhodný, neboť ionty jsou peroxidem rychle oxidovány na  $\text{Cu}^{3+}$  a světlo je pak pozorováno pouze jako velice krátký záblesk)

roztok B: 6 ml 30% peroxidu vodíku doplňte vodou do 100 ml

(roztok A lze připravit i jednodušeji, ale pak je potřeba připravovat si vždy čerstvý před demonstrací:

Jednu pecičku hydroxidu sodného rozpustíme v 60 ml destilované vody, přidáme 0,1 g luminolu. Po rozpuštění doplníme vodou na 100 ml)

- luminol svítí modře, před smísením A a B lze do roztoku A přidat několik krystalků fluorescenčního barviva pro změnu barvy – fluorescein (žlutá), eosin (oranžová), rhodamin (červená)

## 2. bis(2,4-dinitrofenyl)oxalát (DNPO)

- při oxidaci peroxidem vodíku v aprotickém rozpouštědle a následném rozpadu DNPO vzniká energie; tato energie je pohlcena přidaným fluorescenčním barvivem a vyzářena v podobě viditelného záření

20 mg fluorescenčního barviva (fluorescein, rhodamin, eosin a pod.) rozpustíme v 30 ml ethylacetátu (aprotické rozpouštědlo) a přidáme 0,5 ml 30% peroxidu vodíku. Přidáme asi 50 mg DNPO, roztokem mícháme.

- roztok připravujeme na místě, neboť není stabilní

## 3. „lightsticks“ (svítilí tyčinky)

- tyčinka se skládá ze dvou trubiček vložených do sebe – vnější plastová a vnitřní skleněná

- rozlomením vnitřní tyčinky dojde ke smísení roztoků a uvolnění fotonů

- princip je stejný jako u DNPO – ve vnější vrstvě je peroxid ve směsi terbutanolu s dibutylftalátem (směs aprotických rozpouštědel), ve vnitřní vrstvě je bis(2,4,6-trichlorfenyl)oxalát (analog DNPO) s fluorescenčním barvivem

## slide 6: Bioluminescence

Bioluminescence je produkce světla živým organismem a to buď přímo jeho vlastní metabolickou drahou, nebo s pomocí symbiotických organismů. V současné době známe bioluminiscenční bakterie, houby, živočišné houby, korýše, hmyz a ryby. Mnoho organismů se vyvinulo v hlubokomořských ekosystémech, kde přirozeně přetrvává tma. Světlo tam organismy využívají k lákání zvědavé kořisti, anebo partnerů k rozmnožování. *Noctiluca* žije v příbojových zónách, rozsvěcuje se při nárazu vln na pobřeží. Medúza *Aequoria victoria* posloužila jako zdrojový organismus pro izolaci genu pro GFP (green fluorescent protein), zeleně světélkující protein, který se dnes používá ke značení preparátů v biologii. V našich podmínkách se lze setkat se světluškou, na které se dříve prováděly bioluminiscenční pokusy. Dnes je však světluška chráněná, pokusy s ní nemohou být prováděny.

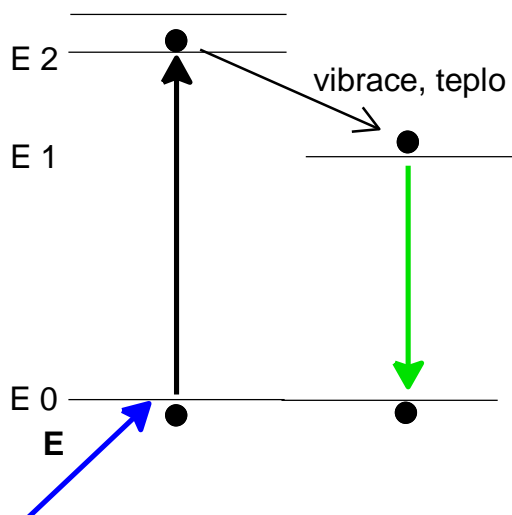
Princip bioluminescence byl zkoumán už od 17. století, ale odhalil ho až v 19. století Raphael Dubois. Pomocí světelných orgánů světlušek a teplé a studené vody zjistil, že pro vznik světla je potřeba kyslík a substance, kterou nazval luciferin (lux = světlo, feró = nesu). Enzym, který reakci spouští pak nazval luciferáza.

### slide 7: Atom

Tento snímek slouží jako opakovací pro učivo chemie a fyziky o stavbě atomu. Důležitý je poznatek o elektronovém obalu – uspořádání elektronů ve vrstvách o různých energiích, které se směrem od středu zvyšují. Hodí se i znalost znázorňování elektronových orbitalů pomocí „rámečků“ (Hundovo pravidlo).

### Slide 8: Fluorescence

Při fluorescenci světlo vzniká tak, že atom či molekula nejprve přijme energii fotonu (excituje se) a následně dojde k emisi této energie opět ve formě světla. Mezi excitací a emisí dochází navíc ke ztrátě části energie kvůli zvýšeným vibracím atomů nebo molekul (tzv. vnitřní přeměna). Z toho důvodu má emitované světlo vždy delší vlnovou délku než světlo excitační, a s tím spojenou nižší energii. Tento jev je označován jako Stokesův posun. K produkci světla dochází pouze v době osvětlení excitačním paprskem, protože fluorescence je krátkodobý jev ( $\sim 10^{-9} - 10^{-7}$  s). Princip je popsán na schématu, které zobrazuje obrázek 2.



Obrázek 2: Energetické změny v atomech/molekulách během fluorescence. Částice přijme energii E ve formě světelného záření, její energie se zvýší ze základní hladiny E0 na hladinu E2. Vibracemi a vyzařováním tepla dochází ke ztrátě energie, částice se dostává na energetickou hladinu E1. Poté dochází k emisi světla a částice se opět dostává do základního stavu E0. Emitované světlo má nižší energii (zelená šipka) než excitační světlo (modrá šipka).

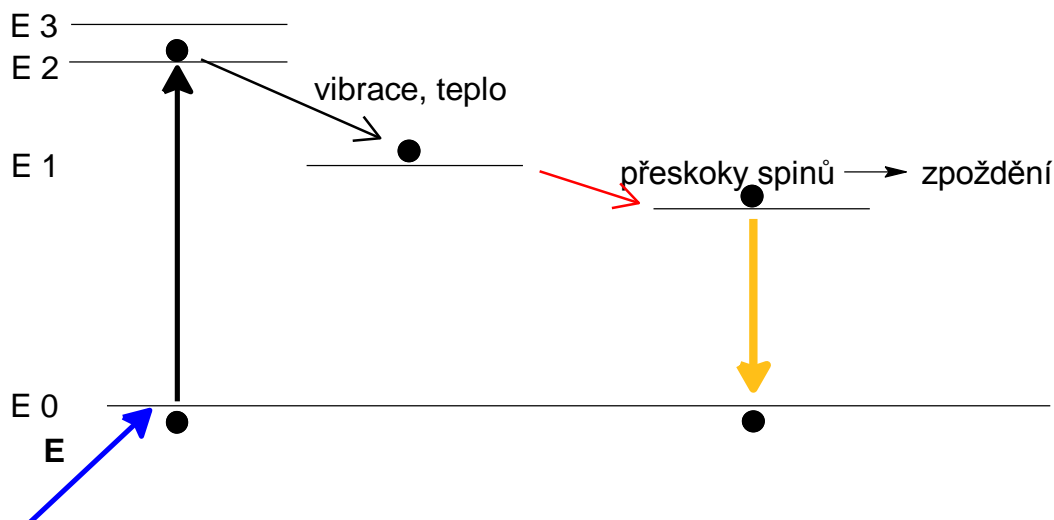
### Slide 9: Fosforescence

Tento jev je v hlavních rysech velice podobný fluorescenci. I zde dochází k excitaci částic světlem a následně emisi energie v podobě světelného záření. Hlavní rozdíl spočívá v délce trvání. Různé zdroje uvádí různá časová rozmezí,  $\sim 10^{-5} - 10$  s nebo minuty až hodiny. Důvodem tohoto zpoždění jsou změny uvnitř atomů a molekul, takzvané mezisystémové přechody spojené se změnou spinu.

Pokud má atom či molekula ve svém základním stavu v jednom orbitalu dva elektrony, musí se podle Hundova pravidla lišit spinem (znázorňuje se šipkami). Pokud jeden z elektronů přijme energii, excituje se a „přeskočí“ do vyšší energetické hladiny. Následně vyzařuje malá množství energie, nejčastěji vibracemi ve formě tepla, a jeho energie zvolna klesá. Při tomto vyzařování



energie, tzv. vnitřní přeměně, se může stát, že elektron přeskočí mezi orbitály na stejné energetické hladině a změní při tom spin. Tento jev, který není příliš častý, se nazývá mezisystémový přechod. Při dalším výdeji energie teplem a klesání v energetických hladinách dojde k tomu, že s následujícím poklesem energie by musely v jednom orbitalu být dva elektrony se stejným spinem, což není možné – přechod je spinově zakázaný. V tomto okamžiku dochází k časové prodlevě, kdy elektron musí nejprve při přeskočení do orbitalu o stejné energii změnit spin a až poté může vydat energii ve formě světla a obsadit základní hladinu. Schéma je znázorněno na obrázku 3.



Obrázek 3: Energetické změny v atomech/molekulách během fosforescence. Částice přijme energii  $E$  ve formě světelného záření, její energie se zvýší ze základní hladiny  $E_0$  na hladinu  $E_2$ . Vibracemi a vyzařováním tepla dochází ke ztrátě energie, částice se dostává na energetickou hladinu  $E_1$ . Při mezisystémových přeskočích dochází ke změně spinu. V této fázi nemůže dojít k přechodu do základního stavu  $E_0$ , protože přechod je spinově zakázaný. Nejprve musí dojít pomocí přeskoků k návratu původního spinu a až potom může být vyzářena energie ve formě světla a částice se opět dostává do základního stavu  $E_0$ . Emitované světlo má nižší energii (oranžová šipka) než excitační světlo (modrá šipka).

Fosforescence i přes složitost své podstaty je studentům známá díky fosforeskujícím hračkám, přívěškům na klíče a podobně. Na nich lze fosforescenci také s úspěchem demonstrovat. Nasvícení objektu je lépe provádět s UV diodou, je to rychlejší a intenzivnější než s klasickou žárovkou.

### Slide 10: Světlo

opakovací snímek znázorňující viditelné spektrum a vztah vlnové délky s energií záření – důkaz nepřímé úměry „čím kratší vlnová délka, tím vyšší energie“.

Odůvodnění toho, proč se ztrátou energie částic tepelnými vibracemi dochází ke změně barvy emitovaného světla směrem od modré k červené. Vzhledem k tomuto jevu je v putovním mikroskopu použita dioda emitující modré světlo (s relativně vysokou energií), tak je možno pozorovat větší počet barev, neboť zbytek viditelného spektra má nižší energii.

$E$  – energie

$h$  – Planckova konstanta – energie jednoho kvanta záření = 1 foton o frekvenci  $\nu$

$\nu$  – frekvence

$c$  – rychlost světla

$\lambda$  – vlnová délka

posun = Stokesův posun

### **Slide 11: Fluorescenční mikroskop**

Světlo z modré diody (modrá šipka) osvětluje preparát, kde excituje částice. Ty následně emitují záření o nižší energii (zelená šipka). Obě záření postupují optickou soustavou vzhůru. Kdyby v tomto okamžiku dorazily až do okulárů, viděli bychom pouze intenzivní excitační modrou, která navíc poškozuje zrak. Z tohoto důvodu je paprskům do cesty postaven filtr, který odfiltruje právě modré excitační světlo. Ostatní paprsky projdou do okuláru.

Z tohoto důvodu můžeme v putovním mikroskopu pozorovat vícebarevné obrázky.

Slide 12 – parožnatka (*Platyseria*), výtrusnice

Slide 13 – ostřice – list

### **Slide 14: Fotografie z profesionálního fluorescenčního mikroskopu**

Tyto mikroskopy mají filtry, které obvykle propouští jen úzké spektrum barev, filtrů mají několik. Najednou můžeme v preparátu excitovat více barev, přes filtr však vidíme právě jednu. Filtry se mohou střídat.

Na obrázku jsou dvě fotografie lidských fibroblastů (HeLa buňky) téhož místa na preparátu pozorované se dvěma různými filtry. Každé z barviv barví jinou strukturu v buňce a má jinou barvu.

DAPI – DNA, modrá a phalloidin – aktin, červená

**Slide 15:** snímky zhotovené pozorováním se dvěma různými filtry se pak skládají dodatečně na počítači za vzniku vícebarevných obrázků (barev je možno tolik, kolik různých barviv je v preparátu použito)

### **Slide 16: Využití fluorescence**

Fluorescenci lze využívat v mnoha oborech například biologii, chemii, medicíně, ale i v běžném životě – rozjasňovače v pracích prášcích, zvýrazňovací fixy, bankovky s vyšší nominální hodnotou, doklady, jízdenky hromadné dopravy (např. v Praze), tonic (obsahuje chinin) nebo koření kari (kumarin) a jiné.

TBC – tuberkulóza – značení auraminem

chlorofyl, porfyriny, vitamíny – mají také fluorescenci

luminol reaguje s krví – hem obsahuje železo – známo z televize

Fluorescein se používá k obarvování vodních toků např. při monitorování podzemních řek. I malé množství je ve vodě detekovatelné a během několika dní se přirozeně odbourává.

Některé GMO organismy byly navrhovány tak, aby v sobě obsahovaly GFP, ten by se aktivoval až v určitém prostředí. Tak by se například mohla spouštět luminiscence při znečištění okolí organismu.

Zářivky: Elektrickým výbojem uvnitř zářivky dochází ke vzniku UV záření. To excituje barvu na povrchu zářivkové trubice a dochází ke vzniku světla.

## 8.8. Příloha 8 – seznam preparátů

číslo preparátu	objekt	upřesnění
<b>1a, 1b</b>	jestřábík	list, stonek – trichomy
<b>2</b>	porostnice	"tyčka od deštníčku"
<b>3</b>	bříza	nažka
<b>4</b>	bříza	větvička
<b>5</b>	pestřenka	křídlo a noha
<b>7</b>	svízel	list s háčky
<b>8</b>	svízel	háček plodu
<b>9</b>	lopuch	zákrov s háčkem a trichomy
<b>10a</b>	kukuřice	stonek
<b>10b</b>	kukuřice	list, pyl
<b>10c</b>	kukuřice	stonek, list
<b>12</b>	đub	lýko
<b>13</b>	skřípinec	stonek
<b>14</b>	mák	stonek – trichomy
<b>16a</b>	ječmen	stonek – stéblo, kolénko
<b>16b</b>	ječmen	osina
<b>17</b>	ostřice	stonek, list
<b>18</b>	čistec lesní	stonek – trichomy
<b>19</b>	čistec lesní	list – trichomy
<b>20</b>	členovec	larva dravého brouka – potápník
<b>21</b>	mochna	list – řapík, čepel – trichomy
<b>27</b>	kopřiva	stonek, list s trichomy
<b>28</b>	třásněnka	
<b>30</b>	přeslička	stonek, větev
<b>31</b>	sítina klubkatá	stonek
<b>32</b>	saranče	ústní ústrojí kousací
<b>33</b>	sršeň	žihadlo
<b>34</b>	jetel plazivý	stonek
<b>35</b>	zlatoočka	křídlo
<b>36</b>	divizna	trichomy
<b>39</b>	bublinatka jižní	pasti
<b>40</b>	perloočka	
<b>41</b>	buchanka	
<b>43</b>	stolístek klasnatý	
<b>44</b>	leknín	řapík listu
<b>46</b>	borovice lesní	jehlice
<b>49</b>	babočka admirál	křídlo
<b>50</b>	lilie	pyl

<b>52</b>	obrysové pero	holub
<b>53</b>	jedle	jehlice
<b>54</b>	kapradina	výtrusnice
<b>55</b>	smrk	jehlice
<b>57</b>	prachové peří	
<b>58</b>	kuklík městský	háček plodu
<b>59</b>	mrkev obecná	stonek
<b>60</b>	vlas + obočí	
<b>61</b>	mákovka vodní	
<b>63</b>	měřík	list
<b>64</b>	hlošina	trichom
<b>65</b>	tillandsia	trichom
<b>66</b>	parožnatka – kapradina	výtrusnice

## 8.9. Příloha 9 – ukázka webových stránek

Ukázka internetových stránek s výukovými materiály pro praktická cvičení s fluorescenčním mikroskopem, (natur.cuni, 2013b).

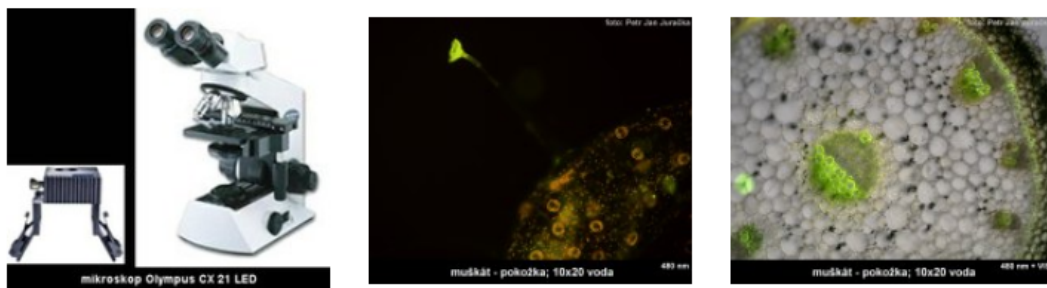
[Fakulta](#) / [Biologie](#) / [Katedra učitelství a didaktiky biologie](#) / [Nabídka školám](#) / Zapůjčení přístrojů a vybavení

### Zapůjčení přístrojů a vybavení

Chcete zatraktivnit výuku biologie? Chcete studentům lépe přiblížit např. fascinující mikroskopický svět? Zapůjčte si zdarma potřebné přístrojové a materiální vybavení a soutěžte o ceny!

Můžete si zapůjčit

#### fluorescenční mikroskop Olympus CX21 s LED Fluorescent Illuminator



#### Podrobnosti se dozvíte zde

Pro registraci na zapůjčení fluorescenčního mikroskopu kontaktujte [RNDr. Vandu Janštovou](#).

Pro kontrolu Vaší registrace a zjištění volných termínů použijte [kalendář](#).

#### Školení pro práci s mikroskopem

**Další školení proběhne 22. 4. 2013 v 17:30 v učebně B4 (107), první patro vpravo PfF UK ve Viničné 7, Praha 2.**

Informace u [RNDr. Vandy Janštové](#).

Pro inspiraci si můžete prohlédnout [fotogalerii](#) online nebo stáhnout **prezentace** ([zde](#))

K dispozici jsou také **učební materiály a metodické pokyny**:

- Stavba listu (zadání pracovního listu - [pdf](#), [doc](#))
- Rostlinné chlupy (zadání pracovního listu - [pdf](#), [doc](#), obrazový materiál - [pdf](#), [ppt](#))
- Stavba optického a fluorescenčního mikroskopu, principy fluorescence (zadání pracovního listu - [pdf](#), [doc](#))
- Fluorescence - teoretický úvod (prezentace - [pdf](#), [ppt](#), metodický komentář - [pdf](#), [doc](#))
- Metodické pokyny a řešení k pracovním listům ([pdf](#), [doc](#))

Ukázka internetových stránek s odkazy na alba ke stažení s fotografiemi vytvořenými s použitím fluorescenčního mikroskopu, (natur.cuni, 2013a).

[Fakulta](#) / [Biologie](#) / [Katedra učitelství a didaktiky biologie](#) / [Nabídka školám](#) / [Zapůjčení přístrojů a vybavení](#) / Fotografie z fluorescenčního mikroskopu

## Fotografie z fluorescenčního mikroskopu

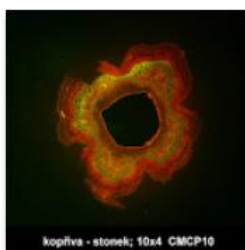
Fotografie jsou dostupné v [online galerii](#).

Pro práci v režimu offline si můžete stáhnout následující prezentace. Obsahují užší výběr fotografií z alb přístupných v galerii a jsou přístupné v několika formátech.

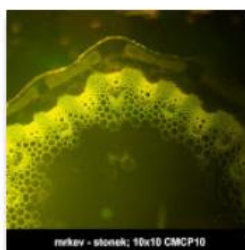
- rostliny ([pdf](#), [ppt](#))
- obratlovci ([pdf](#), [ppt](#))
- bezobratlí ([pdf](#), [ppt](#))
- preparáty při osvětlení 480 nm ([pdf](#), [ppt](#))
- preparáty ihned po vložení do média ([pdf](#), [ppt](#))

Fotografie v prvních čtyřech albech vznikaly několik týdnů až měsíců po vytvoření preparátů. Vzhledem k tomu, že s časem dochází k rozkladu barviv a vyhasínání autofluorescence (zejména u rostlinných preparátů), bylo zařazeno album s fotografiemi, které vznikly ihned po vytvoření preparátů. Tyto fotografie nemají svůj protějšek v klasickém osvětlení.

Ukázka úvodní stránky webového alba Picassa s fotoalbami.



kopřiva - stoněk; 10x4 CMCP10  
preparáty ihned - 480 nm  
3. 4. 2013  
🌐 fotografie: 47



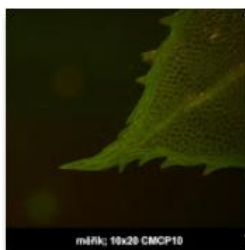
mříkav - stoněk; 10x10 CMCP10  
rostliny - stoněk  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 40



divizna - trichomy; 10x10 CMCP10  
rostliny - list  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 40



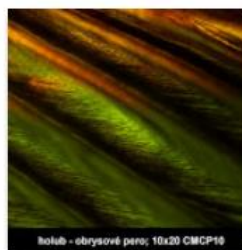
bíliza - nažka; 10x10 CMCP10  
rostliny - květ a plod  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 21



mřík; 10x20 CMCP10  
rostliny - bezcévné  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 4



zlatoočka - křídlo; 10x4 CMCP10  
živočichové - bezobratlí  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 41



holub - obrysové pero; 10x20 CMCP10  
živočichové - obratlovci  
21. 3. 2013  
🌐 fotografie: 10

## 8.10. Příloha 10 – ukázka vyplněného pracovního listu

Jednotlivé stránky byly vybrány od různých žáků.

převzít; detailní rozdíly jasně x opt. mikroskop  
GVD 385 4899 HF

### 1. STAVBA LISTU

1. Zhotovte vodní preparát příčného řezu listem jehlicí smrku (*Picea*). Pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kukuřice (*Zea*) a jabloně (*Malus*) nebo hrušně (*Pyrus*). Nakreslete všechny pozorované preparáty a popište pozorované struktury, uveďte zvětšení.

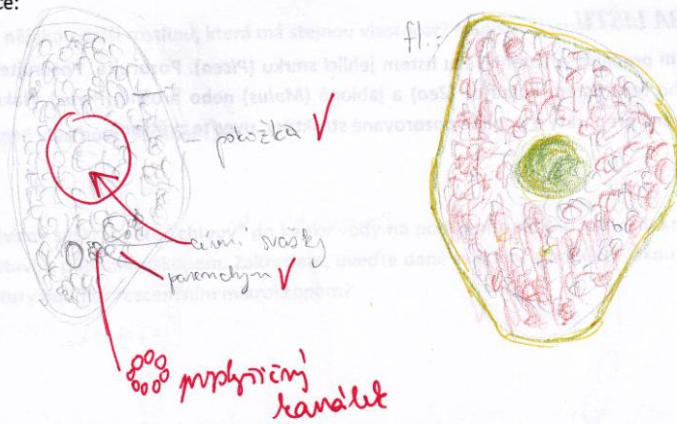
List jednoděložný:  
- kukuřice (20x 10)  
- optický: - fluorescenční mikroskop

List dvouděložný:  
- jablůň (45 x 10)  
- optický: - fluorescenční mikroskop

XLVIII



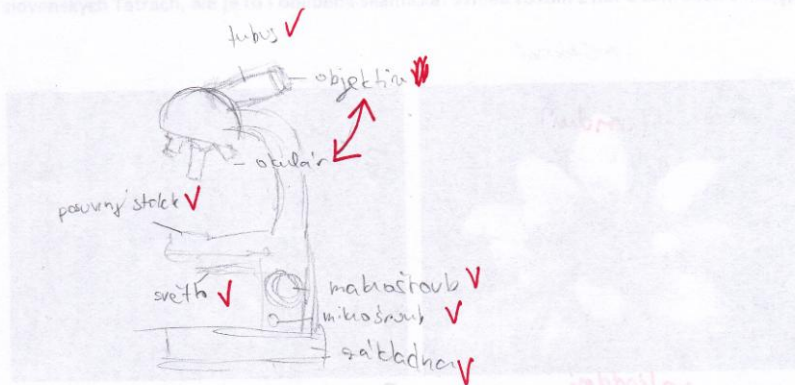
Jehlice:



## 2. OPTICKÝ A FLUORESCENČNÍ MIKROSKOP

1. Nakreslete a popište optický mikroskop, který máte před sebou. Při popisu použijte tyto pojmy:

mikrošroub, makrošroub, posuvný stolek, světlo/zrcátko, okulár, objektiv, tubus, základna mikroskopu



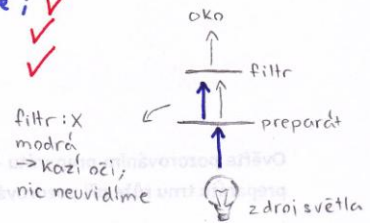
2. Do předchozího obrázku jinou barvou zakreslete a popište ty části, které jsou u fluorescenčního mikroskopu jiné.

Jaké jsou hlavní rozdíly mezi klasickým a tímto putovním fluorescenčním mikroskopem?

- zdroj světla na pomezí UV a modré; 1/více; ✓
- filtr ✓
- fotoaparát ✓

→ vznik barevných obrázků

- vícebarevné obr. → rovnou / později složené na PC



3. Doplňte tabulku:

jev	charakteristika	Příklad
incandescence	produkce světla i tepla	žárovka, oheň,
luminescence (studené světlo)	produkce světla bez produkce tepla - obecný pojem →	triboluminescence (i to ostatní níže patří sem)
triboluminescence	produkce světla mechanickými silami	drcení krystalů cukru X
chemiluminescence	vznik světla chemickou reakcí - uvolňování nev. energie (přid. látky, kt. pohl. e.)	(uvolnění en. → absorpce en. → vyzaření sv.) X teplo => svítí
bioluminescence	chem. reakce v živých organismech	světlušky, řas mořské medúzy
fluorescence	excitace světlem, (emise okamžitě (vyzaření)) → svítíme na e <sup>-</sup> => excitace	na jinou hladinu => ve formě světla energii vyzaří (dostane se na původní hladinu); na krátkou dobu
fosforescence	produkce světla po excitaci (ozáření) se zpožděním, po ukončení excitace svítí (řádově sekundy) → spiny v 1 orbitalu se přetočí	do 1 směru ↓ → ↑↑ aby se přetočily zpět => trvá dlouho → a pak konečně vyzaří (září déle) ? = později

4. Do obrázků z úlohy 1. - stavba listu - zakreslete barevně struktury, které svítí ve fluorescenčním mikroskopu. Pokud nemáte pastelku té barvy, napište k nim barvu slovy.

## **8.11. Příloha 11 – dotazník pro učitele**

### **Dotazník k putovnímu fluorescenčnímu mikroskopu Olympus CX21 s LED Fluorescent Illuminator**

Dobrý den,

Prosím všechny, kteří mají, nebo měli půjčený mikroskop, aby mi poslali vyplněný dotazník. Svými návrhy můžete ovlivnit další podobu našich aktivit! Děkuji a přeji vydařená praktika!

Vanda Vilímová,

Přírodovědecká Fakulta Univerzity Karlovy v Praze

---

1. Jméno učitele/učitelky:

Jméno a typ školy:

Počet studentů, kteří měli možnost s mikroskopem pracovat, pozorovat v něm preparáty:

Typ vyučovací jednotky (praktika, seminář apod.):

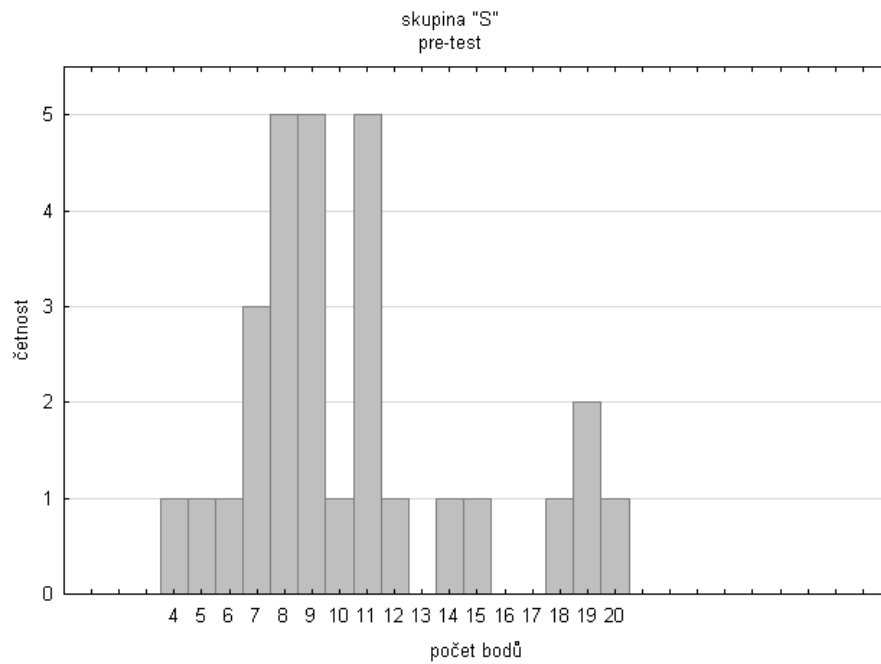
2. Na mikroskopu (a možnosti si ho zapůjčit) jsem ocenil/a:

3. Nevyhovovalo mi:

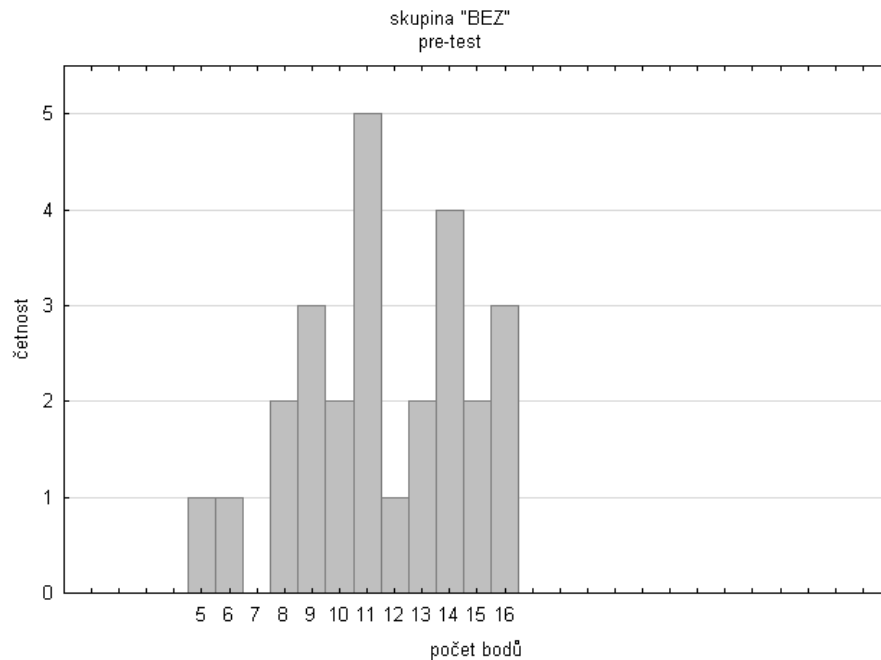
4. Navrhuji změnit:

5. Zachoval/a bych:

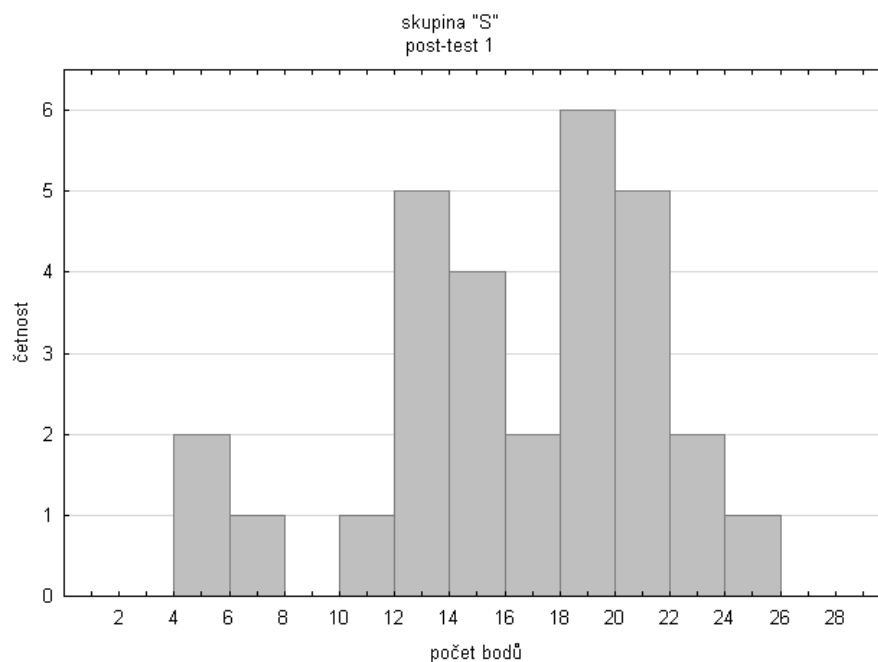
## 8.12. Příloha 12 – grafy



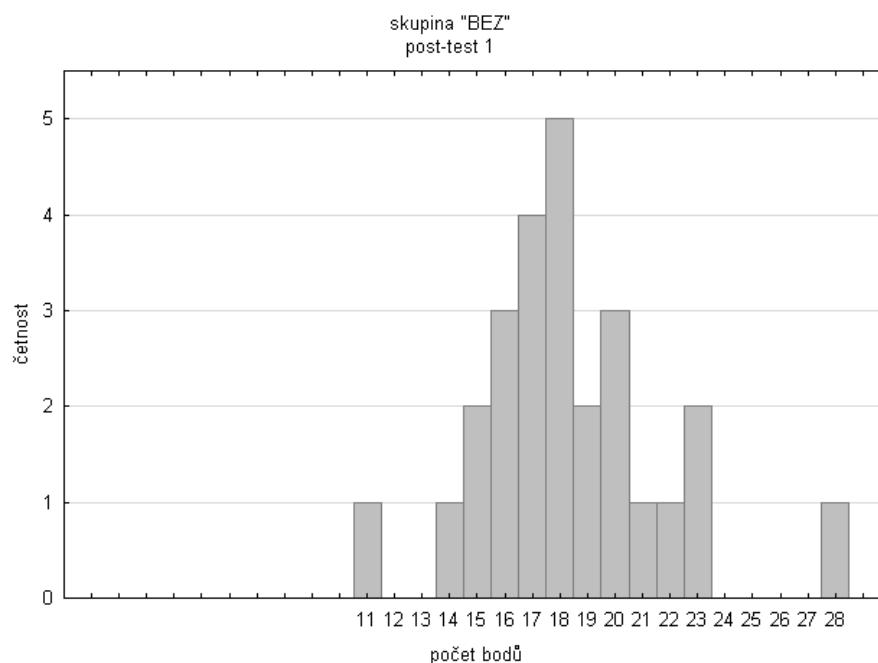
**Graf 8.1.: Rozložení skóre – skupina „S“ – pre-test** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 29), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



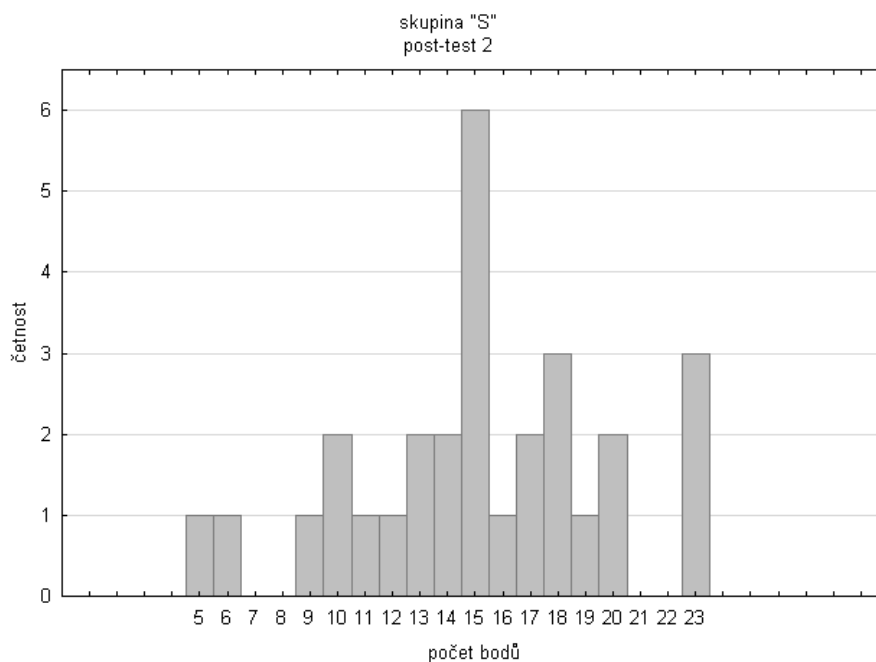
**Graf 8.2.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – pre-test** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 26), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



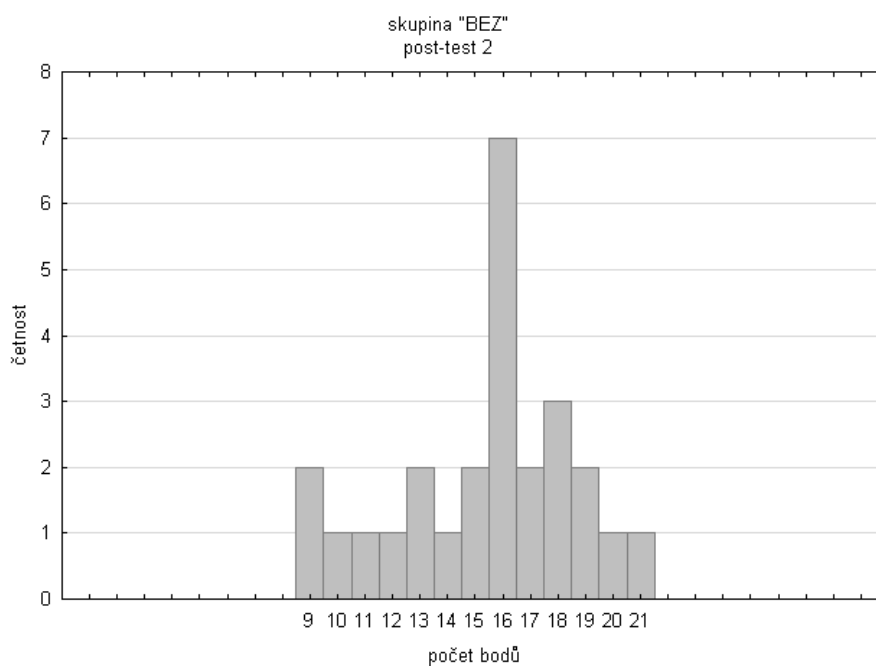
**Graf 8.3.: Rozložení skóre – skupina „S“ – post-test 1** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 29), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



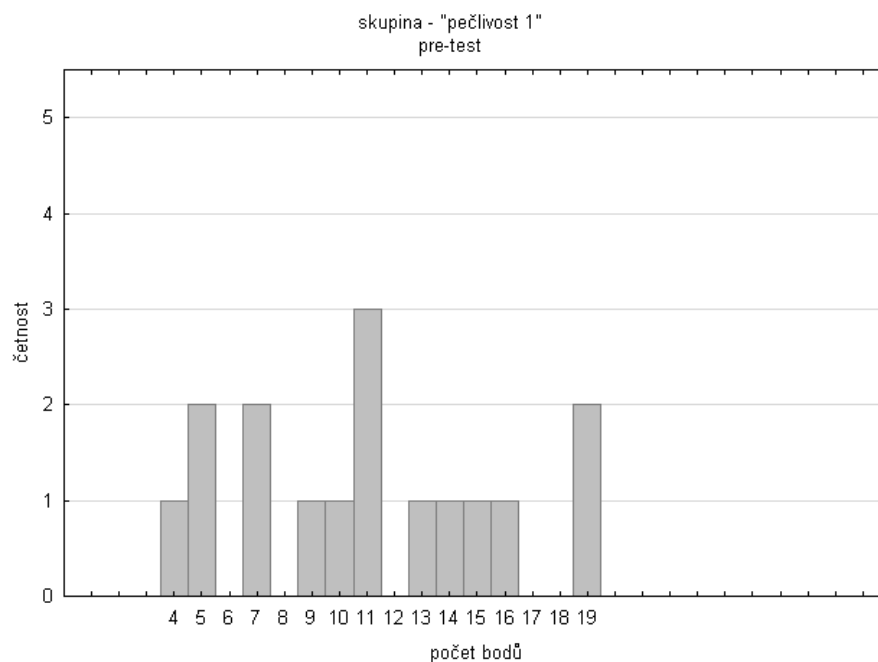
**Graf 8.4.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – post-test 1** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 26), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



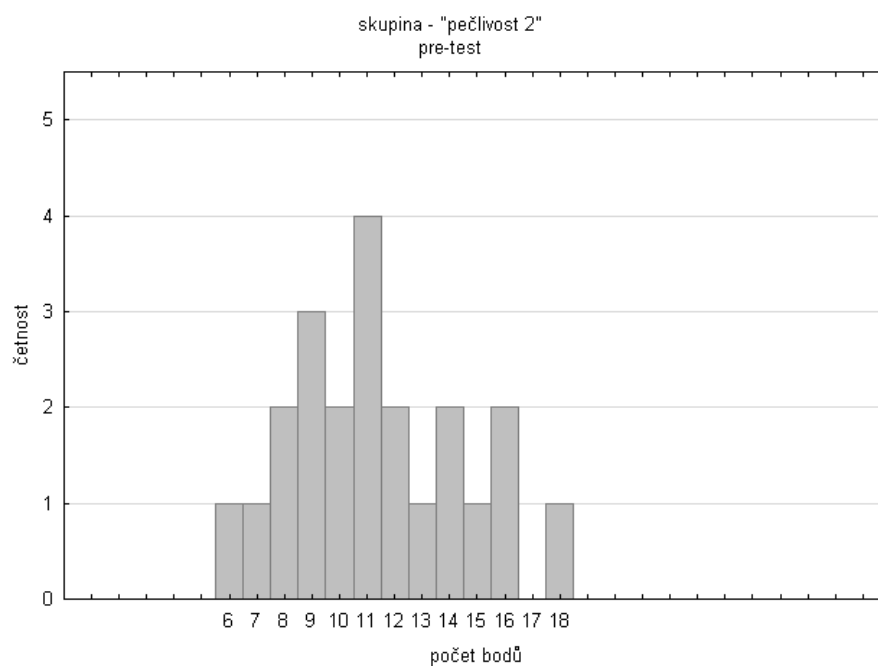
**Graf 8.5.: Rozložení skóre – skupina „S“ – post-test 2** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 29$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



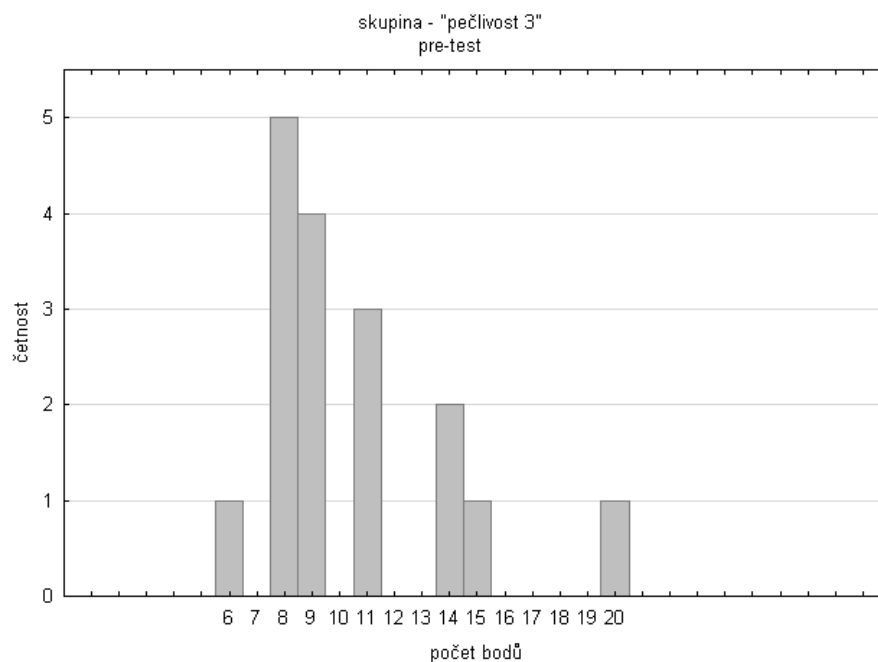
**Graf 8.6.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – post-test 2** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 26$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



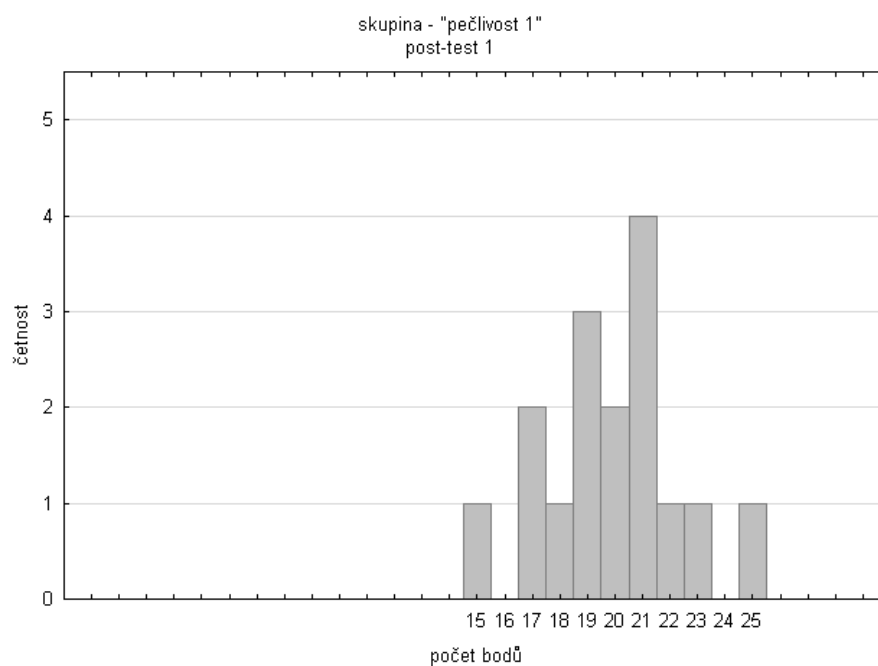
**Graf 8.7.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 1“ – pre-test** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 16$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



**Graf 8.8.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 2“ – pre test** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 22$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).

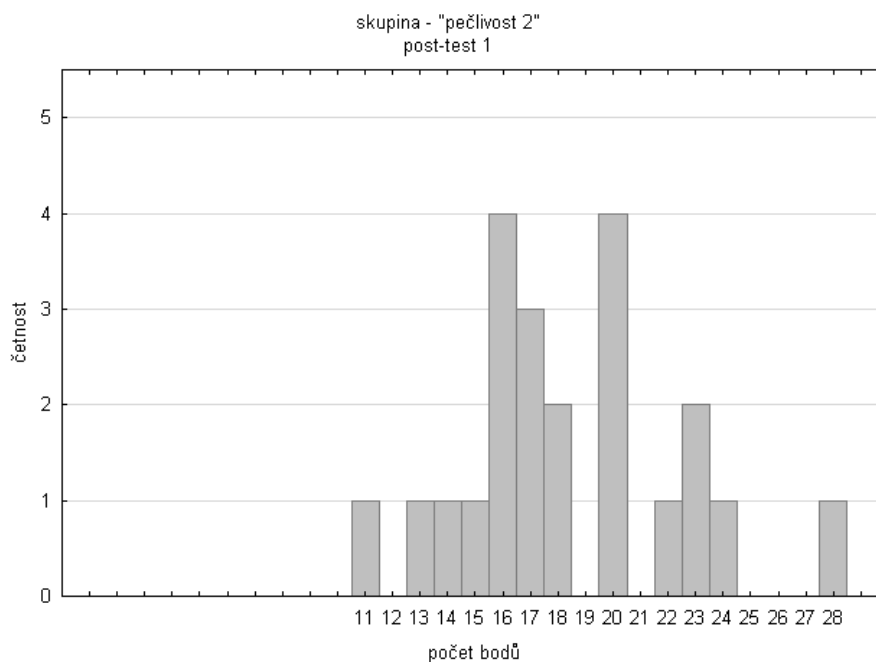


**Graf 8.9.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 3“ – pre-test** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 17$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).

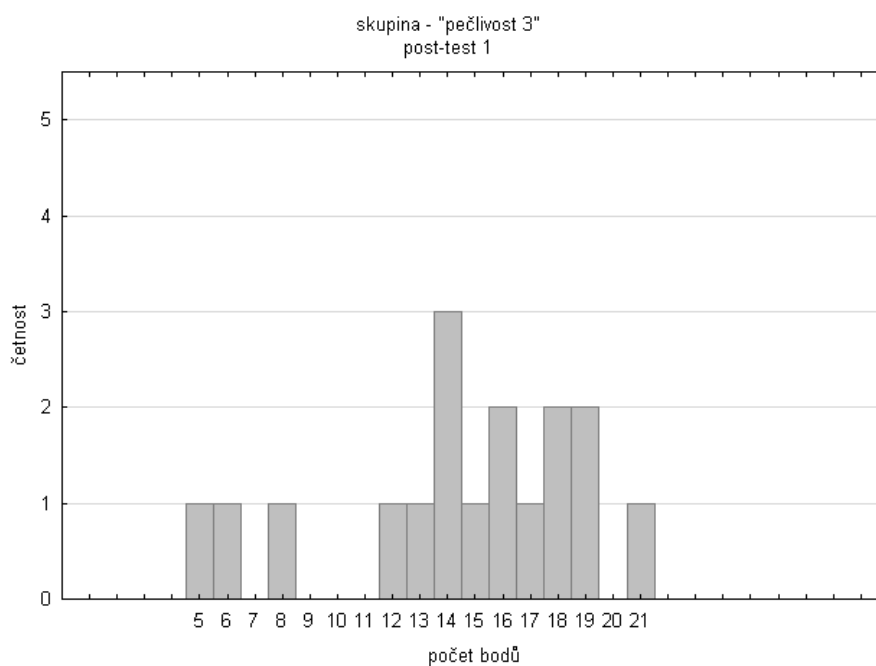


**Graf 8.10.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 1“ – post-test 1** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 16$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).

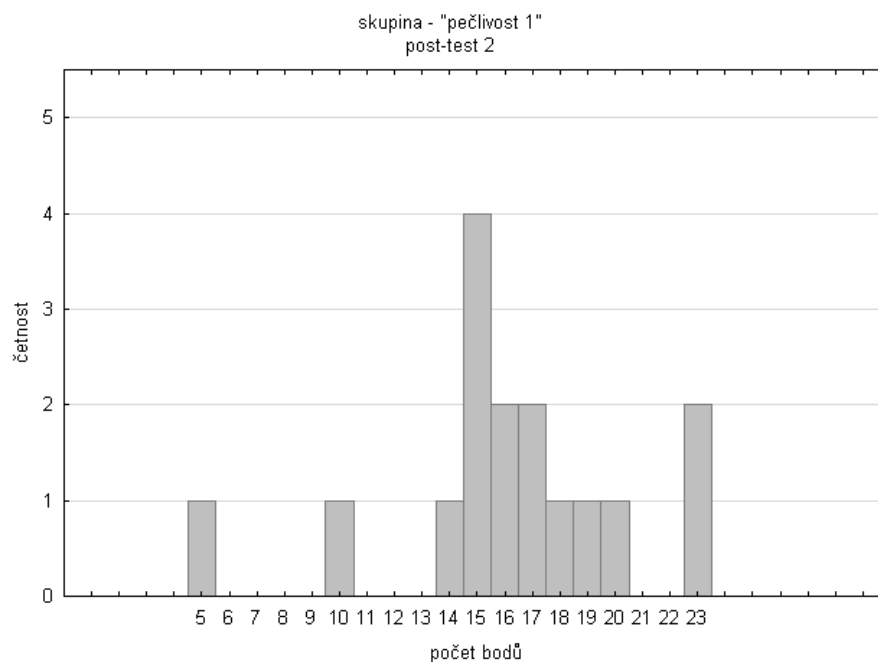




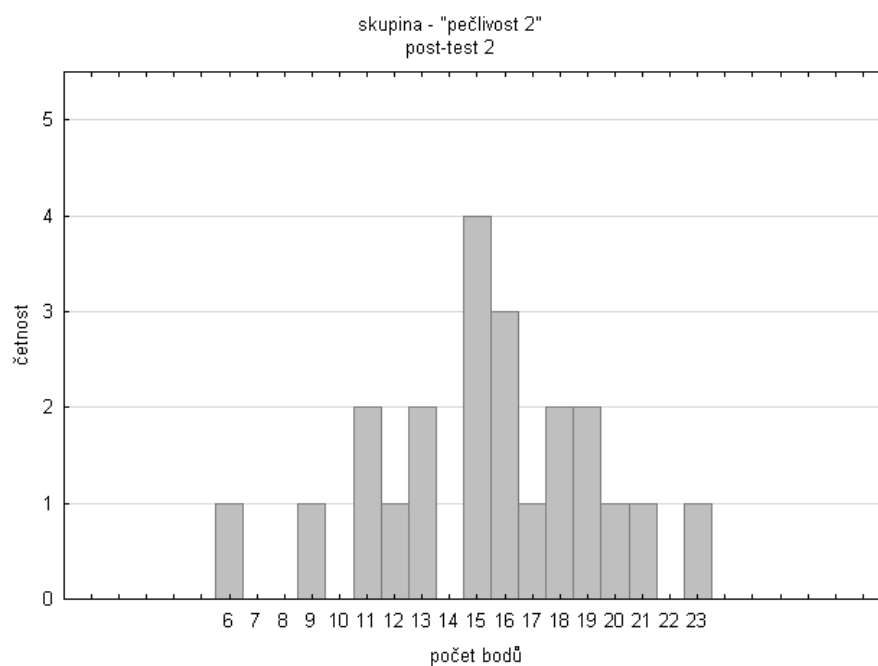
**Graf 8.11.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 2“ – post-test 1** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 22), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



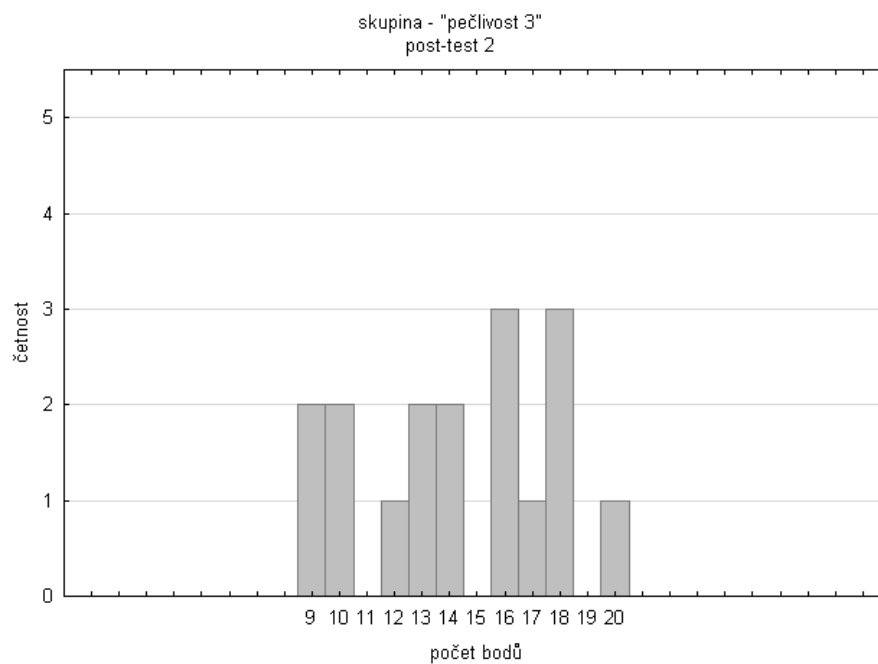
**Graf 8.12.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 3“ – post-test 1** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 17), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



**Graf 8.13.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 1“ – post-test 2** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 16$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



**Graf 8.14.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 2“ – post-test 2** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 22$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



**Graf 8.15.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 3“ – post-test 2** – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ( $n = 17$ ), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).