

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA PEDAGOGICKÁ

CENTRUM BIOLOGIE, GEOVĚD A ENVIGOGIKY

**EXPERIMENTÁLNÍ VYHLEDÁVÁNÍ NOVÝCH ČINIDEL PRO
MIKROSKOPII MYKOLOGICKÝCH PREPARÁTŮ**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Bc. Kristýna Slaná

Učitelství pro 2. stupeň ZŠ, obor Bi - Ge

Vedoucí práce: Mgr. Jiří Kout, Ph.D.

Plzeň 2022

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

Plzeň 29. 4. 2022

.....
vlastnoruční podpis

Poděkování:

Tato diplomová práce by nevznikla bez času, ochoty, trpělivosti, cenných informací a podnětných připomínek Mgr. Jiřího Kouta, Ph.D., kterému bych ráda na tomto místě poděkovala.

Dále děkuji své rodině za podporu po celou dobu studia.

ABSTRAKT

V této diplomové práci bylo pomocí experimentálního vyhledávání připraveno několik činidel, která byla následně aplikována na pět vybraných zástupců říše *Fungi*. Tato činidla byla porovnána s činidly, u kterých je znám jejich účinek a byla zhodnocena pomocí několika kritérií pro případné další využití v mykologickém výzkumu nebo ve výuce přírodopisu/biologie na ZŠ.

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
1.1. Cíl práce.....	1
2. BIOLOGIE HUB.....	2
2.1. Obecná charakteristika říše <i>Fungi</i>	2
2.2. Systematika říše <i>Fungi</i>	2
2.3. Význam hub.....	3
3. MIKROSKOPIE	4
3.1. Metody mikroskopie.....	5
3.1.1. Optická (světelná) mikroskopie	5
3.1.2. Elektronová mikroskopie.....	5
4. VÝUKA HUB NA ZÁKLADNÍCH A STŘEDNÍCH ŠKOLÁCH.....	7
5. BARVENÍ HOUBOVÝCH PREPARÁTŮ	8
5.2. Makrochemické reakce hub.....	8
5.3. Mikrochemické reakce (barvení mikroskopických preparátů).....	9
6. METODIKA	10
6.1. Vybrané druhy hub.....	12
6.2. Činidla	16
6.2.1. Běžně používaná činidla	16
6.2.2. Nová činidla.....	20
7. VÝSLEDKY	33
7.1. <i>Russula decolorans</i> (holubinka odbarvená).....	33
7.2. <i>Amanita citrina</i> (muchomůrka citrónová).....	43
7.3. <i>Suillellus luridus</i> (hřib koloděj).....	50
7.4. <i>Tomentella</i> sp. (vatička).....	58
7.5. <i>Auricula auricularia-judae</i> (boltcovka ucho Jidášovo).....	64
8. DISKUZE	42
9. ZÁVĚR.....	75
10. RESUMÉ.....	76
11. SEZNAM LITERATURY.....	77

1. ÚVOD

V posledních letech mají houby ve výzkumu důležitou roli a to převážně díky rozvoji biotechnologických a biomedicínských odvětví. Díky tomu se dostávají do popředí a stávají se předmětem zájmu ve výzkumu, kde jsou identifikovány stále nové druhy a rody hub. Pro život na planetě Zemi jsou houby velmi důležité a vyskytují se ve všech jejích ekosystémech. Vztah mezi houbami a člověkem je popisován různými pohledy a to jako infekční agens a zároveň jako organismy, které se dají velmi dobře využít ve výzkumu a v medicíně.

Zkoumání hub pod mikroskopem je populární téměř od začátku využívání mikroskopů ve vědě. Prvním vědcem, který popsal houbové struktury z hlediska mikroskopie byl Hooke v roce 1665. Hooke popsal a ilustroval rez růžovou - *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schltdl. - a saprofytickou plíseň rodu *Mucor*, přičemž poukázal na velkou rozmanitost hub. Od té doby každý další vývoj mikrobiologie a mikroskopického vybavení ovlivnil mykologické poznatky.

Pro efektivní pozorování nejen mykologických preparátů pod mikroskopem jsou velmi dobrým pomocníkem nejrůznější činidla a barviva, která zvýrazní nebo obarví struktury v pozorované tkáni a celý preparát je pak lépe pozorovatelný.

1.1. Cíl práce

Cílem této kvalifikační práce je pomocí experimentálního vyhledávání připravit z látek dostupných v chemickém skladu Centra biologie, geověd a envigogiky Západočeské univerzity v Plzni (CBG ZČU) několik nových činidel a pomocí nich zhotovit preparáty z vybraných druhů hub. Hlavním úkolem je všechny preparáty vyhodnotit v rámci několika kritérií a pokusit se vybrat z nových činidel taková, která jsou vhodná pro další použití v mykologickém výzkumu či ve výuce biologie/přírodopisu na ZŠ.

2. BIOLOGIE HUB

2.1. Obecná charakteristika říše *Fungi*

Houby (lat. *Fungi*) jsou velmi bohatou skupinou organismů. Uměle jsou houby rozděleny do dvou skupin. Většina hub je drobná až mikroskopická, tuto skupinu odborně nazýváme mikromycety. Druhou skupinou jsou houby, které tvoří velké, okem patrné plodnice a těm se říká makromycety. Houby je možné charakterizovat jako jednobuněčné či mnohobuněčné stélkaté, eukaryotní organismy. Způsobem výživy je heterotrofie, což znamená, že přijímají hotové organické látky, již vytvořené autotrofními organismy. Stejně jako živočichům, houbám chybí fotosyntetické barvivo (chlorofyl), nejsou tedy schopny využít energii ze slunečního záření (fotosyntéza), díky němuž by si uměly samy vytvořit organické látky z anorganických (Kluzák & Smotlacha 1985).

Tělo houby se nazývá stélka neboli *thallus* a je nepohyblivé. Houbová stélka je složená z eukaryotických buněk, jejichž buněčná stěna obsahuje chitin a může být jednobuněčná (kvasinky) i mnohobuněčná. Pokud je houba mnohobuněčná, její tělo je složeno z vláken, které se nazývají hyfy. Houbové hyfy se navzájem proplétají a tvoří podhoubí (*mycelium*), na kterém za příznivých podmínek vyrostou u některých druhů plodnice, která produkuje výtrusy (spory), díky nimž se houby rozmnožují. Počet jader v houbové buňce je variabilní (Piepenbring 2015).

Houby jsou v přírodě velmi důležitou součástí koloběhu látek a živin. Společně s bakteriemi jsou rozkladači, tzv. dekompozitory, organického materiálu, jehož látky tak navracejí do koloběhu. Významně se podílí na vzniku humusu a dodávají organickým látkám minerály, čímž vznikají látky, které mohou být znovu živinami pro rostliny. Vyskytují se kosmopolitně. Jsou známy druhy suchozemské, vodní (mořské i sladkovodní) i půdní. Velká spousta druhů žije v těle svého hostitele. Svou schopností rozkládat organické zbytky rostlin i živočichů jsou důležitým článkem v cyklu prvků v přírodě, především pak v cyklu uhlíku, dusíku a fosforu. Houby tvoří různé druhy symbióz s rostlinami, s řasami nebo se sinicemi, výjimečně i s živočichy (Piepenbring 2015).

2.2. Systematika říše *Fungi*

V současné době jsou v taxonomickém systému uznávány tři velké skupiny neboli domény organismů. První skupina se nazývá *Archea*, česky archebakterie, která je skupinou prokaryotních jednobuněčných organismů. Ti osidlují převážně extrémní stanoviště. Druhou

skupinou je *Eubacteria* (eubakterie) neboli pravé bakterie. Třetí skupina se nazývá *Eukarya*, česky eukaryota, do které se řadí živočichové, rostliny a houby (Woese a kol. 1990).

Houby byly v prvních systémech řazeny mezi rostliny, avšak od rostlin se mnoha znaky odlišují. Houby jako první z rostlinné říše vyjmul Copeland v roce 1956 a přiřadil je do tehdejší skupiny *Protista*, kam patřily organismy, které nejsou ani houby ani živočichové ani rostliny (Copeland 1956). Definitivně houby osamostatnil v roce 1969 Whittaker, který jim dal i pojmenování *Fungi*, pod kterým jsou známy dodnes (Whittaker 1969). Jeho systém dělí živé organismy do pěti říší, kterými jsou *Protista* (prvoci), *Monera* (prokaryotní organismy), *Plantae* (rostliny), *Animalia* (živočichové) a *Fungi* (houby).

Na základě molekulární biologie došlo později k úpravě tohoto systému a vznikl nový, který se skládá z pěti superskupin: SAR, *Achaepplastida*, *Excavata*, *Amoebozoa* a *Opisthokonta*, kde jsou houby společně s živočichy a dalšími skupinami řazeny do skupiny *Opisthokonta* (Sina a kol. 2012).

Existuje i novější pojetí z roku 2019, které je revidovaným předchozím systémem z roku 2012. V tomto novém systému jsou houby řazeny ve skupině *Nucleotmycea/Holomycota* (Sina a kol. 2019).

2.3. Význam hub

Jak již bylo řečeno výše, význam hub v přírodě spočívá především v tom, že rozkládají organické zbytky a navracejí látky zpět do koloběhu živin v biosféře. Houby se také podílí na vzniku humusu a na mineralizaci organických látek (Webster & Weber 2007).

Pro člověka mají houby již po staletí velký význam, ať už pozitivní, či negativní. Velkou řadu let člověk využívá například schopnost kvasinek při výrobě piva, vína nebo při kynutí těsta. Nespočet jedlých druhů lidí sbírají v lese či jinde za účelem konzumace. Různé patogenní druhy naopak mohou způsobovat velké množství chorob u člověka nebo u plodin, které člověk pěstuje. Mezi tyto druhy řadíme například plísně. Pravděpodobně největší význam mají houby pro člověka od dob, kdy se začaly využívat v mikrobiologii a biotechnologiích. Největším objevem pak byl penicilin, který se využívá jako antibiotikum při bakteriálních onemocněních (Webster & Weber 2007).

3. MIKROSKOPIE

Studium a výzkum hub probíhá v několika fázích. První fází, která může probíhat již v terénu, je pozorování makroskopických znaků hub. Tímto způsobem pozorujeme základní morfologii, jako je tvar houby, velikost, barva atd. Druhá fáze mykologického výzkumu zahrnuje mikroskopické pozorování, při kterém je možné sledovat celé spektrum znaků, které je na první pohled nemožné spatřit. Je třeba brát v úvahu, že oba dva typy pozorování se striktně doplňují a nelze ani jeden z nich zanedbat či vynechat (mimo případy, kdy je zástupce jasně identifikovatelný). Mikroskopické pozorování je stejně důležité jako makroskopické i přesto, že některé druhy jsou díky svým zvláštnostem zcela zřetelně identifikovatelné již při makroskopickém pozorování. Naopak u mnoha druhů je pro jejich identifikaci naprosto nezbytné využít mikroskop. V závislosti na cíli studia mohou následovat i další postupy výzkumu (Basso 2019).

Velkou výhodou mikroskopování v mykologii je, že houby lze uchovat a vysušit téměř bez ztráty anatomických vlastností a lze je pod mikroskopem sledovat i několik let po sběru. Tato vlastnost umožňuje například kontroly velmi dávno datovaných herbářů a lze například sledovat znaky druhu pro možné porovnání s novými sbírkami (Basso 2019).

Využití mikroskopování mykologických preparátů je vhodné například při mykotoxikologii v lékařství, kde je tento výzkum velmi důležitý. Pomocí obarvení preparátu vytvořeného z tělních tekutin intoxikovaného člověka, je možné stanovit diagnózu a následnou léčbu i přesto, že není k dispozici celá houbová stélka (Basso 2019).

Je zřejmé, že vývoj dostupných technik a nástrojů v oboru mikrobiologie a mikroskopie měl rozhodující roli a vedl od studie hub založené zcela na pozorování makroskopických znaků nebo makrochemických reakcí až k výzkumu postavenému na pozorování mikroskopických znaků, které mají ve velké většině případů rozhodující roli při určení druhu. V tomto směru udělal mykologický výzkum velký pokrok. Je však nutné zmínit, že v tomto oboru je třeba dbát na znalost mikroskopie. Pokud používáme činidla, je nutné zvolit taková, která jsou ve stavu, kdy jsou schopna dobře s houbami reagovat. Pokud například použijeme staré Melzerovo činidlo, nedojde k amyloidní reakci, kterou běžně vyvolává, a je zde riziko, že reakce bude považována za negativní (Basso 2019).

3.1. Metody mikroskopie

3.1.1. Optická (světelná) mikroskopie

Optická mikroskopie se využívá k pozorování organismů (a dalších objektů), které není naše oko schopno pozorovat. Rozlišovací schopnost lidského oka, tzn. rozeznat od sebe dva body, je 0,25 mm. Rozlišovací schopnost optického mikroskopu je přibližně 0,25 μm , to je dáno vlnovou délkou světla, které mikroskopem prochází, a vlastnostmi objektivu. Znamená to, že rozlišovací schopnost optického mikroskopu je 1000 \times větší, než je tomu u lidského oka. U speciálních typů optických mikroskopů lze dosáhnout zvětšení až 2000 \times . Pro lepší zachycení detailů a větších zvětšení se využívají elektronové mikroskopy nebo mikroskopy využívající atomárních sil, kde k zobrazení pomáhá vzájemná přitažlivost atomů (Kymplová 2013).

Optický mikroskop je zpravidla sestaven ze tří optických částí: kondenzor (osvětlovací soustava), objektiv a okulár, a části mechanické, která dotváří mikroskop. Osvětlovací soustava je nezbytnou součástí mikroskopu, tato část slouží k osvětlení preparátu, ve většině případů osvětluje proti směru pozorování. Objektiv je soustava čoček, které mají velice krátkou ohniskovou vzdálenost, dohromady fungují jako jedna spojná čočka, zobrazovaný preparát je tak ve výsledku zvětšený, skutečný a převrácený a je promítnutý mezi okulárem a ohniskem okuláru. Okuláry jsou složeny také ze soustavy čoček, které fungují jako spojná čočka (Kymplová 2013).

Zobrazovacích metod ve světelné mikroskopii je celá řada. Patří mezi ně například metoda světelného pole, která byla v této kvalifikační práci využita. Jedná se o princip mikroskopie, kdy světelný paprsek prochází preparátem, ten dostává tmavé zbarvení a nachází se na světlém poli. Další metodou je metoda tmavého pole, kdy je obraz světlý a nachází se v tmavém poli. Dalšími metodami jsou například metoda využívající fázového kontrastu, ultrafialová mikroskopie, infračervená mikroskopie, inverzní nebo polarizační a další (Navrátil & Rosina 2005).

3.1.2. Elektronová mikroskopie

Pokud je potřeba sledované objekty zvětšit více, než je schopen optický mikroskop, je nutné použít mikroskop elektronový. V principu jde o totožný systém, s rozdílem, že optické čočky jsou nahrazeny elektromagnetickými a namísto světla jsou ke sledování objektu využity elektrony. Vlnové délky elektronů jsou o několik řádů menší, než je tomu u světla, z toho

důvodu je elektronový mikroskop schopen pozorovaný objekt zvětšit až 100 000× (Kalina & Pokorný 1979).

4. VÝUKA HUB NA ZÁKLADNÍCH ŠKOLÁCH

Téma houby (*Fungi*) je v Rámcovém vzdělávacím programu pro základní vzdělávání (RVP) zařazeno na prvním stupni ve vzdělávací oblasti Člověk a jeho svět v oboru Rozmanitost přírody. Vyučování probíhá v předmětu prvouka (1. období) nebo přírodověda (2. období). Konkrétním výstupem pro výuku hub je:

- ***ČJS-5-4-04 porovnává na základě pozorování základní projevy života na konkrétních organismech, prakticky třídí organismy do známých skupin, využívá k tomu i jednoduché klíče a atlasy^[1].***

Na druhém stupni základních škol jsou houby vyučovány konkrétněji. Skupina je zařazena ve vzdělávací oblasti Člověk a příroda, což je okruh předmětů, který řeší problémy spojené s přírodou, kde jsou houby vyučovány v předmětu přírodověda. Vzdělávací obsah oboru přírodověda je rozdělen do několika skupin (Obecná biologie a genetika, Biologie hub, Biologie rostlin, Biologie živočichů, Biologie člověka, Neživá příroda, Základy ekologie a Praktické poznávání přírody). Houby mají tedy na druhém stupni základních škol vlastní zařazení do učiva s konkrétním výstupem a učivem:

- ***P-9-2-01 rozpozná naše nejznámější jedlé a jedovaté houby s plodnicemi a porovná je podle charakteristických znaků^[1].***

Učivem jsou houby bez plodnic (základní charakteristika, pozitivní a negativní vliv na člověka a živé organismy), houby s plodnicemi (stavba, výskyt, význam, zásady sběru, konzumace a první pomoc při otravě houbami) a lišejníky^[1].

5. BARVENÍ HOUBOVÝCH PREPARÁTŮ

Z výše uvedených kapitol je zřejmé, že makroskopické znaky ve vývoji taxonomického systému ztratily význam a pro bližší určení jednotlivých druhů je potřeba houby zkoumat pod mikroskopem. Pouhým okem je možné zcela jistě určit jen malé množství druhů. Pokud chceme rozpoznat neznámou houbu, je třeba využít kromě mikroskopu velmi často také některou z laboratorních metod. Mezi velmi oblíbené a osvědčené metody patří barvení houbových preparátů nejrůznějšími činidly, s nimiž houbové buňky vytváří barevné reakce. Tyto barevné reakce jsou často určovacím znakem jednotlivých skupin hub.

5.2. Makrochemické reakce hub

Některé chemické látky mají schopnost vyvolat při působení na dužninu hub různé barevné změny. Mezi činidla, která se využívají k tomuto způsobu rozpoznávání jednotlivých druhů, patří síran železnatý (FeSO_4). Ten se používá v podobě 10% roztoku, při aplikaci na dužninu většina holubinek nabíhá do červena nebo do zelena, pouze u holubinky namodralé - *Russula cyanoxantha* (Schaeff.) Fr. - se dužnina nezbarví. Pokud síran železnatý aplikujeme na bedlu červenající - *Lepiota rhacodes* (Vittad.) Quél. - její dužnina získá zelenomodrou barvu, naopak u morfologicky velmi podobné bedly vysoké - *Lepiota procera* (Scop.) Gray - se barva nezmění (Veselý 1972).

Dalším činidlem je například roztok amoniaku, který po aplikaci na holubinku jízlivou - *Russula chrysodacryon* Singer - způsobí její karmínové zbarvení. Při použití fenolu k určování muchomůrek se pouze muchomůrka zelená - *Amanita phalloides* Secr. - nemění, naopak téměř všechny ostatní muchomůrky nabíhají do vínově červené barvy (Veselý 1972).

Mezi další činidla patří guajaková tinktura, hydroxid sodný, koncentrovaná kyselina sírová, kyselina dusičná, kyselina chlorovodíková, anilinový olej, louh nebo sulfovanilin. Tato činidla použil Herink (1956) k makrochemickým reakcím s mlékem ryzců.

5.3. Mikrochemické reakce (barvení mikroskopických preparátů)

Barevné reakce houbových buněk s různými činidly lze pozorovat také pod mikroskopem. Dle Erba a Matheise (1983) jsou nejlepšími činidly pro mikroskopické určování jednotlivých druhů hub hydroxid sodný (NaOH), hydroxid draselný (KOH), kongočerveň, laktofenol, Lugolův roztok, Melzerovo činidlo a další. V roce 1948 F. Bataille vydal v Paříži knihu *Les réactions macrochimiques chez les champignons*, která je dosud nejobsáhlejším dílem zabývající se touto problematikou. Bataille v něm sepsal abecední seznam hub s podrobným popisem reakcí jednotlivých činidel (Bataille 1948). Pro zpracování této diplomové práce bylo vybráno několik základních, běžně používaných činidel, která jsou dle výše uvedených publikací vhodná. Tato činidla byla porovnána s činidly nově namíchanými. Všechna použitá činidla v této diplomové práci jsou konkrétněji popsána v experimentální části této práce.

6. METODIKA

Při zpracování této diplomové práce bylo využito optického mikroskopu OLYMPUS BX 51 s metodou světelného pole, který je v mikroskopické laboratoři CBG (Centrum biologie, geověd a envigogiky) Fakulty pedagogické Západočeské univerzity v Plzni. Tento mikroskop má možnost maximálního zvětšení 1000× (při použití imerzního oleje), houbové preparáty byly pozorovány při zvětšení 100–400×. Pomocí tohoto mikroskopu bylo možné vytvořit fotografie prostřednictvím kamery OLYMPUS DP 72 a softwaru QuickPHOTO CAMERA 2.3, na který je tento mikroskop napojen. Je nutné zdůraznit, že u některých preparátů byla jejich výsledná fotografie značně odlišná od skutečného vzhledu preparátu, a to především v odstínu barvy preparátu. Fotografie celých plodnic a sklíčků s preparáty byly pořízeny pomocí vlastního fotoaparátu na mobilním telefonu iPhone SE 2020 (12 Mpx).

Preparáty byly vytvářeny z položek mykologického herbáře CBG. Při tvorbě preparátů byly využity běžné pomůcky potřebné k mikroskopické práci, jako jsou podložní sklíčka, krycí sklíčka, preparační jehla, pinzeta, plastová a skleněná kapátka, žiletka, filtrační papír. Pro tvorbu tenkých řezů z některých druhů hub bylo potřeba využít binolupu OLYMPUS SZ51.

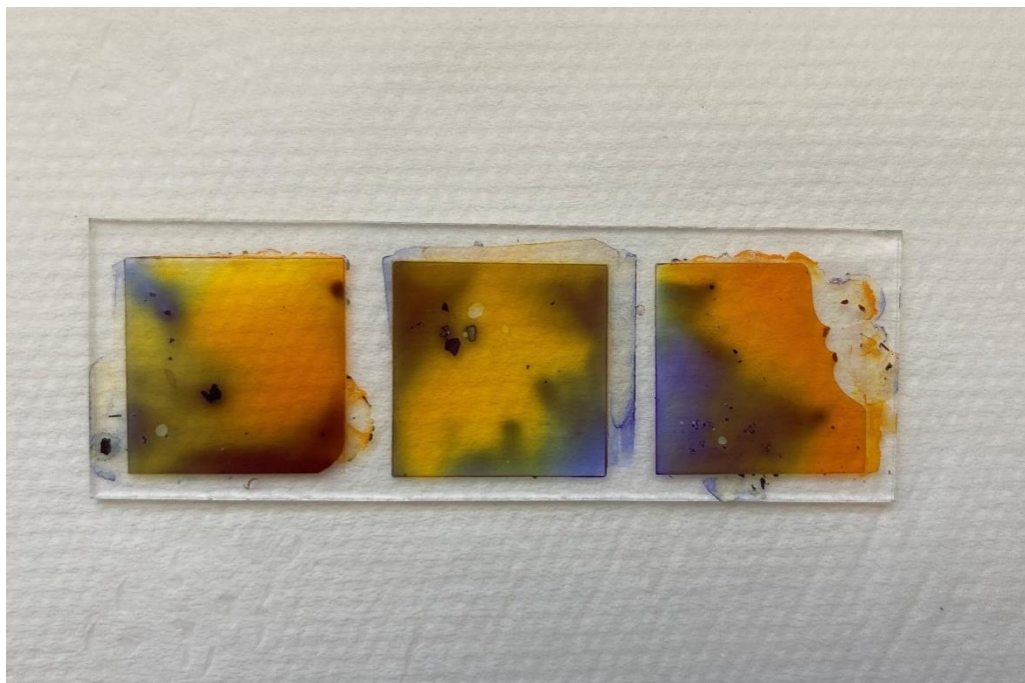
Příprava mikroskopických preparátů probíhala běžným postupem, kdy se na podložní sklíčko kápne činidlo, ideálně takové množství, aby po překrytí krycím sklíčkem nedošlo k rozlití činidla okolo. Do připravené kapky se pinzetou nebo preparační jehlou vloží malý kousek tkáně, která byla z jednotlivých zástupců získána různými způsoby. Houbová tkáň byla v případě holubinky odbarvené - *Russula decolorans* (Fr.) Fr., hříbu koloděje - *Suillellus luridus* (Schaeff.) a muchomůrky citrónové - *Amanita citrina* Pers. vypreparována preparační jehlou ze spodní části klobouku. V případě vatičky (*Tomentella* sp.), která tvoří hnědé povlaky na povrchu dřeva, byl kus tohoto povlaku preparační jehlou seškrábán na podložní sklíčko. U boltcovky Jidášova ucha - *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quél. byly pod binolupou tvořeny příčné tenké řezy pomocí žiletky. Na takto připravené preparáty se položilo krycí sklíčko. V některých případech bylo nutné preparáty z důvodu menší smáčivosti či větší tloušťky rozmáčknout. Toto proběhlo lehkým stlačením krycího sklíčka druhou stranou preparační jehly (při tomto kroku, je nutné volit přiměřenou sílu, jelikož krycí sklíčko snadno praskne a preparát je pak nutné připravit znovu).

V případě činidel, která obsahují alkohol, je nutné v první fázi na podložní sklo kápnout nejprve kapku vody, kterou se část houbové tkáně nejdříve nasákne. Pokud je využito

pouze činidlo, preparát je téměř nepozorovatelný, protože alkohol z tkáně vytáhne vodu. Houbová tkáň se následně svaští a ztvrdne a není ji pak možné rozmáchnout pod sklíčkem preparační jehlou. Při práci s alkoholovými činidly je nutné pracovat svižně, jelikož ze sklíčka rychle vyprchávají.

Speciálním případem je práce se sulfovanilinem, který je připraven přímo na podložním skle, a to následujícím způsobem. Na podložní sklíčko je nanesena kapka 96% kyseliny sírové a do ní následně kapka vody. Do takto připravené směsi je vloženo malé množství vanilinu, který má podobu bílých krystalů s charakteristickou vanilkovou vůní. Promícháváme, dokud se vanilin nezačne rozpouštět a vytvářet sytě žluté zbarvení. Po rozpuštění se do činidla vloží kousek houbové tkáně a přikryje se krycím sklíčkem. Z důvodu práce s kyselinou je nutno dbát zvýšené opatrnosti.

Pro úsporu materiálu bylo na jednom sklíčku připraveno více preparátů, ve většině případů tři (obr. 1), je ale nutné dát pozor, aby se činidla nedostala mimo krycí sklíčko a nesmíchala se dohromady, přebytečnou tekutinu je vždy lepší odsát filtračním papírem. Aby se zamezilo smíchání činidel, je možné na jednom sklíčku připravit v jednom činidle více druhů hub vedle sebe (obr. 1).



Obr. 1. Ukázka přípravy třech preparátů ve stejném činidle na jednom podložním sklíčku.

Vzhledem k manipulaci s chemikáliemi je nutné využívat během celé práce ochranné prostředky, jako jsou gumové rukavice a chemický plášť. V některých případech je

doporučeno využít také respirátor, aby nedošlo k vdechnutí chemické látky a poškození dýchacích cest. Samozřejmostí je prostudování bezpečnostního listu, který je k dispozici ke každé chemické látce.

Chemikálie použité pro tvorbu činidel byly vybrány z chemického skladu CBG na základě jejich vzhledu, především pak jejich barvy, tyto látky byly ve skladu umístěny v části označené jako barevná činidla. Předpokladem bylo, že po namíchání s rozpouštědlem vznikne barevný roztok, který bude možné aplikovat na mikroskopický preparát s cílem zvýraznit charakteristické struktury a obrysy. U všech těchto chemikálií je zhodnocena jejich kvalita, bezpečnost, cena (dostupnost) a možnost dalšího využití. Veškerá použitá chemie je konkrétně vypsána níže (viz kapitola 6.2.2.). Ve výsledcích jsou činidla seřazena v pořadí, ve kterém byla použita, a to podle barev, nikoli v závislosti na jejich chemické příbuznosti.

Na holubinku odbarvenou (*R. decolorans*) byla činidla použita jako první a byla použita ihned v den namíchání. Většina preparátů byla připravena běžným postupem na podložním sklíčku. U holubinky byla navíc využita činidla používaná výhradně u této čeledi, těmito činidly jsou guajak, formalin, fenol, síran železnatý a vodný roztok amoniaku. Zde je nutné zdůraznit, že těchto pět činidel se u holubinek využívá zpravidla na makrochemické reakce nikoli k barvení mikroskopických preparátů (Socha et al. 2011). U ostatních zástupců byla použita téměř všechna níže uvedená činidla, vyjma skupiny činidel, která se využívají výhradně u holubinek. Všechny preparáty byly pozorovány v různých zvětšeních.

Hlavním principem metodiky v experimentální části této práce bylo na každém vybraném zástupci otestovat téměř všechna činidla. Nejprve se testovala činidla, která se v mikroskopii používají běžně, a poté se barvilo nově namíchanými činidly s cílem najít činidlo, které by svými obarvovacími vlastnostmi mělo potenciál být využito v praxi.

Dále bylo při zpracování diplomové práce využito několik zástupců z různých čeledí říše *Fungi*. Všechny testované položky jsou uloženy v herbáři Oddělení biologie Centra biologie, geověd a envigogiky Fakulty pedagogické Západočeské univerzity v Plzni. Konkrétní název, místo a datum sběru a fotografie jednotlivých zástupců jsou popsány níže.

6.1. Vybrané druhy hub

Russula decolorans (holubinka odbarvená) je střední až větší holubinka, její klobouk je přibližně 4–12 cm široký, tlustý a masitý, v mládí polokulovitý a v pozdějších stádiích vývoje vyklenutý a nakonec plochý, jeho barva je žlutooranžová nebo červená, někdy

od středu bledne. Okraj je hladký a v dospělosti rýhovitý. Lupeny má tato holubinka středně husté a tlusté. Výtrusy jsou široce eliptické s velmi vysokou ornamentikou, výtrusný prach je smetanový až okrový. Tato holubinka roste hojně jednotlivě nebo ve skupinkách ve vlhkých jehličnatých lesích. Patří mezi jedlé houby (Melzer 1945).

V mikroskopických preparátech bývají u holubinek spory velmi zajímavé a účinnost jednotlivých činidel byla hodnocena zejména na základě schopnosti zvýraznění jejich ornamentiky.

Konkrétní zástupce využitý v tomto výzkumu je herbářovou položkou z herbáře CBG. Datum a místo sběru: 9. 10. 2011, Borek u Velhartic (okr. Klatovy).



Obr. 2. Použitý zástupce holubinka odbarvená (*R. decolorans*).

***Amanita citrina* (muchomůrka citrónová)** je jedovatá houba z čeledi *Amanitaceae*, která roste velmi hojně v listnatých i jehličnatých lesích. Dorůstá výšky 4–20 cm. Její klobouk bývá až 8 cm široký a má žlutavou či zelenavou barvu. Spory muchomůrek jsou hladké bez ornamentiky (Knudsen & Vesterholt 2018).

Konkrétní zástupce využitý v tomto výzkumu je herbářovou položkou z herbáře CBG. Datum a místo sběru: 5. 9. 2017, Přírodní rezervace Diana.



Obr. 3. Použitý zástupce muchomůrka citrónová (*A. citrina*).

***Suilellus luridus* (hřib koloděj)** je zástupce z čeledi *Boletaceae*, patří mezi jedlé houby. Dorůstá do výšky 15 cm, klobouk je široký a zabarvený do žluta až hněda. Dužnina je ve spodní části žlutá, při naříznutí či otlačení velmi rychle modrá. Výtrusy jsou vřetenovité, hladké olivově hnědého zbarvení (Knudsen & Vesterholt 2018).

Konkrétní zástupce využitý v tomto výzkumu je herbářovou položkou z herbáře CBG. Datum a místo sběru: 23. 7. 2012, CHKO Český kras, lom Čertovy schody.



Obr. 4. Použitý zástupce hřib koloděj (*S. luridus*).

***Tomentella* sp. (vatička)** je kortikoidní ektomykorhizní houba z čeledi *Thelephoraceae*. Vyskytuje se na mrtvém dřevě, opadu, v půdě ve formě hnědého suchého povlaku. Výtrusy jsou kulovité s výraznými povrchovými strukturami (Holec et al. 2012).

Konkrétní zástupce využitý v tomto výzkumu je herbářovou položkou z herbáře CBG.

Datum a místo sběru: 28. 8. 2019, NPP Chlumská stráň.



Obr. 5. Použitý zástupce vatička (*Tomentella* sp.).

Auricularia auricula-judae (**boltcovka ucho Jidášovo**) neboli Jidášovo ucho je jedlá stopkovýtusná houba z čeledi *Auriculariaceae*. Za vlhka je Jidášovo ucho pružná rosolovitá houba, za sucha je plodnice tvrdá. Klobouk dorůstá od 3 do 13 cm a přirůstá k substrátu. Třeň je slabě nebo vůbec vyvinutý. Výtrusný prach je bílý, výtrusy jsou válcovitého nebo ledvinovitého tvaru bez výrazných povrchových struktur (Knudsen & Vesterholt 2018). U zástupce, který byl využitý pro potřeby této kvalifikační práce, nebyly pozorovány spory.

Konkrétní zástupce využitý v tomto výzkumu je herbářovou položkou z herbáře CBG.

Datum a místo sběru: 11. 12. 2005, Vrbenské rybníky, na padlé větvi vrby křehké.



Obr. 6. Použitý zástupce boltcovka ucho Jidášovo (*A. auricula-judae*).

6.2. Činidla

V této práci byla použita činidla, která se v mikroskopování mykologických preparátů běžně používají a je tedy znám jejich účinek na houbové tkáně. Mezi tato činidla patří například Melzerovo činidlo, které je známé pro svou amyloidní reakci, díky které jsou pod mikroskopem velmi kvalitně vidět spory. Dalšími takovými činidly jsou například Lugolův roztok, kongo červeň, sulfovanilin nebo bavlnová modř. Při přípravě preparátů z holubinky odbarvené bylo navíc mezi běžnými činidly využito pět dalších, která se využívají výhradně pro makroskopické barvení této čeledi (amoniak, formalin, síran železnatý, fenol, guajak).

V experimentální části je pro stejné druhy hub namícháno několik činidel, z chemikálií dostupných v chemickém skladu Oddělení biologie CBG.

U všech činidel je na základě několika kritérií zhodnoceno jejich další možné využití v mykologickém výzkumu či při výuce biologie (přírodopisu) na základní škole.

6.2.1 Běžně používaná činidla

V této diplomové práci byla použita následující činidla, která se v mykologické mikroskopii běžně využívají. Tato činidla byla aplikována na všechny druhy hub, které byly pro experimentální část vybrány.

- **Melzerovo činidlo** je vodný roztok chloralhydrátu, jodidu draselného a jodu, svůj název má po českém vynálezci Václavu Melzerovi, který ho připravil. Toto činidlo

je tekutý roztok oranžové barvy s chlorovým zápachem. Běžně se využívá při mikroskopii houbových preparátů při amyloidní reakci zabarvuje preparát do modrých odstínů, při reakci dextrinoidní zabarvuje preparát do červenohnědé barvy, reakce preparátu s činidlem je téměř okamžitá. Využívá se také jako Lugolův roztok při detekci škrobu. Vzhledem k velmi dobrým výsledkům je nejvhodnějším činidlem, při sledování mykologických preparátů.

Příprava: 20 ml destilované vody se rozpustí 1,5 g KJ, 22 g chloralhydrátu a 0,5 g I (Basso 2019).

- **Lugolův roztok** je vodný roztok jodu a jodidu draselného, byl připraven francouzským lékařem Jeanem Lugolem v roce 1829. Po namíchání vykazuje hnědou barvu bez zápachu. Lugolův roztok je běžně využíván k detekci škrobu v preparátech, pro barvení bakteriálních buněk dle Grama, zvýrazňuje děje na buněčné membráně (osmóza a difuze), v lékařství běžně využíván, na rozdíl od Melzerova činidla zabarvuje preparát do tmavých odstínů.

Příprava: V 85 ml destilované vody se rozpustí 5 g jodu a 10 g jodidu draselného (Basso 2019).

- **Voda** je ideálním médiem pro pozorování jakýchkoliv mikroskopických preparátů, jelikož nijak neinterferuje s pigmenty a ve většině případů nemění tvary tkání ani rozměry v důsledku nadměrného nasátí. Výhodou vody je její dostupnost a bezpečnost při manipulaci. Některé struktury, jako například spory, jsou však lépe vidět při probarvení některým z činidel (Basso 2019).
- **Bavlnová modř** neboli cotton blue je práškové barvivo tmavě modrého zbarvení. Používá se jako barvivo nebo jako surovina k výrobě dalších barviv (mléčná modř). Preparát obarvuje do modra, zvýrazňuje hyfy, ornamentiku spor a cystidie. Vzhledem k přítomnosti kyseliny, která způsobuje poleptání a podráždění je nutno pracovat v ochranných pomůckách.

Příprava: V 100 ml kyseliny mléčné je rozpuštěno 10 g bavlnové modři (Basso 2019).

- **Phloxin B** běžně známý jako phloxin je červené barvivo ve formě vodou rozpustných tmavě růžových šupin. Rostok získaný rozpuštěním těchto šupin ve vodě má korálově růžovou barvu. Používá se k zvýraznění sporové ornamentiky nebo ke zbarvení cytoplazmy.

Příprava: 1 g krystalického phloxinu, 100 ml vody; do nádoby o objemu 100 ml se nalije 50–60 ml vody a 1 g phloxinu a důkladně se protřepe, postupně se přidá

zbytek vody, dokud nedojde k úplnému rozpuštění všech krystalů barviva (Basso 2019).

- **Hydroxid draselný** je chemická látka, která má podobu bílých peciček rozpustných ve vodě. Pro potřeby této práce byl využit 5% roztok KOH. S KOH je třeba zacházet opatrně, jelikož je žíravý.

Příprava: K přípravě 5 % roztoku je potřeba 95 ml vody a 5 g KOH (Basso 2019).

- **Kongočerveně** je vínově červené práškové barvivo. Roztok kongočerveně je čirá červená tekutina. Je jedno z nejpoužívanějších barviv, barví stěny spor a hyf. V této práci byla použita kongo červeně ve dvou variantách, rozpuštěná ve vodě a rozpuštěná v amoniaku. Vodný roztok není škodlivý, v případě amoniakálního je třeba dbát zvýšené opatrnosti.

Příprava: Kongo červeně vodný roztok – v 10 ml vody se rozpustí 0,3 g práškového barviva, protřepává se, dokud nedojde k úplnému rozpuštění; amoniakální roztok – v 10 ml 25% vodného roztoku amoniaku je rozpuštěno 0,3 g kongočerveně (Basso 2019).

- **Sulfovanilin** je světle žlutý hustý roztok. Vzhledem k tomu, že roztok nemá dlouhou trvanlivost, byl pro potřeby této práce připraven přímo na podložním sklíčku. Probarvuje preparát do oranžových nebo růžových odstínů.

Příprava: Na podložní sklíčko se nanese kapka 96% kyseliny sírové a kapka vody, pomocí preparační jehly se promíchá a přidá malé množství vanilinu, preparační jehlou se promíchává, dokud se vanilin zcela nerozpustí, do takto připraveného činidla vložíme kousek preparátu a překryjeme krycím sklíčkem (Basso 2019).

Vzhledem k přítomnosti kyseliny sírové, která způsobuje poleptání organických látek, je nutné pracovat v ochranných rukavicích a s preparátem manipulovat velmi opatrně.

- **Orcein** je tekuté přírodní červené barvivo, které se původně získávalo z lišejníku *Rocella tinctoria* DC. Jeho chemické složení bylo objasněno až v padesátých letech 20. století. Orcein zbarvuje preparáty do červeno až purpurové barvy. Využívá se k probarvení chromozomů a elastických vláken. Běžně se v mykologii nevyužívá (Musso 1960).

- **Pyrogallol** má vzhled bílého krystalického prášku. Působí jako silné redukční činidlo. Bylo připraveno v roce 1786 švédským chemikem C. W. Shellem zahříváním kyseliny gallové. V případě výskytu v alkalickém prostředí začne absorbovat vodu a tím bezbarvé prostředí zbarví do fialova. Běžně se využívá jako

vývojové činidlo při vyvolávání fotografií, při barvení vlasů (nedoporučuje se) a v mykologii pro enzymatické testy pěstovaných kultur na agarovém substrátu. Má antiseptické účinky. Pro svou toxicitu se nedoporučuje delší práce s tímto činidlem (Stalpers 1978).

- **Naftol** je aromatickou organickou sloučeninou. Je bezbarvý krystalický a pevný. Naftol je možné využít k výrobě barviv (Stalpers 1978).

Pozn.: Naftol a pyrogallol jsou barviva rozpuštěná v alkoholu, práce s preparátem musí být velmi rychlá, jelikož kapka činidla na sklíčku rychle vyprchá. Tato činidla také často z preparátu vytáhnou všechnu vodu, preparát je pak pod mikroskopem svraštělý a není na něm vidět příliš mnoho struktur.

- Činidla využitá pouze u holubinky (Socha et al. 2011):
 - **Guajak** je bezbarvá tekutina bez zápachu, která způsobuje makrochemické reakce, díky nimž je možné identifikovat druhy holubinek (Socha et al. 2011).
 - **Formalin** je derivát uhlovodíku, který patří mezi aldehydy. Je přibližně 40% roztokem formaldehydu. Tato látka je bezbarvá se štiplavým zápachem. Vzhledem k jeho toxickým vlastnostem je nebezpečný pro zdraví. Běžně se formalin využívá k dezinfekci lékařských nástrojů, k dezinfekci půdy, ke konzervaci biologického materiálu, bývá součástí očkovacích látek^[2].
 - **Fenol** (kyselina karbolová, hydroxybenzen) je krystalická látka bez barvy s dehtovým zápachem. Patří mezi aromatické sloučeniny. Vzhledem ke svým antiseptickým vlastnostem je využíván v chirurgii, dále k výrobě léčiv a kosmetiky^[3].
 - **Síran železnatý** je anorganická sloučenina známá také pod názvem zelená skalice nebo zelený vitriol. Vzhledem k tomu, že smícháním s rozpouštědlem vznikne barevný roztok, se využívá k barvení (Vohlídal et al. 1999).
 - **Amoniak** (čpavek) je v běžné podobě bezbarvý plyn, který má velmi štiplavý zápach. Jako činidlo pro makroskopii holubinek se využívá v podobě vodného roztoku. Amoniak při vdechnutí poškozují sliznice dýchacích cest^[4].

6.2.2 Nová činidla

Jak již bylo zmíněno výše, cílem této diplomové práce bylo experimentálním způsobem vyhledat činidla, která by měla potenciál být využita v mikroskopii mykologických preparátů. Níže jsou jednotlivé chemické látky konkrétně popsány včetně jejich vzhledu, přípravy činidel, běžného využití, ceny a bezpečnosti. Pro přehlednost jsou všechna namíchaná činidla sepsána v tabulce (tab. 1), kde jsou řazena podle barev.

○ **Hexahydrát chloridu kobaltnatého ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)**

Popis chemické látky: Hexahydrát chloridu kobaltnatého je anorganickou sloučeninou kobaltu a má podobu fialových krystalků, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodě a v alkoholech. Za normálních podmínek je látka na vzduchu stabilní, je nehořlavá, musí být chráněna před mrazem.

Příprava činidla: V 5 ml destilované vody byl rozpuštěn 1 g hexahydrátchloridu kobaltnatého.

Vzhled: Tato směs ihned po namíchání vykazuje sytě červenou až karmínovou barvu, roztok je téměř neprůsvitný, bez zápachu.

Běžné využití: Jeho praktické využití je pro syntézu dalších chemických sloučenin a v průmyslové výrobě.

Cena: 100 g / cca 400 Kč.

Bezpečnost: Stejně jako řada dalších chemických látek je chlorid kobaltnatý při požití zdraví škodlivý a může vyvolat akutní alergické reakce. Při vdechnutí vyvolává příznaky astmatu a dýchací potíže, může být karcinogenní. Poškozuje reprodukční schopnost. Jedná se o látku ohrožující životní prostředí, pro vodní organismy je vysoce toxická s dlouhodobými účinky. Při práci s chloridem kobaltnatým je třeba použít ochranu dýchacích cest s protiprachovým filtrem a ochranné rukavice (Vohlídal et al. 1999).

○ **Ferrokyanid draselný (hexakynoželeznan draselný, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)**

Popis chemické látky: Hexakynoželeznan draselný, triviálním názvem žlutá krevní sůl nebo též ferrokyanid draselný, je komplexní sloučeninou železa. Přestože má v názvu krevní sůl, v krvi ji nenajdeme, svůj název získala historicky, kdy byla připravována tavením potaše s dusíkatými látkami, mezi které patřila i krev. Na rozdíl od červené krevní soli neuvolňuje žádné kyanidové ionty CN^- , které znemožňují buněčné dýchání a zamezují přenosu kyslíku krví (Vohlídal et al. 1999).

Příprava činidla: V 5 ml vody byl rozpuštěn 1 g ferrokyanidu draselného.

Vzhled: Tato žlutá krystalická látka po namíchání s vodou vykazuje světle žlutou barvu, roztok je zcela průhledný a bez zápachu. Látka není hořlavá a za normálních podmínek je na vzduchu stabilní.

Běžné využití: V průmyslové výrobě slouží k syntéze barviv, nejznámější je berlínská modř, která vzniká jako modrá sraženina a je výsledkem reakce se železitými ionty. Berlínská modř se využívá ke kvalitativní analýze. V potravinářství se využívá jako protispěková látka, na potravinách označena jako E536 (Vohlídal et al. 1999).

Cena: 1 kg / 840 Kč.

Bezpečnost: Hexakynoželeznanatan je klasifikován jako látka nebezpečná a je zakázaný pro používání jiné, než je doporučeno (chemická výroba, analytická chemie, laboratorní syntézy a průmyslové aplikace). Při práci s ním je nutné mít ochranu očí, rukou a dýchacích cest. Stejně jako předchozí je silně škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky (Vohlídal et al. 1999).

○ **Bromfenolová modř (tetrabromfenolsulfonftalien, $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$)**

Popis chemické látky: Tato chemická látka má podobu světle oranžového až růžového prášku bez zápachu. Látka se velmi těžce rozpouští ve vodě i v lihu, je dobře rozpustná v hydroxydech a v etanolu^[5].

Příprava: V 5 ml destilované vody byl rozpuštěn 1 g bromfenolové modři.

Vzhled: Látka po namíchání s vodou vytvořila sytě červený roztok, který je téměř neprůhledný. Na povrchu roztoku vznikly sytě žluté sraženiny, které se ani po skladování roztoku nerozpustily. Neúplné rozpuštění bylo způsobeno tím, že byla bromfenolová modř rozpouštěna ve vodě. Stejně množství barviva bylo následně rozpuštěno v ethanolu, kdy vznikl zcela nasycený roztok.

Běžné využití: Bromfenolová modř se v praxi využívá v laboratořích k vitálnímu barvení spermatozoí^[6].

Cena: 10 g / 900 Kč^[5].

Bezpečnost: Bromfenolová modř není klasifikována jako nebezpečná látka^[6].

○ **Chlorid železitý ($FeCl_3$)**

Popis chemické látky: Chlorid železitý má podobu světle hnědé nebo žluté krystalické látky, pro vytvoření činidla do této diplomové práce byla k dispozici žlutá forma chloridu železitého. Na vzduchu je hygroskopický (tzn. rozpouští se za působení vzdušné vlhkosti). Je velmi dobře rozpustný ve vodě, v etanolu, v metanolu a v diethyletheru (Vohlídal et al. 1999).

Příprava: V 5 ml vody byl rozpuštěn 1 g chloridu železitého, v 10 ml ethanolu byl rozpuštěn 1 g chloridu železitého.

Vzhled: Roztok chloridu železitého má tmavě oranžovou barvu, je průhledný.

Běžné využití: V praxi se roztoky chloridu železitého využívají jako leptadlo při výrobě plošných spojů v elektrotechnice, jako vložkovač nečistot při čištění odpadních vod nebo při výrobě barviv (Vohlídal et al. 1999).

Cena: 672 Kč / 1 kg^[7].

Bezpečnost: Při požití je látka zdraví škodlivá, je doporučeno pracovat v ochranných prostředcích^[8].

○ **Zelený inkoust**

Popis chemické látky: Svým složením je inkoust organická sloučenina vody a barviva nebo pigmentu. Inkousty byly dříve vyráběny například z duběnek nebo ze sazí (Neumann 2020).

Konkrétní inkoust, který byl využit v této práci byl vyroben polskou společností Pollena-Astra, která svou výrobu zahájila produkcí inkoustů a pečetních vosků. Dnes tato firma vyrábí převážně čisticí a desinfekční prostředky^[9].

Příprava: Barva byla kapátkem nanесena přímo na podložní sklíčko a do ní byl vložen kousek houbové tkáně.

Vzhled: Inkoust využitý v této kvalifikační práci má velmi tmavě zelenou barvu, bez zápachu.

Běžné využití: Inkousty všech barev se běžně využívají k tisku či psaní na papír (Neumann 2020).

Cena: Stejný inkoust, jenž byl použit v této práci, není již v prodeji.

○ **Anilinová modř (C₃₇H₂₇N₃Na₂O₉S₃)**

Popis chemické látky: Anilinová modř je tmavě modrý prášek bez zápachu.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,5 g anilinové modři.

Vzhled: Roztok má podobně jako ostatní modři tmavě modrou barvu téměř bez průhlednosti.

Běžné využití: Využívá se k barvení AZAN, kdy zvýrazňuje v histologických preparátech kolagenová vlákna^[11].

Cena: 384 Kč / 25 ml (prodává se jako hotový roztok)^[10].

Bezpečnost: Při používání této látky je doporučeno využívat ochranné pomůcky, neboť způsobuje vážné podráždění očí, dýchacích cest a kůže^[10].

○ **Toludiniová modř (C₁₅H₁₆ClN₃S)**

Popis chemické látky: Patří mezi bazická barviva, která svými vlastnostmi obarvují záporně nabitě částice. Barvivo je rozpustné ve vodě^[12].

Příprava: 0,1 g modři je rozpuštěno v 100 ml vody.

Vzhled: Roztok má velmi tmavě modré zbarvení.

Běžné využití: V histologii se využívá pro barvení buněčných jader. V botanice k identifikaci rostlinných buněk^[12].

Cena: 5 070 Kč / 100 g^[12].

Bezpečnost: Při práci s touto látkou je doporučeno využít ochranné prostředky^[12].

○ **Methylenová modř (C₁₆H₁₈ClN₃S)**

Popis chemické látky: Tato látka je thiazinové barvivo ve formě tmavě modrého prášku, který se rozpouští ve vodě^[13].

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,5 g methylenové modři.

Vzhled: Vodný roztok methylenové modři má velmi tmavě modré neprůhledné zbarvení.

Běžné využití: Methylenová modř se běžně využívá v lékařství k léčbě methemoglobinemie nebo při intoxikaci kyanidem. Jako barvivo se využívá při endoskopii v podobě doplňku k fyziologickému roztoku, kdy je pomocí tohoto barviva identifikována submukózní tkáň. Podáním intravenózně se využívá při vyšetření močových cest^[13].

Cena: 2 457 Kč / 10 g^[14].

Bezpečnost: Při lékařském využití může způsobovat řadu vedlejších účinků, a to vysoký tlak, bolesti hlavy, teplotu, anémii, zvracení či nevolnost. Při kontaktu s kůží nezpůsobuje mimo obarvení žádné vážné poranění^[13].

○ **Trypanová modř (C₃₄H₂₄N₆Na₄O₁₄S₄)**

Popis chemické látky: Trypanová modř je azobarvivo ve formě tmavě modrého prášku.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,1 g trypanové modři.

Vzhled: Roztok ihned po namíchání vykazoval sytě tmavě modrou neprůhlednou barvu.

Běžné využití: Vzhledem ke své selektivní schopnosti prostupovat membránou mrtvých a poškozených buněk se využívá v mikrobiologii ke stanovení počtu živých buněk ve vzorku a k barvení kolagenových vláken pojivové tkáně^[15].

Cena: 10 g / 800 Kč^[15].

Bezpečnost: Trypanová modř je silný jed a je karcinogenní. Nutno použít ochranné prostředky^[15].

○ **Alizarinová modř (C₁₇H₉NO₄)**

Popis chemické látky: Tato látka je organickou heterocyklickou sloučeninou. Má podobu jemného modrého prášku.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,2 g barviva, roztok však nebyl zcela rozpuštěn.

Vzhled: Roztok měl ihned po namíchání hnědou barvu, po chvíli se barvivo usadilo na dně a roztok zůstal světle hnědý.

Běžné využití: Díky své vlastnosti měnit barvu v závislosti na pH se využívá jako acidobazický indikátor. Využívá se také k barvení histologických preparátů^[16].

Cena: 3 360 Kč / 100 g^[17].

Bezpečnost: Je doporučeno využívat při manipulaci ochranné pomůcky^[17].

○ **Jodová tinktura (BETADINE)**

Popis chemické látky: Jodová tinktura (betadine) je 10% roztok jódu (100 mg) ve vodě (1 ml), dalšími složkami jsou 85% glycerol, kyselina citronová, hydrogenfosforečnan sodný a hydroxid sodný^[18].

Příprava: Jodová tinktura byla použita již připravená v podobě vodného roztoku, který je běžně dostupný v lékárnách.

Vzhled: Tekutina oranžovo hnědé barvy.

Běžné využití: Betadine se běžně využívá jako lokální desinfekční prostředek, vhodný k dezinfekci pokožky a sliznic. Působí hlavně proti bakteriím, plísním, virům a prvokům. Využívá se v lékařství k dezinfekci kůže před odběrem krve, před aplikací jehly nebo před chirurgickým zákrokem^[18].

Cena: cca 109 Kč / 100 ml^[18].

Bezpečnost: Při kontaktu s pokožkou může vyvolat nežádoucí účinky v podobě puchýřů či svědění, ve vzácných případech alergickou reakci^[18].

○ **Trypanová červeň (C₃₂H₁₉N₆Na₅O₁₅S₅)**

Popis chemické látky: Trypanová červeň je azobarvivo rozpustné ve vodě. Má podobu červeného jemného prášku.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,05 g trypanové červeně.

Vzhled: Roztok je sytě tmavě červený až hnědý, neprůhledný. Na sklíčku je světle růžový.

Běžné využití: Využívá se k obarvení histologických preparátů, kde rozlišuje životaschopné buňky od mrtvých. Dříve se využívala k léčbě trypanozomiázy^[19].

Cena: cca 9 500 Kč / 5 g^[19].

Bezpečnost: Je doporučeno využívat ochranné pomůcky^[19].

○ **Methylenová červen (C₁₅H₁₅N₃O₂)**

Popis chemické látky: Methyl červen patří chemicky mezi karboxylové kyseliny.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,01 g methylové červeně.

Vzhled: Roztok má sytě červenou průhlednou barvu.

Běžné využití: V mikrobiologii se využívá během MR testu, při kterém se zjišťují bakterie produkující stabilní kyseliny během kvašení glukózy. V chemii se využívá jako indikátor pH^[20].

Cena: 567 Kč / 10 g^[20].

Bezpečnost: Je doporučeno využívat ochranné pomůcky^[20].

○ **Bromkresolová červen (C₂₁H₁₆Br₂O₅S)**

Popis chemické látky: Chemické barvivo odvozeno od trifenylmethanu. Červenohnědý jemný prášek bez zápachu.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,02 g bromkresolové červeně.

Vzhled: Tmavě červený až oranžový neprůhledný roztok.

Běžné využití: V lékařství je využívána ke stanovení koncentrace albuminu^[21].

Cena: 2 157 Kč / 25 g^[21].

Bezpečnost: Při vdechnutí způsobuje dýchací potíže a při požití způsobuje nevolnosti. Je vhodné se vyhnout kontaktu s oční sliznicí^[21].

○ **Brompyrogallolová červen (C₁₉H₁₀Br₂O₉S)**

Popis chemické látky: Brompyrogallolová červená je tmavě hnědý prášek v podobě krystalů.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,01 g brompyrogallolové červeně.

Vzhled: Tmavě červený neprůhledný roztok, na sklíčku růžový.

Běžné využití: V analytické chemii se používá jako spektrofotometrické činidlo a komplexometrický indikátor (Záruba 2016).

Cena: 2000 Kč / 100 g^[22].

Bezpečnost: Není klasifikována jako nebezpečná chemikálie. Při kontaktu s okem může způsobit zarudnutí a slzení. Při kontaktu s kůží způsobuje začervenání^[22].

○ **Chroman draselný (K₂CrO₄)**

Popis chemické látky: Chroman draselný je žlutý krystalický prášek.

Příprava: V 10 ml vody byl rozpuštěn 1 g chromanu draselného.

Vzhled: Světle žlutý průhledný roztok.

Běžné využití: Chroman draselný byl dříve hojně využíván k syntéze chromové žlutí^[23].

Cena: 505 Kč / 250 g^[24].

Bezpečnost: Tato látka je velmi toxická při požití a karcinogenní při vdechnutí, její využití je v Evropě omezeno^[23].

○ **Chroman amonný ((NH₄)₂CrO₄)**

Popis chemické látky: Chroman amonný je sytě žlutý krystalický prášek.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,2 chromanu amonného.

Vzhled: Světle oranžový průhledný roztok.

Běžné využití: Často je využíván ve fotografii při tisku na textil k fixaci barviv na bavlnu, jako analytické činidlo, katalyzátor a inhibitor koroze (Patnaik 2002).

Cena: 99 Kč / 1 kg^[25].

Bezpečnost: Při kontaktu s pokožkou nebo při vdechnutí může vyvolat alergickou reakci^[25].

○ **Chroman barnatý (BaCrO₄)**

Popis chemické látky: Světle žlutý jemný prášek.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,2 g chromanu barnatého.

Vzhled: I přes úplné rozpuštění chemické látky vykazoval roztok mléčné neprůhledné zbarvení ihned po namíchání.

Běžné využití: Tato látka se využívá v chemické výrobě, v analytické chemii, při laboratorních syntézách^[26].

Cena: 420 Kč / 500 g^[27].

Bezpečnost: Při požití a vdechnutí je látka zdraví nebezpečná^[26].

○ **Brilantní zeleň (Brilantová zeleň, C₂₇H₃₄N₂O₄S)**

Popis chemické látky: Brillantní zeleň je triarylmethanové barvivo v podobě tmavě zeleného jemného prášku.

Příprava: Toto barvivo bylo připraveno rozpuštěním 0,1 g brilantní zeleně v 10 ml vody a poté 0,1 g brilantní zeleně 10 ml ethanolu z důvodu nerozpuštění ve vodě.

Vzhled: Po namíchání ve vodě vykazoval roztok tmavě zelené průhledné zbarvení, ale chemická látka nebyla zcela rozpuštěna, rozpuštěním v ethanolu vznikl sytě zelený neprůhledný roztok.

Běžné využití: Využívá se k barvení spor dle Raketta^[28].

Cena: 2 097 Kč / 100 g^[28].

Bezpečnost: Brilantní zeleň je toxická. Ve vodním prostředí může přetrvávat velmi dlouho. Může být karcinogenní při požití a vdechnutí^[28].

○ **Malachitová zeleň (C₂₃H₂₅Cl₁N₂)**

Popis chemické látky: Organická sloučenina v podobě zelených krystalů.

Příprava: Do 10 ml vody bylo vloženo 0,1 g barviva.

Vzhled: Roztok vykazoval sytě zelenou barvu srovnatelnou s brilantní zelení.

Běžné využití: Malachitová zeleň se využívá jako desinfekční prostředek proti plísňovému onemocnění ryb, v botanice k barvení rostlinných tkání s bakteriálním nebo plísňovým onemocněním, v mykologii k identifikaci spor Schaefferovo-Fultonovou metodou^[29].

Cena: 1 319 Kč / 100 g^[29].

Bezpečnost: Látka je zdraví nebezpečná^[29].

○ **Brilantní žlut' (C₂₆H₁₈N₄Na₂O₈S₂)**

Popis chemické látky: Žluté práškové barvivo.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,2 g brilantní žluti.

Vzhled: Brilantní žlutá rozpuštěná ve vodě má vzhled sytě žlutého průhledného roztoku.

Běžné využití: Využívá se jako pigment do temperových a dalších barev^[31].

Cena: 2 487 Kč / 100 g^[30].

Bezpečnost: Látka je zdraví nebezpečná^[30].

○ **Methanilová žlut' (C₁₈N₁₄N₃NaO₃S)**

Popis chemické látky: Sytě žlutý jemný prášek.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,1 g methanilové žluti.

Vzhled: Roztok methanilové žlutě je sytě žlutý a průhledný.

Běžné využití: V analytické chemii se využívá jako acidobazický indikátor pH, kdy mění barvu z červené na žlutou mezi pH 1,2 a 2,3. Přestože se nejedná o potravinové barvivo, v Indii ho využívají k obarvení kurkumy^[33].

Cena: 2 007 Kč / 100 g^[32].

Bezpečnost: Látka je zdraví nebezpečná^[32].

○ **Alizarinová žlut' (C₁₃H₉N₃O₅)**

Popis chemické látky: Alizarinová žlut' je azobarvivo v podobě oranžového jemného prášku.

Příprava: Toto činidlo bylo připraveno ve dvou variantách. V 10 ml vody bylo rozmícháno 0,1 g alizarinové žluti, vzhledem k tomu, že se ve vodě téměř nerozpustila bylo to samé množství namícháno v ethanolu. Roztok připravený v ethanolu byl zcela rozpuštěn.

Vzhled: Hnědý průhledný roztok.

Běžné využití: Využívá se jak pH indikátor, protože mění barvu ze žluté na červenou^[34].

Cena: 13 023 Kč / 100 g^[35].

Bezpečnost: Látka je zdraví škodlivá, je doporučeno používat ochranné pomůcky^[34].

○ **Methyloranž (C₁₄H₁₄N₃NaO₃S)**

Popis chemické látky: Methyloranž je azobarvivo v podobě oranžovo červeného prášku.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,01 g methyloranže.

Vzhled: Roztok měl ihned po namíchání sytě oranžovou barvu.

Běžné využití: Je součástí barviv, která slouží k barvení pojivových tkání^[36].

Cena: 1 257 Kč / 100 g^[36].

Bezpečnost: Látka je silně toxická^[36].

○ **Rivanol (Ethakridin laktát, C₁₈H₂₁N₃O₄)**

Popis chemické látky: Aromatická sloučenina na bázi akridinu tvoří oranžové krystaly se štiplavým zápachem.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,1 g rivanolu.

Vzhled: Roztok měl ihned po namíchání sytě žlutou barvu.

Běžné využití: Využívá se primárně jako antiseptikum účinné proti grampozitivním bakteriím. Ethakridin se také využívá k vyvolání porodu při potratu v druhém trimestru těhotenství (Tien 1983).

Cena: 11 500 Kč / 100 g^[37].

Bezpečnost: Při požití je látka nebezpečná^[37].

○ **Citronan amonnoželezitý (C₆H₈O₇·xFe³⁺·yNH₃)**

Popis chemické látky: Citronan amonnoželezitý je pevná chemická látka světle žlutého zabarvení.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,02 g citronanu.

Vzhled: Roztok byl ihned po namíchání světle žlutý.

Běžné využití: Běžně se využívá jako regulátor kyselosti v potravinách, k čištění vody, v lékařství k identifikaci enterobakterií nebo jako kontrastní látka^[38].

Cena: 469 Kč /100 g^[38].

Bezpečnost: Způsobuje vážné podráždění oční sliznice, kůže a dýchacích cest^[39].

○ **Oxid wolframový (WO₃)**

Popis chemické látky: Citronově žlutý prášek bez zápachu.

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,05 g oxidu wolframového.

Vzhled: Roztok byl ihned po namíchání průhledný a sytě žlutý.

Běžné využití: Využívá se při procesu Sol-gel (příprava skelných a keramických materiálů pomocí chemické polymerace) (Hesková 2017).

Cena: 1 425 Kč / 100 g^[40].

Bezpečnost: Zdraví škodlivý^[40].

○ **Oxid chromitý (chromová zeleň, Cr₂O₃)**

Popis chemické látky: Zelený krystalický prášek, který je jedním ze tří oxidů chromu. Ve vodě se téměř nerozpouští. Je rozpustný v ethanolu^[41].

Příprava: Roztok oxidu chromitého byl připraven nejprve rozpuštěním 0,5 g v 10 ml vody a následně bylo rozpuštěno stejné množství v 10 ml ethanolu. V obou dvou případech byla příprava roztoku neúspěšná.

Vzhled: Roztok rozpuštěný v ethanolu měl sytě zelenou barvu.

Cena: 585 Kč / 100 g^[41].

Běžné využití: Využívá se jako pigment pro přípravu uměleckých barev nebo v kosmetice^[42].

Bezpečnost: Látka je zdraví nebezpečná^[42].

○ **Síran měďnatý (CuSO₄)**

Popis chemické látky: Světle modrý krystalický prášek, její pentahydrát je známý pod názvem modrá skalice (dříve modrý vitriol)^[43].

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,2 g síranu měďnatého.

Vzhled: Roztok ihned po namíchání vykazoval průhledné modré zabarvení.

Běžné využití: Využívá se k výrobě barev, impregnaci dřeva, konzervaci vycpaných zvířat, k hubení škůdců a jako bazénová chemie.

Cena: 462 Kč / 100 g^[43].

Bezpečnost: Při požití způsobuje zvracení, je silně toxický^[43].

○ **Alizarinsulfan sodný (C₁₄H₇NaO₇S)**

Popis chemické látky: Alizarinsulfan sodný je žlutý prášek rozpustný ve vodě^[44].

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,5 g alizarinsulfanu sodného.

Vzhled: Roztok byl ihned po namíchání sytě žlutý.

Běžné využití: V histologii se využívá ke stanovení přítomnosti vápníku ve tkáních, v geologii k identifikaci uhličitanů (Dickson 1966).

Cena: 3 950 Kč / 25 g^[44].

Bezpečnost: Je doporučeno používat při manipulaci ochranné pomůcky, aby nedošlo ke kontaktu chemické látky s kůží a dýchacími cestami^[44].

○ **Dusičnan kobaltnatý (Co(NO₃)₂)**

Popis chemické látky: Dusičnan kobaltnatý je anorganická sloučenina. Tvoří červeno hnědé krystaly^[45].

Příprava: V 5 ml vody bylo rozpuštěno 0,5 g dusičnanu kobaltnatého.

Vzhled: Roztok ihned po namíchání vykazoval červenou průhlednou barvu.

Běžné využití: Jeho barevné vlastnosti se běžně využívají při výrobě inkoustů a barviv (Larrañaga a kol. 2016).

Cena: 735 Kč /100 g^[45].

Bezpečnost: Látka je zdraví nebezpečná^[45].

○ **Fluorescein (C₂₀H₁₂O₅)**

Popis chemické látky: Fluorescein má podobu žlutého jemného prášku rozpustného ve vodě^[46].

Příprava: V 10 ml vody bylo rozpuštěno 0,1 g fluoresceinového prášku.

Vzhled: Roztok měl ihned po namíchání světle žlutou průhlednou barvu. Při vložení preparátu do mikroskopu a následnému průsvitu vznikl fyzikální jev nazývaný jako fluorescence, kdy došlo k vyzařování světla činidlem.

Běžné využití: Tato látka je využívána ve fluorescenční mikroskopii, k detekci krve v soudnictví nebo při výrobě fluorescenčních značek^[46].

Cena: 1 185 Kč / 100 g^[47].

Bezpečnost: Při požití způsobuje nevolnosti a zvracení nebo silnou alergickou reakci^[46].

Tab. 1. Seznam nově namíchaných činidel.

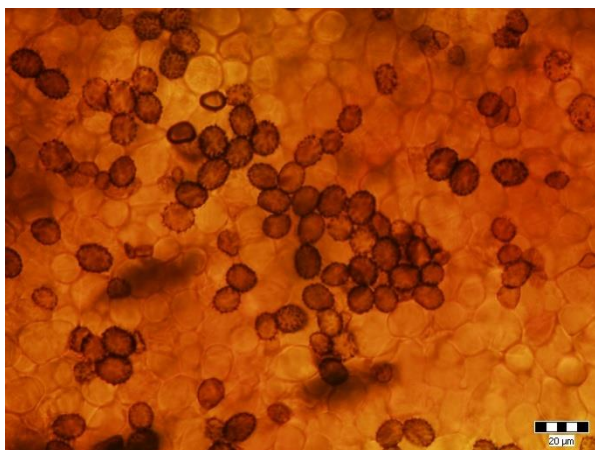
	<i>Chemický vzorec</i>	<i>Příprava</i>	<i>Barva roztoku</i>	<i>Poznámka</i>
<i>Ferrokyanid draselný</i>	$K_4[Fe(CN)_6]$	10 ml vody + 2 g	Zeleno hnědá	Na sklíčku světle zelený.
<i>Chlorid kobaltnatý</i>	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	10 ml vody + 2 g	Sytě červená	-
<i>Chlorid železitý</i>	$FeCl_3$	10 ml vody + 1 g	Světle hnědá	-
<i>Inkoust</i>	-	-	Tmavě zelená	-
<i>Bromfenolová modř</i>	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	10 ml vody + 2 g	Tmavě fialová	-
<i>Toludiniová modř</i>	$C_{15}H_{16}ClN_3S$	-	Tmavě modrá	-
<i>Methylenová modř</i>	$C_{16}H_{18}ClN_3S$	-	Tmavě modrá	-
<i>Anilinová modř</i>	$C_{37}H_{27}N_3Na_2O_9S_3$	-	Tmavě modrá	-
<i>Trypanová modř</i>	$C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$	10 ml vody + 0,1 g	Fialová	-
<i>Alizarinová modř</i>	$C_{17}H_9NO_4$	10 ml vody + 0,2 g	Tmavě modrá	Roztok nebyl zcela rozpuštěn.
<i>Jodová tinktura</i>	-	-	Hnědá	Roztok byl již připravený.
<i>Methylenová červeň</i>	$C_{15}H_{15}N_3O_2$	10 ml vody + 0,01 g	Červená	-
<i>Trypanová červeň</i>	$C_{32}H_{19}N_6Na_5O_{15}S_5$	10 ml vody + 0,05 g	Sytě červená	Roztok je neprůhledný, na sklíčku růžový.
<i>Bromkresolová červeň</i>	$C_{21}H_{16}Br_2O_5S$	10 ml vody + 0,02 g	Tmavě oranžová/červená	-
<i>Brompyrogallová červeň</i>	$C_{19}H_{10}Br_2O_9S$	10 ml vody + 0,01 g	Tmavě červená	Roztok je neprůhledný, na sklíčku světle růžový.
<i>Chroman draselný</i>	K_2CrO_4	10 ml vody + 1 g	Žlutá	-
<i>Chroman amonný</i>	$(NH_4)_2CrO_4$	10 ml vody + 0,2 g	Sytě žlutá	-
<i>Chroman barnatý</i>	$BaCrO_4$	10 ml vody + 0,2 g	Světle žlutá	Roztok ihned po namíchání vykazuje mléčné zbarvení.

Brilantní zeleň	$C_{27}H_{34}N_2O_4S$	10 ml vody + 0,1 g 10 ml ethanolu + 0,1 g	Tmavě zelená Tmavě zelená	Roztok byl připraven ve vodě i v ethanolu. V obou případech je téměř neprůhledný.
Malachitová zeleň	$C_{23}H_{25}ClN_2$	10 ml vody + 0,01 g	Tmavě zelená	Nerozpuštělo se.
Brilantní žlut'	$C_{26}H_{18}N_4Na_2O_8S_2$	10 ml vody + 0,1 g	Tmavě hnědá	Roztok je neprůhledný, na sklíčku barvou podobný Lugolovu roztoku.
Methanilová žlut'	$C_{18}N_{14}N_3NaO_3S$	10 ml vody + 0,1 g	Sytě oranžová.	Roztok je neprůhledný.
Alizarinová žlut'	$C_{13}H_9N_3O_5$	10 ml vody + 0,1 g 10 ml ethanolu + 0,1 g	Hnědá	Ve vodě se nerozpouští, rozpuštěno v ethanolu.
Methyloranž	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$	10 ml vody + 0,1 g	Sytě oranžová	-
Rivanol	$C_{18}H_{21}N_3O_4$	10 ml vody + 0,1 g	Žlutá	-
Citronan amonnoželezitý	$C_6H_8O_7 \cdot xFe^{3+} \cdot yNH_3$	10 ml vody + 0,02 g	Světle žlutá	-
Síran měďnatý	$CuSO_4$	10 ml vody + 2 g	Světle modrá	Roztok nebyl zcela rozpuštěn
Alizarinsulfan sodný	$C_{14}H_7NaO_7S$	10 ml vody + 0,5g	Oranžová	-
Dusičnan kobaltnatý	$Co(NO_3)_2$	10 ml vody + 1 g	Světle červená	-
Oxid wolframový	WO_3	10 ml vody + 0,05 g	-	Nerozpuštěno.
Oxid chromitý	Cr_2O_3	10 ml vody + 0,5 g 10 ml ethanolu + 0,5 g	-	Nerozpuštěno.
Fluorescein	$C_{20}H_{12}O_5$	10 ml vody + 0,5 g	Žlutooranžová	V lahvičce i na sklíčku nastala u roztoku fluorescence.

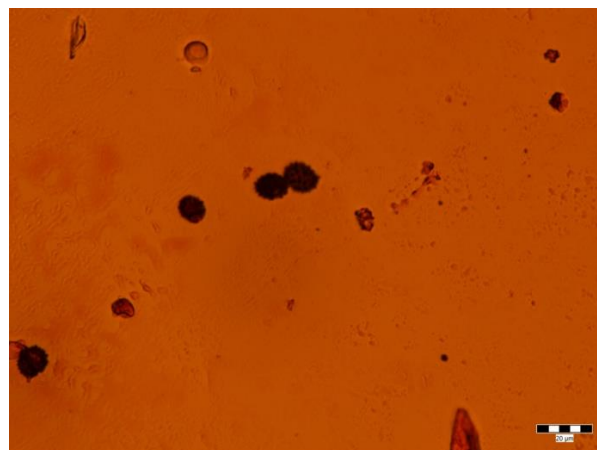
7. VÝSLEDKY

7. 1. *Russula decolorans* (holubinka odbarvená)

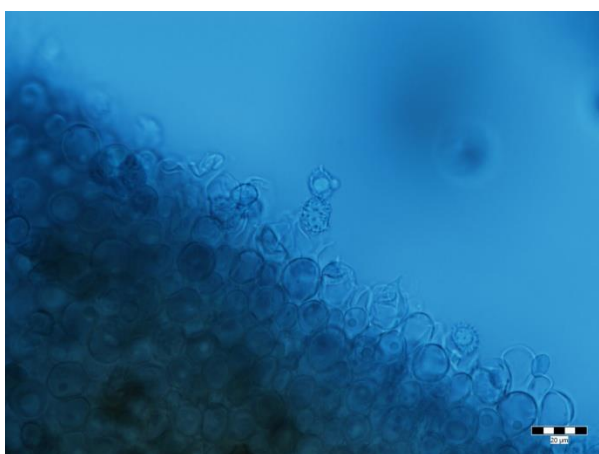
- **Melzerovo činidlo** bylo využito jako první, pro kontrolu amyloidní reakce, která se projevila výrazně zbarvenými spory, u kterých byla jasně patrná jejich povrchová ornamentika (obr. 7).
- **Lugolův roztok** obdobně jako Melzerovo činidlo obarvilo spory, zde ale nebyla jasně patrná ornamentika, spory se v mikroskopu projevíly velmi tmavě (obr. 8).
- **Bavlnová modř** byla u tohoto zástupce použita metodou nahřátí připraveného preparátu nad plamenem. Celý preparát je v tmavších odstínech modré barvy, spory jsou zřetelné i s povrchovou ornamentikou (obr. 9).
- **Phloxine** se neprojevil jako vhodné činidlo pro pozorování preparátů tohoto ani dalších zástupců. Preparát obarvený tímto činidlem má jednolitě růžové zbarvení, spory jsou velmi málo patrné (obr. 10).
- **KOH** obarví pouze preparát a okolí zůstane čiré. Spory jsou jasně patrné, ornamentika zvýrazněná.
- **Sulfovanilin** byl připraven na podložním sklíčku a do něj byl vložen kousek lupenu holubinky. Preparát měl narůžovělý odstín, u spor zvýrazněná ornamentika, ale ne příliš zřetelně.
- **Orcein** obarvil celý preparát do růžových odstínů a nebylo možné pozorovat v dostačující kvalitě všechny struktury. U spor bylo patrné, že se u nich vyskytuje ornamentika (obr. 11).
- **Kongo červen (vodný roztok)** obarvila preparát do velmi tmavě červené barvy, okrajové struktury se jevíly průhledným dojmem, okolí preparátu bylo čiré, u spor byla patrná ornamentika, protože se obarvil jen okraj. Tmavá barva preparátu může být ovlivněna jeho tloušťkou (obr. 12).
- **Kongo červen (amoniakální roztok)** preparát byl podobný jako u předchozího činidla, ale kvalitnější. U spor byla zřetelná ornamentika (obr. 13).



Obr. 7. *R. decolorans*, Melzerovo činidlo, 400×.



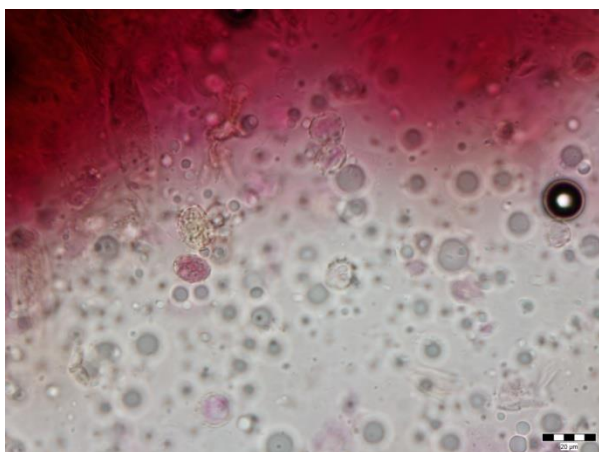
Obr. 8. *R. decolorans*, Lugolův roztok, 400×.



Obr. 9. *R. decolorans*, bavlnová modř, 400×.



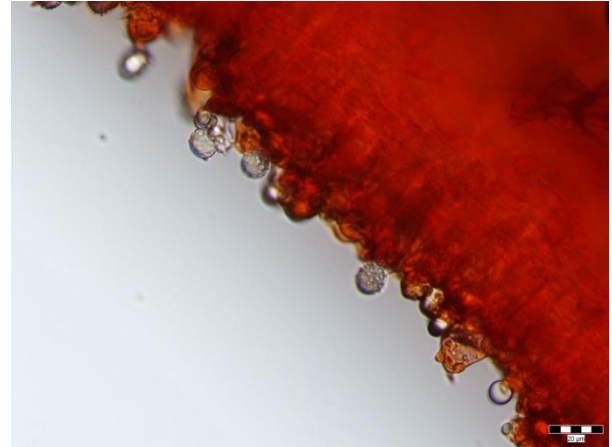
Obr. 11. *R. decolorans*, orcein, 400×.



Obr. 10. *R. decolorans*, phloxine, 400×.



Obr. 12. *R. decolorans*, kongo červeň (vodný r.), 400×.

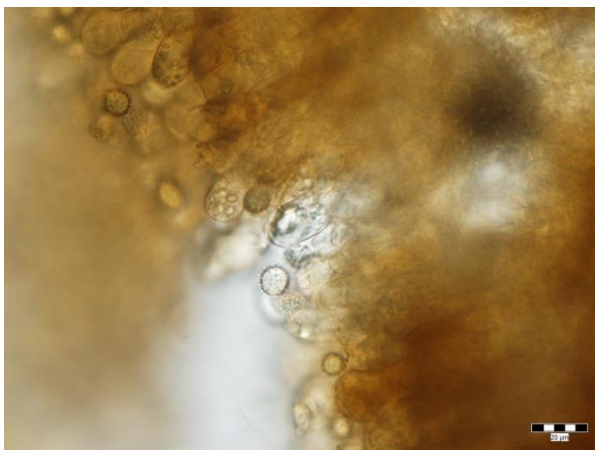


Obr. 13. *R. decolorans*, kongo červeň (amoniakální r.), 400×.

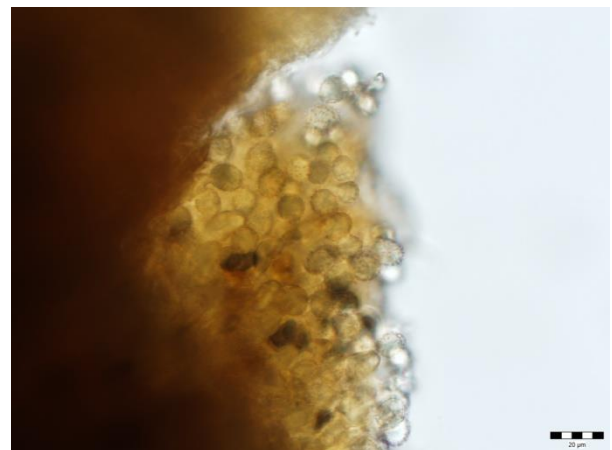
Činidla použitá pouze u holubinky odbarvené:

U všech níže uvedených činidel byl výsledek velmi podobný (viz obr. 14–18). Preparáty jsou dobře pozorovatelné, zvláště je jejich přirozená barva. Okolí preparátu je čiré. Povrchová ornamentika spor je zřetelná, samotné spory jsou jasně ohraničené.

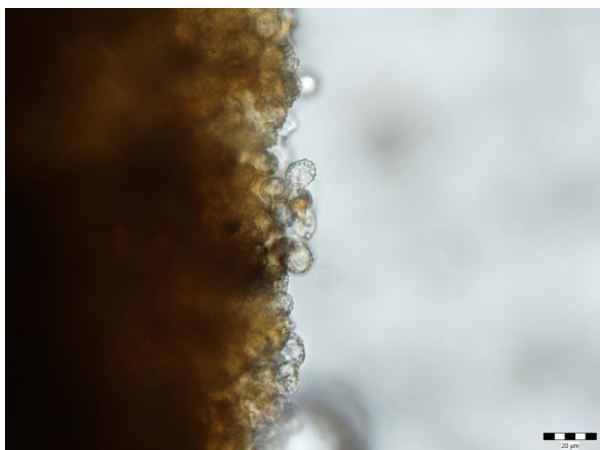
- **Amoniak** (obr. 14).
- **Formalin** (obr. 15).
- **Síran železnatý** (obr. 16).
- **Fenol** (obr. 17).
- **Guajak** (obr. 18).



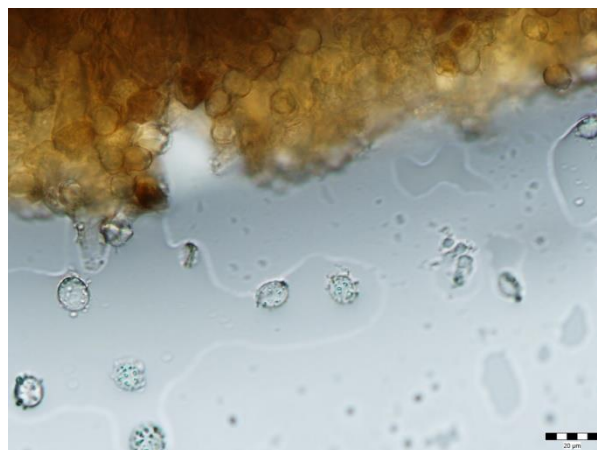
Obr. 14. *R. decolorans*, amoniak, 400×.



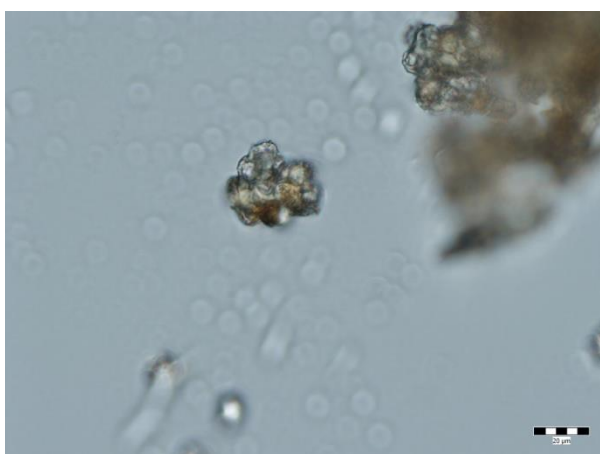
Obr. 15. *R. decolorans*, formalin, 400×.



Obr. 16. *R. decolorans*, síran železnatý, 400×.



Obr. 18. *R. decolorans*, guajak, 400×.



Obr. 17. *R. decolorans*, fenol, 400×.

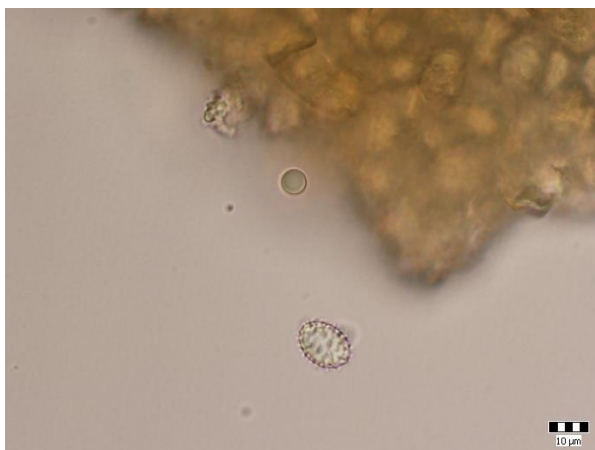
Nová činidla:

- **Ferrokyanid draselný (hexakynoželeznatan draselný)** obarvil preparát do velmi slabě oranžové barvy. V porovnání s Melzerovým činidlem spory nevybarvil tak silně, ty pak nebyly tak zřetelně vidět. Preparát byl v činidle velmi dobře smáčivý, nepopraskal, nerozpadl se ani činidlo nezbarvil do jiné barvy (obr. 19).
- **Chlorid kobaltnatý** má výsledky velmi podobné s předchozím činidlem (obr. 20).
- **Chlorid železitý** po rozpuštění ve vodě vytvořil sraženiny nerozpuštěného prášku, pozorování nebylo úspěšné. Po rozpuštění v ethanolu byly výsledky lepší, i přes to preparát působil rozmazaně, obarveny byly pouze houbové struktury, zbytek preparátu byl ostrý. Pro pozorování všech struktur bylo nutné hodně mikroskop proostřovat (obr. 21).
- **Inkoust** obarvil preparát včetně jeho okolí do zelených až tyrkysových odstínů. U spor byla zřetelně viditelná ornamentika, měly ostré okraje (obr. 22).

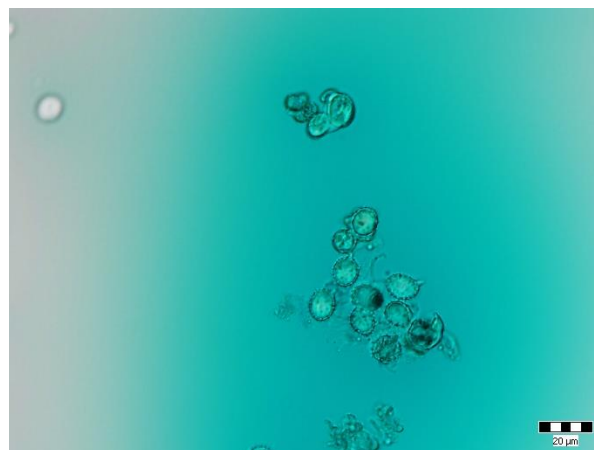
- **Bromfenolová modř** způsobila, že preparát ihned po namočení do činidla zřívověl (téměř zčernal) a začal obarvovat i činidlo na tmavší barvu. Pod mikroskopem bylo téměř nemožné najít v preparátu místo, které by bylo vhodné pro pozorování znaků houby (obr. 23).
- **Methylenová modř** stejně jako ostatní modré barvy zbarvila houbovou tkáň do sytě modrých barev včetně jejího okolí. U spor nebyla zřetelně vidět ornamentika (obr. 24).
- **Trypanová modř** nechala okolí preparátu čiré, samotný preparát zbarvila do sytě modré pouze po okrajích a vnitřek zůstal nezbarvený. Vlivem tmavé barvy na okrajích, spory nebyly tak zřetelné. Při vyšším prosvětlení byla zřetelnější ornamentika (obr. 25).
- **Jodová tinktura (BETADINE)** obarvila celý preparát i s okolím do odstínů hnědé až oranžové, spory byly ostré, jasně ohraničené s dobře pozorovatelnou ornamentikou (obr. 26).
- **Trypanová červeně** vytvořila velmi sytě červený až růžový preparát, ve kterém byly veškeré struktury velmi slité. Pouze po okrajích byly vidět spory s patrnou ornamentikou, celkově preparát nebyl kvalitní. Okolí zůstalo čiré (obr. 27).
- **Methylenová červeně** obarvila preparát do světle oranžových odstínů, s čirým okolím. Po okolí preparátu se vytvořila sytě tmavá až černá vrstva. Při prosvětlení byly zřetelné spory včetně ornamentiky (obr. 28).
- **Bromkresolová červeně** zbarvila preparát do žluté až hnědé barvy, okolí zůstalo čiré. Struktury byly nejasné, bez zřetelného ohraničení (obr. 29).
- **Brompyrogallolová červeně** nechala okolí preparátu čiré, preparát obarvila do sytě fialové barvy, kdy na okrajích bylo zbarvení sytější. V některých místech byly zřetelné spory, ale bez jasného ohraničení a známek ornamentiky (obr. 30).
- **Chroman draselný** celou houbovou tkáň téměř rozložil, nebylo tak možné v preparátu nic pozorovat.
- **Chroman amonný** zvýraznil velmi dobře veškeré pozorovatelné struktury, preparát nebyl ani příliš tmavý, ani světlý. Při prosvětlení mikroskopu byla jasně zřetelná ornamentika spor. Okolí tkáň zůstalo čiré (obr. 31).
- **Brilantní zeleň** byla použita nejprve ve vodě, kdy nebyly v preparátu pozorovatelné téměř žádné struktury (obr. 32). Varianta s ethanolem poskytla lepší výsledky, na některých místech preparátu byly jasně pozorovatelné spory

i s ornamentikou (obr. 33). Obě dvě varianty způsobily velmi tmavé zelené (tyrkysově) zbarvení preparátu a o něco světlejší okolí.

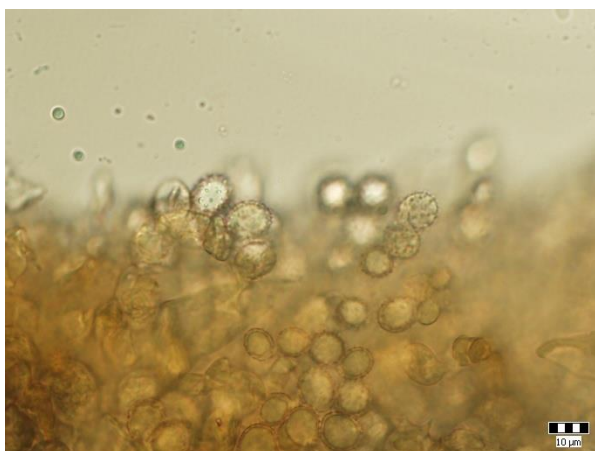
- **Brilantní žlut'** zbarvila preparát včetně jeho okolí do hnědých až oranžových odstínů. Při proostřování byly v preparátu zřetelné spory, ale bez jasného ohraničení (obr. 34).
- **Methanilová žlut'** obarvila preparát včetně jeho okolí do hnědé až žluté barvy. Preparát však zůstal dostatečně světlý, aby byly pozorovatelné jeho struktury. Byly zde patrné spory včetně ornamentiky (obr. 35).
- **Alizarinová žlut'** zbarvila preparát do světle žlutých odstínů, okolí zůstalo čiré, na sporách nebyla výrazně zřetelná ornamentika (obr. 36).
- **Methyloranž** měla ze všech činidel použitých na holubinku odbarvenou (*R. decolorans*) nejlepší výsledky, které jsou srovnatelné s činidly používanými výhradně na holubinky (např.: formalin viz obr. 15). Preparát byl zbarven do odstínů světle hnědé barvy s čirým okolím. Spory i další buňky byly jasně a zřetelně ohraničené. U spor byla pozorovatelná ornamentika (obr. 37).
- **Rivanol (ethakridin)** obarvil preparát do žluté barvy. Preparát v tomto činidle působil slitě, nebyly zřetelné žádné pozorovatelné struktury, okolí zůstalo čiré (obr. 38).
- **Citronan amonnoželezitý** zvýraznil spory a další buňky v preparátu zřetelně. Na sporách byla patrná ornamentika. Okolí preparátu bylo čiré (obr. 39).
- **Síran měďnatý** nevytvořil v preparátu žádné viditelné struktury, celý preparát byl rozmazaný, okolí zůstalo čiré.
- **Alizarinsulfan sodný** zvýraznil zřetelně ohraničené houbové buňky. Houbová tkáň byla obarvena do hnědých odstínů, okolí preparátu zůstalo čiré (obr. 40).
- **Dusičnan kobaltnatý** zapříčinil, že preparát působí velmi rozmazaně. Nebylo možné pozorovat žádné jasně ohraničené struktury. Okolí houbové tkáně zůstalo čiré.
- **Fluorescein** vytvořil pod mikroskopem velmi zajímavý jev, kdy při průsvitu světla z mikroskopu celé sklíčko včetně preparátu rozptýlilo světelné paprsky a vzniklo světlo zelené. Na pozorování preparátu ale tento jev neměl vliv. Preparát byl zbarvený do odstínů velmi světle žluté barvy, kdy na okrajích bylo zbarvení sytější. Ostrost preparátu nebyla vysoká, při proostřování byly zřetelné spory včetně ornamentiky i další struktury. Okolí tkáně bylo čiré (obr. 41).



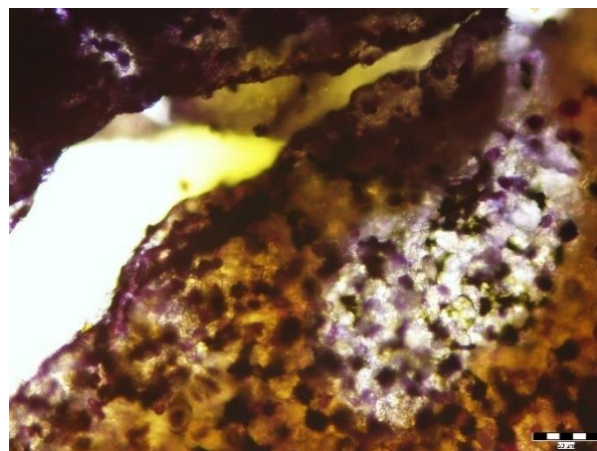
Obr. 19. *R. decolorans*, ferrokyanid draselný, 400×.



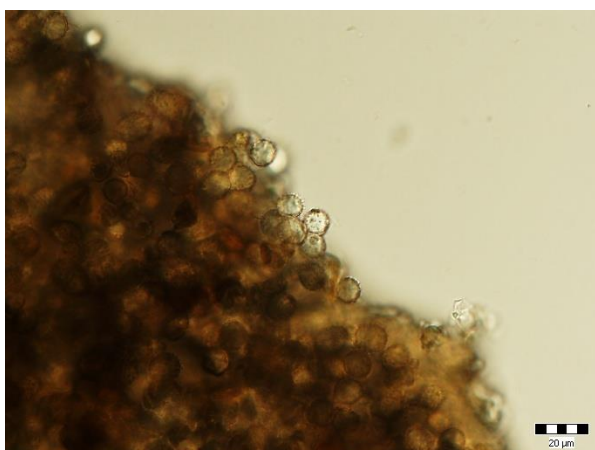
Obr. 22. *R. decolorans*, inkoust, 400×.



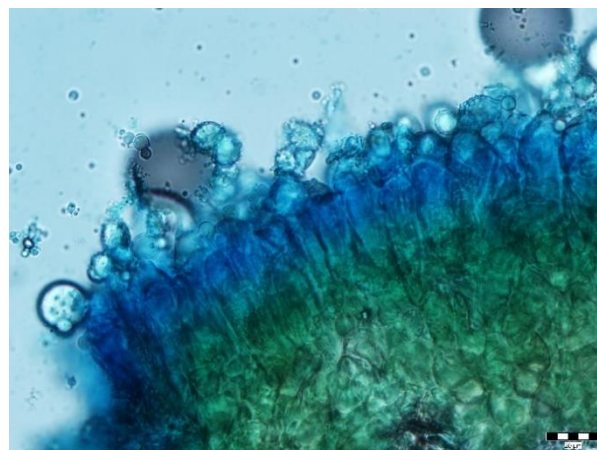
Obr. 20. *R. decolorans*, chlorid kobaltnatý, 400×.



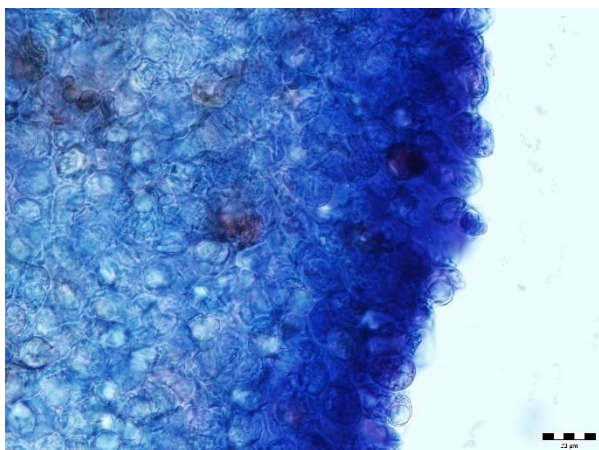
Obr. 23. *R. decolorans*, bromfenolová modř, 400×.



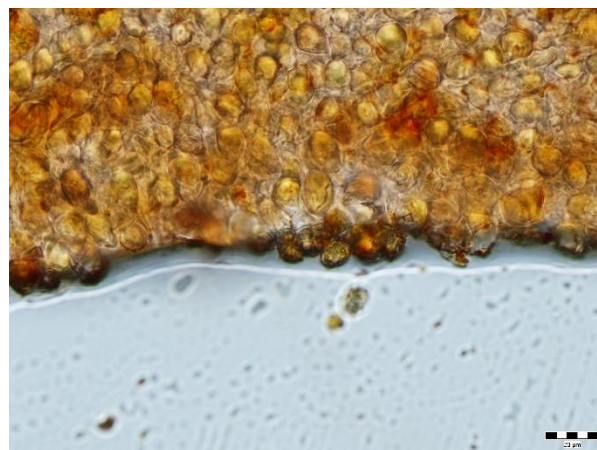
Obr. 21. *R. decolorans*, chlorid železitý, 400×.



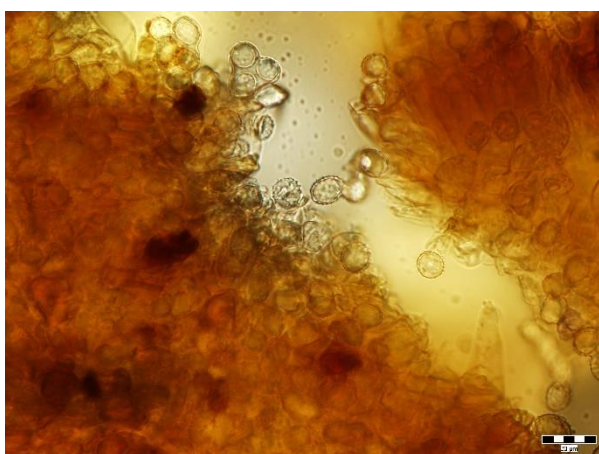
Obr. 24. *R. decolorans*, methylenová modř, 100×.



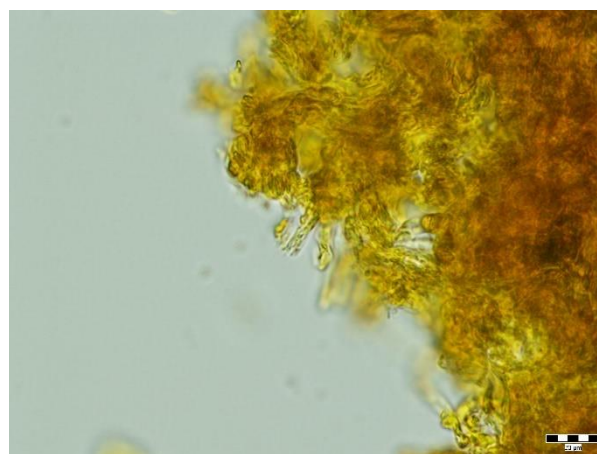
Obr. 25. *R. decolorans*, trypanová modř, 400×.



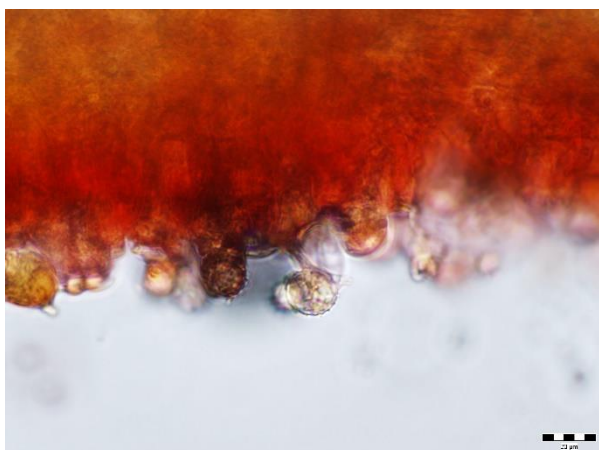
Obr. 28. *R. decolorans*, methylenová červeň, 400×.



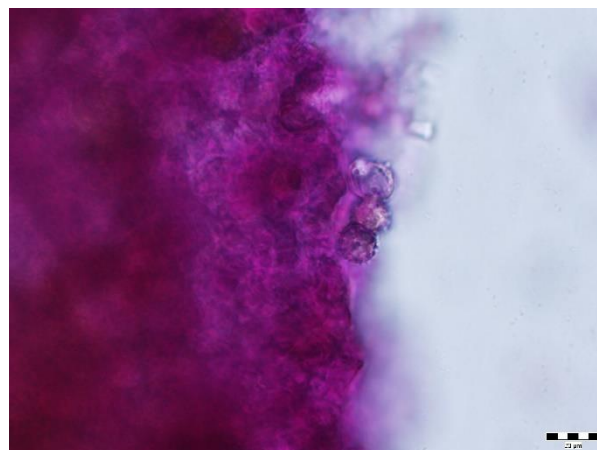
Obr. 26. *R. decolorans*, jodová tinktura, 400×.



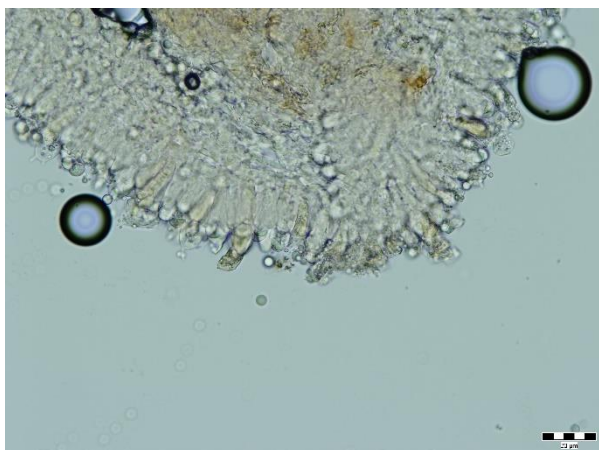
Obr. 29. *R. decolorans*, bromkresolová červeň, 400×.



Obr. 27. *R. decolorans*, trypanová červeň, 400×.



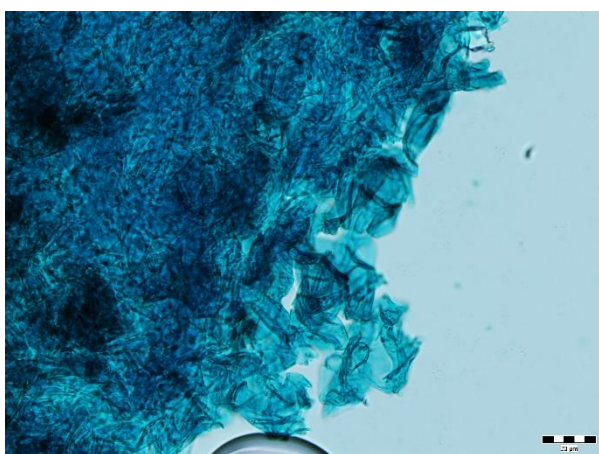
Obr. 30. *R. decolorans*, brompyrogallolová červeň, 400×.



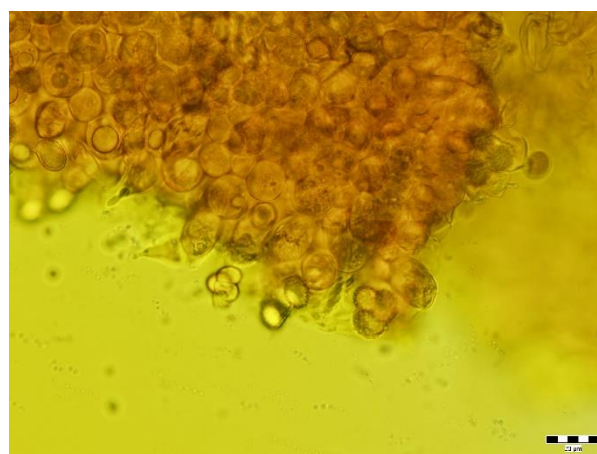
Obr. 31. *R. decolorans*, chroman amonný, 200×.



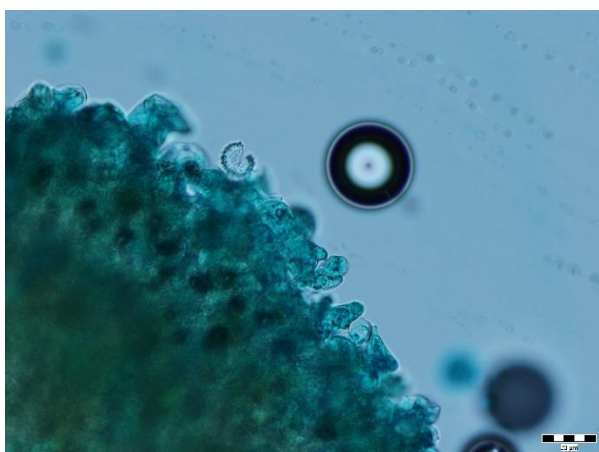
Obr. 34. *R. decolorans*, brilantní žluť, 400×.



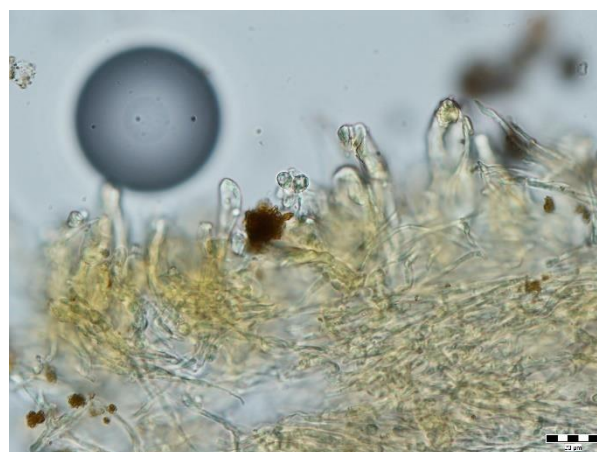
Obr. 32. *R. decolorans*, bril. zeleň + voda, 400×.



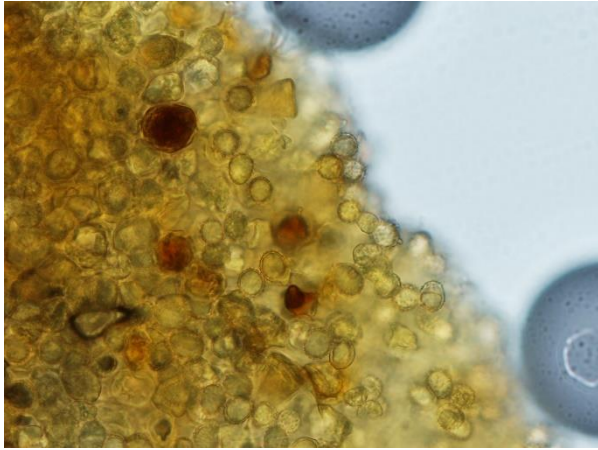
Obr. 35. *R. decolorans*, methanilová žluť, 400×.



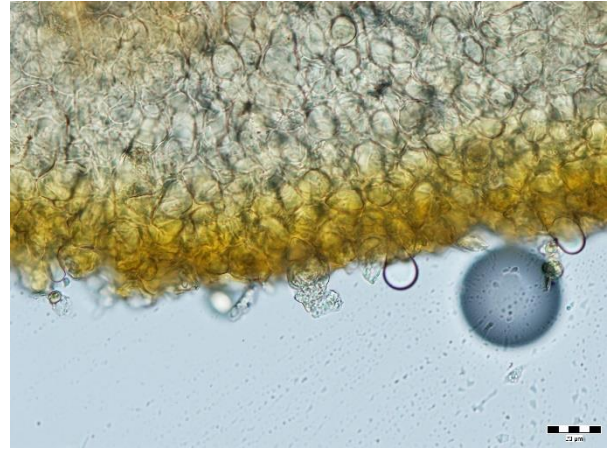
Obr. 33. *R. decolorans*, bril. zeleň + ethanol, 400×.



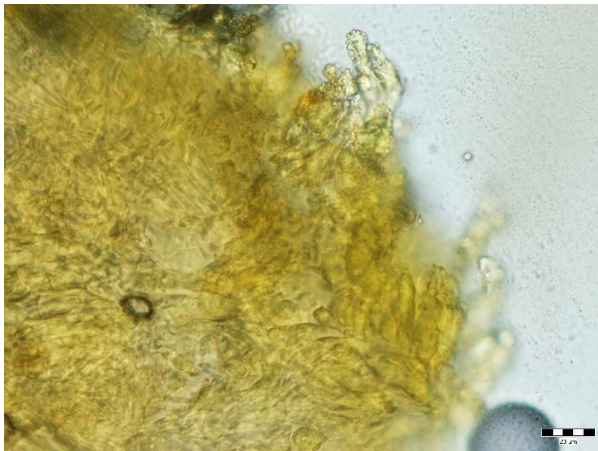
Obr. 36. *R. decolorans*, alizarinová žluť, 400×.



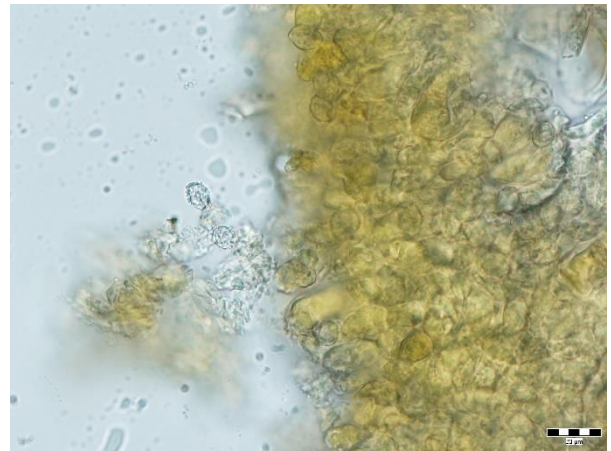
Obr. 37. *R. decolorans*, methyloranž, 400×.



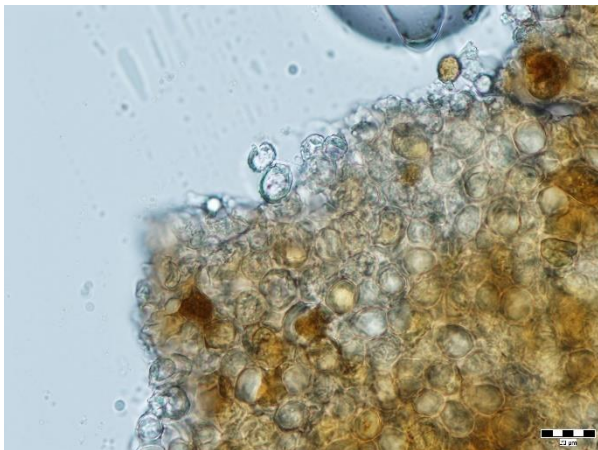
Obr. 40. *R. decolorans*, alizarinsulfan sodný, 400×.



Obr. 38. *R. decolorans*, rivanol, 400×.



Obr. 41. *R. decolorans*, fluorescein, 400×.



Obr. 39. *R. decolorans*, citronan amonnoželezitý, 400×.

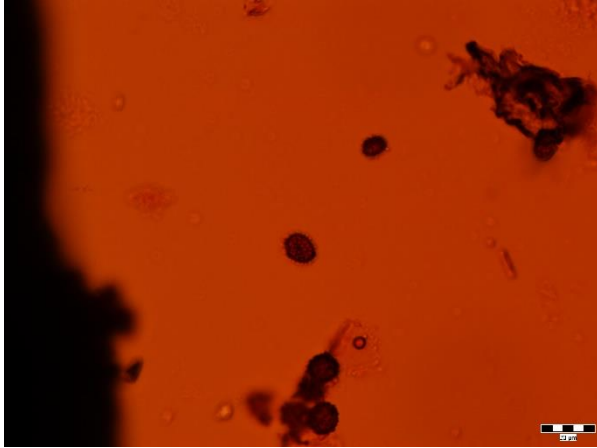
7. 2. *Amanita citrina* (muchomůrka citrónová)

Na muchomůrku citrónovou (*A. citrina*) byla použita všechna výše uvedená činidla, vyjma skupiny činidel, která se využívají výhradně u holubinek (amoniak, formalin, síran železnatý, fenol, guajak). Všechny preparáty byly pozorovány v různých zvětšeních, pořízené fotografie jsou při zvětšení 400×.

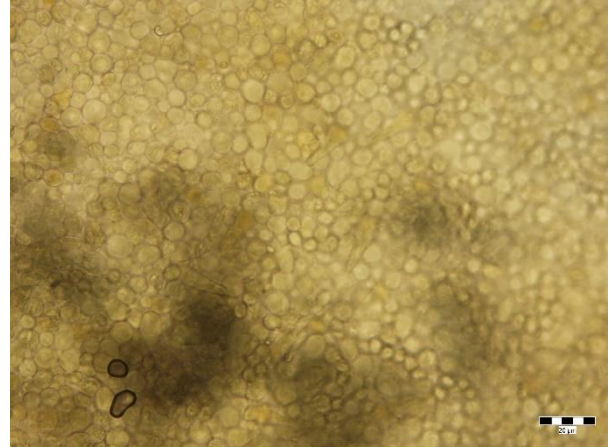
- **Melzerovo činidlo**, obdobně jako je tomu u všech ostatních zástupců, i zde zafungovalo velmi dobře.
- **Lugolův roztok** zvýraznil všechny důležité struktury, ale ve značně tmavších odstínech, než je tomu u předchozího činidla (obr. 42).
- **Bavlnová modř** byla použita bez metody nahřátí sklíčka nad plamenem, nebyly zde jasně zvýrazněné téměř žádné struktury, spory nebyly jasně ohraničené ani nebyl zřetelně vidět jejich povrch. Okolí vzorku bylo jednolitě světle modré, stejně jako vzorek samotný (obr. 43).
- **Phloxine** způsobil, že byl celý vzorek jednolitě růžový, jen okraje spor byly ostřejší, než tomu bylo u bavlnové modři.
- **KOH** roztok měl výsledky patrně lepší, spory u tohoto vzorku byly dostatečně zřetelné a okraje ohraničené, bylo patrné, že se u tohoto rodu nevyskytují žádné výraznější povrchové struktury, preparát nebyl slitý do jedné barvy (obr. 44).
- **Sulfovanilin** u tohoto preparátu i přes opakovanou přípravu nebyl úspěšný. Celý vzorek houbové tkáně se téměř rozpadl a nebylo možné na něm pozorovat žádné struktury.
- **Orcein** stejně jako výše uvedené činidlo nebyl u muchomůrky úspěšný. Způsobil jednolitý růžový preparát, ve kterém nebylo možné sledovat spory ani další struktury.
- **Kongo červen (vodný roztok)** na rozdíl od předchozího zástupce (*R. decolorans*), kde byl celý preparát nabarvený do červených odstínů (viz obr. 12), zde činidlo způsobilo světle fialové až modré obarvení celého vzorku i s okolím. Struktury jsou zřetelné, ale neostřejší, a proto nevhodné pro další pozorování.
- **Kongo červen (amoniakální roztok)** byla naopak velmi úspěšným činidlem u tohoto vzorku, preparát byl čirý, pouze na okrajích obarvený do červených odstínů. Všechny struktury byly velmi ostré a zřetelné (obr. 45).
- **Pyrogallol** byl u tohoto preparátu neúspěšný, způsobil, že spory ztratily svůj tvar. Toto může být dáno obsahem alkoholu v činidle. S činidlem se také při přípravě

preparátu pracovalo velmi špatně, neboť z podložního sklíčka velmi rychle vyprchává.

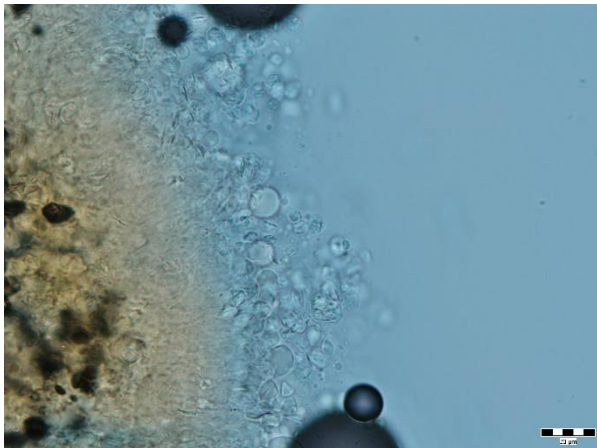
- **Naftol** měl výsledky totožné s předchozím činidlem.



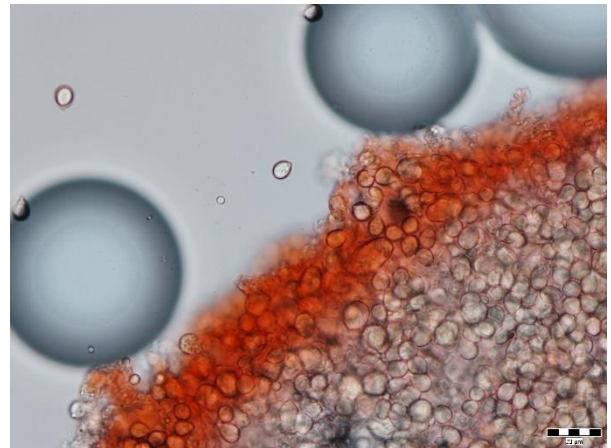
Obr. 42. *A. citrina*, Lugolův roztok, 400×.



Obr. 44. *A. citrina*, KOH, 400×.



Obr. 43. *A. citrina*, bavlnová modř, 400×.



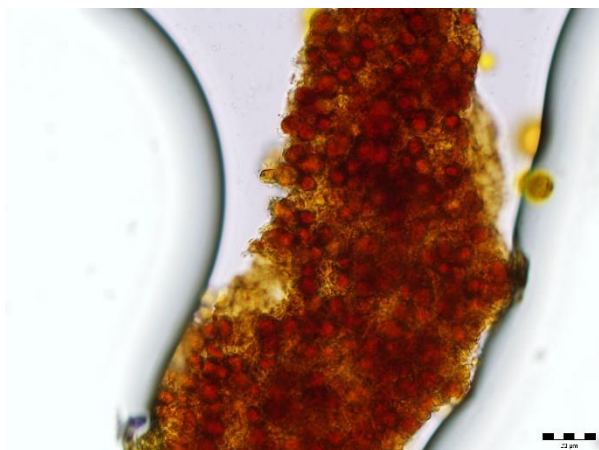
Obr. 45. *A. citrina*, kongo červen (amon. roztok), 400×.

Nová činidla:

- **Ferrokyanid draselný** neprokázal u muchomůrky dobré výsledky, v preparátu nebyly téměř žádné pozorovatelné struktury.
- **Bromfenolová modř** (preparát byl vytvořen metodou, při které se na sklíčko nejprve nanese kapka vody, do které se namočí vzorek a poté se přidá barvivo, které je ihned překryto krycím sklíčkem) zabarvila preparát do velmi tmavě hnědé barvy, struktury nebyly jasně zřetelné, preparát působil rozmazaně. Okolí zůstalo čiré (obr. 46).
- **Toludiniová modř** nevytvořila pozorovatelný preparát.

- **Anilinová modř** nevytvořila pozorovatelný preparát.
- **Trypanová modř** zabarvila preparát do sytě modré barvy, po okrajích byla barva téměř do černa, nebylo tedy možné pozorovat žádné viditelné struktury (obr. 47).
- **Alizarinová modř** nevytvořila pozorovatelný preparát, stejně jako u dalších zástupců.
- **Methylenová modř** nevytvořila pozorovatelný preparát.
- **Chlorid železitý** zabarvil preparát do slité šedé barvy, struktury nebyly jasně ohraničené (obr. 48).
- **Chlorid kobaltnatý** obarvil preparát do světlejší hnědé barvy struktury byly zřetelnější než u chloridu železitého, celý preparát ale působil rozmazaně.
- **Inkoust** zabarvil preparát podobně jako se tomu stalo u předchozího zástupce do sytě tyrkysové barvy. Přesto pozorovatelný preparát, struktury byly příliš tmavé (obr. 49).
- **Jodová tinktura (BETADINE)** obarvila okolí i preparát do oranžových odstínů, buňky byly zřetelné a jasněji ohraničené. Jód měl lepší výsledky u holubinky (obr. 50).
- **Trypanová červeň** nechala čiré okolí preparátu a samotný preparát zabarvila do sytě červené barvy. Přesto byly struktury viditelné a spory byly jasně ohraničené (obr. 51).
- **Methylenová červeň** nechala okolí preparátu čiré, samotný preparát obarvila do světlejších žlutých odstínů, ale nebyly pozorovatelné žádné struktury. Preparát byl spíše rozmazaný (obr. 52).
- **Bromkresolová červeň** obarvila preparát po okraji do tmavší hnědé barvy, vnitřek do světlé. Po okraji tkáně byly jednotlivé buňky zřetelné a spory jasně ohraničené. Okolí preparátu je čiré (obr. 53).
- **Brompyrogallolová červeň** způsobila sytě fialové zabarvení houbové tkáně bez ostře viditelných struktur, preparát byl spíše rozmazaný. Okolí tkáně zůstalo čiré (obr. 54).
- **Chroman draselný** obarvil celý vzorek včetně jeho okolí do tmavě zelené barvy, preparát byl průhledný se zřetelnými strukturami. Na okraji byly patrné spory s jasným ohraničením (obr. 55).
- **Chroman amonný** v preparátu nebyly žádné pozorovatelné struktury.

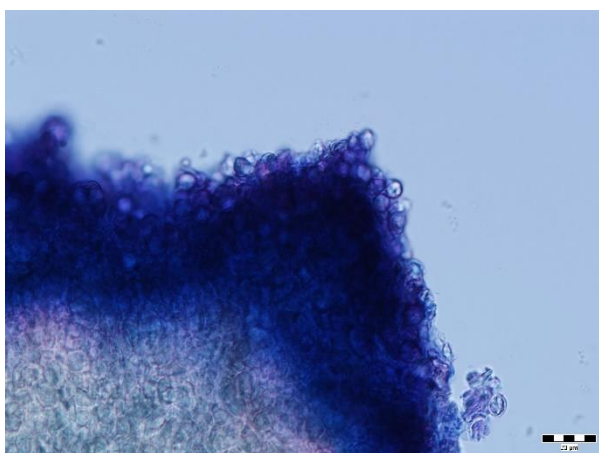
- **Brilantní zeleň** rozpuštěná v ethanolu byla do preparátu opět nanesena až po namočení vzorku do kapky vody. Preparát byl zabarven po okrajích do sytě modré barvy a uprostřed do světlejších odstínů, okolí preparátu zůstalo světlé. Houbové buňky byly zřetelně ohraničené, spory byly sytě modré až černé (obr. 55). V preparátu připraveném ve vodném roztoku nebyly kvůli rozmazání pozorovatelné žádné struktury.
- **Brilantní žlut'** způsobila, že preparát byl slitý do oranžového odstínu. Po okrajích byly spory zřetelnější, ale bez jasného ohraničení a ornamentiky. Okolí preparátu bylo sytě žluté (obr. 57).
- **Methanilová žlut'** zabarvila preparát do sytě žlutých až hnědých odstínů, okolí také zabarvila do žluté barvy. Po okrajích byly vidět buňky včetně spor.
- **Alizarinová žlut'** obarvila po okrajích tkáň do světle žluté barvy, struktury nebyly jasně ohraničené ani zvýrazněné, naopak preparát působil velmi rozmazaně. Okolí zůstalo čiré (obr. 58).
- **Methyloranž** obarvila preparát do světle žluté barvy, okolí zůstalo čiré. Na rozdíl od holubinky, kde byly výsledky velmi dobré, zde nebyly struktury tolik patrné a jasně ohraničené (obr. 56).
- **Rivanol (ethakridin)** měl výsledky srovnatelné s methyloranží (obr. 60).
- **Citronan amonnoželezitý** vytvořil zcela šedý preparát včetně jeho okolí. Buňky byly ohraničené, ale ne zcela zřetelně (obr. 61).
- **Síran měďnatý** měl výsledky obdobné jako u holubinky. Preparát byl tedy téměř nepozorovatelný (obr. 62).
- **Alizarinsulfan sodný** zabarvil houbovou tkáň do tmavých šedých odstínů, okolí nechal čiré. Celý preparát nebyl ostrý, spory nezřetelné (obr. 63).
- **Dusičnan kobaltnatý** vytvořil téměř nepozorovatelný preparát. Celá houbová tkáň byla šedá a rozmazaná. Okolí zůstalo čiré (obr. 64).
- **Fluorescein** zabarvil preparát do světle žluté barvy, okolí nechal čiré. Buňky včetně spor byly jasně ohraničené a zřetelné (obr. 65).



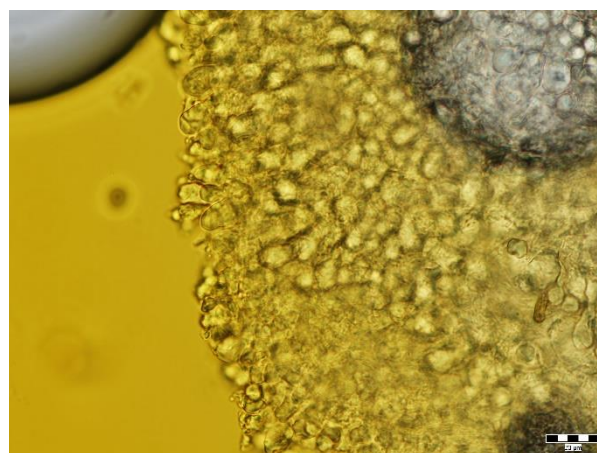
Obr. 46. *A. citrina*, bromfenolová modř, 400×.



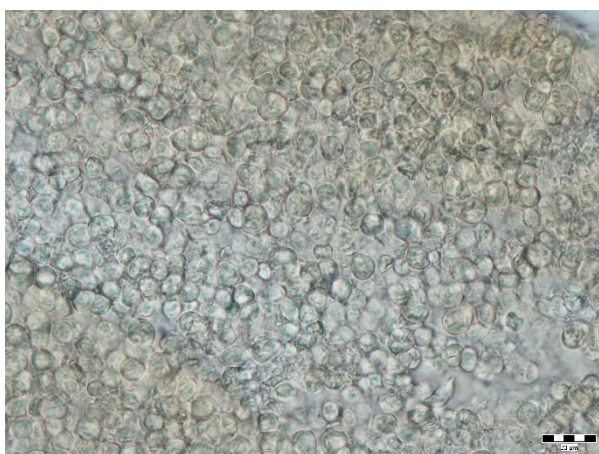
Obr. 49. *A. citrina*, inkoust, 400×.



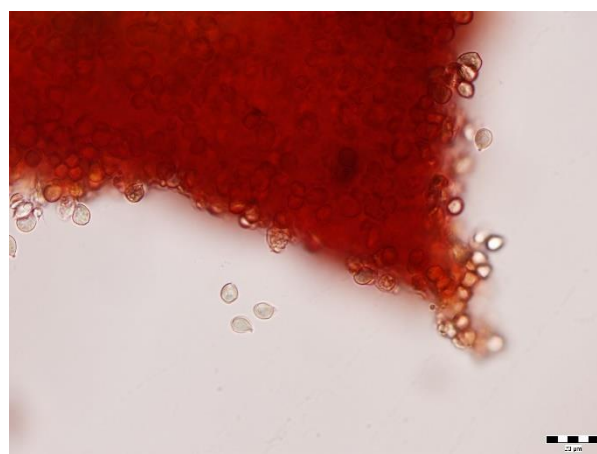
Obr. 47. *A. citrina*, trypanová modř, 400×.



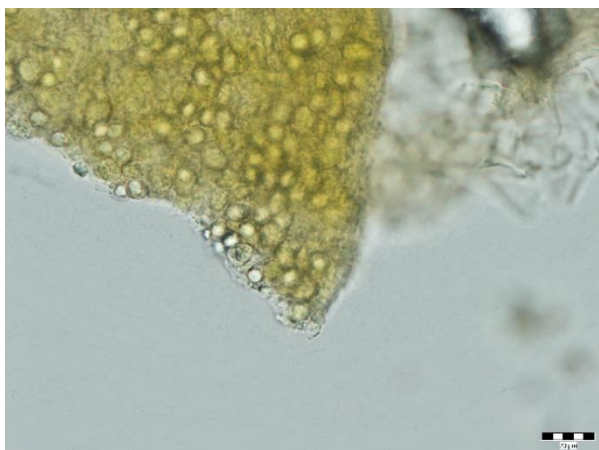
Obr. 50. *A. citrina*, jodová tinktura, 400×.



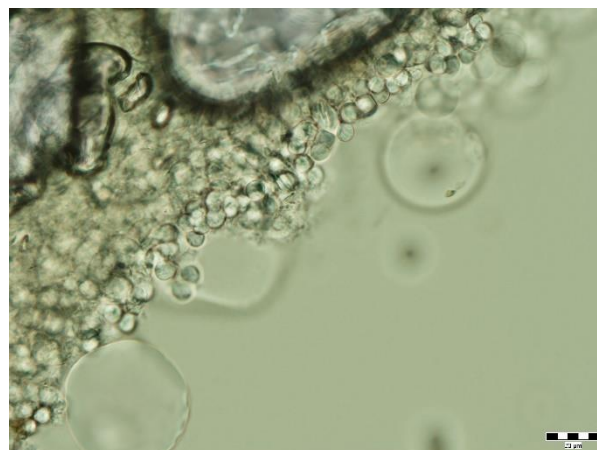
Obr. 48. *A. citrina*, chlorid železitý, 400×.



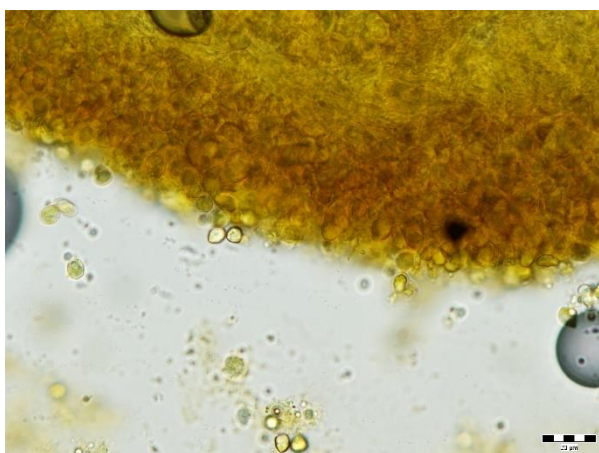
Obr. 51. *A. citrina*, trypanová červeň, 400×.



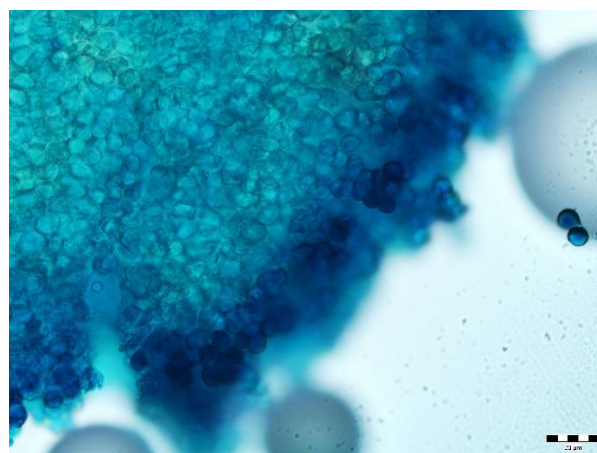
Obr. 52. *A. citrina*, methylenová červeň, 400×.



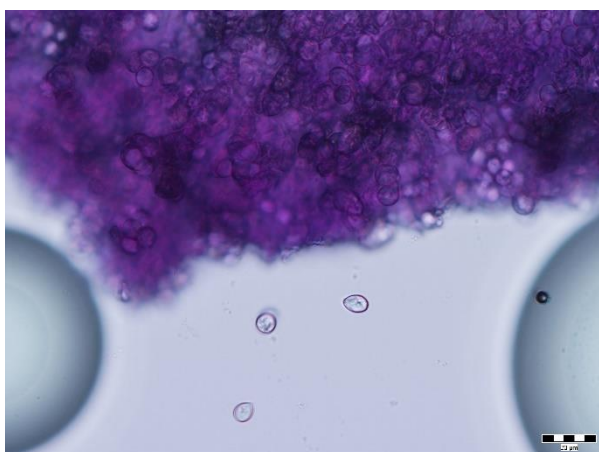
Obr. 55. *A. citrina*, chroman draselný, 400×.



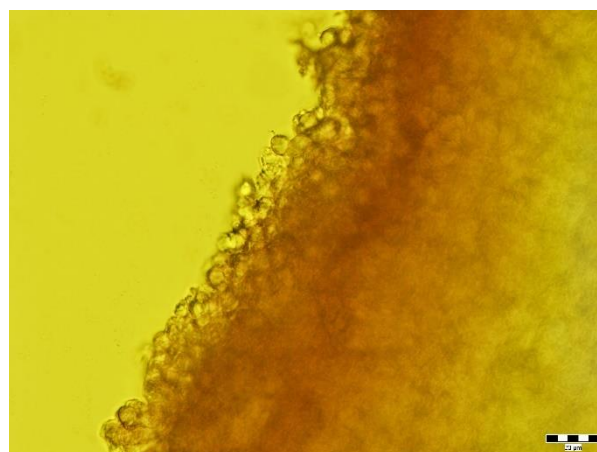
Obr. 53. *A. citrina*, bromkresolová červeň, 400×.



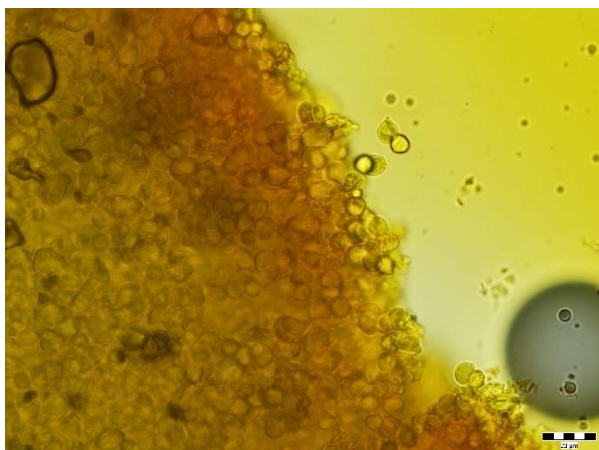
Obr. 56. *A. citrina*, brilantní zeleň + ethanol, 400×.



Obr. 54. *A. citrina*, brompyrogallolová červeň, 400×.



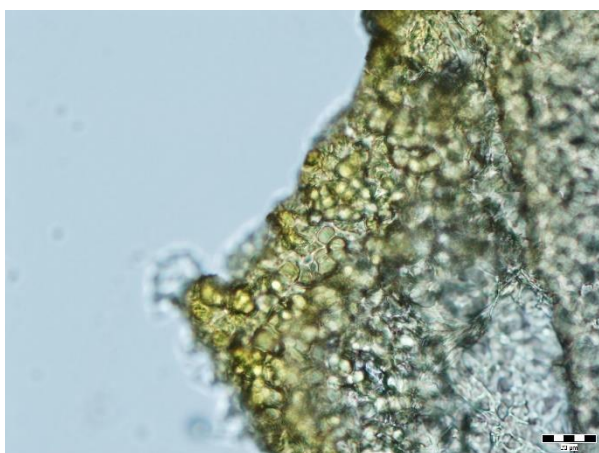
Obr. 57. *A. citrina*, brilantní žluť, 400×.



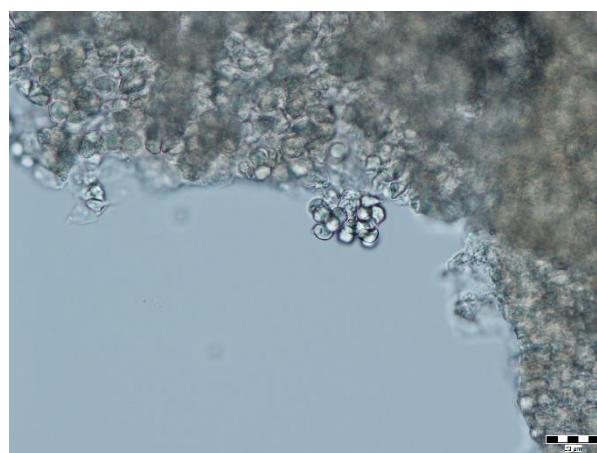
Obr. 58. *A. citrina*, methanilová žluť, 400×.



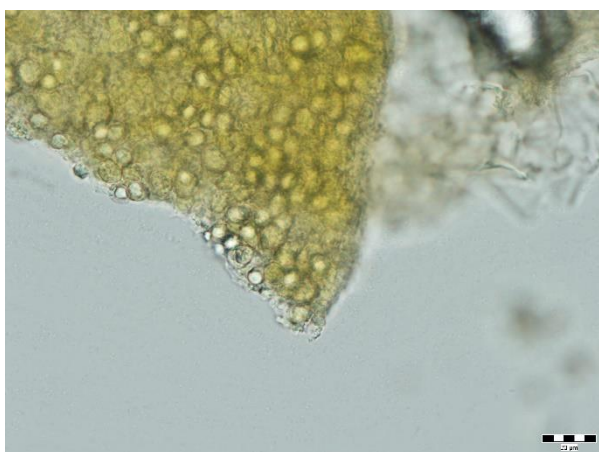
Obr. 61. *A. citrina*, rivanol, 400×.



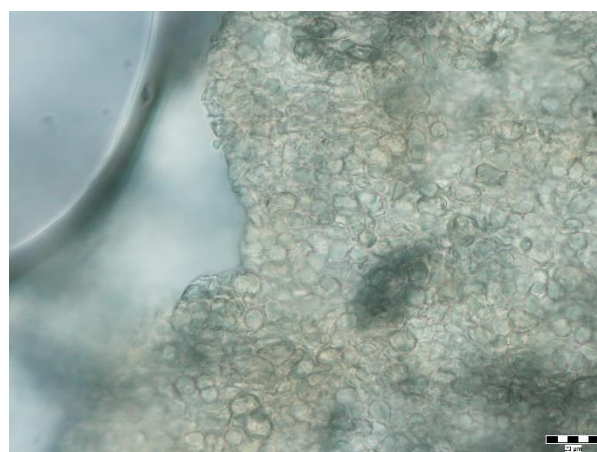
Obr. 59. *A. citrina*, alizarinová žluť, 400×.



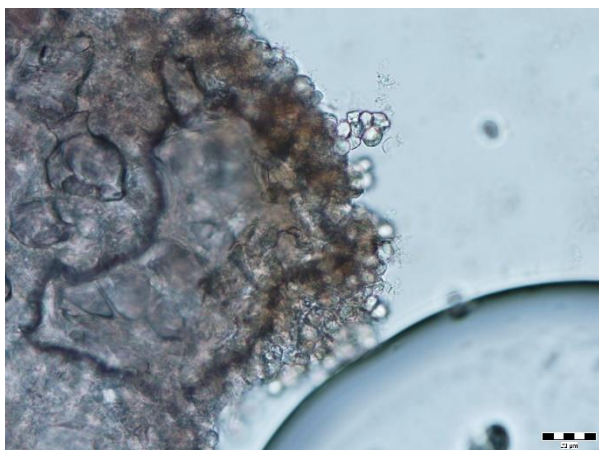
Obr. 62. *A. citrina*, citrónan amonnoželezitý, 400



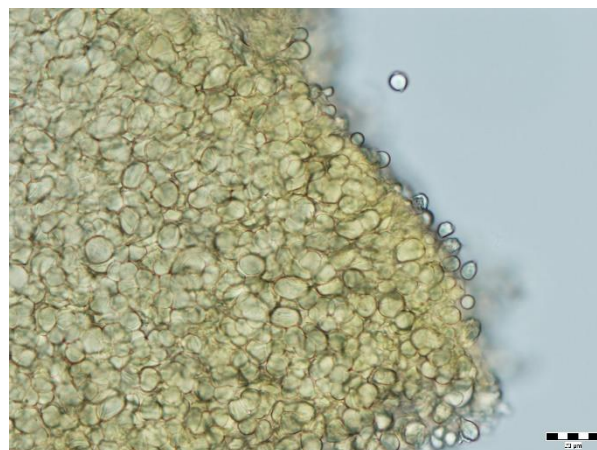
Obr. 60. *A. citrina*, methyloranž, 400×.



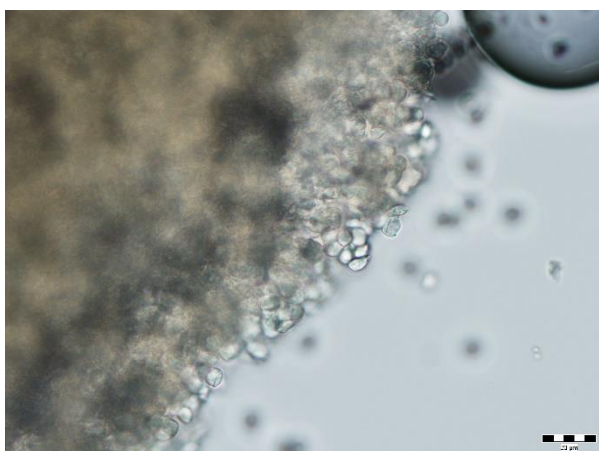
Obr. 63. *A. citrina*, síran měďnatý, 400×.



Obr. 64. *A. citrina*, alizarinsulfan sodný, 400×.



Obr. 66. *A. citrina*, fluorescein, 400×.

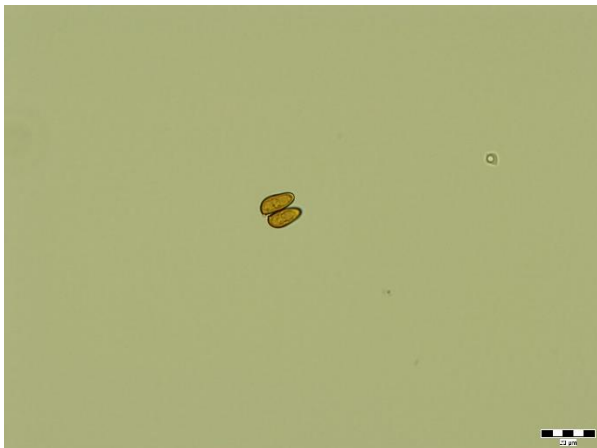


Obr. 65. *A. citrina*, dusičnan kobaltnatý, 400×.

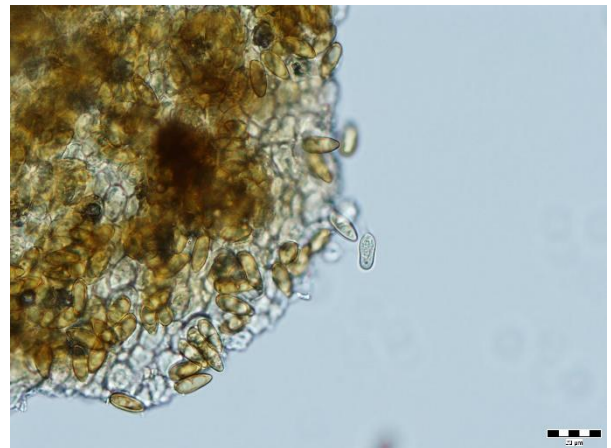
7.3. *Suilellus luridus* (hřib koloděj)

- **Melzerovo činidlo** obdobně jako u předchozích zástupců zvýraznil všechny důležité struktury velmi dobře (obr. 67).
- **Lugolův roztok** obarvil pouze houbové buňky, nikoli jejich okolí, které zůstalo čiré. Spory byly jasně ohraničené a identifikovatelné. Působily spíše tmavším dojmem. Hnědá barva je zde sytější než u Melzerova roztoku (obr. 68).
- **Voda** zvýraznila houbové buňky podobným způsobem jako KOH, přesto byl preparát značně tmavší a vhodnější je využít jiné činidlo (obr. 69).
- **Bavlnová modř** obarvila u hříbu spíše okolí tkáně než samotnou tkáň. Houbové buňky byly činidlem zvýrazněny, měly jasně ohraničené tvary (obr. 70).
- **Phloxine** způsobil podobně jako níže zmíněný orcein jednolitě červené zbarvení celého preparátu, přesto však byly u spor patrné jejich obrysy a dalo by se identifikovat, že se jedná o spory hříbu (obr. 71).

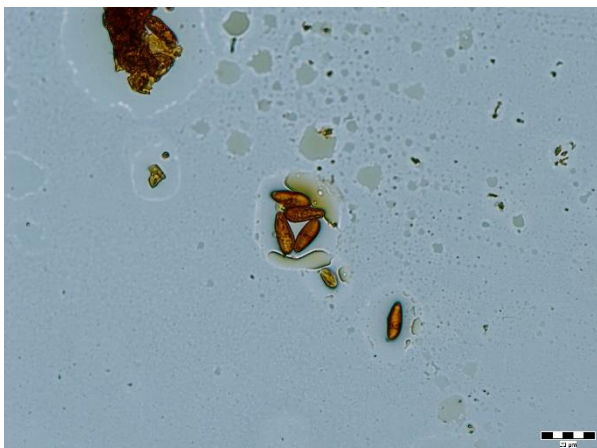
- **KOH** vytvořil velmi kvalitní preparát, ve kterém byly spory velmi zřetelně pozorovatelné a jasně ohraničené. KOH způsobil zvýraznění přirozené barvy spor (obr. 72).
- **Sulfovanilin** obarvil houbovou tkáň mimo spor do sytě růžové barvy, spory byly jasně zvýrazněné a zanechaly si svou barvu. Tvary byly jasně ohraničené (obr. 73).
- **Orcein** jako jedno z mála činidel u hříbu nefungoval příliš dobře, způsobil jednolitě sytě červené obarvení celého preparátu, ze spor byly patrné pouze obrysy (obr. 74).
- **Kongo červeň (amoniakální roztok)** měla velmi dobré výsledky, dalo by se říci, že u tohoto zástupce činidlo mělo dokonce nejlepší výsledky. Spory byly jasně zřetelné a ohraničené a ponechaly si svou přirozenou barvu. Okolí tkáně zůstalo čiré (obr. 75).
- **Naftol** způsobil zvýraznění houbové tkáně s jasně ohraničenými sporami. Výsledky měl podobné jako činidla využitá u holubinek (např.: fenol) (obr. 76).
- **Pyrogallol** měl účinky obdobné jako výše zmíněný naftol.



Obr. 67. *S. luridus*, Melzerovo činidlo, 400×.



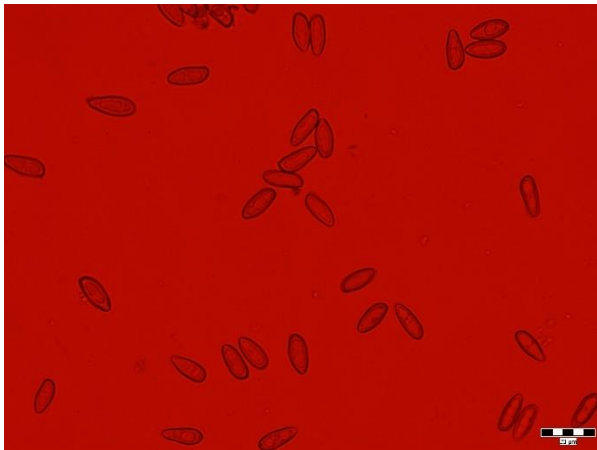
Obr. 69. *S. luridus*, voda, 400×.



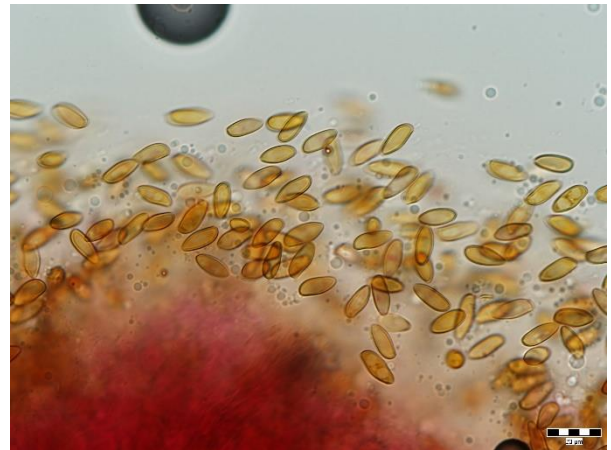
Obr. 68. *S. luridus*, Lugolův roztok, 400×.



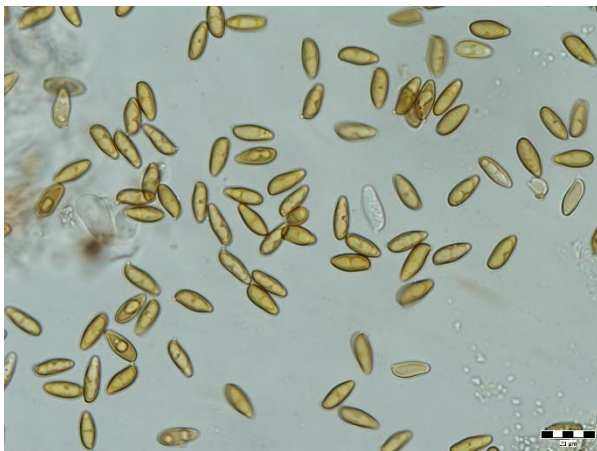
Obr. 70. *S. luridus*, bavlnová modř, 400×.



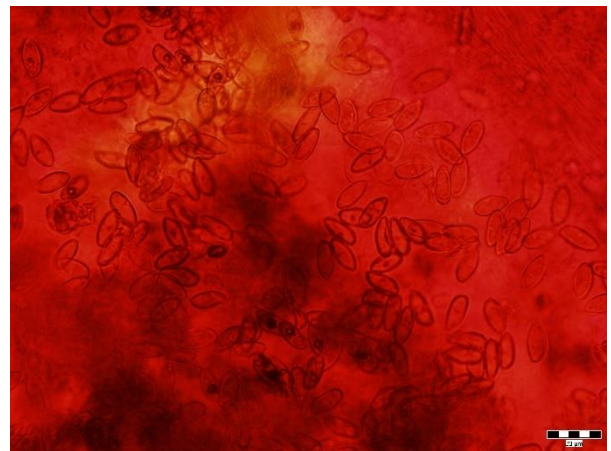
Obr. 71. *S. luridus*, phloxine, 400×.



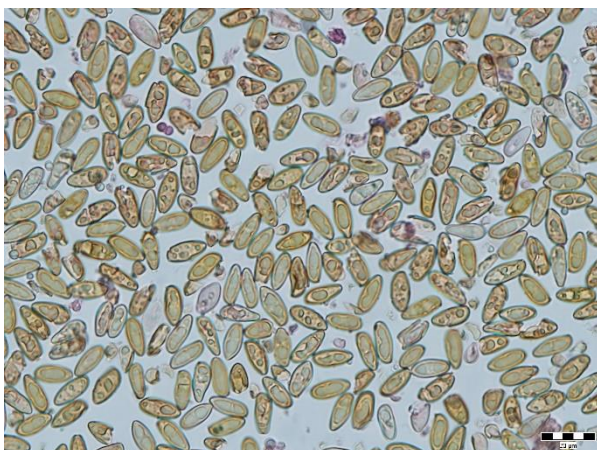
Obr. 73. *S. luridus*, sulfovanilin, 400×.



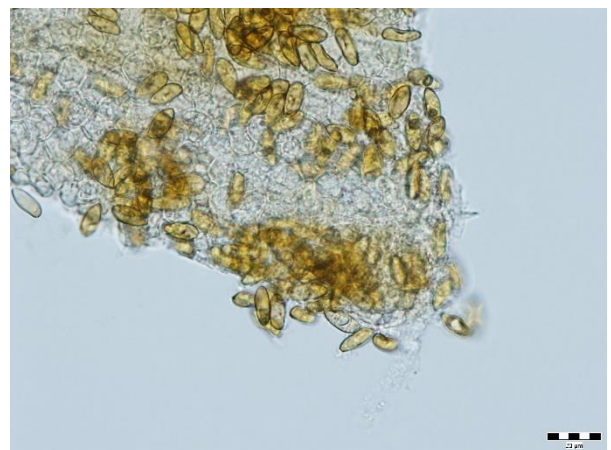
Obr. 72. *S. luridus*, KOH, 400×.



Obr. 74. *S. luridus*, orcein, 400×.



Obr. 75. *S. luridus*, kongočerven (vodný r.), 400×.



Obr. 76. *S. luridus*, naftol, 400×.

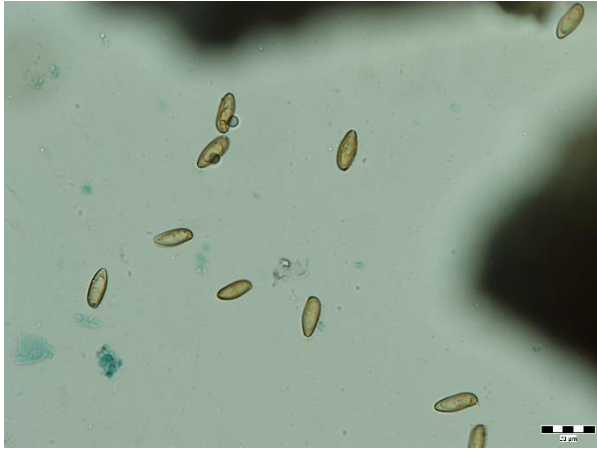
Nová činidla:

- **Ferrokyanid draselný** způsobil zvýraznění houbových buněk, spory byly jasně ohraničené, okolí tkáně bylo zbarveno do světle šedé barvy (obr. 77).
- **Bromfenolová modř** zbarvila preparát podobně jako jodové činidlo, ačkoliv zde byl výsledek velmi špatný. Spory i celá tkáň byly velmi rozmazané a nevhodné pro pozorování.

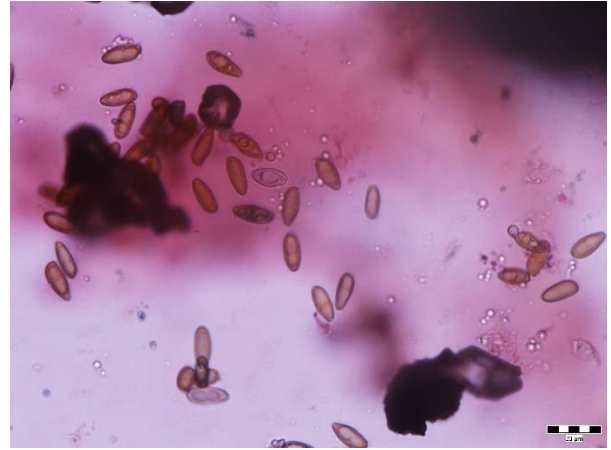
- **Toludiniová modř** u hříbu způsobila sytě růžové zbarvení na rozdíl od účinku tohoto činidla u ostatních zástupců. Činidlo však nebylo zcela rozpuštěno a byly zde vidět kousky chemické látky. Dalo by se říci, že spory hříbu toto činidlo spíše neobarvilo, neboť si zachovaly svoji hnědou barvu a obarveno bylo pouze okolí tkáně (obr. 78).
- **Methylenová modř** obarvila jak houbovou tkáň, tak její okolí. Celý preparát působil slitě, i přesto bylo možné pozorovat spory, které bylo podobně jako u dalších činidel možné identifikovat (obr. 79).
- **Trypanová modř** není vhodným činidlem pro pozorování tohoto zástupce.
- **Alizarinová modř** má stejné výsledky jako předchozí činidlo.
- **Chlorid železitý** obarvil tkáň i okolí do sytě žluté barvy, i přesto by bylo možné identifikovat pomocí tohoto činidla tento druh houby, jelikož spory hříbu byly zřetelné a zcela jasně ohraničené (obr. 80).
- **Chlorid kobaltnatý** měl podobné výsledky jako výše zmíněný ferrokyanid draselný, avšak tento preparát byl světlejší a lépe pozorovatelný, spory hříbu byly zřetelně ohraničené a spíše zvýrazněné než obarvené (obr. 81).
- **Inkoust** zabarvil houbovou tkáň i okolí do tmavě zelené barvy. U samotných spor zafungoval inkoust velmi dobře, protože samotné spory byly stejně jako u dalších činidel jasně ohraničené a zřetelné. U zbytku tkáně způsobil, že byl preparát celý rozmazaný a téměř nepozorovatelný (obr. 82).
- **Jodová tinktura (BETADINE)** zabarvil preparát do hnědých odstínů, spory zvýraznil tmavší hnědou barvou. Preparát byl velmi ostrý, spory bylo možné pozorovat. (obr. 83).
- **Trypanová červeň** způsobila sytě červené zbarvení, avšak některé spory byly spíše zvýrazněné než obarvené. Preparát působil rozmazaně a nebyl vhodný pro pozorování.
- **Methylenová červeň** zabarvila celou tkáň do světle červené barvy, spory zde nebyly jasně ohraničené, u spor, které zůstaly na okraji mimo tkáň nastalo, pouze zvýraznění, nikoli obarvení (obr. 84).
- **Bromkresolová červeň** nechala okolí čiré a preparát obarvila do sytě žluté až hnědé barvy, spory působily spíše rozmazaným dojmem, i přesto je bylo možné pozorovat.
- **Brompyrogallolová červeň** není vhodným činidlem pro pozorování tohoto druhu. Způsobila velmi tmavě zbarvení celého preparátu, nebylo možné pozorovat spory.

- **Chroman draselný** měl výsledky velmi dobré, podobné jako například KOH, spory zde byly jasně ohraničené, jejich barva spíše zvýrazněná. Okolí preparátu zůstalo čiré (obr. 85).
- **Chroman amonný** obarvil houbovou tkáň do světle hnědé barvy, která byla místy velmi tmavá. Spory obarvil tmavěji než zbytek tkáně. Některé byly jasně ohraničené a pozorovatelné (obr. 86).
- **Brilantní zeleň** byla opět použita ve dvou variantách: s vodou (obr. 87) a s ethanolem (obr. 88), v obou dvou případech obarvila celý preparát do sytě tmavě zelené barvy, kdy bylo možné pozorovat jasně ohraničené spory hříbu. Avšak ve srovnání s jinými činidly nebylo pozorování příliš dobré, neboť oba dva preparáty byly velmi tmavé.
- **Brilantní žlut'** obarvila preparát do sytě oranžové až žluté barvy. Spory byly jasně ohraničené, ale stejně jako u výše zmíněného činidla (brilantní zeleň) nebylo pozorování z důvodu jeho vysoké tmavosti příliš dobré (obr. 89).
- **Methanilová žlut'** měla výsledky stejné jako ostatní žlutá činidla s rozdílem, že spory byly ostřejší (obr. 90).
- **Alizarinová žlut'** obarvila houbovou tkáň do žlutého odstínu a okolí ponechala čiré. Toto činidlo však nemělo dobré výsledky, jelikož spory nebyly jasně ohraničené a působily spíše rozmazaně.
- **Methyloranž** měla výsledky, podobně jako tomu bylo u holubinky, velmi dobré. Okolí tkáně zůstalo čiré. Spory byly jasně a zřetelně ohraničené, ostrost byla vysoká (obr. 91).
- **Rivanol (ethakridin)** zde neměl výsledky příliš dobré, ostrost preparátu nebyla příliš vysoká, působil spíše slitě. Obarvení bylo žluté.
- **Citronan amonnoželezitý** měl výsledky velmi dobré, preparát měl barvy spíše zvýrazněné než obarvené, spory jasně zřetelné. Toto barvivo je srovnatelné například s barvivými využitými pouze u holubinek (obr. 92).
- **Síran měďnatý** podobně jako u jiných zástupců neměl dobré výsledky, preparát nebyl ostrý, nebylo možné pozorovat žádné struktury. I přestože měl roztok modré zabarvení, u preparátů způsobil spíše zvýraznění přirozené barvy, modré zabarvení v mikroskopu není projeveno.
- **Alizarinsulfan sodný** měl podobné výsledky jako alizarinová žlut', ale na rozdíl od ní nebyl preparát tolik rozmazaný a spory se daly lépe pozorovat, měly jasnější okraje (obr. 93).

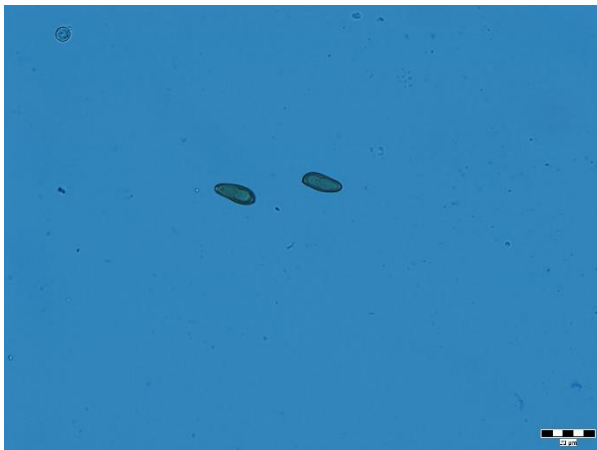
- **Dusičnan kobaltnatý** zbarvil celý preparát včetně jeho okolí do žluté barvy. Spory bylo možné pozorovat, měly jasně ohraničené tvary, preparát byl ostrý (obr. 94).
- **Fluorescin** měl výsledky srovnatelné s výše zmíněným dusičnanem kobaltnatým, avšak neměl tak vysokou ostrost preparátu.



Obr. 77. *S. luridus*, ferrokyanid draselný, 400×.



Obr. 78. *S. luridus*, toluidinová modř, 400×.



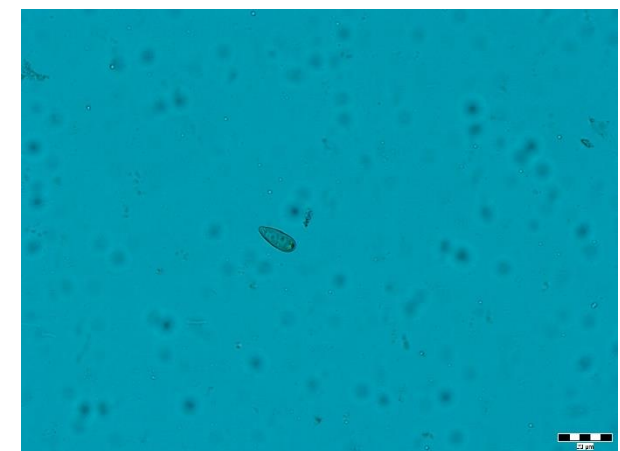
Obr. 79. *S. luridus*, methylenová modř, 400×.



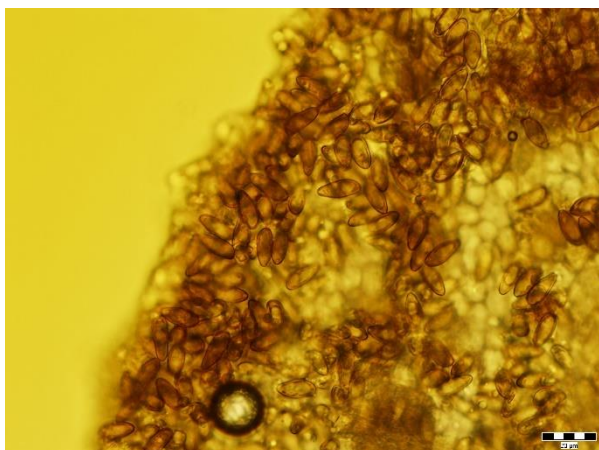
Obr. 80. *S. luridus*, chlorid železitý, 400×.



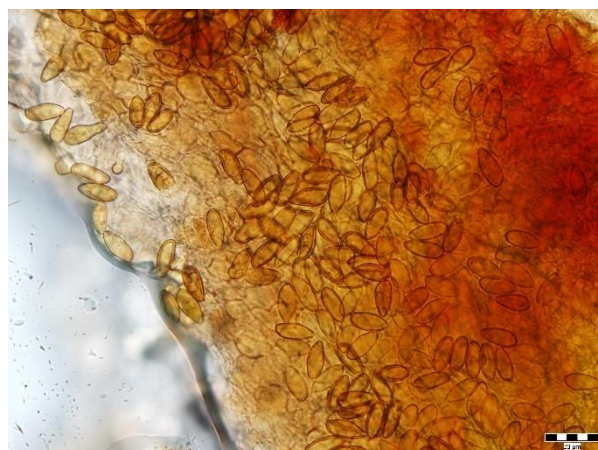
Obr. 81. *S. luridus*, chlorid kobaltnatý, 400×.



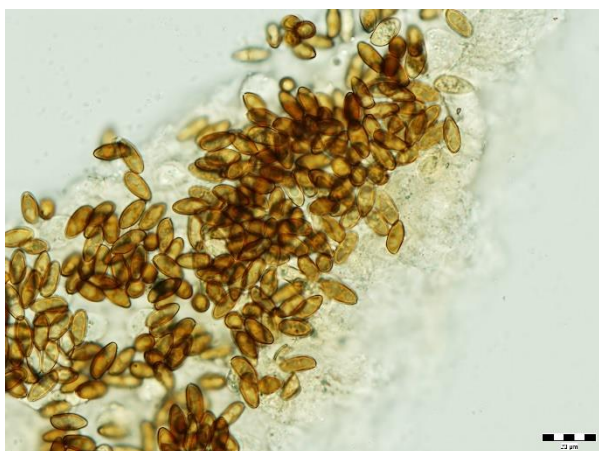
Obr. 82. *S. luridus*, inkoust, 400×.



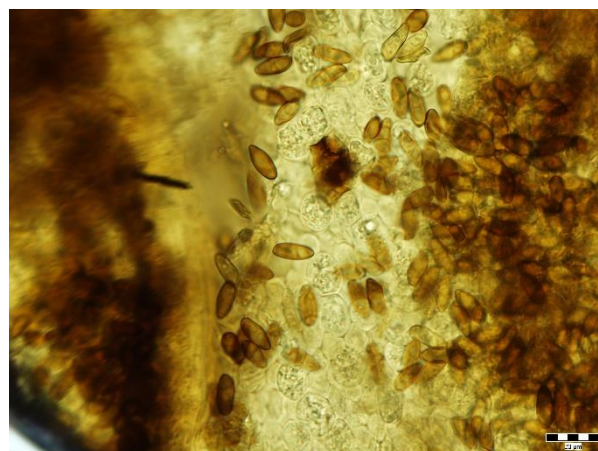
Obr. 83. *S. luridus*, jodová tinktura, 400×.



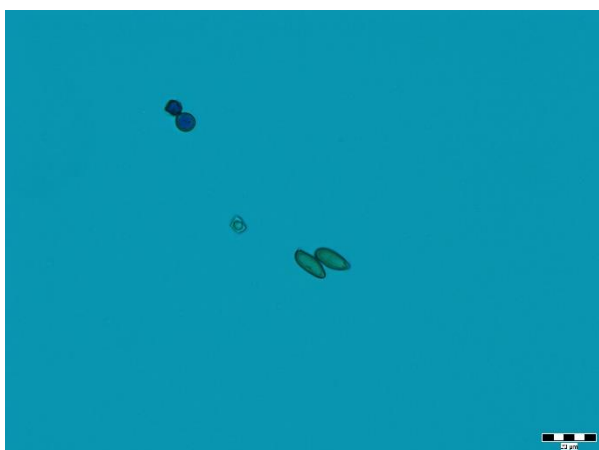
Obr. 84. *S. luridus*, methylenová červeň, 400×.



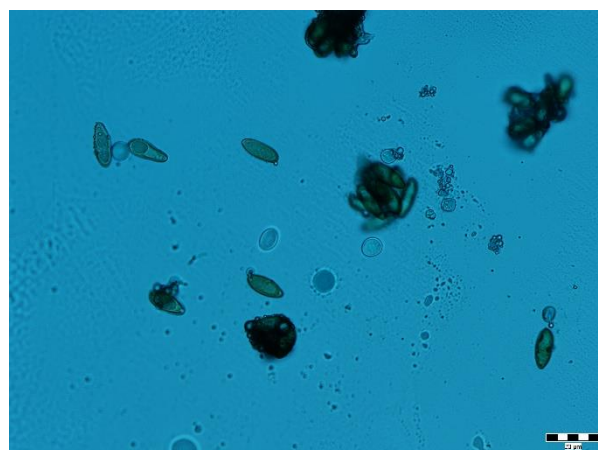
Obr. 85. *S. luridus*, chroman draselný, 400×.



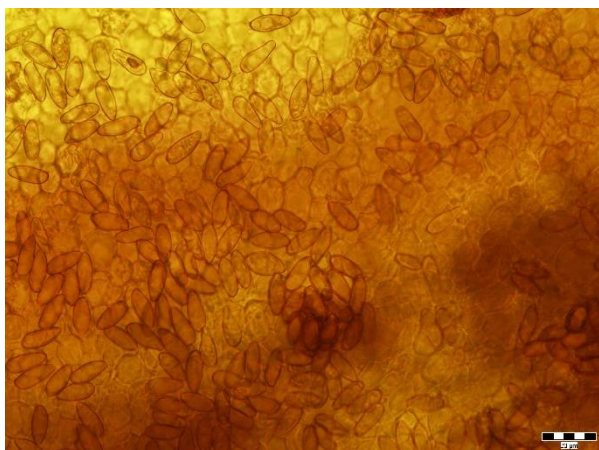
Obr. 86. *S. luridus*, chroman amonný, 400×.



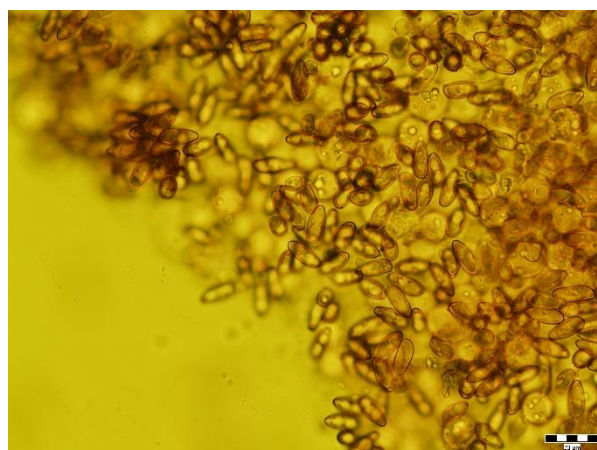
Obr. 87. *S. luridus*, brilantní zeleň + voda, 400×.



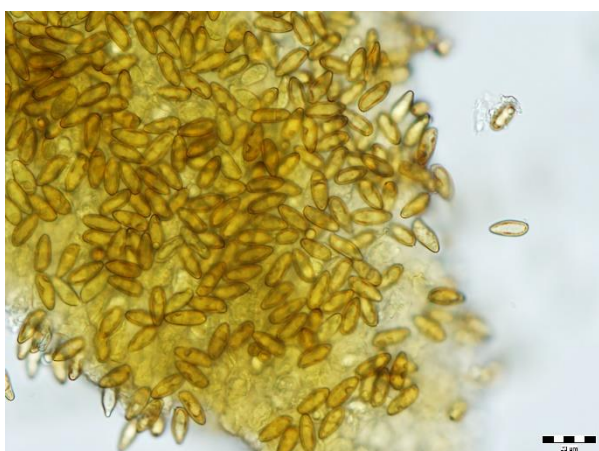
Obr. 88. *S. luridus*, brilantní zeleň + ethanol, 400×.



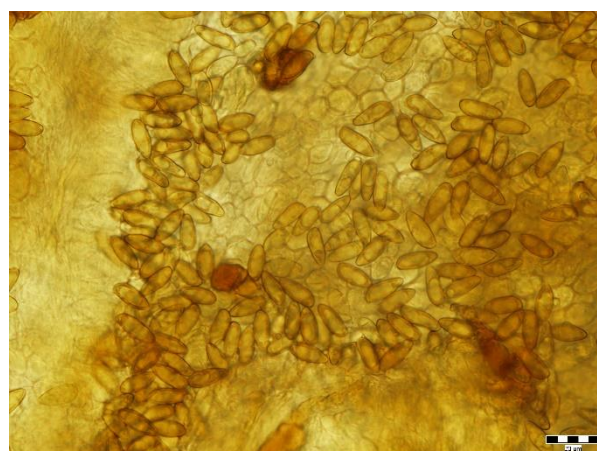
Obr. 89. *S. luridus*, brilantní žluť, 400×.



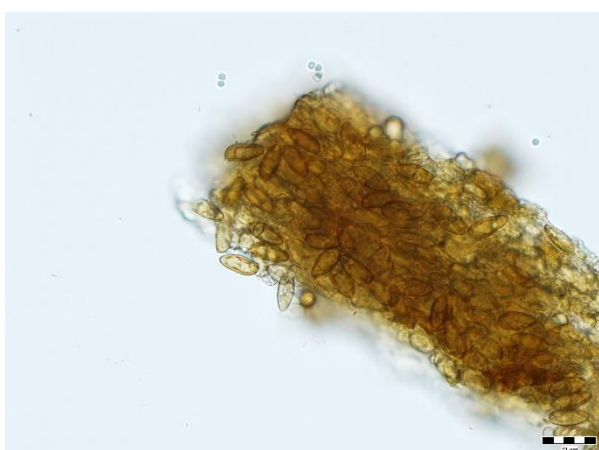
Obr. 90. *S. luridus*, methanilová žluť, 400×.



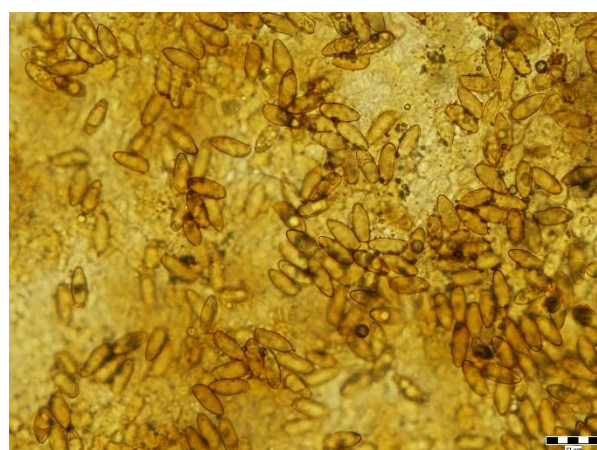
Obr. 91. *S. luridus*, methyloranž, 400×.



Obr. 93. *S. luridus*, alizarinsulfan sodný, 400×.



Obr. 92. *S. luridus*, citronan amonnoželezitý, 400×.

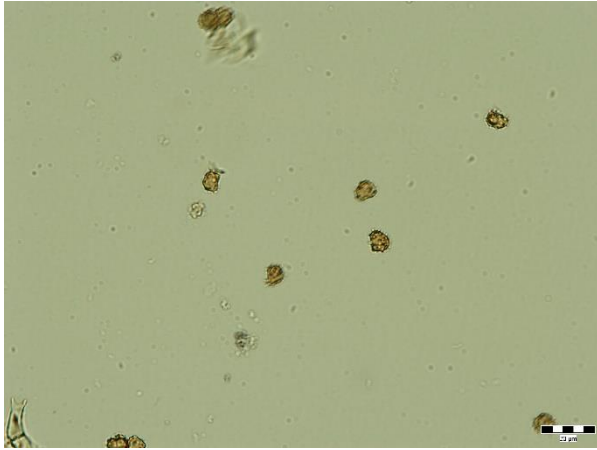


Obr. 94. *S. luridus*, dusičnan kobaltnatý, 400×.

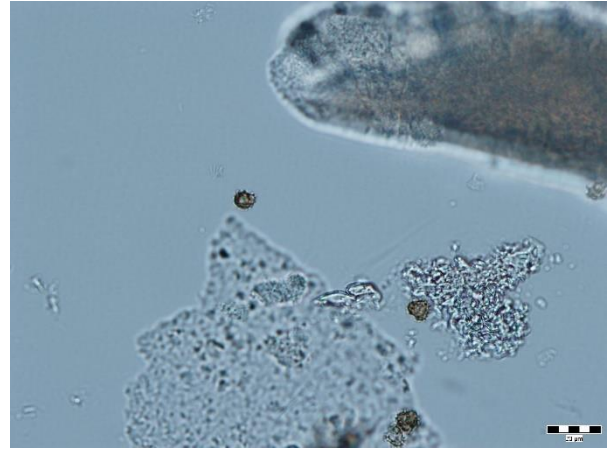
7.4. *Tomentella* sp. (vatička)

U tohoto zástupce (*Tomentella* sp.) byla použita všechna výše uvedená činidla, vyjma skupiny činidel, která se využívají výhradně u holubinek (amoniak, formalin, síran železnatý, fenol, guajak). Všechny preparáty byly pozorovány v různých zvětšeních, pořízené fotografie jsou při zvětšení 400×.

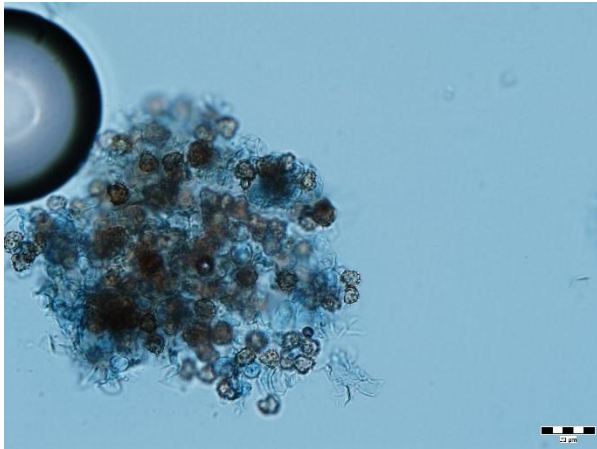
- **Melzerovo činidlo** mělo obdobně jako u ostatních zástupců velmi uspokojivé výsledky.
- **Lugolův roztok** měl výsledky podobné jako tomu bylo u ostatních zástupců. Spory byly zvýrazněné, obarvené do tmavší hnědé barvy, byly zřetelné a ostré s viditelnými povrchovými strukturami (obr. 95).
- **Voda** vytvořila lehce rozmazaný a tmavý preparát, přesto byly zřetelné spory včetně povrchové struktury.
- **Bavlnová modř** zabarvila preparát do tmavšího modrého odstínu a okolí do světlejší modré. Spory byly zřetelné včetně povrchových struktur (obr. 96).
- **Phloxine** zde zafungovat stejně jako u ostatních zástupců, tedy obarvil preparát do sytě červené barvy, spory byly nejasně zřetelné.
- **KOH** obarvil okolí preparátu do šedivých odstínů a u spor spíše zvýraznil jejich přirozené zbarvení. Byla zřetelná povrchová struktura (Obr. 97).
- **Sulfovanilin** u preparátu struktury spíše zvýraznil, než obarvil. Spory byly ostré se zřetelnými povrchovými strukturami (Obr. 98).
- **Orcein** obdobně jako u ostatních zástupců obarvil celý preparát do sytě růžové barvy. Spory byly zřetelné, ale nebyly ostré (obr. 99).
- **Kongo červeň (vodný roztok)** obarvila pouze tkáň a okolí nechala čiré. U spor byla zřetelná povrchová struktura a byly ostré (Obr. 100).
- **Kongo červeň (amoniakální roztok)** měla výsledky srovnatelné s vodným roztokem kongočerveně.
- **Naftol** měl výsledky srovnatelné s výsledky u hříbu (viz obr. 76).
- **Pyrogalol** viz naftol.



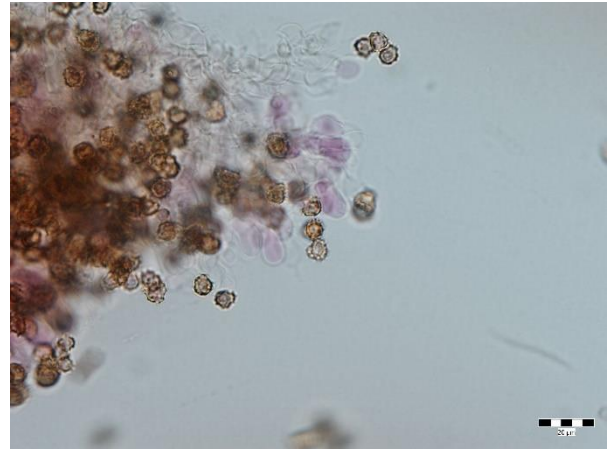
Obr. 95. *Tomentella* sp., Lugolův roztok, 400×.



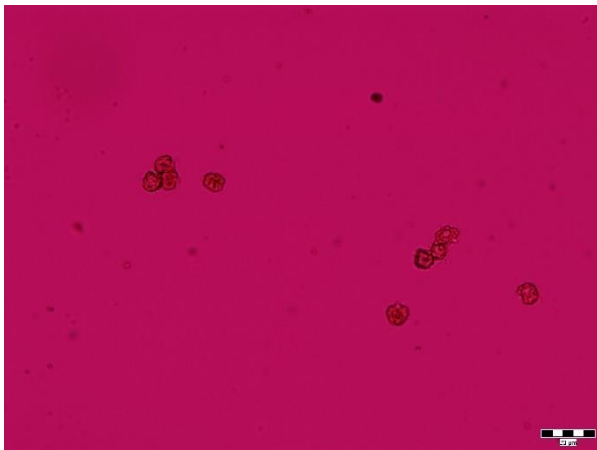
Obr. 97. *Tomentella* sp., KOH, 400×.



Obr. 96. *Tomentella* sp., bavlnová modř, 400×.



Obr. 98. *Tomentella* sp., sulfovanilin, 400×.



Obr. 99. *Tomentella* sp., orcein, 400×.

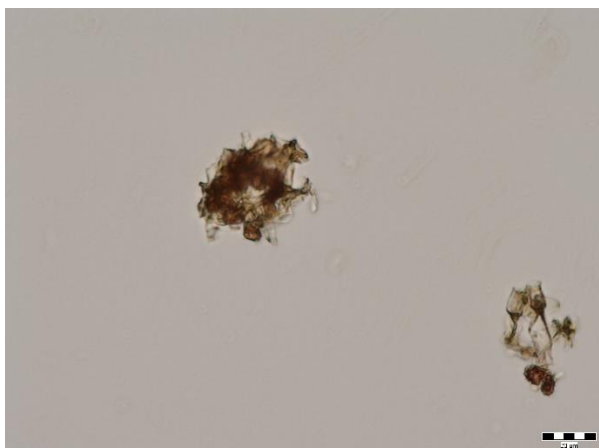


Obr. 100. *Tomentella* sp., kongočerven (vodný roztok), 400×.

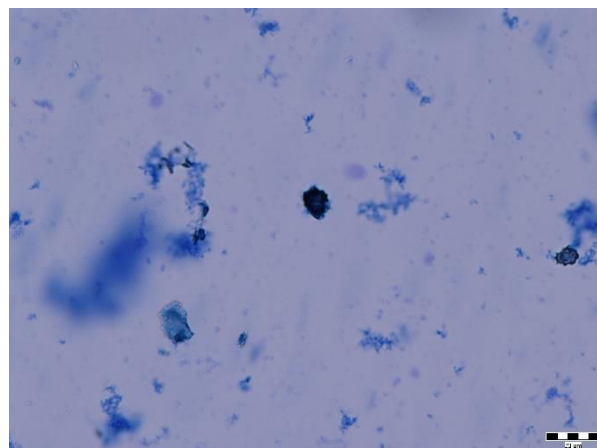
Nová činidla:

- **Ferrokyanid draselný** neměl dobré výsledky, spory v tomto činidle byly natolik tmavé, že nebylo možné je pozorovat (obr. 101).
- **Bromfenolová modř** zabarvila celý preparát do oranžové barvy, spory do tmavších odstínů než okolí. Byla zřetelná povrchová struktura, spory však nebyly ostré (obr. 102).
- **Toludiniová modř** zbarvila celý preparát do modrých odstínů. Spory byly velmi tmavé a nepozorovatelné (obr. 103).
- **Methylenová modř** obarvila okolí houbové tkáně do světlejší modré barvy. Samotnou tkáň obarvila do tmavě modré. Při zvýšení světelnosti na mikroskopu byla zřetelná povrchová struktura spor, i přesto ale byly hodně tmavé (obr. 104).
- **Anilinová modř** zabarvila stejně jako ostatní modře preparát do sytě modré barvy, zde však spory nebyly tolik tmavé a byla u nich zřetelná jejich povrchová struktura (obr. 105).
- **Trypanová modř** obarvila celý preparát včetně okolí do sytě modré barvy. Spory byly příliš tmavé. I při zvýšení světelnosti na mikroskopu byl preparát nepozorovatelný.
- **Alizarinová modř** měla výsledky srovnatelné s předchozím činidlem.
- **Chlorid železitý** preparát byl zabarven do šedivých odstínů, u spor byla zřetelná povrchová struktura, preparát působil rozmazaně (obr. 106).
- **Chlorid kobaltnatý** obarvil pouze houbovou tkáň a okolí nechal čiré. U houbové tkáně ponechal barvu téměř přirozenou, hnědá barva byla výraznější. U spor byla patrná povrchová struktura, ale nepřilíš ostře (obr. 107).
- **Inkoust** měl stejné výsledky jako u ostatních zástupců, tzn. celý preparát byl obarven v odstínech tmavě zelené až tyrkysové barvy. U spor byla zřetelná jejich ornamentika, preparát však nebyl ostrý.
- **Jodová tinktura (BETADINE)** měla výsledky velmi podobné jako Lugolův roztok.
- **Trypanová červeň** obarvila celý preparát včetně okolí do světle červené barvy. Spory nebyly ostré.
- **Methylenová červeň** měla výsledky srovnatelné s Melzerovým činidlem nebo s Lugolovým roztokem. Spory obarvila do hnědé barvy a zvýraznila jejich povrchovou strukturu. Celý preparát byl ostrý a dobře pozorovatelný (obr. 108).
- **Bromkresolová červeň** vytvořila rozmazaný a nepozorovatelný preparát.

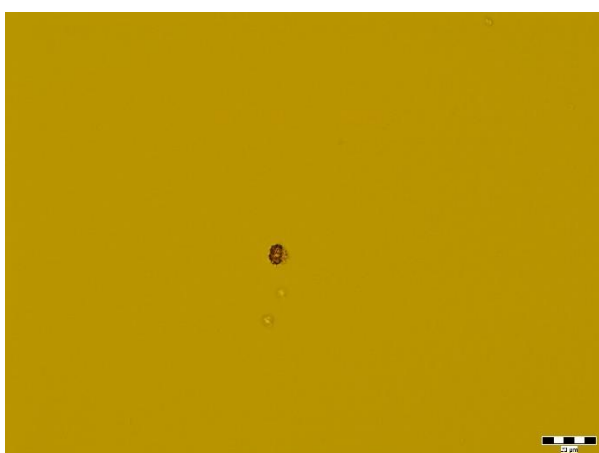
- **Brompyrogallolová červeně** vytvořila preparát, kde byly zřetelné spory. Ty ale nebyly zcela ostré, i přesto bylo zřejmé, že se u nich vyskytuje povrchová struktura. Preparát byl místy obarven do tmavě červených až vínových odstínů (obr. 109).
- **Chroman draselný** obarvil okolí preparátu do světle zelené barvy. U spor spíše zvýraznil jejich přirozeně hnědé zbarvení. Spory v tomto činidle nebyly ostré, ani při proostřování mikroskopu nebyla jejich povrchová struktura zřetelná (obr. 110).
- **Chroman amonný** měl výsledky srovnatelné s dusičnanem kobaltnatým a s citronanem amonným, spory zde však byly tmavé a nezřetelné (obr. 111).
- **Brilantní zeleň** obarvila v obou případech preparát do sytě tyrkysové barvy, spory nebyly jasně pozorovatelné.
- **Brilantní žlutě** obarvila celý preparát do sytě oranžové barvy. Bylo vidět, že se u spor vyskytuje povrchová ornamentika, nebyla však ostrá. Okraje spor byly také neostré (obr. 112).
- **Methanilová žlutě** nevytvořila pozorovatelný preparát, všechny struktury byly nejasné a rozmazané. Preparát byl obarven včetně okolí do sytě žluté až hnědé barvy.
- **Alizarinová žlutě** u spor způsobila tmavé zbarvení do hnědých odstínů, kdy u některých spor nebylo možné pozorovat téměř žádné struktury, jelikož byly příliš tmavé. Okolí zůstalo čiré až šedé.
- **Methyloranž** zde neměla dobré výsledky, preparát byl slitý a rozmazaný (obr. 113).
- **Rivanol (ethakridin)** měl výsledky podobné jako chroman draselný, tedy okolí preparátu bylo světle zelené a u spor byla zvýrazněná jejich přirozená barva. Byly však rozmazané a nepozorovatelné.
- **Citronan amonnoželezitý** zabarvil spory do velmi tmavě šedé barvy. Spory měly ostré okraje a zřetelnou povrchovou strukturu. Zbytek preparátu byl šedý (obr. 114).
- **Síran měďnatý** nevytvořil pozorovatelný preparát.
- **Alizarinsulfan sodný** měl výsledky podobné jako tomu bylo u citronanu amonného, spory zde ale byly zřetelnější. Jejich povrchová struktura byla jasně vidět. Okolí houbové tkáně zůstalo čiré (obr. 115).
- **Dusičnan kobaltnatý** měl výsledek totožný s citronanem amonným (obr. 116).
- **Fluorescein** u spor zvýraznil okraje a povrchovou strukturu. Okolí tkáně bylo šedivé. Spory nebyly příliš ostré.



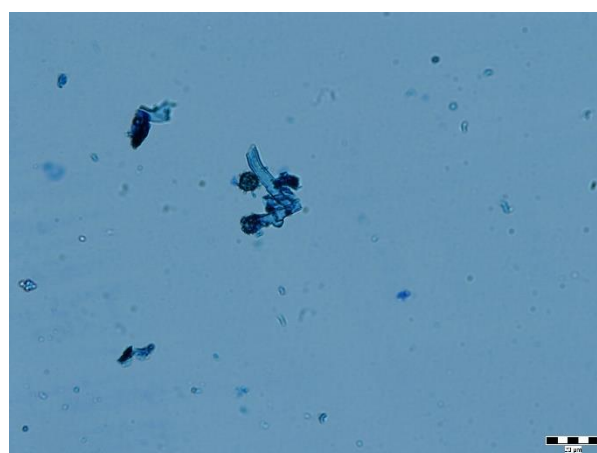
Obr. 101. *Tomentella* sp., ferrokyanid draselný, 400×.



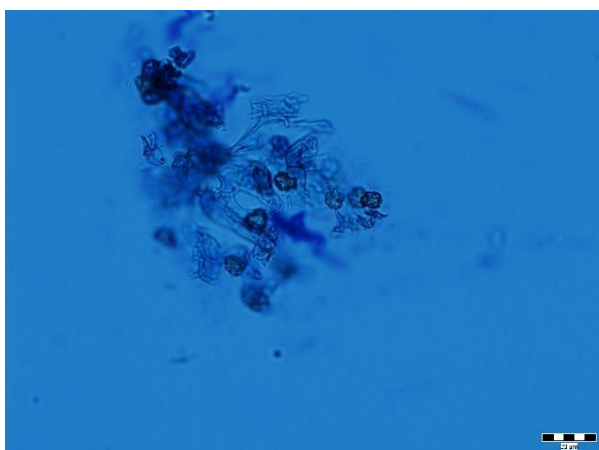
Obr. 103. *Tomentella* sp., toludiniová modř, 400×.



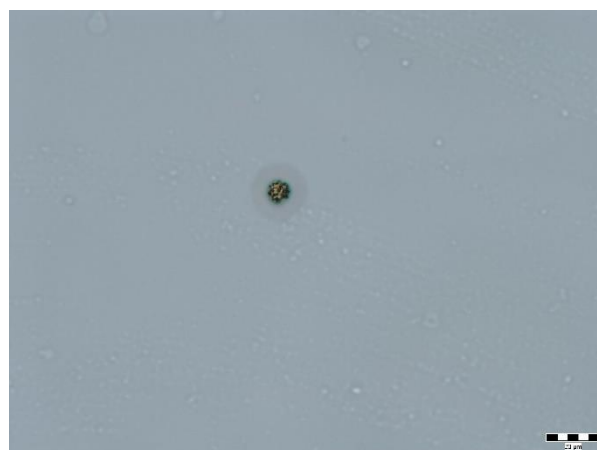
Obr. 102. *Tomentella* sp., bromfénolová modř + ethanol, 400×.



Obr. 104. *Tomentella* sp., orcein, 400×.



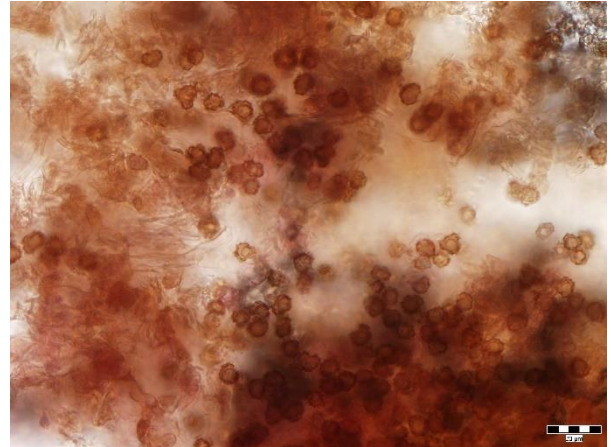
Obr. 105. *Tomentella* sp., anilinová modř, 400×.



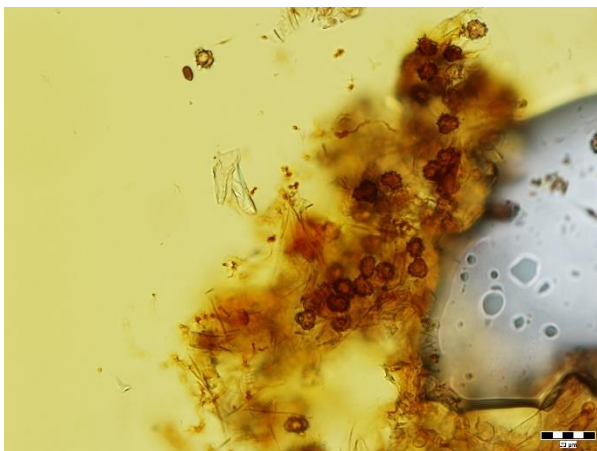
Obr. 106. *Tomentella* sp., chlorid železitý, 400×.



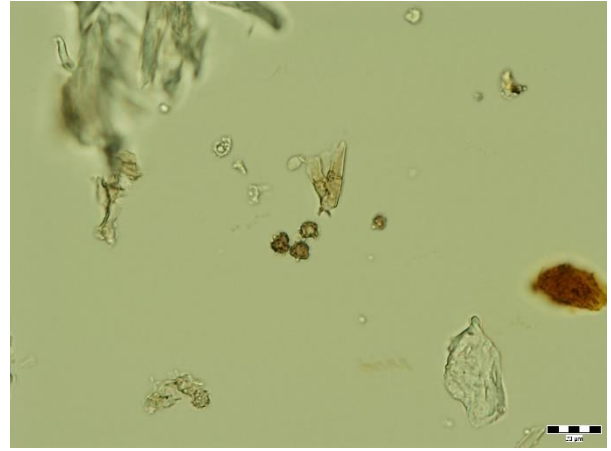
Obr. 107. *Tomentella* sp., chlorid kobaltnatý, 400×.



Obr. 109. *Tomentella* sp., brompyrogallolová červeň, 400×.



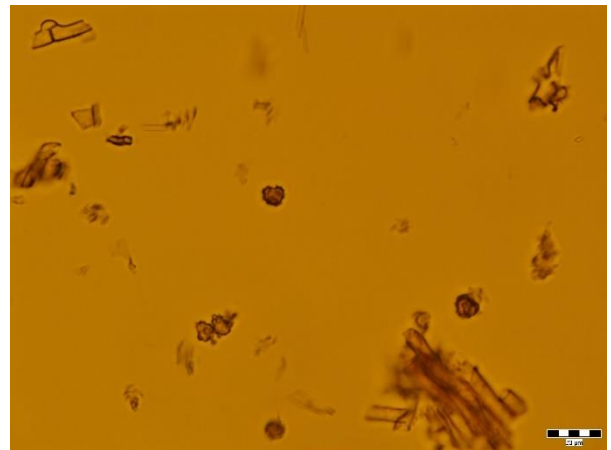
Obr. 108. *Tomentella* sp., methylenová červeň, 400×.



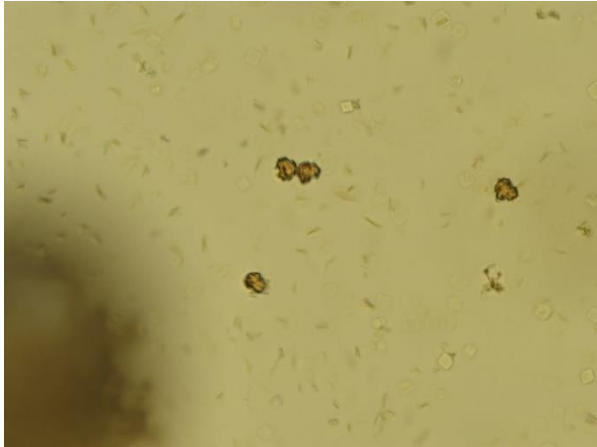
Obr. 110. *Tomentella* sp., chroman draselný, 400×.



Obr. 111. *Tomentella* sp., chroman amonný, 400×.



Obr. 112. *Tomentella* sp., brilantní žlutě, 400×.



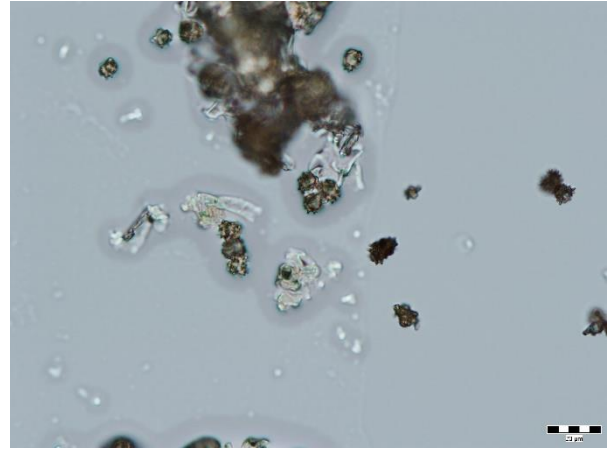
Obr. 113. *Tomentella* sp., methyloranž, 400×.



Obr. 115. *Tomentella* sp., alizarinsulfan sodný, 400×.



Obr. 114. *Tomentella* sp., citronan amonnoželezitý, 400×.

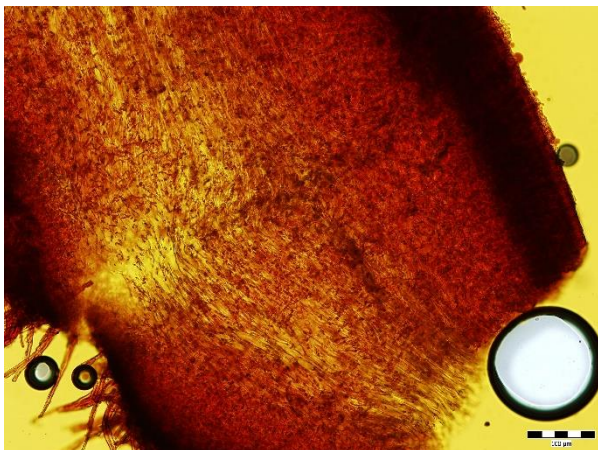


Obr. 116. *Tomentella* sp., dusičnan kobaltnatý, 400×.

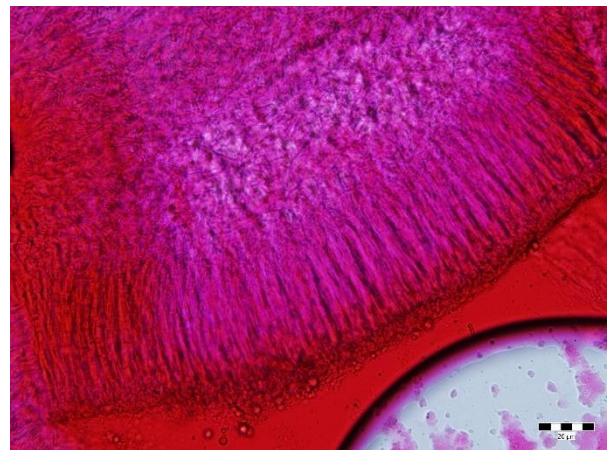
7.5. *Auricula auricularia-judae* (boltcovka ucho Jidášovo)

- **Melzerovo činidlo** mělo obdobně jako u ostatních zástupců velmi uspokojivé výsledky.
- **Lugolův roztok** obarvil okolí do sytě oranžové barvy, samotná houbová tkáň měla hnědé zbarvení, kdy okraje byly výrazně tmavší než střed. Lugolův roztok vytvořil velmi ostrý preparát (obr. 117).
- **Voda** způsobila vysoké nasátí preparátu, který se stal téměř nepozorovatelným.
- **Bavlnová modř** obarvila preparát i okolí do světle modré barvy, přičemž okraje řezu byly tmavší.
- **Phloxine** zbarvil preparát podobným způsobem jako u ostatních zástupců. Sytě růžové zbarvení se nedostalo pouze do středu řezu. Preparát však nebyl příliš ostrý (obr. 118).

- **KOH** u tohoto zástupce zvýraznil jeho přirozené zbarvení, kdy je střed tkáně bezbarvý a okraje hnědé. Okolí preparátu zůstalo čiré.
- **Sulfovanilin** nechal okolí tkáně čiré. Samotnou tkáň zabarvil do růžového odstínu, avšak pouze na jednom okraji, druhý okraj byl velmi tmavě hnědý. Při proostřování byly zřetelné jednotlivé struktury. I při opakované tvorbě tohoto preparátu se pod sklíčkem tvořily malé vzduchové bubliny (obr. 119).
- **Orcein** obarvil okolí preparátu do sytě červené barvy. Houbová tkáň byla světlá u středu a okraje byly velmi tmavé. V preparátu nebyly téměř žádné pozorovatelné struktury (obr. 120).
- **Kongo červeň (vodný roztok)** obarvila houbovou tkáň do světle červené barvy pouze na okrajích. Okolí nechala čiré. Preparát byl rozmazaný.
- **Kongo červeň (amoniakální roztok)** měla výsledky srovnatelné s vodným roztokem kongočerveně.
- **Naftol** nevytvořil pozorovatelný preparát. Okraje byly téměř černé i při vyšším prosvětlení nebyly struktury pozorovatelné. Okolí zůstalo čiré (obr. 121).
- **Pyrogalol** vytvořil preparát podobný jako naftol, ale mírně světlejší (obr. 122).



Obr. 117. *A.auricula-judae*, Lugolův roztok, 200×.



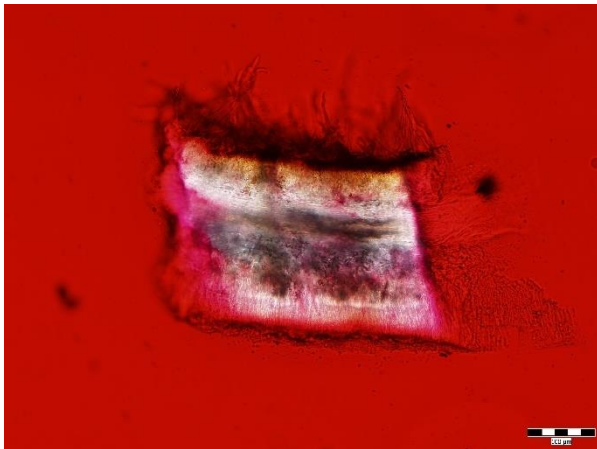
Obr. 118. *A.auricula-judae*, phloxine, 400×.



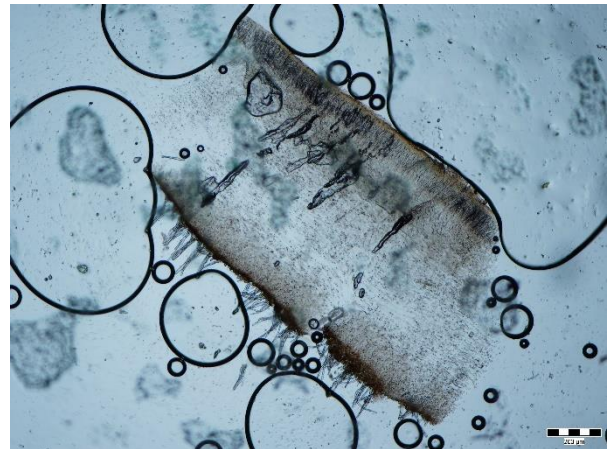
Obr. 119. *A.auricula-judae*, sulfovanilin, 100×.



Obr. 121. *A.auricula-judae*, naftol, 100×.



Obr. 120. *A.auricula-judae*, orcein, 100×.



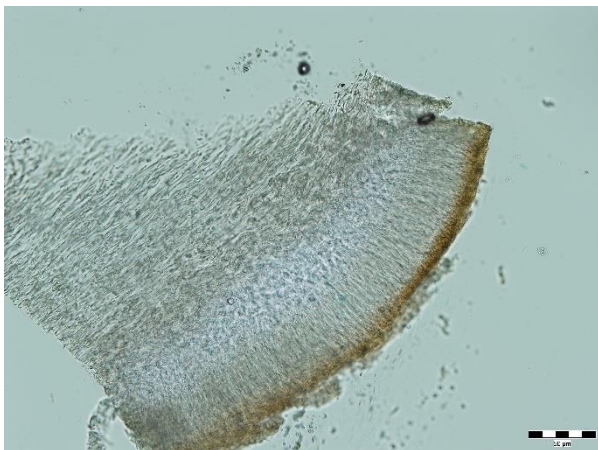
Obr. 122. *A.auricula-judae*, pyrogalol, 100×.

Nová činidla:

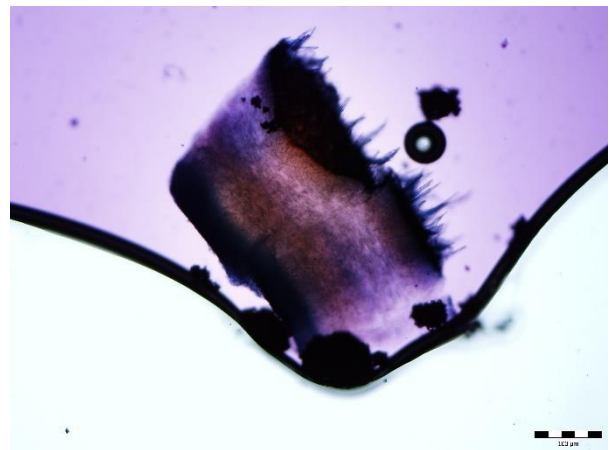
- **Ferrokyanid draselný** u preparátu spíše zvýraznil jeho přirozené zabarvení. Okraj byl tmavší, střed zůstal světlý. Celý preparát byl ostrý v dostačující kvalitě pro pozorování (obr. 123).
- **Bromfenolová modř** vytvořila velmi špatný preparát, který byl rozmazaný (obr. 124).
- **Toludiniová modř** obarvila preparát do světle fialové barvy, přičemž střed řezu byl světlejší než okraje. Okraje byly natolik tmavé, že i při přisvětlení nebylo možné pozorovat (obr. 125).
- **Methylenová modř** obarvila celý preparát včetně středu do sytě modré barvy. Okraje byly i při vyšším prosvětlení velmi tmavé (obr. 126).
- **Anilinová modř** obarvila preparát do světle modrého odstínu. Preparát v tomto činidle byl velmi ostrý (obr. 127).
- **Trypanová modř** měla stejný výsledek jako methylenová modř.
- **Alizarinová modř** měla stejný výsledek jako methylenová modř.

- **Chlorid železitý** vytvořil velmi rozmazaný preparát, který byl zabarvený do hnědých odstínů, a to pouze na okrajích.
- **Chlorid kobaltnatý** způsobil téměř černé zabarvení okrajů řezu, kdy směrem ke středu preparát světlal. Okolí zůstalo bez zabarvení. I při proostřování byl preparát rozmazaný (obr. 128).
- **Inkoust** obarvil okolí preparátu do tyrkysové barvy. Samotná houbová tkáň získala sytě zelené obarvení, avšak okraje byly velmi tmavé. Preparát byl ostrý, ale na okrajích nebylo téměř nic pozorovatelné (obr. 129).
- **Jodová tinktura (BETADINE)** měla stejný výsledek jako u ostatních preparátů. Okolí obarvila do oranžové barvy a samotná tkáň byla na okrajích velmi sytě hnědá, střed zůstal téměř v přirozených odstínech (obr. 130)
- **Trypanová červeň** obarvila okolí preparátu do světle oranžové barvy, houbová tkáň na okrajích byla velmi tmavá a nepozorovatelná, střed zůstal světlý.
- **Methylenová červeň** okolí preparátu obarvila do světle žluté barvy. Houbovou tkáň na okrajích řezu zabarvila do velmi tmavé barvy, kdy i při vyšším prosvětlení nebyly pozorovatelné žádné struktury.
- **Bromkresolová červeň** obarvila okolí preparátu do sytě žluté barvy, samotný preparát byl na okrajích tmavě hnědý a uprostřed zůstal v přirozené barvě. Okraje preparátu byly ostré (obr. 131).
- **Brompyrogallolová červeň** zabarvila celý preparát včetně jeho okolí do fialové barvy, přičemž okraj houby byl velmi tmavý a střed světlý. Byl jasně vidět okraj Jidášova ucha (obr. 132)
- **Chroman draselný** ponechal houbovou tkáň téměř v přirozeném zbarvení. Okolí preparátu bylo světle hnědé. Preparát připravený v tomto činidle byl velmi ostrý (obr. 133).
- **Chroman amonný** obarvil houbovou tkáň na okrajích do sytě žluté barvy, střed houby zůstal světlý. Pouze malá vrstva buněk u okraje zůstala tmavě hnědá. Okolí tkáně bylo téměř čiré (obr. 134).
- **Brilantní zeleň** vytvořila velmi tmavý preparát obarvený do tyrkysových odstínů, který byl téměř nepozorovatelný.
- **Brilantní žlut'** obarvila preparát do sytě oranžové barvy. Houbová tkáň byla na okraji velmi tmavá. Celý preparát působil velmi rozmazaně.
- **Methanilová žlut'** měla výsledky podobné jako brilantní žlut'.

- **Alizarinová žluť** zabarvila preparát stejně jako tomu bylo u ostatních zástupců do hnědých odstínů. Okolí bylo světle hnědé. Preparát působil rozmazaným dojmem (obr. 135).
- **Methyloranž** vytvořila preparát, který byl i při proostření hodně rozmazaný. Samotné zabarvení bylo pouze na okrajích v hnědých odstínech, střed houby zůstal světlý a okolí velmi světle hnědé (obr. 136).
- **Rivanol (ethakridin)** vytvořil rozmazaný preparát zabarvený do šedých odstínů.
- **Citronan amonnoželezitý** měl výsledky srovnatelné s rivanolem.
- **Síran měďnatý** nevytvořil pozorovatelný preparát.
- **Alizarinsulfan sodný** obarvil preparát podobným způsobem jako Melzerovo činidlo. Zabarvení bylo pouze na okrajích, střed tkáně zůstal v přirozeném zbarvení. Okraje houbové tkáně byly ostré (obr. 137).
- **Dusičnan kobaltnatý** obarvil houbu do tmavší hnědé. Výsledek byl podobný jako například u Melzerova činidla nebo Lugolova roztoku. Okolí tkáně však zůstalo čiré. Na okraji houby se u tohoto preparátu vyskytly spory, které měly ostré okraje (obr. 138).
- **Fluorescein** nevytvořil pozorovatelný preparát.



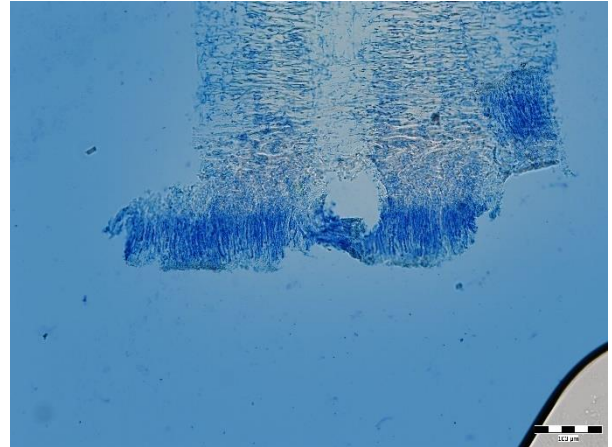
Obr. 123. *A.auricula-judae*, ferrokyanid draselný, 200×.



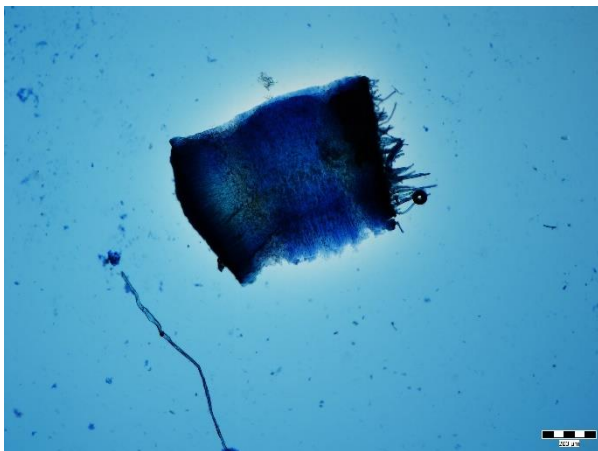
Obr. 124. *A.auricula-judae*, bromfenolová modř, 100×.



Obr. 125. *A. auricula-judae*, toluidinová modř, 100×.



Obr. 127. *A. auricula-judae*, anilinová modř, 200×.



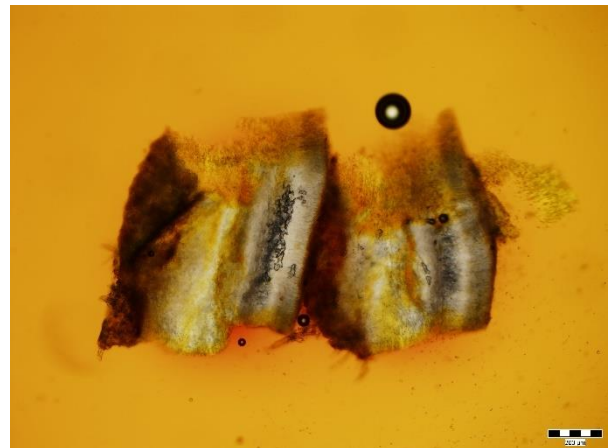
Obr. 126. *A. auricula-judae*, methylenová modř, 100×.



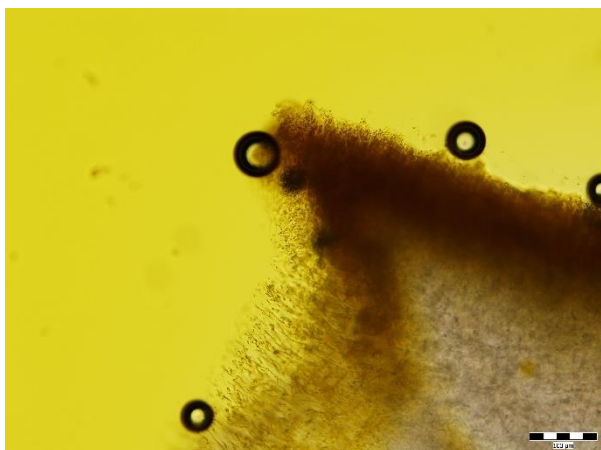
Obr. 128. *A. auricula-judae*, chlorid kobaltnatý, 100×.



Obr. 129. *A. auricula-judae*, inkoust, 100×.



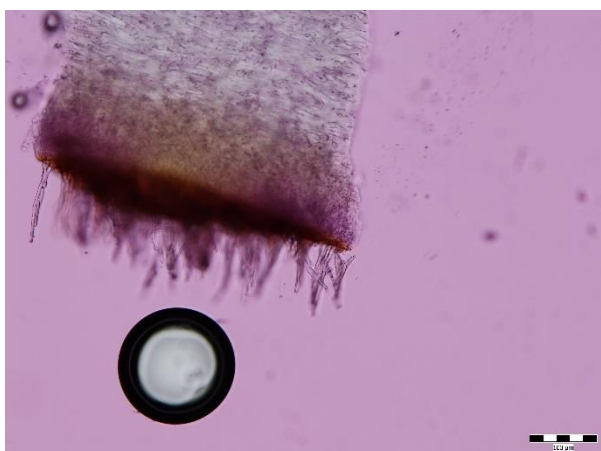
Obr. 130. *A. auricula-judae*, jodové činidlo, 200×.



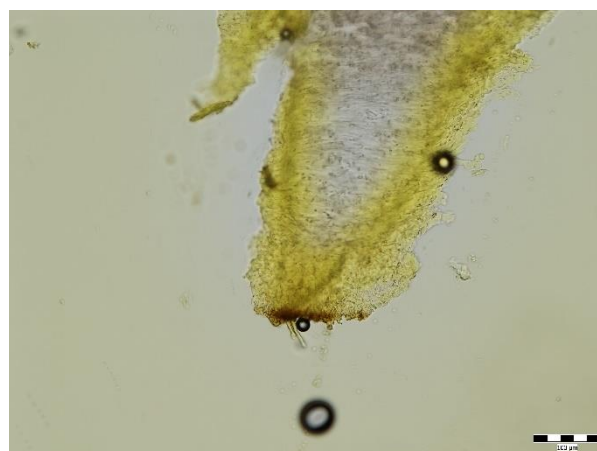
Obr. 131. *A.auricula-judae*, bromkresolová červeň, 400×.



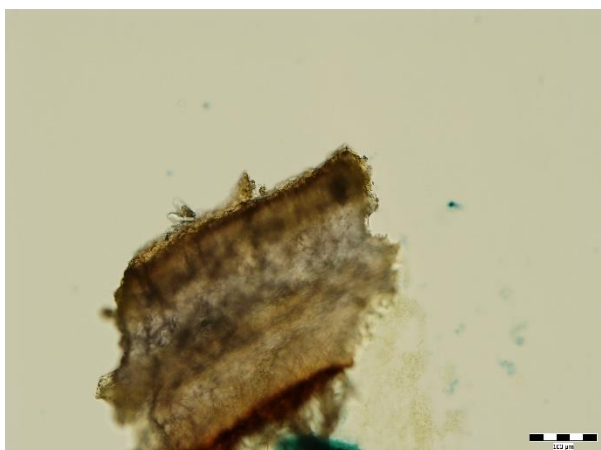
Obr. 133. *A.auricula-judae*, chroman draselný, 100×.



Obr. 132. *A.auricula-judae*, brompyrogallolová červeň, 100×.



Obr. 134. *A.auricula-judae*, chroman amonný, 200×.



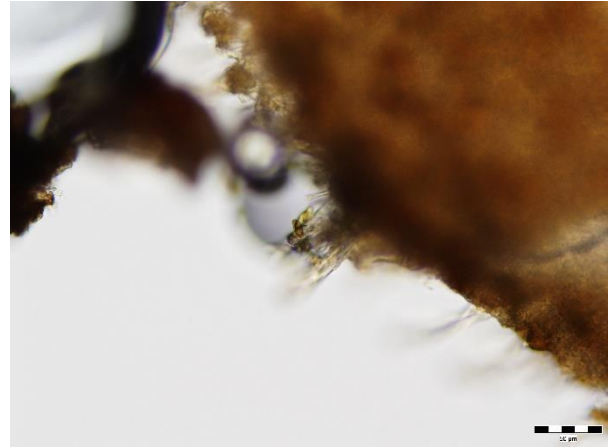
Obr. 135. *A.auricula-judae*, alizarinová žluť, 100×.



Obr. 136. *A.auricula-judae*, methyloranž, 100×.



Obr. 137. *A.auricula-judae*, alizarinsulfan sodný, 100×.



Obr. 138. *A.auricula-judae*, dusičnan kobaltnatý, 400×.

8. DISKUZE

Při experimentálním zpracování této diplomové práce bylo cílem vyhledat činidlo (nebo více činidel), které by svou obarvovací schopností bylo vhodné pro další využití v mykologickém výzkumu nebo při výuce přírodovědy/přírodopisu/biologie na základních školách.

V tomto experimentu bylo zpracováno celkem 17 činidel, která se využívají v mykologii běžně a je znám jejich výsledek při interakci s houbovou tkání, z nichž pět bylo využito pouze u holubinky odbarvené. Těchto pět činidel se však běžně využívá při makrochemických reakcích holubinek nikoli u mikroskopického barvení. U všech těchto činidel se výsledek jejich účinnosti potvrdil. Melzerovo činidlo fungovalo stejně jako Lugolův roztok u všech sledovaných vzorků velmi dobře. Potvrdil se i fakt, že Lugolův roztok barví preparáty do tmavších odstínů než Melzer. Avšak při výuce biologie a přírodopisu na základních školách není Melzerovo činidlo vzhledem ke své toxicitě vhodné. Bavlnová modř obarvila u všech zástupců okolí preparátu i vzorek do sytě modré barvy, zde vznikly pozorovatelné struktury pouze u hříbu a u holubinky. Preparáty obarvené v orceinu byly zabarvené do sytě červené barvy a nebylo možné pozorovat žádné ostré tvary. Phloxine zabarvil všechny vzorky do růžových jednolitých odstínů, avšak okraje spor byly ostřejší než u orceinu. Přesto tato činidla nejsou vzhledem k neuspokojivým výsledkům vhodná pro mikroskopování těchto zástupců. Dalším činidlem, který barvil preparáty do růžova je sulfovanilin, který byl jako jediný připraven přímo na podložním skle. Zde byly spory většiny zástupců (vyjma boltcovky) zřetelné, u holubinky se zvýraznila ornamentika, ale preparáty nebyly zcela ostré. Naopak velmi dobré výsledky měly preparáty připravené v kongo červeně. Toto činidlo bylo připraveno ve formě vodného a amoniakálního roztoku. Obě varianty obarvily pouze vzorek houbové tkáně do sytější hnědé až červené barvy a okolí ponechaly čiré. Amoniakální roztok ve všech případech způsobil ostřejší a kvalitnější preparát než roztok vodný. Roztok KOH měl velmi podobné výsledky jako obě varianty kongo červeně.

Mezi těmito činidly byla i voda, která preparát nijak neobarvuje ani nezvýrazňuje. Pozorování preparátu ve vodě je dostačující a pro potřeby pozorování na základních školách je toto činidlo vzhledem ke své bezpečnosti ideální, jelikož by vodu mohli žáci použít i samostatně. Všechna činidla, která jsou zařazena v této práci mezi běžná, ale nemohou žáci ve většině případů používat samostatně, protože jsou nebezpečné (obsahují kyseliny a jedovaté látky).

Nových činidel bylo namícháno celkem 32. Velká většina z nich byla rozmíchána ve vodě a malá část v ethanolu. Některá činidla byla namíchána ve dvou variantách, a to ve vodě i v ethanolu, jelikož bylo možné rozpustit je v obou zmíněných rozpouštědlech. Z těchto činidel tři nebyla použita vůbec, protože nebyla rozpuštěna (malachitová zeleň, oxid wolframový a oxid chromitý).

Z celkového počtu připravených a sledovaných preparátů je z hlediska houbových druhů možné říci, že nejvíce nových činidel fungovalo nejlépe u hříbu koloděje (*S. luridus*), u kterého byly téměř vždy jasně pozorovatelné spory (obr. 77–94). Spory tohoto druhu jsou podlouhlé na obou koncích zašpičatělé, což bylo možné identifikovat zřetelně u všech činidel. U tohoto druhu nefungovala převážně činidla žlutého zbarvení jako jsou například brilantní žluť, methanilová žluť a alizarinová žluť, která způsobila rozmazání preparátů. I přesto byly spory v preparátu vidět. Dále u hříbu nefungovala brompyrogallolová červeň, která zabarvila preparát do velmi tmavé barvy. Všechna ostatní činidla u hříbu vytvořila sporám ostré okraje a jasné struktury, kdy bylo možné provést pozorování. Z těchto činidel byly nejlepší výsledky u methylované, fluoresceinu, chromanu draselného a chloridu kobaltnatého. Dále činidla fungovala velmi dobře u holubinky odbarvené (*R. decolorans*), kdy byly její spory často zřetelné včetně ornamentiky (obr. 19–39). U tohoto zástupce poskytly nejlepší výsledky tato činidla: bromkresolová červeň, methylovaná, fluorescein, citronan amonnoželezitý, chroman amonný a alizarinsulfan sodný. Naopak modrá činidla nefungovala příliš dobře. U muchomůrky citrónové (*A. citrina*) činidla většinou tvořila rozmazané preparáty (obr. 46–65). Barvivy, která zde zafungovala jsou trypanová červeň, chroman draselný, alizarinsulfan sodný, bromkresolová červeň a fluorescein. U tohoto zástupce měla modrá činidla nejhorší výsledky. Nejméně činidel zafungovalo u vatičky (*Tomentella* sp.) (obr. 101–116). Dobré preparáty byly při použití methylenové červeně, chromanu amonného a alizarinsulfanu sodného. U ostatních činidel byla houbová tkáň buď příliš tmavá, nebo rozmazaná. Posledním testovaným zástupcem byla boltcovka ucho Jidášovo (*Auricularia auricula-judae*), u které bylo úspěšné podobné množství barviv jako u vatičky (obr. 123–138). Zde nejvíce zafungovaly alizarinsulfan sodný, dusičnan kobaltnatý, chroman draselný, brompyrogallolová červeň a ferrokyanid draselný. Vyjma anilínové a bavlnové modři zde nefungovalo žádné modré činidlo. Ostatní činidla nebyla úspěšná.

Všechna použitá činidla mají v praxi jiné využití, než je mikroskopie mykologických preparátů, ale pro jejich barevnost byla v tomto experimentu velmi atraktivní. U některých se tento potenciál potvrdil. Těmito činidly jsou alizarinsulfan sodný, který u všech vzorků

zvýraznil či zbarvil houbové struktury a dosáhl požadovaných výsledků. Dále byly velmi dobré výsledky také u fluoresceinu, dusičnanu kobaltnatého nebo methylované.

Obarvování mikroskopických preparátů novými činidly se nevěnuje žádná literatura, tento výzkum je tedy prozatím velmi ojedinělý. Existuje ale literatura, která se věnuje barvení mykologických preparátů běžnými činidly. Mezi tuto literaturu se řadí Maria Teresa Basso, která sepsala dvoudílný manuál k mikroskopování mykologických preparátů *Manuale di Microscopia dei Funghi*, ve kterém detailně popisuje přípravu barviv a preparátů, z něhož bylo čerpáno v teoretické části této práce. Výsledky dosažené v experimentální části běžných činidel se shodují s výsledky v této práci. Potvrdilo se, že Melzerovo činidlo, Lugolův roztok a samotný jód patří dosud mezi nejlepší činidla používaná v tomto výzkumu. Díky obsahu jódu zvýrazňují velmi dobře okraje spor, jejich povrchové struktury a další buňky v houbové tkáni. Naopak v histologii se preparáty obarvují častěji než v mykologii. V této práci byl využit například phloxine, který se využívá k barvení histologických preparátů, kde dosahuje velmi dobrých výsledků.

9. ZÁVĚR

V této práci bylo zpracováno celkem 49 činidel, z nichž byl u 17 znám jejich účinek u mykologických preparátů, protože se v tomto oboru běžně využívají. Zbytek (tzn. 32) byl namíchán nově a jejich účinek na mykologické preparáty byl zjišťován v experimentální části této práce. Všechna činidla byla použita u pěti vybraných zástupců z říše *Fungi*. Těmito zástupci jsou: *Russula decolorans* (holubinka odbarvená), *Amanita citrina* (muchomůrka citrónová), *Suilellus luridus* (hřib koloděj), *Tomentella* sp. (vatička) a *Auricularia auricula-Judae* (boltcovka ucho Jidášovo).

Z celkového počtu vyzkoušených činidel se pouze některá projevila jako vhodná pro další využití. Mezi tato činidla patří například methylořaň, která barvila téměř všechny vzorky tak, že bylo možné u nich pozorovat důležité znaky. Dále se jako vhodný projevila alizarinsulfan sodný nebo chlorid kobaltnatý. Naopak mezi činidla se špatným výsledkem patří orcein, phloxine, bromfenolová modř, brilantní žluť nebo rivanol. Výsledky této práce však nepředstavují konečný výzkum, jelikož je možné, že činidla budou časem podléhat vnějším vlivům a stářím ztratí své vlastnosti obarvovat preparáty, či naopak, časem se jejich vlastnostilepší.

Namíchaná činidla nebyla po dokončení práce zlikvidovaná, všechna jsou uložena na Oddělení biologie Centra biologie, geověd a envigogiky Fakulty pedagogické Západočeské univerzity v Plzni a jsou dostupná pro další výzkum.

10. RESUMÉ

Results of experimental new mycological reagent search are presented in this Master thesis. A total of 49 reagents were prepared, of which 32 were new. All reagents were used on five selected representatives of the Fungi kingdom, which are *Russula decolorans*, *Amanita citrina* *Suillellus luridus*, *Tomentella* sp. and *Auricularia auricula-Judae*).

Of the total number of tested reagents, only some proved to be suitable for further use. These agents include, for example, methyl orange, which stained almost all samples so that important features could be observed. Alizarin sulphate or cobalt trichloride has also proved to be suitable. In contrast, poorly performing agents include orcein, phloxine, bromophenol blue, brilliant yellow or rivanol. However, the results of this work do not represent the final research, as it is possible that the agents will eventually be subject to external influences and with age they will lose their attributes to color the slides, or vice versa, their attributes will develop over time.

11. SEZNAM LITERATURY

- BASSO, M. T. 2012. *Manuale di Microscopia dei Funghi, Volume 2*. Libreria Mykoflora, 582 s. Alassio.
- BASSO, M. T. 2019. *Manuale di Microscopia dei Funghi*. Libreria Mykoflora, 320 s. Alassio.
- BATAILLE, F. 1948. *Les réactions macrochimiques chez les champignons*. P. Lechevalier, 172 s. Paříž.
- COPELAND, H. F. 1956. *The Classification of Lower Organisms*. Pacific Books, 302 s. Palo Alto.
- ERB, B. a MATHEIS, W. 1983. *Pilzmikroskopie: Präparation und Untersuchung von Pilzen*. Frankh, 166 s. Stuttgart.
- DISKINSON, J. A. D. 1966. Carbonate indentification and genesis as revealed by staining. *Journal of Sedimentary Petrology* 36, 491-505.
- HERINK, J. 1956. Makrochemické reakce mléka ryzců – *Lactarius D. C. ex*) S. F. Gray. *Česká mykologie* 10 (3), 148-150.
- HESKOVÁ, H. 2017. *Příprava a vlastnosti oxidu wolframového vrstev zhotovených sol-gel procesem*. MS, Bakalářská práce, depon. in Vysoké učení technické v Brně, 37 s. Brno.
- HOLEC, J., BIELICH, A. a BERAN, M. 2012. *Přehled hub střední Evropy*. Academia, 624 s. Praha.
- KALINA, T. a POKORNÝ, V. 1979. *Základy elektronové mikroskopie pro biology*. SPN, 206 s. Praha.
- KLUZÁK, Z. a SMOTLACHA, M. 1985. *Poznáváme houby*. Svépomoc, 274 s. Praha.
- KNUDSEN, J. a VESTERHOLD, J. 2018. *Funga Nordica*. Nordsvamp, 1083 s. Copenhagen.
- KYMPLOVÁ, J. 2013. *Katalog metod v biofyzice*. Univerzita Karlova, 38 s. Praha
- LARRAÑAGA, M. D., LEWIS, R. J. a LEWIS, R. A. 2016. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary, Sixteenth Edition*. John Wiley & Sons, 1568 s. Hoboken.
- MELZER, V. 1945. *Atlas holubinek*. Kropáč a Kucharský, 200 s. Praha.
- MUSSO, H. 1960. Orcein und Lackmusfarbstoffe: Konstitutionsermittlung und Konstitutionsbeweis durch die Synthese. *Planta Medica* 8, 431-446.
- NAVRÁTIL, L. a ROSINA, J. 2005. *Medicínská biofyzika*. Grada, 432 s. Praha.
- PATNAIK, P. 2002. *Handbook Of Inorganic Compounds*. McGraw-Hill Professional, 1086 s. New York.

- PIEPENBRING, M. 2015. *Introduction to Mycology in the Tropics*. APS Press, 366 s. St. Paul.
- SINA, M., SIMPSON, G. A., LANE, E. CH. et al. 2012. The revised classification of Eucaryotes. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 59, 429-493.
- SINA, M., BASS, D., LANE, E. CH. et al. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of Eukaryotes. *The Journal of Eucaryotic Microbiology* 66 (1), 4-119.
- SOCHA, R., HÁLEK, V. a BAIER, J. 2011. *Holubinky*. Academia, 520 s. Praha.
- STALPERS, J. A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphylophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16.
- TIEN, K., H. 1983. Intraamniotic Injection of Ethacridine for second-trimester Induction of labor. *Obstet Gynecol* 61 (6), 733-736.
- VESELÝ, R. 1972. *Přehled československých hub: úvod do studia našich hub*. Academia, 424 s. Praha.
- VOHLÍDAL, J., JULÁK, A. a ŠTULÍK, K. 1999. *Chemické a analytické tabulky*. Grada, 652 s. Praha.
- WEBSTER, J. a WEBER, R. W. S. 2007. *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press, 867 s. Cambridge.
- WHITTAKER, R. H. 1969. New Concepts of Kingdoms of Organisms. *Science* 163, 150-160.
- WOESE, C. R., KANDLER, O. a WHEELIS, M. L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (12), 4576-4579.
- ZÁRUBA, K. 2016. *Analytická chemie*. VŠCHT, 221 s. Praha.

Internetové zdroje:

- [1] Rámcový vzdělávací program pro základní vzdělávání. [online]. [cit. 16. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.nuv.cz/file/4983_1_1/download/
- [2] INCHEM. Environmental Health Criteria 89. Formaldehyde [online]. [cit. 21. 1. 2022]. Dostupné z: <https://incchem.org/documents/ehc/ehc/ehc89.htm>
- [3] PubChem. Phenol. [online]. [cit. 29. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/996>
- [4] PubChem. Ammonia. [online]. [cit. 20. 1. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ammonia>

- [5] P-lab. Bromfenolová modř. [online]. [cit. 20. 1. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/modr-bromfenolova-roztok>
- [6] PubChem. Bromtothymol blue. [online]. [cit. 21. 1. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6450>
- [7] P-lab. Chlorid železitý. [online]. [cit. 17. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.p-lab.cz/chlorid-zelezity?gclid=CjwKCAjw9e6SBhB2EiwA5myr9lVPBWTxEb3f9-T2zpTl_BAwcwTwoBkP7vW_CU3cDcGexdL8D3xyRRoCSwcQAvD_BwE
- [8] Penta Chemicals Unlimited. Chlorid železitý. [online]. [cit. 17. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/chlorid_zelezity_bezvody.pdf
- [9] Polenna Astra. Historie. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <http://www.pollena-astra.com.pl/page.php?3>
- [10] Conatex. Anilinová modř. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.conatex.cz/media/manuals/BACS/BACS_1077117.pdf
- [11] Wikiskripta. AZAN. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/AZAN>
- [12] P-lab. Modř toludiniová. [online]. [cit. 20. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/modr-toluidinova-o>
- [13] Drugs.com. Methylene blue. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/mtm/methylene-blue-injection.html>
- [14] P-lab. Modř methylenová. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.p-lab.cz/modr-methylenova?gclid=CjwKCAjw9e6SBhB2EiwA5myr9oX5rH1sqgNhwEiRmnXr1yt7qe2TYOkV76YuuD69KQj3-GxCnowLgBoCOJAQAvD_BwE
- [15] P-lab. Modř trypanová. [online]. [cit. 8. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/modr-trypanova>
- [16] PubChem. Alizarine Blue. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alizarine-Blue>
- [17] Sigma-Aldrich. Alizarin. [online]. [cit. 4. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sial/122777>
- [18] Likochem. Jodová tinktura. [online]. [cit. 5. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.likochem.cz/jodova-tinktura-10-ml/>
- [19] PubChem. Trypan Red. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trypan-red>

- [20] P-lab. Methylčerveň. [online]. [cit. 30. 1. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/methylcerven>
- [21] PubChem. Bromocresol purple. [online]. [cit. 10. 3. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8273>
- [22] PubChem. Bromopyrogallol red. [online]. [cit. 14. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bromopyrogallol-red>
- [23] Penta Chemicals. Chroman draselný. [online]. [cit. 14. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/chroman_draselny.pdf
- [24] Verkon. Chroman draselný. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. <https://www.verkon.cz/laboratorni-chemikalie-lachner/chroman-draselny/>
- [25] Penta Chemicals. Chroman amonný. [online]. [cit. 14. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/chroman_amonny.pdf
- [26] Penta Chemicals. Chroman barnatý. [online]. [cit. 13. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.pentachemicals.eu/chemikalie/chroman-barnaty-222>
- [27] PKChemie. Chroman barnatý [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.kovyachemie.cz/chroman-barnaty/chroman-barnaty--500g/>
- [28] P-lab. Zeleň brilantní. [online]. [cit. 10. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/zelen-brilantni>
- [29] P-lab. Zeleň malachitová. [online]. [cit. 12. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/zelen-malachitova-oxalat>
- [30] P-lab. Žlutý brilantní. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/zlut-brilantni>
- [31] PubChem. Brilliant Yellow. [online]. [cit. 8. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Brilliant-Yellow>
- [32] PubChem. Methanil Yellow. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metanil-yellow>
- [33] National Library of Medicine. Evaluation of Turmeric Powder Adulterated with Methanil Yellow Using FT-Raman and FT-IR Spectroscopy. [online]. [cit. 16. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231130/>
- [34] PubChem. Alizarin Yellow. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alizarine-Yellow-R>
- [35] Otto chemie. Alizarin Yellow. [online]. [cit. 9. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.ottokemi.com/stains-dyes/2243-76-7.aspx>

- [36] P-lab. Methyloranž. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/methyloranz>
- [37] PubChem. Ethacridine lactate. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethacridine-lactate#section=Safety-and-Hazards>
- [38] P-lab. Citronan amonno-železitý. [online]. [cit. 13. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/citronan-amonno-zelezity-zeleny>
- [39] Penta Chemicals. Citronan amonno-železitý. [online]. [cit. 13. 4. 2022]. Dostupné z https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/citronan_amonno-zelezity_zeleny.pdf
- [40] P-lab. Oxid wolframový. [online]. [cit. 13. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/oxid-wolframovy>
- [41] P-lab. Oxid chromitý. [online]. [cit. 13. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/oxid-chromity>
- [42] PubChem. Chromium (III) oxide. [online]. [cit. 14. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/517277>
- [43] Verkon. Síran měďnatý. [online]. [cit. 10. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.verkon.cz/laboratorni-chemikalie-penta/siran-mednaty-pentahydrat/>
- [44] Sigma-Aldrich. Alizarisulfan sodný. [online]. [cit. 8. 4. 2022]. Dostupné z: https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/aldrich/291234?gclid=EAIaIQobChMI-ufK6Z2b9wIV05rVCh2waQUpEAAYASAAEgLTvfD_BwE
- [45] P-lab. Dusičnan kobaltnatý. [online]. [cit. 5. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/dusicnan-kobaltnaty-hexahydrat>
- [46] PubChem. Fluorescein. [online]. [cit. 6. 4. 2022]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluorescein>
- [47] P-lab. Fluorescein. [online]. [cit. 6. 4. 2022]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/fluorescein,-sodna-sul>
- Index Fungorum [online]. [cit. 20. 4. 2022]. Dostupné z: <http://www.indexfungorum.org/>.