



## 102. Plísňě III. - askomycety - kropidlák (*Aspergillus*)

### Parametry úlohy

	<b>Obtížnost:</b>	<i>středně těžké</i>
	<b>Časová náročnost:</b>	<i>30 minut</i>
	<b>Materiálová náročnost:</b>	<i>středně náročné</i>
	<b>Druh materiálu:</b>	<i>ostatní</i>
	<b>Čím pozorujeme:</b>	<i>mikroskop i stereomikroskop</i>
	<b>Téma:</b>	<i>Houby a lišejníky</i>
	<b>Roční období:</b>	<i>září, říjen, listopad, prosinec, leden, únor, březen, duben, květen, červen</i>



### Teoretický úvod

Většina plísní, se kterými se můžeme v běžném životě setkat, patří z hlediska systematického do skupiny hub **vřeckovýtrusých** (*Ascomycetes*), jejichž název je odvozen od útvaru vznikajícího při jejich pohlavním rozmnožování. Tento útvar se nazývá **vřecko - askus** a výtrusy, které v něm vznikají (zpravidla 8 výtrusů v každém vřecku), pak nazýváme **askospory**. Plísňě, které mezi askomycety patří, se však pohlavně množí spíše ojediněle. V převážné většině případů potkáváme tyto houby v jejich **nepohlavním stadiu**, tj. ve stadiu tvorby nepohlavních výtrusů. Tyto nepohlavní výtrusy se obvykle nazývají **konidie** a vyrůstají na specializovaných hyfách - **konidioforech**. V mnoha případech se nepohlavní stádium od stádia pohlavně se množícího natolik odlišuje, že byla v minulosti tato dvě stádia popsána jako různé organismy. Proto také někdy můžeme najít nepohlavní stádia hub řazena do zvláštní skupiny tzv. **nedokonálních hub** (*Deuteromycetes*; *Fungi imperfecti*). V rámci této skupiny jsou pak houby tříděny zejména na základě podobnosti rozmnožovacích = **fruktifikačních** orgánů (tvar a větvení konidioforů, způsob vyrůstání, velikost a tvar konidií apod.).

Kropidlák (*Aspergillus*) je velmi rozšířený rod plísni. Běžně se vyskytuje v půdě ve vodě, jeho spóry jsou obsaženy v ovzduší. Různé druhy tohoto rodu se jako saprofyty podílí na rozkladu organické hmoty, ale mohou působit i jako parazité živočichů nebo člověka. Makroskopický vzhled nejčastějších zástupců: obvykle zelené nebo šedozelené až šedočerné porosty sametového vzhledu (někteří zástupci mohou makroskopicky připomínat nárůsty štětičkovce), některé druhy mají jiné zbarvení - např. bílé, krémové žluté nebo oranžové porosty. Z mikroskopických charakteristik jsou významným rozlišovacím znakem kulovité - **konidiofory**, často na koncích měchýřkovitě rozšířené, z nichž do všech směrů vyrůstají **konidie** vznikající odškrabáním lahvicovitých dlouhých buněk tzv. **filid**. Mnoho druhů produkuje významné **mykotoxiny**, k nejznámějším se řadí tzv. **aflatoxiny** (mají karcinogenní účinky a poškozují játra - **hepatotoxická**) pojmenované podle druhu *Aspergillus flavus*.

## Materiál

Plesnivé potraviny (pečivo, ovoce, marmelády) s [plísněmi](#), které makroskopicky vykazují tyto znaky - nízké porosty sametového vzhledu, nejčastěji tmavě zbarvené (šedozelené, černozené, černé). Při pohledu pod binokulární lupou je možné rozeznat konidiofory kulovitěho tvaru (při zběžném pohledu je možné, pokud nemáme s pozorováním plísní dost zkušeností, zaměnit tyto konidiofory se sporangii kropidlovce (*Rhizopus*) se skupiny zygomycet).

## Pomůcky

Stereomikroskop nebo lupa, mikroskop, podložní a krycí sklíčko, Petriho miska, 2 preparační jehly, žiletka nebo skalpel, pinzeta, kapátko, filtrační papír, voda, [cottonová modř](#), popř. také [ethanol](#), [laktofenol](#) nebo [fyziologický roztok](#), libovolný desinfekční prostředek (na úklid a utření stolů po práci).

## Úkoly

### 1. Pozorování kropidláku pod binokulární lupou

Mezi vzorky zplsnivělých potravin vyberte takový, na kterém pouhým okem pozorujete sametovou plíseň šedozeleného nebo černozeného zbarvení. Tuto plíseň i s kouskem substrátu, na kterém vyrůstá, přeneste do Petriho misky. S plísní manipulujte opatrně, abyste co nejméně poničili křehkou strukturu vláken mycelia. Vzorek v misce uzavřete víčkem a pozorujte pod binokulární lupou. Zaměřte se zejména na prostorové uspořádání vláken mycelia a způsob, jakým na nich vyrůstají fruktifikační orgány - konidiofory s konidiemi. Poznamenejte si také barvu vláken mycelia a konidií.

### 2. Mikroskopické pozorování kropidláku

Ze vzorku plísně, kterou jste pozorovali v úkolu č. 1., zhotovte preparát v kapce vody nebo fyziologického roztoku. Přikryjte krycím sklíčkem, odsajte přebytečnou tekutinu a pozorujte. Všímejte si stavby vláken mycelia (zda jsou či nejsou patrné přehrádky mezi buňkami), najděte konidiofor s konidiemi a pozorujte jejich stavbu. Zakreslete. Pozn.: Klíčem k úspěchu je vytvoření dobrého preparátu. Na sklíčko přenášejte pomocí preparačních jehel opravdu **velmi malý kousek plísně a dobře jej rozprostřete**. Dejte pozor, abyste nabrali pouze vlákna plísně a ne kus substrátu.

### 3. Mikroskopické pozorování kropidláku v preparátu barveném cottonovou modří

V nativním preparátu není většinou možné pozorovat detailní stavbu konidioforů a způsob vyrůstání konidií. Pro zvýraznění těchto morfologických znaků je třeba preparát obarvit.

Povedený nativní preparát (tj. takový, ve kterém zřetelně vidíte jak vlákna mycelia tak konidiofory) obarvete roztokem cottonové modři (k jedné hraně krycího sklíčka přikápněte pár kapek barviva a filtračním papírem z druhé strany opatrně odsávejte přebytečnou tekutinu - zkontrolujte, že se celý preparát stejnoměrně probarvil, pokud ne, můžete velmi opatrně nadzvihnout růžek krycího sklíčka a znovu ho přiklopit). Nechte barvivo cca 2 - 3 minuty působit a preparát znovu prohlédněte. Zakreslete stavbu konidioforu a způsob vyrůstání konidií.

## Výsledky pozorování

Pod binokulární lupou pozorujeme, že z mycelia kropidláku vyrůstají kulovité konidiofory pokryté drobnými konidiemi. Zbarvení konidioforů a konidií je druhově charakteristické. V mikroskopu je jednoznačným poznávacím znakem tvar konidioforů - ty bývají obvykle na konci rozšířené v **měchýřek** a obalené drobnými kulovitými, zpravidla tmavými konidiemi. Po obarvení cottonovou modří pozorujeme, že z měchýřku vyrůstají podlouhlé buňky (často lahvicovitěho tvaru) zvané **falidy**, jejichž odškrabáním se tvoří vlastní **kulovité konidie** plísně.

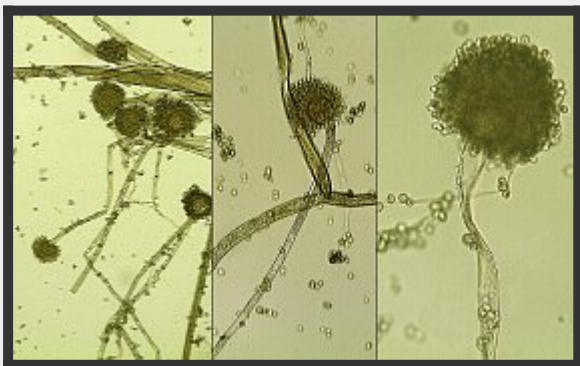
## Obrazová dokumentace



Kropidlák (*Aspergillus* sp.) – **Skupina konidioforů s konidiemi.**  
Stereomikroskop model SZS 1002-T ZOOM; objektiv – zoom 3/okulár 10 + Nikon Coolpix L20



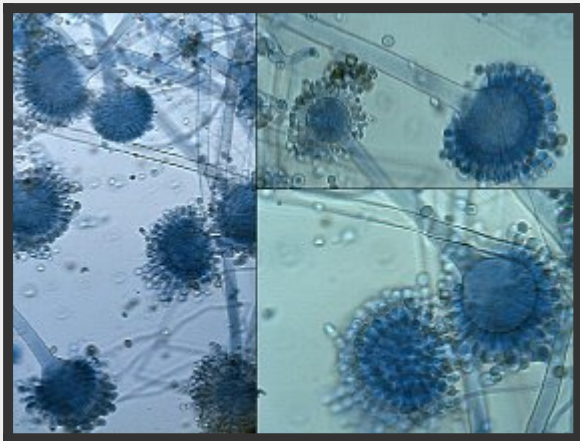
1 – stopka konidioforu; 2 – kulovitý konidiofor s konidiemi; 3 – hyfy dalších druhů plísňí



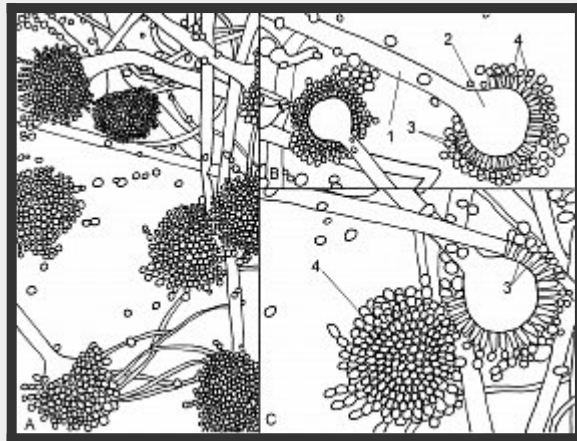
Kropidlák (*Aspergillus* sp.) – **Konidiofory s konidiemi.** Vítální preparát ve vodě.  
Mikroskop LP 3012-T; objektiv zleva 10, 20, 40/okulár 10 + kamera CMOS 2



1 – stopka konidioforu; 2 – kulovitý konidiofor; 3 – konidie; 4 – hyfy mycelia



Kropidlák (*Aspergillus* sp.) – **Konidiofory s konidiemi.** Vítální preparát obarvený cottonovou modří. Mikroskop LP 3012-T; objektiv 20, 40/okulár 10 + kamera CMOS 2



A – pohled na konidiofory s konidiemi; B;C – detail stavby konidioforů; 1 – stopka; 2 – měchýřek; 3 – fialidy; 4 – konidie