

MIKROSKOPICKÉ HOUBY – CVIČENÍ III.

1. Preparát barvený podle Grama

V mykologii umožňuje podrobné pozorování mykotických organizmů při velkých zvětšeních a odlišení bakteriální kontaminace.

Materiál: kultura kvasinky

Pomůcky: podložní skla, kahan, sterilní dest. voda, barvicí roztoky, očkovací klička

Pracovní postup:

1. Na podložní sklo nanese se kapku sterilní destilované vody.
2. Sterilní kličkou nabere se kultura a rozmíchá se v kapce vody.
3. Preparát usuší se na vzduchu a fixuje se teplem, opakovaným protažením plamenem kahanu.
4. Fixovaný preparát přelijeme krystalovou violetí a necháme působit 30s.
5. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
6. Převrstvíme Lugolovým roztokem na 30s.
7. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
8. Odbarvujeme 95% etanolem, dokud odchází modrá barva (cca 20 – 30s).
9. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
10. Dobarvíme zředěným roztokem safraninu nebo karbolfuchsinu 60s.
11. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat) a necháme preparát uschnout.
12. Preparát prohlédneme imerzním objektivem při zvětšení 1000x a více.

2. Nativní preparát:

Princip: mikroskopické morfologické znaky vláknitých hub sledujeme v nativním preparátu. Protože se však jejich vlákna špatně smáčejí a v preparátu často bývají vzduchové bubliny, je lépe použít místo vody 10 až 20% vodný roztok glycerolu, který nevysychá tak rychle. Místo glycerolu lze použít i roztok laktofenolu nebo kyselinu mléčnou.

Materiál: kultury vláknitých hub

Pomůcky: podložní a krycí sklo, preparační jehla, kyselina mléčná

Pracovní postup:

1. Na podložní sklo nanese kapku kyseliny mléčné.
2. Sterilní preparační jehlou přeneseme z kolonie mikromycety malé množství mycelia s fruktifikačními orgány do kapky kyseliny mléčné (nejlépe dvěma preparačními jehlami). U kultur silně sporulujících odebíráme mycelium na rozhraní mezi zbarvenou částí kolonie a bílým okrajem, aby v preparátu nebylo příliš mnoho konidií. Mycelium neroztíráme, abychom nepoškodili fruktifikační orgány – pouze jehlami uvolníme jednotlivá vlákna do kapaliny.
3. Opatrně přikryjeme krycím sklem (nepřítiskujeme!) a přebytečnou kapalinu odsajeme ze strany filtračním papírem.
4. Preparát bez další úpravy prohlédneme suchým objektivem, nejprve slabým zvětšením (objektiv 10x), postupně pak silnějším zvětšením (objektiv 40x a 100x)

Sledujeme:

- charakter mycelia (šířku vláken, barvu a strukturu mycelia, přepážky (septa) – přítomnost a rozložení, způsob větvení)
- charakter, způsob tvoření (konidiogeneze) a uspořádání fruktifikačních orgánů (např. sporangiofory, konidiofory, sporangia, kolumela, fialidy, konidie, zygospory, askospory aj.)
- přítomnost a charakter jiných útvarů (chlamydospory).

3. Identifikace vláknitých hub řádu *Mucorales*

Hodnocení:

- I. znaky makroskopické, které určíme z charakteru růstu
- II. znaky mikroskopické, které zjistíme pomocí nativního preparátů

Výsledky : popíšeme veškeré mikroskopické znaky mikromycety. Současně popíšeme i makroskopické morfologické znaky (zápis provedeme do přiloženého identifikačního protokolu)

Závěr: provedeme identifikaci do rodu

Charakteristické znaky řádu *Mucorales*

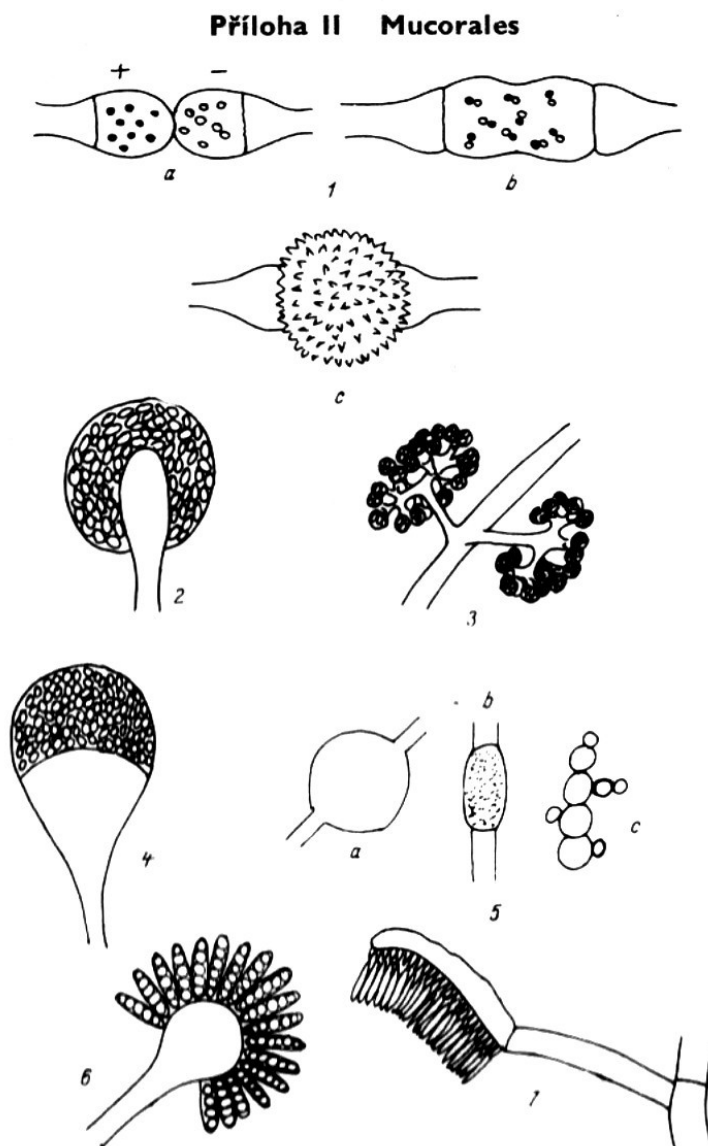
Zástupci tohoto řádu vytváří řídké vatovité nebo plstnaté vzdušné mycelium velmi rychle rostoucí. Stélku těchto hub tvoří převážně mnohojaderné mycelium bez přehrádek a proto je zvláště u mladého mycelia dobře pozorovatelné proudění plazmy. Přepážky se vyskytují pravidelně pod rozmnožovacími orgány a ve stáří nepravidelně v průběhu mycelia. Pro rozlišení rodů a druhů řádu *Mucorales* se používají především znaky nepohlavního rozmnožování, které se uskutečňuje sporangiosporami vznikajícími ve sporangích vyrůstajících na zvláštních vláknkách – sporangioforech.

Mucor - sporangiofory jsou ukončeny sporangii bez apofýzy, s kolumelou kulovitou, oválnou nebo hruškovitou.

Rhizopus – sporangiofory se tvoří obvykle ve svazcích a nebývají větvené. Vznikají na výhoncích (stolonech), které tvoří velmi často na pevném podkladu rozvětvené, tmavě hnědé rhizoidy. Kolumela má vyvinutou apofýzu. Po prasknutí sporangiální stěny se kolumela s apofýzou kloboukovitě obrací.

Rhizomucor - sporangiofory bývají větvené. Přítomny stolony a hnědé rhizoidy.

Absidia – sporangiofory vyrůstají ve svazcích na výhoncích s rhizoidy. Kolumela kuželovitá, často má na vrcholu papilu nebo ostřejší výčnělek. Sporangiofor přechází do sporangia širokou apofýzou.



Obr. 1. Tvorba zygospory u Mucorales (orig.)

a — setkání konců plus a minus mycelií,
b — zygota, c — zygospora

Obr. 2. Mnohosporické sporangium s kolumelou u r. Mucor (orig.)

Obr. 3. Část sporangioforu se sporangii u rodu Thamnidium (podle Zychy)

Obr. 4. Sporangium s apofýzou a kolumelou u rodu Absidia (orig.)

Obr. 5. Různé formy vegetativních buněk u Mucorales (orig.)

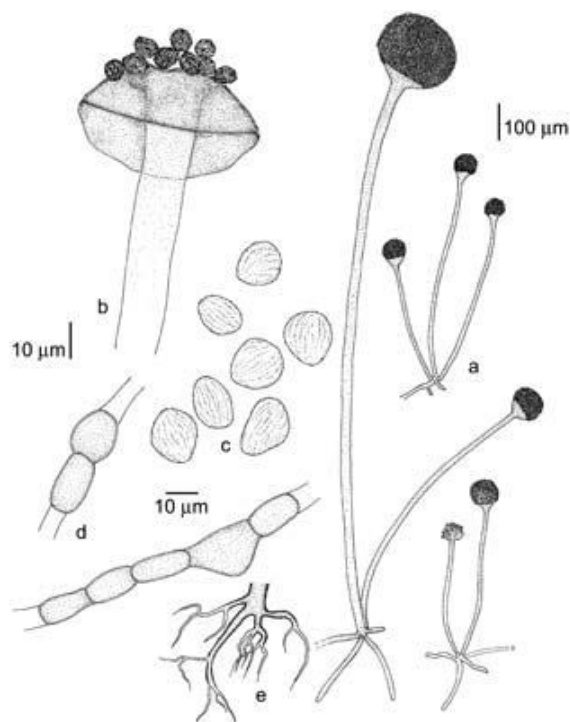
a — obří buňka, b — gema, c — pučící buňky

Obr. 6. Rozšířený konec sporangioforu s merosporangii (orig.)

Obr. 7. Sporokladium s filamenty a s konidii u Mucorales (podle Arxe)

Rhizopus oryzae CCM 8284

[Fungi](#), [Zygomycota](#), [Mucoromycotina](#), [Mucorales](#), [Mucoraceae](#), [Rhizopus](#)

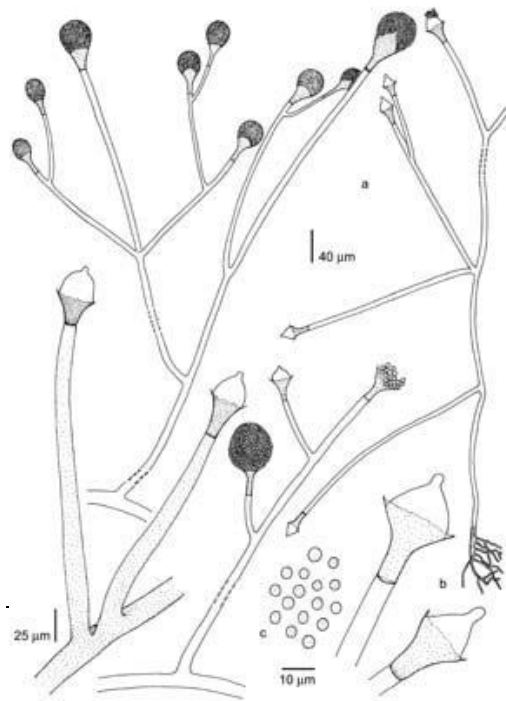
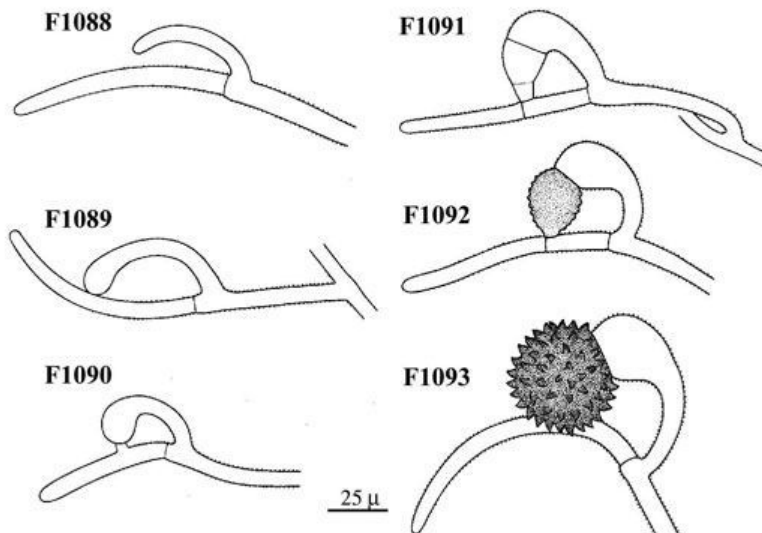


- a. nevětvené sporangiofory s rhizoidy
- b. kolumela s apofýzou
- c. sporangiospory
- d. chlamydospory
- e. rhizoidy

Zygorhynchus moelleri CCM 8022 - zygospory

[Fungi](#), [Zygomycota](#), [Mucoromycotina](#), [Mucorales](#), [Mucoraceae](#), [Zygorhynchus](#)

2-655 *Zygorhynchus moelleri*



Absidia coerulea CCM 8230

[Fungi](#), [Zygomycota](#), [Mucoromycotina](#), [Mucorales](#), [Mucoraceae](#), [Absidia](#)

- a. větvené sporangiofory s rhizoidy
- b. kolumela s apofýzou
- c. sporangiospory

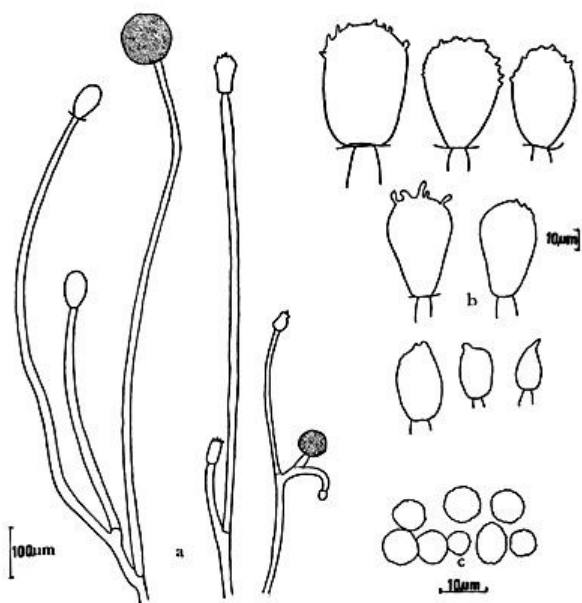
Mucor plumbeus CCM F-443

[Fungi](#), [Zygomycota](#), [Mucoromycotina](#), [Mucorales](#), [Mucoraceae](#), [Mucor](#)

a. větvené sporangiofory

b. kolumely hruškovité, obvejčité s uťatou bází nebo válcovitě elipsovité, s patrným límečkem na bazi, často s několika výběžky na vrcholu

c. sporangiospory



Rhizomucor miehei CCM F-703

[Fungi](#), [Zygomycota](#), [Mucoromycotina](#), [Mucorales](#), [Mucoraceae](#), Rhizomucor

- a. sympodiálně větvené sporangiofory
- b. sporangiospory
- c. zygospora

