

# Praktikum 11

26. 10. a 2. 11. 2021

## 11.1 Mikroskopování hub

### 11.1.1 Definice

Mikroskopická morfologie kombinovaná s růstovými vlastnostmi patří k základním postupům při určování hub.

### 11.1.2 Půdy

Receptury jsou poněkud složitější:

Czapek-Doxův agar, modifikovaný podle Pitta (CYA):

Stopové prvky pro Czapek-Doxův agar:

Složka	Množství [g nebo ml]
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,5
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1,0
voda	100,0

Lze uchovávat neomezeně bez sterilizace.

Koncentrovaný Czapekův roztok:

Složka	Množství [g nebo ml]
NaNO <sub>3</sub>	1,0
KCl	5,0
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5,0
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,1
voda	100,0

Lze uchovávat neomezeně bez sterilizace. Případné sraženiny Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nejsou na závadu, jen se musí roztřepat (vhodné je mít tento roztok v lahvičce se sklenými kuličkami).

Samotná půda:

Složka	Množství [g nebo ml]
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0
Koncentrovaný Czapekův roztok	10,0
Roztok stopových prvků	1,0
Yeast extrakt	5,0
Sacharóza	30,0
Agar	15,0
Voda	1000,0

Sacharóza nemá obsahovat siřičitany, pH půdy je 6,7, sterilizovat při 121 °C 15 minut.

Poznámka: Komerční Czapek-Doxovy agary od různých výrobců mají odlišné složení a morfologie hub na nich může být odlišná.

### MEA (malt extract agar)

Složka	Množství [g nebo ml]
Malt extract	20,0
Pepton	1,0
Glukóza	20,0
Agar	20,0
Voda	1000,0

Poznámky: Jako Malt extract lze použít sladové výtažky z obchodů se „zdravou výživou“. pH 5,6, sterilizovat 15 minut při 121 °C, ne déle, nebo je moc měkká. Půda by se neměla opakovaně autoklávat (pokud se nevylije všechny), jen rozvařit ve vroucí vodě, jinak vůbec neztuhne. Některá pracoviště tuto půdu jen rozvařují ve vroucí vodě.

### G25N

Složka	Množství [g nebo ml]
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,75
Koncentrovaný Czapkův roztok	7,5
Yeast extrakt	3,7
Glycerol analyticky čistý	250 g
Agar	12
Voda	750

Poznámka: Starší a delší dobu otevřený glycerol obsahuje vodu a v takovém případě půda neztuhne. pH 7,0. Sterilizovat při 121 °C 15 minut.

## 11.1.3 Nasazení

Poznámka: Bylo provedeno.

CYA se (pro jeden kmen) vylévá na jednu Petriho misku 9 cm a dvě 5 cm. MEA se vylévá na jednu Petriho misku 9 cm a G25N na jednu Petriho misku 5 cm.

Všechny misky se vyočkují bodově do středu.

Velká miska CYA a misky s MEA a G25N se inkubují 5 dní při 26 - 28 °C, jedna malá miska CYA se inkubuje v chladničce a jedna při 37 °C.

Zaznamenává se nárůst (průměr kolonie) na jednotlivých půdách a teplotách. Morfologie se sleduje u CYA inkubovaného při 26 - 28 °C, na MEA tvoří některé druhy lépe plodničky.

1. na G25N dobře rostou plísňe, napadající sušší výrobky (pečivo, sladkosti, sušené mléko apod.)
2. při chladničkové teplotě vyrostou plísňe, schopné napadat takto uskladněné potraviny
3. při 37 °C vyrostou potenciálně patogenní houby (i makroskopické), jejichž „úspěšnost“ závisí na imunitě pacienta

Tj. už jen nárůst na jednotlivých půdách a při jednotlivých teplotách dává určitý obraz vlastností houby s praktickým dosahem.

### 11.1.4 Mikroskopování

Do kapky Melzerova činidla na podložním sklíčku dáme kousek mycelia z nárůstu na CYA při 26 - 28 °C, jemně roztáhneme kličkou a jehlou. Zakryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme při zvětšení 100 – 400 × (tedy objektivy 10 – 40).

Snažíme se najít rozmnožovací orgány a další význačné útvary a popsat je.

### 11.1.5 Materiál

A) Mikroskopické houby od Dr. Kubátové, na misce je jen číslo sbírkového kmene

1. *Alternaria alternata* CCF 2671 viz brožura
2. *Botrytis cinerea* CCF 4807 viz xerox
3. *Aspergillus flavus* CCF 3194 viz brožura
4. *Penicillium viridicatum* CCF 3214 viz xerox
5. *Penicillium digitatum* CCF 3270 viz xerox
6. *Aspergillus chevalieri* CCF 3291 viz brožura
7. *Fusarium cerealis* CCF 5706 hledat srpkovité makrokonidie
8. *Fusarium solani* CCF 2967 hledat srpkovité makrokonidie

Udělejte preparát ze tří kmenů od Dr. Kubátové nebo zachyceného. Zdařilé preparáty si prohlížejte vzájemně a zdokumentujte do protokolu.

## 11.2 Do protokolu

A) Co jste mikroskopovali, co jste tam viděli, případně obrázky

## 11.3 Odběrovky na sliny

Na příští praktikum dostanete odběrovky na sliny. V odběrné nádobce je kousek parafinum durum. Požvýkáte jej v den následujícího praktika se mnou hned ráno, před ústní hygienou a **i se slinou** po cca pětiminutovém žvýkání vyplivněte do odberovky. Ta slina je důležitá, ta se analyzuje!

Slinu s odběrovkou doneste do praktika. Odběrovku popište, nejlépe obyčejnou tužkou, mějte ji v plastovém sáčku (kdybyste ji málo utáhli).