

Doporučení pro mikroskopická cvičení z hub na základních a středních školách

Jiří Kout

Abstrakt: Pro praktická mikroskopická cvičení z houbových organismů jsou na středních školách většinou používány žampiony (pečárky), kvasinky a „plísň“. Příspěvek nabízí učitelům vhodnější materiál pro pozorování rozmnožovacích struktur vřecovýtrusých i stopkovýtrusých hub. Je vysvětlen celý postup při přípravě mikroskopických preparátů z doporučených skupin hub. Pro názornost jsou zobrazeny vybrané houby na fotografiích v terénu i pod mikroskopem.

Klíčová slova: Thelephorales, *Thelephora*, Pezizomycetes, *Peziza*, vřecko, bazidie.

Abstract: A practical part of education about Fungi is executed mainly by microscopy of *Agaricus*, yeast-plants and some moulds at the high school. This contribution offers more suitable materials for observation of reproductive structures of Ascomycota and Basidiomycota. All procedures of microscopic preparations are explained. The recommended groups of fungi are presented at photos in the field and under the microscope.

Key words: Thelephorales, *Thelephora*, Pezizomycetes, *Peziza*, ascus, basidium.

KOUT, J. 2013. Doporučení pro mikroskopická cvičení z hub na základních a středních školách. *Arnica*, 1–2, 19–21. Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň. ISSN 1804-8366.

Rukopis došel 19. září 2013; byl přijat po recenzi 7. prosince 2013.

Jiří Kout, Centrum biologie, geověd a envigogiky, Fakulta pedagogická, Západočeská univerzita v Plzni, Klatovská 51, Plzeň, 306 19, Česká republika; e-mail: martial@seznam.cz

Úvod

Říše houby (Fungi) je stále značně opomíjenou skupinou na všech úrovních. Ani ve školních osnovách tomu není jinak. Stačí si porovnat rozsah vyučované látky věnované rostlinám a houbám na základních (Kvasničková et al. 1993, 1995) i středních školách (Kubát et al. 2003). Skutečný počet druhů hub rostliny převyšuje. Houby tvoří samostatnou říši, prokazatelně příbuznější živočichům nežli zeleným rostlinám (Baldauf a Palmer 1993).

Houby se objevují pravidelně v laboratorních cvičeních na středních školách v rámci výuky botaniky. Jednoduchým pokusem je získání výtrusného prachu z klobouku stopkovýtrusých hub a jeho případné mikroskopování. Výtrusy však nebývají nijak výrazné. Vhodnější jsou druhy s tmavším hymenoforem, které mívají obecně i tmavý výtrusný prach. Takové výtrusy jsou lépe pozorovatelné pod mikroskopem i ve vodě. Je dobré si ještě před samotným cvičením vyzkoušet, jak jsou výtrusy různých skupin hub vhodné pro pozorování.

V praktických cvičeních se žáci často pokouší určit nalezené druhy hub. Nicméně snaha o určování donesených hub podle různých atlasů nemusí vždy skončit úspěchem. Zde je třeba upozornit na značnou biodiverzitu hub a rozhodně nepodléhat dojmu, že druhy lze poznat snadno podle obrázků. Je tomu spíše naopak. Pro přesnou determinaci hub na druho-
vé úrovni hraje často zásadní úlohu charakteristiky

mikroskopických struktur. K tomu je nutná moderní mykologická literatura, která je ale většinou nedostupná v českých překladech. Vhodným příkladem mohou být známé holubinky. V běžném atlase se objevuje okolo 30 vyobrazených druhů (např. Kluzák et al. 1985), ve skutečnosti se však u nás vyskytuje přes 150 druhů holubinek (Socha et al. 2011), a pokud zapátráme v odborné literatuře, počet druhů se ještě navýší.

Základem mikroskopických cvičení bývají tradičně zástupci hub z různých větších taxonomických skupin: kvasinky (jednotlivé buňky), plísňové organismy (konidiofory) a ze stopkovýtrusých hub to bývá zakoupený žampion. Nicméně zvolený objekt z tzv. vyšších hub není zcela vhodný. Málkomu se podaří u žampionů pozorovat bazidie se sterigmaty, neboť jsou velmi malé. Tento příspěvek snad učitelům biologie (přírodopisu) přinese námět, jak zlepšit názornost mikroskopických praktik houbových organismů. Cílem je zřetelně pozorovat nejen spory, ale i bazidie a vřečka, které studenti často znají jen v podobě nákre-
sů z učebnic.

Metodika

Pro přípravu mikroskopických preparátů jsou nejvhodnější čerstvé vzorky hub, neboť se s nimi pracuje snáze nežli s vyschlými položkami. Ne vždy si však můžeme čerstvý materiál zajistit, a proto není problém si nalezené houby po usušení (správně je sušení při nižší

teplotě, okolo 50 °C) uschovat pro budoucí potřebu. U sušených položek se při přípravě mikroskopického preparátu nechá materiál nasát změkčujícím roztokem nebo je možné rovnou zhotovit tenké řezy žiletkou. V případě nevhodného skladování houbových položek (ve vlhku, v nedostatečně uzavřených obalech) existuje možnost jejich poškození hmyzem nebo zplsnivění. Pro uchování dobře vysušených hub jsou velmi praktické malé uzavíratelné plastové sáčky.

Příprava mikroskopického preparátu je jednoduchá. Preparační jehlou odebereme malý kousek výtrusorodé vrstvy (zcela postačuje drobný vzorek na špičce jehly) nebo se můžeme pomocí žiletky pokusit o tenké řezy hymenoforem. Následně vložíme materiál na podložní sklíčko do preparačního média. Další úprava preparátu může probíhat roztrháním preparačními jehlami na co nejmenší části nebo rozvolněním vzorku pouhým jemným roztláčením po přiložení krycího sklíčka. Metoda záleží na tuhosti vybraných plodnic. U řezů krycí sklíčko jen přikládáme a jeho jemným přitlačení se zbavíme případných vzduchových bublin.

Preparační médium si volíme podle druhu zkoumané houby: 5% roztok KOH od sebe snadněji oddělí hyfy, lze také použít pouze vodu s přidávkou roztoku saponátu. Pro vyvolání amyloidní reakce je nutné použít roztok jodu, který výrazně barví. Amyloidní reakcí vznikne šedomodré až jasně modré zbarvení preparátu v některých částech pozorovaných struktur. Takový preparát je výrazně pestřejší nežli preparát připravený v pouhé vodě. Mykologové používají pro tento účel Melzerovo činidlo, které však obsahuje jedovatou složku (chloralhydrát). Pro školní potřeby se spíše hodí Lugolův roztok, avšak ten neposkytuje tak dobré výsledky.

Praktická část

Mikroskopický preparát pro pozorování věceček

Nejvhodnějším materiálem pro pozorování věceček jsou čerstvé plodnice nějakého, pokud možno velkého druhu diskomycetu (apothecium ve tvaru disku, mísky, kalíšku). Např. zástupci čeledě *Pezizaceae* (řasnatky apod.) mívají pravidelně větší plodnice (zhruba nad 1 cm) a jejich věcečka navíc charakterizuje amyloidní reakce, alespoň v apikální části.

Plodnice diskomycetů mohou mít různé barvy od nenápadně hnědé (obr. 1) až po křiklavé zbarvení (obr. 2). Vyrůstají na rozličných místech v lesích i mimo ně, často na narušeném podkladu (při krajích cest apod.) a upřednostňují vlhčí stanoviště. Výtrusorodé rouško (thecium) se nachází uvnitř mističkovité plodnice, tedy nikoliv na spodní straně jako u většiny stopkovýtrusých hub. Plodnice mohou mít i třeh.

Pod mikroskopem uvidíme v preparátu hlavně palisádovitě uspořádaná věcečka, která jsou dostatečně velká i pro pozorování ve školních mikroskopech, často opticky méně dokonalých. Rozměry věcečka kolísají (záleží na konkrétním druhu), ale jejich délka se pohybuje ve stovkách mikrometrů. Pokud použijeme roztok jodu, dostaneme amyloidní reakci věceček (obr. 3). Uvnitř obvykle napočítáme osm spor (tzv. askospor). Charakter spor záleží na konkrétním druhu; mohou být hladké i výrazně hrubé (obr. 3), většinou elipsoidní, s rozměry přibližně kolem 20 × 10 μm. Mezi věcečky je možné odlišit sterilní útvary (zvané parafýzy), které však nebývají tak nápadné.

U čerstvých plodnic čeledi *Pezizaceae* je příprava preparátu pro mikroskopování velmi snadná. Pro školní účely je výhodné použít Lugolův roztok. Vznikne oranžově podbarvený preparát s modravým zbarvením (přinejmenším vrcholů věceček). Je vhodné zkusit si připravit preparát s dostatečným předstihem před samotným praktikem, protože ne vždy musí být houba plodná; výtrusy najdeme spíše ve starších plodnicích. Mladou plodnicí se můžeme pokusit nechat dozrát na Petriho misce s vlhkým substrátem umístěné v chladničce až po dobu několika dní.

Mikroskopický preparát pro pozorování bazidií

Vhodným objektem pro pozorování bazidií i spor stopkovýtrusých hub jsou někteří zástupci čeledi plesňákovitých (*Thelephoraceae*), a to s velkými bazidiemi i výtrusy. Nejznámějším rodem celé skupiny je plesňák (*Thelephora*).

Z tohoto rodu roste v České republice nejčastěji plesňák zemní (*Thelephora terrestris*, obr. 4), od léta do podzimu na zemi a někdy i na starých pařezech, většinou ve smrkových a borových lesích. Plodnice vytrvávají na lokalitě několik měsíců. Jde o hojnou houbu narušených stanovišť (paseky, lesní cesty, obnažené minerální půdy), ale velmi často ji v době, kdy je jí zapotřebí pro pozorování, nenalezneme. Před plánovaným mikroskopickým praktikem je proto vhodné zjistit si nějakou vhodnou lokalitu nebo si uchovat sušenou položku. Plodnice mají nenápadné hnědavé zbarvení, někdy do šeda až černa, v době aktivního růstu bývá na okrajích světlý pruh. Základním tvarem plodnic jsou ploché klobouky přecházející v krátkou třehovou část. Svrchní strana klobouků je štětičkovitá, spodní nese bradavičnatý hymenofor s výtrusorodou vrstvou (obr. 5). Nicméně tvary bývají rozmanité, jednotlivé plodnice mohou splývat, známé jsou i jejich zcela rozlité formy (*Thelephora terrestris* f. *resupinata*).

Mikroskopický obraz plesňáku se skládá z tenkostěnných bezbarvých generativních hyf a vrstvy hymenia.

Hyfy nad přepážkou nesou přezku, která je vedle výtrusorodé vrstvy další dobře demonstrovatelnou strukturou. Hymenium charakterizují velké ostnitě spory hnědavé barvy, nepravidelně laločnaté, o velikosti $7\text{--}12 \times 5\text{--}9 \mu\text{m}$, a rozměrné, snadno pozorovatelné bazidie, často s délkou přes $40 \mu\text{m}$ ($40\text{--}90 \times 9\text{--}12 \mu\text{m}$), s dobře viditelnými čtyřmi sterigmaty (obr. 6). Plesňák tak v názornosti mikroskopického obrazu jednoznačně předstihuje běžně používané pečárky, v nichž je většinou silný lupen, spousta nevýrazných výtrusů, mezi nimiž se jen obtížně daří nalézt malinké růžky sterigmat od bazidie (u běžně prodávaného druhu *Agaricus bisporus* jsou navíc poměrně netypicky pouhá dvě sterigmata a bazidie dosahují délky okolo $20 \mu\text{m}$).

Preparát lze velmi dobře připravit v kapce 5% roztoku KOH, protože rod *Thelephora* má tzv. monomitický hyfový systém. To znamená, že neobsahuje ve své dužnině tlustostěnné skeletové hyfy, které dávají tvrdost např. chorošům.

Závěr

Článek přináší nové podněty na vylepšení mikroskopických praktik houbových organismů při výuce na základních a středních školách. Pro pozorování rozmnožovacích mikroskopických struktur (bazidie, věcka) jsou doporučovány běžně nepoužívané skupiny hub. Je samozřejmě možné experimentovat a pokoušet se mikroskopovat v podstatě kterékoliv houby, ale často se pak setkáváme s druhy, jejichž morfologie je nevýrazná a málo reprezentativní.

Poděkování

Článek vznikl s podporou projektu EXLIZ – CZ.1.07/2.3.00/30.0013, který je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky. Autor děkuje T. Chalušovi a K. Tejkalovi za poskytnutí fotografických snímků a svolení k jejich použití v článku.

Literatura

- BALDAUF, S.L. & PALMER, J.D. 1993. Animals and fungi are each other's closest relatives: congruent evidence from multiple proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90: 11558–11562.
- KLUZÁK, Z., SMOTLACHA, M., ERHART, J. & ERHARTOVÁ, M. 1985. *Poznáváme houby*. Svěpomoc, Brno. 372 pp.
- KUBÁT, K. A KOL. 2003. *Botanika*. Scientia, Mníšek pod Brdy. 232 pp.
- KVASNIČKOVÁ, D., JENÍK, J., PECINA, P., FRONĚK, J. & CAIS, J. 1993. *Přírodopis pro 5. ročník ZŠ*. Fortuna, Praha. 139 pp.

KVASNIČKOVÁ, D., JENÍK, J., PECINA, P., FRONĚK, J. & CAIS, J. 1995. *Přírodopis pro 6. ročník ZŠ*. Fortuna, Praha. 77 pp.

SOCHA, R., HÁLEK, V., BAIER, J. & HÁK, J. 2011. *Holubinky [Russula]*. Academia, Praha. 518 pp.

Barevná obrazová příloha článku se nachází na 3. straně obálky časopisu.

Summary – Some recommendations for microscopic exercise of fungi in primary and secondary schools

The article presents some new ideas for teachers of primary and secondary schools to improve their microscopic course about fungi. For microscopic observations of reproductive structures (basidia and asci) are recommended less known groups of fungi, which are clearly visible even in lower-quality microscopes. Asci (over $100 \mu\text{m}$) and large ascospores (about $20 \mu\text{m}$ in length) are well observed in the group *Pezizaceae*, namely *Peziza* genus. Moreover, we can demonstrate amyloid reaction of asci in Melzer's reagent in *Pezizaceae*. Large basidia (over $30 \mu\text{m}$) are known from some thelephoroid fungi. A suitable species for microscopic course is common and well delimited *Thelephora terrestris* from conifer forests. Basidia of this species possess four obvious sterigmata and remarkable brownish spiny basidiospores. Of course, it is possible to try to microscope whatever fungi, but then we meet often microscopically inconspicuous species. The figures (even the microstructures) of selected fungi are presented for better imagination of whole proposed microscopic course.

Fig. 1. *Peziza arvernensis*; photo by T. Chaluš

Fig. 2. *Peziza pseudoviolacea* on the post-fire site; photo by T. Chaluš

Fig. 3. *Peziza limnaea* – microscopic mount in Melzer's reagent, amyloid asci with ornamented spores; photo by author

Fig. 4. *Thelephora terrestris*; photo by K. Tejkal

Fig. 5. *Thelephora terrestris* – detail view on the hymenophore; photo by K. Tejkal

Fig. 6. *Thelephora terrestris* – basidia and spores in KOH; photo by author.

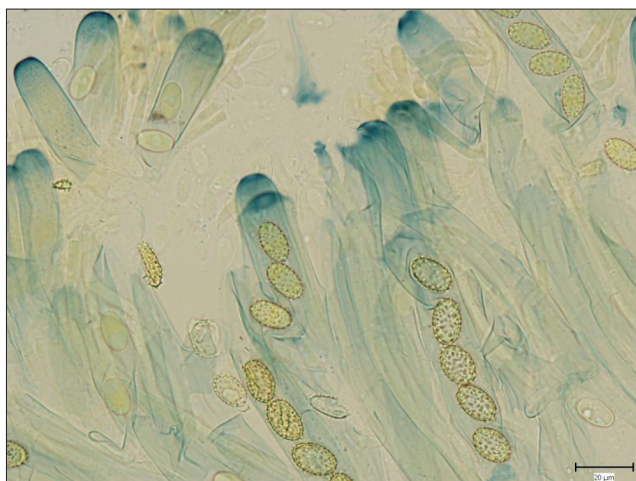
The colour figures are inside the cover.



Obr. 1. Řasnatka lesní (*Peziza arvernensis*); foto T. Chaluš
Fig. 1. *Peziza arvernensis*; photo by T. Chaluš



Obr. 2. Řasnatka fialová (*Peziza pseudoviolacea*) na spáleništi; foto T. Chaluš
Fig. 2. *Peziza pseudoviolacea* on the post-fire site; photo by T. Chaluš



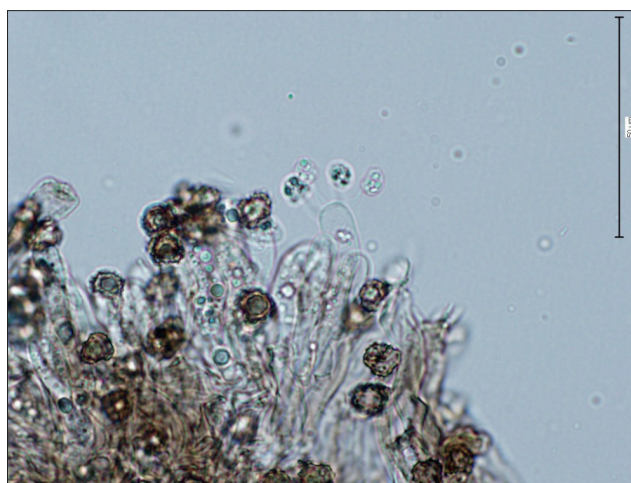
Obr. 3. Řasnatka mokřadní (*Peziza limnaea*) – mikroskopický preparát v Melzerově činidle, amyloidní vřečka s ornamentovanými výtrusy; foto autor
Fig. 3. *Peziza limnaea* – microscopic mount in Melzer's reagent, amyloid asci with ornamented spores; photo by author



Obr. 4. Plesňák zemní (*Thelephora terrestris*); foto K. Tejkal
Fig. 4. *Thelephora terrestris*; photo by K. Tejkal



Obr. 5. Plesňák zemní (*Thelephora terrestris*) – detail hymenoforu; foto K. Tejkal
Fig. 5. *Thelephora terrestris* – detail view on the hymenophore; photo by K. Tejkal



Obr. 6. Plesňák zemní (*Thelephora terrestris*) – bazidie a spory v KOH; foto autor
Fig. 6. *Thelephora terrestris* – basidia and spores in KOH; photo by author