

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Učitelství biologie a chemie pro střední školy



Bc. Jana Filipová

**Testování vlivu nově vytvořených učebních materiálů k fluorescenčnímu
mikroskopu na znalosti žáků**

Testing the influence of newly created learning materials for the fluorescent
microscope on students` knowledge

Diplomová práce

Školitelka: RNDr. Vanda Janštová

Praha, 2013

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce RNDr. Vandě Janštové za odborné vedení, trpělivost a všechnen čas, který mi věnovala při zpracování této práce. Velké díky patří Ing. Anetě Hybšové za rady a připomínky týkající se statistického zpracování dat. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Zuzaně Kantové, Mgr. Veronice Fišerové a RNDr. Zuzaně Lenochové, PhD., které mi umožnily realizovat experimenty ve svých třídách. Děkuji Mgr. Michaele Havlové za umístění vzniklých materiálů na internet a RNDr. Zuzaně Lhotákové, PhD. za zapůjčení trvalých preparátů. A v neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za podporu po celou dobu studia.

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 5. 5. 2013

.....

Bc. Jana Filipová

Abstrakt:

Zájem studentů o přírodní vědy se stále snižuje i přes to, že znalosti z těchto oborů využíváme v celé řadě odvětví běžného života, jako medicíně, ochraně životního prostředí apod. Samozřejmě tyto obory formují i „jen“ kladný vztah k přírodě. Je řada možností, jak zájem studentů zvýšit a tím potenciálně zlepšit jejich motivaci učit se. Kromě např. badatelsky orientované výuky a praktických cvičení obecně je jednou z možností práce s přístroji, které se užívají ve výzkumné praxi. Pokud škola takovým vybavením nedisponuje, nabízí se možnost jej zapůjčit, nebo s ním pracovat přes internet. Možnosti vzdáleného přístupu jsou předmětem zahraničních studií, v českém prostředí tento trend také začíná být patrný. Příkladem toho je putovní fluorescenční mikroskop, který lze zapůjčit na katedře učitelství a didaktiky biologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

Ve své diplomové práci jsem zkoumala vliv přítomnosti a nepřítomnosti tohoto putovního fluorescenčního mikroskopu ve výuce na znalosti žáků. Výzkum jsem prováděla na čtyřech třídách dvou pražských gymnázií a zúčastnili se ho žáci prvních ročníků čtyřletého a třetího ročníku šestiletého typu studia (15 – 17 let). Žáci byli rozděleni do dvou skupin podle způsobu výuky. Jedna skupina měla možnost s mikroskopem pracovat přímo („S“), druhá pracovala s obrazovým materiálem, který s použitím mikroskopu vznikl („BEZ“). Obě skupiny absolvovaly pre-test, praktická cvičení v délce 90 minut, post-test 1 a post-test 2. Dodatečně byli žáci rozděleni na tři skupiny podle počtu bodů dosažených v protokolu („Pečlivost“), který byl součástí expozice. Ukázalo se, že rozdíl mezi skupinami „S“ a „BEZ“ podle způsobu výuky není statisticky významný, větší vliv na úspěšnost v testech měl počet bodů z protokolu – „Pečlivost“. Čím lépe žáci protokol vyplnili, tím více bodů získali v obou následných post-testech. Souhrnně lze říci, že žáci během obou způsobů výuky získali nové vědomosti a jejich znalosti byly vyšší, než na začátku experimentu.

Klíčová slova: fluorescence, mikroskop, praktická cvičení, znalosti žáků, testování znalostí

Abstract

Among students, interest in Science is decreasing, despite the fact that knowledge of Science can be useful in many real life situations, such as medicine, conservation etc. Science education can also simply help to form a positive attitude towards nature. There are many possibilities of increasing students' interest in Science that could increase their motivation to study. Apart from Inquiry Based Education or Prescribed Practical Activities, working with devices used in research practice is one of the possibilities. If a school doesn't own such devices, there is a possibility to borrow them, or to work with them via the Internet. Possibilities of remote access to these devices are subject to research abroad, and this trend is also starting to appear in the Czech Republic. One example of a device that can be borrowed by schools is a fluorescence microscope at the Department of Didactics and Education of Biology, Faculty of Science, Charles University in Prague.

In my thesis, I was investigating the influence of the presence or absence of this fluorescence microscope on the knowledge of students. Research was carried out in four different classes at two secondary schools in Prague. Students who took part in this research were from the first year of a four year secondary school or from the third year of a six year secondary school, so their ages were between 15 and 17 years. Students were divided into two groups, according to the teaching methods during the research. One group had the opportunity to work directly with the microscope ('S' – with), the other one worked with picture material obtained from this microscope ('BEZ' – without). Both groups completed a pre-test, a 90-minute-long practical activity and post-tests 1 and 2. Students were subsequently divided into three groups according to their score in a lab report, which was a part of the practical activity ('Pečlivost' – conscientiousness). It has shown that the difference of results between the groups 'S' and 'BEZ' is not statistically significant. A more significant relationship was observed between the score in the tests and the score in the lab report – 'Pečlivost'. The better (more conscientiously) did the students fill in their lab reports, the better was their score in the following tests. Generally it can be said that in both groups students have gained new information and their knowledge was bigger than at the beginning of the experiment.

Key words: fluorescence, microscope, practical activities, practical courses, students' knowledge, testing the knowledge

Seznam zkratk:

DNPO – bis(2,4-dinitrofenyl)oxalát

H0 – nulová hypotéza

H1 – alternativní hypotéza

KEBR – Katedra experimentální biologie rostlin

SD – směrodatná odchylka

PřF UK – Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Obsah:

1.	Úvod	9
1.1.	Cíle	10
1.2.	Hypotézy	10
2.	Literární přehled	11
2.1.	Fluorescenční mikroskop	11
2.2.	Incandescence	11
2.3.	Luminiscence	12
2.3.1.	Triboluminiscence	12
2.3.2.	Chemiluminiscence.....	12
2.3.3.	Bioluminiscence	13
2.3.4.	Fluorescence	13
2.3.5.	Fosforescence	15
2.4.	Zařazování informační technologie do výuky.....	16
2.5.	Virtuální mikroskopie ve výuce	19
2.6.	Praktická cvičení ve výuce.....	21
3.	Metodika.....	23
3.1.	Charakteristika vzorku žáků.....	23
3.2.	Expozice.....	24
3.3.	Použité testy	25
3.3.1.	Pre-test	25
3.3.2.	Post-test 1.....	28
3.3.3.	Post-test 2.....	29
3.4.	Výběr dat.....	29
3.5.	Použité statistické metody.....	30
3.6.	Dotazníkové šetření učitelů.....	31

3.7.	Charakteristika technického vybavení	31
3.8.	Média, preparáty a fotogalerie	32
3.9.	Výukové materiály	35
4.	Výsledky	37
4.1.	Výsledky pilotního šetření	37
4.2.	Popisná statistika celku	37
4.3.	Popisná statistika dvou skupin podle přítomnosti mikroskopu ve výuce ..	39
4.4.	Výsledky statistických testů – srovnání skupiny s mikroskopem a bez.....	41
4.4.1.	Mann-Whitneyův U-test	41
4.4.2.	Wilcoxonův párový test.....	42
4.5.	Vliv dalších faktorů.....	44
4.6.	Popisná statistika třech skupin podle pečlivosti.....	46
4.7.	Korelační závislosti pro tři skupiny podle pečlivosti.....	50
4.8.	Názor žáků na způsob výuky	52
4.9.	Média pro montování trvalých preparátů.....	54
4.10.	Sada trvalých preparátů.....	57
4.11.	Fotogalerie.....	58
4.12.	Výukové materiály	58
4.13.	Dotazníkové šetření učitelů.....	59
5.	Diskuse	63
5.1.	Diskuse použité metodiky	63
5.2.	Diskuse výsledků	65
5.3.	Možné aplikace v praxi	67
6.	Závěr.....	69
7.	Seznam použité literatury	71
8.	Přílohy	I

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

1. Úvod

Ve své bakalářské práci „Praktická cvičení a modifikace vybraných úloh biologické olympiády“ jsem vypracovala rešerši na téma vliv praktických cvičení na motivaci, výkony a znalosti žáků. Z většiny studií vyplynulo, že praktická cvičení jsou pro žáky ve výuce prospěšná, zvyšují motivaci žáků a jejich kladný vztah k předmětu (Holstermann et al., 2009; Thompson et Soyibo, 2002). Další způsob, jak zvýšit zájem žáků o předmět je používání vybavení a přístrojů, které se využívají v běžné praxi (Hunt, 2007).

Katedra učitelství a didaktiky biologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy (dále PŘF UK) nabízí na svých internetových stránkách putovní fluorescenční mikroskop k zapůjčení do škol. Učitelé, kteří si ho zatím půjčili, byli spokojeni s tím, že mohou žákům ukázat novou, ne příliš běžnou a dostupnou techniku. Často jim ale chyběly tipy na objekty, které by bylo možno v mikroskopu pozorovat, či rovnou trvalé preparáty, a také návody na celá praktická cvičení, která by bylo možné rovnou ve výuce použít. Proto jsem se rozhodla vytvořit návody na praktická cvičení s využitím putovního fluorescenčního mikroskopu, sadu preparátů a motivační fotogalerii.

Vzhledem k tomu, že na školách není většinou běžné vytvářet barvené preparáty (ať už z nedostatku času nebo materiálu), rozhodla jsem se zaměřit na objekty s vlastní fluorescencí (autofluorescencí). Mezi materiál s největším spektrem autofluorescencí patří rostlinná pletiva. Jako hlavní téma jsem proto zvolila rostliny, konkrétně stavbu listu a rostlinné trichomy.

Vytvořené učební materiály zaměřené na stavbu listu jsem následně vyzkoušela v praxi. Vyučovala jsem ve třech třídách prvního ročníku čtyřletých gymnázií a jednom odpovídajícím ročníku víceletého gymnázia. Porovnála jsem dva různé způsoby výuky – s použitím fluorescenčního mikroskopu a bez mikroskopu, ale s použitím obrazového materiálu zobrazujícího stejné objekty. V průběhu výuky tedy žáci mohli získat stejné znalosti. Zkoumala jsem, zda je mezi oběma skupinami nějaký rozdíl právě v získaných znalostech a zda se liší míra zapomínání těchto znalostí po 6 týdnech.

Dále jsem vytvořila sadu trvalých preparátů, která by mohla být půjčována společně s mikroskopem a která byla učiteli žádána. Také jsem vytvořila internetovou fotogalerii,

kteřá mŕže slouŕit jako pomŕcka ve vŕuce ŕi jako motivace pro uŕitele a ŕáky k zapŕjŕení mikroskopu na jejich ŕkolu.

Pro svou práci jsem si stanovila cíle a hypotézy, které jsou uvedeny níŕe.

1.1. Cíle

Cílem mé DP bylo vytvořit

- uŕební materiály pro putovní fluorescenŕní mikroskop (vŕuková prezentace, pracovní list pro ŕáka s autorským řešením a metodické pokyny pro uŕitele),
- sadu trvalých preparátŕ, která by mohla být k dispozici pro vypŕjŕení na základní a střední ŕkoly společně s mikroskopem,
- a fotogalerii vŕše zmíněných preparátŕ, která mŕže slouŕit k on-line vyuŕití při vŕuce.

Dále pak

- ověřit vytvořené uŕební materiály v praxi
- a porovnat získané znalosti skupiny ŕákŕ, kteří se ŕčastnili vŕuky přímo s putovním fluorescenŕním mikroskopem se znalostmi skupiny ŕákŕ, kteří měli ve vŕuce k dispozici pouze obrazový materiál s fotografiemi pořizenými tímto mikroskopem (mohli by tedy např. pracovat se zmíněnou fotogalerií).

1.2. Hypotézy

Stanovila jsem si následující hypotézy, které jsem ve své práci testovala:

- ŕáci, kteří se zŕčastnili vyuŕovací jednotky s putovním fluorescenŕním mikroskopem, dosáhli v následném testu znalostí lepšich výsledkŕ než ŕáci, kteří absolvovali vyuŕovací hodinu bez mikroskopu.
- ŕáci, kteří se zŕčastnili vyuŕovací hodiny s putovním fluorescenŕním mikroskopem, zapomínali získané znalosti pomaleji než ŕáci, kteří absolvovali vyuŕovací hodinu bez mikroskopu.
- ŕáci, kteří své protokoly vyplnili pečlivě, dosahovali v obou následných post-testech vŕššího skóre než méně pečliví ŕáci.

2. Literární přehled

2.1. Fluorescenční mikroskop

Mikroskop je jedním ze základních vybavení pro výuku biologie. Jeho využití ve výuce je široké, lze ho však ještě rozšířit například přidáním dalšího světelného zdroje nebo jinými jednoduchými úpravami. Jak v tomto případě postupovat je možno poměrně snadno dohledat ve starších zdrojích, kdy ještě mnoho věcí vznikalo takřikajíc svépomocí (Sundberg, 1984; Jírovec, 1947). Tato řešení bývají často poměrně jednoduchá a také levnější než hotové varianty. V některých případech však vyžadují jistou míru kreativity a také odvahy, zvláště pokud se jako v tomto případě jedná o elektrický spotřebič. V současné době je možno tyto doplňky zakoupit již hotové u firem nabízejících mikroskopickou techniku.

V případě fluorescenčního mikroskopu, který je v této práci zmiňován a používán ve výuce, se k osvětlení preparátů používá dioda emitující světlo s maximem o vlnové délce 480 nm. Kromě světelného zdroje je potřeba k mikroskopu přidat ještě filtry, které zachytí excitační světlo po průchodu preparátem a také světlo zářící do okolí mikroskopu, neboť intenzivní záření je nepříjemné a mohlo by poškodit zrak. Záření emitované preparátem má jinou vlnovou délku než excitační záření, filtrem proto projde a lze ho pozorovat jako obraz (Sundberg, 1984).

Fluorescence není jediný typ produkce světla, se kterým se můžeme běžně setkat, a se kterým lze žáky seznámit. V následující části budou stručně uvedeny některé světelné jevy s jejich charakteristikou a příklady.

2.2. Incandescence

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 (O'Hara et al., 2005). Děje se tak například u žárovky, slunce, plamenu nebo u roztavených kovů či hornin – lávy. Demonstrace žákům ve výuce s použitím plamene či žárovky se přímo nabízí (Escalada et al, 2001).

2.3. Luminiscence

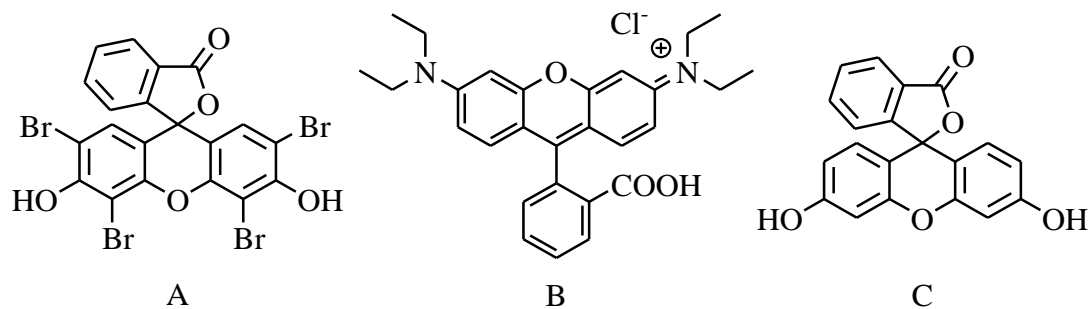
Luminiscence je pojem pocházející z latiny, který byl poprvé použit již v roce 1888 Elhardem Wiedemannem (Valeur et Berberan-Santos, 2011). Soustřeďuje v sobě všechny jevy, při kterých dochází k produkci světla, ale nikoliv tepla. Často je označována jako studené světlo (O'Hara et al., 2005). Některé z jevů – triboluminiscence, chemiluminiscence, bioluminiscence, fluorescence a fosforescence – budou popsány níže. Většinu z nich lze poměrně dobře demonstrovat žákům v důkladně zatemněné místnosti.

2.3.1. Triboluminiscence

Triboluminiscence je emise světla vznikající působením mechanických sil na uspořádané krystaly. Světlo lze vytvořit například drcením tvrdého bonbónu kleštěmi nebo krystalů cukru v třecí misce (O'Hara et al., 2005). Jiné jevy využívající ke vzniku světla také 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. Důvody, proč některé látky při působení mechanických sil svítí a jiné ne, jsou stále předmětem debat (O'Hara et al., 2005).

2.3.2. Chemiluminiscence

Jak název napovídá, je chemiluminiscence jev, při kterém světlo vzniká jako produkt chemické reakce. Respektive chemickou reakcí se uvolňuje energie, která je následně využita k excitaci elektronů. Ty pak přijatou energii vyzáří ve formě světla. (O'Hara et al., 2005) 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 2.1.) jsou látky s rozsáhlým systémem konjugovaných vazeb, jimi emitované barvy se mohou nacházet v široké části světelného spektra (tabulka 2.1.) (Bozzelli et Kemp, 1982).



Obrázek 2.1.: A – eosin, B – rhodamin B, C – fluorescein.

Tabulka 2.1.: Fluorescenční barviva (luminofory) a barvy jimi emitovaného světla, převzato z Bozzelli et Kemp, 1982.

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

2.3.3. Bioluminescence

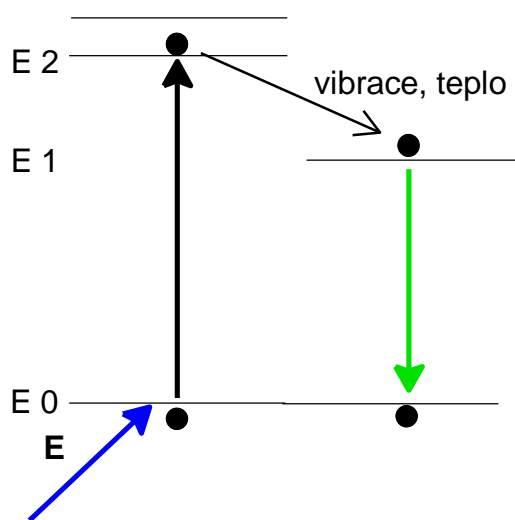
Bioluminescence je produkce světla živým organismem. Může probíhat dvěma způsoby, přímo díky vlastní metabolické dráze organismu, který označujeme jako bioluminiscenční, nebo s pomocí symbiotických organismů v jeho těle (Rife, 2006). V současné době známe bioluminiscenční prokaryota, houby, živočišné houby, korýše, hmyz a ryby (Jones, 1993).

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. Enzym, který reakci spouští pak nazval luciferáza (Jones, 1993).

2.3.4. 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. (O'Hara et al., 2005). Tento jev je označován jako Stokesův posun (Muyskens et Vitz, 2006). K produkci světla dochází pouze v době osvětlení excitačním paprskem, protože fluorescence je krátkodobý jev ($\sim 10^{-9} - 10^{-7}$ s) (McHalle et Seybold, 1976). Princip je znázorněn na schématu, které zobrazuje obrázek 2.2.



Obrázek 2.2.: 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 emisii světla a částice se opět dostává do základního stavu E0. Emitované světlo má nižší energii (zelená šipka) než excitační světlo (modrá šipka).

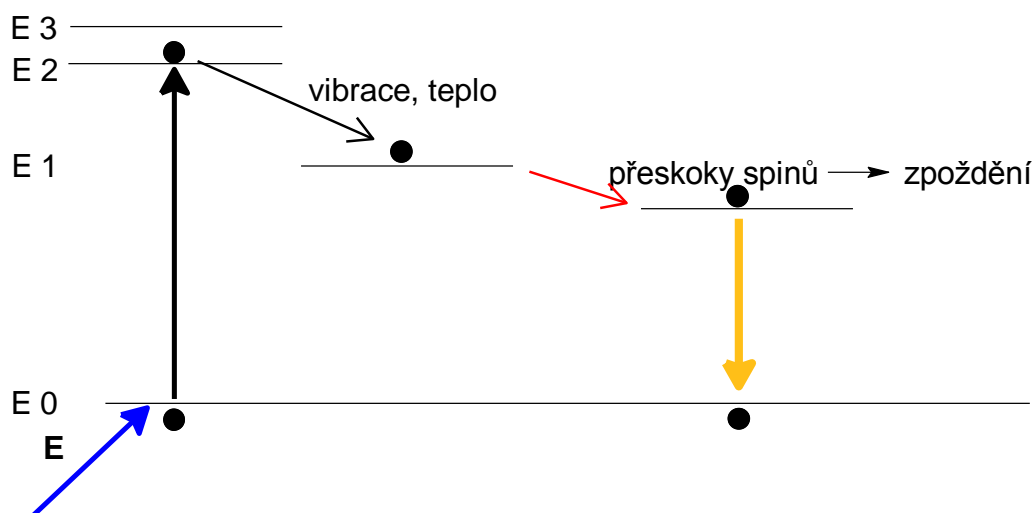
Právě fluorescence se využívá ve fluorescenční mikroskopii. Preparát je ozářen excitačním světlem a následně je pozorován obraz vytvořený světlem emitovaným. Vzhledem k výše popsané energetické ztrátě je v putovním mikroskopu použita dioda emitující modré světlo (s relativně vysokou energií), tak je možno pozorovat větší počet barev, neboť zbytek viditelného spektra má nižší energii. Fluorescenci lze využívat v mnoha oborech například biologii, chemii, medicíně, ale i v běžném životě – rozjasňovače v pracích práscích, zvýrazňovací fixy, bankovky s vyšší nominální hodnotou, doklady, jízdenky hromadné dopravy (např. v Praze), tonic (obsahuje chinin) nebo koření kari (obsahuje kumarin) a jiné. Příklady dalších fluorescenčních objektů lze nalézt u řady

autorů, např. MacCormac et al. (2010); Muyskens et Vitz (2006); O'Hara et al. (2005); Burrows et Axtell (1983); Bozzelli et Kemp (1982).

2.3.5. Fosforescence

Tento jev je v hlavních rysech velice podobný fluorescenci. I zde dochází k excitaci částic světlem a následné emisi energie v podobě světelného záření. Hlavní rozdíl spočívá v délce trvání. Různé zdroje uvádí různá časová rozmezí, $\sim 10^{-5} - 10$ s (McHalle et Seybold, 1976) nebo minuty až hodiny (O'Hara et al., 2005). 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 orbitaly 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 přeskoku do orbitalu o stejné energii změnit spin a až poté může vydat energii ve formě světla a obsadit základní hladinu (Atkins et De Paula, 2013; O'Hara et al., 2005). Schéma je znázorněno na obrázku 2.3.



Obrázek 2.3.: Energetické změny v atomech/molekulách během fosforescence. 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. Při mezisystémových přeskokoch dochází ke změně spinu. V této fázi nemůže dojít k přechodu do základního stavu E0, 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 E0. Emitované světlo má nižší energii (oranžová šipka) než excitační světlo (modrá šipka).

Fosforescence je i přes složitost své podstaty žákům známá díky fosforeskujícím hračkám, přívěškům na klíče a podobně. Na nich lze fosforescenci také s úspěchem demonstrovat.

2.4. Zařazování informační technologie do výuky

Zájem žáků o přírodní vědy se v posledních desetiletích stále snižuje i přes to, že znalosti z těchto oborů řada z nás často využívá v celé řadě odvětví běžného života, jako např. medicíně, ochraně životního prostředí (Telli et al., 2009; White Wolf Consulting, 2009; Prokop et al., 2007). Samozřejmě tyto obory formují i „jen“ kladný vztah k přírodě. Některé studie se proto zabývají tím, jak zájem žáků zvýšit (Çimer, 2012, Rochard et al, 2007). Vědci i učitelé hledají nové motivační prvky, které by mohly vyučování oživit (Çimer, 2012; Goldberg et Dintzis, 2007; Hunt, 2007). Jednou z možností může být práce s přístroji, které se užívají ve výzkumné praxi. Pokud učitel nemá možnost využít při výuce pokročilejší vybavení proto, že jím škola nedisponuje, nabízí se možnost vybavení zapůjčit, nebo pracovat přes internet, který je dnes běžně dostupný v každé škole.

Porovnání výuky využívající vzdálený přístup online s „klasickou“ výukou, případně vliv informačních technologií na postoje žáků je také předmětem zahraničních studií (Casado et al., 2012; Goldberg et Dintzis, 2007; Hunt, 2007; Dee et al., 2003; Harris et al., 2001).

Výzkum, který proběhl na středních školách v Turecku, ukázal, že žáci vnímají biologii jako obtížný předmět a k jeho učení jim často schází motivace. Sami žáci v dotazníku, který byl součástí výzkumu, uvedli, že by jim výuka biologie přišla přínosnější, pokud by byla vyučována zajímavě, s důrazem na využití v reálném životě a s použitím širšího spektra pomůcek (Çimer, 2012). V současném uspořádání výuky se žáci učí převážně memorováním znalostí, není jim jasná přímá aplikace poznatků a ztrácí proto motivaci. Pokles zájmu žáků o biologii, který se s věkem prohlubuje, odhalil i slovenský výzkum na základních školách. Pozitivní vztah k biologii, zájem o předmět, ale i zájem o budoucí zaměstnání v oboru biologie klesal s věkem, navíc byl částečně ovlivněn i pohlavím. Dívky vykazovaly pozitivnější vztah i vyšší zájem o biologii než chlapci stejného věku (Prokop et al, 2007).

Aktivizujících metod, které lze využít ve výuce, je celá řada. Velmi aktuální a diskutované je např. badatelsky orientované vyučování (např. Papáček et al, 2010a, Papáček, 2010b). Oživení výuky může přinést například zařazení videí do vyučování. Při možnosti připojení k internetu lze využívat přímo portály, které shromažďují výuková videa – například Youtube EDU (Parlsow, 2010). Vzhledem k tomu, že internetové připojení má dnes k dispozici prakticky každý, lze ho s úspěchem využívat jako výukové médium i v domácí přípravě. Tímto způsobem jej ve svých výzkumech využilo několik autorských kolektivů (Casado et al., 2012; Dalgarno et al., 2009 a Goldberg et Dintzis, 2007).

Online video bylo použito v domácí přípravě jako prostředek k odstranění obav z pitvy, která je součástí přednášek z anatomie člověka v prvním ročníku medicíny. Studentům experimentální skupiny bylo poskytnuto video seznamující s důležitostmi této metody v medicíně a krátkou ukázkou. Kontrolní skupině studentů video poskytnuto nebylo. Dotazníky zadané všem studentům před samotnou pitvou ve výuce a bezprostředně po jejím skončení ukázaly, že studenti, kteří byli připraveni v předstihu, trpěli menšími obavami a dalšími negativními pocity z pitvy (Casado et al., 2012).

K odstranění obav z neznámého prostředí pomocí předcházející domácí přípravy využili video i v dalším experimentu. Studentům experimentální skupiny (studenti distančního vzdělávání s chemickým zaměřením) bylo poskytnuto video a animace virtuální laboratoře, ve které si mohli doma v klidu vyzkoušet některé základní dovednosti a operace s chemickým nádobím. Vzhledem k tomu, že animace přesně odpovídala laboratoři, ve které později probíhala výuka, nacvičili si studenti v pohodlí domova i orientaci v místnosti a umístění všech pomůcek a přístrojů. Kontrolní skupina studentů absolvovala před začátkem vyučování „exkurzi“ do laboratoře osobně. Následoval dotazník, který zjišťoval míru jejich obav ze samostatné práce v laboratoři, která měla následovat a také přesnost zapamatování umístění jednotlivého vybavení laboratoře. Ačkoliv obě skupiny trpěly podobnou měrou obav a v přesnosti umístění pomůcek byly srovnatelně úspěšné, virtuální laboratoř byla autory experimentu shledána jako zlepšení výuky. Hlavním důvodem bylo zřejmě i to, že v případě distančních studentů může první seznámení s laboratoří proběhnout bez osobní návštěvy univerzity (Dalgarno et al., 2009).

Videa mohou sloužit pro domácí přípravu v kombinaci s vyučováním, ve kterém díky úspoře času mohl být dán prostor dalším, méně tradičním výukovým metodám. Studenti medicíny zapsaní k předmětu histologie v rámci domácí přípravy absolvovali video-lekce zaměřené na teoretické poznatky a navíc si mohli online prohlížet histologické preparáty. Ve vyučování byl pak velký prostor věnován hlavně konkrétním dotazům studentů a vzájemným diskusím. Studenti si navíc ve skupinách připravovali prezentace na různá témata – především z oblasti vztahů histologie k ostatním vědám a historických kontextů. Studenti na této metodě ocenili hlavně prohloubení vztahů mezi spolužáky navzájem a i mezi nimi a fakultou. Výuka tímto způsobem probíhala a byla zkoumána v letech 2001 – 2006, výsledky studentů v závěrečných zkouškách se v průběhu let postupně zlepšovaly (Goldberg et Dintzis, 2007).

Z předchozích ukázek vyplývá, že využití internetu (a videí) jako studijních médií je na vysokých školách poměrně rozšířeno. Online připojení ale s úspěchem využívali i žáci druhého stupně základní školy pro práci se skenovacím elektronovým mikroskopem ve výzkumu Johna Hunta v jeho „Projektu vzdáleného přístupu k mikroskopu“. Tento projekt byl využit ke zvýšení motivace žáků v biologii pomocí netradičních přístrojů, se kterými by se běžně nemohli setkat, i když se ve vědě používají. Navíc pomohl odstranit některé zažité představy o vědcích jako o lidech v bílém plášti se zkumavkami v rukou (zjišťováno

pre- a post-testem). Žáci se podíleli na výzkumu anatomie „importovaného červeného mravence“ (*Solenopsis invicta*) s pomocí webového blogu a e-mailové komunikace s vědci. Získané informace žáci prezentovali různými formami od Powerpointové prezentace přes 3D modely mravence k videoukázkám „ze života hmyzu“. Projekt ukázal, jak je možné využívat nové a rozvíjející se technologie ve výuce a jak udělat vědu pro žáky zajímavou (Hunt, 2007).

2.5. Virtuální mikroskopie ve výuce

Jako virtuální mikroskopie je označována práce s digitálními snímky reálných preparátů s použitím počítačového programu. Tyto speciální programy umožňují měnit zvětšení a v mnoha případech i kontrast, takže velmi připomínají práci se skutečným mikroskopem. Tato metoda se v poslední době, s nástupem výkonnějších počítačů, velmi rozšiřuje (Paulsen et al., 2010). Využívání fotografií bez možnosti manipulace s kvalitou obrazu se jako virtuální mikroskopie neoznačuje, ale může být jakýmsi jejím předstupněm. Do výuky na základních a středních školách ji i přes tyto drobné odlišnosti lze zařadit.

Virtuální mikroskopie je dnes zařazována v řadě odvětví medicíny (např. histologii, patologii, cytologii). Hlavní výhoda na rozdíl od klasické mikroskopie je v tom, že snímky mohou být přes internet dostupné kdykoliv a kdekoliv, zatímco klasické preparáty je nutno zkoumat pouze ve specializovaných učebnách. Snímky preparátů navíc lze sdílet s více lidmi, což je výhoda hlavně ve výuce, kdy všichni studenti mají přesně stejný obraz. Jeden obraz může najednou sledovat více lidí, což umožňuje skupinové učení. Rozvinutější programy umožňují i přidávání komentářů studenty a správných odpovědí vyučujícími. Dále mohou sloužit (a s úspěchem skutečně slouží) k domácí přípravě. Nevýhoda je naopak v počátečních investicích, protože scanner vytvářející snímky preparátů s možností ostření a softwary pro manipulaci se snímky nejsou levnou záležitostí. Další finanční obnos je třeba vložit do provozu serverů, na kterých jsou snímky uloženy. Ty navíc zabírají poměrně velké množství virtuálního prostoru. V počátcích virtuální mikroskopie byl problém i při zobrazování snímků, které jsou náročné na operační paměť počítače (Triola et Holloway, 2011; Fónyad et al., 2010; Paulsen et al., 2010; Dee, 2009).

Fotografie pořízené klasickou cestou sice neumožňují práci podobnou manipulaci s mikroskopem, jejich pořizovací cena je ale výrazně nižší a ani virtuální skladovací prostory nejsou potřeba tak rozsáhlé (Dee, 2009).

Na New York University dokonce na základě výsledků jednosemestrálního výzkumu, který probíhal v předmětu Histologie, zcela vyřadili výuku s použitím normálních mikroskopů a nahradili je virtuálními preparáty. Učinili tak i přes to, že výsledky studentů vyučovaných novou a původní metodou byly srovnatelné. Škola argumentovala tím, že díky možné domácí přípravě mohou být cvičení kratší a i příprava na ně (tvorba a kontrola preparátů) zabírá méně času (Triola et Holloway, 2011). Na College of Medicine v Iowě, fakultě patologie, experimentují se zavedením virtuální mikroskopie již přes 10 let. V roce 2001 srovnávali efektivitu výuky a přístupnost pro samostudium klasické a virtuální mikroskopie. Ověřili si tak své domněnky, že odklon od klasických mikroskopů je realizovatelný, studenti mají s použitím virtuální mikroskopie lepší výsledky a navíc sami oceňují novou metodu. Pouze uváděli obavu z toho, že nebudou umět používat klasický mikroskop, pokud by se na virtuální snímky přešlo celoplošně. Vyučující argumentovali tím, že v ostatních předmětech se s mikroskopem pracuje a studenti mají tedy dost příležitostí k procvičení manipulace s ním a dospěli tak k závěru, že virtualizace je nevyhnutelný krok (Harris et al., 2001). V současné době na této univerzitě probíhají i další výzkumy na poli virtuální mikroskopie (např. Dee et al., 2003). Kladně hodnotí studenti virtuální mikroskopii i na Semmelweis University v Budapešti. Zde byla výuka změněna z „klasické“ na výhradně „virtuální“ na čtyři roky. Z výsledků výzkumů vyplynulo, že virtuální mikroskopie má celou řadu výhod oproti „klasické“ (Fónyad, 2010). Srovnání obou typů mikroskopování proběhlo i na Rheinisch-Westfaelische Technische Hochschule v německých Cáchách. Studenti měli po celou dobu k dispozici výuku oběma metodami a na konci semestru je srovnávali. Výsledky nebyly použity pro zamítání nebo podpoření používání výhradně jedné z metod, ale jako shrnutí rozdílů ve využití každé z nich a také rozdílů mezi jednotlivými zobrazovacími programy (Merk et al., 2010). Poněkud skeptičtěji vidí implementaci virtuální mikroskopie Sheila Scoville a Trent Buskirk z Eastern Virginia Medical School v Norfolku. Zkoumali rozdíly v efektivitě výuky a ve výsledcích testů u čtyř skupin studentů rozdělených podle způsobu výuky (aktuální a virtuální) a způsobu testování (aktuální a virtuální), ve všech možných kombinacích. Ve všech srovnáních dosahovali studenti používající klasický mikroskop (aktuální) lepších výsledků (Scoville et Buskirk, 2006).

Celkově je ale zřejmé, že postupné používání virtuální mikroskopie na úkor klasické mikroskopie je současný trend. Oproti tomu výhodou klasických mikroskopů je jejich léty prověřená funkčnost. Navíc se předpokládá, že na většině škol i univerzit již nějaké jsou –

není tedy třeba řešit počáteční investici, jako v případě nového scanneru u virtuální mikroskopie. I tak by ale scanner vycházel mnohem draž (1 500 000 Kč – 2 400 000 Kč; Paulsen et al., 2010).

Vzhledem k tomu, že většina ohlasů na virtuální mikroskopii ve výuce je veskrze pozitivní, nabízí se otázka, zda je tato metoda aplikovatelná i v lékařské praxi. Touto otázkou se zabývali na Eastern Virginia Medical School v Norfolku. Sady deseti klasických a deseti virtuálních preparátů s kožními chorobami a dalšími patologiemi poskytli odborníkům z praxe, kteří na nich určovali diagnózy. Chybovost u obou zobrazení byla velmi podobná, používání virtuálních snímků v praxi tedy není nutné odmítat. Názory odborníků na tuto metodu byly většinou pozitivní, zdála se jim vhodná pro učení, i když sami měli v některých případech potíže se zobrazováním virtuálních snímků kvůli netradičnímu softwaru a nižší kapacitě operační paměti počítačů (Koch et al., 2009).

Ojedinelou ukázkou využití fluorescenčních fotografií přímo při aplikaci do praxe nabízí Ahn et al. (2009) se svým využitím v diagnostice akné. Fotografie vznikly při ozáření obličeje diodou emitující světlo o vlnové délce 405 nm. Metoda využívá toho, že bakterie *Propionibacterium acnes* produkuje látky patřící do skupiny porfyrinů a ty mají červenou autofluorescenci. Na fotografii se pak objevují jako červené tečky. Ze srovnání fotografií částí obličejů nemocných a zdravých účastníků výzkumu vyplynulo, že tato metoda je schopna spolehlivě stanovit diagnózu (Ahn et al., 2009).

2.6. Praktická cvičení ve výuce

Z provedených studií vyplývá, že praktická cvičení mají pozitivní vliv na vztah žáků k předmětu (Thompson et Soyibo, 2002; Stohr-Hunt, 1996), i když v některých případech záleží na typu aktivity, protože některé méně oblíbené mohou zájem žáků spíše snižovat (Hosltermann et al., 2010). Žáci v některých studiích dokonce sami uvádějí, že zařazení většího množství praktických cvičení do výuky by mohlo jejich zájem a motivaci zvýšit (Çimer, 2012). To, že zájem žáků je ovlivněn frekvencí praktických cvičení, potvrdily výsledky výzkumu realizovaného univerzitou v Richmondu v USA na souboru 24 599 žáků. Žáci, kteří měli do výuky praktická cvičení zařazena každý den, nebo jednou za týden, měli k předmětu signifikantně lepší vztah, než ti, kteří měli praktická cvičení jednou za měsíc nebo méně (Stohr-Hunt, 1996).

Studie zabývající se vlivem praktických cvičení na znalosti žáků poukazují taktéž na jejich pozitivní efekt. Výzkum realizovaný na Jamaice ukázal, že žáci, kteří se účastnili výuky s praktickými cvičeními, dosahovali v post-testu provedeném v časovém odstupu dvou týdnů lepších výsledků, než žáci kontrolní skupiny, kteří praktickou výuku neabsolvovali (Thompson et Soyibo, 2002).

Německá studie autorů Randlera a Bognera (2006) má stejný závěr. Žáci experimentální skupiny (n = 292) se učili určovat ptáky během praktických cvičení s pomocí příruček a odborných publikací, zatímco žáci kontrolní skupiny (n = 200) absolvovali tradiční výuku s výkladem učitele. Po skončení expozice žáci vyplňovali dva post-testy. První z nich (bezprostředně po skončení expozice) sloužil pro potřeby klasifikace, druhý test probíhal bez předchozího varování 6–8 týdnů po expozici a sledoval míru zapomínání získaných vědomostí. Ukázalo se, že žáci experimentální skupiny dosahují signifikantně lepších výsledků, než žáci z kontrolní skupiny (Randler et Bogner, 2006).

Na motivaci žáků má vliv i osobnost učitele. Ukázalo se, že velice záleží na tom, jakým způsobem učitel žákům témata předkládá, jakou používá slovní zásobu a zda sám vypadá zaujatě. Když byli žáci dotázáni na důvod, proč se chtějí zúčastnit exkurze, často používali stejná slovní spojení, kterými je před tím vyučující motivoval k účasti (Hsu et Roth, 2009).

3. Metodika

3.1. Charakteristika vzorku žáků

Pro výzkumnou část své diplomové práce jsem získala celkem 4 třídy žáků na dvou pražských gymnáziích. Školy byly vybrány na základě dostupnosti, důležitá byla ochota vyučujících nechat své třídy absolvovat praktická cvičení. Vzhledem k tomu, že se téma fluorescence na školách běžně nevyučuje, museli chtít ukázat žákům něco navíc. Na každé škole se výuky účastnily dvě třídy. Konkrétně dvě třídy prvního ročníku čtyřletého studia na Gymnáziu Omská (označení OM G1A a OM G1B) a první ročník čtyřletého studia (označení GVP 1E) a třetí ročník šestiletého studia (označení GVP 3B) na Gymnáziu Na Vítězné Pláni. Na Gymnáziu Omská má každá skupina žáků praktická cvičení z biologie jednou za měsíc, na Gymnáziu Na Vítězné Pláni jednou za dva týdny. Po vyřazení irelevantních dat bylo do výzkumu zařazeno 55 žáků z původních 102 (16 ze třídy GVP 1E, 10 z GVP 3B, 15 z OM 1A a 14 z OM 1B), Podrobnosti o výběru dat jsou uvedeny v kapitole 3.4. Výběr dat.

Každá třída byla pro výuku praktických cvičení rozdělena na poloviny v rámci vlastního rozvrhu. Toto dělení jsem ponechala a po dohodě s vyučujícími jsem vždy jednu polovinu třídy vyučovala s použitím putovního fluorescenčního mikroskopu (označení „S“) a druhou polovinu bez mikroskopu s použitím obrazových materiálů, které jsem s předstihem na tomto mikroskopu pořídila (označení „BEZ“).

Žáci každé ze skupin absolvovali tři testy (pre-test, post-test 1 a post-test 2) a jednu expozici nového učiva na téma „Fluorescence“ a „Stavba listu“ (viz Příloha 2 v kapitole 8.2.), během které vyplnili protokol.

Pro ověřování platnosti třetí hypotézy jsem dodatečně data rozdělila do třech skupin podle toho, kolika bodů žáci dosáhli v protokolu v části, kde se popisovaly nákresy preparátů. V tomto rozdělení jsem již nezohlednila příslušnost ke skupinám „S“ a „BEZ“. Pečlivost, s jakou žáci obrázky nakreslili, se projevovala na počtu pojmů, které pak žáci byli schopní do svých nákresů uvést. Jako ukazatel pečlivosti nákresů byl tedy použit počet uvedených pojmů (součet pojmů u všech třech nákresů – řez listem kukuřice, jabloně a jehlicí smrku (kapitola 3.2. Expozice a Příloha 2 v kapitole 8.2.), protože je možné ho objektivně měřit. Maximální počet pojmů a tím pádem i bodů byl 11. Estetický dojem

hodnocen nebyl, protože zdařilé obrázky je obtížné objektivně srovnávat, stejně jako ty méně zdařilé. Do skupiny 1 byli zařazeni žáci, kteří získali 8 – 11 bodů, do skupiny 2 ti, kteří získali 4 – 7 bodů a v poslední skupině 3 byli žáci s 0 – 3 body.

3.2. Expozice

Žáci se zúčastnili výuky praktických cvičení o celkové délce 90 minut. Součástí vyučovacího celku byl zhruba třicetiminutový výklad s prezentací a demonstracemi pokusů na téma „Fluorescence“ (viz Příloha 6 v kapitole 8.6.) následovaný samostatnou prací žáků (viz Příloha 10 v kapitole 8.10.).

Během výkladu s prezentací byli žáci seznámeni s jednotlivými typy luminiscencí. U všech byli seznámeni i s principem těchto jevů. Pojmy, definice a příklady rovnou doplňovali do tabulky v pracovních listech (Příloha 2, kapitola 8.2.). Výklad byl doplňován demonstračními ukázkami jednotlivých luminiscencí (triboluminiscence, chemiluminiscence, fluorescence a fosforescence). Bioluminiscence byla demonstrována pouze s pomocí obrázků v prezentaci (viz Příloha 6 a 7 v kapitolách 8.6. a 8.7.).

Během vlastní práce žáci pozorovali trvalé preparáty řezů listem kukuřice a jabloně na optických mikroskopech, poté sami vytvářeli vodní preparát řezu jehlicí smrku. Z pozorování vytvářeli nákresy s popisem pozorovaných struktur. Vzhledem k tomu, že téma „Stavba listu“ nebylo ještě v té době v žádné ze skupin vyučováno, měli žáci k dispozici nápovědu ve formě obrázků s popisky (Příloha 4 v kapitole 8.4.; Slavíková, 2002). Skupina „S“ pak všechny tři preparáty pozorovala ještě v putovním fluorescenčním mikroskopu, zatímco skupina „BEZ“ měla k dispozici barevné fotografie shodných preparátů v obrazovém materiálu (Příloha 3, kapitola 8.3.). Žáci obou skupin do svých nákresů z optického mikroskopu barevně vyznačovali ty části, které vykazovaly fluorescenci.

Žáci dále v oddíle „Stavba optického a fluorescenčního mikroskopu“ popisovali stavbu optického mikroskopu a slovně, případně graficky, znázorňovali rozdíly mezi optickým a fluorescenčním mikroskopem. Vyplňovali částečně předvyplněnou tabulku s pojmy týkajícími se luminiscencí, jejich principy a konkrétními příklady. Tuto tabulku žáci vyplňovali již během výkladu s prezentací na začátku expozice, jak je uvedeno výše.

Na konci praktického cvičení žáci vyplňovali post-test 1 (viz dále a Příloha 1 v kapitole 8.1.).

3.3. Použité testy

Pro zjištění rozdílů efektivity výuky a míry zapomínání u obou skupin jsem využila tři testy (pre-test, post-test 1 a post-test 2). Znění otázek jsem sestavovala sama a zadání bylo vyzkoušeno a upraveno v rámci pilotního šetření v jedné třídě prvního ročníku čtyřletého studia na Gymnáziu Dr. A. Hrdličky v Humpolci.

V hlavním šetření vyplnili žáci pre-test před expozicí učiva, post-test 1 bezprostředně po proběhlém vyučování a post-test 2 v odstupu 5 – 7 týdnů po expozici. Všechny tři testy obsahovaly část zjišťující úroveň dosažených znalostí v odborných tématech, která byla vyučována při praktickém cvičení („Stavba listu“ a „Fluorescence“). Pre-test a post-test 2 obsahovaly ještě část obecnou (pohlaví, věk, preferované předměty a výukové metody apod.). Všechny tři testy jsou detailněji popsány dále a tvoří Přílohu 1 v kapitole 8.1.

Díky pre-testu byla zjištěna vstupní úroveň znalostí žáků. Předpokládala jsem, že žáci se ve svých původních znalostech nebudou příliš lišit, protože téma „Stavba listu“, která bylo pro výuku vybráno, nebylo ještě v té době v žádné ze tříd vyučováno. Post-test 1 zjišťoval úroveň znalostí bezprostředně po skončení expozice, testoval tedy vliv na krátkodobou paměť v případě výuky s použitím mikroskopu a s použitím obrazových materiálů. Post-test 2 naopak testoval vliv provedení výuky na paměť žáků s větším časovým odstupem. Pre-test ani post-test 2 nebyly žákům předem oznámeny, post-test 1 byl avizován v úvodu praktických cvičení v rámci seznámení žáků s programem vyučovacího celku. Ani jeden z testů nebyl definován jako písemné zkoušení a žáci neobdrželi žádnou známku.

3.3.1. Pre-test

První test (pre-test) proběhl před samotnou expozicí na běžné vyučovací hodině (1 – 36 dní předem, podle možností rozvrhu). V celém znění je k dispozici v Příloze 1, kapitola 8.1. Obsahoval otázky charakterizující žáka z hlediska věku, pohlaví, zájmu o vyučovací předměty, metody a formy výuky a plánů budoucího studia (otázky 1 – 6). Dále pak otázky na úroveň znalostí odborné problematiky, která se týkala následné expozice (otázky 7 – 16). V těchto otázkách byly zahrnuty otázky na dvě původně

plánovaná témata praktických cvičení „Stavba listu“ a „Rostlinné chlupy“. Druhé téma nakonec z časových důvodů nebylo vyučováno. Během 90 minut praktického cvičení probíhala prezentace (asi 30 minut) a post-test 1 (asi 10 minut). Navíc žáci nevyplňovali protokoly tak rychle, jak jsem původně předpokládala. Odpovědi na otázky k tématu „Rostlinné chlupy“ proto nebyly vyhodnocovány.

V hlavičce dotazníku vyplňovali žáci identifikační kód složený z iniciál a posledních čtyř číslic rodného čísla (za lomítkem). Tento kód sloužil k pozdějšímu zpětnému přiřazení dalších částí k sobě při zachování anonymity. Další identifikační údaje byly věk a pohlaví.

Otázky 1 a 2 byly s výběrem jedné správné odpovědi. Zjišťovaly, zda žák chce nebo nechce maturovat z biologie a jeho případnou účast na biologické olympiádě či středoškolské odborné činnosti.

Otázky 3 a 4 byly hodnoceny formou Likertovy škály na stupnici od 1 do 5 podobně, jako známkování jako ve škole (1 – nejoblíbenější, 2 – oblíbený, 3 – neutrální, 4 – neoblíbený, 5 – nejméně oblíbený, 0 – tento předmět se nevyučuje) (využita např. Holstermann et al., 2009). Týkaly se oblíbenosti jednotlivých vyučovaných předmětů a témat praktických cvičení z biologie (pitva, určování přírodnin, teoretické výpočty a podobně).

Otázka 5 s výběrem více odpovědí zjišťovala, které výukové metody žáci upřednostňují. Žáci navíc přiřazovali svým volbám číselnou hodnotu vzestupně od nejoblíbenějšího (1 – nejoblíbenější, 2 – méně oblíbený atd., podle počtu jejich odpovědí). Maximální počet zvolených metod nebyl omezen.

Otázka 6 byla typově shodná s otázkou 5. Žáci vybírali z nabídky možností týkajících se jejich budoucího zaměření v dalším studiu s možností „jiné“.

Otázky 7 – 16 se týkaly „odborných znalostí“ na téma „Fluorescence“, „Stavba listu“ a „Rostlinné chlupy“. Byly sestaveny tak, aby bylo obsaženo více typů úloh (doplňovací s výběrem z možností, doplňovací bez výběru možností, přiřazovací, otázky s výběrem jedné či více správných odpovědí.) Každé správně zvolené či přiřazené variantě byl udělen jeden bod. Body dosažitelné v jednotlivých otázkách jsou uvedeny v tabulce 3.1.

Tabulka 3.1.: Maximální počet bodů dosažitelný v otázkách 7 – 16

číslo otázky	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
maximální počet bodů	8	2	8	2	4	6	1	1	7	2

V otázce 7 žáci popisovali obrázek znázorňující řez bifaciálním listem, osm pojmů přiřazovali k číslům 1 – 8. Na stejném principu byla postavena i otázka 9 – popis optického mikroskopu. Otázky 8, 10 a 11 se týkaly rostlinných chlupů, konkrétně jejich stavby a funkce.

V otázce 12 žáci přiřazovali 6 názvů pro různé typy luminiscence k šesti definicím těchto jevů (viz níže).

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

Otázka 13 a 14 byla s výběrem jedné správné odpovědi a týkala se vodivých pletiv.

Otázky 15 a 16 se týkaly fluorescence, více odpovědí bylo správně.

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) – barvy sedí s tím, co se objevuje v časopisech, ale není to umělá škála dobarvená dodatečně)
- d) barevné fotografie se objevují pouze v neseriózních publikacích, jde o marketingový tah – ve vědeckých článcích se vícebarevné obrázky nepoužívají, protože takové reálně nelze v mikroskopu vidět

3.3.2. Post-test 1

Druhý test (post-test 1) – viz Příloha 1 v kapitole 8.1. – probíhal na konci devadesátiminutových praktických cvičení a trval asi 10 minut. Ve skupině GVP 3B S byl post-test 1 zadán paní učitelkou (podle instrukcí) až následující den v běžné vyučovací hodině, protože si přála, aby měli žáci na vypracování protokolu dostatek času. Test obsahoval otázky na úroveň znalostí právě vyučované odborné problematiky. Otázky byly shodné s otázkami 7 – 16 v pre-testu. Z výše zmíněných důvodů byla vyžadována odpověď

pouze u otázek 7, 9, 12, 15 a 16, ne u otázek týkajících se odborného tématu „Rostlinné chlupy“.

3.3.3. Post-test 2

Třetí test (post-test 2) – viz Příloha 1 v kapitole 8.1. – probíhal 5 – 7 týdnů po expozici, sběr dat probíhal přibližně ve shodě s Randler et Bogner (2006). Přesný časový odstup od expozice byl stanoven podle možností rozvrhu jednotlivých skupin. Ve třídách OM 1A a OM 1B jsem testy zadávala osobně, ve třídách GVP 1E a GVP 3B vyučující podle instrukcí. Post-test 2 obsahoval otázky shodné s pre-testem, navíc ještě otázku na spokojenost s proběhlými praktickými cvičeními (viz níže).

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

Z výše zmíněných důvodů byla vyžadována odpověď pouze u otázek 7, 9, 12, 15 a 16, tedy ne u otázek týkajících se tématu „Rostlinné chlupy“. Test trval asi 20 minut.

3.4. Výběr dat

Dotazníkových šetření či expozice se zúčastnilo 102 žáků. Vzhledem k tomu, že pro úspěšné vyhodnocení dat bylo potřeba, aby se žák zúčastnil všech čtyř částí (3 testy a expozice), zůstalo z původní skupiny 55 respondentů, jejichž odpovědi byly využity pro výzkum (29 ze skupiny „S“, 26 ze skupiny „BEZ“). Žáci, kterým chyběla jedna či více z těchto čtyřech částí, byli vyřazeni.

Některé otázky žáci nevyplnili. Bohužel ve většině případů nebylo možné určit, zda z důvodu neznalosti odpovědi, nebo vyplňování materiálů nepřikládali dostatečnou váhu. V případě, že tyto vynechané otázky byly v testech, a to v otázkách 7, 9, 12, 15 a 16, vyřadila jsem ty žáky, kteří přeskočili více než jednu otázku. V případě, že přeskočili právě

jednu, bylo této otázce přiděleno 0 bodů a tito žáci byli do výzkumu zařazeni. V případě, že vynechané otázky byly v protokolech z expozice, kterou absolvovali, bylo všem těmto otázkám přiděleno 0 bodů.

Do dalšího statistického zpracování byla použita celková skóre (z otázek 7, 9, 12, 15 a 16) ve všech třech testech a skóre v materiálech z expozice „počet pojmů“ (počet pojmů použitých při popisu nákresů preparátů) a „protokol celkem“ (součet „počtu pojmů“ s počty pojmů v tabulce s typy luminiscence).

3.5. Použité statistické metody

Data ve své diplomové práci jsem zpracovala s pomocí Ing. Anety Hybšové. Na začátku byl soubor dat vždy charakterizován pomocí popisné statistiky a následně vyhodnocen s pomocí statistických testů.

Vzhledem k tomu, že počet respondentů byl nízký ($n = 55$) a v dalším výzkumu byl tento celek ještě dělen na menší skupiny podle různých kritérií, byly použity neparametrické testy. Nejdříve bylo otestováno skóre žáků v pre-testu neparametrickým Kolmogorovovým-Smirnovým testem normality. Skupina experimentálních dat byla testována oproti teoreticky vypočtené skupině, která by odpovídala normálnímu rozložení dat. Nulová hypotéza H_0 pro tento test uvádí, že „Složení obou skupin je stejné.“ Tedy, že rozdělení sledované proměnné odpovídá teoreticky vypočítanému normálnímu rozdělení. Nulové hypotézy obecně zamítáme, pokud je p -hodnota menší než 0,05. V takovém případě pak potvrzujeme alternativní hypotézu H_1 která v případě Kolmogorovova-Smirnova testu říká, že mezi složením obou skupin jsou rozdíly (Chráška, 2007). V takovém případě rozdělení sledované proměnné neodpovídá teoretickému rozdělení. (Grafy zobrazující rozložení dat viz kapitola 4.)

Platnost všech hypotéz byla testována na hladině významnosti 0,05. Pro závislé proměnné v rámci jedné skupiny jsem použila Wilcoxonův párový test, který testuje hypotézu o shodě mediánů ve skupinách oproti alternativní hypotéze „Mediány u dvou závislých proměnných se liší“. Pro nezávislé proměnné jsem použila Mann-Whitneyův U-test, který srovnává mediány. Proti nulové hypotéze H_0 : Mediány ve výběrech se rovnají.; stojí alternativní hypotéza H_1 : Mediány ve výběrech se liší. V případě porovnávání více skupin proměnných jsem používala Kruskallovu-Wallisovu analýzu

variance. Pro odhalení možných vztahů mezi jednotlivými skupinami dat byl použit Spearmanův koeficient pořadové korelace. K jeho vyhodnocení slouží tabulka 3.2. (Chráska, 2007, s. 105). Statistické zpracování bylo provedeno v programu Statistica 10 (2011). Teoretický základ potřebný pro formulaci hypotéz byl čerpán z publikace Chráska (2007).

Tabulka 3.2.: Interpretace Spearmanova korelačního koeficientu r . Převzato z Chráska, 2007, s. 105.

koeficient korelace	interpretace
$r = 1$	naprostá (funkční) závislost
$1,00 > r \geq 0,90$	velmi vysoká závislost
$0,90 > r \geq 0,70$	vysoká závislost
$0,70 > r \geq 0,40$	střední (značná) závislost
$0,40 > r \geq 0,20$	nízká závislost
$0,20 > r \geq 0,00$	velmi slabá závislost
$r = 0$	naprostá nezávislost

3.6. Dotazníkové šetření učitelů

Dotazník sestavila RNDr. V. Janštová (k dispozici v Příloze 11, kapitola 8.11.). Byl vyplňován elektronicky či písemně učiteli, kterým byl fluorescenční mikroskop zapůjčen v roce 2010. Dotazník obsahuje 4 otázky s volnou odpovědí – co učitelé na možnosti výpůjčky mikroskopu oceňují, co jim nevyhovuje, zda navrhují nějakou změnu a co by naopak měnit nechtěli. V úvodní části je oddíl dotazující se na název školy, počet žáků, kteří měli možnost mikroskop použít a typ vyučovací jednotky, do které byl mikroskop zařazen.

3.7. Charakteristika technického vybavení

Během výuky žáků, tvorby a zpracování preparátů byl používán mikroskop Olympus CX21 s fluorescenčním LED Fluorescent Illuminator. Modrá dioda poskytuje světlo s maximem ve vlnové délce 480 nm. K tomuto trinokulárnímu mikroskopu je možno připojit fotoaparát. Fotografie vznikaly fotoaparátem Olympus E-410.

3.8. Média, preparáty a fotogalerie

Cílem diplomové práce bylo mimo jiné vytvořit sadu trvalých preparátů, která by byla k dispozici společně s putovním mikroskopem. Byla testována vybraná média používaná pro montování trvalých preparátů (v případě vody dočasných). Média nebyla vybírána kvantitativně všechna, ale na doporučení a také podle dostupnosti na Katedře učitelství a didaktiky biologie Univerzity Karlovy v Praze v době vzniku této práce. Pro vytvoření vzorových preparátů byl jako objekt použit pyl lilie, jako média pak voda, kanadský balzám, glycerol-želatina, solakryl, mowiol, CMCP 10 a Liquido Fauré.

Voda

Toto médium slouží k přípravě dočasných preparátů. Jeho výhody spočívají v dostupnosti a jednoduché manipulaci, nevýhodou je, že preparáty se vždy musí připravovat čerstvé, protože rychle vysychají.

Kanadský balzám

Kanadský balzám je přírodní produkt na bázi pryskyřice s variabilním složením (Merck, 2013). Je to nejběžnější médium trvalých preparátů dostupných ve školách. Nevýhodou je poněkud zdlouhavější příprava, protože preparáty se před zamontováním musejí odvodnit etanolovou řadou. Při tomto procesu se z preparátu vymývají přírodní barviva – zdroj autofluorescence. Následně se preparáty dobarvují. Tato barviva mohou mít svou vlastní fluorescenci, nicméně není to již ta „původní“. Případně je možné použít preparáty suché (např. motýlí křídlo), které barvu neztratí a většinou se tedy ani nedobarvují.

Glycerol-želatina

Glycerol-želatina je médium, se kterým se poměrně snadno pracuje, je mísitelné s vodou. Pro samotnou práci se médium rozehřívá na vodní lázni zhruba při teplotě 60°C. Pro lepší manipulaci je vhodné nahřát i podložní sklíčko. Preparáty časem vysychají, takže se musí ihned po zatuhnutí média rámovat. Nejlépe se osvědčil bezbarvý lak na nehty.

CMCP 10

Toto médium není příliš běžné. Je to vodný roztok kyseliny mléčné, fenolu a polyvinylalkoholu (Polysciences, 2013a). Jeho výhodou je poměrně snadná manipulace

(nemusí se rozehřívát, nanáší se preparační jehlou nebo špejlí, objekty se nemusí odvodňovat). Preparáty se montují přímo do kapky média na podložním sklíčku. Po zakrytí krycím sklíčkem se preparát nechá přibližně týden zasychat ve vodorovné poloze. V případě vzniku bublin (především u silnějších preparátů) lze médium postupně doplňovat. Poté, co další bubliny již nevznikají, se okraje krycího sklíčka rámuje bezbarvým lakem.

Nevýhodou CMCP 10 může být právě výše zmíněný obsah fenolu, se kterým by žáci neměli pracovat. Při manipulaci s tímto médiem je třeba pracovat v dobře větraných prostorách (Polysciences, 2013a).

Mowiol

Mowiol je polyvinylalkohol (Sigma-Aldrich, 2013). Objekty se montují do kapky na podložním sklíčku bez předchozího odvodnění a po zakrytí krycím sklíčkem se nechávají zhruba týden zasychat ve vodorovné poloze. Poté se rámuje bezbarvým lakem. Výsledné preparáty je lépe ve vodorovné poloze i skladovat, aby nedocházelo ke stékání média uvnitř preparátu. Zředěné médium je nutné uchovávat v lednici/mrazáku při co nejnižší teplotě, ideálně až při -20°C (Polysciences, 2013b).

Solakryl

Solakryl je roztok akrylátové pryskyřice v xylenu (Draslovka, 2013). Práce s ním je podobná jako u kanadského balzámu, včetně odvodňovací řady. Jeho nevýhody jsou tedy podobné, týkají se hlavně odbarvení objektů s nutností dalšího barvení. Nemusí se rámovat lakem proti vyschnutí.

Liquido Fauré

Do tohoto média lze montovat preparáty z vody nebo etanolu. Do kapky média na podložním sklíčku umístíme preparát a zakryjeme krycím sklíčkem. Po týdnu zasychání ve vodorovné poloze zalakujeme, čímž se zabrání dodatečnému vysychání preparátu. Preparáty v tomto médiu časem blednou a projasňují se (Jírovec, 1947).

Na médiích byla sledována hlavně jejich případná autofluorescence, která ruší vzniklý obraz objektu. Byly hodnoceny i další vlastnosti a to snadnost manipulace s médiem, doba přípravy trvalého preparátu a barevné změny signálu v čase nebo deformace pozorovaných objektů.

Médium CMCP 10 obstálo ve výše zmíněných kritériích obstojně, proto bylo zvoleno jako hlavní pro montování trvalých preparátů ve vznikající sadě. Vzniklo 67 trvalých preparátů rostlinných i živočišných materiálů (seznam je k dispozici v Příloze 8, kapitola 8.8.). Jednotlivé objekty byly vybírány více méně náhodně podle dostupnosti avšak tak, aby pokryly co nejširší škálu možných pozorovaných objektů. Objekty byly vloženy do kapky média na podložním skle a překryty krycím sklíčkem. V případě, že vznikly nežádoucí vzduchové bubliny, byly odstraněny doplněním média ke kraji krycího sklíčka pomocí preparační jehly. Po několika dnech, u silnějšího preparátu i delší době, když se přestaly tvořit tyto vzduchové bubliny, byl vzniklý preparát orámován bezbarvým lakem na nehty, aby se zabránilo dalšímu vysychání.

Všechny vytvořené preparáty byly pozorovány pod fluorescenčním mikroskopem a vyfotografovány. Ve většině případů byla táž část preparátu focena jak při excitaci modrým světlem (480 nm), tak při klasickém osvětlení viditelným světlem. Citlivost byla nastavena na ISO 400, doba expozice byla řízena fotoaparátem automaticky. Z těchto snímků vznikla fotogalerie. Fotografie, kromě oříznutí snímků ve zvětšení 4x10, kde obraz většinou nezaujímal celou plochu snímku a zmenšení rozlišení u všech snímků, nebyly žádným způsobem digitálně upravovány, aby se nezkreslila autentičnost pozorování v mikroskopu. Ke snímkům byla pouze v programu Zoner Photo Studio 13 (2011) přidána lišta s popiskem. Šířka lišty byla 300 pixelů (při původní velikosti snímku 3648×2736 pixelů). Písmo bílé velikosti 3,5. Text zarovnaný na střed, odsazení V 2,0; H 0,5. Snímky byly následně zmenšeny tak, aby delší strana snímku byla vždy 1600 pixelů. Do fotogalerie byly zařazeny i snímky těch preparátů, které nebyly vybrány do definitivní sady trvalých preparátů. Tyto snímky mohou sloužit vyučujícím a studentům jako motivace pro vlastní práci nebo zapůjčení fluorescenčního mikroskopu do školy.

Fotogalerie byla vytvořena ve webové galerii Picasa (2012) a umístěna na internet (natur.cuni, 2013a). Snímky byly nahrány ve velikosti 1600×1332 pixelů. Byly rozděleny do šesti tematických alb – rostliny – bezcévné; rostliny – květ a plod; rostliny – list;

rostliny – stonek; živočichové – bezobratlí a živočichové – obratlovci. Sedmé album obsahovalo fotografie preparátů bezprostředně po umístění do média. Tyto fotografie jsou barevnější, protože v čase dochází k rozkládání autofluorescenčních barviv. Vzhledem k tomu, že tato galerie je přístupná pouze v režimu online, byla vytvořena ještě prezentace s některými snímky, kterou je možno stáhnout přímo do počítače a zařadit ji do výuky i bez připojení k internetu.

Do výsledné sady k zapůjčení s fluorescenčním mikroskopem bylo vybráno 54 preparátů. Byly vyřazeny všechny preparáty, které se v průběhu přípravy nějak poškodily, nebo změnilly vlastnosti – například vyschnutím nebo uvolněním barviv do média.

3.9. Výukové materiály

Jako součást diplomové práce vznikly výukové materiály na témata „Stavba listu“ a „Rostlinné chlupy“ a to ve formě zadání pro žáky, včetně doplňkových materiálů (obrazový materiál a nákresy řezů listy sloužící jako nápověda, Příloha 3 a 4 v kapitole 8), a metodických pokynů pro učitele (kapitola 8.5. Příloha 5). Dále vznikla prezentace „Fluorescence“, ve které se žáci dozvěděli základní informace o některých typech luminiscence. Zhruba půl hodiny trvající výklad byl přerušován demonstračními pokusy hlavně z oblasti chemiluminiscence (Příloha 6 a 7 v kapitole 8). K tématu „Fluorescence“ příslušel ještě komplex úloh „Stavba optického a fluorescenčního mikroskopu“, kde žáci zakreslovali rozdíly mezi oběma typy mikroskopů a vyplňovali tabulku s charakteristikou luminiscenčních procesů. Téma „Stavba listu“ a „Stavba optického a fluorescenčního mikroskopu“ bylo přímo vyučováno a výsledky následně posloužily jako podklady dalšího zkoumání, téma „Rostlinné chlupy“ vyučováno nebylo. Obrazová příloha byla rozdílná pro skupinu „S“ (jen s částí pro „Rostlinné chlupy“) a skupinu „BEZ“ (obrázky pro „Stavbu listu“ i „Rostlinné chlupy“), viz Příloha 3 v kapitole 8.3. Pro vyvěšení na internet byl vytvořen nový obrazový materiál jen s obrázky pro „Rostlinné chlupy“.

Témata pro expozici byla vybrána tak, aby se jednalo o učivo prvního ročníku čtyřletého gymnázia. V té době jsou vyučovány rostliny, které navíc disponují širokým spektrem autofluorescencí. Z tohoto tématu jsem vybrala stavbu listu a trichomy, protože list je obvykle v učivu řazen na začátek bloku o rostlinných orgánech a navíc patří k mým oblíbeným. Trichomům se naopak většinou tolik času nevěnuje a při tom tato rostlinná struktura je velice zajímavá. Materiály byly sestavovány tak, aby bylo možno výuku

uskutečnit i v zimním období, protože předpokládaná doba realizace expozičních výukových materiálů vycházela na přelom roku. Z tohoto důvodu bylo zařazeno pozorování trvalých preparátů, které jsem si zapůjčila na Katedře experimentální biologie rostlin PřF UK u RNDr. Z. Lhotákové, PhD. Pro tvorbu dočasných preparátů jsem zvolila smrk, protože je stálezelený.

V původní variantě měla být uskutečněna i výuka tématu „Rostlinné chlupy“, proto i materiály pro tuto část byly vybírány s ohledem na roční období. Tillandsie, rosnatka i růže jsou rostliny dnes již běžně dostupné v květinářstvích i v zimě, listy divizny lze usušit – trichomy to nepoškozuje. Při tvorbě materiálů na toto téma jsem se inspirovala výukovým materiálem, který sestavili RNDr. Miroslav Srba a Mgr. Michaela Havlová pro výuku předmětu Pozorování a pokus organismální I. na PřF UK (Srba, Frýzková, 2008).

„Stavba optického a fluorescenčního mikroskopu“ byla zařazena s ohledem na nově získávané znalosti o fluorescenci a fluorescenční mikroskopii v kontrastu s využíváním optického mikroskopu, který žáci běžně používají.

Zadání pro výuku během výzkumu bylo koncipováno jako sada úloh ke všem třem tématům dohromady v jednom souboru. Pro vyvěšení na internet byla témata rozdělena do samostatných dokumentů, aby bylo možné používat je ve výuce zvlášť.

Metodické pokyny pro učitele obsahují zařazení tématu do učiva podle RVP, potřebné pomůcky, časové rozvržení a řešení úloh pro všechna tři témata.

Byl vytvořen i komentář k prezentaci „Fluorescence“ obohacený o tipy na demonstrační pokusy (k dispozici v Příloze 7, kapitola 8.7.).

Všechny materiály byly s laskavou pomocí Mgr. Michaely Havlové umístěny na internetové stránce natur.cuni, 2013b.

4. Výsledky

4.1. Výsledky pilotního šetření

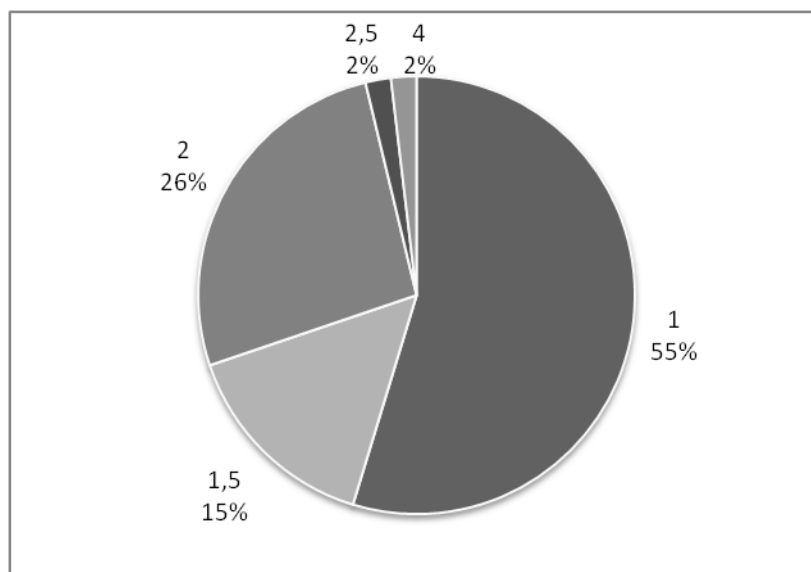
Během pilotního šetření, které proběhlo v červnu 2012 v prvním ročníku na gymnáziu v Humpolci, se ukázalo několik nedostatků, které bránily žákům správně pochopit zadání otázek. Byly upraveny formulace otázek 8 a 16. V otázce 2 a 3 byly přidány další možnosti na základě toho, jak žáci odpovídali, aby bylo možné lépe vystihnout vlastnosti dotazované skupiny. U otázek 5 a 6 bylo doplněno řazení podle priorit. Přesné formulace otázek po odstranění nedostatků jsou k dispozici v Příloze 1 v kapitole 8.1. Vzhledem k tomu, že proběhlo zadávání pouze prvního testu a nebylo tedy možné testovat vliv expozice, výsledky nebyly zpracovány statisticky.

4.2. Popisná statistika celku

K ověření hypotéz byly použity a zpracovány výsledky 55 žáků. Celkem se výzkumu účastnilo 37 dívek a 18 chlapců. Průměrný věk respondentů byl 15,5 roku, což odpovídá tomu, že se jednalo o žáky prvních ročníků čtyřletého gymnázia. Minimální dosažený věk byl 15 let, maximální 17, což nijak nevybočuje z očekávaného rozmezí. Průměrná známka z biologie byla 1,42. Z toho můžeme usuzovat, že žáci v biologii dosahují dobrých výsledků. Známkou udělenou biologii z hlediska subjektivní oblíbenosti žáky byla v průměru 2,62, což je zajímavé zjištění ve srovnání s reálnou známkou na vysvědčení, protože i přes dobré výsledky v biologii nepatří tento předmět k nejoblíbenějším. Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.1. Relativní četnost průměrů známek na vysvědčení z biologie za poslední dvě pololetí uvedená v procentech je zobrazena na grafu 4.1.

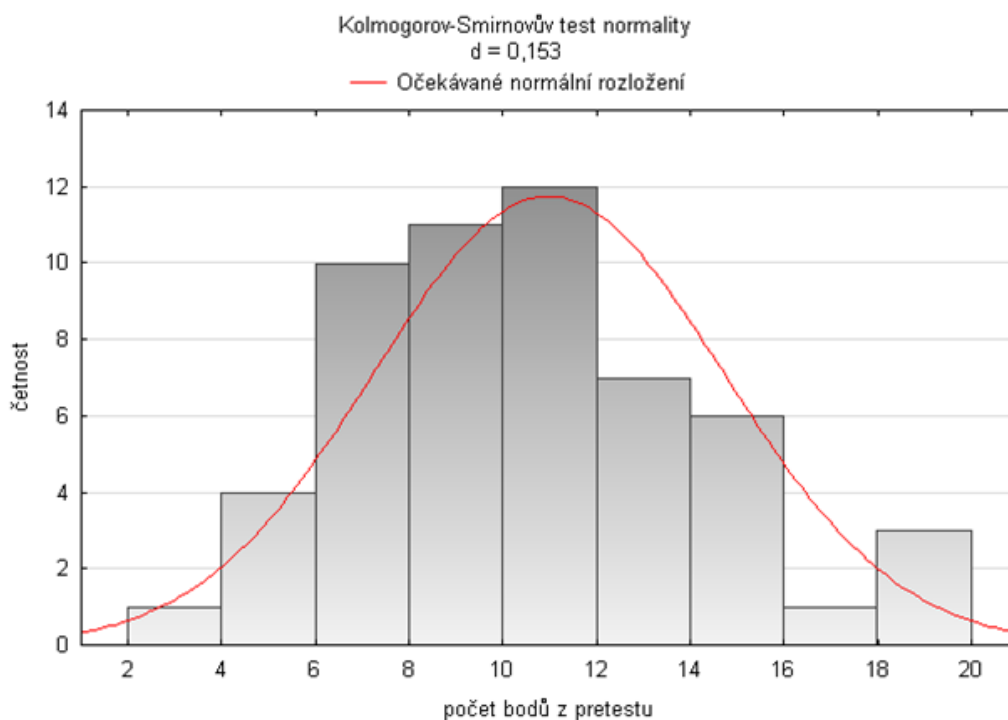
Tabulka 4.1.: Základní popisné charakteristiky zkoumaného celku – věk, průměr známek z biologie za poslední dvě pololetí, subjektivní známka pro biologii podle oblíbenosti (1 – nejoblíbenější, 5 – nejméně oblíbená)

	průměr	Minimum	maximum
věk	15,53	15	17
známka	1,42	1	4
oblíbenost biologie	2,62	1	5



Graf 4.1.: Relativní četnost známek z biologie v procentech – průměr za poslední dvě pololetí: hodnota známky je uvedena v horním řádku popisky, relativní četnost v procentech je na spodním řádku.

K ověření normálního rozložení skóre v pre-testu byl použit Kolmogorovův-Smirnovův test normality. Pre-test byl zvolen, protože se jedná o výchozí stav žáků, který není nijak ovlivněn průběhem experimentu. Vypočítaná hodnota $d = 0,153$ je nižší, než kritická hodnota pro četnost $n = 55$ na hladině významnosti 5 % $D_{0,05}(55) = 0,180$ (vydavatelstvi.vscht, 2013). V tomto případě bylo prokázáno, že rozložení dat je normální. I přes to jsem dále používala neparametrické metody, protože významnějším kritériem je v tomto případě četnost respondentů v jednotlivých plánovaných skupinách, která je nízká. Rozložení výsledků v pre-testu pro celou skupinu je zobrazeno na histogramu (graf 4.2.).



Graf 4.2.: Rozložení skóre – celá skupina – pre-test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 55$), počet bodů je vynesena na ose x (maximum 30b.). Hodnota $d = 0,153$ je nižší, než kritická hodnota $D_{0,05}(55)$, rozložení dat odpovídá očekávanému normálnímu rozložení.

4.3. Popisná statistika dvou skupin podle přítomnosti mikroskopu ve výuce

Podle způsobu výuky byli žáci rozděleni na skupinu „s mikroskopem“ (S) a „bez mikroskopu“ (BEZ). Ve skupině „S“ bylo 29 žáků, ve skupině „BEZ“ 26. Vzhledem k nízkému počtu respondentů v obou skupinách byly pro statistické vyhodnocení používány neparametrické metody (v následujících kapitolách). Počet dívek a chlapců v jednotlivých skupinách uvádí tabulka 4.2.

Tabulka 4.2.: Četnosti pohlaví v jednotlivých skupinách – skupina „s mikroskopem“ (S), kontrolní skupina „bez mikroskopu“ (BEZ).

skupina	dívka	Chlapec	celkový součet
S	19	10	29
BEZ	18	8	26
obě dohromady	37	18	55

Žáci ve skupině „S“ získali v pre-testu průměrně 10,44 bodu, 16,93 bodu v post-testu 1 a 15,14 bodu v post-testu 2 z možných 30 bodů ve všech testech a 15,55 bodu v protokolu z 24 možných. Žáci ve skupině „BEZ“ získali průměrně 11,58 bodu v pre-testu, 18,31 v post-testu 1 a 15,38 v post-testu 2. V protokolu získali průměrně 16,08 bodu (tabulka 4.3.). Průměrné hodnoty získaných bodů v jednotlivých testech se mezi skupinami liší jen málo, větší rozdíl je patrný pouze u post-testu 1. Mediány skóre jednotlivých testů pro obě skupiny se rovněž liší málo, zpravidla o půl až jeden bod (viz tabulka 4.3.). Zda jsou tyto odlišnosti statisticky významné, bylo testováno Mann-Whitneyovým U – testem (kapitola 4.3.1.).

Tabulka 4.3.: Základní popisné charakteristiky: počet bodů z pre-testu, post-testu 1, post-testu 2 (možné maximum 30 b.) a protokolu celkem (možné maximum 24 b.) pro skupinu s mikroskopem (S) a bez mikroskopu (BEZ); (min. – minimum, max. – maximum, SD – směrodatná odchylka)

	skupina	průměr	medián	min.	max.	SD
pre-test	S	10,44	9,0	4	20	4,22
	BEZ	11,58	11,0	5	16	3,07
post-test 1	S	16,93	17,0	5	25	5,05
	BEZ	18,31	18,0	11	28	3,38
post-test 2	S	15,14	15,0	5	23	4,61
	BEZ	15,38	16,0	9	21	3,24
protokol celkem	S	15,55	17,0	1	23	5,48
	BEZ	16,08	17,5	0	23	5,34

Výsledky pro pre-test, post-test 1 a post-test 2 uvedené v tabulce 4.3. jsou v grafické podobě uvedeny v krabicovém grafu 4.3. pro skupinu „S“ a v grafu 4.4. pro skupinu „BEZ“, které jsou umístěny v kapitole 4.4.2. Na grafech je názorně vidět zlepšení znalostí studentů v post-testu 1 oproti výchozím znalostem v pre-testu a také proces zapomínání mezi post-testem 1 a post-testem 2. Statistická významnost těchto rozdílů byla testována Wilcoxonovým párovým testem. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.4.2.

Rozložení skóre v jednotlivých testech u obou skupin zobrazují grafy 8.1. – 8.6. v Příloze 12 v kapitole 8.12. Výsledky prvních dvou testů se na první pohled liší. V pre-testu dosáhli žáci ze skupiny „S“ různorodých výsledků se skóre mezi 4 – 20 body. Největší počet žáků obdržel 8, 9 a 11 bodů. Žáci ze skupiny „BEZ“ měli vyrovnanější

výsledky, dosahovali skóre mezi 5 a 16 body a nejvíce žáků obdrželo 11 bodů. V post-testu 1 dosahovali žáci ze skupiny „S“ skóre od 4 do 26 bodů, zatímco žáci ze skupiny „BEZ“ 11 až 28 bodů. Statistická významnost těchto rozdílů byla testována Mann-Whitneyovým U-testem (kapitola 4.4.1.).

4.4. Výsledky statistických testů – srovnání skupiny s mikroskopem a bez

Jak bylo uvedeno výše, vzhledem k malému počtu respondentů byly pro další výzkum použity neparametrické metody. Toto rozhodnutí bylo podpořeno i tím, že rozložení skóre v testech u jednotlivých skupin neodpovídalo normalitě.

4.4.1. Mann-Whitneyův U-test

Aby bylo možné zkoumat vliv dvou různých uspořádání výuky na znalosti žáků, bylo třeba statisticky ověřit, zda jsou obě skupiny ve svých počátečních znalostech srovnatelné. I přes to, že průměry bodů dosažených v pre-testu se u obou skupin lišily a rozložení skóre nebylo stejně rovnoměrné (viz graf 8.1. a 8.2. v příloze 12 v kapitole 8.12.), z Mann-Whitneyova testu vyplynulo, že obě skupiny jsou srovnatelné. Na hladině významnosti 0,05 jsou mediány ve výběrech shodné ($p = 0,09$) (tabulka 4.4.).

Hypotéza stanovená na začátku výzkumu předpokládala rozdíly ve výsledcích v post-testech mezi skupinami „S“ a „BEZ“. Na základě změřených p-hodnot bylo zjištěno, že výsledky skupin „S“ a „BEZ“ se neliší ani ve skóre dosažených v obou post-testech ani počtem bodů získaných v protokolu. P-hodnota je ve všech případech větší než 0,05, tedy opět potvrzujeme nulovou hypotézu, že obě skupiny dosahují ve všech testech i v protokolu srovnatelných výsledků nezávisle na tom, zda žáci měli nebo neměli k dispozici mikroskop. Srovnání hodnot p v post-testu 1, post-testu 2 a protokolu u skupiny „S“ a „BEZ“ je uvedeno v tabulce 4.4.

Tabulka 4.4.: Mann-Whitneyův test srovnání skupin „S“ a „BEZ“ – srovnání p-hodnoty u jednotlivých testů a protokolu; při $p > 0,05$ je potvrzena H_0 , že mediány se neliší.

	p-hodnota
pre-test	0,09
post-test 1	0,50
post-test 2	0,72
protokol	0,85

Vzhledem k tomu, že výsledky v post-testech obou skupin žáků rozdělených podle přítomnosti mikroskopu na „S“ a „BEZ“ se ukázaly být srovnatelné, z naměřených výsledků nemůžeme usuzovat, že „Žáci, kteří se zúčastnili vyučovací jednotky s putovním fluorescenčním mikroskopem, dosáhli v následném testu znalostí lepších výsledků než studenti, kteří absolvovali vyučovací hodinu bez mikroskopu“. Tuto hypotézu musíme na základě získaných dat zamítnout.

4.4.2. Wilcoxonův párový test

Dále bylo zjišťováno, jak se liší znalosti jedince v čase v rámci jedné skupiny. Tedy zda je rozdíl ve výsledcích jednoho žáka na počátku (pre-test), v průběhu (post-test 1) a na konci experimentu (post-test 2) statisticky významný, či nikoliv.

Pro tuto analýzu byl použit Wilcoxonův párový test, který testuje shodu dvou závislých proměnných, konkrétně mediánů. Na rozdíl od znaménkového párového testu, který je podobný, je jeho účinnost oproti znaménkovému testu vyšší, má tedy vyšší vypovídající hodnotu.

Srovnáním výsledků post-testu 1 a 2 u skupiny „S“ byla potvrzena nulová hypotéza, že výsledky se neliší ($p = 0,071$). U všech ostatních srovnání byla p -hodnota $p < 0,05$, podpořili jsme alternativní hypotézu – výsledky testů se signifikantně liší. P -hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.5.

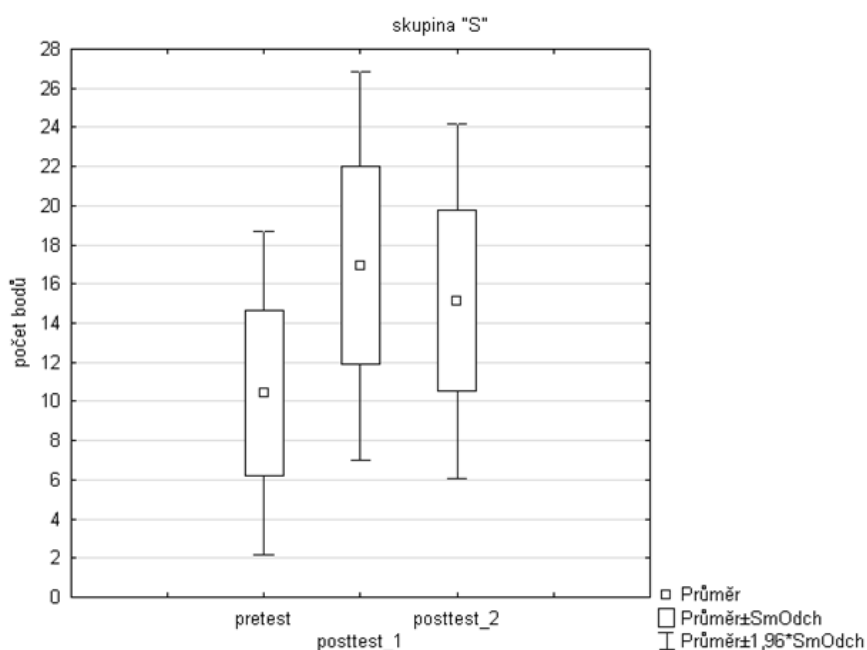
Srovnáním dosažených průměrů a mediánů (tabulka 4.3. v kapitole 4.3.) je možné ukázat, že v době mezi absolvováním pre-testu a post-testu 1 došlo ke zlepšení ve znalostech žáků (zlepšení průměru o 6,49 bodu a mediánu o 9 bodů u skupiny „S“ a o 6,73 bodu v případě průměru a 7 bodů v případě mediánu u skupiny „BEZ“). Zrovna tak se žáci ve svých znalostech zlepšili z dlouhodobějšího pohledu (mezi pre-testem a post-testem 2). U skupiny „S“ došlo o zlepšení průměru o 4,7 bodu a mediánu o 6 bodů. U skupiny „BEZ“ bylo zlepšení průměru o 3,8 bodu a mediánu o 5 bodů.

Z rozdílů výsledků post-testu 1 a 2 vyplývá, že žáci ze skupiny „S“ zapomínají méně než žáci ze skupiny „BEZ“. U žáků ze skupiny „S“ nebyl shledán signifikantní rozdíl ve výsledcích post-testu 1 a post-testu 2 (pokles průměrů o 1,79 bodu a mediánu o 2 body), zatímco u skupiny „BEZ“ byl rozdíl signifikantní (pokles průměrů o 2,93 bodu a mediánu

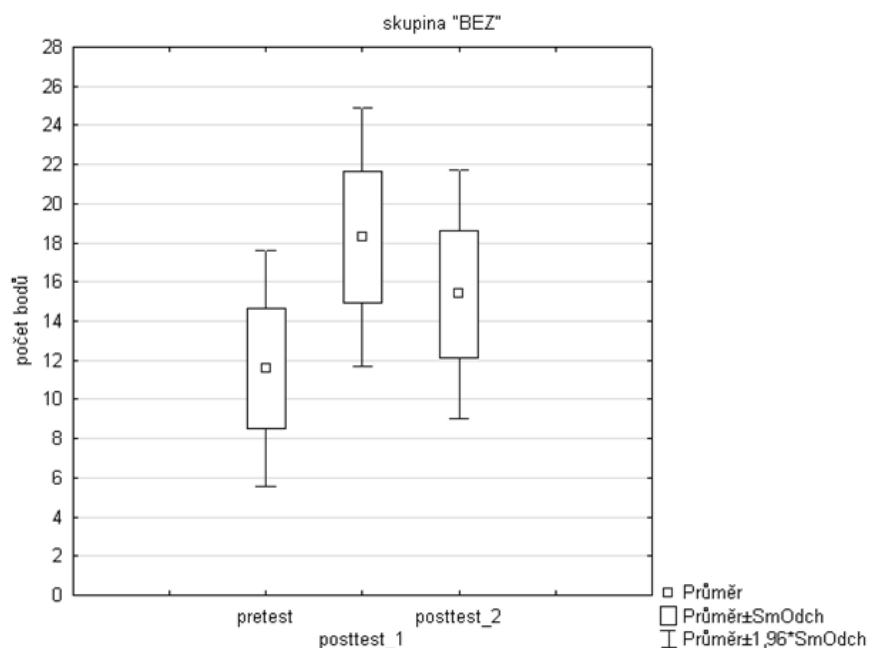
o 2 body). Shodný rozdíl mediánů obou skupin neodporuje výsledkům Wilcoxonova testu, protože se jedná o různě velké skupiny s různě velkými rozptyly a stejný absolutní rozdíl tak nemusí být nutně signifikantní u obou skupin. Rozdíly ve skóre jednotlivých testů jsou znázorněny v grafu 4.3. pro skupinu „S“ a 4.4. pro skupinu „BEZ“. Znázorněn je průměr, průměr \pm směrodatná odchylka a průměr $\pm 1,96 \times$ směrodatná odchylka.

Tabulka 4.5.: Wilcoxonův párový test – p-hodnoty pro skupinu „S“ a „BEZ“, pokud je $p < 0$, zamítáme H_0 , že mediány se neliší, ve prospěch alternativní hypotézy – v mediánech jednotlivých skupin jsou rozdíly.

	p-hodnota – skupina „S“	p-hodnota – skupina „BEZ“
pre-test – post-test 1	0,000036	0,000012
post-test 1 – post-test 2	0,071426	0,003252
pre-test – post-test 2	0,000020	0,000216



Graf 4.3.: Krabicový graf srovnání výsledků v pre-testu a obou post-testech u skupiny „S“ – průměr, průměr \pm směrodatná odchylka, průměr $\pm 1,96 \times$ směrodatná odchylka, $n = 29$, počet bodů je uveden na ose y (maximum 30b.). Rozdíl mezi skóre post-testu 1 a post-testu 2 se statisticky neliší, u ostatních testů je rozdíl statisticky významný na hladině významnosti 0,05.



Graf 4.4.: Krabicový graf srovnání výsledků v pre-testu a obou post-testech u skupiny „BEZ“ – průměr, průměr \pm směrodatná odchylka, průměr \pm $1,96 \times$ směrodatná odchylka, $n = 26$, počet bodů je uveden na ose y (maximum 30b.). Rozdíl mezi skóre ve všech testech je statisticky významný na hladině významnosti 0,05.

Výsledky Wilcoxonova testu ukazují na to, že žáci, kteří se zúčastnili vyučovací hodiny s putovním fluorescenčním mikroskopem, zapomínali získané znalosti pomaleji než žáci, kteří absolvovali vyučovací hodinu bez mikroskopu, což podporuje hypotézu stanovenou na začátku experimentu. Je však třeba brát ohled na to, že vzorek žáků byl malý a tyto závěry nelze příliš zobecňovat.

4.5. Vliv dalších faktorů

Výsledky žáků v jednotlivých testech byly ovlivněny nejen uspořádáním výuky z hlediska přítomnosti mikroskopu, ale i dalšími faktory. Míra ovlivnění byla určována Spearmanovým koeficientem pořadové korelace, který je vhodný pro ordinální data. Byly zjišťovány vztahy mezi výsledky žáků v testech a dalšími faktory, které by potenciálně mohly tyto výsledky ovlivňovat. Těmito faktory byly: průměr známek z biologie na vysvědčení za poslední dvě pololetí, oblíbenost biologie, pohlaví a počet pojmů vyplněných v protokolu. Hodnoty korelačních koeficientů jsou uvedeny v tabulce 4.6.

K interpretaci daných hodnot Spearmanova korelačního koeficientu slouží tabulka 3.2. v kapitole 3.5. Použité statistické metody.

Tabulka 4.6.: Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu – zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné na hladině 0,05.

	známka	oblíbenost biologie	pre-test	protokol pojmy	post-test 1	post-test 2
známka	---	0,195	-0,075	-0,116	0,019	-0,026
oblíbenost biologie	0,195	---	-0,017	-0,115	0,119	0,149
pohlaví	0,413	0,125	-0,128	-0,306	-0,076	-0,309
protokol pojmy	-0,116	-0,115	0,111	---	0,506	0,217

Průměrná známka z biologie za poslední dvě pololetí koreluje s výsledky ve všech testech i protokolu jen velmi slabě. U pre-testu a post-testu 1 je paradoxně korelace slabě pozitivní, tedy čím horší známku žák na vysvědčení obdržel, tím více bodů získal. V protokolu (počet pojmů) a post-testu 2 je závislost negativní. Z těchto výsledků vyplývá, že známka neměla v tomto případě na výsledky v testech významný vliv.

Vliv subjektivní oblíbenosti biologie na skóre žáků se také neukázal být významným faktorem. Oblíbenost biologie koreluje s výsledky všech testů jen velmi slabě, u pre-testu a protokolu negativně (čím oblíbenější – nižší známka, tím více bodů), u post-testu 1 a 2 je závislost pozitivní.

Signifikantní středně silná pozitivní závislost se ukázala mezi pohlavím (0 – dívka, 1 – chlapec) a průměrnými známkami na vysvědčení za poslední dvě pololetí, z níž vyplynulo, že chlapci mají horší známky než dívky. Na pohlaví závisí i počty bodů získaných v pre-testu a post-testu 1 (velmi slabá negativní závislost), v post-testu 2 a v protokolu (nízká negativní závislost). Opět měli chlapci horší výsledky než dívky.

Signifikantní středně silná pozitivní závislost byla odhalena u počtu pojmů vyplněných v protokolu a skóre v post-testu 1. Čím více pojmů v protokolu žáci vyplnili, tím lepších výsledků v následném post-testu 1 dosáhli. Na základě tohoto zjištění byli žáci rozděleni do třech skupin podle počtu pojmů vyplněných v protokolu – skupiny podle

pečlivosti – a byl zkoumán vliv této pečlivosti ve vyplňování na výsledky žáků (kapitoly 4.6. a 4.7.).

4.6. Popisná statistika třech skupin podle pečlivosti

Při vyhodnocování materiálů vyplněných žáky se ukázalo, že vliv na jejich úspěšnost v testech by mohla mít pečlivost, s jakou vyplnili protokoly. Na základě této odhadované závislosti byla vyslovena hypotéza „Žáci, kteří vyplnili protokol pečlivě, dosáhli v post-testech 1 a 2 lepších výsledků než méně pečliví žáci“. V následujících kapitole 4.7. bude ověřována platnost této hypotézy.

Žáci byli rozděleni do třech skupin podle bodů dosažených v protokolu. V první skupině bylo 16 žáků, ve druhé skupině 22 žáků a ve třetí skupině 17 žáků. Rozdělení do skupin podle bodů z protokolu (část, kde se popisovaly mikroskopické nákresy) je spolu s průměrným skóre a směrodatnou odchylkou uvedeno v tabulce 4.7.

Tabulka 4.7.: Body z protokolu a relativní četnost chlapců u jednotlivých skupin rozdělených podle pečlivosti – rozmezí dosažených bodů pro jednotlivé skupiny, průměrná hodnota dosažených bodů a relativní četnost chlapců uvedená v procentech.

skupina	1	2	3
rozmezí bodů	11 – 8	7 – 4	3 – 0
průměr	9,13	5,86	1,18
chlapci (%)	25,0	22,7	52,9

Srovnání průměrů známek z biologie za poslední dvě pololetí ve třech skupinách podle pečlivosti ukazuje, že nejhorších výsledků dosahuje překvapivě první, tedy nejpečlivější skupina (tabulka 4.8.). Průměr posouvá jedna odlehlá hodnota, kdy žák uvedl známku 4. Ve zbylých skupinách byla maximální uvedená hodnota 2, tedy výrazně nižší. Medián známek na vysvědčení byl u první a druhé skupiny 1 a u třetí skupiny 1,5.

I u subjektivní oblíbenosti biologie u žáků je vidět zajímavá skutečnost. Žáci z první skupiny uvedli průměrně horší známku (2,56) než žáci druhé skupiny (2,45). Nejméně pečliví žáci ze třetí skupiny uváděli v průměru nejhorší známku (2,88). Hodnoty známek se směrodatnými odchylkami jsou uvedeny v tabulce 4.8.

Tabulka 4.8.: Znamky z biologie na vysvedceni (pruměr dvou pololetí) a subjektivní známka pro biologii podle oblíbenosti (1 – nejoblíbenější, 5 – nejméně oblíbený) – průměry – skupiny podle pečlivosti

průměr – skupina	1	2	3
známka na vysvědčení	1,50	1,33	1,47
oblíbenost biologie	2,56	2,45	2,88

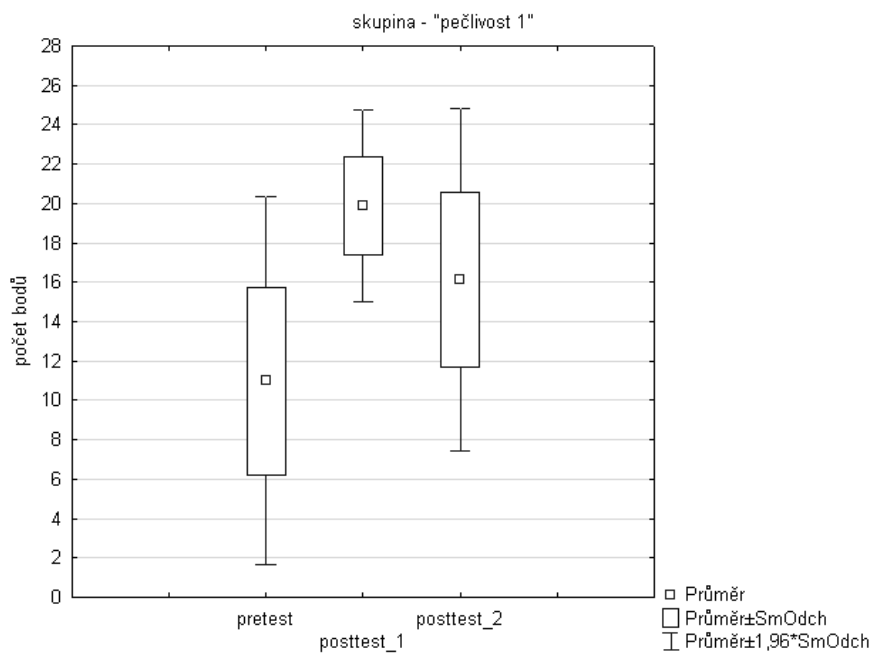
Z tabulky 4.9., která srovnává průměrné, minimální a maximální hodnoty bodů dosažené žáky jednotlivých skupin ve všech testech, vyplývá, že na začátku (v pre-testu) dosahovali žáci první a druhé skupiny poměrně vyrovnaných výsledků. Žáci třetí skupiny za nimi v počtu dosažených bodů mírně zaostávali. Maximální dosažená skóre se lišila nejvíce mezi druhou a třetí skupinou a to o 2 body. U minimálního skóre dosáhl nejnižšího počtu bodů (4 body) žák první skupiny, zatímco u druhé a třetí skupiny bylo minimum 6 bodů. Ve všech případech se jednalo o ojedinělý výskyt tohoto skóre (jak je zobrazeno v grafech rozložení skóre 8.7., 8.8. a 8.9. v příloze 12 v kapitole 8.12.).

V post-testu 1 průměry odpovídají očekávané sestupné tendenci od první skupiny ke třetí skupině. Je zde patrný vliv pečlivého vyplnění protokolu. Zajímavé je opět sledování dosaženého minima, kdy u první a třetí skupiny je to 5 bodů, zatímco u druhé skupiny 11 bodů. V post-testu 2 je zachován trend sestupnosti dosažených průměrů, ale i zde jsou překvapivá dosažená minima – nižší u „lepších“ skupin (5 bodů pro první skupinu, 6 bodů pro druhou skupinu a 9 bodů pro třetí skupinu). Konkrétní rozložení ukazují grafy rozložení skóre 8.10. – 8.15. v příloze 12 v kapitole 8.12.

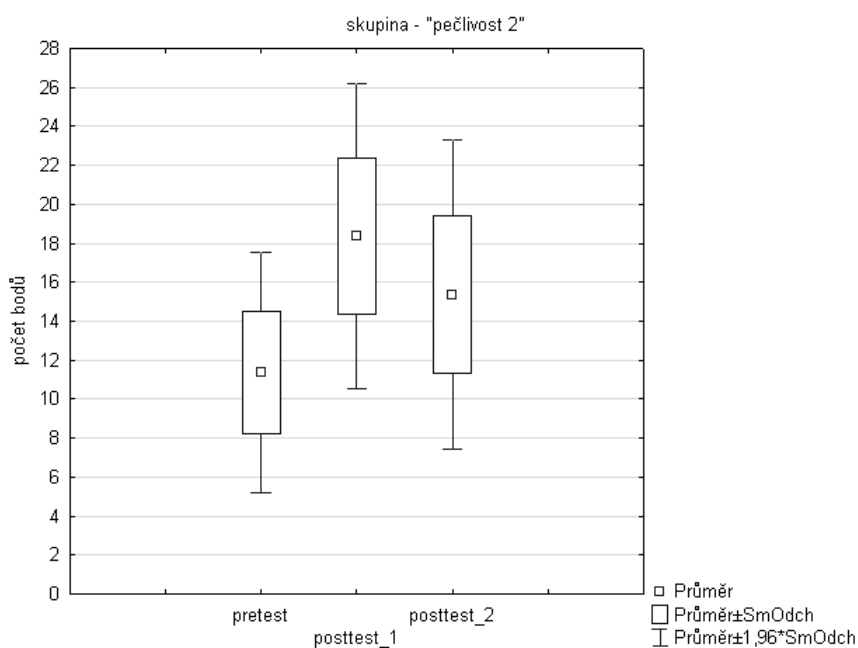
Tabulka 4.9.: Tabulka hodnot skóre v pre-testu, post-testu 1 a post-testu 2 u skupin podle pečlivosti – významnost rozdílů v mediánech mezi skupinami nebyla statisticky testována. Přesto je zřejmé, že nárůst bodů mezi pre-testem a post-testem 1 u skupin 1 („nejpečlivější“) a 2 je výraznější, než u skupiny 3 („nejméně pečlivé“). U skupiny 3 naopak v kontrastu ke skupinám 1 a 2 nenastal pokles průměru bodů mezi post-testem 1 a post-testem 2. (SD – směrodatná odchylka)

skupina		1	2	3
pre-test	průměr	11,00	11,36	10,47
	medián	11,00	11,00	9,00
	minimum	4,00	6,00	6,00
	maximum	19,00	18,00	20,00
	SD	4,76	3,16	3,50
post-test 1	průměr	19,88	18,36	14,41
	medián	20,00	17,50	15,00
	minimum	5,00	11,00	5,00
	maximum	25,00	28,00	21,00
	SD	2,47	3,98	4,56
post-test 2	průměr	16,13	15,36	14,29
	medián	16,00	15,50	14,00
	minimum	5,00	6,00	9,00
	maximum	23,00	23,00	20,00
	SD	4,43	4,05	3,46

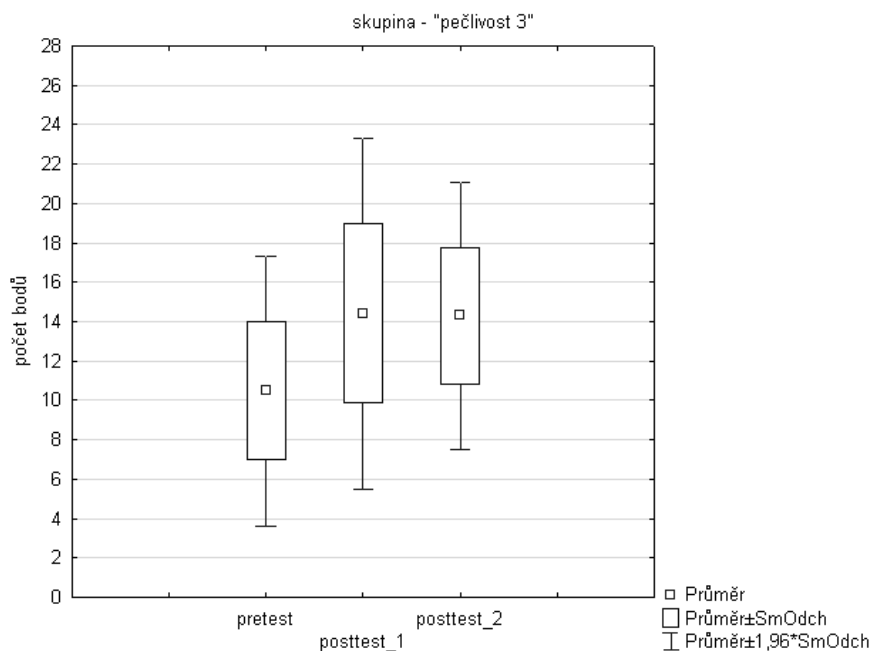
Srovnání změn skóre ve všech testech samostatně pro jednotlivé skupiny 1, 2 a 3 je zobrazeno v krabicových grafech 4.5. – 4.7. Na grafu první skupiny je dobře patrný větší rozsah dosažených bodů (průměr \pm směrodatná odchylka a průměr $\pm 1,96 \times$ směrodatná odchylka) oproti oběma dalším skupinám. Také je vidět, že u poslední skupiny nedošlo mezi post-testem 1 a 2 k tak výraznému poklesu průměrů jako u dvou předcházejících skupin.



Graf 4.5.: Krabicový graf srovnání výsledků v pre-testu a obou post-testech u skupiny „pečlivost 1“ – průměr; průměr ± směrodatná odchylka; průměr ± 1,96 × směrodatná odchylka, n = 16, počet bodů je uveden na ose y (maximum 30b.).



Graf 4.6.: Krabicový graf srovnání výsledků v pre-testu a obou post-testech u skupiny „pečlivost 2“ – průměr; průměr ± směrodatná odchylka; průměr ± 1,96 × směrodatná odchylka; n = 22, počet bodů je uveden na ose y (maximum 30b.).



Graf 4.7.: Krabicový graf srovnání výsledků v pre-testu a obou post-testech u skupiny „pečlivost 3“ – průměr; průměr ± směrodatná odchylka; průměr ± 1,96 × směrodatná odchylka; n = 17, počet bodů je uveden na ose y (maximum 30b.).

Všichni žáci se oproti výchozímu stavu (pre-test) díky expozici ve svých znalostech zlepšili (skóre v post-testu 1) a během následujících šesti týdnů všichni žáci nově nabyté znalosti zapomínali (skóre post-testu 2). Z průměrů uvedených v tabulce 4.9. je vidět, že v post-testu 1 žáci třetí skupiny za ostatními zaostávali, u post-testu 2 není rozdíl průměrů u třech skupin už tak velký. Dalo by se tedy říci, že žáci třetí skupiny nezapomínali tolik jako žáci ostatních skupin. Pravděpodobně proto, že po expozici nebyl jejich nárůst znalostí tak velký jako u pečlivějších skupin.

4.7. Korelační závislosti pro tři skupiny podle pečlivosti

Vliv pečlivosti vyplnění protokolu na výsledky v následných testech byl měřen Spearmanovým korelačním koeficientem (tabulka 4.10.). Značná negativní závislost je patrná ve vztahu rozdělení do skupin (pečlivost) a skóre v post-testu 1. Žáci v testu obdrželi méně bodů, pokud byli ve skupině s vyšším pořadovým číslem (v méně pečlivé skupině). Tato závislost byla dokonce statisticky významná na hladině 0,05. U post-testu 2 je patrná velmi slabá negativní korelace počtu bodů s umístěním ve skupině, avšak už není statisticky významná.

Z hodnot koeficientu uvedených v tabulce dále vyplývá, že rozdělení do skupin velmi slabě pozitivně koreluje se známkou z biologie za poslední dvě pololetí, tedy že žáci s dobrými známkami byli spíše v „pečlivější“ skupině. Poněkud překvapivá je „pouze“ velmi slabá pozitivní vazba mezi rozdělením do skupin a subjektivní oblíbeností biologie (čím raději má žák biologii, tím pečlivěji vyplnil pojmy v protokolu). Velmi vysoká negativní závislost počtu pojmů z protokolu na zařazení do skupiny byla vytvořena uměle roztríděním žáků do skupin. Potvrzuje vhodnost tohoto kritéria.

Tabulka 4.10.: Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu – korelace zařazení do skupiny podle pečlivosti s vybranými hodnotami, zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné na hladině 0,05. Čím vyšší pořadové číslo skupiny podle pečlivosti (1, 2, 3), tím méně pečliví žáci v ní byli zařazení, proto je v testech a protokolu korelační koeficient záporný. Položky „známka“ a „oblíbenost biologie“ byly uváděny na stupnici 1 – 5 vzestupně, proto jsou zde korelace s označením skupiny pozitivní.

	<i>pečlivost</i>
známka	0,076
oblíbenost biologie	0,114
pre-test	-0,073
protokol	-0,946
post-test 1	-0,510
post-test 2	-0,187
mikroskop	-0,023
pohlaví	0,235

Hypotéza, že „žáci, kteří vyplnili protokol pečlivě, dosáhli v post-testech 1 a 2 lepších výsledků než méně pečliví žáci“ byla podpořena na základě hodnot korelačního koeficientu.

Tabulka 4.11. zobrazuje korelace zařazení do skupiny podle pečlivosti a podle přítomnosti mikroskopu s výsledky žáků v testech a protokolu (pojmech). Korelace s pre-testem uvedeny nebyly, protože u pre-testu je bezpředmětné zkoumat vliv přítomnosti mikroskopu (byl přítomen/nepřítomen až později). Korelace skóre v post-testu 1 se zařazením do skupiny podle pečlivosti je vyšší než korelace skóre v post-testu 1 s přítomností mikroskopu, navíc je v prvním případě statisticky významná. Z toho můžeme usuzovat, že pečlivost žáků je významnější faktor ovlivňující úspěšnost

v testech, než přítomnost mikroskopu ve výuce. Z hodnot koeficientu korelace se skóre v post-testu 2 tyto závěry činit nemůžeme, protože ani jedna z hodnot není statisticky významná.

Tabulka 4.11.: Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu – skupiny podle pečlivosti a přítomnost mikroskopu – korelace s dalšími skupinami dat – statisticky významné hodnoty na hladině významnosti 0,05 jsou zvýrazněny

	protokol	post-test 1	post-test 2
pečlivost	-0,946	-0,510	-0,187
mikroskop	-0,080	-0,092	-0,048

4.8. Názor žáků na způsob výuky

V post-testu 2 byli žáci dotazováni na to, jak se jim líbil způsob výuky, kterého se účastnili. Na tuto otázku odpovědělo 49 žáků, z toho jeden zvolil odpověď e – jiné, která není v tabulce 4.12. uvedena. Šest žáků na tuto otázku neodpovídalo, přičemž 5 z nich bylo ze třídy 3B. V této třídě odpověděla na otázku pouze polovina žáků.

Nejvíce žáků (54%) zvolilo odpověď c – je mi to jedno, oboje má jistě své přínosy. Čtvrtina žáků (25 %) byla spokojena se způsobem výuky ve své skupině a zvolila odpověď a – ano, uspořádání, kterého jsem se účastnil/a mi naprosto vyhovovalo, ve druhé skupině bych pracovat nechtěl/a. Osmína žáků (12,5 %) uvedla, že by raději pracovala ve druhé skupině (varianta b), 5,5 % žáků uvedlo, že je výuka vůbec nebavila (varianta d). Počty jednotlivých odpovědí v rámci jedné třídy a skupin S a BEZ jsou uvedeny v tabulce 4.12.

Tabulka 4.12.: Názor žáků na variantu výuky, kterou absolvovali – počet odpovědí podle tříd (G1A, G1B, 1E a 3B) a podle skupin S a BEZ („-“ – tuto odpověď ne zvolil žádný z žáků).

Varianty: 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.

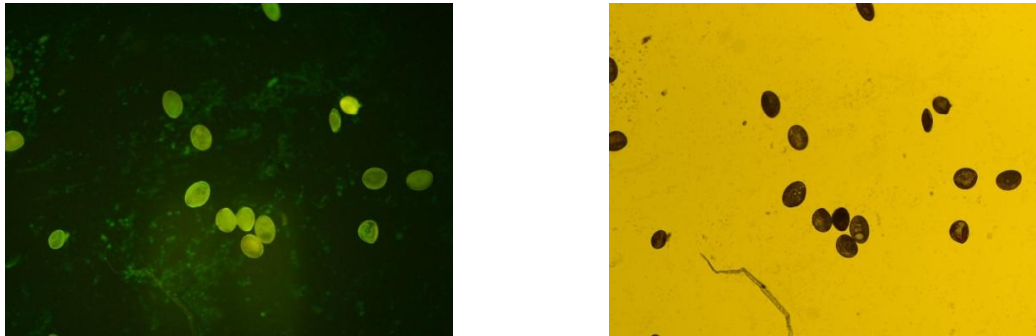
	a	b	c	d	Celkový součet
G1A celkem	3	1	7	2	13
BEZ	-	1	4	1	6
S	3	-	3	1	7
G1B celkem	2	-	12	-	14
BEZ	-	-	7	-	7
S	2	-	5	-	7
1E celkem	6	5	4	1	16
BEZ	-	5	3	-	8
S	6	-	1	1	8
3B celkem	1	-	3	1	5
BEZ	-	-	1	1	2
S	1	-	2	-	3
Celkový součet	12	6	26	4	48

Žáci, kteří volili variantu b (rád/a bych pracoval/a ve druhé skupině), byli ve všech případech ve skupině s výukou s pomocí obrazového materiálu (BEZ). Žáci, kteří zvolili variantu a (způsob výuky mi vyhovoval), se naopak účastnili výhradně výuky s mikroskopem. Z těchto výsledků je možné vyvodit, že všichni žáci by ocenili výuku s mikroskopem, i když více než polovina dotazovaných byla smířena se svou variantou výuky (c – je mi to jedno). Z výsledků není možné zjistit, zda volili variantu c proto, že pochopili princip experimentu a potřebu dvou srovnávacích skupin s rozdílnou variantou výuky, nebo proto, že je jim výuka lhostejná. Vzhledem k tomu, že počet žáků v jednotlivých třídách je nízký a žáci byli uvnitř tříd ještě dělení na dvě skupiny, nebyly tyto výsledky zpracovány statistickým šetřením.

4.9. Média pro montování trvalých preparátů

Voda

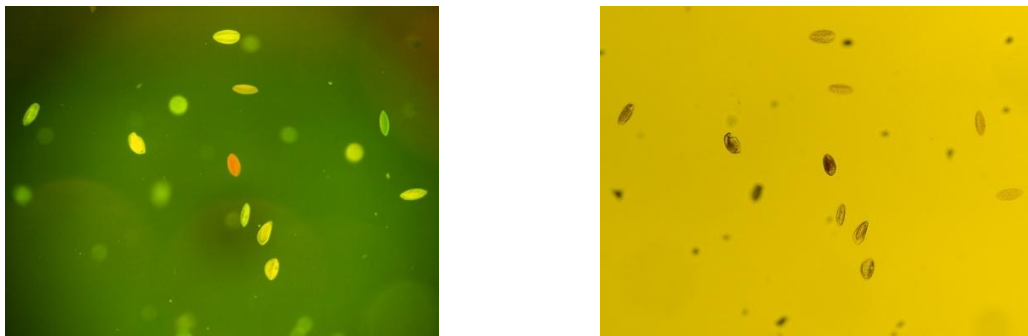
Voda je zde uvedena i přes to, že neslouží k montování trvalých preparátů, protože dochází k jejich vysychání. Jedná se o nejpoužívanější a běžně dostupné médium bez vlastní autofluorescence, takže vznikající obraz není rušen (obrázek 4.1.). Používá se k přípravě dočasných preparátů.



Obrázek 4.1.: pyl lilie, médium: voda; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

Kanadský balzám

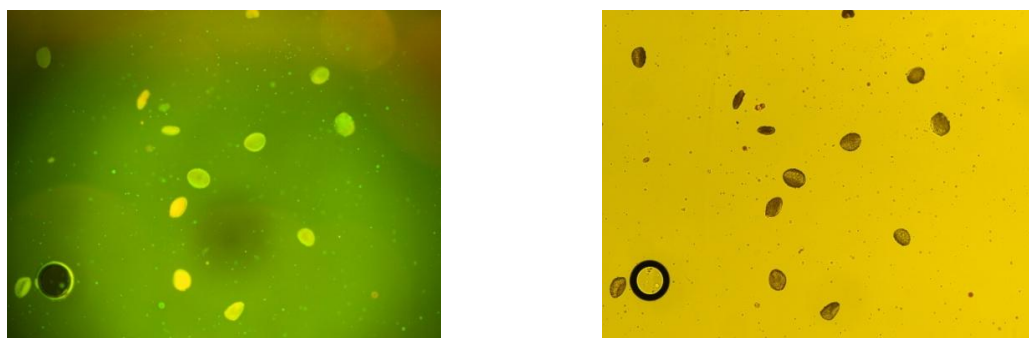
Kanadský balzám je přírodní produkt na bázi pryskyřice s variabilním složením (Merck, 2013). Z tohoto důvodu část starších vypůjčených preparátů vykazovala vlastní fluorescenci. Novější preparáty montované do kanadského balzámu tuto fluorescenci vykazovaly v menší míře (viz obrázek 4.2.), takže ve výsledném obrazu nebyl příliš rušen vlastní signál preparátu. Na obrázku je dále vidět, že došlo k deformaci pylových zrn lilie, pravděpodobně působením xylenu, který se používá jako rozpouštědlo na ředění balzámu.



Obrázek 4.2.: pyl lilie, médium: kanadský balzám; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

Glycerol-želatina

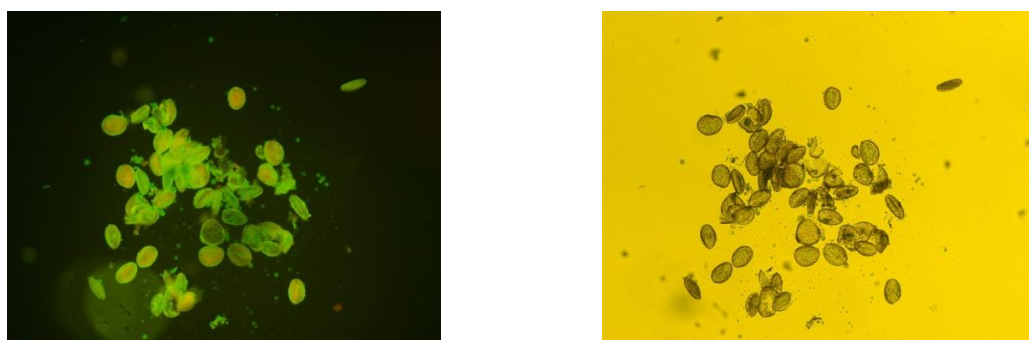
Glycerol-želatina vykazuje žlutozelenou autofluorescenci (viz obrázek 4.3.). Vzhledem k tomu, že většina preparátů živočišného původu (srst, peří, šupiny,...) má autofluorescenci ve světle žluté části spektra a rostlinný materiál obsahující chlorofyl časem bledne, je bezpředmětné vytvářet s tímto médiem trvalé preparáty pro využití ve fluorescenčním mikroskopu.



Obrázek 4.3.: pyl lilie, médium: glycerol-želatina; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

CMCP 10

Toto médium nevykazuje autofluorescenci a manipulace s ním je jednoduchá. Bezprostředně po vytvoření preparátu je navíc objekt projasněn, takže vznikající obraz je velice působivý (viz obrázek 4.4.).

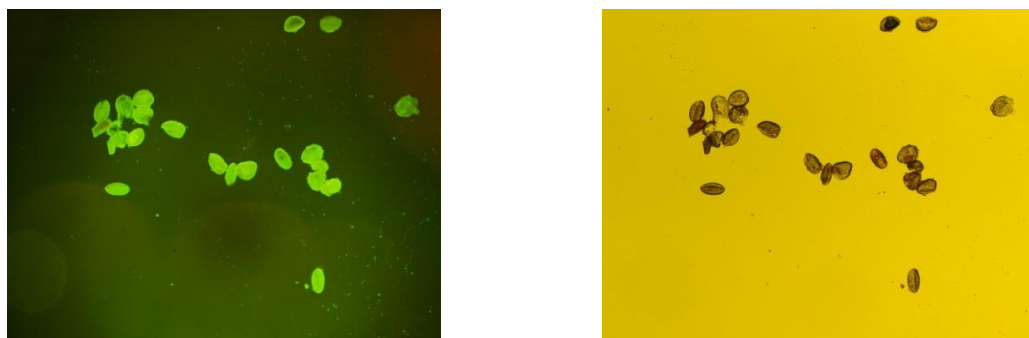


Obrázek 4.4.: pyl lilie, médium: CMCP 10; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

Mowiol

Mowiol nevykazuje autofluorescenci (viz obrázek 4.5.). Nevýhodou je, že se musí skladovat v lednici, aby nedocházelo k rozkladu naředěného média. Skladování může být

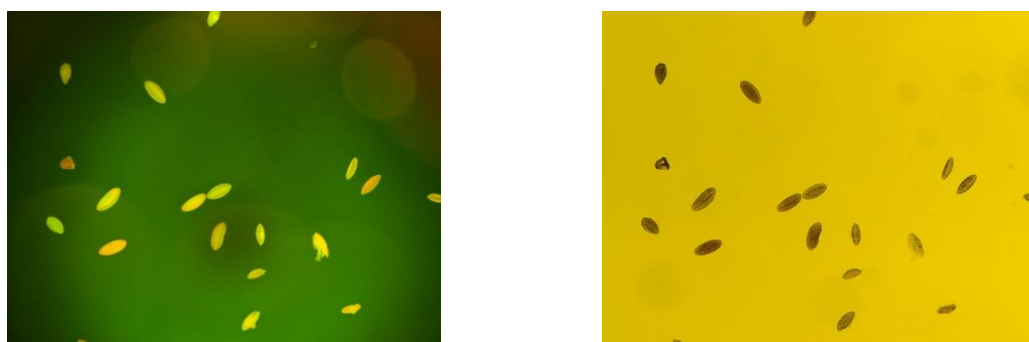
ve škole problém. Preparáty je navíc lepší uchovávat ve vodorovné poloze, aby nedocházelo ke stékání média, což může být také omezující.



Obrázek 4.5.: pyl lilie, médium: mowiol; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

Solakryl

Solakryl je roztok akrylátové pryskyřice v xylenu (Draslovka, 2013). V tomto roztoku dochází k dehydrataci objektů po vložení do média a jejich následné deformaci (viz obrázek 4.6.). Práce s ním je podobná jako u kanadského balzámu, včetně odvodňovací řady a ředění xylenem. Jeho nevýhody jsou tedy podobné, týkají se hlavně odbarvení objektů s nutností dalšího barvení. Na rozdíl od kanadského balzámu ale nevykazuje autofluorescenci.



Obrázek 4.6.: pyl lilie, médium: solakryl; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

Liquido Fauré

Vzhledem k tomu, že k výrobě tohoto média se využívá arabská klovatina – pryskyřice akácie, vykazuje Liquido Fauré autofluorescenci (viz obrázek 4.7.). Není proto vhodné pro využití ve fluorescenční mikroskopii.



Obrázek 4.7.: pyl lilie, médium: **Liquido Fauré**; 10×10 – fluorescenční (vlevo) a optický mikroskop (vpravo)

4.10. Sada trvalých preparátů

Jako součást této diplomové práce vznikla také sada trvalých preparátů montovaných v médiu CMCP 10. Bylo zvoleno pro své vhodné vlastnosti – nemá autofluorescenci a manipulace s ním je relativně jednoduchá, při dodržení bezpečnosti práce (větrání). Preparáty byly vytvořeny jako doplněk k putovnímu fluorescenčnímu mikroskopu. Vzniklo celkem 67 trvalých preparátů tematicky pokrývajících širokou škálu učiva od řezů rostlin po bezobratlé či tělní pokrýv obratlovců. Do závěrečného výběru zůstalo 54 trvalých preparátů, které byly nejvhodnější z hlediska názornosti a provedení.

Ne všechny preparáty mají vlastní fluorescenci. Mezi ty, které lze použít bez dalšího barvení, patří zelené části rostlin (chlorofyl svítí po osvětlení modrým excitačním světlem, tj. 480 nm, červeně) nebo části obsahující pryskyřici. Z preparátů živočišného původu fluoreskuje keratin a chitin, proto se jako objekty osvědčily tělní pokrývy obratlovců (peří, srst, chlupy, vlasy) a bezobratlí živočichové s kutikulou. Keratin a chitin fluoreskují světle žlutě, u těchto preparátů je důležité dobře zvolit montovací médium, které nevykazuje pokud možno žádnou vlastní fluorescenci (která bývá většinou také ve žluté oblasti spektra). Chitinové struktury jsou navíc nesmáčivé, takže je pohodlnější použít jiné médium než vodu (např. CMCP 10). Ve školních podmínkách je ale i voda použitelná.

Rostlinná barviva se časem rozkládají a tím dochází k postupnému vyhasnutí fluorescence. V trvalých preparátech pak fluoreskuje už jen kostra rostlinného pletiva – buněčné stěny – z polysacharidů (světle žlutě). Z tohoto důvodu je lepší si pro výuku vytvořit čerstvé dočasné preparáty.

4.11. Fotogalerie

Fotogalerie, která vznikla jako jeden z výstupů této práce, může jednak sloužit jako doplněk k výuce s putovním fluorescenčním mikroskopem, může být ale použita i samostatně jako motivační prvek (natur.cuni, 2013a). Výhodná je hlavně u rostlinných preparátů, které časem blednou, takže trvalé preparáty už nefluoreskují tak, jako při vzniku a několik dnů poté. V zimním období může být dobrou ukázkou preparátů z volně žijících rostlin, které tou dobou nejsou dostupné.

Fotografie slouží také jako ukázka toho, co je možné v putovním fluorescenčním mikroskopu vidět. Mohou být pro středoškolské učitele motivací k výpůjčce mikroskopu.

Fotografie byly tematicky rozděleny do sedmi alb podle zobrazovaných objektů, aby bylo možno je lépe využívat ve výuce. Kromě online zobrazení na internetových stránkách (natur.cuni, 2013a) byly vytvořeny i ukázkové prezentace ke stažení ve formátu ppt a pdf, aby bylo možné při výuce pracovat i offline (natur.cuni, 2013b). Do těchto prezentací nebyly kvůli výsledné velikosti souborů zahrnuty všechny snímky. Navíc byla vytvořena ještě prezentace s náhodným výběrem fotografií pouze pod modrým světlem s maximem ve 480 nm.

4.12. Výukové materiály

Vzhledem k tomu, že učivo „Rostlinná anatomie“ nebylo v době probíhání výzkumu v žádné ze tříd vyučováno, práce žákům trvala déle, než bylo původně plánováno. Z tohoto důvodu bylo z výuky vyřazeno téma „Rostlinné chlupy“. Ostatní části byly ponechány v původním znění. Navíc pro téma „Stavba listu“ byly žákům k dispozici obrázky řezů listem buku a jehlicí borovice s popisky (Příloha 4 v kapitole 8.4.; Slavíková, 2002). Záměrně nebyly vybrány tytéž rostliny, které žáci pozorovali ve skutečnosti, aby se předešlo prostému obkreslování z obrázku. I přes počáteční varování, že jehlice smrku a borovice se liší, se našlo několik žáků, kteří měli nakreslenou borovici. Obrazový materiál s fotografiemi z fluorescenčního mikroskopu nakonec používali jen žáci ze skupiny „BEZ“, v materiálech pro skupinu „S“ byly jen fotografie na téma „Rostlinné chlupy“. Pro vyvěšení na internet byl vytvořen materiál obsahující pouze fotografie rostlinných chlupů. Byl vytvořen ve formátu ppt a pdf, aby bylo možné jej promítat projektorem a nebylo potřeba jej tisknout, protože barevný tisk nemusí být na všech školách dostupný.

Ve vyučovaném tématu „Stavba listu“ největší potíže žákům způsobovala právě výše zmíněná neznalost tématu z předchozích vyučovacích hodin. I přes předloženou nápovědu měli problém obrázky popsat. Na Gymnáziu Omská mají navíc dané paralelky praktická cvičení jen jednou za měsíc, takže žáci ještě neměli dostatek předchozích zkušeností s prací s mikroskopem. Zřejmě proto žáci tříd OM1A a OM1B často chybovali v uvedeném zvětšení nákresu, když místo zvětšení uváděli účinnou světelnost objektivů.

Vzhledem k tomu, že praktická cvičení pro výzkumné šetření byla koncipována jinak, než jak by bylo v běžné výuce ideální, realizované časové rozvržení nemohlo být použito do metodických pokynů pro učitele. Z tohoto důvodu jsou uvedené časy pouze orientační. Realitě odpovídá pouze časové rozvržení pro prezentaci, která byla vyučována tak, jak by to bylo možné i v běžné výuce. Doporučovala bych jí ale spíše zařadit do běžné vyučovací hodiny, aby neubírala čas v praktických cvičeních a také aby vyučující mohl dané téma vyložit jen jednou a případně i spotřebovat méně chemikálií používaných v demonstračních pokusech.

Z času vyhrazeného pro praktická cvičení (90 minut) byla část využita na vyplňování post-testu 1, který v běžné výuce také nebude zařazen (cca 15 minut). Pro samotné pozorování pod mikroskopem a vyplňování úloh tak zbylo každému žákovi zhruba 45 minut.

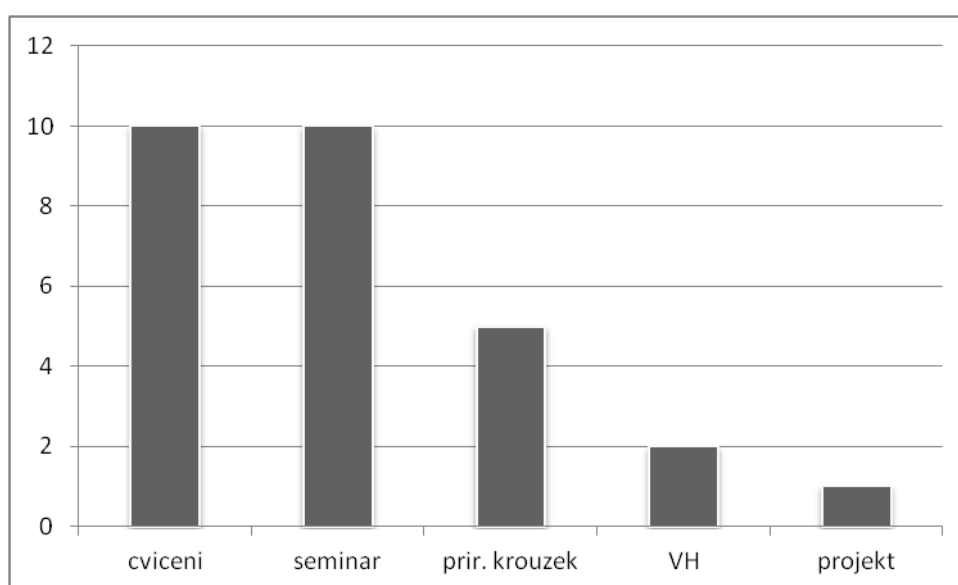
Úlohy v tématu „Stavba listu“ byly koncipovány spíše jako „klasické“ pozorování preparátů s nákresem, s důrazem kladeným na správné provedení nákresu (tužkou, zvětšení, dostatek popisek). Téma „Rostlinné chlupy“ bylo obohaceno o práci s textem a obrazovou přílohou. Dále byly zařazeny i úlohy k zamyšlení na úkor těch „pozorovacích“.

4.13. Dotazníkové šetření učitelů

Toto dotazníkové šetření podává informace o spokojenosti učitelů s organizací a funkčností výpůjčního systému putovního fluorescenčního mikroskopu v roce 2010. Předběžné odhady výsledků (hlavně připomínek) byly velkou inspirací pro vytvoření návodů na praktická cvičení a sady preparátů, což je náplní mé diplomové práce. Dotazníky (Příloha 11 v kapitole 8.11.) sestavila a k zpracování poskytla RNDr. V. Janštová. Dotazník vyplnilo 21 učitelů z 20 různých škol z celé republiky.

Učitelé byli prostřednictvím dotazníků otázeni na množství žáků, kteří se výuky s mikroskopem účastnili, dále pak na připomínky k organizaci či návrhy na zlepšení.

Počet žáků, kteří se na jednotlivých školách výuky s mikroskopem zúčastnili, se lišil. Záleželo na organizaci výuky, kterou daný vyučující zvolil. Na 20 školách se s mikroskopem setkalo na 1380 žáků. Nejčastěji vyučující využili mikroskop během běžně rozvrhovaných praktických cvičení či seminářů, jiní pořádali praktika jako mimořádná, umožňující účast žáků napříč ročníky. Objevilo se i využití během přírodovědných kroužků. Kolikrát učitelé zmínili jednotlivé typy výuky, je zobrazeno v grafu 4.8.



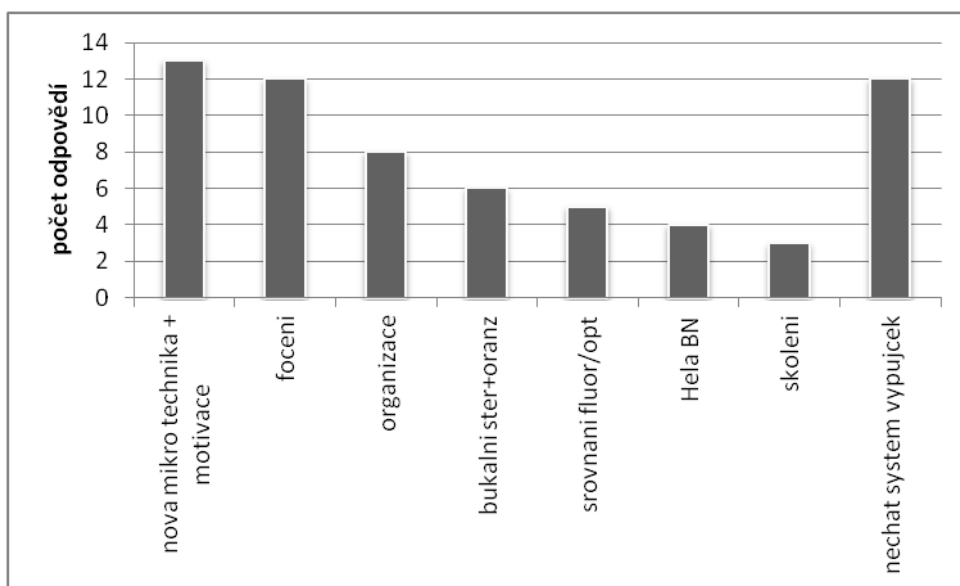
Graf 4.8.: Četnost zmíněných vyučovacích jednotek, ve kterých byl použit mikroskop (cviceni – pravidelně rozvrhované praktické cvičení, seminar – volitelný seminář, prir. krouzek – přírodovědný kroužek, VH – vyučovací hodina). Počet vyučujících, kteří vyučovanou jednotku uvedli, je vyneseno na ose y. Někteří učitelé současně používali více forem výuky, proto je celkový součet zmíněných jednotek vyšší, než celkový počet respondentů (21).

Vyučující na mikroskopu ocenili hlavně možnost představit žákům nové a pro ně neobvyklé technické zařízení. Dále pak možnost fotografovat preparáty díky připojenému fotoaparátu. Nejčastěji postrádali tipy na praktická cvičení a podrobné návody pro vytváření preparátů. Někteřím učitelům chyběla sada trvalých preparátů, které by se daly pro výuku použít. Většinou to bylo z důvodu ušetření času pro výrobu vlastních preparátů. S mikroskopem je k dispozici návod a sada na barvení bukálního stěru akridinovou oranží. Dále několik preparátů He-La buněk barvených fluorescenčními barvivy (DAPI

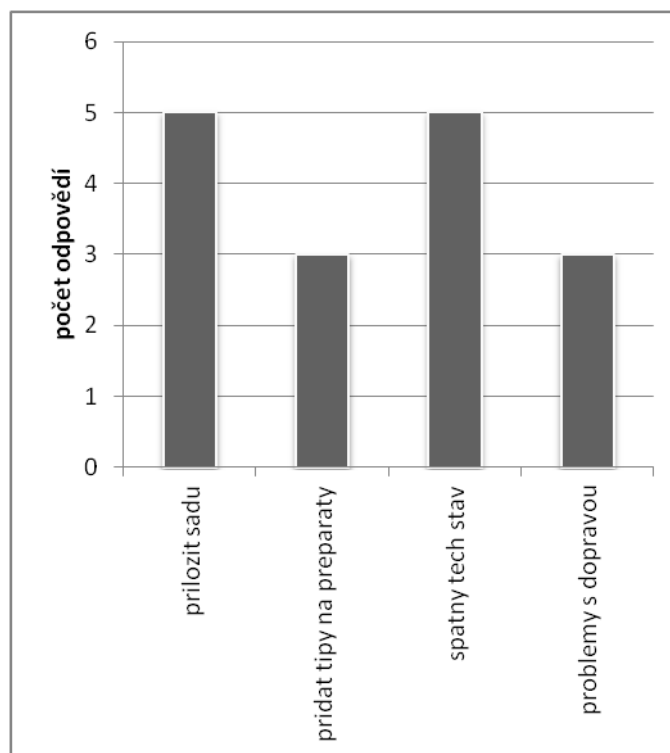
a phalloidin), které se ale během několika dnů až týdnů vysvěčují. Na to si učitelé také stěžovali.

Negativně vnímali hlavně situace, kdy měl mikroskop nějaké technické problémy – například byl špatně seřízen, nebo kdy se z nějakého důvodu zdržela předávka mikroskopu na jejich školu a oni pak měli pro práci s ním méně času.

Na organizaci oceňovali vstřícnost RNDr. Janštové a pohodlnou organizaci výpůjček pomocí elektronického kalendáře. Někteří vnímali předávání mikroskopu ze školy na školu pozitivně, jiní (třeba kvůli problémům se vzdáleností) by naopak ocenili změnu ve způsobu předání. Více než polovina dotazovaných by ale organizaci ponechala v současném stavu. Četnost jednotlivých pozitivních a negativních ohlasů je zobrazena v grafech 4.9. a 4.10. Ty položky, které byly označeny méně než třemi učiteli, nebyly do grafu zahrnuty.



Graf 4.9.: Četnost pozitivních hodnocení zmíněných v dotazníku: klady a pozitivní ohlasy, na ose x jsou uvedeny jednotlivé kategorie, na ose y počet odpovědí.



Graf 4.10.: Četnost připomínek k půjčování mikroskopu zmíněných v dotazníku: na ose x jsou uvedeny jednotlivé kategorie – negativa (špatný technický stav, problémy s dopravou) a tipy na zlepšení (přiložit sadu, přidat tipy na preparáty), na ose y je uveden počet odpovědí.

5. Diskuse

V každém výzkumu je v první řadě důležitá kvalita vstupních dat. Zpracování a interpretace výsledků se odvíjí až od nich. Z toho důvodu začnu kapitolu nejprve diskusí metodiky a jejich případných úskalí a výsledky rozeberu jako druhé v pořadí. Na závěr uvedu ještě doporučení pro použití materiálů vytvořených během vzniku této práce.

5.1. Diskuse použité metodiky

Žáci byli rozdělováni do skupin podle několika kritérií. Aby bylo možné jednotlivé skupiny porovnávat, bylo by ideální dodržovat některé podmínky. Žáci by měli být stejně staří a všechny skupiny by měly mít přibližně stejný počet členů. Aby se minimalizoval vliv odlišných stylů výuky, bylo by ideální, kdyby žáky vyučoval jeden stejný učitel, navštěvovali stejnou školu a stejný typ studia. Tato pravidla jsem se snažila dodržet v maximální možné míře, i když jsem v některých částech musela od ideálního uspořádání trochu ustoupit, aby se mi podařilo sehnat dostatek tříd a žáků.

Všichni žáci navštěvovali první ročníky, bylo jim tedy kolem šestnácti let. Obě zúčastněné školy byla gymnázia v Praze. Na Gymnáziu Omská byl pro obě třídy stejný vyučující, na Gymnáziu Na Vítězné Pláni měla každá ze tříd jiného vyučujícího. Skupiny podle rozdílných podmínek výuky (s mikroskopem a bez) byly vytvořeny půlením každé třídy, takže ve výsledku byli v každé skupině žáci vyučovaní všemi učiteli a očekávaný počet žáků v každé skupině byl srovnatelný. Tři třídy byly první ročníky čtyřletého gymnázia, zatímco zbývající třída byla třetí ročník šestiletého cyklu. Tato třída se tedy potenciálně může lišit přístupem k učení a výuce a vztahy s vyučujícím, protože na rozdíl od prvních ročníků pro ni není vše „nové“. V každé škole byl také jiný počet pravidelných praktických cvičení (Gymnázium Omská jednou za čtyři týdny, Gymnázium Na Vítězné Pláni jednou za dva týdny). Tento rozdíl byl patrný hlavně na Omské, kdy žáci v době probíhání experimentu měli ještě málo zkušeností s používáním mikroskopu a vyžadovali větší asistenci.

Výuce v obou hlavních skupinách (S a BEZ) byl věnován stejný čas (90 minut), i ostatní vybavení učeben bylo vždy pro všechny skupiny v rámci jedné školy stejné. Výuka se lišila pouze přítomností, či nepřítomností mikroskopu. Stejným způsobem byl prováděn i experiment realizovaný kolektivem autorů Dalgarno et al. (2009), ve kterém

studenti strávili stejný čas poznáváním laboratoře, avšak jedna skupina virtuálně a druhá reálně. Obě skupiny dosahovaly srovnatelných výsledků z hlediska jejich znalostí ohledně umístění a použití pomůcek v reálné laboratoři. Vzhledem k tomu, že se jednalo o skupinu distančních studentů, byla možnost s virtuální laboratoří vnímána jako přínosnější z hlediska úspory času studentů. Jako další možnost se nabízelo uspořádání výuky podobným způsobem, jako provedli Casado et al. (2012). V tomto případě experimentální skupina shlédla před pitvami video, aby se ukázalo, zda příprava před výukou odstraňuje obavy studentů. Studenti tedy trávili používáním nové metody čas navíc. Tento způsob jsem nezvolila, protože by bylo složité ho v rozvrzích jednotlivých tříd uspokojivě realizovat. Navíc je otázka, jestli by pak byly obě skupiny srovnatelné z hlediska znalostí, které jsem zkoumala, když by jedna z nich věnovala stejné činnosti více času.

Jako výzkumný nástroj jsem použila sadu testů – pre-test, post-test 1 a post-test 2 – otázky jsem vytvářela sama. Dotazníky byly anonymní, aby žáci uváděli co nejvíce odpovědí pravdivě a bez obav, že případné nesprávné výsledky budou přiřazeny jim (Çimer, 2012). Aby bylo možné jednotlivé testy přiřadit k jednomu žákovi, byly použity individuální kódy, které zachovávaly anonymitu. Určitý problém nastával při časových odstupech, kdy žáci své kódy zapomínali i přes to, že byli upozorněni, že je budou potřebovat opakovaně, dokud jim nebude sděleno definitivní skončení experimentu. V tomto směru se tedy vyskytly nedostatky, které by bylo možné snadno odstranit například zapsáním kódů ke jménům do zapečetěné obálky, která by byla otevřena jen v případě zapomenutí kódu.

Sběr dat je poměrně často uskutečňován ve formě dvou testů – pre-testu, post-testu (např. Casado et al., 2012; Dalgarno et al., 2009; Scoville et Buskirk, 2007), pak je ale post-test řazen několik dní po expozici. Vzhledem k tomu, že jsem nechtěla narušovat běžnou výuku žáků tolikrát, přiklonila jsem se nakonec k tomu, že jsem post-test 1, zkoumající vliv expozice na krátkodobou paměť, zařadila hned na konec praktických cvičení.

Uspořádání se dvěma post-testy se používá při zkoumání dlouhodobého efektu výuky na žáky. V mém případě byla časové prodleva mezi post-testy (5 – 7 týdnů). Byla zvolena ve shodě se studií Randler et Bogner (2006), avšak bylo přihlédnuto k rozvrhu jednotlivých skupin. Proto se výsledný časový odstup liší. V případě výše zmíněné studie

byl odstup 6 – 8 týdnů. Výsledky post-testu 1 byly v této studii využity pouze pro potřeby klasifikace, zatímco v mém případě sloužily k hodnocení krátkodobého efektu výuky.

Vzhledem k tomu, že část testující vědomosti byla u všech třech testů totožná, otázkou může být, zda si žáci otázky nemohli mezi jednotlivými testy už pamatovat. Správné odpovědi byly žákům sděleny až po posledním testu a nepředpokládala jsem, že by si je žáci mezi jednotlivými testy sami dohledávali, protože ani jeden z testů nebyl předem ohlášen ani známkován.

5.2. Diskuse výsledků

Výsledky této práce ukazují, že obě zvolené metody výuky jsou z hlediska získaných znalostí žáků srovnatelné. I když se nepodařilo prokázat signifikantní rozdíly v post-testu 1 ani v post-testu 2 mezi skupinami, nelze práci uzavřít s tím, že obě pojetí jsou ve výsledku zcela stejná. Můžeme například poukázat na to, že sami studenti si žádají zařazování zajímavých pomůcek do hodin a věří, že tyto novinky pomohou zvýšit jejich motivaci a zájem o předmět (Čimer, 2012). Toto hledisko v experimentu zkoumáno nebylo, nemůžete tedy vyloučit, že motivace a/nebo zájem studentů byly různé. To, že zařazování skutečností a pomůcek používaných v běžném životě má na vztah žáků k biologii pozitivní vliv, ukázaly například studie Prokop et al. (2007); Hunt (2007). Může se také stát, že výhody nové metody převáží v některém směru to, že jinak jsou výsledky žáků srovnatelné a nová metoda je do výuky zařazena. Šetří například čas učitelů při přípravě výuky, nebo umožňuje používat méně materiálu či ho méně často nahrazovat novým (Dalgarno et al., 2009). Také je možné, že počet žáků (26 ve skupině S a 26 ve skupině BEZ) byl příliš nízký na to, aby neparametrické testy prokázaly rozdíl. Při větším počtu respondentů lze lépe odhalit i menší rozdíly, které takto zůstanou skryty za nízkým počtem výskytů.

Žáci mohli být ovlivňováni i jinými faktory, než je rozdílný způsob výuky, který byl realizován. V této práci byl z možných dalších faktorů zkoumán vliv pečlivosti žáků na jejich znalosti (testováno post-testy). Korelace výsledků v obou post-testech byla u žáků rozdělených podle pečlivosti větší než korelace výsledků žáků rozdělených podle přítomnosti mikroskopu. Z toho je možné usuzovat, že vlastnosti žáka, jako je pečlivost, vztah k předmětu nebo studijní schopnosti mají na jeho výsledky větší vliv, než drobná změna vnějších podmínek. Zda je pečlivost žáků podpořena jejich větší motivací či lepšími studijními schopnostmi, nebo ještě něčím dalším dále zkoumáno nebylo. Žáci ve všech

skupinách se po expozici zlepšili ve svých výsledcích. Pokles znalostí vlivem zapomínání byl nejnižší u nejméně pečlivé skupiny (skupina 3). Z grafů 4.5. – 4.7. v kapitole 4.6. je patrné, že žáci třetí skupiny nedosáhli po expozici tak dobrých výsledků jako žáci v ostatních skupinách. Dalo by se tedy říci, že nemohli zapomenout tolik nově nabytých znalostí proto, že jich v průběhu expozice tolik nezískali.

Při prověřování vlivu dalších faktorů se ukázalo, že na výsledky má vliv i pohlaví. Ve shodě s Prokop et al. (2007) měli chlapci horší výsledky než dívky ve všech testech. Při dělení žáků podle pečlivosti se pak ukázalo, že chlapci byli spíše v méně pečlivé skupině. Je však možné, že to nebylo ovlivněno jejich zájmem o biologii či studijními schopnostmi, ale tím, že body byly udělovány za popisky v nákresech. Čím lepší nákres byl, tím více popisků do něj žáci dokázali umístit. Hodnota korelačního faktoru ukázala, že chlapci měli za nákres signifikantně méně bodů, než dívky. Tato metoda ale nepočítá s tím, že někteří žáci kreslí neradi a nedělají to proto příliš pečlivě, což by mohl být právě případ chlapců. Tuto teorii může podpořit i fakt, že v post-testu 1, který expozici bezprostředně následoval, chlapci sice vykazovali horší výsledky než dívky, ale závislost byla jen velmi nízká a nebyla statisticky významná.

Vliv známky z biologie na výsledky v testech nebyl prokazatelný, což mohlo být ovlivněno tím, že žáci většinou uváděli jedničky (průměr byl 1,46). Pre-test byl totiž zadáván před koncem prvního pololetí a známky na vysvědčení uvedené v testu tak odpovídaly známkám ze základní školy (s výjimkou třídy šestiletého cyklu). Variabilita známek nebyla velká, protože hodně žáků bylo na gymnázium přijato se samými jedničkami. Oblíbenost biologie i přes poměrně pěkné známky na vysvědčení byla nižší, než jsem očekávala (průměr 2,62 na pěti bodové škále, kde 1 je nejoblíbenější a 5 nejméně oblíbená), ale ani tato skutečnost se neprojevila jako faktor výrazně ovlivňující výsledky.

Dalším faktorem by mohl být i vztah k učiteli, který ale nebyl zkoumán v testech. Osobnost učitele totiž může ovlivňovat motivaci žáků k učení a zájmu o předmět (Hsu et Roth, 2009). Vzhledem k tomu, že výuku nové látky s použitím fluorescence jsem vedla osobně, mohla být tato složka motivace ovlivněna, protože jsem cizí osoba a žáci na mne nejsou zvyklí. Ovlivnit je mohl i postoj učitele ke koncepci experimentu a jeho průběhu. Výzkum, který proběhl v Kanadě, ukázal, že žáci často přejímají názory prezentované

učitelem. Pokud je zaujatý a motivovaný, žáci často používají jako důvod, proč je něco baví, stejná slova, jako použil učitel (Hsu et Roth, 2009).

Ve třídě 1E vyučující zaujala kladný postoj k tomu, že polovina třídy mikroskop uvidí, zatímco druhá polovina ne. I když žáky z počátku toto rozdělení mrzelo, společně jsme jim vysvětlili, jak experiment probíhá a proč je důležité skupinu bez mikroskopu mít. Vyučující pak žáky ujistila, že obrazové materiály jsou velice zdařilé a žáci ze skupiny BEZ nebudou ochuzeni o hezké obrázky. Žáci ve skupině S pak většinou uváděli, že jsou s výukou spokojeni, ve skupině BEZ žáci zhruba z poloviny spokojeni nebyli, druhá polovina zvolila variantu c – je mi to jedno, oboje má své přínosy (tabulka 4.12, kapitola 4.8.). Jejich volba byla pochopitelná, vzhledem k tomu, že většinou chtěli vidět mikroskop, ale část žáků volila smířenou neutrální odpověď c.

Vyučující třídy 3B nebyla příliš nadšená z uspořádání experimentu, protože nechtěla druhou polovinu třídy ochudit o zážitek z mikroskopu. Bohužel jsme to řešily přímo před třídou, takže žáci z našeho rozhovoru zřejmě nabyli dojmu, že jedna polovina třídy může být o něco ochuzena. To se mohlo odrazit na počáteční motivaci žáků a částečně to lze vyčíst z tabulky 4.12. v kapitole 4.8. Zatím co ve třídě 1E odpovídali na otázku ohledně uspořádání výuky všichni, ve třídě 3B to byla polovina, ostatní žáci tuto otázku vynechali.

Vyučující zbylých tříd nechala způsob provedení experimentu před žáky bez komentáře a celý průběh nechala zcela v mé režii. Zřejmě si nevytvořila k mé práci nijak zvlášť vyhraněný postoj, protože průběh práce nekomentovala ani později mimo třídu. Žáci v jejích třídách volili většinou variantu c, která je neutrální. Vzhledem k tomu, že počet žáků v jednotlivých třídách byl nízký a žáci v nich ještě byli rozděleni na dvě skupiny, není možné tyto závěry více zobecňovat. Určitý vliv motivace učitelem lze však ve výsledcích pozorovat.

5.3. Možné aplikace v praxi

Studijní materiály a sada preparátů k putovnímu fluorescenčnímu mikroskopu byly často žádané učiteli v dotaznících. Z toho důvodu předpokládám, že po zpřístupnění budou využívány.

Jistou nevýhodou těchto materiálů je, že u nich není uvedena přesná časová dotace, vzhledem k tomu, že nebyly vyučovány samostatně. V hodině byl zařazen motivační úvod (který bych doporučila umístit do běžné vyučovací hodiny) a post-test 1. K úvodu do tématu byla vytvořena prezentace s demonstračními pokusy. Právě tyto pokusy se z mého pohledu osvědčily jako motivační prvek v úvodní části hodiny. Žáci byli velice zaujatí průběhem pokusů a měli hodně zvědavých otázek.

Fotogalerie může mikroskop ve výuce nahradit, pokud není možné ho vypůjčit přímo do školy. Žáci sice přijdou o možnost si na neobvyklý přístroj sáhnout a vyzkoušet si manipulaci s ním, ale neobvyklá barevnost zobrazení je může zaujmout a motivovat i v této formě. Obrázky mohou pomoci k ztraktivnější výuce (Çimer, 2012), což se ale může projevit spíše v motivaci studentů, která nebyla zkoumána.

6. Závěr

Ve své diplomové práci jsem zkoumala vliv zařazení netradiční pomůcky (fluorescenčního mikroskopu) do výuky na znalosti žáků. Výzkumu se účastnili žáci třech tříd prvního ročníku čtyřletého gymnázia a jedna třída odpovídajícího ročníku víceletého gymnázia. Ze vzorku 102 žáků bylo pro vyhodnocení vybráno 55. Vzhledem k velikosti vzorku nelze výsledky zcela zobecňovat.

Výchozí znalosti žáků, testované v pre-testu, v obou skupinách („S“ mikroskopem a „BEZ“) byly srovnatelné. Na konci experimentu se ukázalo, že žáci obou skupin dosahovali i v obou následných post-testech srovnatelných výsledků. V obou skupinách došlo k signifikantnímu zlepšení jejich znalostí. Při měření poklesu znalostí mezi post-testy procesem zapomínání se ukázalo, že žáci ve skupině S zapomínali své znalosti méně, než žáci ze skupiny BEZ. Pokles znalostí u skupiny BEZ byl signifikantní, zatímco u skupiny S nikoliv.

Korelační faktor ukázal, že na znalosti žáků nemělo uspořádání výuky z hlediska přítomnosti mikroskopu tak velký vliv, jak jsem předpokládala. Je možné, že mohl spíše ovlivnit motivaci žáků, která ale nebyla zkoumána. Vyšlo najevo, že pečlivost s jakou žáci vytvořili nákresy preparátů během expozice, ovlivnila jejich znalosti více. Čím pečlivěji žáci nákresy vyhotovili, tím více bodů v obou post-testech získali. Tato závislost se ukázala být signifikantní na hladině významnosti 0,05. Pečlivost žáků mohla být ovlivněna dalšími faktory, které nebyly měřeny.

Dále bylo zjištěno, že výsledky žáků ovlivňuje pohlaví. Chlapci dosáhli v post-testu 2 signifikantně horších výsledků než dívky, stejně tomu bylo i u známky na vysvědčení.

Výsledky naznačují, že osobnost učitele je další faktor, který má vliv na žáky z hlediska jejich motivace a spokojenosti s průběhem výuky. Tento vliv ale nebyl testován statisticky.

Souhrnně lze říci, že žáci během obou způsobů výuky získali nové vědomosti a jejich znalosti byly vyšší, než na začátku experimentu. Očekávaný vliv přítomnosti mikroskopu na znalosti žáků se nepodařilo prokázat. Rozdíl mezi oběma skupinami mohl být tak malý,

že se v nízkém počtu respondentů neprojevil. Větší vliv na výsledky žáků měla jejich pečlivost.

Cíle, které jsem si vytyčila na začátku práce, byly splněny. Vznikl výukový materiál v podobě pracovních listů (včetně metodických pokynů pro učitele), výukové prezentace, sady trvalých preparátů a fotogalerie. Všechny elektronické materiály jsou dostupné volně ke stažení na internetu.

První hypotéza stanovená na začátku práce: „Žáci, kteří se zúčastnili vyučovací jednotky s putovním fluorescenčním mikroskopem, dosáhli v následném testu znalostí lepších výsledků než žáci, kteří absolvovali vyučovací hodinu bez mikroskopu.“ nebyla prokázána. Žáci obou skupin dosahovali po celou dobu experimentu srovnatelných výsledků.

Druhá hypotéza: „Žáci, kteří se zúčastnili vyučovací hodiny s putovním fluorescenčním mikroskopem, zapomínali získané znalosti pomaleji než žáci, kteří absolvovali vyučovací hodinu bez mikroskopu.“ byla podpořena. K tomu, abychom mohli výsledek zobecnit, bylo potřeba zopakovat srovnání s větším počtem žáků.

Třetí hypotéza: „Žáci, kteří své protokoly vyplnili pečlivě, dosahovali v obou následných post-testech vyššího skóre než méně pečliví žáci.“ byla podpořena.

Výsledky této práce byly prezentovány na konferenci „Škola jako místo setkávání aneb jak školní prostředí podporuje rozvoj žáků i učitelů“, která proběhla 12. 4. 2013 na Filozofické fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

7. Seznam použité literatury

Ahn, H. H., Kim, S. N., Kye, Y. Ch., 2006: *Fluorescence digital photography of acne using light-emitting diode illuminator*. *Skin Research and Technology*, vol. 12, s. 289 – 291.

Atkins, P., De Paula, J., 2013: *Fyzikální chemie*. VŠCHT, Praha. 915 pp.,s. 477.

Bozzelli, J., Kemp, M., 1982: *A Fluorescence Lecture Demonstration*. *Journal of Chemical Education*, vol. 59, s. 787 – 788.

Burrows, H. D., Axtell, D. D., 1983: *A Convenient Lecture Demonstration of Fluorescence*. *Journal of Chemical Education*, vol. 60, s. 228.

Casado, M. I., Castaño, G., Arráez-Aybar, L. A., 2012: *Audiovisual material as educational innovation strategy to reduce anxiety response in students of human anatomy*. *Advances in Health Sciences Education*, vol. 17, s. 431 – 440.

Çimer, A., 2012: *What makes biology learning difficult and effective: Student's views*. *Educational Research and Reviews*, vol. 7, s. 61 – 71.

Dalgarno, B., Bishop, A. G., Adlong, W., Bedgood, D. R., Jr., 2009: *Effectiveness of a Virtual Laboratory as a preparatory resource for Distance Education chemistry students*. *Computers & Education*, vol. 53, s. 853 – 865.

Dee, F. R., Lehman, J. M., Consoer, D., Leaven, T., Cohen, M. B., 2003: *Implementation of Virtual Microscope Slides in the Annual Pathobiology of Cancer Workshop Laboratory*. *Human Pathology*, vol. 34, s. 430 – 436.

Dee, F. R., 2009: *Virtual microscopy in pathology education*. *Human Pathology*, vol. 40, s. 1112 – 1121.

Draslovka, 2013. [online] Dostupné z: <http://www.draslovka.cz/data/File/tl/SolakrylBMX-TL.pdf> [8. 1. 2013]

Escalada, L. T., Unruh, R., Cooney, T., Folz, J., 2001: *Students See the Light . Investigating luminescence and incandescence through a three-part learning cycle*. The Science Teacher, vol. 68, s. 40 – 43.

Fónyad, L., Gerely, L., Cserneky, M., Molnár, B., Matolcsy, A., 2010: *Shifting gears higher – digital slides in graduate education – 4 years experience at Semmelweis University*. Diagnostic Pathology, vol. 5.

Goldberg, H. R., Dintizs, R., 2007: *The positive impact of team-based virtual microscopy on student learning in physiology and histology*. Advances in Physiology Education, vol. 31, s. 261 – 265.

Harris, T., Leaven, T., Heidger, P., Kreiter, C., Duncan, J., Dick, F., 2001: *Comparison of a virtual Microscope Laboratory to a Regular Microscope Laboratory for Teaching Histology*. The Anatomical Record (The New Anatomist), vol. 265, s. 10 – 14.

Holstermann, N., Grube, D., Bögeholz, S., 2009: *Hands-on Activities and Their Influence on Students' Interest*. Research in Science Education, vol. 40, s. 743 – 757.

Hunt, J., 2007: *ICT-mediated science inquiry: the Remote Access Microscopy Project (RAMP)*. Australian Educational Computing, vol. 22, s. 26 – 33.

Hsu, P. L., Roth, W. M., 2009: *An Analysis of Teacher Discourse that Introduces Real Science Activities To High School Students*. Research in Science Education, vol. 39, s. 553 – 574.

Chráska, M., 2007: *Metody pedagogického výzkumu*. Grada Publishing a.s., Praha. 265 pp.

Jírovec, O., 1947: *Zoologická technika*. Prométheus, Praha. 320 pp.

Jones, M., G., 1993: *Bioluminescence*. The Science Teacher, vol. 60, s. 19 – 21.

Koch, L. H., Lampros, J. N., Delong, L. K., Chen, S. C., Woosley, J. T., Hood, A. F., 2009: *Randomized comparison of virtual microscopy and traditional glass microscopy in diagnostic accuracy among dermatology and pathology residents*. Human pathology, vol. 40, s. 662 – 667.

MacCormac, A., O'Brien, E., O'Kennedy, R., 2010: *Classroom Activity Connections: Lessons from Fluorescence*. Journal of Chemical Education, vol. 87, s. 685 – 686.

McHalle, J. L., Seybold, P., G., 1976: *Luminescence Experiments Using Adsorbed Dyes*. Journal of Chemical Education, vol. 53, s. 654 – 656.

Merck, 2013. [online] Dostupné z:

http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CDkQFjAC&url=http%3A%2F%2Fecommerce-prod.merck.de%2Fchemicals%2Fen_US%2FMerck-GB-Site%2FGBP%2FViewProductDocuments-File%3FProductSKU%3DMDA_CHEM-101691%26DocumentType%3DMSD%26DocumentId%3D%252Fmda%252Fchemicals%252Fmsds%252Fcs-CZ%252F101691_SDS_CZ_CS.PDF%26DocumentSource%3DGDS%26Country%3DGB%26Channel%3DMerck-GB-Site&ei=84I0UYy1MIKB4gSg7YCwAQ&usg=AFQjCNGpsXe01EgAqvqYvJPdP59GNAv-Uw&bvm=bv.43148975,d.bGE&cad=rja [4. 3. 2013]

Merk, M., Knuechel, R., Perez-Bouza, A., 2010: *Web-based virtual microscopy at the RWTH Aachen University: Didactic concept, methods and analysis of acceptance by the students*. Annals of Anatomy, vol. 192, s. 383 – 387.

Muyskens, M., Vitz, E., 2006: *The Fluorescence of Lignum Nephriticum: A Flash back to the past and Simple Demonstration of Natural Substance Fluorescence*. Journal of Chemical Education, vol. 83, s. 765 – 768.

natur.cuni, 2013a. [online] Dostupné z:

<https://www.natur.cuni.cz/biologie/ucitelstvi/skoly/pristroje/fotografie-z-fluorescencniho-mikroskopu> [22. 4. 2013]

natur.cuni, 2013b. [online] Dostupné z:

<https://www.natur.cuni.cz/biologie/ucitelstvi/skoly/pristroje/zapujceni-pristroju-a-vybaveni> [22. 4. 2013]

O'Hara, P., Engelson, C., St. Peter, W., 2005: *Turning on the Light: Lessons from Fluorescence*. Journal of Chemical Education, vol. 82, s. 49 – 52.

Papáček M. 2010a: *Badatelsky orientované přírodovědné vyučování – cesta pro vzdělávání generací Y, Z a alfa?* Scientia in Educatione, vol. 1, s. 33 – 49.

Papáček M. 2010b: *Limity a šance badatelsky orientovaného vyučování přírodopisu a biologie v České republice*. s. 145 – 162. In: Papáček M. (ed.): *Didaktika biologie v České republice 2010 a badatelsky orientované vyučování (DiBi 2010)*. Sborník příspěvků semináře, 25. a 26. března 2010, Jihočeská univerzita, České Budějovice. 165 pp.

Parslow, G. R., 2010: *Multimedia in Biochemistry and Molecular Biology Education: Websites od Note*. Biochemistry and Molecular Biology Education, vol. 38, s. 48 – 50.

Paulsen, F. P., Eichhorn, M., Bräuer, L., 2010: *Virtual microscopy – The future of teaching histology in the medical curriculum?*. Annals of Anatomy, vol. 192, s. 378 – 382.

Polysciences, 2013a. [online] Dostupné z:

<http://www.polysciences.com/SiteData/poly/uploads/16300.pdf> [4. 3. 2013]

Polysciences, 2013b. [online] Dostupné z:

<http://www.polysciences.com/SiteData/docs/TDS%20777/ba9fc00865bea9c61762776e7062aadd/TDS%20777.pdf> [5. 3. 2013]

Prokop, P., Tuncer, G., Chudá, J., 2007: *Slovakian Student's Attitudes toward Biology*. Eurasia Journal of Mathematics, Science & Technology Education, vol. 4, s. 287 – 295.

Randler, Ch., Bogner, F. X., 2006: *Cognitive achievements in identification skills*. Journal of Biological education, vol. 40, s. 161 – 165.

Rife, G., 2006: *Adapting to the Deep Sea – A Fun Activity with Bioluminescence*. Science Scope, vol. 29, s. 16 – 20.

Rochard, M., Csermely, P., Jorde, D., Lenzen, D., Walberg-Henrikson, H., Hermmo, U., 2007: *Science education now: A renewed pedagogy for the future of Europe*. Brussels:European Comission, Directorate-General for Research, Science, Economy and Society, Information and Communication Unit. 22 pp. [online] Dostupné z: http://ec.europa.eu/research/science-society/document_library/pdf_06/report-rocard-on-science-education_en.pdf [26. 4. 2013]

Scoville, S. A., Buskirk, T. D., 2007: *Traditional and Virtual Microscopy Compared Experimentally in a Classroom Setting*. *Clinical Anatomy*, vol. 20, s. 565 – 570.

Sigma-Aldrich, 2013. [online] Dostupné z:

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/81381?lang=en®ion=CZ>

[4. 3. 2013]

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

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

Sundberg, M. D, 1984: *Special Microscopy Using a Standard Student Microscope*. *The American Biology Teacher*, vol. 46, s. 113 – 115.

Stohr-Hunt, P. M., 1996: *An Analysis of Frequency of Hands-On Experience and Science Achievement*. *Journal of Research in Science Teaching*, vol. 33, s. 101 – 109.

Telli, S., Brok, P., Tekkaya, C., Çakiroğlu, J., 2009: *Turkish students' perceptions of their biology learning environments: The Effects of gender and Grade Level*. ex Çimer, A., 2012: *What makes biology learning difficult and effective: Student's views*. *Educational Research and Reviews*, vol. 7, s. 61 –71.

Thompson, J., Soyibo, K., 2002: *Effects of lecture, teacher demonstrations, discussions and practical work on 10th graders' attitudes to chemistry and understanding of electrolysis*. *Research in Science & Technological Education*, vol. 20, s. 25 – 37.

Triola, M. M., Holloway, W. J., 2011: *Enhanced virtual microscopy for collaborative education*. BMC Medical Educational, vol. 11.

Valeur, B., Berberan-Santos, M. N., 2011: *A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory*. Journal of Chemical Education, vol. 88, s. 731 – 738.

vydavatelstvi.vscht, 2013. [online] Dostupné z:

http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-569-2/pdf/171.pdf [5. 4. 2013]

White Wolf Consulting 2009: Důvody nezájmu žáků o přírodovědné a technické obory. Dostupné z: http://vzdelavani.unas.cz/duvody_nezajmu_obory.pdf [26.4.2013]

Použitý software:

Picasa [webové album programu Google]. 2.0. Picassa Web Albums Data API, 2012.

Statistica [software]. 10 trial verze. StatSoft, Inc., 2011.

Zoner Photo Studio [software]. 13 PRO. ZONER software, 2011.

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.

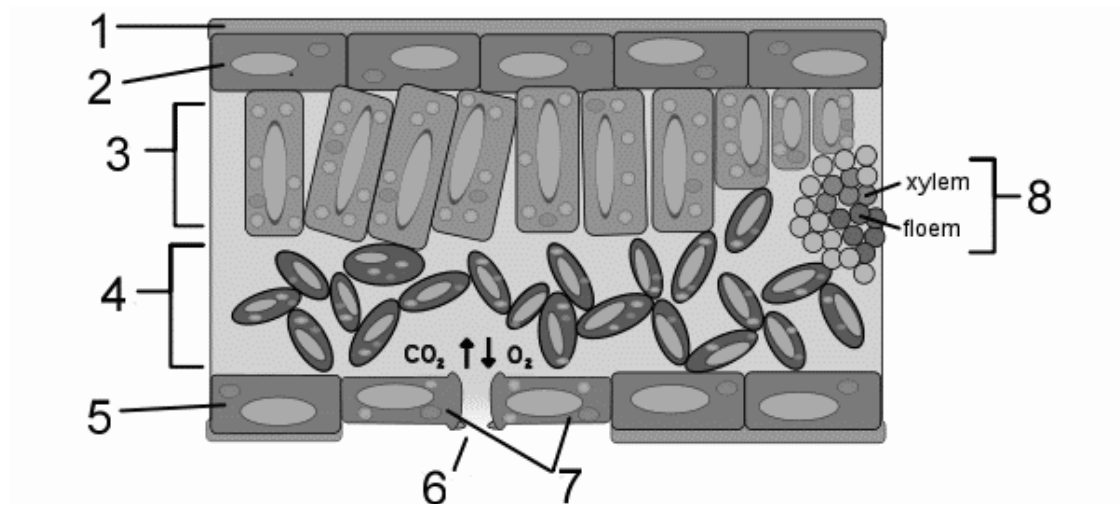
- a) výuka v normálních hodinách, kdy vykládá převážně učitel
- b) výuka v normálních hodinách, kdy pracuji převážně sám / sama, nebo se spolužáky
- c) výuka v normálních hodinách, kdy je kombinován výklad učitele se samostatnou prací studentů (individuálně i ve skupinách)
- d) praktická cvičení nebo 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 – upraveno

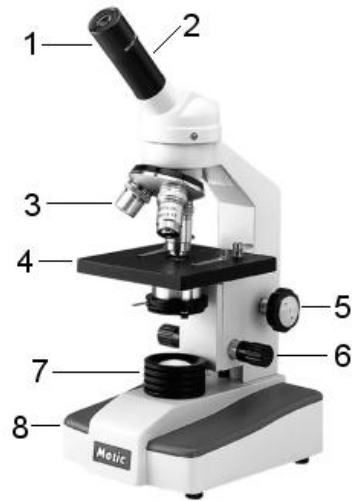
spodní pokožka, svrchní pokožka, houbový parenchym, kutikula, palisádový parenchym, cévní svazek, průduch, svěrací buňky

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



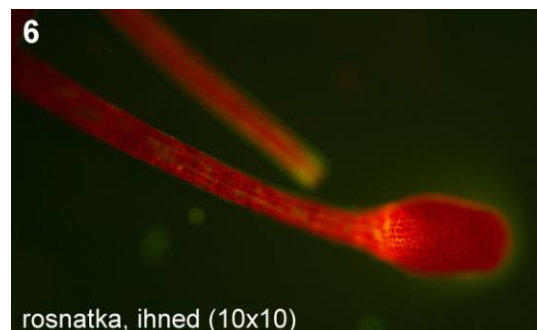
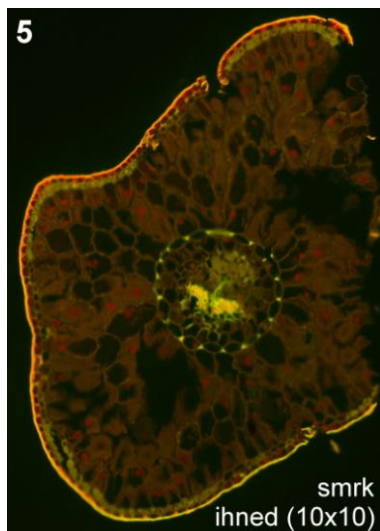
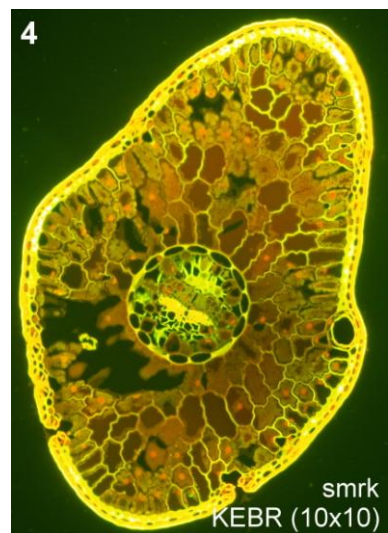
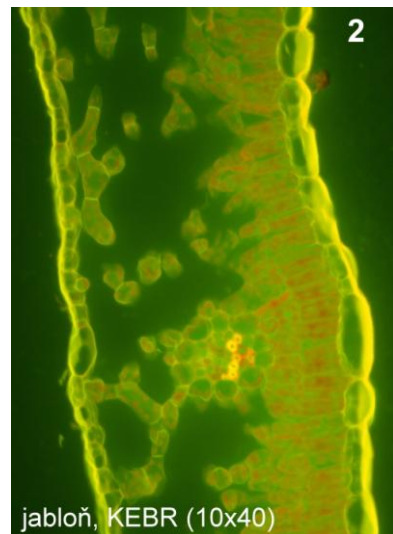
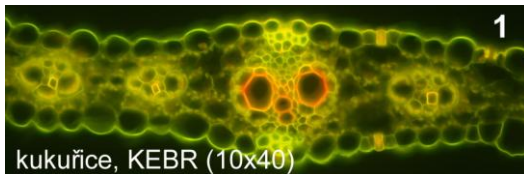
v horách

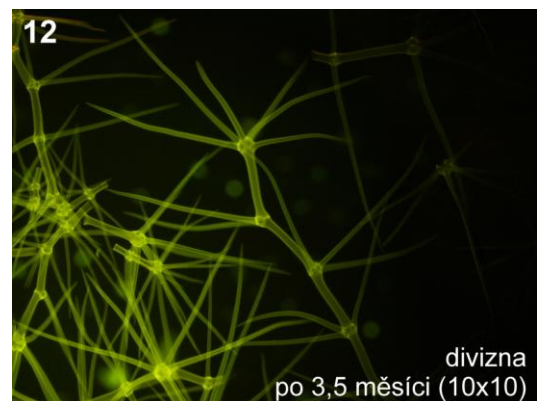
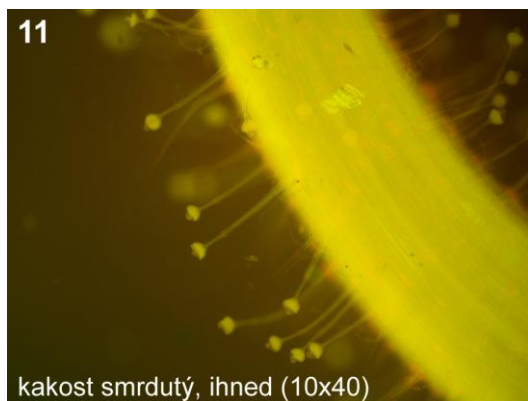
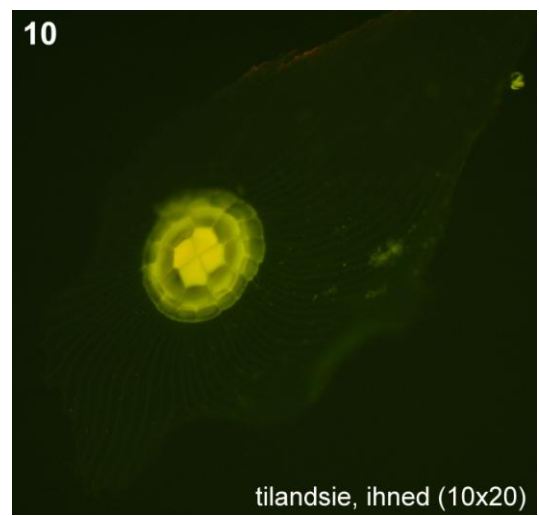
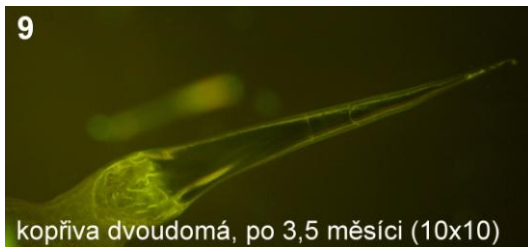
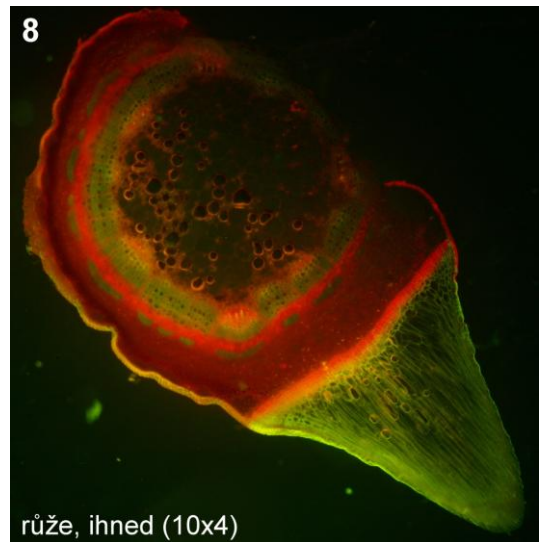
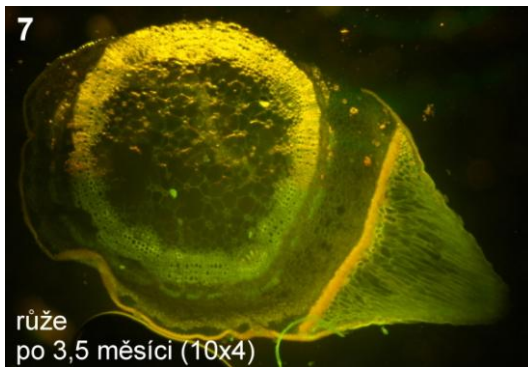
a) Jaký je rozdíl mezi rostlinnými jedinci z hor a nížiny co se týče jejich povrchu a trichomů?

b) Jakou funkci plní tyto trichomy?

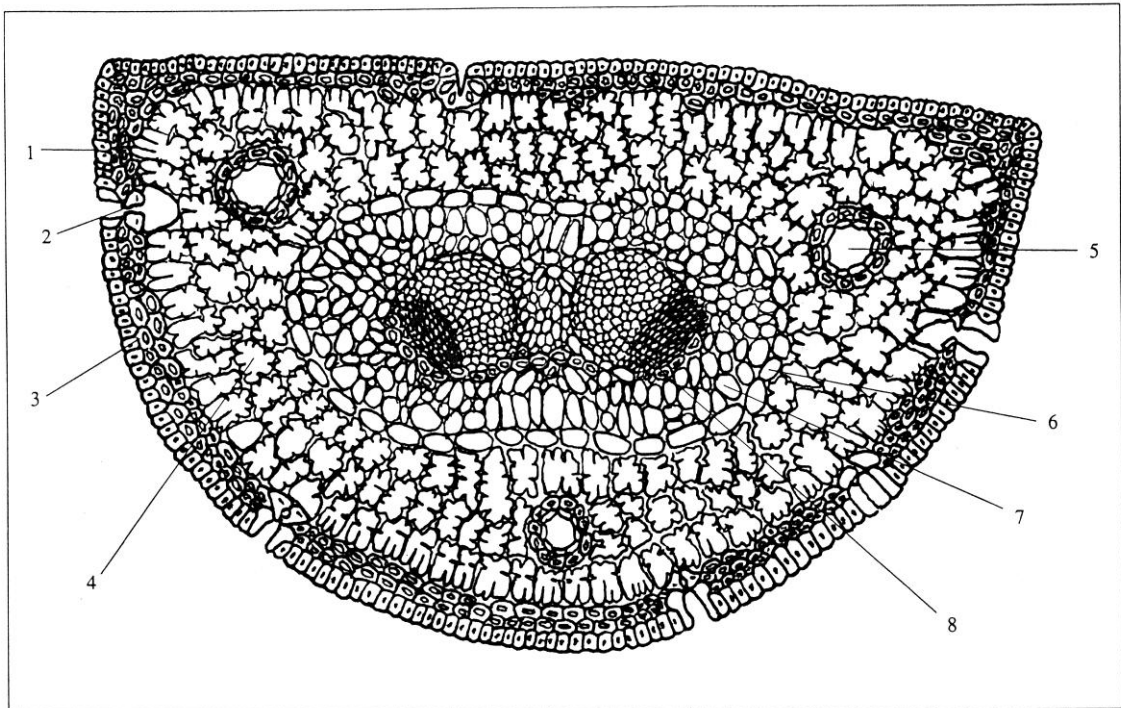
8.3. Příloha 3 – obrazové přílohy

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

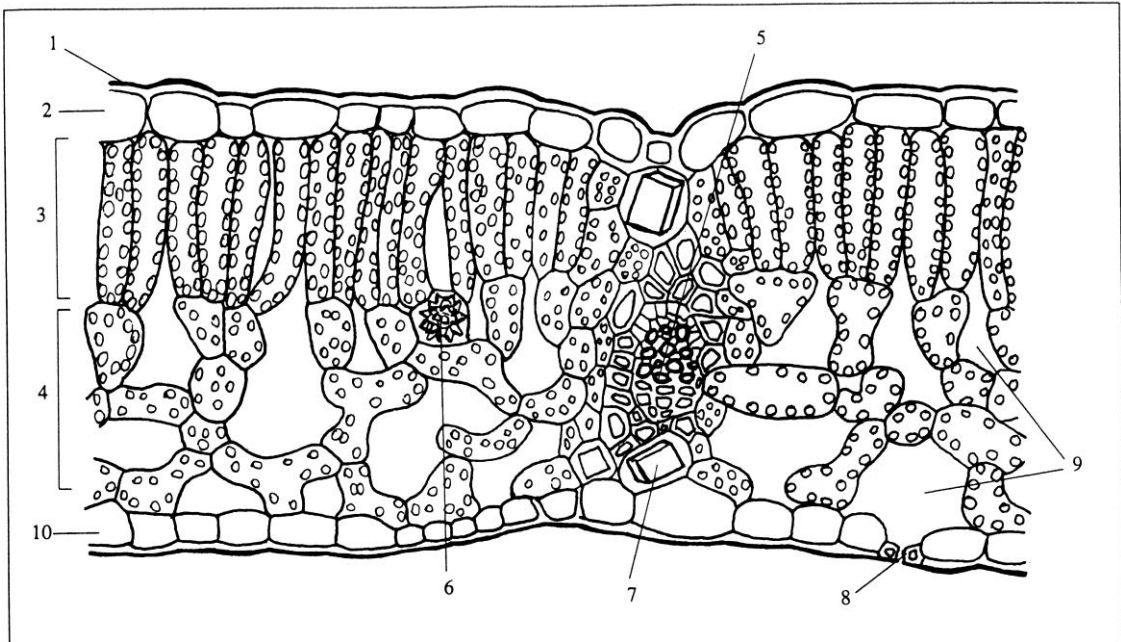




8.4. Příloha 4 – obrázková nápověda s popisky



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

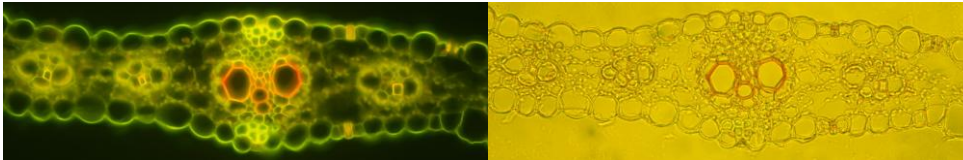
10 M – úlohy s trichomy

10 M – divizna a plesnivec

1. STAVBA LISTU

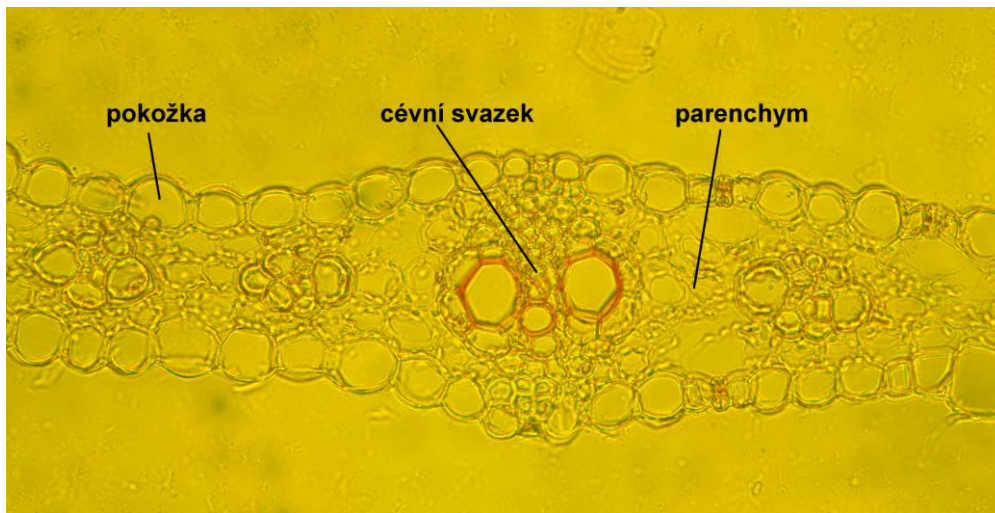
1. Zhotovte vodní preparát příčného řezu listem jehlicí smrku (*Picea*). Pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kukuřice (*Zea*) a jabloně (*Malus*) nebo hrušně (*Pyrus*). Nakreslete všechny pozorované preparáty a popište pozorované struktury, uveďte zvětšení.

List jednoděložný (kukuřice):

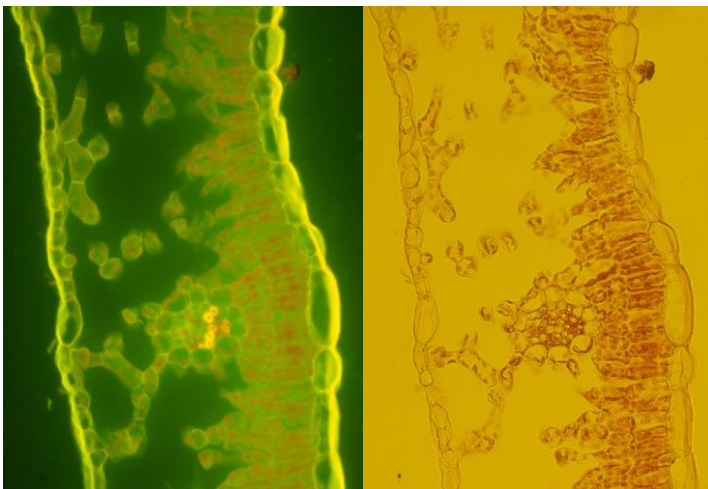


(10×40) – fluorescenční – Katedra experimentální biologie rostlin (KEBR), optický KEBR

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

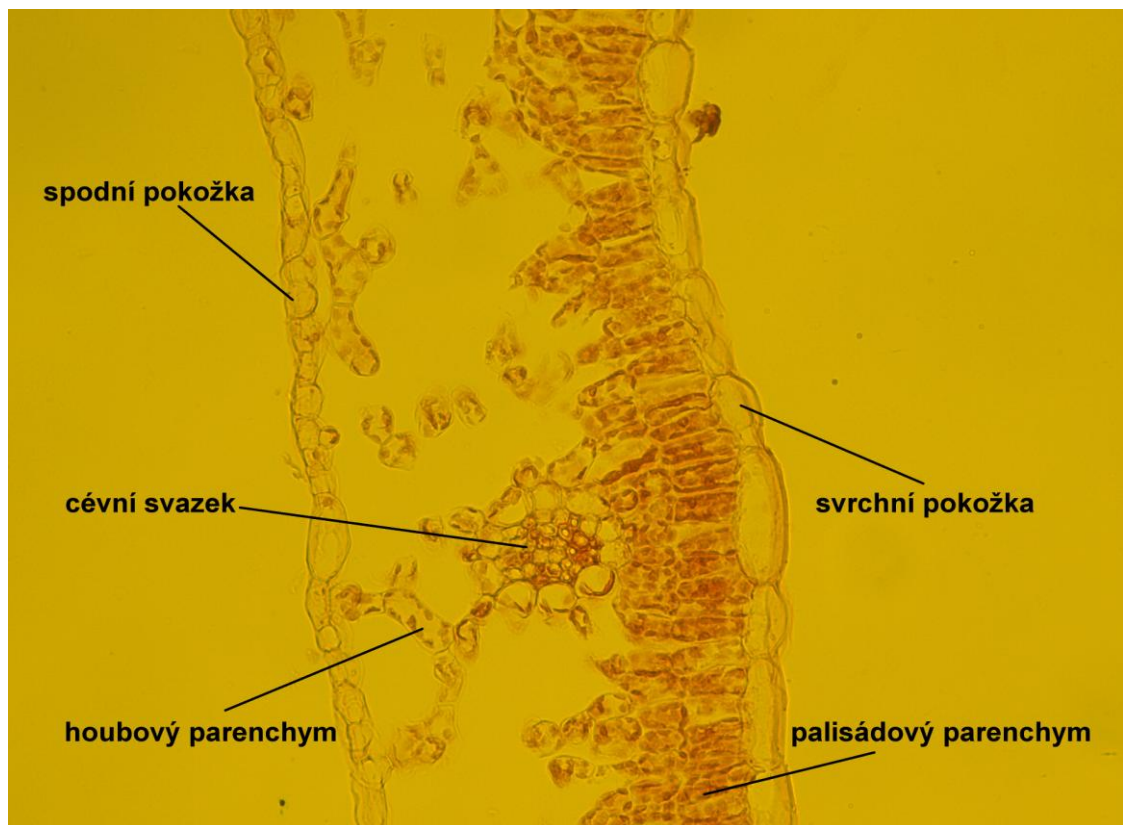


List dvouděložný (jabloň):

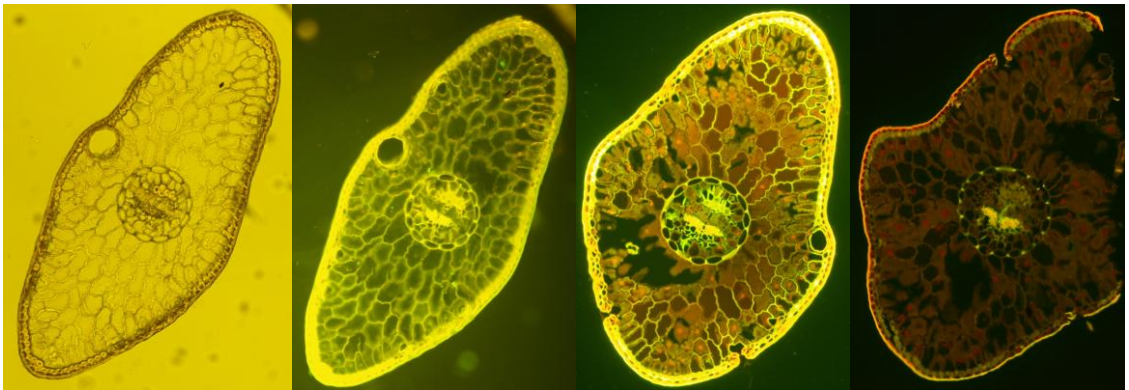


(10×40) – fluorescenční KEBR, optický KEBR

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

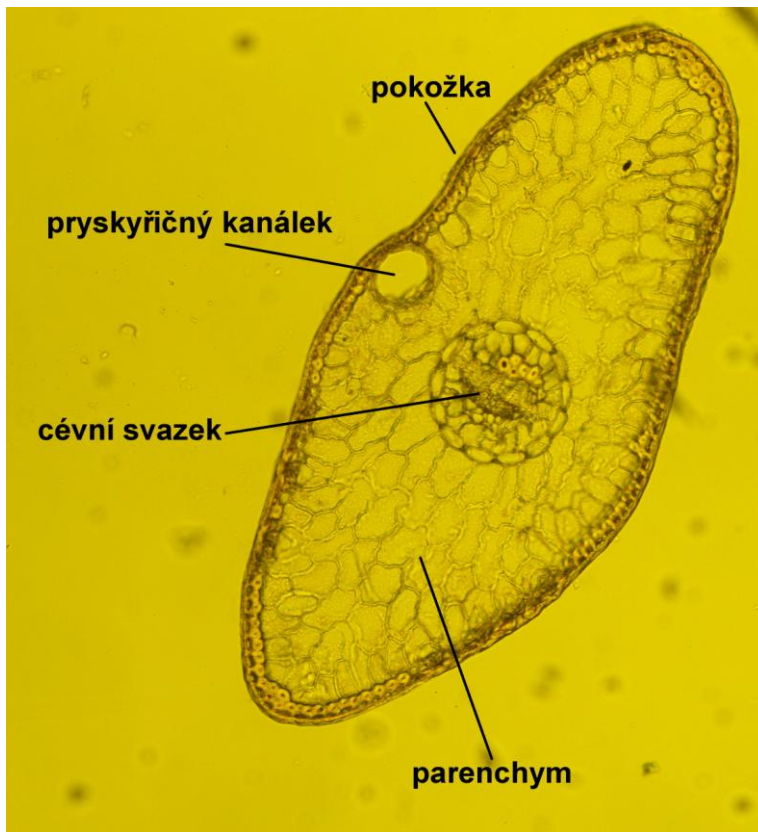


Jehlice:



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

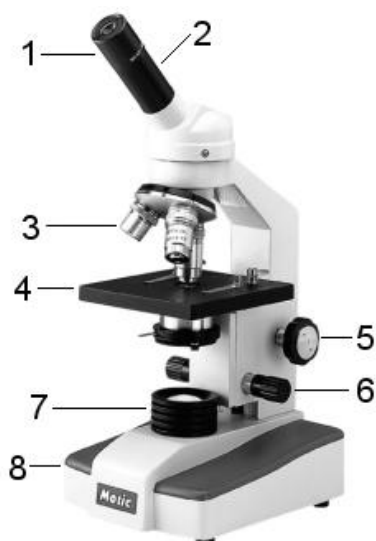
Pozorované struktury: pokožka, cévní svazek, parenchym, pryskyřičné kanálky (lépe při větším zvětšení) (obrázek při zvětšení 10×10)



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

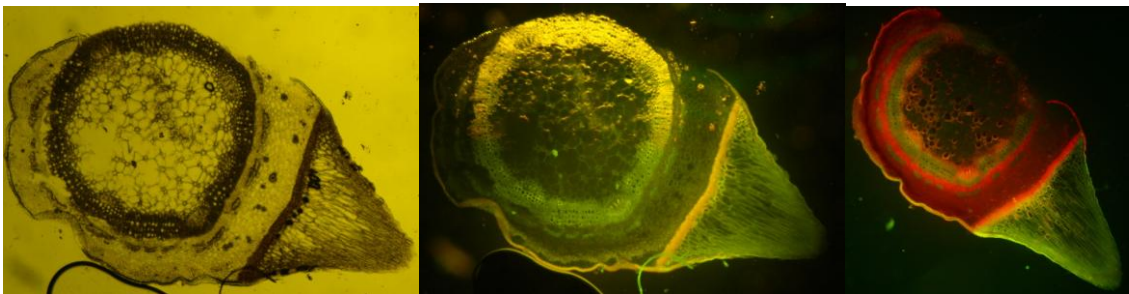
3. ROSTLINNÉ CHLUPY

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

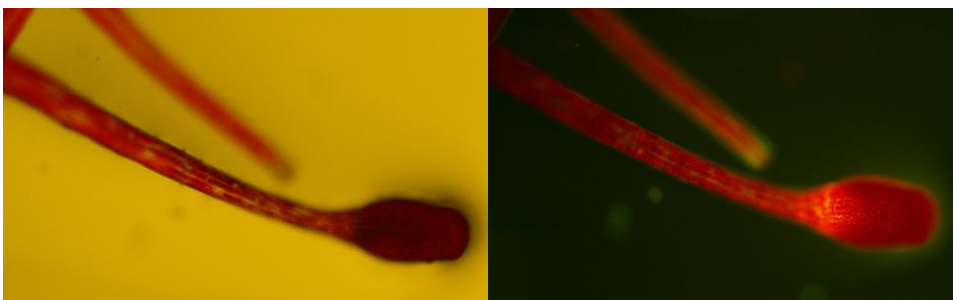
Ověřte pozorováním preparátu – trvalý preparát trnu růže (*Rosa*). Jak se liší fluorescence trvalého preparátu trnu růže při pozorování ihned a po několika měsících? Proč? Použijte obrazový materiál.



(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.



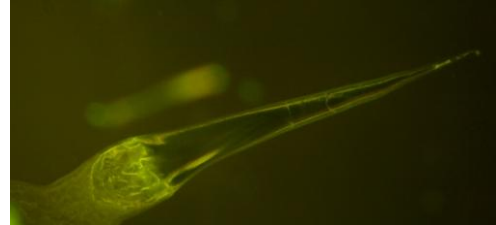
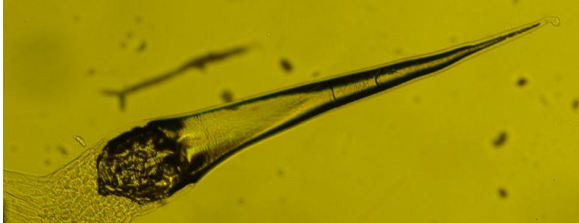
(10×10) – optický, fluorescenční vodní ihned, konec emergence je rozšířený, obalený lepivou tekutinou (v preparátu lepkavá tekutina chybí – rozplyne se v médiu) – rosnatka

Jakou barvou svítí pozorované struktury ve fluorescenčním mikroskopu?

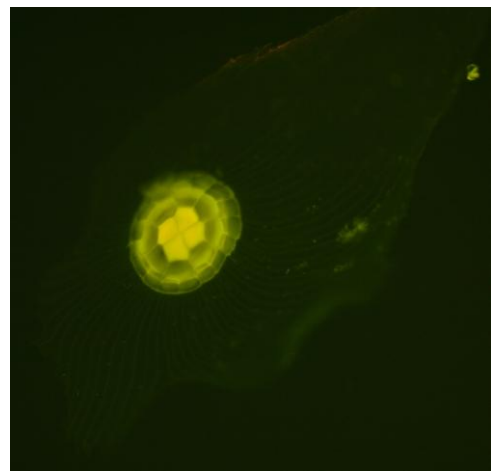
červeně

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

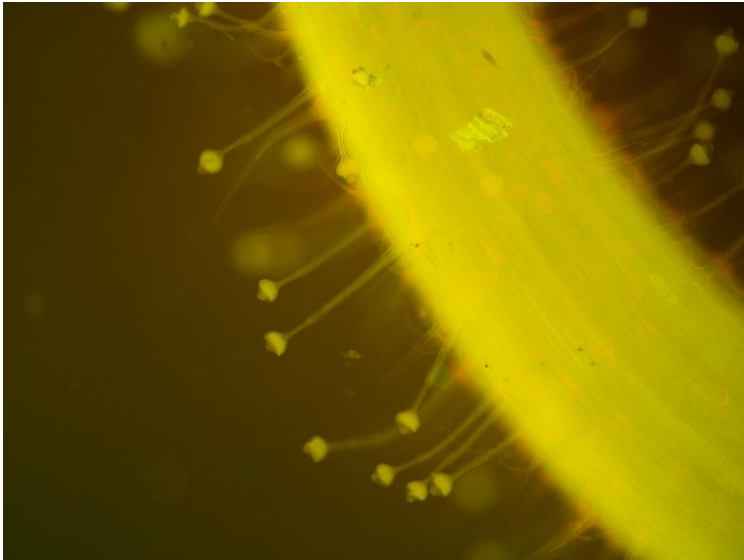
Jakým způsobem je spouštěn mechanismus „popálení“? (Nápověda: Výše uvedená dutá struktura je ve špičce vyztužena anorganickými solemi, což zvyšuje její křehkost.)

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

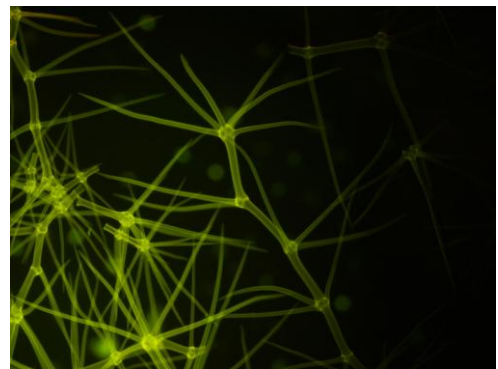
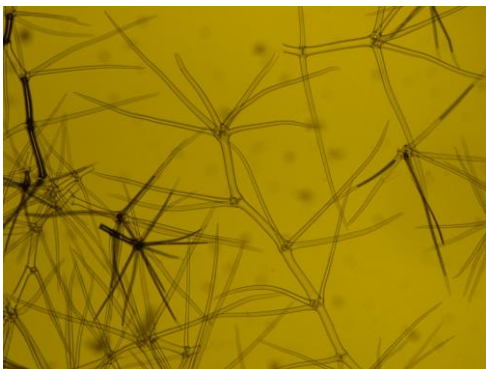
Znáte ještě nějakou další rostlinu, která má stejnou vlastnost? Napište alespoň tři.

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 [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

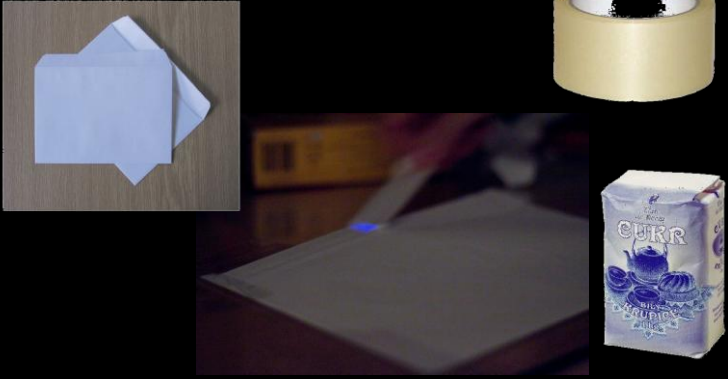
- produkce světla i tepla

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 top right, a roll of yellow tape is visible. The bottom center features a glowing blue surface, likely a piece of paper or tape being rubbed. On the right, a carton of CURR milk is shown, which is known for its triboluminescent properties.

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 contains a glowing blue liquid. Below it, a row of vials is shown, each containing a different colored liquid that is glowing. On the left, a glowing blue surface is visible.

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 top left, a glowing firefly is shown. In the top center, a glowing jellyfish is visible. On the bottom left, a glowing fish is shown. On the bottom right, a glowing jellyfish is shown.

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

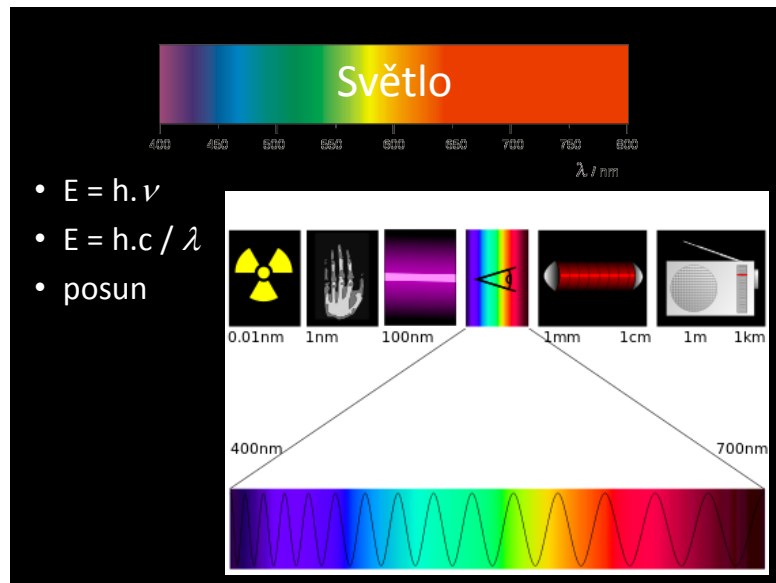
E 2
E 1
E 0

E

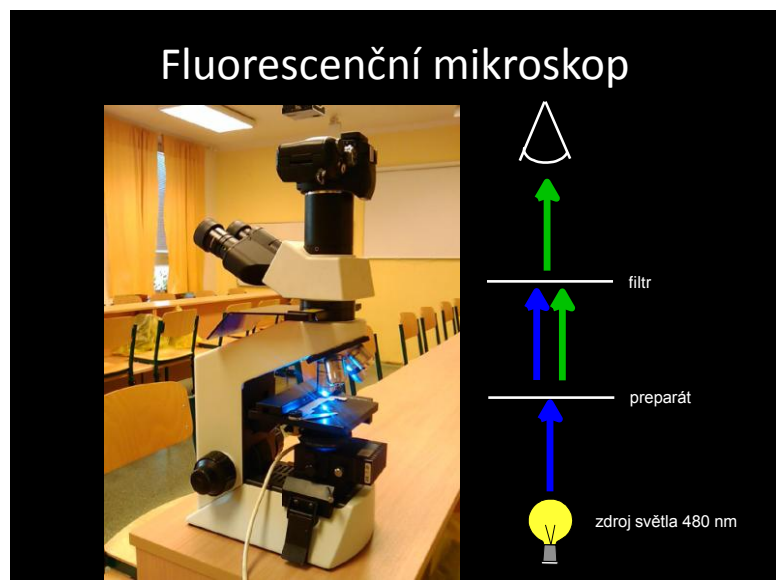
vibrace, teplo

přeskoky spinů -> zpoždění

Snímek 10



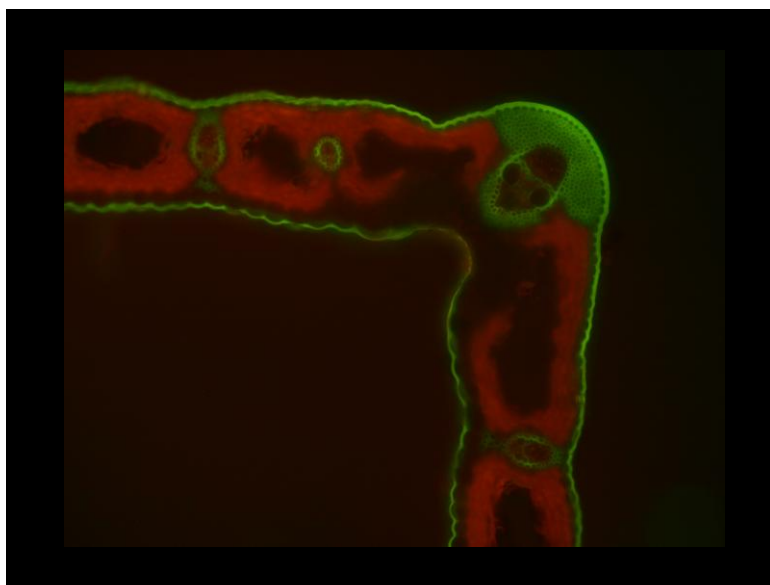
Snímek 11



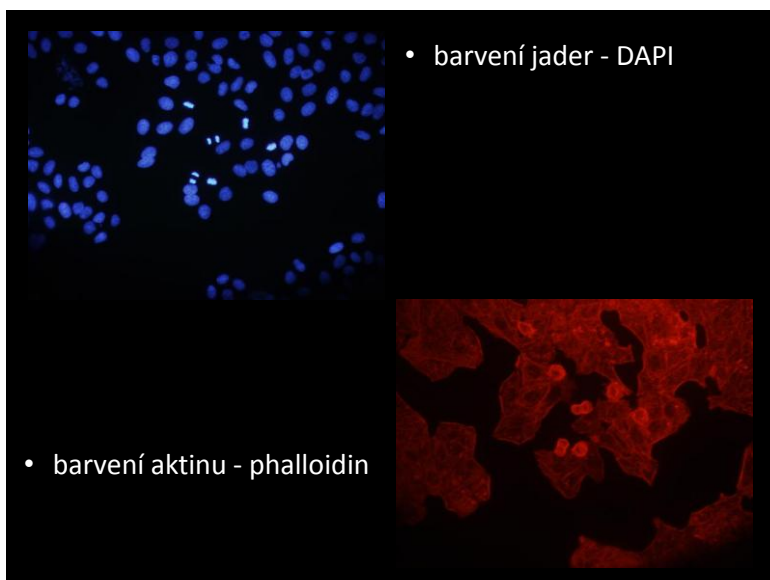
Snímek 12



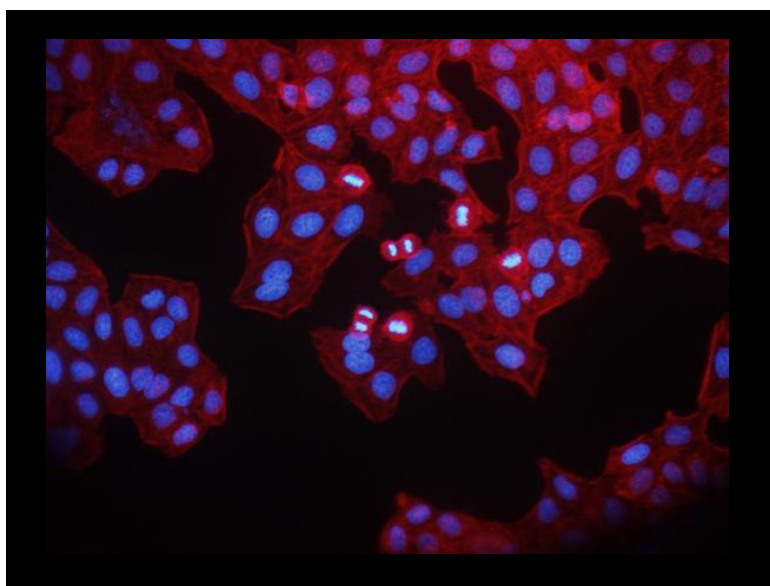
Snímek 13



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://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://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P_1527_1.jpg
- http://www.drinkservice.cz/fotky15726/fotos/_vyr_7Cukr-krupice.jpg
- http://eshop.trebservis.cz/products/w500jpg/P_1527_1.jpg
- http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fe/Luminol_-_%281%29.jpg
- http://1.bp.blogspot.com/_NlS5qhMtFCA/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://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
- 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.

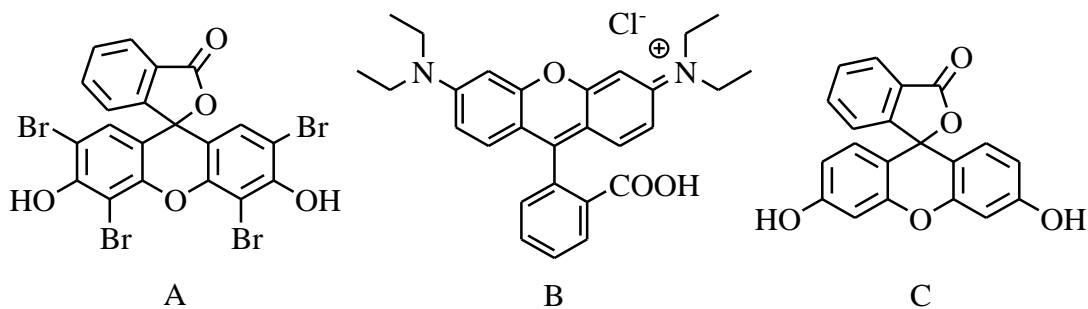
- při rozlepování zalepené samolepicí obálky vzniká světlo (musí být absolutní tma, ve výuce je špatně pozorovatelné; doporučuji zadat za domácí úkol

- 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 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 Cu^{2+} není příliš vhodný, neboť ionty jsou peroxidem rychle oxidovány na 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“ (svítilky 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.

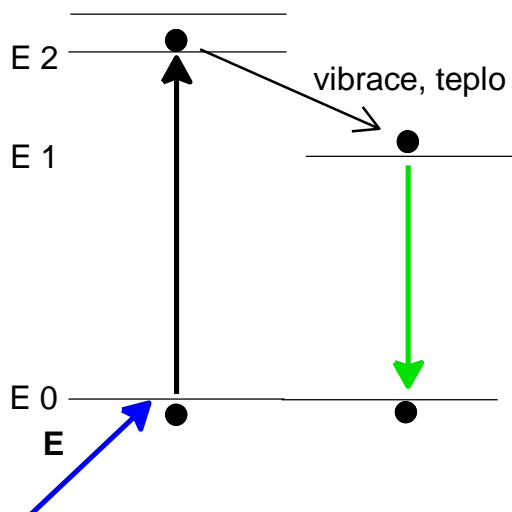
Princip bioluminescence byl zkoumán už od 17. století, ale odhalil ho až v 19. století Raphael Dubois. Pomocí světelných orgánů světlušek a teplé a studené vody zjistil, že pro vznik světla je potřeba kyslík a substance, kterou nazval luciferin (lux = světlo, feró = nesu). Enzym, který reakci spouští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



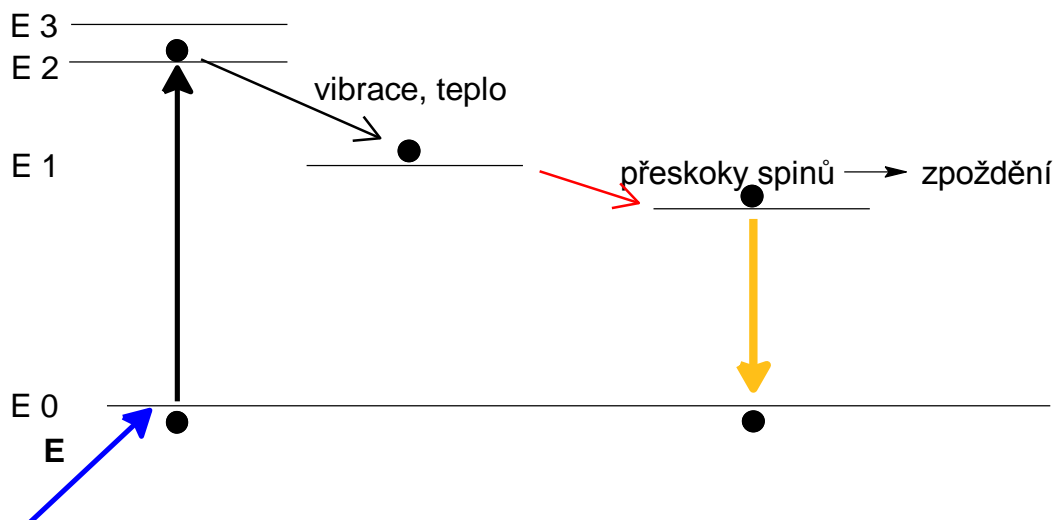
Obrázek 2: Energetické změny v atomech/molekulách během fluorescence. Částice přijme energii E ve formě světelného záření, její energie se zvýší ze základní hladiny E0 na hladinu E2. Vibracemi a vyzařováním tepla dochází ke ztrátě energie, částice se dostává na energetickou hladinu E1. Poté dochází k 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 přeskokcích 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 ν

ν – frekvence

c – rychlost světla

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

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

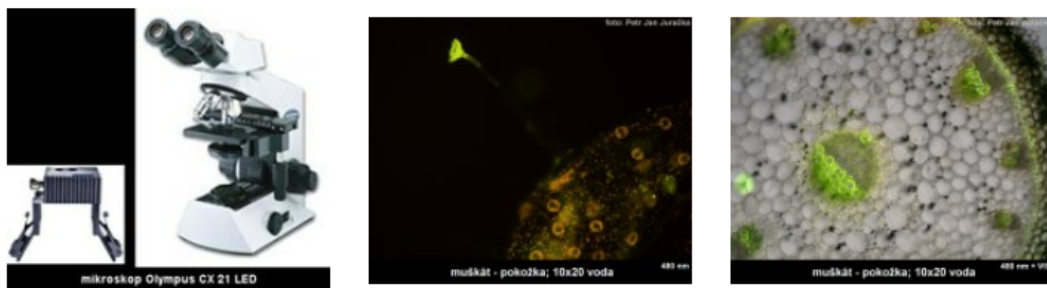
[Fakulta](#) / [Biologie](#) / [Katedra učitelství a didaktiky biologie](#) / [Nabídka školám](#) / Zapůjčení přístrojů a vybavení

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

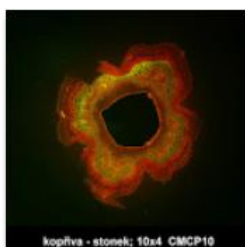
Fotografie jsou dostupné v [online galerii](#).

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.

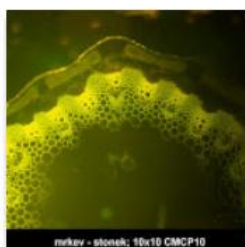
- rostliny ([pdf](#), [ppt](#))
- obratlovci ([pdf](#), [ppt](#))
- bezobratlí ([pdf](#), [ppt](#))
- preparáty při osvětlení 480 nm ([pdf](#), [ppt](#))
- preparáty ihned po vložení do média ([pdf](#), [ppt](#))

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.

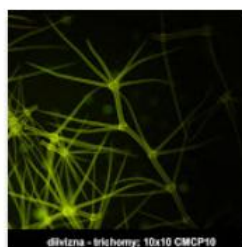
Ukázka úvodní stránky webového alba Picassa s fotoalbami.



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



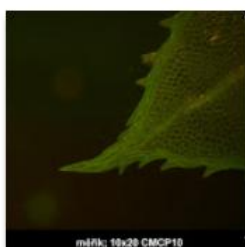
mříkav - stoněk; 10x10 CMCP10
rostliny - stoněk
21. 3. 2013
fotografie: 40



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



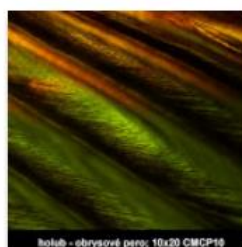
bříza - nažka; 10x10 CMCP10
rostliny - květ a plod
21. 3. 2013
fotografie: 21



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

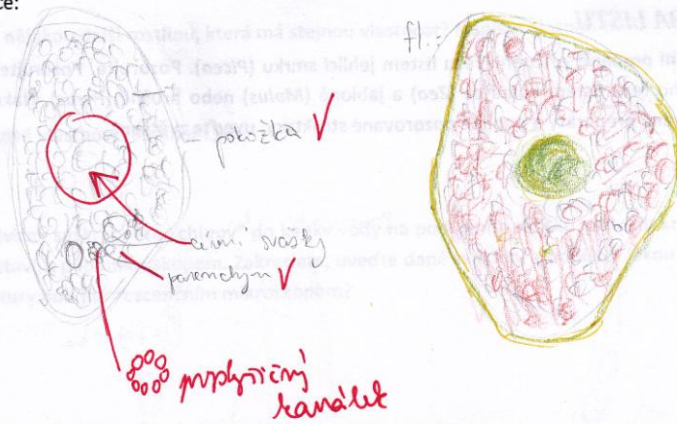
1. Zhotovte vodní preparát příčného řezu listem jehlicí smrku (*Picea*). Pozorujte. Pozorujte trvalý preparát příčného řezu listem kukuřice (*Zea*) a jabloně (*Malus*) nebo hrušně (*Pyrus*). Nakreslete všechny pozorované preparáty a popište pozorované struktury, uveďte zvětšení.

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

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

XLVIII

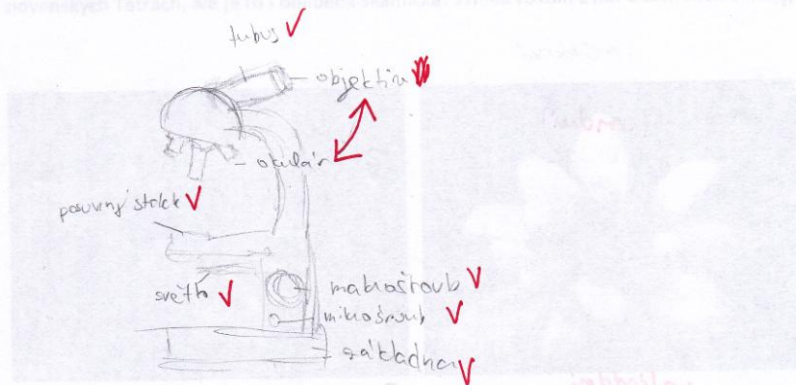
Jehlice:



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



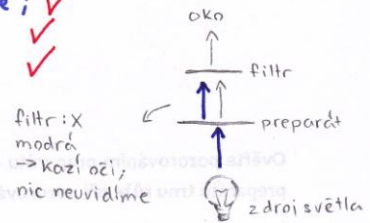
2. Do předchozího obrázku jinou barvou zakreslete a popište ty části, které jsou u fluorescenčního mikroskopu jiné.

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. energií (příd. látky, kt. pohl. e.)	(uvolnění en. → absorpce en. → vyzaření sv.) X teplo => svítí *př.
bioluminescence	chem. reakce v živých organismech	světlušky, řas mořské medúzy (s vyšší energií)
fluorescence	excitace světlem, emise okamžitě (vyzaření) → svítíme na e ⁻ => excitace	na jinou hladinu => ve formě světla energii vyzaří (dostane se na původní hladinu); na krátkou dobu *př.
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 *př.

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.):

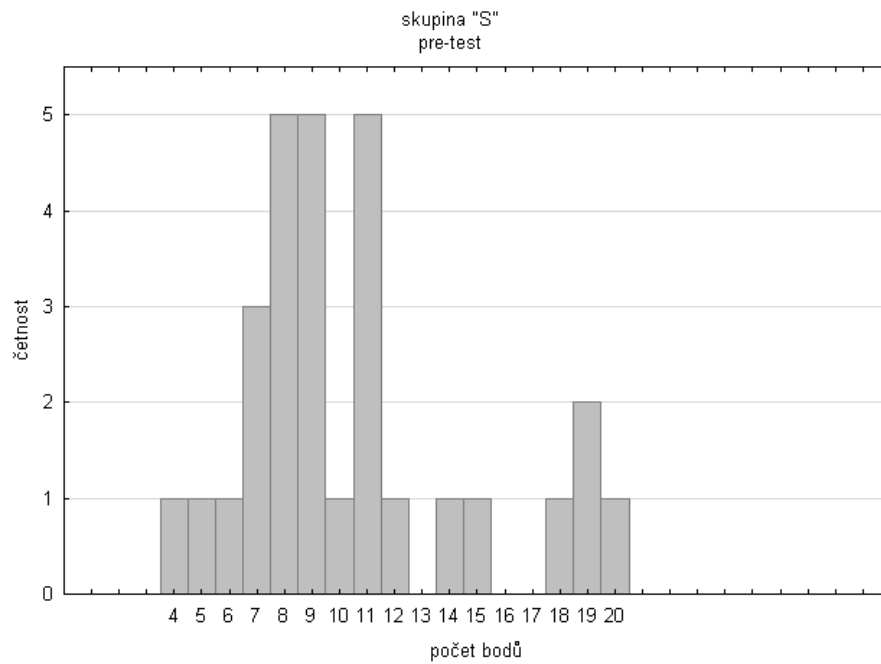
2. Na mikroskopu (a možnosti si ho zapůjčit) jsem ocenil/a:

3. Nevyhovovalo mi:

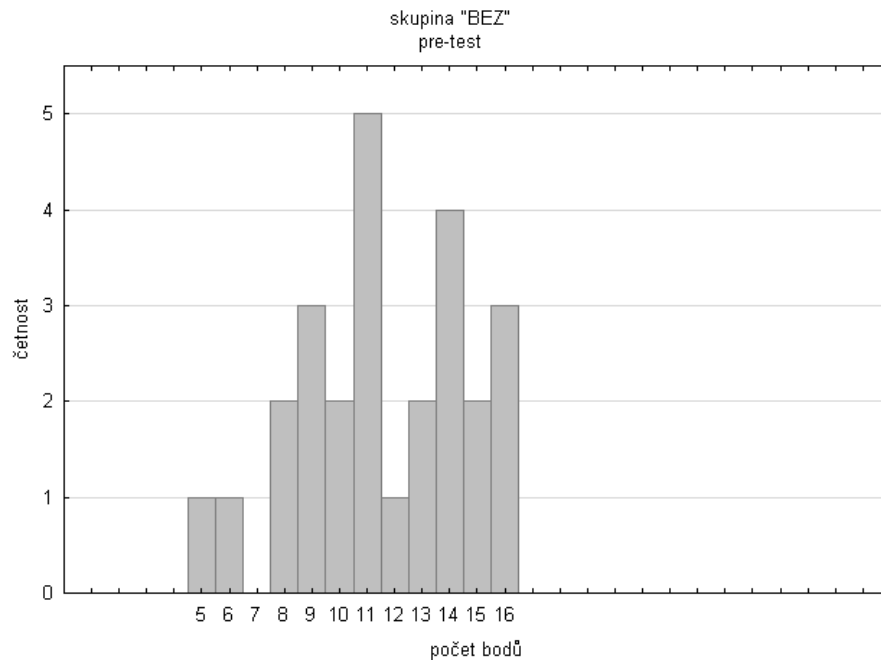
4. Navrhuji změnit:

5. Zachoval/a bych:

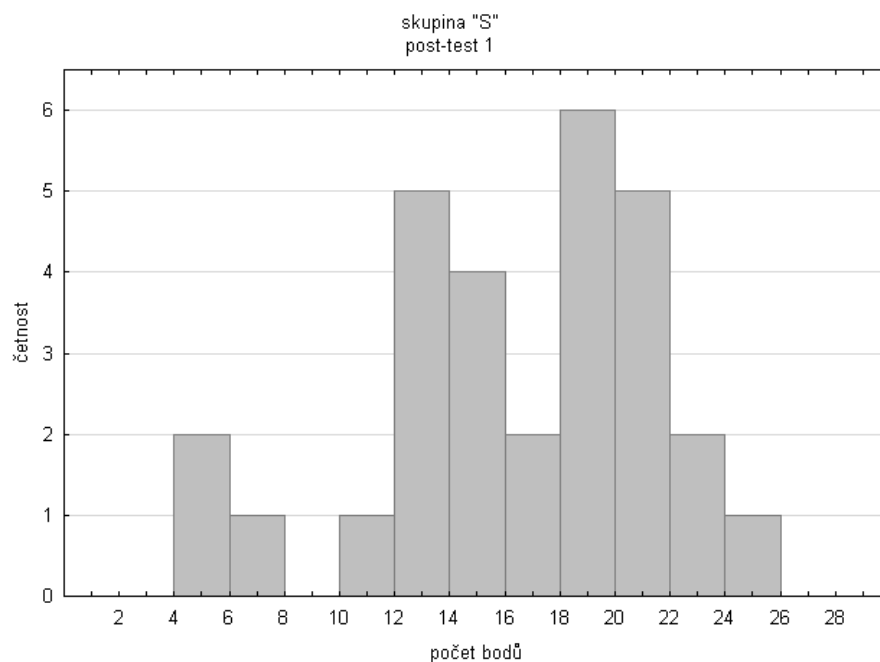
8.12. Příloha 12 – grafy



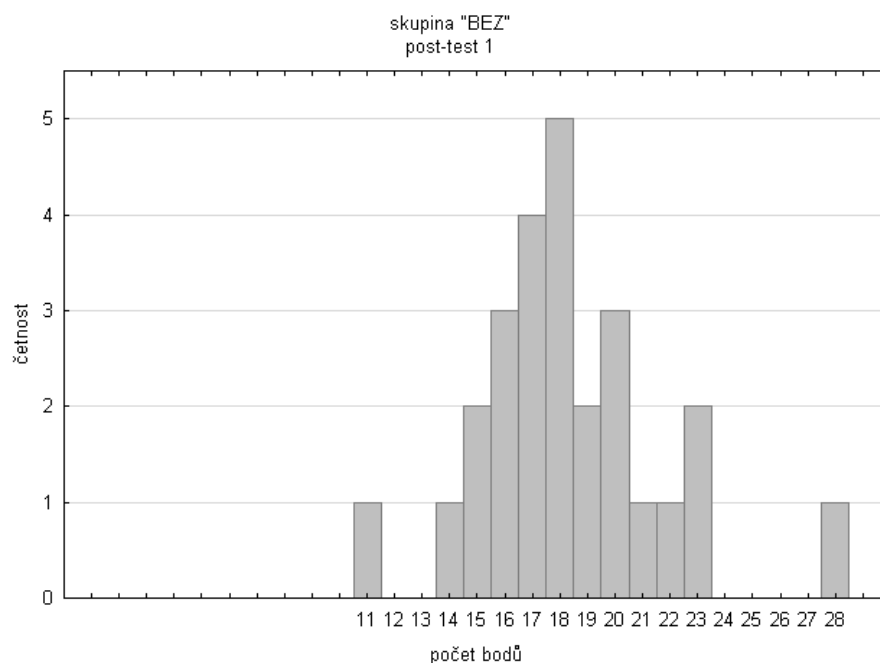
Graf 8.1.: Rozložení skóre – skupina „S“ – pre-test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 29$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



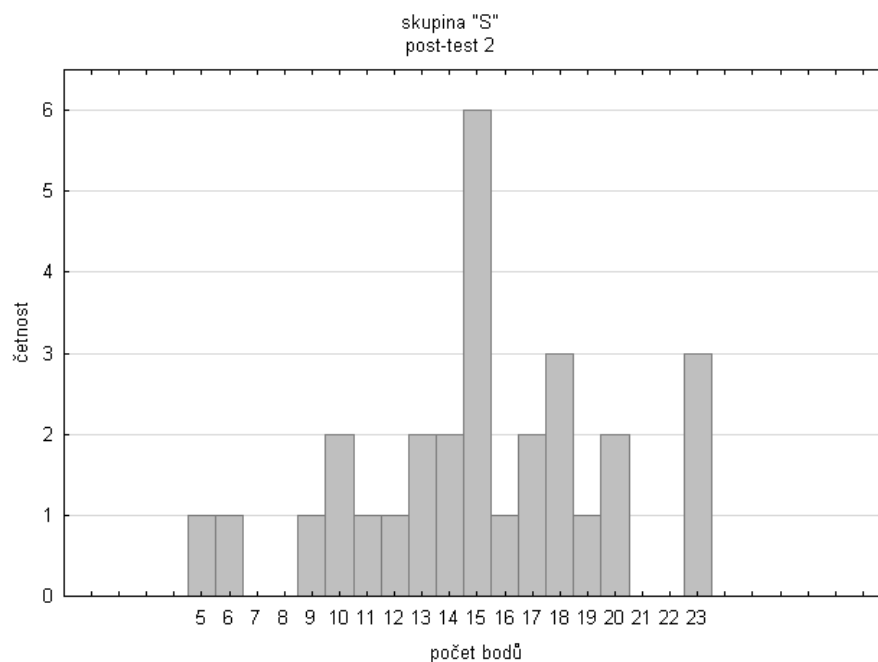
Graf 8.2.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – pre-test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 26$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



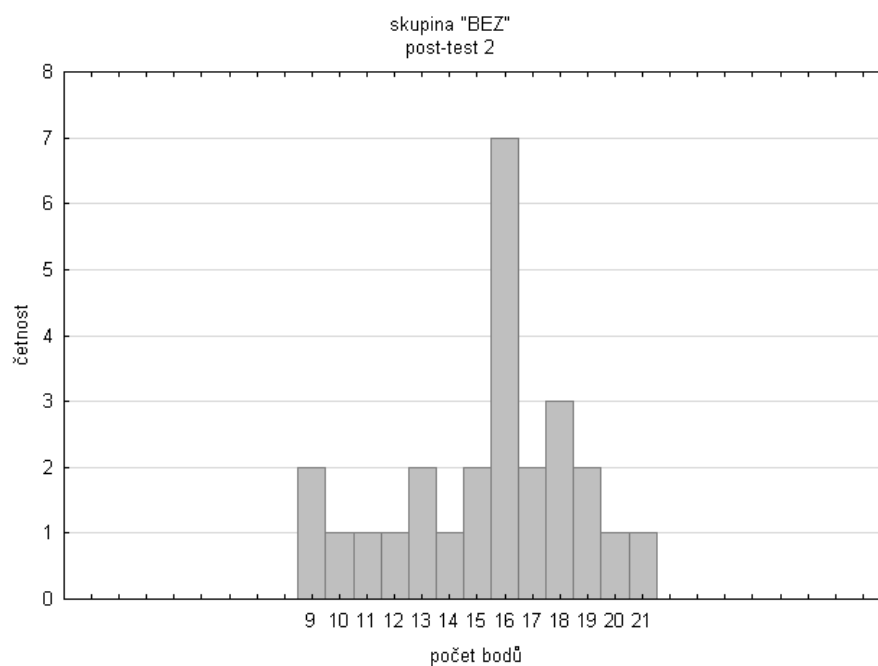
Graf 8.3.: Rozložení skóre – skupina „S“ – post-test 1 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 29$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



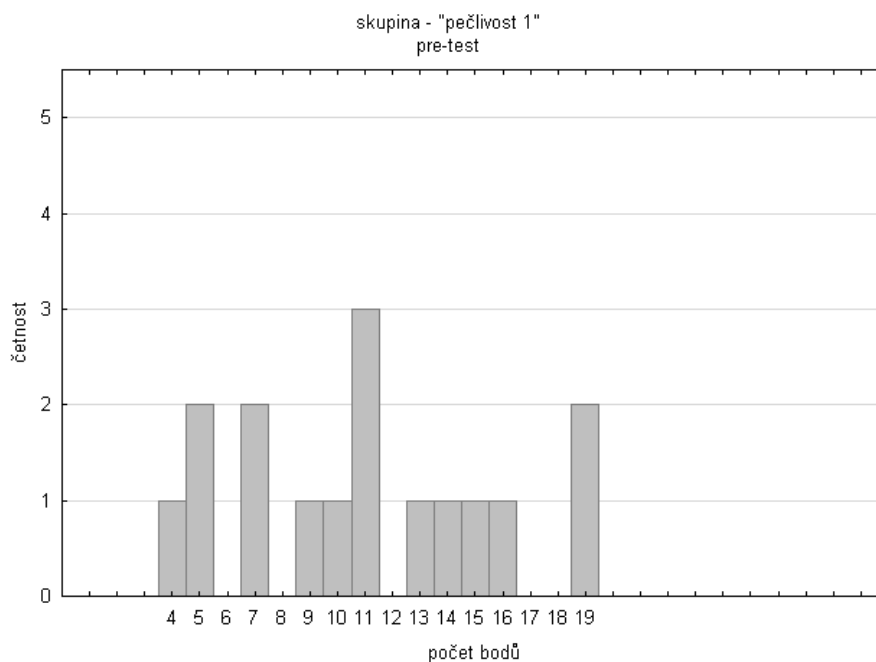
Graf 8.4.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – post-test 1 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 26$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



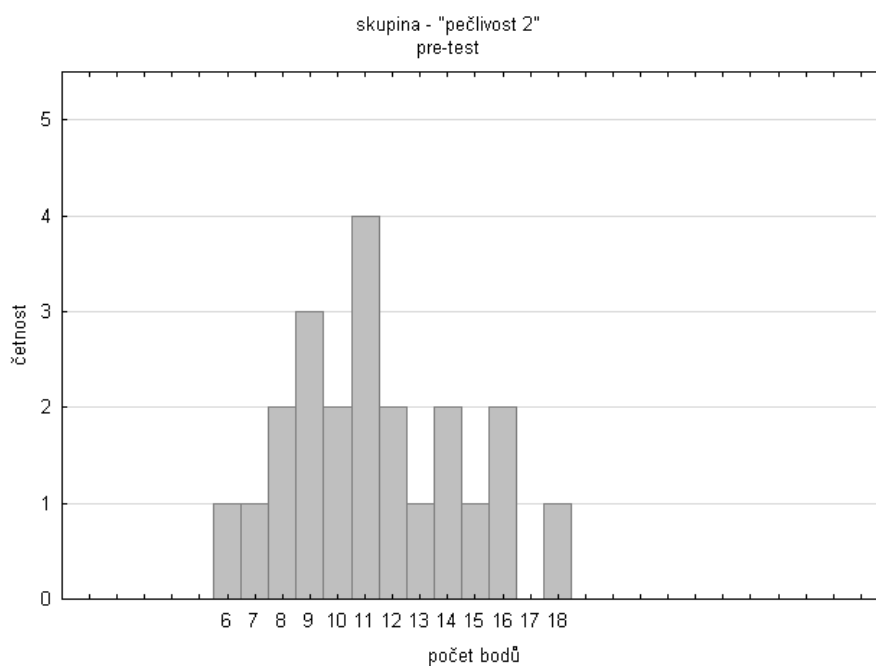
Graf 8.5.: Rozložení skóre – skupina „S“ – post-test 2 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 29$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



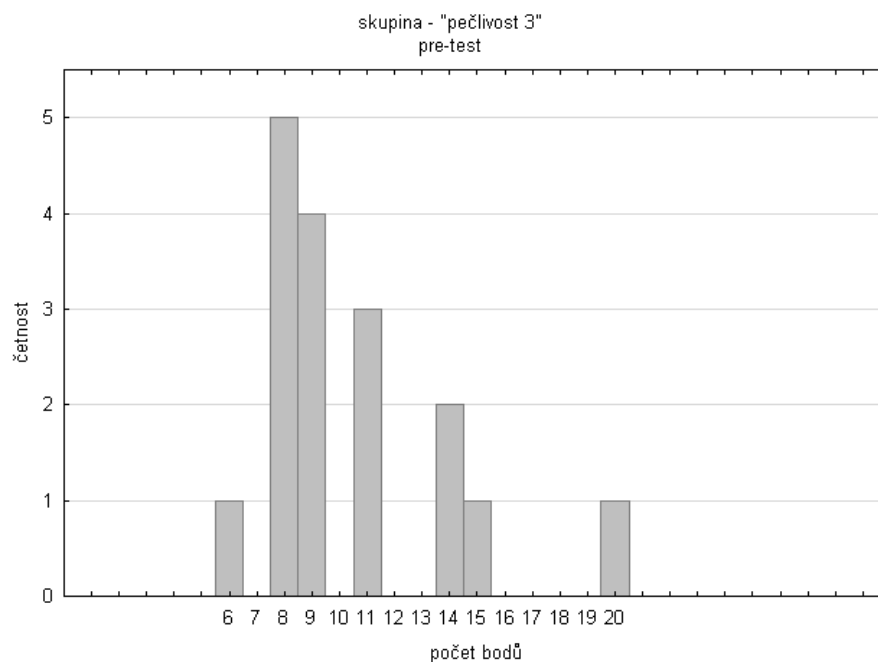
Graf 8.6.: Rozložení skóre – skupina „BEZ“ – post-test 2 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 26$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



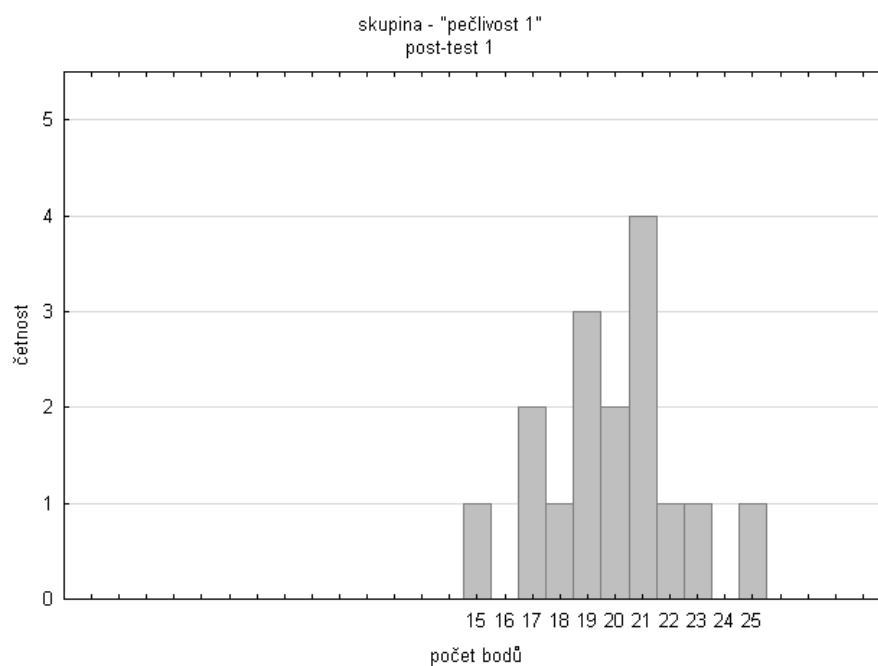
Graf 8.7.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 1“ – pre-test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 16$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



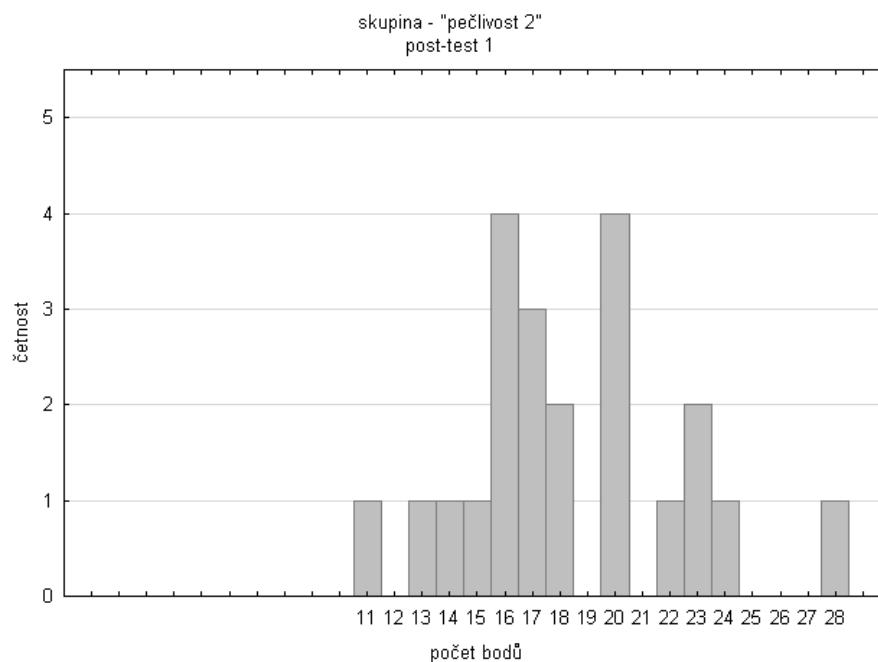
Graf 8.8.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 2“ – pre test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 22$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



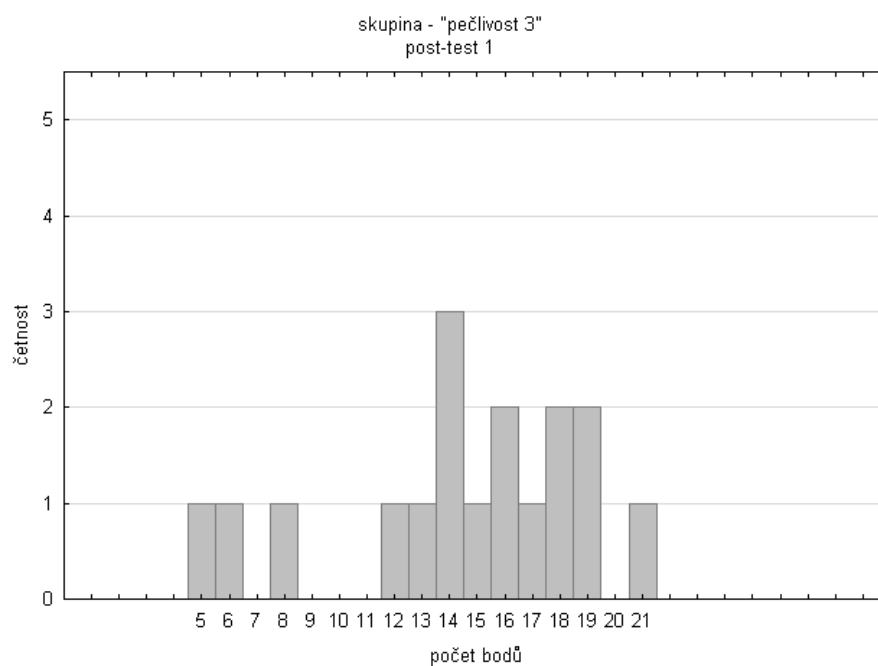
Graf 8.9.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 3“ – pre-test – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 17$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



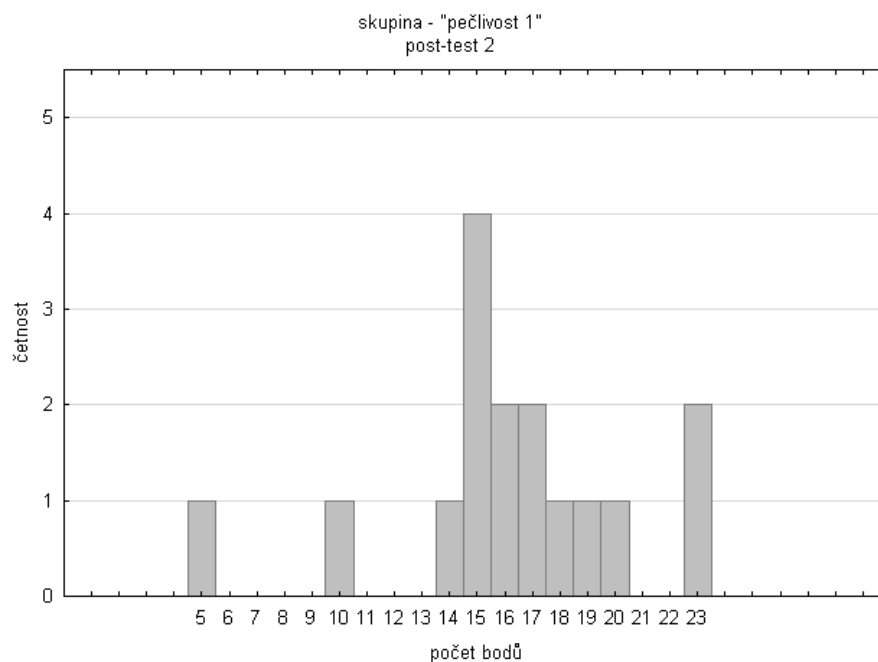
Graf 8.10.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 1“ – post-test 1 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y ($n = 16$), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



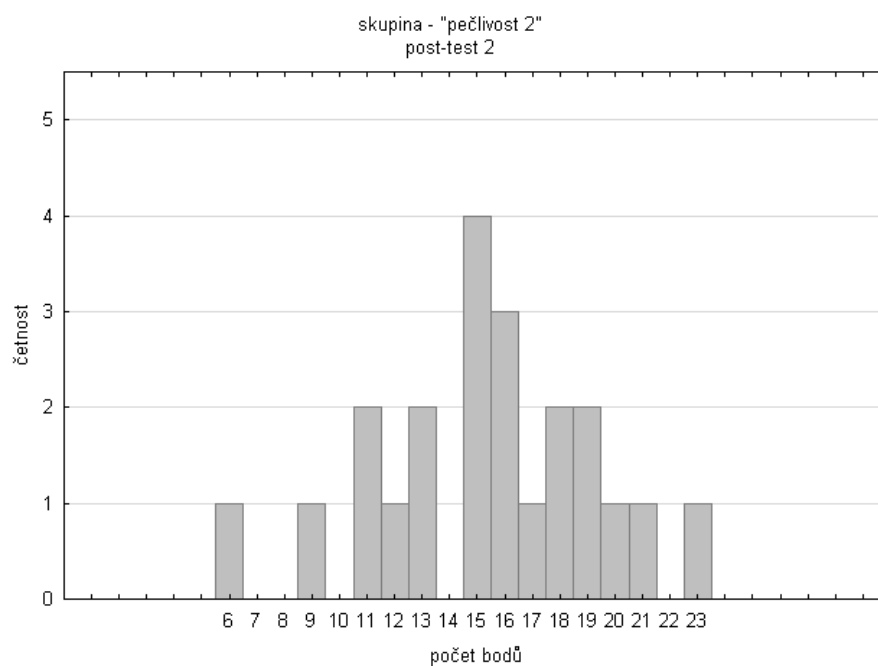
Graf 8.11.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 2“ – post-test 1 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 22), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



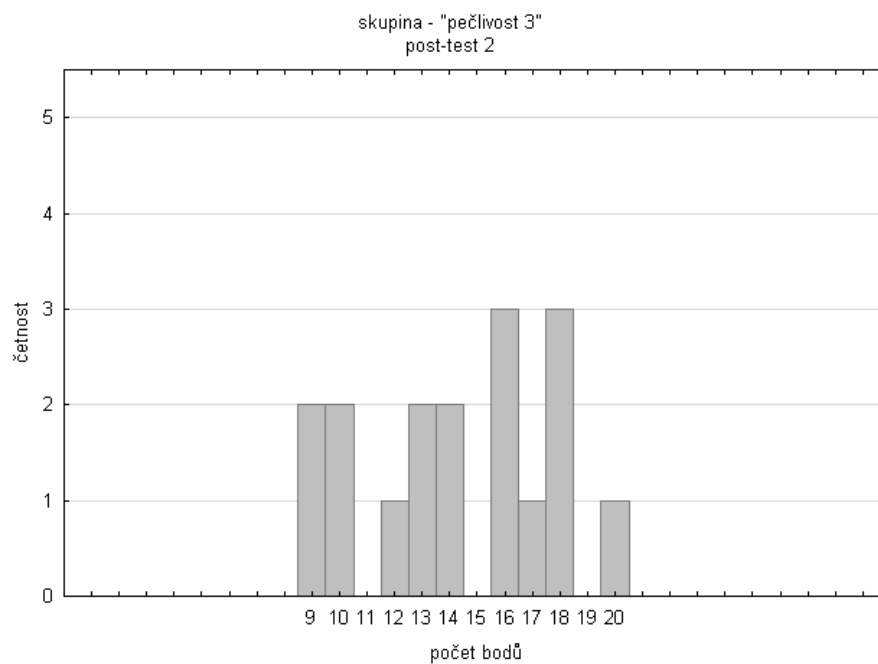
Graf 8.12.: Rozložení skóre – skupina „pečlivost 3“ – post-test 1 – počet žáků, kteří získali jednotlivá skóre bodů je uvedena na ose y (n = 17), bodová skóre jsou vynesena na ose x (maximum 30b.).



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.).