

Kolo: Celostátné

Kategória: A

Teoreticko-praktická časť – Praktická úloha č. 2

### **Téma: Fyziológia živočíchov – osmoregulácia**

Jedným z energeticky najnáročnejších procesov je pre mnohé živočíchy osmoregulácia. Špeciálne to platí pre vodné živočíchy, pretože prostredie, v ktorom žijú, sa často dramaticky odlišuje koncentráciou aj zastúpením solí od ich telesných tekutín. Podľa stratégie, ktorú využívajú na prežívanie v týchto podmienkach ich môžeme rozdeliť na osmokonforméry a osmoregulátory. Kým osmokonformné živočíchy (napr. mnohé morské bezstavovce alebo žraloky) prispôsobujú zloženie svojich telesných tekutín tak, aby boli izotonické s prostredím, osmoregulátory udržiavajú zloženie svojich telesných tekutín viac/menej konštantné, bez ohľadu na to, či sú voči prostrediu hyper- alebo hypotonické. Zaujímavým modelom pre štúdium osmoregulácie sú kôrovce rodu *Artemia* (žiabronôžka), ktoré sa vyskytujú vo vnútrozemských slaných jazerách (napr. Veľké soľné jazero) a dočasných mlákach.

#### **Akútna halotolerancia lariev žiabronôžky soľnej (*Artemia salina*)**

**Pomôcky a materiál:** 50 ml roztoku NaCl (5 mol/l), destilovaná voda (100 ml), sklené pipety (10 ml a 5 ml) a pipetovacie nástavce, 5 malých Petriho misiek, 70% etanol, larvy žiabronôžky, stereomikroskop

#### **Postup:**

1. Skontroluje, či máte k dispozícii všetky uvedené pomôcky. Ak nie, privolajte vedúceho úlohy.
2. S použitím zásobného roztoku NaCl pripravte roztoky s nasledujúcou koncentráciou: 2; 1; 0,5 a 0,05 mol/l. Z každého roztoku budete potrebovať aspoň 5 ml. Výpočty a postup prípravy uveďte v úlohe 1.
3. Naplňte Petriho misky asi do polovice ich objemu jednotlivými roztokmi a privolajte vedúceho cvičenia, ktorý vám pridá larvy žiabronôžky (cca. 10 – 20 lariev/miska).
4. Okamžite po pridaní, pozorujte larvy stereomikroskopom a zapíšte pre každú koncentráciu soli, koľko lariev sa nepohybuje (tj. sú pravdepodobne uhynuté). Pozoruje opäť po 10, 20 a 30 minútach, medzi pozorovaniami riešte ďalšie úlohy.
5. Po poslednom pozorovaní anestetizujte larvy doplnením misky po okraj etanolom a spočítajte celkový počet lariev v jednotlivých miskách.

#### **Úlohy:**

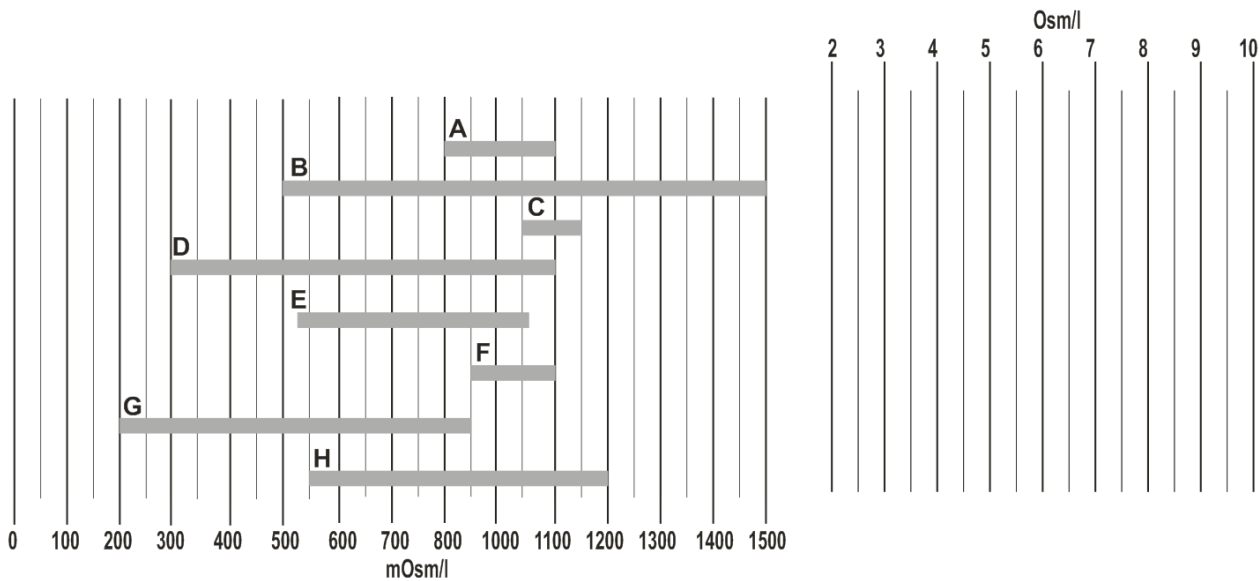
1. Uveďte postup prípravy jednotlivých roztokov

2. Získané výsledky zaznamenajte do tabuľky a zhodnoťte prežívanie (ako % prežívajúcich lariev) žiabronôžok v sledovaných podmienkach.

Čas (min)	5 mol/l NaCl		2 mol/l NaCl		1 mol/l NaCl		0,5 mol/l NaCl		0,05 mol/l NaCl	
	počet lariev:		počet lariev:		počet lariev:		počet lariev:		počet lariev:	
	uhynuté	%	uhynuté	%	uhynuté	%	uhynuté	%	uhynuté	%
0										
10										
20										
30										

Po skončení experimentu požiadajte vedúceho úlohy o dáta dlhodobého prežívania žiabronôžok, ktoré využijete pri riešení ďalších úloh.

Na obrázku nižšie vidíte rozmedzie salinity, ktoré sú schopné tolerovať morské a brakické druhy živočíchov. Salinita prostredia je v tomto prípade vyjadrená ako ideálna osmolarita, tj. koncentrácia všetkých osmoticky aktívnych častíc (v osmloch na liter). Pri určovaní ideálnej osmolarity roztokov predpokladajte, že NaCl je vo vode úplne ionizovaný. Pozor na zmenu stupnice medzi 1,5 a 2 Osm/l.  $M_{NaCl} = 58,44 \text{ g/mol}$



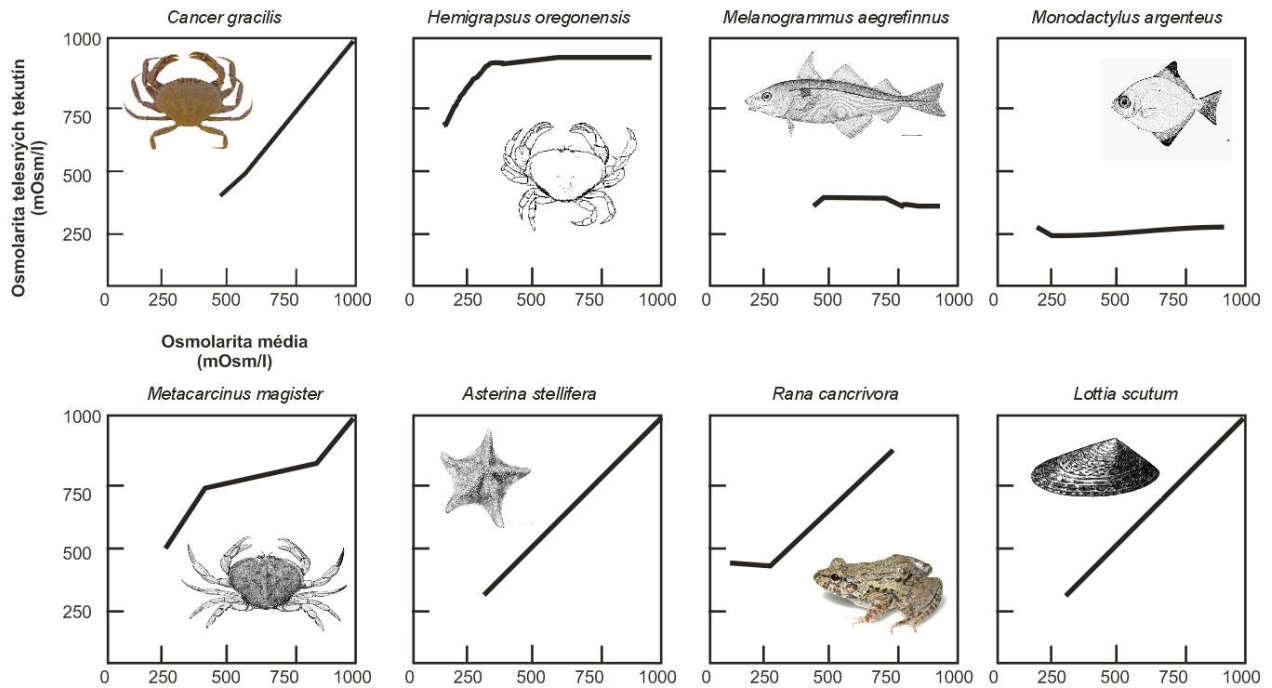
- A) *Cancer gracilis*
- B) *Hemigrapsus oregonensis*
- C) *Melanogrammus aeglefinus*
- D) *Monodactylus argenteus*
- E) *Metacarcinus magister*
- F) *Asterina stellifera*
- G) *Rana cancrivora*
- H) *Lottia scutum*

3. Vyznačte v obrázku **plnou** čiarou rozmedzie salinity, v ktorom sú žiabronôžky schopné dlhodobo prežívať (na základe dát o dlhodobom prežívaní, ktoré ste dostali). Za dlhodobé prežívanie sa považuje prežívanie > 50 % počas 30 dní.

4. Vyznačte v obrázku **čiarkovanou** čiarou rozmedzie salinity, ktoré žiabronôžky krátkodobo tolerujú (na základe dát z vášho experimentu). Za krátkodobú toleranciu sa považuje prežívanie > 50 % počas 30 minút.

Na nasledujúcich grafoch vidíte hodnoty osmolarity telesných tekutín pre živočíchov, spomenuté v predchádzajúcej úlohe, v závislosti od osmolarity média. Ako ukazujú dáta, tieto živočíchov dokážu do rôznej

miery regulovať osmolaritu svojich telesných tekutín.



5. Určte pre každý druh, či sa jedná o osmokonforméra alebo osmoregulátora. V prípade osmoregulátorov určte, či ide o hyper- (telesné tekutiny sú voči prostrediu hypertonické), hypo- (telesné tekutiny sú voči prostrediu hypotonické), alebo hyper/hypoosmoregulátora (telesné tekutiny sú v určitom rozmedzí osmolarity prostredia hypotonické a v inom hypertonické). Správnu odpoveď označte v prislúchajúcom poličku značkou „X“.

	konformér	hyper	hypo	hyper/hypo
<i>Cancer gracilis</i>				
<i>Hemigrapsus oregonensis</i>				
<i>Melanogrammus aeglefinnus</i>				
<i>Monodactylus argenteus</i>				
<i>Metacarcinus magister</i>				
<i>Asterina stellifera</i>				
<i>Rana cancrivora</i>				
<i>Lottia scutum</i>				

6. Pre osmoregulátory vyznačte v grafoch rozmedzie osmolarity prostredia, v ktorom sú schopné regulovať osmolaritu svojich telesných tekutín (tj. nie sú izotonické s prostredím).

7. Napíšte, ktorý z vami identifikovaných osmoregulátorov, má najmenej efektívnu osmoreguláciu.

---

8. Je na základe vašich výsledkov pravdepodobnejšie, že žiabronôžky sú osmokonforméry alebo osmoregulátory? Prečo?

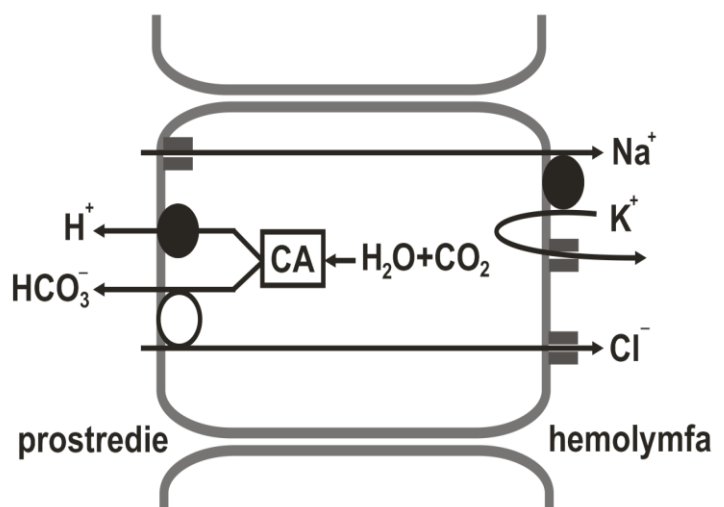
---



---

9. Hoci krab *Cancer gracilis* a ulitník *Lottia scutum* majú veľmi podobnú závislosť osmolarity telesných tekutín na osmolarite prostredia, *Lottia* dokáže tolerovať omnoho širšie rozpätie osmolarity. Navrhňte možné vysvetlenie tohto pozorovania.

10. Dôležitým osmoregulačným orgánom vodných organizmov sú žiabre, ktoré vďaka svojmu veľkému povrchu efektívne sprostredkovávajú nielen výmenu plynov ale aj iónov. Na obrázku nižšie vidíte schému transportu iónov cez žiabrový epitel kraba riečneho (*Eriocheir sinensis*), ktorý je hyperosmoregulátorom. Čierne kruhy znázorňujú aktívny transport ( $H^+$  ATP-áza a  $Na^+/K^+$  ATP-áza), biely kruh znamená sekundárne aktívny transport pomocou iónového výmenníka. Sivé štvorce predstavujú iónové kanály. CA je enzým karboanhydráza, ktorý katalyzuje reakciu oxidu uhličitého a vody na protóny vodíka a bikarbonátové ióny.



Pre každý z nasledujúcich experimentálnych zásahov označte, či očakávate, že pri nich osmolarita hemolymfy zostane zachovaná (0) alebo povedú k jej zvýšeniu (+), resp. zníženiu (-).

	Osmolarita
Podanie inhibítora $Na^+/K^+$ ATP-ázy	
Podanie látky, ktorá uzatvára $Na^+$ kanály	
Podanie analógu ATP, ktorý nie je možné hydrolyzovať	
Podanie inhibítora karboanhydrázy	
Podanie látky, ktorá uzatvára $K^+$ kanály	
Zvýšenie aktivity $Na^+/K^+$ ATP-ázy	
Zvýšenie množstva $K^+$ v prostredí	

## Dlhodobé prežívanie žiabronôžok

Salinita je uvedená v gramoch NaCl na liter roztoku.

