

METODIKA

Mikroskopické houby

Atlas představuje 153 druhů mikroskopických vláknitých saprotrofních vřeckovýtrusných hub. Většina z nich je založena na fotografiích kmenů uchovávaných ve Sbírcce kultur hub (CCF) katedry botaniky přírodovědecké fakulty UK v Praze (kmeny označené CCF). Využity byly též izoláty ze studijní sbírky A. Kubátové (kmeny označené AK). Seznam všech použitých kmenů hub viz v Příloze 1.

Použitá agarová média

Při práci bylo využito celkem 20 agarových médií. Jejich složení a příprava jsou uvedeny v Příloze 2, kde jsou upořádány abecedně podle zkratk. Inokulace na agarová média byla prováděna buď vpichem doprostřed Petriho misky nebo do tří bodů. U hub se snadno se šířícími sporami (např. *Penicillium*, *Aspergillus*) byla nejdříve připravena suspenze spor v 0,2 % polotekutém agarovém médiu s Tweenem 80 (smáčedlo) a teprve poté byla tato suspenze inokulována kličkou na Petriho misky.

Doporučovaná média pro identifikaci jednotlivých skupin hub:

- Teleomorfní zástupci ř. Eurotiales (např. *Byssochlamys*, *Talaromyces* aj.) – CZ, CYA, MEA, pro osmofilní houby (*Eurotium*) též DG18, CY20S.
- *Penicillium* – CZ, CYA, MEA.
- *Aspergillus* – CZ, CYA, MEA, osmofilní zástupci též DG18, CY20S.
- Onygenales (např. dermatofyta) – CMA, OA, SAB, MEA, PCA aj.
- Ophiostomatales – OA, CMA, PCA, PDA, média s kouskem dřeva.
- *Microascales* – MEA, OA, CMA, PCA.
- *Fusarium* – PDA, PSA, SNA
- *Acremonium*, *Verticillium*, *Trichoderma* aj. – MEA, OA, CMA, PCA, + stonek lupinu.
- Sordariales (např. *Chaetomium*) – OA, CMA, MEA, stonek lupinu, celulozní substráty.

Některé houby významné z potravinářského a lékařského hlediska, např. zástupci rodu *Aspergillus*, byly pro srovnání kultivovány též na médiích používaných v lékařské a hygienicko-potravinářské praxi (SAB, GKCH).

Kultivační podmínky

Houby byly kultivovány většinou ve tmě v termostatu při 25°C, případně při 37°C. Pro indukci sporulace byly některé kmeny kultivovány při osvětlení černým světlem („black light“) blízkým UV záření. Pro fuzária se doporučuje kultivace při střídání 12 hod. tmy a 12 hod. černého a bílého umělého světla.

Kultivace probíhala různě dlouhou dobu v závislosti na rychlosti růstu houby: 7, 10, 14, 21, 28 dní, ojedinele i déle u pomalu rostoucích hub.

Pozorovací média

Při přípravě mikroskopických preparátů byla použita dvě pozorovací média: kyselina mléčná obarvená bavlnovou modří (LA) a Melzerovo činidlo (ME). Složení viz v Příloze 2. Při přípravě preparátů s kyselinou mléčnou byl v některých případech k preparátu přikápnut ethanol, aby se zvýšila smáčivost objektu.

Fotodokumentace

Snímky kolonií hub byly pořízeny většinou na skeneru (HP OfficeJet G55), některé též digitálním fotoaparátem (Sony DSC F717).

Makrofotografie povrchu kolonií byly zhotoveny na binokulární lupě (Olympus SZX 12) opatřené digitálním fotoaparátem (Olympus C-7070 WZ).

Mikrofotografie byly pořízeny na světelném mikroskopu Olympus BX51 vybaveném digitálním fotoaparátem Olympus C50-50 a softwarem QuickPhoto Micro 2.0.

Autorem všech snímků kolonií hub, makrofotografií i mikrofotografií ze světelného mikroskopu je A. Kubátová.

Skenové fotografie zhotovil Mgr. Jiří Machač, Optická laboratoř, Botanický ústav AV ČR. Snímky byly pořízeny na rastrovacím elektronovém mikroskopu FEI Quanta 200, technikou ESEM (Environmental Scanning Electron Microscope, příp. Environmental Mode; česky: technika environmentálního rastrovacího elektronového mikroskopu, či stručně: environmentální mód). Tato technika se používá pro snímání živých vzorků v jejich přirozeném stavu (bez pokovení, či jiné preparace). Komora mikroskopu se v uvedeném režimu stává tzv. environmentální komorou, s vakuem porušeným atmosférou obsahující vodní páry (tlak v komoře řádově ve stovkách Pa), které chrání vzorek před nadměrným vysoušením a zabraňují elektrickému nabíjení jeho povrchu.

K potlačení větší náchylnosti snímaného materiálu jak k vysychání vlivem nízkého tlaku v komoře mikroskopu, tak k tvorbě artefaktů při delším vystavení elektronovému svazku, byly vzorky navíc chlazeny (-10°C až -20°C) pomocí Peltierova termoelektrického modulu s externím vodním chladičem.

Ke snímání bylo použito speciálního polovodičového detektoru GSED (Gaseous Secondary Electron Detector), zvláště citlivého k signálu tvořenému sekundárními elektrony (tj. elektrony vyraženými z povrchu vzorku) a zesílenému ionizací vodních par v komoře mikroskopu.

Všechny fotografie byly upravovány v programu ACDSee Verze 4.0 (2001).