



Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

Glive okoli nas (Fungi around us)

Raziskovalna naloga na področju biologije

Research paper in the field of biology

Avtor: Kaja Baler

Letnik: 3. a

Mentorice: dr. Marija Meznarič, prof. biol. in kem.
doc. dr. Polona Zalar, prof. mikrobiol.
Sara Baš, mag. mikrobiol.

Šolsko leto: 2021/2022

Zahvala

Zahvaljujem se mentoricama profesorici biologije dr. Mariji Meznarič in mag. mikrobiologije Sari Baš za napotke, nasvete, podporo in pomoč pri raziskovalni nalogi. Še posebej se zahvaljujem Biotehniški fakulteti, oddelku za biologijo, za ves material in pripravo gojišč. Prav tako posebna zahvala mentorici dr. Poloni Zalar za izvrstno mentorstvo, vse informacije, pregled naloge, podporo in pomoč pri eksperimentalnem ter teoretičnem delu. Zahvala tudi študentki Miši Frumen za pomoč pri filtraciji in rokovjanju z aparaturom. Hvala profesorju informatike Damjanu Erhatiču za pregled dokumenta, profesoricama Ireni Štuhec in Nini Balažek za lektoriranje naloge in profesorjema angleščine profesorici Beverley Landriccombe ter profesorju Saši Pergarju za pregled dela v angleščini. Zahvaljujem se tudi prostovoljcem, čigavih domov sem lahko fotografirala in vzorčila.

Povzetek

V raziskovalni nalogi sem preučevala rodove in vrste gliv, ki so v naših prostorih ter njihove spore, ki so v zraku, ki ga vdihavamo. Vzorčila sem z različnimi metodami, da bi dobila čim več natančnih rezultatov. Uporabila sem štiri metode dela: opazovanje, vzorčenje, merjenje in obdelavo podatkov. Kvantitativno, sedimentacijsko in površinsko vzorčenje sem izvedla na kar triindvajsetih lokacijah ter površinah (zrak zunaj, v učilnici, kabinetu, površine petih hiš). V raziskovalni nalogi sem želela ugotoviti, katere vrste gliv so v naših domovih in posledično, katere od njihovih spor so v zraku, ter katere so za nas toksične. Vzorce sem nanašala na kompleksna agarna gojišča DG18, MY50G in DRBC (vse z dodanim antibiotikom kloramfenikolom) in tako omogočila rast le glivam. Po inkubaciji sem si gojišča podrobno ogledala skozi stereo mikroskop in mikroskop. Vse podatke sem zbrala in uredila v programu Excel. Večja količina spor je bila prisotna v zunanjem zraku v primerjavi z notranjim zrakom. Spore zaradi zračenja prihajajo v naše prostore in se posedejo na različne površine skupaj s sporami v zraku zunaj, katerim se pridružijo še spore, ki izhajajo iz notranjih prostorov. Najbolj pogoste v zraku so glive rodu *Aspergillus*, ki so se največkrat pojavile v zraku vzorčenem na vseh treh lokacijah, ter na površinah v notranjih prostorih. Ugotovila sem, da je v zraku v notranjih prostorih veliko spor različnih rodov gliv, katerih koncentracija je ob obstoječi plesni znotraj prostora še posebej visoka in lahko v večji koncentraciji spor povzroča težave alergikom, astmatikom in ljudem s slabim imunskim sistemom, slabo pa lahko vpliva tudi na zdrave ljudi.

Ključne besede: gliva, spora, vdihovanje, vzorčenje, gojišča, zrak, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Wallemia*, *Alternaria*, *Rhyzopus*, kvasovke, *Phoma*, *Eppicum*

Abstract

In my research I studied genera and species of fungi that can be found in our premises environment and their spores that are in the air we breathe. I used different sampling techniques in order to obtain as accurate results as possible. I used four methods of work: observation, sampling, measurement and data collection. Quantitative, sentimental and surface sampling ware performed at as many as 23 locations and areas (outside outdoors, a classroom, an office, 5 houses, 4 different surfaces per in each house). In my research I wanted to find out which types of fungi can be found in our homes, and consequently which of their spores are in the air and which are toxic to us. After collecting samples in 3 different ways, I placed them on different agar media DG18, MY50G and DRBC (all supplemented with antibiotic chloramphenicol) to allow the growth of fungi. After incubation, I examined these media in detail under a stereo stereomicroscope and an microscope. I first observed fungal colonies for their characteristics, and then made slides from some of them for easier identification. I collected and processed all the data. The greatest number of airborne spores was present in the outdoor air. Due to ventilation, they enter our buildings and are deposited on surfaces. The most common genus of all fungi I cultured, was the genus *Aspergillus*, which most often occurred both in the air and on indoor surfaces sampled at all 3 locations, and on indoor surfaces. I have found that there are a lot of spores in the air outdoors and indoors, and their concentration is particularly high with existing moulds on inner surfaces. This can cause problems to people with allergies, people with weak immune systems, and, to a greater certain extent, even to completely healthy people.

Key words: fungi, spore, inhalation, sampling, petri dish, air, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Wallemia*, *Alternaria*, *Rhyzopus*, *glove kvasovke*, *Phoma*, *Eppicum*

Kazalo

Kazalo vsebine

Zahvala	2
Povzetek	3
Abstract	4
Kazalo.....	5
1. Uvod	13
2. Teoretični del.....	14
Splošno	14
Rodovi gliv	15
Rod <i>Alternaria</i>	15
Rod <i>Aspergillus</i>	16
Rod <i>Cladosporium</i>	18
Rod <i>Eppicum</i>	19
Rod kvasovk	19
Rod <i>Ochroconis</i>	20
Rod <i>Penicillium</i>	21
Rod <i>Phoma</i>	22
Rod <i>Rhizopus</i>	23
Rod <i>Sordaria</i>	24
Rod <i>Trechoderma</i>	25
Rod <i>Wallemia</i>	26
Vpliv spor na človeka.....	26
3. Metode dela	28
Material in oprema	28
Gojišča.....	28
DG18 - Dikloran glicerolni agar.....	29
DRBC: Agar z dikloranom, bengal rožnatim in kloramfenikolom	29
MY50G: Agar s sladnim in kvasnim ekstraktom s 50 % glukoze	30
Vzorčenje.....	30
Kvantitativna metoda:	30
Sedimentacijska metoda	32
Površinsko vzorčenje.....	34

4. Analiza	38
Analiza inkubacije	38
Rezultati plošč vzorčenega zraka	38
Rezultati plošč vzorčenih s sedimentacijsko metodo vzorčenja po štiriindvajsetih (24) dneh inkubacije	44
Rezultati plošč s površinsko metodo vzorčenja	45
Analiza kolonij na gojiščih v laboratoriju	49
Opazovanje gliv	49
Analiza kolonij na gojiščih s stereo mikroskopom	50
Analiza kolonij s stereo mikroskopom	51
Analiza kolonij z mikroskopom	59
5. Analiza rezultatov	63
Štetje kolonijskih enot	63
Preštevanje in identifikacija kolonij vzorčenega zraka	64
Primerjava spor v zunanjem zraku in zraku notranjih prostorov	65
Primerjava vsebnosti spor na m ³ vzorčenega zraka	66
Primerjava površine različnih rodov gliv glede na različne vzorčene površine	68
Primerjava deleža spor rodov na vodoravnih površinah v primerjavi z deležem spor posameznih rodov gliv v zraku	69
Primerjava celotnega odstotka glice rodu <i>Aspergillus</i> z vrsto <i>Aspergillus niger</i> na vodoravnih površinah po posameznih hišah	70
6. Zaključki	72
Potrditev/zavrnitev hipotez	72
Sklepi in komentar	73
Viri in literatura	74
Viri in literatura vsebine	74
Viri slik	75
Viri tabel	76
Viri grafov	76

Kazalo slik

Slika 1: zgradba askomicete	14
Slika 2: Alteranaria sp	15
Slika 3: <i>Aspergillus niger</i>	16
Slika 4: <i>Cladosporium</i> sp	18
Slika 5: <i>Epicoccum nigrum</i>	19

Slika 6: Glive kvasovke	20
Slika 7: Ochroconis sp.	21
Slika 8: Penicillium sp.	21
Slika 9: Phoma sp.....	22
Slika 10: Rhizopus sp.....	23
Slika 11: Sordaria sp.	24
Slika 12: Trichoderma sp.	25
Slika 13: Wallemia sp.	26
Slika 14: Naprava za filtriranje zraka,	31
Slika 15: Nadevanje sterilne plošče na napravo za filtracijo zraka	31
Slika 16: Gojišča z odvzetimi vzorci zunanjega zraka po končanem vzorčenju	32
Slika 17: Gojišča v z odvzetimi vzorci zraka biološke učilnice in biološkim kabinetom po končanem vzorčenju	32
Slika 18: Prikaz aparatur za merjenja tlaka (barometer), vlage (higrometer) in temperature (termometer) v šolskem laboratoriju.....	32
Slika 19: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja, 10. 1. 2022, v kopalnici, tip gojišča: DG18,	33
Slika 20: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja, 10. 1 .2022, v kopalnici, tip gojišča: DRBC,	33
Slika 21: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja, 10. 1. 2022, v dnevni soba, tip gojišča: DG18,.....	33
Slika 22: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja, 10. 1. 2022, v dnevni sobi, tip gojišča: DRBC,	33
Slika 23: Bris palčka in fiziološka raztopina,	34
Slika 24: Bris palčka po odvzetem brisu,.....	34
Slika 25: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi.....	35
Slika 26: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi	35
Slika 27: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	35
Slika 28: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	35
Slika 29: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi	35
Slika 30: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi	35
Slika 31: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	35
Slika 32: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	35
Slika 33: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi	36
Slika 34: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi	36
Slika 35: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	36
Slika 36: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici	36
Slika 37: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi	36
Slika 38: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi	36
Slika 39: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	36
Slika 40: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici	36
Slika 41: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi	36
Slika 42: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi	36
Slika 43: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici	36
Slika 44: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici	36
Slika 45: Gojišča DRBC, dan po enodnevni inkubaciji.....	37

Slika 46: Gojišča DG18, dan po enodnevni inkubaciji.....	37
Slika 47: Vsa izbrana gojišča v inkubaciji, v šolskem laboratoriju	38
Slika 48: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 49: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 50: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 51: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 52: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 53: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	39
Slika 54: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	39
Slika 55: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	39
Slika 56: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 57: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 58: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 59: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	39
Slika 60: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	40
Slika 61: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	40
Slika 62: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	40
Slika 63: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	40
Slika 64: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice,	40
Slika 65: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice,	40
Slika 66: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice,	40
Slika 67: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice,	40
Slika 68: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice,	40
Slika 69: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	41
Slika 70: 10. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	41
Slika 71: 10. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	41
Slika 72: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	41
Slika 73: 10. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	41
Slika 74: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 75: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 76: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 77: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 78: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 79: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	42
Slika 80: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	42
Slika 81: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zunanjega zraka	42
Slika 82: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 83: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 84: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 85: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	42
Slika 86: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zunanjega zraka.....	43
Slika 87: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	43
Slika 88: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	43
Slika 89: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	43
Slika 90: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	43
Slika 91: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice	43

Slika 92: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice.....	43
Slika 93: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice.....	43
Slika 94: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološke učilnice.....	43
Slika 95 : 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	44
Slika 96: 26. 1. 2022, DG18, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	44
Slika 97: 26. 1. 2022, MY50, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	44
Slika 98: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	44
Slika 99: 26. 1. 2022, DRBC, gojišče z vzorcem zraka iz biološkega kabineta	44
Slika 100: 26. 1. 2022, DG18, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo ..	45
Slika 101: 26. 1. 2022, DRBC, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo....	45
Slika 102: 26. 1. 2022, DG18, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo ..	45
Slika 103: 26. 1. 2022, DRBC, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo....	45
Slika 104: Hiša 1, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC	45
Slika 105: Hiša 1, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18.....	45
Slika 106: Hiša 1, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC	45
Slika 107: Hiša 1, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18	45
Slika 108: Hiša 1, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC	46
Slika 109: Hiša 1, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18	46
Slika 110: Hiša 1, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC	46
Slika 111: Hiša 1, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18	46
Slika 112: Hiša 2, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC	46
Slika 113: Hiša 2, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18.....	46
Slika 114: Hiša 2, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC	46
Slika 115: Hiša 2, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18	46
Slika 116: Hiša 2, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC	46
Slika 117: Hiša 2, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18	46
Slika 118: Hiša 2, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC	46
Slika 119: Hiša 2, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18	46
Slika 120: Hiša 3, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC	47
Slika 121: Hiša 3, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18.....	47
Slika 122: Hiša 3, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC	47
Slika 123: Hiša 3, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18	47
Slika 124: Hiša 3, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC	47
Slika 125: Hiša 3, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18	47
Slika 126: Hiša 3, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC	47
Slika 127: Hiša 3, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18	47
Slika 128: Hiša 4, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC	47
Slika 129: Hiša 4, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18.....	47
Slika 130: Hiša 4, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC	47
Slika 131: Hiša 4, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18	47
Slika 132: Hiša 4, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC	48
Slika 133: Hiša 4, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18	48
Slika 134: Hiša 4, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC	48
Slika 135: Hiša 4, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18	48
Slika 136: Hiša 5, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC	48
Slika 137: Hiša 5, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18.....	48

Slika 138: Hiša 5, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC	48
Slika 139: Hiša 5, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18	48
Slika 140: Hiša 5, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC	48
Slika 141: Hiša 5, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18	48
Slika 142: Hiša 5, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC	48
Slika 143: Hiša 5, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18	48
Slika 144: Primer identifikacije kolonij na gojišču.....	50
Slika 145: Plošča pod lupo stereo mikroskopa	50
Slika 146: Kamera za fotografiranje na stereo mikroskopu in slika na zaslonu računalnika .	51
Slika 147: Aspergillus niger skozi stereo mikroskop, pri 45x povečavi.....	51
Slika 148: Aspergillus niger skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi.....	51
Slika 149: Bež Aspergillus skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi.....	52
Slika 150: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop, pri 15x povečavi	52
Slika 151: Aspergillus niger skozi stereo mikroskop z eksudatom, pri 30x povečavi	52
Slika 152: Aspergillus sp. s spolno obliko skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi.....	53
Slika 153. Aspergillus sp., s spolno obliko skozi stereo mikroskop, pri 15x povečavi	53
Slika 154: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi	53
Slika 155: Aspergillus s spolnimi gojišči skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi.....	53
Slika 156: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop, pri 45x povečavi	54
Slika 157: Aspergillus sp., skozi stereo mikroskop, pri 12x povečavi	54
Slika 158: Cladosporium sp. skozi stereo mikroskop, pri 45x povečavi	54
Slika 159: Cladosporium sp. skozi stereo mikroskop, pri 35x povečavi	54
Slika 160: Penicillium sp. skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi	55
Slika 161: Penicillium sp. skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi	55
Slika 162: Alternaria sp. skozi stereo mikroskop, pri 45x povečavi	55
Slika 163: Phoma sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi.....	56
Slika 164: Epicoccum sp. skozi stereo mikroskop, pri 12x povečavi.....	56
Slika 165: Ochroconis sp. skozi stereo mikroskop, pri 10x povečavi	57
Slika 166: Ochroconis sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi	57
Slika 167: Sordaria sp. skozi stereo mikroskop,pri 20x povečavi	57
Slika 168: Rhizopus sp. skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi.....	58
Slika 169: Glive kvasovke skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi	58
Slika 170: Neznan preplet hif s številnimi konidiji skozi stereo mikroskopom, pri 35x povečavi	59
Slika 171: Neznana gliva, ki jo obkroža druga kolonija skozi stereo mikroskop, pri 10x povečavi	59
Slika 172: Aspergillus niger skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi.....	60
Slika 173: Konidiofora A. niger skozi mikroskop, pri 100x povečavi	60
Slika 174: Konidiji A. niger razporejeni v okroglo glavo skozi mikroskop, pri 400x povečavi	60
Slika 175: Bež Aspergillus skozi stereo mikroskopom, pri 30x povečavi	60
Slika 176: Konidiofora bež Aspergilla skozi mikroskopom, pri 200x povečavi	60
Slika 177: Konidiji razporejeni na vezikel bež Aspergilla skozi mikroskop, pri 400x povečavi	60
Slika 178: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop, pri 15x povečavi	61
Slika 179: Konidiofori zelenega Aspergilla skozi mikroskop, pri 200x povečavi	61

Slika 180: Konidiji razporejeni na vezikel zelenega Aspergilla skozi mikroskop, pri 400x povečavi	61
Slika 181: Penicillium sp. skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi	61
Slika 182: Čopiči in hife Penicillium sp. skozi mikroskop, pri 100x povečavi	61
Slika 183: Čopiči Penicillium sp. skozi mikroskop, pri 200x povečavi	61
Slika 184: Phoma sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi	62
Slika 185: Phoma sp. skozi mikroskop, pri 100x povečavi	62
Slika 186: Phoma sp. skozi mikroskop, pri 200x povečavi	62
Slika 187: Ochroconis sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi	62
Slika 188: Preplet hif Ochroconis sp. skozi mikroskop, pri 400x povečavi	62
Slika 189: Spora Ochroconis sp. skozi mikroskop, pri 400x povečavi	62
Slika 190: Odcepitev spor Ochroconis sp. skozi mikroskop, pri 1000x povečavi	63
Slika 191: Odcepitev spor Ochroconis sp. skozi mikroskop, pri 1000x povečavi	63
Slika 192: Sordaria sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi	63
Slika 193: Plodišče Sordaria. sp. skozi mikroskop, pri 100x povečavi	63
Slika 194: Plodišče Sordaria. sp. skozi mikroskop, pri 100x povečavi	63

Kazalo grafov

Graf 2: Število kolonij na ploščah glede na lokacijo vzorčenja in tipa plošče	65
Graf 1: Primerjava količine spor na lokacijo v $0,1\text{ m}^3$ vzorčenega zraka	66
Graf 3: Odstotek spor rodov gliv v zraku glede na m^3 zunaj vzorčenega zraka	67
Graf 4: Odstotek spor rodov gliv v zraku glede na m^3 vzorčenega zraka v notranjih prostorih	67
Graf 5: Primerjalni odstotek posameznih rodov gliv glede na vzorčeno površino	69
Graf 6: Primerjava odstotnega deleža naloženih posameznih spor na različnih vzorčnih lokacijah	70
Graf 7: Primerjava odstotnega deleža Aspergillus niger z Aspergillus sp. na polici v dnevni sobi po posameznih domovih	71

Kazalo tabel

Tabela 1: Značilnosti Alternaria sp	15
Tabela 2: Aspergillus sp	16
Tabela 3: Aspergillus sp	17
Tabela 4: Cladosporium sp	18
Tabela 5: Epicoccum sp	19
Tabela 6: Glice kvasovke	20
Tabela 7: Ochroconis sp	21
Tabela 8: Penicillium sp	22
Tabela 9: Phoma sp	22
Tabela 10: Rhizopus sp	23
Tabela 11: Sordaria sp	24
Tabela 12: Trichoderma sp	25
Tabela 13: Wallemia sp	26
Tabela 14: Sestavine gojišča DG18	29
Tabela 15: Sestavine gojišča DG18	29
Tabela 16: Sestavine gojišča DRBC	29
Tabela 17: Sestavine gojišča DRBC	30

Tabela 18: Sestavine gojišča MY50	30
Tabela 19: Opis vzorčenih prostorov v petih hišah	35
Tabela 20: Število kolonij na ploščo v zunaj vzorčenemu zraku.....	64
Tabela 21: Število kolonij na ploščo v vzorčenemu zraku v notranjih prostorih	64

1. Uvod

Rast plesni na stenskih površinah je za mnoge estetska motnja, ki jo še posebej starejši ljudje ignorirajo tako, da pustijo plesen za omaro, posteljo, umivalnikom,... In si zatisnejo oči, ko vidijo temen madež plesni v kleti. Plesni v domovih so že od nekdaj bile velik problem, saj so bile smrti zaradi pljučnih glivičnih obolenj ter vnetij zelo pogoste. Tudi danes se ljudje soočajo z alergijami, slabim imunskim sistemom in astmo, na katere lahko večja količina določenih spor vpliva v precejšnji meri. K raziskovanju spor v zraku me je posebej pritegnilo, ko sem na ulici slišala pogovor starejše gospe, ki je trdila, da v zimskem času, ko je zunaj, ne mora priti do zraka in jo nenehno nekaj duši v pljučih, doživlja glavobole in kašlja. Poleg tega, me glive in plesni zelo zanimajo, saj je nekaj, kar smo že vsi kdaj videli ali imamo nekje v domu. Zato sme se odločila, da bom raziskala spore gliv v zraku in plesni na površinah v notranjih prostorih, ter jih poskušala identificirati. Povezala sem se z Biotehniško fakulteto v Ljubljani z oddelkom za biologijo. Z raziskovalno nalogo želim ljudi seznaniti, kako močan mora biti imunski sistem zdravega človeka, da izniči majhne spore, ki pridejo v respiratorni sistem. Še posebej pri ljudeh, ki so prestali večjo operacijo, presaditev organa, kemoterapijo, ljudeh s nasploh slabim imunskim sistemom, alergeni in astmatiki, za katere so lahko prostori s toksično ali patogeno vrsto plesni vzrok za poslabšanje stanja ali celo usodni. Odgovore sem poiskala na podlagi zbiranja podatkov, vzorčenja, merjenja, preštevanja, identificiranja in urejanja podatkov.

Pri raziskovalni nalogi sem si postavila naslednje cilje:

- Ugotoviti vrednost spor v zraku.
- Ugotoviti, kolikšno količino spor vdihne človek čez dan.
- Ugotoviti rodove gliv, ki so okoli na, v zraku in na površinah naših domov.
- Ugotoviti, kateri rodovi gliv se pojavljajo najpogosteje in v največjih količinah.

Postavila sem tudi naslednje hipoteze:

Hipoteza 1: Več spor bo v notranjem zraku kot v zunanjem.

Hipoteza 2: V zraku, ki ga vdihavamo, je veliko vrst gliv, ki so nam lahko nevarne.

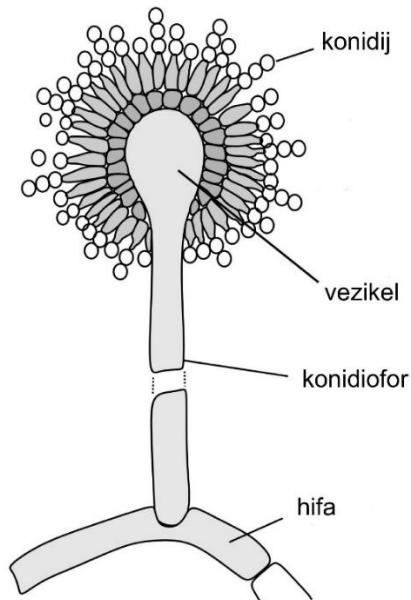
Hipoteza 3: Spore, ki so v zunanjem zraku, bodo prisotne tudi v notranjem zraku in posledično na različnih površinah.

Hipoteza 4: Vidna plesen na steni lahko vsebuje nevarne toksine.

2. Teoretični del

Splošno

Glive so heterotrofni organizmi, ki jih uvrščamo med evkarionte. Telo glive je organizirano v steljko, katera je zgrajena iz spletja hif, ki ga imenujemo micelij. Plesni se razmnožujejo nespolno s sporami, spore asko- in bazidomicet imenujemo knidiji (nespolna razmnoževalna struktura gliv), ki nastajajo na površini struktur – konidioforov (celotni sistem hife, na kateri se tvorijo konidiji). Konidiji lahko vsebujejo mikotoksine, ki jih proizvaja gliva. Mikotoksini gliv vsebujejo snovi, ki so lahko škodljive ali nevtralne za človeka. V razvojenem ciklu se pojavi menjava jedrnih faz. Poteče redukcijska delitev jeder oz. mejoza, pri kateri se tvorijo mejospore. Nespolno se razmnožujejo glive, za katere je spolno razmnoževanje energetsko prezahtevno. Njihove celice nastajajo brez menjave jeder. Trajno vegetativno razmnoževanje predstavljajo prepleti hif, imenovanih sklerociji (16).



Slika 1: zgradba askomicete

Prirejeno po Zalar, P. (2021) in Wikimedia.org

Plesni lahko najdemo skoraj vsepošod na svetu zaradi velikega razpona rodov in vrst, ki so prilagojeni na različne habitate, njihovo vsebnost hrani, vode, vlage. Glive za razmnoževanje producirajo velike količine spor, katere oddajajo v ozračje in jih živa bitja posledično vdihavamo. Nekatere plesni so parazitske, te dobivajo hraniila, tako da parazitirajo na živih organizmih. Večina jih je saprofitnih, kar pomeni, da se hranijo iz odmrlih delcev živali in rastlin (16).

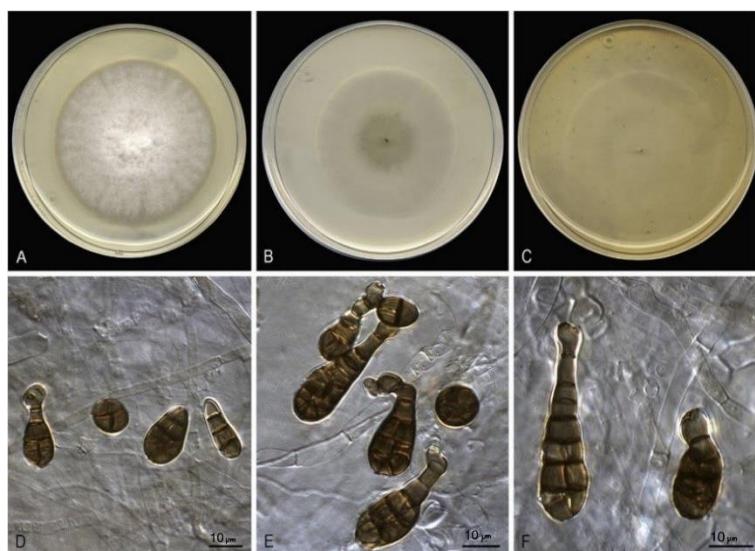
Da se plesen razvije na stenskih površinah, potrebujemo: relativno visoko vlogo v prostoru in optimalno temperaturo prostora, prav tako pa površino, na kateri uspešno raste plesen. Vsaka vrsta plesni ima različen optimum vlage, substrata in hrani. Da se plesen pojavi na našem

kruhu, sadju, stenah, so potrebne spore, ki potujejo po zraku. Te spore se prenesejo v naše prostore z odpiranjem oken, ali pa jih v ozračje oddaja že obstoječa plesen znotraj naših prostorov (16).

Rodovi gliv

Celotno število vrst gliv je nepoznano, ampak do sedaj je bilo opisanih okoli 100.000 vrst, od teh se 175 vrst gliv pogosto nahaja znotraj naših domov. Najbolj pogoste glive notranjih prostorih so glive rodov *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* in *Stachybotrys* (2).

Rod *Alternaria*



Slika 2: *Alternaria* sp.

Vir: Marin, Y. in sod.

So saprofiti, ki živijo na hrani in notranjih prostorih. Najpogostejsa je *Alternaria infectoria*, ki raste pri optimalni temperaturi 25 °C in je parazit žit ter lahko povzroča infekcijske okužbe pri živalih in ljudeh.

Tabela 1: Značilnosti *Alternaria* sp.

Povzeto po Zalar, P. (2021)

Barva:	črn, olivno-zelen, sivo-bel
Reverz:	črn
Konidiofori:	enostavnici ali podaljšani
Konidiji:	pogosto v verižicah, ovalne, elipsoidne oblike, zaobljeni
Habitati in prehrana:	saprofit in parazit rastlin

Optimalna temperatura:	25 °C
Mikotoksini in patogenost:	parazit žit, nekatere vrste lahko povzročajo infekcijske okužbe pri živalih in ljudeh

Rod *Aspergillus*

Aspergillus sp. obsega velik nabor vrst, spada med glavičaste plesni in je med najbolj pogostimi rodovi gliv, ki se nahajajo v naših prostorih. Najbolj pogoste vrste, ki so okoli nas so *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus westerdikiae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus tamarii* in *Aspergillus oryzae* (14).



Slika 3: *Aspergillus niger*

Vir: Varga, J. in sod.

Tabela 2: *Aspergillus* sp.

Prirejeno po Zalar, P. (2021)

Barva:	Glede na vrsto (črn, rumen, rumeno-zelen, zelen, bež, bel,...)
Reverz:	Kremno rumen, kremno rjav

Mikomorfologija:	Konidiofori – pokončni, v obliki nerazvejanega steba, na koncu zadebeljen vezikel Konidiji – enocelični, gladka stena, tvorijo stebričasto ali pahljačasto obliko nad oz. okoli vezikla (Polona Zalar, Mikrobnna raznolikost in...)
Habitati in prehrana:	Tla, razpadajoče rastline, kompost, skladiščeno žito, substrati z najnižjo vsebnostjo vode
Optimalna temperatura rasti:	25–37 °C
Mikotoksini in patogenost:	Aflatoksin; B1, B2, G1 in G2, črna plesen na sadju in zelenjavi

Najbolj pogost in škodljiv za ljudi je mikotoksin Aflatoksin B1, ki je karcinogen, hepatotoksičen in potencialno mutagen. Ob zaužitju je možnost nastanka pljučnega raka (ustni vir: P. Zalar). Za imunsko neoslabljene osebe se lahko spore določenih vrst aspergilov predstavljajo alergene in povzročajo alergično brohopulmonalno aspergilozu, lokalno okužbo sinusov, pljuč ali zunanjega sluhovoda. Pri imunsko oslabljenih pa hude okužbe pljuč npr. invazivno pljučno aspergilozu, ki se lahko razširi na druge organe in tkiva ter je vzrok visoke umrljivosti. S svojo patogenostjo lahko povzročijo mikotični sinusitis in otomikoze (mikoza oči). Najpogosteje povzročiteljice aspergiloze pri človeku so vrste : *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* (16).

Spodnja tabela prikazuje nekaj toksičnih in patogenih vrst aspergillov.

Tabela 3: Aspergillus sp.
Prirejeno po Samson, R. A. in sod (2010)

rod	<i>niger</i>	<i>fumigatus</i>	<i>flavus</i>
Barva	črn, črno-rjav, vijolično/črn	temno- zelena	rumeno-zelena
Reverz	kremno-rumeno, črno, temno rjavo	kremno-rumena, temno- zelena	kremno-rumeno, roza, rjav
Konidiofori	okrogla glava	pahljačasta glava	okrogla glava
Konidiji	naježeni	naježeni	naježeni
Patogenost	povzroča črno plesen zelenjave, človeški patogen	človeški patogen – povzroča kandidazio pljuč	plesen v semenih, oreščkih, arašidih, človeški patogen
Mikotoksini	fumonisins B2 in B4, ochratoxin A	gliotoxin, fumigaclavines, fumitremorgins	aflatoxin (le tipa B)

Rod *Cladosporium*

Grmičasta plesen, katere večina rodov je patogen rastlin in ga povežemo s plesnijo listov rastlin in pokvarjeno hrano pri nižjih temperaturah. Najpogostejsi vrsti sta *Cladosporium herbarium* in *Cladosporium cladosporioides*, nobena ne vsebuje mikotoksinov. *Cladosporium cladosporioides* je poznan kot človeški patogen na koži in nohtih (14).



Slika 4: *Cladosporium* sp.

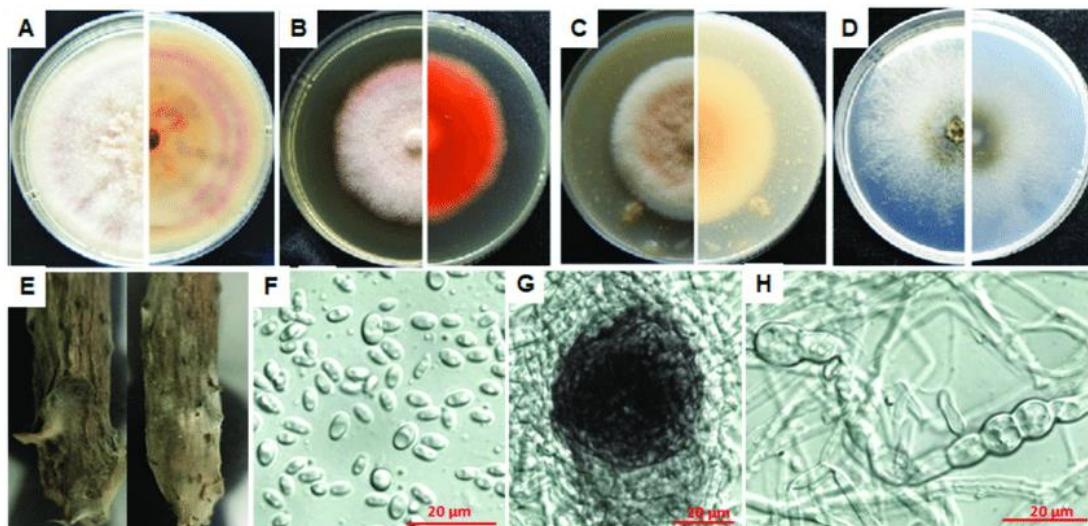
Vir: Sadoval, D. M. in sod.

Tabela 4: *Cladosporium* sp.

Prirejeno po Zalar, P. (2021)

Barva:	Olivno-zelen, črno-rjav
Reverz:	Črn
Mikromorfologija:	Konidiofori – pokončni, ravni ali ukrivljeni, nerazvejan ali s stranskimi vejami Konidiji – gladki, enocelični, elipsoidne ali lečaste oblike
Habitati in prehrana:	Saprofit starih ali odmrlih rastlin
Optimalna temperatura:	25 °C
Mikotoksini in patogenost:	Nekateri rodovi, možni človeški patogeni

Rod *Eppicum*



Slika 5: *Epicoccum nigrum*

Vir: Wenjun, L. in sod.

Tabela 5: *Epicoccum* sp.

Prirejeno po Samson, R. A. in sod (2010)

Barva:	rumen, rumeno-oranžen, rdeč
Reverz:	podoben barvi konidijev, bolj živo obarvan
Konidiofori:	ravni, šopasti
Konidiji:	okrogli, gladki
Habitati in prehrana:	hrana, saprofit odmrlih rastlin, substratov, semen, papirja in tekstilnih izdelkov
Optimalna temperatura:	23–28 °C
Mikotoksini in patogenost:	/

Rod kvasovk

Glice kvasovke, so človeku najbolj poznani rodovi gliv, saj jih porabljamo pri alkoholnem vrenju, pridelavi mlečnih izdelkov, vzhajanjtu testa... So enocelične glice, ki tvorijo mase posameznih celic v gladke okrogle kolonije. Uspevajo v vodnih habitatih, naseljujejo površine rastlin, sadežev in jih najdemo v zraku (16).



Slika 6: Glive kvasovke

Vir: Arevalo, D. C. in sod.

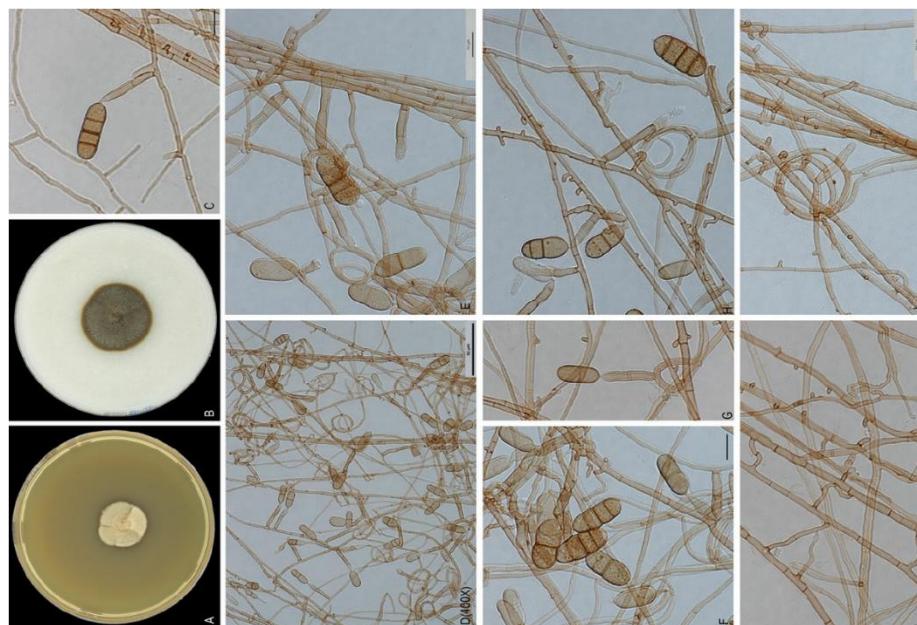
Tabela 6: Glive kvasovke

Prirejeno po Samson, R. A. in sod (2010)

Barva:	bela, bež (prevzamejo barvo gojišča)
Reverz:	podoben barvi kolonij na površini
Kolonije:	nizke, gladke, ravni ali nepravilni robovi
Habitati in prehrana:	glukoza
Optimalna temperatura rasti:	25 °C
Mikotoksini in patogenost:	/

Rod *Ochroconis*

Ochroconis sp. pogosto najden v kopalnicah, se pri tuširanju nalaga pod nohte, med prste in nekatere dele kože (4)



Slika 7: *Ochroconis* sp.

Vir: Samerpitak, K. E. in sod.

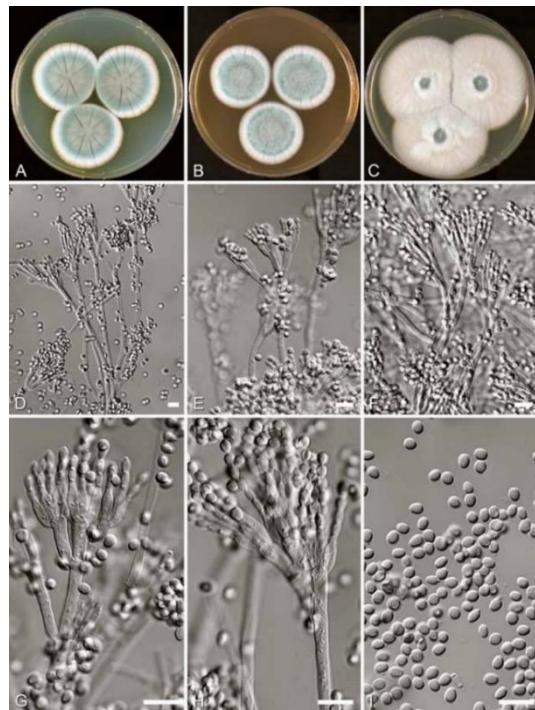
Tabela 7: *Ochroconis* sp.

Povzeto po Giraldo, A. (2014)

Barva:	rjav
Reverz:	črno-rjav
Konidiofori:	dolgi, razvejani
Konidiji:	okrogli, elipsoidni, rastejo na konidioforih, od katerih se odcepijo
Habitati in prehrana:	saprofit
Optimalna temperatura:	15–30 °C
Mikotoksini in patogenost:	patogen na človeških nohtih, koži in prstih,

Rod *Penicillium*

Čopičasta plesen rodu *Penicillium* obsega zelo obsežno število vrst gliv, katere povezujemo s plesnijo na citrusih.



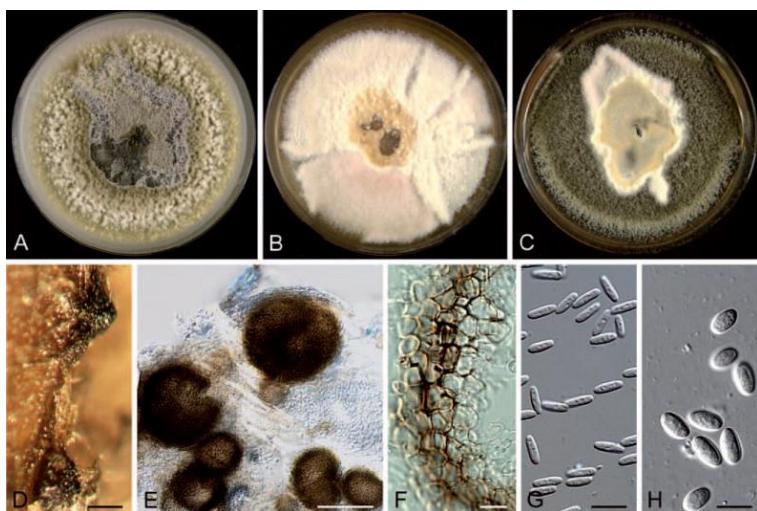
Slika 8: *Penicillium* sp.

Vir: Houbraken, J. in sod.

Tabela 8: *Penicillium sp.*
Prirejeno po Samson, R. A. in sod (2010)

Barva:	zelen, bel, turkizen
Reverz:	rjav
Konidiofori:	samostojni ali v skupini
Konidiji:	gladki, čopičasti
Habitati in prehrana:	citrusi, sadje
Optimalna temperatura:	25 °C
Mikotoksini in patogenost:	nefrotoksin, ohratoksin

Rod *Phoma*



Slika 9: *Phoma sp.*
Vir: Aveskamp, M. M. in sod.

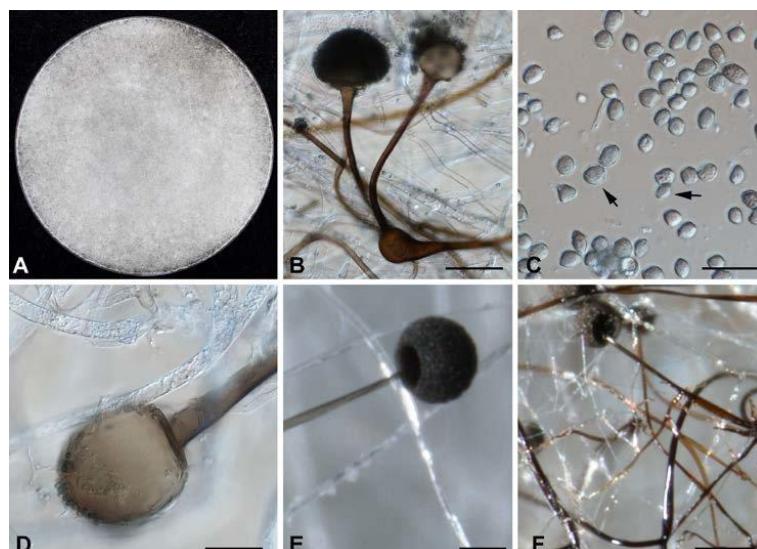
Tabela 9: *Phoma sp.*
Prirejeno po Zalar, P. (2021)

Barva:	bela, v coni sporulacije črna
Reverz:	rjav, siv
Konidiji:	elipsonalni, kroglasti, podolgovati, hruškasti, gladki

Habitati in prehrana:	hrana, rastline, odmrli organizmi, maslo, riž, stenska barva, papir, volna najpogosteje najdemo v kopalnicah in ceveh
Optimalna temperatura:	20–22 °C
Mikotoksini in patogenost:	/

Rod *Rhizopus*

Rhizopus, bolj znan kot krušna plesen, spada med zigomicete. Kar pomeni, da ima od micelija le septiran organ septo in ne tvori konidiofor ter konidijev (16).



Slika 10: *Rhizopus* sp.

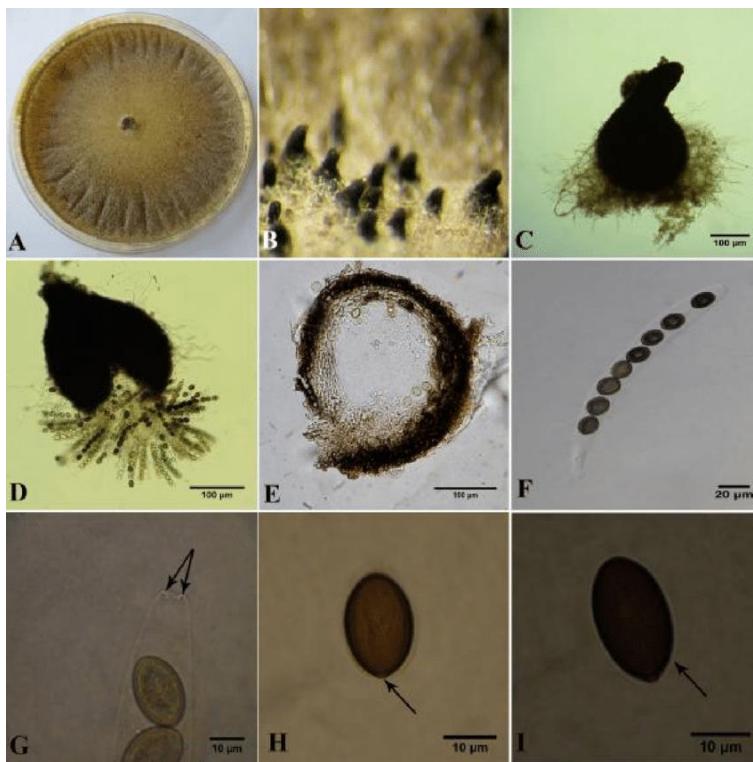
Vir: Dolatabadi, S. in sod.

Tabela 10: *Rhizopus* sp.

Prirejeno po Samson, R. A. in sod (2010)

Barva:	bela, siva
Reverz:	bel
Habitati in prehrana:	saprofit žit, sadja, zelenjave, komposta
Optimalna temperatura:	25 °C
Mikotoksini in patogenost:	gnitje hrane, mukormikoza pri človeku

Rod *Sordaria*

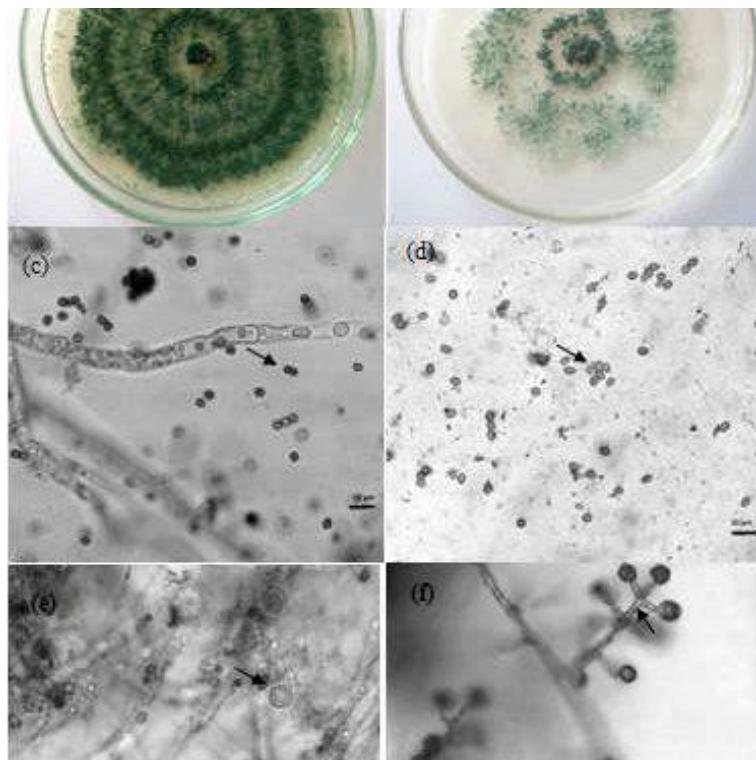


Slika 11: *Sordaria* sp.,
Vir: Hashemlou, E. in sod.

Tabela 11: *Sordaria* sp.
Prirejeno po Ivanova, H. (2015)

Barva:	bela z črnimi bunkicami
Reverz:	siv
Konidiji:	tvori jih po 8, v bučkastih vazah
Habitati in prehrana:	različni substrati, les, iztrebki
Optimalna temperatura rasti:	25–30 °C
Mikotoksini in patogenost:	/

Rod *Trechoderma*



Slika 12: *Trichoderma* sp.

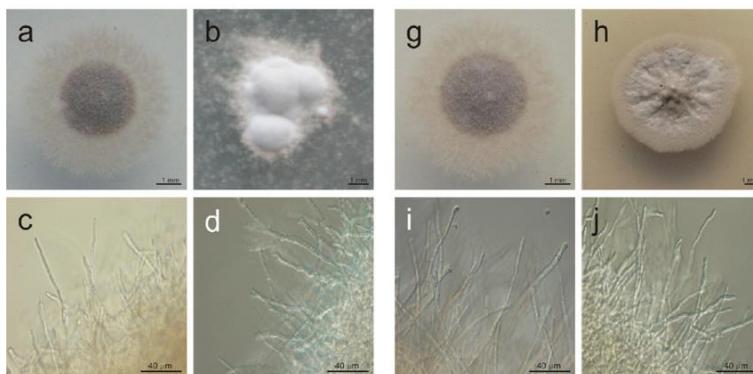
Vir: Dwiajstuti, M. E. in sod.

Tabela 12: *Trichoderma* sp.

Priredjeno po Zalar, P. (2021)

Barva:	odtenki zelene
Reverz:	rumeno-zelen
Konidiofori:	v snopih
Konidiji:	okrogli, gladki
Habitati in prehrana:	razpadajoč les, lesni materiali, kosmiči, oreški, sadje in tekstil.
Optimalna temperatura rasti:	25–37 °C
Mikotoksini in patogenost:	nekatere vrste so za človeka lahko alergene in patogene

Rod *Wallemia*



Slika 13: *Wallemia* sp.

Vir: Kunčič, M. K. in sod.

Tabela 13: *Wallemia* sp.

Prirejeno po Zalar, P. (2021)

Barva:	cimetno-rjav
Reverz:	svetlo rjav
Konidiofori:	valjasti
Konidiji:	nanizani po 4, valjasti
Habitati in prehrana:	notranji prostori kjer ni veliko vode, kruh, slanina, slani oreški, sadje, zelenjava, različni substrati, v zraku ga najdemo v velikih količinah
Optimalna temperatura rasti:	23–25 °C
Mikotoksini in patogenost:	lahko povzroča infekcije pri ljudeh, povzročitelj ekstrinzični alergijski alveolitis (14)

Vpliv spor na človeka

Odrasel moški s težo 78kg dnevno vdihne 15,2 m³ zraka, medtem ko odrasla ženska s 65 kg vdihne 11 m³ zraka (7), kar čez cel dan predstavlja veliko količino spor, ki ji človek vdihne skupaj z zrakom. V preteklosti so se ljudje zavedali plesni, ampak so na njo gledali, kot „nekaj”, kar nastane, ko je kruh prestar ali se kar pojavi na steni vlažne sobe. Ker pa za tiste čase ljudje niso gledali na estetiko doma, so bile bolezni na pljučih veliko bolj pogoste, kar lahko potrdi tudi večina starih staršev. V današnjih časih se bolj trudimo preprečiti rast plesni, že zaradi videza prostorov, zato je tudi močno upadlo število pljučnih obolenj, so pa zaradi njih še vedno prizadeti ljudje z alergijami, s slabim imunskim sistemom in zdravi posamezniki, ki vdihnejo večjo količino spor toksičnih ali patogenih gliv (10).

V raziskavi so intervjuvali ljudi, ki so bivali v plesnivih in posledično vlažnih prostorih in suhih prostorih brez plesni. Pokazale so se neverjetne razlike med uporabniki obeh vrst

prostorov. Osebe, ki so se nahajale v plesnivih prostorih so navajale utrujenost, kašelj, imele težave s kožo, zamašenim nosom, diarejo,...(10). Največ zdravstvenih težav so imeli uporabniki plesnivih prostorov z visoko vsebnostjo spor. Najmanj tovrstnih simptomov pa so opazili pri uporabnikih suhih prostorov. Podoben vzorec so našli pri otrocih, ki so na spore bolj občutljivi kot odrasli. Navajali so težave z dihalnim sistemom, vključno z glavoboli, razdraženimi očmi in nosom, vnetjem sinusov, kašljem, simptomi podobnimi prehladu (1).

Študija iz leta 2000 kaže, da se število ljudi potrebnih zdravstvene pomoči zaradi astme, poviola še posebej na dneve, ko so koncentracije spor plesni še posebej visoke (še posebej zimski meseci) (12). Že v zgodnejših rezultatih raziskave, ki je trajala med letoma 1985–1989, je dokazala, da je na dneve, ko je smrt zaradi astme visoka, tudi količina spor v ozračju ekstremno visoka in presega 1000 spor/m³ (15) .

3. Metode dela

Zunanji zrak sem vzorčila 10. 1. 2022. vzorčenje sem opravila pred Gimnazijo Franca Miklošiča Ljutomer. Istega dne sem vzorčila tudi zrak v dveh notranjih šolskih prostorih: v biološki učilnici in v biološkem kabinetu. Nato sem izvedla še površinsko vzorčenje notranjih vizualno čistih in nečistih površin. Notranje prostore sem vzorčila po vodoravnih površinah, kjer se spore posedajo s prahom ter po stenah, kjer se običajno nabira plesen.

Material in oprema

Pri vzorčenju:

- aparat za filtracijo zraka,
- kompleksna gojišča (DRBC+Ch, DG18+Ch, MY50G+Ch),
- parafilim za oblepljanje plošč,
- bris palčke,
- epice s fiziološko raztopino.

Pri analizi:

- stereo mikroskop (olympus),
- mikroskop (olympus),
- mikroskopski nastavek za fotografiranje (olympus),
- rokavice,
- halja,
- pinceta,
- inverzno olje,
- mikroskopski nastavek za fotografiranje,
- urno steklo,
- mikrobiološka zaščitna komora.

Gojišča

Glive se z micelijem naselijo na površino gojišča, ki vsebujejo različne substrate in iz njih črpajo hranila. Glukoza (deokstroza) je osnovni vir ogljika, vsebuje tudi sladni ekstrakt za sladkor. Kvasni ekstrakt zagotavlja vitamine B kompleksa in vsebuje pomembne aminokisline nujne za rast gliv. Pepton (vodna mešanica polipeptidov in aminokislin, ki nastane z delno hidrolizo beljakovin iz mleka, živalskih tkiv in rastlin), dodajamo kot vir dušika, vitaminov in mineralov.

V tabelah 14–18 so sestavine za pripravo navadnih agarnih gojišč. Če bi uporabila navadna gojišča, bi se na njih poleg gliv razvijale še bakterijske kolonije, ki so v moji raziskovalni nalogi nezaželene, te bi zaradi hitrejše rasti lahko prerasle kolonije gliv in lahko vplivale na rezultate. Gojiščem smo zato dodali antibiotik kloramfenikol.

Gojišča so pripravili na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, oddelek za biologijo.

DG18 - Dikloran glicerolni agar

Proizvajalec: Oxoid, Anglija

Vodna aktivnost: aw=0,955

Tabela 14: Sestavine gojišča DG18

(vir: Biotehniška fakulteta, 2022)

Pripravljena mešanica DG18:	30 g
Glicerol:	220 g
Destilirana voda:	1000 ml

Mešanica DG18 (prašek) vsebuje:

Tabela 15: Sestavine gojišča DG18

(vir: Biotehniška fakulteta, 2022)

Formula*	g/L
Pepton:	5.0
Glukoza:	10.0
KH ₂ PO ₄ :	1.0
MgSO ₄ :	0.5
Dikhloran:	0.002
Agar:	15.0
Kloramfenikol:	50 mg/L
pH 5.6 ± 0.2 pri 25 °C	

DRBC: Agar z dikloranom, bengal rožnatim in kloramfenikolom

Proizvajalec: Merck, Nemčija

Vodna aktivnost: aw=0,997

Tabela 16: Sestavine gojišča DRBC

(vir: Biotehniška fakulteta, 2022)

Pripravljena mešanica DRBC:	15,5 g
Destilirana voda:	500 mL

Mešanica DRBC (prašek) vsebuje:

Tabela 17: Sestavine gojišča DRBC
(vir: Biotehniška fakulteta, 2022)

Z encimi razgrajena živalska in rastlinska tkiva	5 g/l
glukoza:	10 g/l
KH ₂ PO ₄ :	1 g/l
MgSO ₄ :	0.5 g/l
Dikloran:	0.002 g/l
bengal rožnato:	0.025 g/l
kloramfenikol:	0.150 g/l
agar:	15 g/l

MY50G: Agar s sladnim in kvasnim ekstraktom s 50 % glukoze

Vodna aktivnost: $a_w=0,89$

Proizvajalec: Biotehniška fakulteta v Ljubljani, oddelek za biologijo

Tabela 18: Sestavine gojišča MY50
(vir: Biotehniška fakulteta, 2022)

Glukoza	500 g
Sladni ekstrakt (Difco)	10 g
Kvasni ekstrakt (Oxoid)	2,5 g
Agar (Merck)	10 g
Destilirana voda	do 500 ml
kloramfenikol	50 mg/L
pH = 5,3	

Vzorčenje

Kvantitativna metoda:

Za kvantitativno metodo je potrebna posebna naprava za vzorčenje zraka (proizvajalec: Sas), s katero zelo zanesljivo preverimo spore v ozračju, katerih vsebnost je odvisna od dogajanja v prostoru (npr. zračenje, gibanje po prostoru, kuhanje ...).



Slika 14: Naprava za filtriranje zraka,
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 15: Nadevanje sterilne plošče na napravo za
filtracijo zraka
Vir: Baler, K. (2022)

Zrak iz različnih prostorov sem prefiltrirala na šestindvajset plošč tipov, DG18+Ch, MY50G+Ch in DRBC+Ch.

Zanimalo me je koliko in kakšne spore gliv najdemo v zraku zunaj, saj z njim zračimo naše prostore in se ob zračenju pomeša z zrakom ter sporami v notranjih prostorih. V zimskih časih je število spor v ozračju še posebej visoko zaradi vlage. Na trinajst plošč vseh treh tipov (štiri plošče gojišča DG18+Ch, tri gojišča MY50G+Ch in pet gojišča DGBC+Ch) sem 10. 1. 2022 prefiltrirala 100 l zunanjega zraka v Ljutomeru pred Gimnazijo Franca Miklošiča Ljutomer. Nato sem prav tako filtrirala 100 l zraka na ploščo v biološki šolski učilnici (tri krat DG18+Ch, dva krat MY50G+Ch in štiri krat DRBC+Ch). Potem pa še 100 l zraka v biološkem kabinetu (dva krat DG18+Ch, en krat MY50G+Ch, dva krat DRBC+Ch).

Filtrirala sem 100 l zraka s pomočjo aparata za filtracijo, ki se prižge in nastavi na filtracijo 100 l zraka. Na aparat sem namestila odprto gojišče, nanj sem nastavila sterilno ploščo s 217 luknjami ter na ekranu pritisnila start. Gojišče sem nato zavarovala s parafilimom za oblepljanje plošč, ga dala v vrečko z drugimi in postavila na stalno temperaturo 25 °C.

Moja prvotna želja je bila vzorčiti po domovih, ker pa je aparat izposojen in sem ga lahko uporabljala le pod vodstvom, to ni bilo izvedljivo izven šolske ustanove.



Slika 16: Gojišča z odvzetimi vzorci zunanjega zraka po končanem vzorčenju
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 17: Gojišča v z odvzetimi vzorci zraka biološke učilnice in biološkim kabinetom po končanem vzorčenju
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 18: Prikaz aparatur za merjenja tlaka (barometer), vlage (higrometer) in temperature (termometer) v šolskem laboratoriju
Vir: Baler, K. (2022)

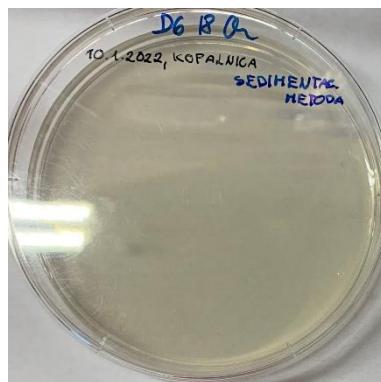
Sedimentacijska metoda

Sedimentacijska metoda je metoda vzorčenja, pri kateri pustimo odprto gojišče mirovati določen čas. S tem delcem v zraku omogočimo, da se posedejo na odprto gojišče, zato je tudi manj zanesljiva. Na njo vpliva veliko več dejavnikov, ki lahko pokažejo različne končne rezultate (npr. prepih, gibanje po prostoru, kuhanje ...), ti dejavniki vplivajo na posedanje

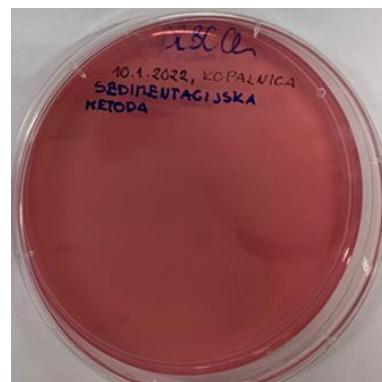
prašnih delcev na gojišče veliko bolj kot pri kvantitativni metodi, kjer aparat sam filtrira zrak in vse delce na ploščo.

Gojišče sem pustila odprto eno uro v prostoru dnevne sobe in kopalnice, nato sem ga zaprla in zavarovala s parafilimom za oblepjanje plošč. Ploščo sem položila k drugim ploščam v vrečko in pustila inkubirati na stalni temperaturi 25 °C.

S sedimentacijsko metodo sem vzorčila le dva prostora, zaradi manjše zanesljivosti te metode. S to metodo sem hotela tudi preveriti njeno zanesljivost in videti kako zelo se bodo rezultati razlikovali od kvalitativne in površinske metode vzorčenja. Dve plošči (ena tipa DG18+Ch in druga tipa DRBC+Ch) sem pustila za eno uro odprto v dnevni sobi, dve plošči teh tipov pa v kopalnici.



Slika 19: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja,
10. 1. 2022, v kopalnici, tip
gojišča: DG18,
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 20: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja,
10. 1 .2022, v kopalnici, tip
gojišča: DRBC,
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 21: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja,
10. 1. 2022, v dnevni sobi, tip
gojišča: DG18,
Vir: Baler, K. (2022)

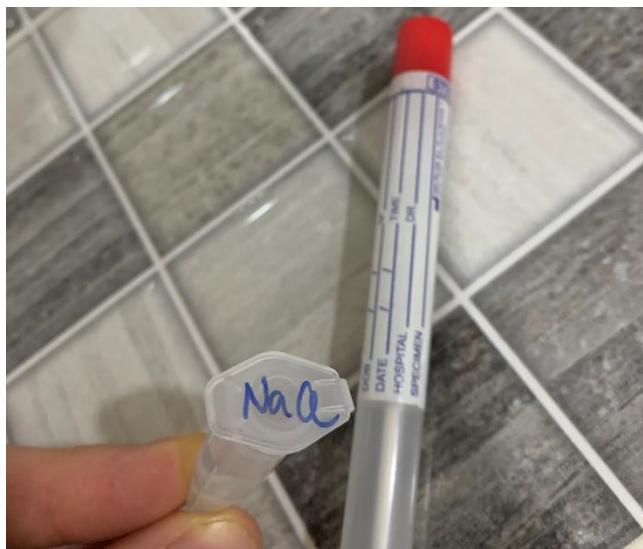


Slika 22: Gojišče po vzorčenju s sedimentacijsko metodo vzorčenja,
10. 1. 2022, v dnevni sobi, tip
gojišča: DRBC,
Vir: Baler, K. (2022)

Površinsko vzorčenje

Površinsko vzorčenje nam da boljši vpogled v rodove in vrste gliv, ki se nahajajo na površinah. Ta tip vzorčenja sem izvedla v kopalnici in dnevni sobi, da sem lahko pozneje določila katere glive so se nahajale na površinah naših domov. Prav tako sem pozneje lahko iz navedenih vzorcev proučila, katere so bolj prilagojene na vlažna in katere na bolj sušna okolja.

Vzorčila sem v petih domovih in odvzete vzorce nanesla na štirideset plošč (20-krat DG18+Ch in 20-krat DRBC+Ch). Za posamezno hišo sem porabila osem plošč. V posamezni hiši sem vzorčila dve sobi, in sicer kopalnico, dnevno sobo, ki vključuje kuhinjo in jedilnico. Za vsak prostor sem porabila štiri plošče. Prostote v hiši sem izbirala glede na različno zračno sestavo. V kopalnici je praviloma prisotno veliko več vlage, kot v dnevni sobi. Vzorce sem jemala le v predelu dnevne sobe, ki je na drugi strani prostora, kot kuhinjski predel. Dnevno sobo sem izbrala zato, ker se povprečen človek večino dneva zadržuje v njej. Za vsak izbrani prostor v določeni hiši sem si zapisala dimenzije prostora, kdaj je bil prostor nazadnje prepleškan in ali je na površini polic, sten in fug vidna umazanija ali sledovi plesni. Za vzorčenje sem izbrala prostore, ki so si bili podobni po dimenzijah.



Slika 23: Bris palčka in fiziološka raztopina,

Vir: Baler, K. (2022)



Slika 24: Bris palčka po odvzetem brisu,

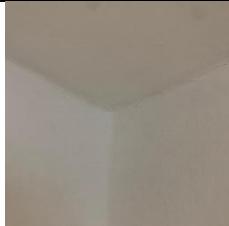
Vir: Baler, K. (2022)

V dnevni sobi sem odvzela dva vzorca, in sicer iz zadnje strani visoke knjižne police (slike: 25, 29, 33, 37, 41), saj je to bil primer vodoravne površine, ki jo malokrat pobrišemo in na kateri se nabira največ prahu (tudi spore gliv). Drug vzorec sem odvzela iz stenske površine zidu. Izbrala sem zgornji kot stene, na katerem je po navadi vidna plesen (slike: 26, 30, 34, 38, 42). Tudi v kopalnici sem prav tako vzorec iz zgornjega kota stene (slike: 28, 32, 36, 40, 44). Drugi vzorec pa sem odvzela s površine fug v tuš kabini za tuširanje (slike: 27, 31, 35, 39, 43).

Tabela 19: Opis vzorčenih prostorov v petih hišah

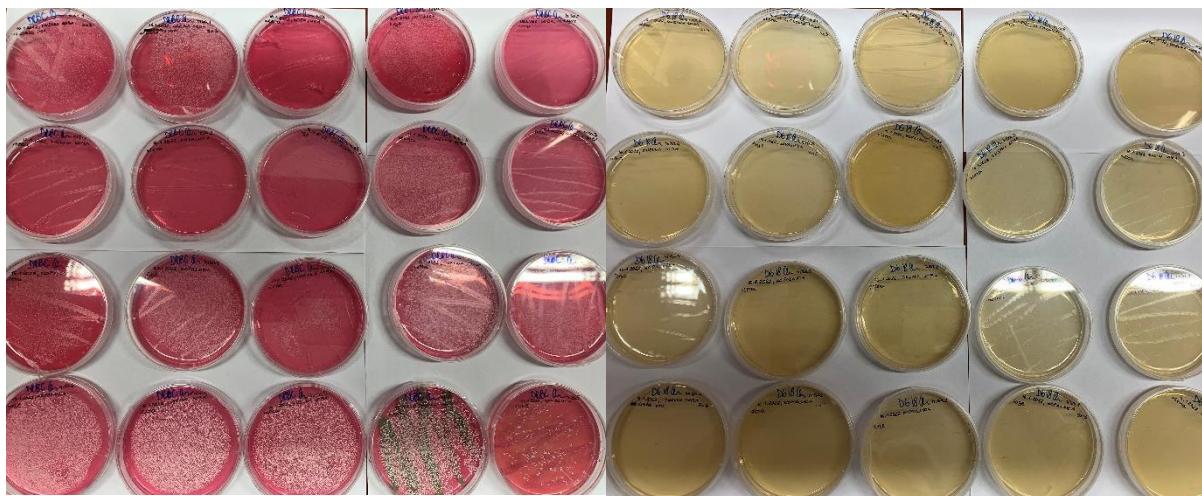
(vir: Baler, 2022)

Označba in značilnosti posamezne hiše	Dnevna soba + kuhinja in jedilnica		kopalnica	
	polica	kot stene	fuge	kot stene
Hiša 1				
	<i>Slika 25: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 26: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 27: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 28: Hiša 1, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>
Vidno:	prah	plesen	plesen	čisto
Dimenzije prostora:	18 m ²		6 m ²	
Čas zadnjega prepleskanja (leto)	leta 2013		leta 2013	
Hiša 2				
	<i>Slika 29: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 30: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 31: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 32: Hiša 2, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>
Vidno:	prah	čisto	plesen	malo plesni
Dimenzije prostora (m²):	18 m ²		4 m ²	
Čas zadnjega prepleskanja (leto)	leta 2020		leta 2020	

Hiša 3				
	<i>Slika 33: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 34: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 35: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 36: Hiša 3, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>
Vidno:	prah	čisto	majhna plesen	čisto
Dimenzijs prostora:	48 m ²		12 m ²	
Čas zadnjega pleskanja:	leta 2016		leta 2016	
Hiša 4				
	<i>Slika 37: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 38: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 39: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 40: Hiša 4, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>
Vidno:	Prah	plesen	plesen	čisto
Dimenzijs prostora:	45 m ²		8 m ²	
Čas zadnjega pleskanja:	leta 2015		leta 2019	
Hiša 5				
	<i>Slika 41: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, polica v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 42: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, stena v dnevni sobi Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 43: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, fuge v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>	<i>Slika 44: Hiša 5, lokacija odvzema vzorca, stena v kopalnici Vir: Baler, K. (2022)</i>
Vidno:	čisto	čisto	plesen	plesen

Dimenzijs prostora:	40 m ²	20 m ²
Čas zadnjega pleskanja:	leta 2016	leta 2021

Pri vzorčenju sem najprej sterilno palčko namočila v fiziološko raztopino in jo „odcedila“ od roba posodice s fiziološko raztopino. Z eno sterilno palčko sem pobrisala približno 3x3cm površine, en bris z bris palčko zadostuje za oba tipa plošč. Odvzet bris iz ene palčke sem s „cik-cak“ gibi nanašala na gojilne plošče, najprej sem vedno nanašala na rdeče (DRBC+Ch), nato pa na rumene (D618+Ch) plošče. Gojišča sem zaprla in jih oblepila s parafilimom za oblepljanje plošč. Vsako ploščo sem jasno označila, kot je npr. prikazano na sliki 45. Nato sem vsa tako pripravljena gojišča položila v prozorno plastično vrečko in jih inkubirala na 25 °C v šolskem laboratoriju.



Slika 45: Gojišča DRBC, dan po enodnevni inkubaciji

Vir: Baler, K. (2022)

Slika 46: Gojišča DG18, dan po enodnevni inkubaciji

Vir: Baler, K. (2022)

4. Analiza

Analiza inkubacije

Plošče vzorčenega zraka sem opazovala in fotografirala štiriindvajset dni, sleherni dan. Plošče pripravljene s površinskim vzorčenjem pa osem dni.

Na sliki 47 so plošče vseh tipov in metod vzorčenja v inkubaciji v šolskem laboratoriju.



Slika 47: Vsa izbrana gojišča v inkubaciji, v šolskem laboratoriju

Vir: Baler, K. (2022)

Rezultati plošč vzorčenega zraka

Rezultati osmega dne inkubacije plošč z vzorci prefiltriranega zunanjega zraka

Na slikah 48–99 so prikazana vsa gojišča vzorčenega zraka. Največja začetna rast je na ploščah zunaj vzorčenega zraka (slike 40–60) in sicer na ploščah tipa DG18 (slike 48–55).

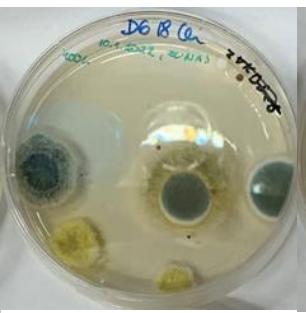
Vzorčen zrak zunaj:



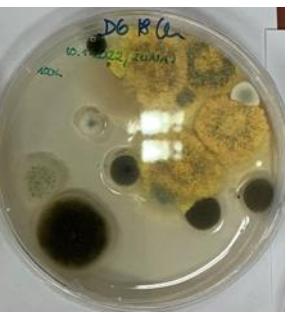
Slika 48: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 49: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 50: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 51: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 52: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 53: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 54: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 55: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 56: 10. 1. 2022, DRBC,
gojišče z vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 57: 10. 1. 2022,
DRBC, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 58: 10. 1. 2022,
DRBC, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 59: 10. 1. 2022,
DRBC, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka
Vir: Baler, K. (2022)

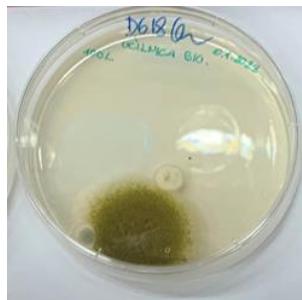


Slika 60: 10. 1. 2022,

DRBC, gojišče z
vzorcem zunanjega
zraka

Vir: Baler, K. (2022)

Na slikah (61–68) so gojišča odvzetih vzorcev iz notranjega zraka biološke učilnice. Vidimo lahko manjšo začetno rast kolonij primerjalno z zunanjim zrakom.



Slika 61: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 62: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 63: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 64: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke
učilnice,
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 65: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke
učilnice,
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 66: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke
učilnice,
Vir: Baler, K. (2022)

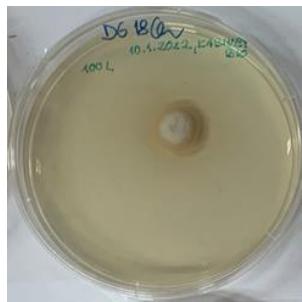


Slika 67: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke
učilnice,
Vir: Baler, K. (2022)

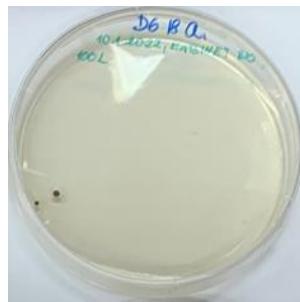


Slika 68: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke
učilnice,
Vir: Baler, K. (2022)

Na slikah (69–73) so gojišča z vzorci zraka vzorčenega v šolskem biološkem kabinetu. Vidimo, da je v primerjavi z zrakom vzorčenim v biološki učilnici podobna začetna rast kolonij.



Slika 69: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 70: 10. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 71: 10. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 72: 10. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 73: 10. 1. 2022, DRBC,
gojišče z vzorcem zraka iz
biološkega kabineta
Vir: Baler, K. (2022)

Štiriindvajseti (24) dan inkubacije po odvzetju vzorcev zraka

Na slikah so vsa gojišča vzorčenega zraka štiriindvajsetega dne inkubacije (slike 74–99). Še vedno je največja rast kolonij v zunaj vzorčenem zraku.

Slike od 74 do 86 prikazujejo kolonije zunaj vzorčenega zraka, na katerih je največja rast na ploščah tipa DG18 (slike 74–78). Najmanjša pa na gojiščih tipa DRBC (slike 82–86).



Slika 74: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 75: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 76: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 77: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



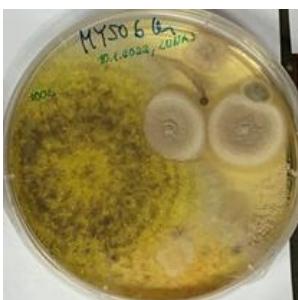
Slika 78: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 79: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 80: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 81: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z
vzorcem zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 82: 26. 1. 2022,
DRBC gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022),



Slika 83: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 84: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 85: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 86: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zunanjega zraka
Vir: Baler, K. (2022)

Na slikah so gojišča, katerih vzorci so bili odvzeti iz zraka biološke učilnice (slike 87–94). Na gojiščih je vidna manjša rast kolonij kot na gojiščih zunaj vzorčenega zraka.



Slika 87: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 88: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



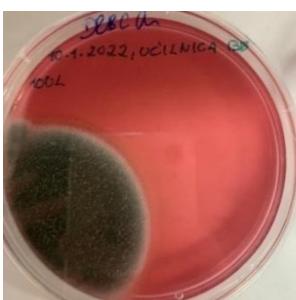
Slika 89: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 90: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 91: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 92: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 93: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 94: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološke učilnice
Vir: Baler, K. (2022)

Na spodnjih slikah so gojišča, katerih vzorci so bili odvzeti iz zraka biološkega kabineta (slike 95–99). Vidna je manjša rast kolonij kot na gojiščih vzorčenega zraka biološke učilnice. Na vseh tipih plošč je približno ista rast kolonij.



Slika 95: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



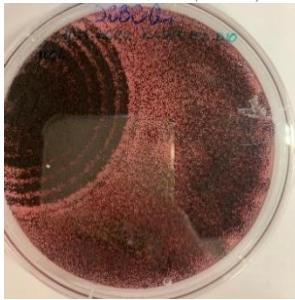
Slika 96: 26. 1. 2022,
DG18, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 97: 26. 1. 2022,
MY50, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 98: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)



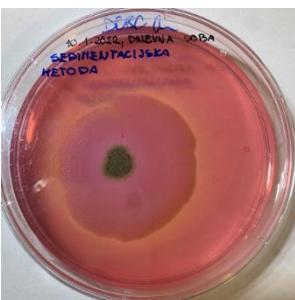
Slika 99: 26. 1. 2022,
DRBC, gojišče z vzorcem
zraka iz biološkega
kabineta
Vir: Baler, K. (2022)

Rezultati plošč vzorčenih s sedimentacijsko metodo vzorčenja po štiriindvajsetih (24) dneh inkubacije

Na spodnjih slikah (100–103) so prikazane plošče vzorčene s sedimentacijsko metodo vzorčenja.



Slika 100: 26. 1. 2022, DG18, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 101: 26. 1. 2022, DRBC, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo.
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 102: 26. 1. 2022, DG18, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo
Vir: Baler, K. (2022)



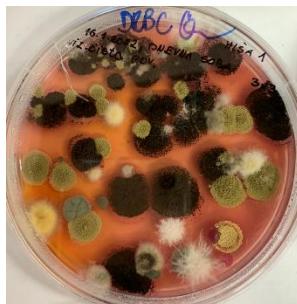
Slika 103: 26. 1. 2022, DRBC, vzorec odvzet iz dnevne sobe s sedimentacijsko metodo
Vir: Baler, K. (2022)

Kljub nezanesljivosti te metode, se je na ploščah nabralo podobno spor kot pri vzorčenju z aparatom za vzorčenje zraka. Vendar pri tem ne vemo natančno kolikšna količina zraka ali delcev je šla čez ploščo, zato s to metodo nisem več nadaljevala.

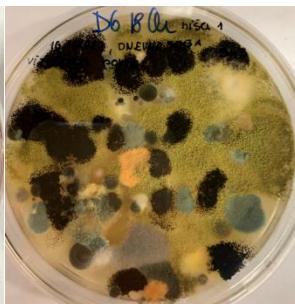
Rezultati plošč s površinsko metodo vzorčenja

Rezultati osmega dneva inkubacije površinsko vzorčenih plošč

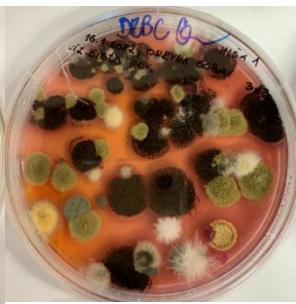
Na spodnjih slikah (104–111) so plošče, katerih vzorci so bili odvzeti v **prvi hiši** vzorčenja. V dnevni sobi (slike 104–107) so prisotne spore istih kolonij, kar lahko razberemo po barvi. Plošče na slikah 108 in 109 so bile odvzete iz površine fug, kjer je bila vidna plesen, zato je lepo razvidna rast glive po celi liniji nanosa, ki pa hitreje rastejo na plošči tipa DRBC, saj so bolj prilagojene na vlago.



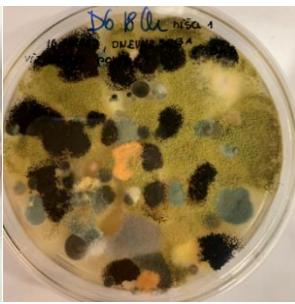
Slika 104: Hiša 1, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



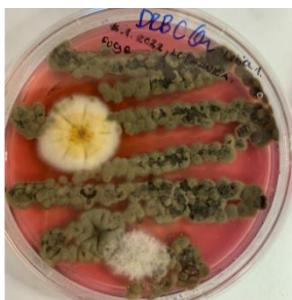
Slika 105: Hiša 1, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 106: Hiša 1, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 107: Hiša 1, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 108 Hiša 1, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 109: Hiša 1, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 110 Hiša 1, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)

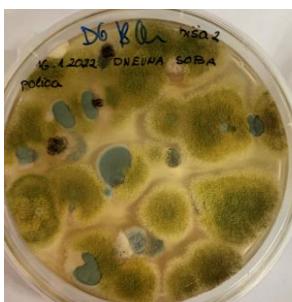


Slika 111: Hiša 1, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)

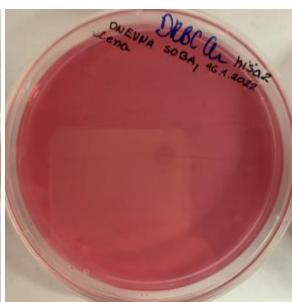
Na spodnjih slikah (112–119) so plošče, katerih vzorci so bili odvzeti v **drugi hiši** vzorčenja. Na slikah 114 in 115 sta splošči, katerih vzorec je bil odvzeti na steni, ki pa je sterilna in ni vsebovala spor, zato sta plošči prazni, prav tako stena kopalnice. Na fugah tuša (slike 116 in 117) je bila vidna plesen, zato je prav tako po celi liniji nanosa rast plesni, ki raste počasneje na tipu plošče DG18.



Slika 112: Hiša 2, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 113: Hiša 2, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 114: Hiša 2, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 115: Hiša 2, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



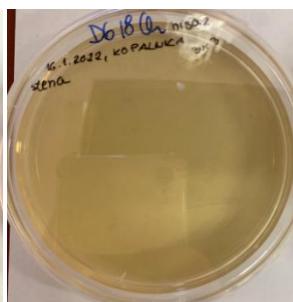
Slika 116: Hiša 2, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 117: Hiša 2, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 118: Hiša 2, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 119: Hiša 2, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)

Na spodnjih slikah (120–127) so plošče, katerih vzorci so bili odvzeti v **tretji hiši** vzorčenja.



Slika 120: Hiša 3, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 121: Hiša 3, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 122: Hiša 3, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



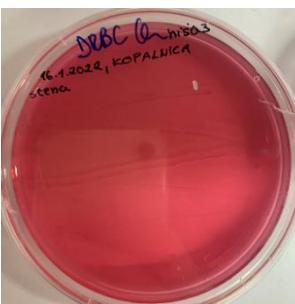
Slika 123: Hiša 3, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



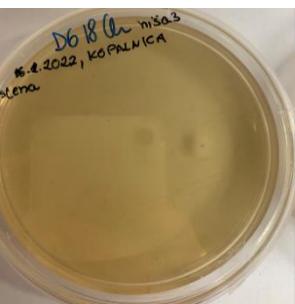
Slika 124: Hiša 3, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 125: Hiša 3, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 126: Hiša 3, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 127: Hiša 3, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)

Na spodnjih slikah (128–135) so plošče, katerih vzorci so bili odvzeti v **četrtri hiši** vzorčenja. Na steni dnevne sobe (slika 131) je bila vidna plesen. Spore te glive so se naložile na polico dnevne sobe, kar je razvidno iz slik 128 in 129.



Slika 128: Hiša 4, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 129: Hiša 4, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 130: Hiša 4, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



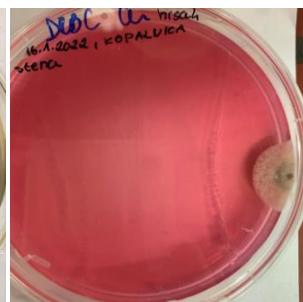
Slika 131: Hiša 4, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



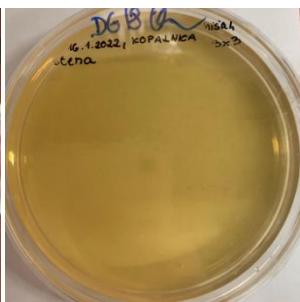
Slika 132: Hiša 4, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 133: Hiša 4, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 134: Hiša 4, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)

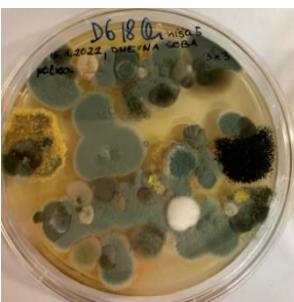


Slika 135: Hiša 4, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)

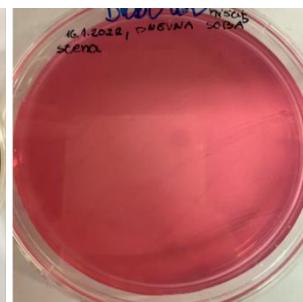
Na spodnjih slikah (136–143) so plošče, katerih vzorci so bili odvzeti v **peti hiši** vzorčenja. Na fugah in steni kopalnice je bila vidna plesen, zato je zelo očitno opazna rast gliv po celotni liniji nanosa slike 136–139.



Slika 136: Hiša 5, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 137: Hiša 5, odvzet vzorec s police dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 138: Hiša 5, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 139: Hiša 5, odvzet vzorec s stene dnevne sobe, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 140: Hiša 5, odvzet vzorec s fug kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 141: Hiša 5, odvzet vzorec s fug kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 142: Hiša 5, odvzet vzorec s stene kopalnice, DRBC
Vir: Baler, K. (2022)



Slika 143: Hiša 5, odvzet vzorec s stene kopalnice, DG18
Vir: Baler, K. (2022)

Analiza kolonij na gojiščih v laboratoriju

Zrasle glive na vseh gojiščih sem nato vseh identificirala na Biotehniški fakulteti, oddelku za mikrobiologijo, v laboratoriju za glive. Analizirala sem vsako ploščo posebej. Najprej s pomočjo stereo mikroskopa, nato pa še mikroskopa.

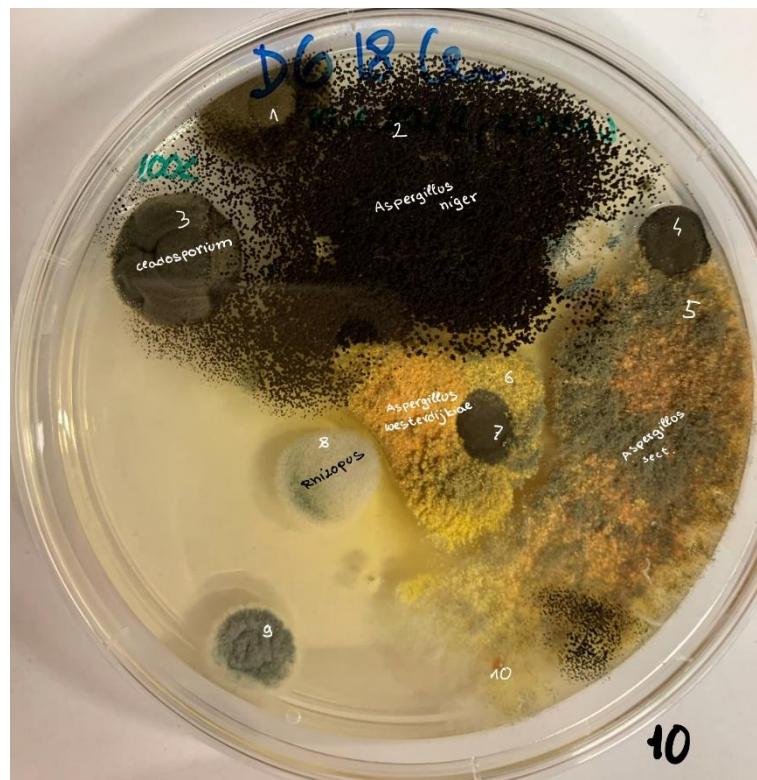
Opazovanje gliv

Za identifikacijo gliv opazujemo makroskopske in mikroskopske značilnosti gliv. Makroskopske značilnosti lahko opazujemo s prostim očesom ali stereo mikroskopom. Za opazovanje mikroskopskih pa potrebujemo mikroskop.

Makroskopske značilnosti

S prostim očesom lahko opažamo naslednje:

- **BARVA KOLONIJ:** barva površine, barva kolonije v stiku z gojiščem, barva reverza (obrnemo gojišče), topni pigment (barvila sproščena v okolico kolonije, eksudat);
- **OBLIKA KOLONIJ:** okrogla, pravilna, nepravilna, rizoidna;
- **VELIKOST KOLONIJ;**
- **PROFIL KOLONIJ:** ploska, dvignjena, konveksna – gladka, nagubana, popkasta (dvignjena v sredini);
- **ROB KOLONIJ:** pravilen, valovit, nazobčan, rizoiden;
- **VPLIV NA AGAR:** izločanje topnih pigmentov v okolico kolonij (eksudat), zbistritev motnega gojišča;
- **VONJ:** za nekatere kulture je značilen tudi vonj, vendar tega načina opazovanja nisem uporabila, saj bi bile glive lahko toksične.



Slika 144: Primer identifikacije kolonij na gojišču

Vir: Baler, K. (2022)

Analiza kolonij na gojiščih s stereo mikroskopom

- **TVORBA SPOR:** spolne (npr. v plodiščih), nespolne (na hifah, v sporangijih)
- **ZRAČNI MICELIJ:** prisotnost, odsotnost, redek, gost



Slika 145:Plošča pod lupo stereo mikroskopa

Vir: Biotehniška fakulteta, 2022

Na stereo mikroskop smo namestili kamero, povezano z računalnikom (nastavek za fotografiranje desno zgoraj na sliki 146).



Slika 146: Kamera za fotografiranje na stereo mikroskopu in slika na zaslonu računalnika

Vir: Biotehniška fakulteta, 2022

Analiza kolonij s stereo mikroskopom

Naslednje slike prikazujejo nekaj primerov fotografij posnetih s pomočjo nastavka za fotografiranje in stereo mikroskopa.

Aspergillus sp.:

Na slikah 148, 159 in 150 so vidne „bunkice”, ki so značilne za rod gliv *Aspergillus*. Na slikah 147, 148 in 151 je prikazana gliva vrste *Aspergillus niger*, katere vrsto sem lahko določila brez DNA in RNA testa, saj ima ta vrsta zelo značilno črno barvo. Tekočina na sliki 151 je izloček glive, ki ga imenujemo eksudat.



Slika 147: *Aspergillus niger* skozi stereo mikroskop,
pri 45x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 148: *Aspergillus niger* skozi stereo mikroskop,
pri 20x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 149: Bež Aspergillus skozi stereo mikroskop,
pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 150: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop,
pri 15x povečavi

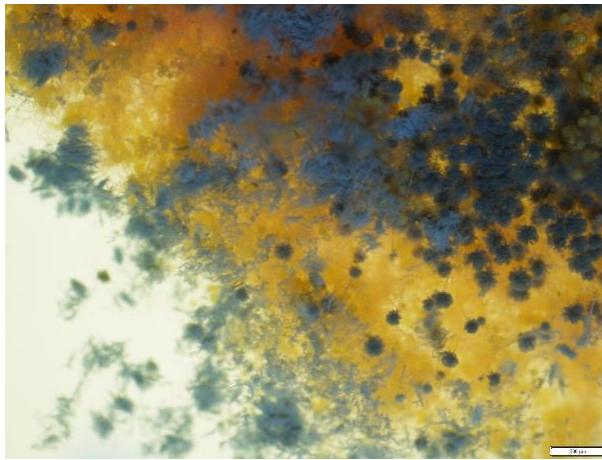
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 151: Aspergillus niger skozi stereo mikroskop z eksudatom, pri 30x povečavi

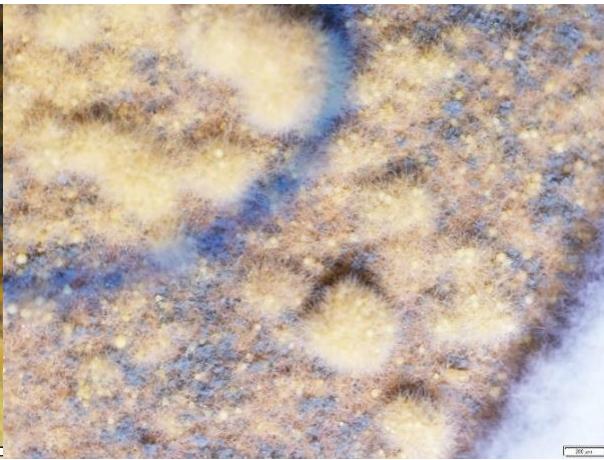
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Po strukturi „bunkic” na sliki 152 bi najprej sklepali, da gre za čopičasto glivo rodu *Penicillium*. Ampak so puhest konidiji na robu kolonije, zaradi velike koncentracije na veziklu razpadli.



Slika 152: Aspergillus sp. s spolno obliko skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 153. Aspergillus sp., s spolno obliko skozi stereo mikroskop, pri 15x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 154: Aspergillus sp. skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



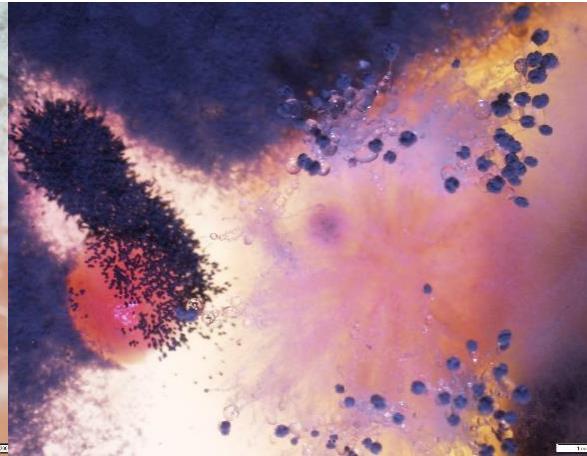
Slika 155: Aspergillus s spolnimi gojišči skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 156: *Aspergillus* sp. skozi stereo mikroskop,
pri 45x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

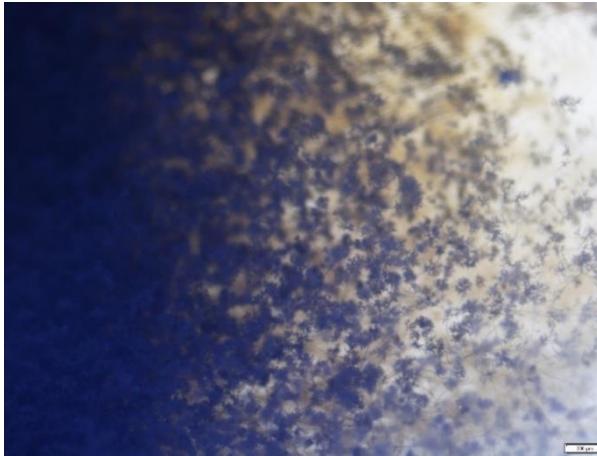


Slika 157: *Aspergillus* sp., skozi stereo mikroskop,
pri 12x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

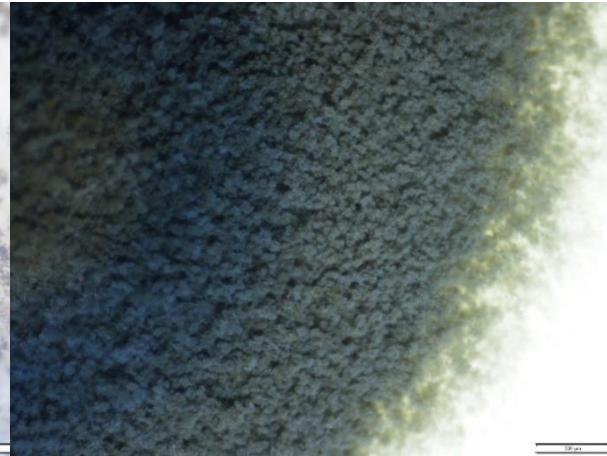
Aspergilla na sliki 156 in 157 levo bi lahko po zgradbi bila *Aspergillus fumigatus*, na sliki 157 desno pa *Aspergillus clavatus*.

***Cladosporium* sp.:**



Slika 158: *Cladosporium* sp. skozi stereo mikroskop,
pri 45x povečavi

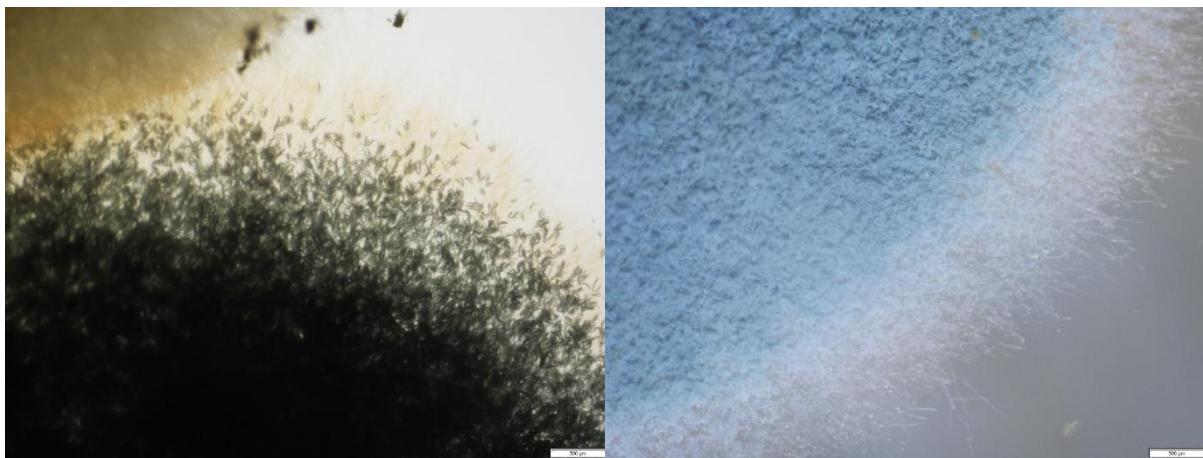
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 159: *Cladosporium* sp. skozi stereo mikroskop,
pri 35x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

***Penicillium* sp.:**



Slika 160 : *Penicillium* sp. skozi stereo mikroskop,
pri 25x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Slika 161: *Penicillium* sp. skozi stereo mikroskop,
pri 25x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

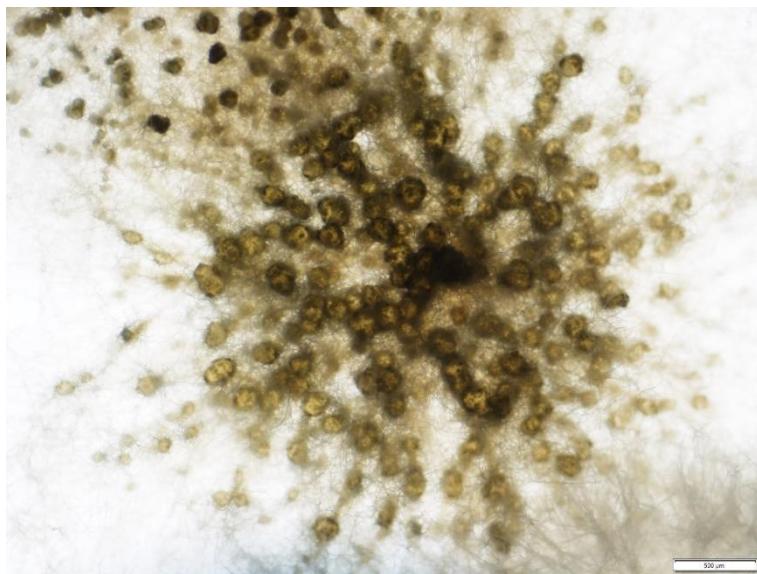
***Alternaria* sp.:**



Slika 162: *Alternaria* sp. skozi stereo mikroskop, pri 45x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Phoma sp.:



Slika 163: *Phoma sp.* skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

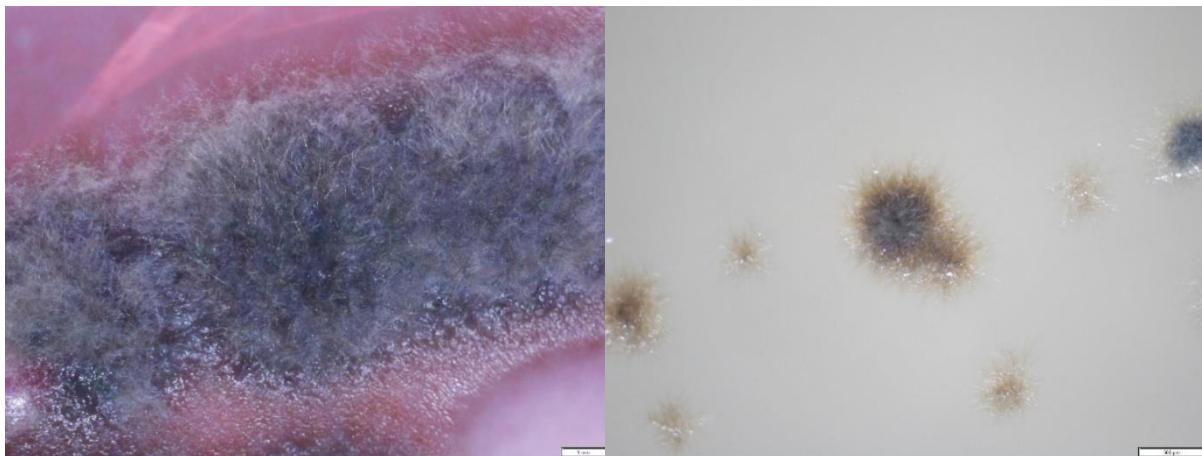
Epicoccum sp.:



Slika 164: *Epicoccum sp.* skozi stereo mikroskop, pri 12x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

***Ochroconis* sp.:**



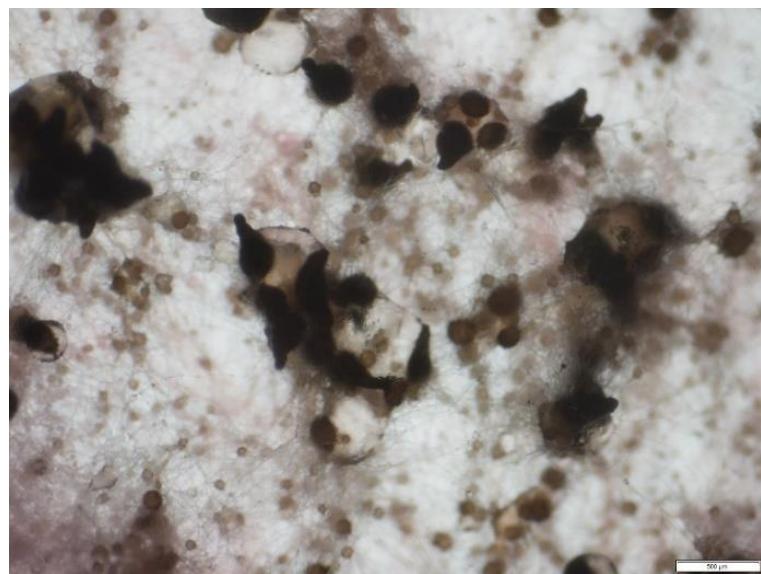
Slika 165: *Ochroconis* sp. skozi stereo mikroskop, pri 10x povečavi
Slika 166: *Ochroconis* sp. skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

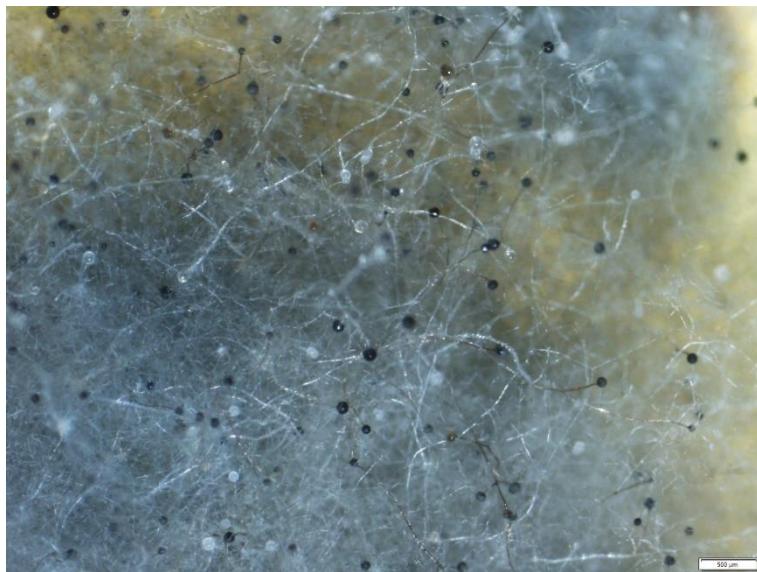
***Sordaria* sp.:**

Na vidnem polju slike 167 je vidno več kot trideset „vazic”, v katerih so shranjeni konidji.



Slika 167: *Sordaria* sp. skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Rhizopus sp.:



Slika 168: *Rhizopus* sp. skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Kvasovke

Glive kvasovke (slika 169) rastejo v kolonijah v obliki kroga, po videzu so zelo gladke.



Slika 169: Glive kvasovke skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

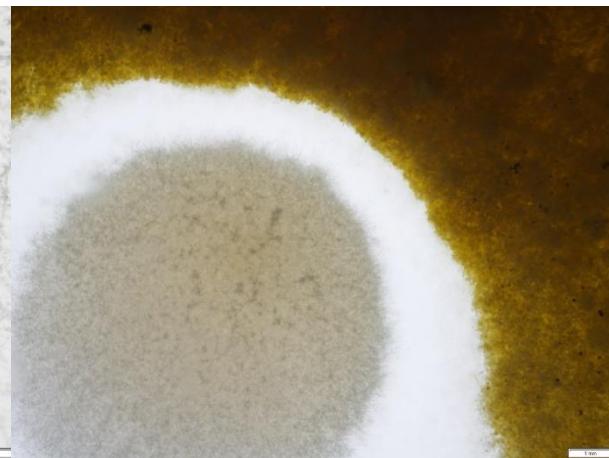
Nedoločena gliva:

Na sliki 170 je viden bel preplet hif neznane glive, ki izloča eksudat, ki sosednjemu *Aspergillus*, na sliki 171, ne ugaja in se je izogiba.



Slika 170: Neznan preplet hif s številnimi konidiji skozi stereo mikroskopom, pri 35x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 171: Neznan gliva, ki jo obkroža druga kolonija skozi stereo mikroskop, pri 10x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Analiza kolonij z mikroskopom

Priprava preparata

Materiali in oprema:

- mikrobiološka zaščitna komora;
- pinceta;
- gorilnik;
- 70 % etanol;
- 60 % mlečna kislina;
- krovno steklo;
- objektino steklo;
- gojišča z razraslimi glivami.

Postopek priprave preparata:

1. Na objektino steklo kanemo kapljico mlečne kisline.
2. Pinceto steriliziramo nad gorilnikom dokler ne postane žareča in jo namočim v alkohol, da se ohladi.
3. Delček kolonije, ki si ga želimo ogledati z mikroskopom prenesem v mlečno kislino na objektinem steklu (lahko ga tudi speremo iz pincete z mlečno kislino).
4. Prenesen material razprostremo po čim večji površini, da je preparat čim tanjši.
5. Krovno steklo položimo pod kotom, da se izognemo tvorbi zračnih mehurčkov.

6. Če se v preparatu tvorijo mehurčki, ga pogrejemo nad plamenom gorilnika, dokler mehurčki ne gredo iz preparata.

Slike 172–194 prikazujejo nekaj primerov gliv opazovanih skozi mikroskop.

Aspergillus niger:



Slika 172: *Aspergillus niger* skozi stereo mikroskop, pri 20x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 173: Konidiofora *A. niger* skozi mikroskop, pri 100x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 174: Konidiji *A. niger* razporejeni v okroglo glavo skozi mikroskop, pri 400x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Na slikah 172-174 je vidna gliva vrste *Aspergillus niger*. Pod mikroskopom je vidna značilna rjavo-črna barva konidijev in zelo dolgi konidiofori (slika 173).

Bež aspergill:



Slika 175: Bež *Aspergillus* skozi stereo mikroskopom, pri 30x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 176: Konidiofora bež *Aspergilla* skozi mikroskop, pri 200x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

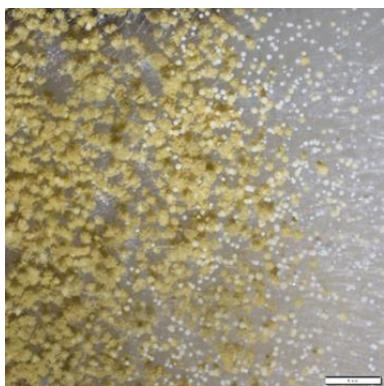


Slika 177: Konidiji razporejeni na vezikel bež *Aspergilla* skozi mikroskop, pri 400x povečavi

Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Črta, ki je razvidna iz slike 177, ponazarja dvocelične „bate”, na katerih so zelo majhni konidiji. Opis ustreza rodu *Aspergillus westerdijkiae* (2).

Zelen aspergill:



Slika 178: *Aspergillus* sp. skozi stereo mikroskop, pri 15x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



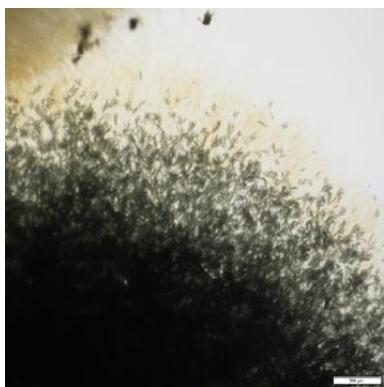
Slika 179: Konidiofori zelenega *Aspergilla* skozi mikroskop, pri 200x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 180: Konidiji razporejeni na vezikel zelenega *Aspergilla* skozi mikroskop, pri 400x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

Penicillium sp.:

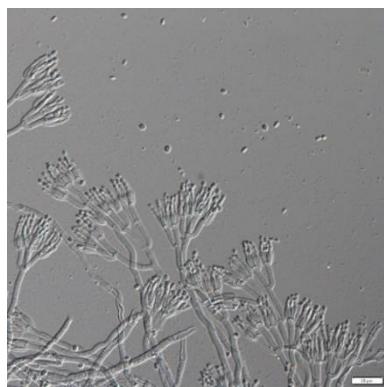
Čopičasta gliva rodu *Penicillium* z zelo značilno rastjo konidioforov na slikah 182 in 183.



Slika 181: *Penicillium* sp. skozi stereo mikroskop, pri 25x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

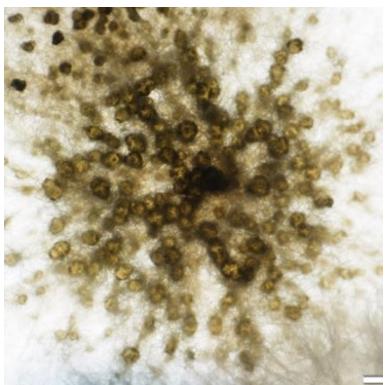


Slika 182: Čopiči in hife *Penicillium* sp. skozi mikroskop, pri 100x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

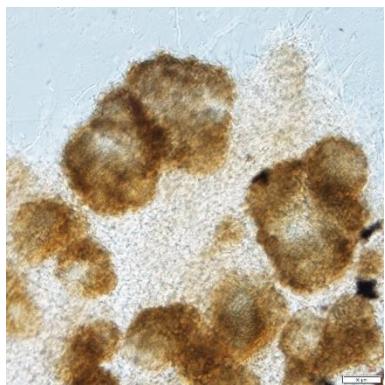


Slika 183: Čopiči *Penicillium* sp. skozi mikroskop, pri 200x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

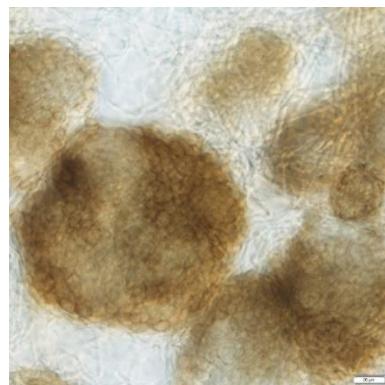
Phoma sp.:



Slika 184: *Phoma sp.* skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 185: *Phoma sp.* skozi mikroskop, pri 100x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 186: *Phoma sp.* skozi mikroskop, pri 200x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

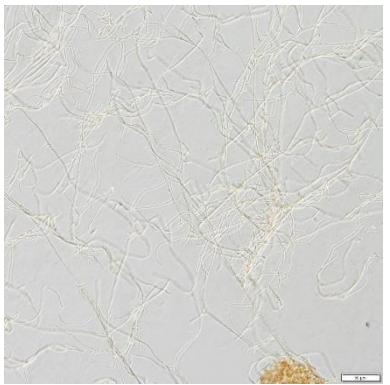
Ochroconis sp.:

Po prvotnem pregledu smo sklepali da spada gliva na slikah 187–191 po značilnem prepletu hif v rod *Cladosporium sp.*, kar se ne ujema s tvorbo spor. V poznejšem pregledu virov smo ugotovili, da spada gliva v rod *Ochroconis*.

Na sliki 189 je vidna spora te glive, ki nastaja z odcepitvijo od hif (slika 190 in 191).



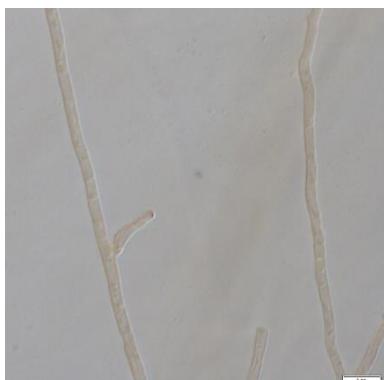
Slika 187: *Ochroconis sp.* skozi stereo mikroskop, pri 30x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 188: Preplet hif *Ochroconis sp.* skozi mikroskop, pri 400x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



Slika 189: Spora *Ochroconis sp.* skozi mikroskop, pri 400x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



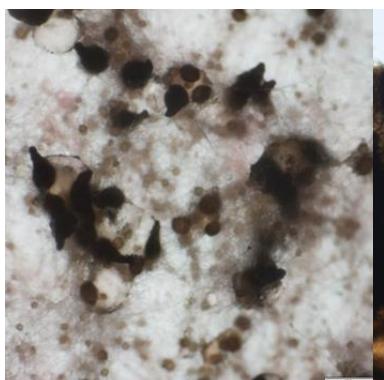
Slika 190: Odcepitev spor
Ochroconis sp. skozi mikroskop,
pri 1000x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)



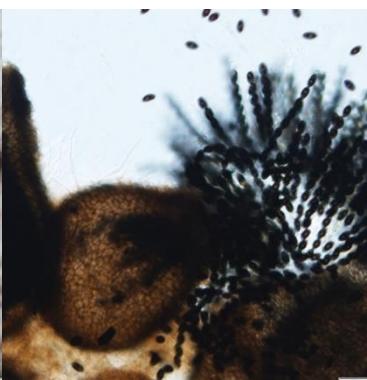
Slika 191: Odcepitev spor
Ochroconis sp. skozi mikroskop,
pri 1000x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

***Sordaria* sp.:**

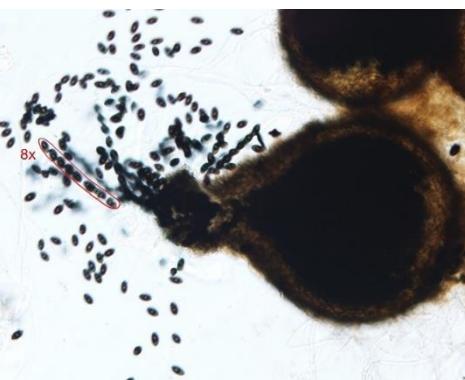
„Vazice“ na slikah 193 in 194 poganjajo spolno zrele konidije po 8 v ozračje.



Slika 192: *Sordaria* sp. skozi
stereo mikroskop, pri 30x
povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P.
(2022)



Slika 193: Plodišče *Sordaria*.
sp. skozi mikroskop, pri 100x
povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P.
(2022)



Slika 194: Plodišče *Sordaria*. sp. skozi
mikroskop, pri 100x povečavi
Vir: Baler, K. in Zalar, P. (2022)

5. Analiza rezultatov

Štetje kolonijskih enot

Prvotne kolonije so kolonije, ki so nastale iz prvotne spore vzorčene z aparatom ali nanešene z vatirano bris palčko na primarno izolacijsko ploščo in ne nastanejo iz prenašanja spor ene izmed kolonij v gojišču (npr. slika 90). Prvotne kolonije prepoznamo tako, da so večje in so po navadi vidne že pri prvem tednu inkubacije. Izračunala sem povprečje spor na ploščo ne glede na tip plošče.

Preštevanje in identifikacija kolonij vzorčenega zraka

Tabele 20–21 prikazujejo število kolonij posameznih rodov gliv, ki so zrasle na določenem tipu plošč, vzorčenih v zraku zunaj in v notranjih prostorih.

Tabela 20: Število kolonij na ploščo v zunaj vzorčenemu zraku

Vir: Baler, K. (2022)

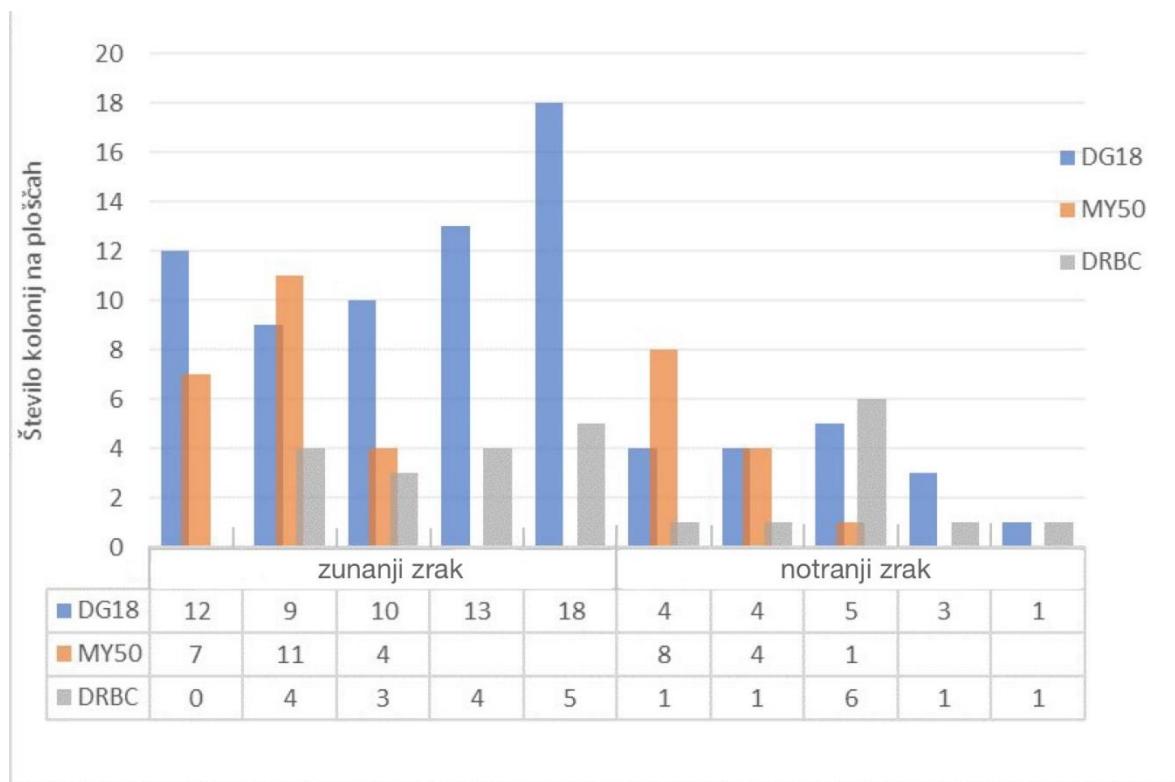
Lokacija Tip gojišča	Zunaj											
	DG18					MY50			DRBC			
<i>Aspergillus sp.</i>	4	6	3	4	9	5	6	1	/	1	1	/
<i>Penicillium sp.</i>	4	1	/	1	3	/	/	1	/	1	1	4
<i>Cladosporium sp.</i>	1	/	3	3	4	/	/	/	/	/	/	/
<i>Wallemia</i>	3	1	2	/	/	1	/	1	/	1	/	/
<i>Rhyzopus sp.</i>	/	/	1	4	2	1	2	/	/	/	1	/
<i>Alternaria sp.</i>	/	1	1	1	/	/	3	1	/	/	/	/
Kvasovke	/	/	/	/	/	/	/	/	/	1	/	/

Tabela 21: Število kolonij na ploščo v vzorčenemu zraku v notranjih prostorih

Vir: Baler, K. (2022)

Lokacija Tip gojišča	Biološka učilnica						Biološki kabinet			
	DG18			MY50		DRBC	DG18		MY50	DRBC
<i>Aspergillus sp.</i>	1	3	1	3	2	/	/	/	/	/
<i>Penicillium sp.</i>	/	/	1	/	/	1	1	4	/	1
<i>Cladosporium sp.</i>	/	/	/	/	/	/	/	2	/	/
<i>Wallemia</i>	1	1	1	4	1	/	/	/	2	1
<i>Rhyzopus sp.</i>	/	/	/	1	/	/	/	/	/	/
<i>Alternaria sp.</i>	/	/	1	/	1	/	/	1	/	/
kvasovke	1	/	/	/	/	/	/	/	/	1
<i>Phoma sp.</i>	1	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Iz grafa 2 lahko odčitamo, da je na ploščah zunaj vzorčenega zraka tipa DG18 (gojišče z nižjo koncentracijo vode) količina spor veliko višja kot v notranjih prostorih. Glede na število spor, se plošči tipa DRBC in MY50 izrazito ne razlikujeta glede na prostor.



Graf 1: Število kolonij na ploščah glede na lokacijo vzorčenja in tipa plošče

Vir: Baler, K. (2022)

Prazna mesta v tabeli pod grafom 2, pomenijo, da je bilo s tipom plošče MY50 vzorčenih le 6 vzorcev.

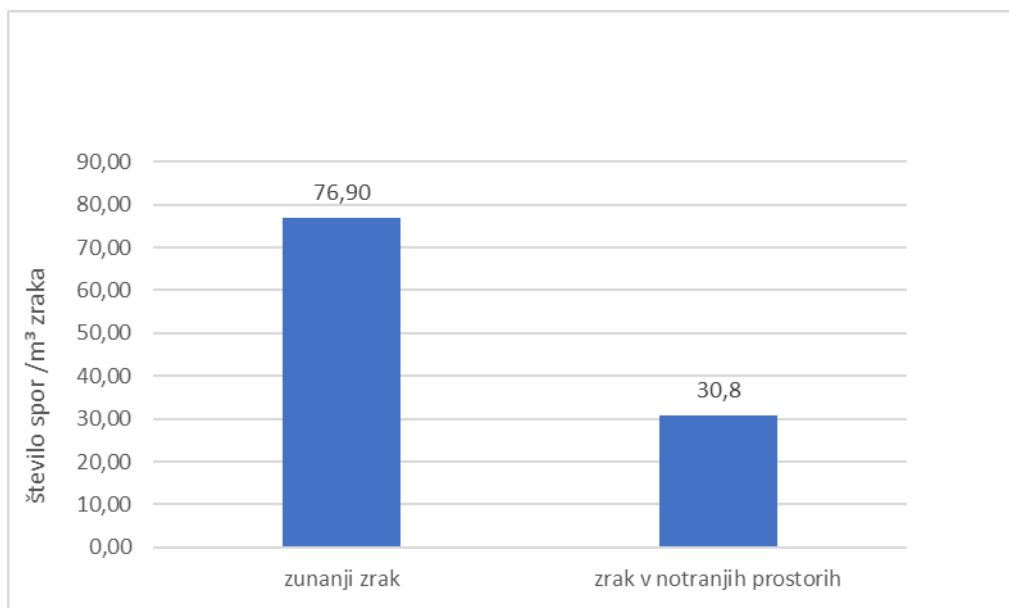
Primerjava spor v zunanjem zraku in zraku notranjih prostorov

Grafi 1, 3 in 4 prikazujejo statistične analize podatkov, ki sem jih uredila s pomočjo programa Excel. CFU (colony count unit) je internacionalna mera za količino spor v m^3 zraka. Aparat za vzorčenje zraka je na ploščo prefiltriral 100 l zraka, zato sem dobljene rezultate, ter končno povprečje spor prilagajala vrednosti CFU, oz. na m^3 vzorčenega zraka.

Graf 1 nam prikazuje primerjavo količine spor zunanjega in notranjega vzorčenega zraka, in sicer v Ljutomeru in biološki učilnici ter biološkem kabinetu.

Manjša količina spor se nahaja v notranjem zraku, ki znaša 30,8 spor na m^3 , kar je za 46,1 spor manj kot v zunanjem zraku, ki znaša 76,9 spor na m^3 .

Odrasel moški s 77kg biomase, v zunanjem zraku v Ljutomeru, dnevno vdihne 1168,88 spor in odrasla ženska s 65 kg biomase, 845,9 spor. Če povprečen človek vdihne 11 m^3 zraka dnevno, bodo dijak ali profesor v osmih urah (kot traja število ur pouka na dan) v biološki učilnici ali kabinetu vdihnili le 338,8 spor, kar je zelo malo v primerjavi z zunanjim zrakom (2).



Graf 2: Primerjava količine spor na lokacijo v 0,1 m³ vzorčenega zraka

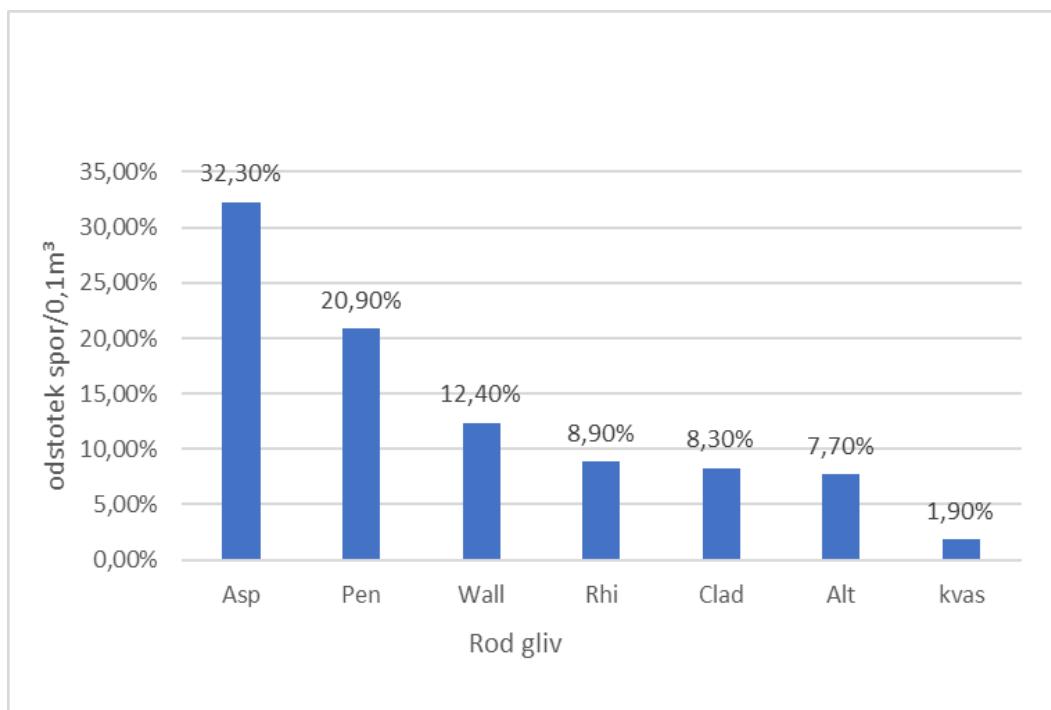
Vir: Baler, K. (2022)

Primerjava vsebnosti spor na m³ vzorčenega zraka

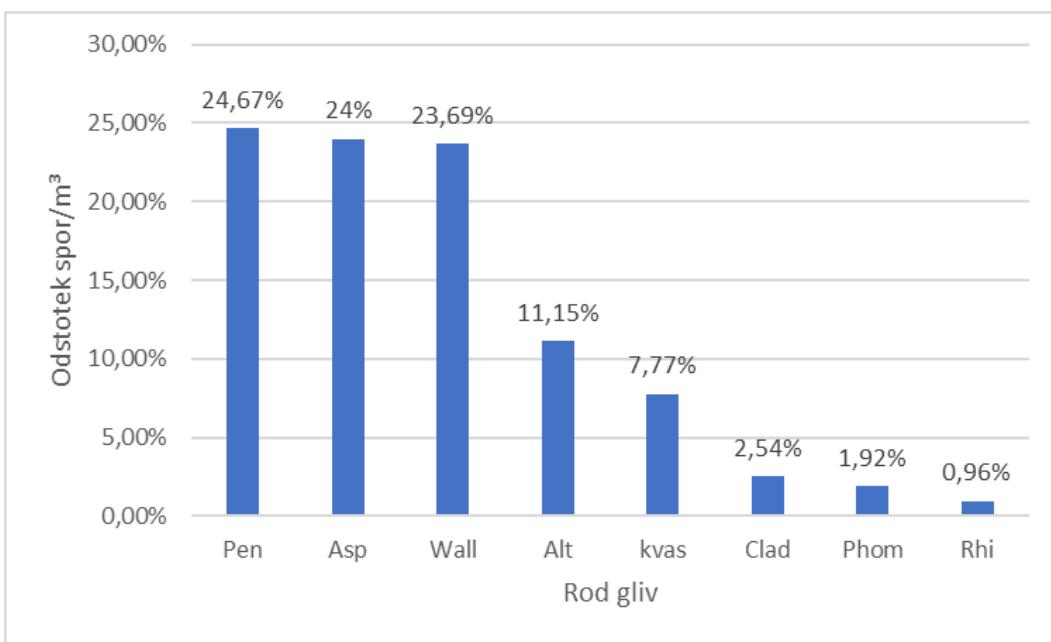
Grafa 2 in 3 prikazujeta povprečno količino spor rodov gliv, ki so v m³ vzorčenega zraka na posamezno lokacijo.

Iz grafa lahko razberemo, da je količina spor glive rodu *Aspergillus sp.* prisotna na obeh lokacijah vzorčenja. V notranjih prostorih se vrednost rodu *Wallemia sp.* izrazito poveča, v primerjavi z zunanjim zrakom, in to za kar 11,29 %. Kljub manjši vsebnosti spor v notranjosti, primerjalno z zunanjim zrakom, je ta vsebnost popolnoma identična zraku zunaj, kot lahko vidimo v tabeli 20 in 21, na strani 64.

V zraku notranjega prostora na grafu 4 je pridružena gliva rodu *Phoma*, ki je v grafu 3 za zunanji zrak ni. Sklem, da lahko ta rod izhaja iz notranjega prostora ali stavbe.



Graf 3: Odstotek spor rodov gliv v zraku glede na m³ zunaj vzorčenega zraka
Vir: Baler, K. (2022)



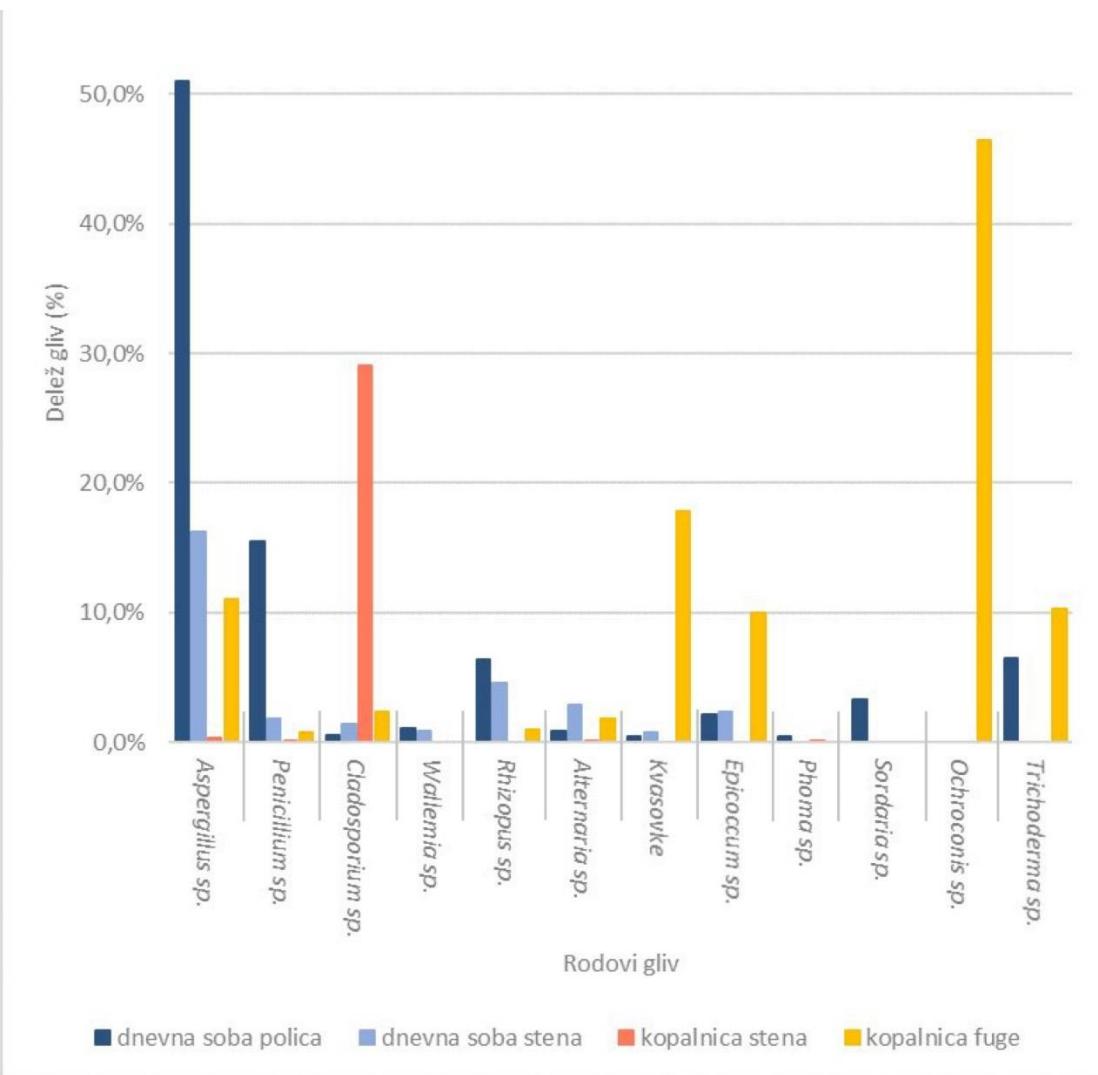
Graf 4: Odstotek spor rodov gliv v zraku glede na m³ vzorčenega zraka v notranjih prostorih
Vir: Baler, K. (2022)

Primerjava površine različnih rodov gliv glede na različne vzorčene površine

Graf 5 prikazuje odstotek kolonij rodov zraslih na gojiščih glede na različne vzorčene površine (polica, stena, fuge). Rezultate sem pridobila s preračunavanjem deleža kolonij, ki so zasedle posamezno ploščo. Iz vsake plošče sem odčitala vrednostni odstotek, kolikšno površino plošče ali nanosa zaseda posamezni rod gliv. Nato sem odstotke enega rodu iz ene plošče seštela in delila s količino plošč posamezne površine iz vsakega domova (npr. *Aspergillus sp.* zaseda 76 % plošče DRBC, katere vzorec je bil odvzet iz police iz dnevne sobe, nato ta podatek seštejem z ostalimi odstotki plošč tipa DRBC in DG18, katerih vzorci so bili odvzeti iz police dnevne sobe ostalih domov. Dobim statistični podatek v odstotkih rodu *Aspergillus sp.* za polico dnevne sobe.

Podatki iz statistične analize grafa 5 kažejo, da je na polici dnevne sobe največ spor glive rodu *Aspergillus*. Rast aspergilla ali vsebnost njegovih spor je najbolj pogosta na stenski površini dnevne sobe. Zelo presenetljiv in izstopajoč podatek je bila rast glive *Ochroconis sp.*, ki se je nahaja le na fugah med ploščami prostora za tuširanje. Zelo izstopa *Cladosporium sp.*, ki pa v zelo velikih količinah raste na steni kopalnice.

Zelo presenetljiv podatek je ta, da ni večje količine spor gliv rodu *Wallemia* na polici dnevne sobe. Saj je bila količina teh spor visoka v zunanjem zraku v Ljutomeru 10. 1. 2022, in še večja v notranjih prostorih šole.

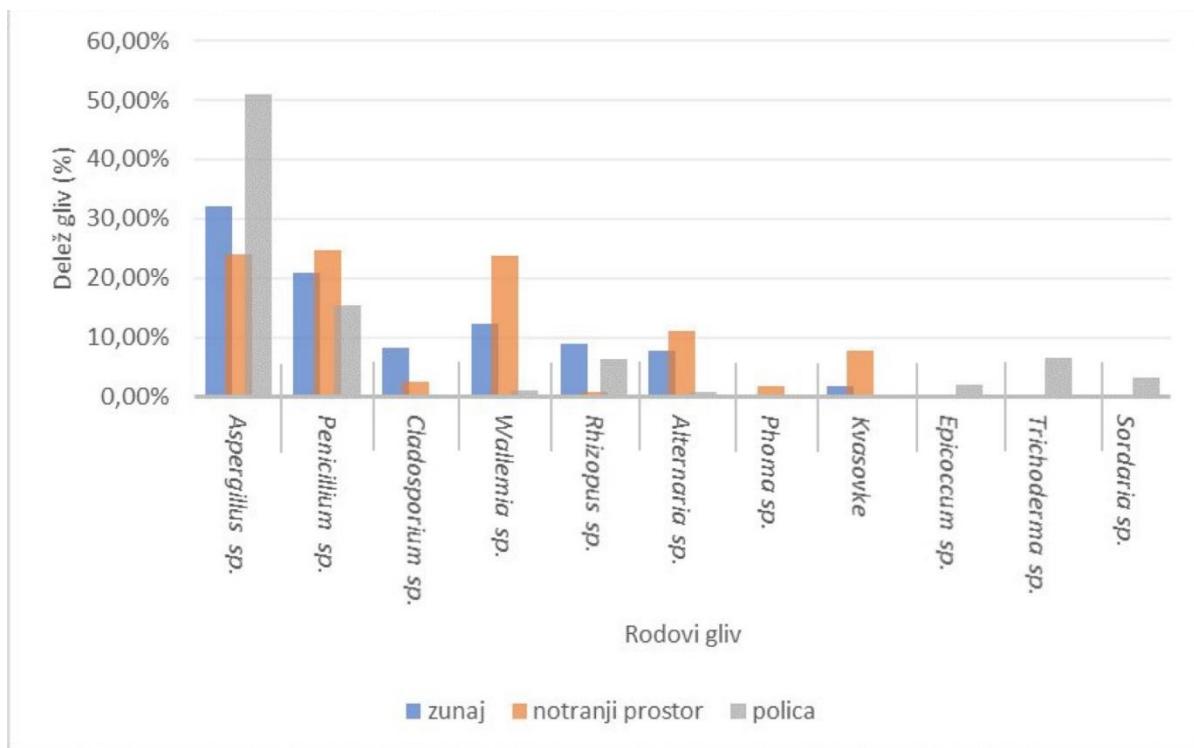


Graf 5: Primerjalni odstotek posameznih rodov gliv glede na vzorčeno površino
Vir: Baler, K. (2022)

Primerjava deleža spor rodov na vodoravnih površinah v primerjavi z deležem spor posameznih rodov gliv v zraku

Graf 6 prikazuje primerjavo deleža spor rodov gliv, ki se naložijo na polico s sporami v zunanjem zraku in z zrakom notranjih prostorih. Podatke za odstotek spor na polici sem dobila z analizo vseh polic površinsko vzorčenih hiš in iz plošč izračunala povprečje vsakega rodu gliv kot pri grafu 3 in 4.

Iz grafa lahko razberemo dva rodova gliv, *Epicoccum sp.*, *Trichoderma sp.*, in *Sordaria sp.* ki nista prisotna pri vzorčenemu zraku v Ljutomeru in v šolskih prostorih. Zato sem lahko sklepala, da izhajajo znotraj samih prostorov, kot na primer, iz plesnivih fug, kjer je rasla gliva rodu *Trichoderma*.



Graf 6: Primerjava odstotnega deleža naloženih posameznih spor na različnih vzorčnih lokacijah

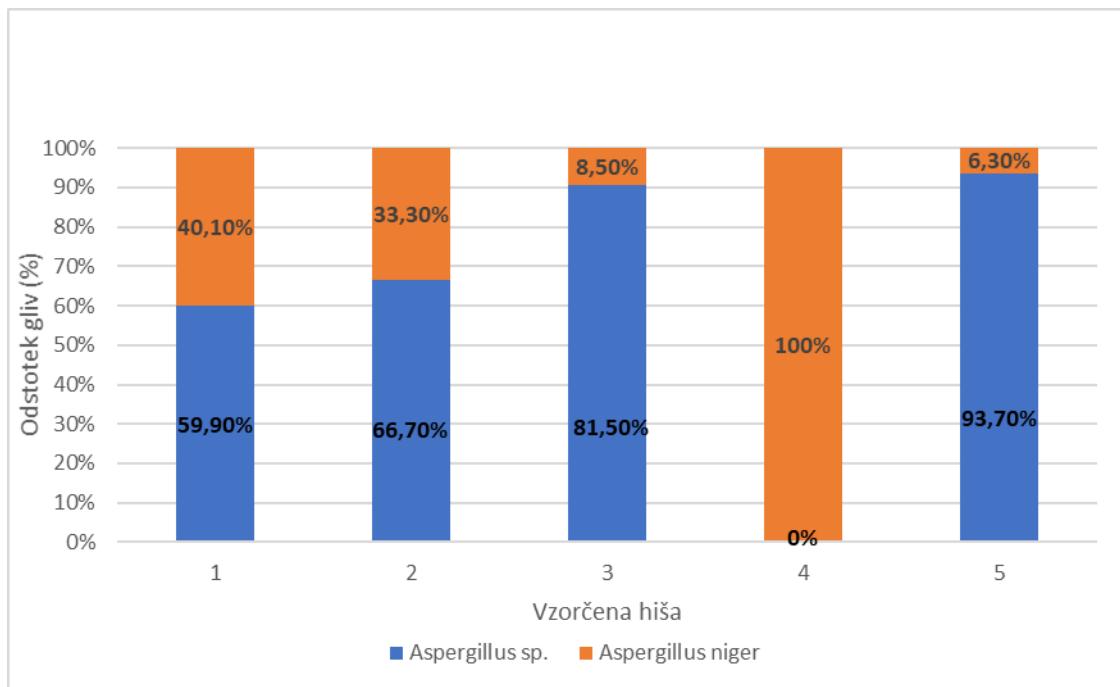
Vir: Baler, K. (2022)

Primerjava celotnega odstotka glive rodu *Aspergillus* z vrsto *Aspergillus niger* na vodoravnih površinah po posameznih hišah

Na vodoravno površino se nalagajo spore gliv, ki so v zraku. Iz grafa 7 lahko razberemo, da je bil prisoten največji delež glive rodu *Aspergillus sp.* na polici v dnevni sobi. Med obsežen nabor vrst rodu *Aspergillus* spada vrsta *Aspergillus niger*, ki jo lahko določimo glede na makroskopske značilnosti.

Aspergillus niger, lahko identificiramo s prostim očesom, po izraziti črni barvi in strukturi kolonij (slika 144). Skozi stereo mikroskop, lahko vidimo glavičaste tvorbe konidioforov (slika 147 in 148), s pomočjo mikroskopa pa črno-rjavo barvo konidijev (slika 173 in 174).

Na sliki 38, na strani 37, je vidna plesen na steni dnevne sobe **četrte vzorčene hiše**, ki je po makroskopskih značilnostih vrste *A. niger*. Iz grafa 7 in slike 131 lahko razberemo, da so na polici te hiše prav tako spore glive *Aspergillus niger*, saj je na plošči vidna večinska rast le-te plesni (slika 128). Iz česar sklepamo, da je veliko le-teh spor tudi v zraku vzorčenega prostora in posledično celotne hiše. V primerjavi z ostalimi policami v drugih hišah, kjer ni vidne plesni je razlika precejšnja.



Graf 7: Primerjava odstotnega deleža Aspergillus niger z Aspergillus sp. na polici v dnevni sobi po posameznih domovih

Vir: Baler, K. (2022)

6. Zaključki

Potrditev/zavrnitev hipotez

Hipoteza 1: Več spor bo v notranjih prostorih kot v zraku zunaj

Hipotezo sem ovrgla, saj je bila vrednost števila preštetih kolonij in posledično spor/m³ veliko višja v zunaj vzorčenem zraku, glede na notranji vzorčeni zrak, ta podatek lahko razberemo iz grafa 1, ki prikazuje, da je v zunanjem zraku kar 46,1 spor/m³ več kot v notranjem zraku.

Hipoteza 2: V zraku, ki ga vdihavamo, je veliko spor, ki so za nam lahko nevarne.

To hipotezo sem potrdila, saj je identifikacija rodov in statistična analiza podatkov iz grafa 5 pokazala visoke vsebnosti gliv rodu *Aspergillus* v zraku. Nekatere vrste tega rodu so lahko v velikih količinah nevarne za ljudi s slabim imunskim sistemom, alergike in astmatike. Te rezultate sem potrdila v zunaj vzorčenem zraku ter v notranjem zraku. Tudi z analizo nalaganja spor na knjižno polico dnevne sobe, je bilo največ kolonij gliv tega rodu. Poleg gliv rodu *Aspergillus* poznamo še druge nevarne glive za človeka, ki jih na žalost nisem mogla določiti do vrste natančno. Veliko vrst plesni, ki so se nahajale v prostorih, bi lahko z premalo zračenja in večjim obsegom plesnive površine, hudo škodile zdravju imunsko šibkejšim in prav tako zdravim ljudem.

Hipoteza 3: Spore, ki so v zunanjem zraku, bodo tudi v notranjem zraku in posledično tudi na notranjih površinah.

To hipotezo sem potrdila s sedimentacijsko metodo vzorčenja, saj so se spore iz zraka res posedle na površino gojišč. Prav tako z vzorčenjem zraka z aparatom, saj so bile spore v zunanjem zraku prisotne tudi v notranjem. Spore v zraku so bile prisotne na polici dnevne sobe, ki sem jo podrobnejše analizirala in primerjala v grafu 6. Sporam na polici so bile pridružene še spore, ki izvirajo iz notranjosti hiše ali prostora.

Hipoteza 4: Vidna plesen na steni lahko vsebuje nevarne toksine.

Za potrditev te hipoteze bi potrebovala druge metode, ki jih nisem imela na voljo. Vendar pa lahko na podlagi podatkov iz literature (14) trdim, da plesen s stene dnevne sobe hiše 4, *Aspergillus niger*, kot morebitni patogen (bolezenski) človeka vsebuje nevarne toksine. Tudi rod *Ochroconis*, ki sem ga identificirala s sten kopalnice v hiši 5, lahko vsebuje patogene ali boleznske toksine.

Sklepi in komentar

Ugotovila sem, da se spore gliv nahajajo vsepo vsod; na v zraku zunaj in v notranjih prostorih in na vseh površinah. Spore sprošča plesen, ki v večjem obsegu škodi ljudem in se izraža s simptomimi prehlada. Lahko pa povzroča poslabšanje stanja ali celo smrt ljudem s slabim imunskim sistemom, alergikom in astmatikom. Razlika med količino spor v notranjem zraku, brez prisotnosti vidne plesni v prostoru je po podatkih moje raziskave pokazala za 46.1 m^3 nižjo vrednost spor v notranjem prostoru, v primerjavi z zunanjim. Ugotovila sem, da se v zunanjem zraku nahaja bistveno več spor kot v zraku v notranjih prostorih. V največjem deležu se okoli nas nahajajo glive rodu *Aspergillus*, katere vrsta *Aspergillus niger* je potencialni človeški patogen.

Če opazimo črno plesen na steni dnevne sobe, je najverjetneje gliva *Aspergillus niger*, ki je potencialni človeški patogen, saj njene majhne, naježene spore pridejo globoko v naš respiratorni sistem. Ker pa nekatere vrste, kot *Aspergillus niger* rastejo zelo dobro pri višjih temperaturah, povzročajo take spore patogenost v človeku. Stena kopalnice najbolj ustreza *Cladosporium sp.*, katere vrsto ne moremo določiti brez DNA in RNA testov. Kopalniške fuge med ploščicami v največjem obsegu naseljuje gliva rodu *Ochroconis sp.* in *Trichoderma sp.*, ki prav tako kot *Aspergillus niger* zelo dobro rastejo pri temperaturi 37°C in je prav tako potencialni človeški patogeni.

Pri raziskovanju plesni sem se natančneje seznanila s količino spor v ozračju, in s tem da je vizualni faktor na steni ali fugah prav tako pokazatelj tega kar se bistveno v velikih količinah nahaja v zraku. Raziskovalna naloga mi je posebej razširila obzorje poznavanja posameznih rodov plesni, njihovih razlik po videzu in vplivu na človeka.

Rezultate in raziskovalno nalogo bi lahko še dodatno izboljšala z vzorčenjem zraka v prostorih domov, kar pa ni bilo možno zaradi kratke izposoje aparature za vzorčenje zraka, ter z DNA in RNA pogledom v glive, saj bi tako lahko natančno določila vrsto in natančen vpliv le-teh na človeka. Raziskovalno nalogo sem prav tako opravila v obdobju SARS CoV-2, ki je zaradi morebitnih prenosov onemogočal številnejše vzorčenje po privatnih hišah.

Na glive bom v prihodnosti gledala še z večjo zvedavostjo in z velikim spoštovanjem.

Viri in literatura

Viri in literatura vsebine

1. Agarwal, R., Gupta, D., (2011): Severe asthma and fungi: current evidence, 2–5.
2. Aktas, Y. D., Ioannou, I., Altamirano, H., Reeslev, M., D'Ayala, D., May, N., Canale,s M., (2018): Surface and passive/active air mould sampling: A testing exercise in a North London housing estate, 2–5.
3. Baxi, S. N., Portnoy, J. M., , Larenas-Linnemann, D, Phipatanaku,l W. (2016): Exposure and Health Effects of Fungi on Humans, 2–9.
4. Giraldo, A., Sutton, D. A., Samerpitak, K., de Hoog, S., Wiederholc, N. P., Guarro, J., Genécorresponding, J., (2014): Occurrence of *Ochroconis* and *Verruconis* Species in Clinical Specimens from the United States. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313285/>
5. Ivanova, H., (2015): *Sordaria fimicola* (Ascomycota, Sordariales) on Acer palmatum, 1–2.
6. Johanning, E., Biagnin, R., Hull D., Morey, P., Jarvis, B., Landsbergis, P., (1996): Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in water- damaged office enviroment, 6–8.
7. Kelman, B. J., Robbins, C. A., Swenson, L. J., Hardin, B. D., (2004): Risk from Inhaled Mycotoxins in Indoor Office and Residential Environments, 2–7.
8. Kuhn, D. M., Ghannoum, A., (2003): Indoor Mold, Toxigenic Fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious Disease Perspective, 1–17.
9. Newson, R., Strachan, D., Corden, J., Millington, W., (2000): Fungal and other spore counts and predictors of admissions for asthma in the Trent region, 786–792.
10. Platt, S. D., Martin, C. J., Hunt, S. M., Lewis, C. W., (1989): Damp housing, mould growth, and symptomatic health state, 1673–1678.
11. Recently, the genus *Ochroconis* has undergone taxonomic revision, and the most relevant species, *Ochroconis gallopava*, was transferred to the new genus *Verruconis*, (2014): <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds/ochroconis>
12. Salvaggio, J., Seabury, J., (1971): Relationship between Charity Hospital astma admission rates, semiqualitative pollen and fungal spore counts, and total particulate aerometric sampling data, 96–98.
13. Samerpitak, K., Duarte, A. P. M., Attili-Angelis, D., Pagnocca, F. Heinrich,s C., Rijs, G. A. J., Alfjorden, A., Gerrits van den Ende, A. H. G., Menken, S. B. J., de Hoog, G. S., (2014): A new species of the oligotrophic genus *Ochroconis* (*Sympoventuriaceae*), 1–7.
14. Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., Andersen, B., (2010): Food and indoor fungi, 3–352.

15. Targonski, P. V., Persky, V. W., Ramekrishnan, V., (1995): Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season, 955–961.
16. Zalar, P., (2021): Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE (Učbenik za vaje), 11–106.

Viri slik

- Slika 1: Slika iz Wikimedia.org, priredila slovensko poimenovanje po P. Zalar (2021). Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE. 90, 6. in 7. vaja – nespolno razmnožujoče se asco- in basidomicete.
- Slika 2: Marin, Y., Resterpo, M. H., Gonzalez, I. T., Garcia, D., (2019): Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 3: Varga, J., Frisvad, J.C., Kocsimbé, S., Brankovics, B., Tóth, B., Szigeti, G., Samson, R.A., (2011): New and revisited species in Aspergillus section Nigri. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 4: Sandoval, D. M., Gené, J., Sutton, D.A., Wiederhold, N.P., Cano-Lira, J.F., Guarro J, (2016): New species of Cladosporium associated with human and animal infections. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 5: Wenjun, L., Ming, H., Yang, X., Zhijun, L., Yanfei, Z., Daoxu, Z., Guangtao, L., Junxia, W., Jianuan, Z., (2020): Five Fungal Pathogens Are Responsible for Bayberry Twig Blight and Fungicides Were Screened for Disease Control. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 6: Castellanos-Arévalo, D. C., Castellanos-Arévalo, A. P., Camarena-Pozos, D. A., Colli-Mull, J. G., Maldonado-Veg, M., (2014): Evaluation of Microbial Load in Oropharyngeal Mucosa from Tannery Workers. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 7: Samerpitak, K. E., Van der Linde, H. J., Gerrits van den Ende A. H. G., Machouart, M., Gueidan, C., G. de Hoo, S., (2013): Taxonomy of Ochroconis, genus including opportunistic pathogens on humans and animals. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 8: Houbraken, J., Frisvad, J. C., Samson, R. A., (2011): Fleming's penicillin producing strain is not Penicillium chrysogenum but P. rubens. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 9: Aveskamp, M. M., de Gruyter, J., Woudenberg, J.H.C., Verkley, G.J.M., Crous, P.W., (2010): Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 10: Dolatabadi, S., (2015): Mucorales between food and infection. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 11: Hashemlou, E., Ghosta, Y., (2014): First report of Sordaria fimicola as endophytic fungus of peach trees from Iran. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 12: Dwiaستuti, M. E., Fitriasari, P. D., (2017): Exploration of Trichoderma spp. And fungal pathogen that causes a strawberry anthracnose and examination of in vitro anatagnostic activity. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slika 13: Kunčič, M. K., Kogej, T., Drobne, D., Gunde-Cimerman, N., (2010): Morphological Response of the Halophilic Fungal Genus Wallemia to High Salinity. Pridobljeno: 17. 3. 2022
- Slike 14–22 so bile ustvarjene na Gimnaziji Franca Miklošiča Ljutomer
- Slike 23–44 so bile ustvarjene po domovih v katerih sem vzorčila
- Slike 45–144 so bile ustvarjene na Gimnaziji Franca Miklošiča Ljutomer

- Slike 145–194 ustvarjene s fotografskim nastavkom za mikroskop, na Biotehniški fakulteti

Viri tabel

- Tabeli 1–2 prirejena po P. Zalar, (2021): Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE, (učbenik za vaje), 100–101.
- Tabela 3 prirejena po Robert A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, B. Andersen, (2010): Food and indoor fungi, 106–123.
- Tabela 4 prirejena po P. Zalar, (2021): Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE, (učbenik za vaje), 101–102.
- Tabela 5 prirejena po Robert A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, B. Andersen, (2010): Food and indoor fungi, 108–109.
- Tabela 6 prirejena po Robert A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, B. Andersen, (2010): Food and indoor fungi, 352.
- Tabela 7 A. Giraldo, D. A. Sutton, K. Samerpitak, S. de Hoog, N. P. Wiederhold, J. Guarro, J. Genécorresponding, (2014): Occurrence of *Ochroconis* and *Verruconis* Species in Clinical Specimens from the United States.
- Tabela 8 prirejena po Robert A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, B. Andersen, (2010): Food and indoor fungi, 210–215.
- Tabela 9 prirejena po P. Zalar, (2021): Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE, (učbenik za vaje), 103.
- Tabela 10 prirejena po Robert A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, B. Andersen, (2010): Food and indoor fungi, 58–51.
- Tabela 11 prirejena po H. Ivanova, (2015): *Sordaria fimicola* (Ascomycota, Sordariales) on Acer palmatum, 1–2.
- Tabeli 12–13 prirejena po P. Zalar, (2021): Mikrobnna raznolikost in identifikacija: GLIVE, (učbenik za vaje), 103–104.
- Tabele 14–18 so bili ustvarjeni na Biotehniški fakulteti v Ljubljani.
- Tabela 19 je bila ustvarjena v Wordovem dokumentu.
- Tabeli 20–21 so bili ustvarjeni v programu Excel.

Viri grafov

- Grafi 1–7 so bili ustvarjeni v programi Excel.