

## Praktická úloha č. 2

### Botanika nižších rastlín

#### Téma: Anatómia, fyziológia a ekológia rozsievok (*Bacillariophyceae*)

Rozsievky (*Bacillariophyceae*) sú jedným z najrozšírenejších zástupcov rias vo vodných spoločenstvách a nachádzajú sa takmer všade na svete. Typické sú schránkou tvorenou z dvoch častí, ktoré do seba zapadajú. Spolu s nálevníkmi, panciernatkami, výtrusovcami a množstvom ďalších organizmov patria tieto jednobunkovce do nadskupiny (*supergroup*) SAR (názov je skratkou zo Stramenopila, Alveolata a Rhizaria). Ich rozšírenie a množstvo unikátnych vlastností (zloženie fotosyntetických pigmentov, tvorba schránok, tvorba zásobných látok, postavenie v geochemických procesoch) z nich robí významnú súčasť biosféry. Vašou úlohou bude preskúmať prítomnosť rozsievok vo vzorkách zo slovenských vodných tokov a odpovedať na otázky súvisiace s ekológiou a fyziológiou týchto rias.

Pomôcky: mikroskop, skúmavka so vzorkou, podložné sklíčka, krycie sklíčka, kvapkadlo, papierové utierky, voda na čistenie sklíčok

**1. úloha:** V skúmavke na pracovnom stole máte pripravenú vzorku bentosu odobratého z povrchu kameňov v riečnom koryte. Detrit by mal byť usadený na dne skúmavky – na pozorovanie odoberte vzorku z najvrchnejšej vrstvy detritu. Pripravte mikroskopický preparát a nájdite v ňom rozsievky. Po zaostrení preparátu na bunky ich zakreslite do priestoru nižšie. Zakreslite aspoň štyri rôzne druhy rozsievok. Po zakreslení **privolajte pedagogický dozor na kontrolu preparátu** – za správne pripravený preparát a zodpovedajúci nákres vám budú udelené body. V prípade, že vaša vzorka obsahuje málo rozsievok, môžete do nákreсу nižšie zakresliť bunky z viacerých zorných polí – pedagogický dozor však musí skontrolovať pre každý jednotlivý nákres, či ste takéto bunky skutočne aj pozorovali v mikroskope. **Nákres, ktorý nebude podložený pozorovaním v mikroskope, nebude ohodnotený a nemôžete ho použiť pre určovanie v úlohe 2.** Nákresy popíšte.

Nákres:

Druh 1

Druh 2

Druh 3

Zväčšenie:

Druh 4

Ďalšie pozorovania

Kontrola nákresu pedagogickým dozorom:

Druh 1	Druh 2	Druh 3	Druh 4

**2. úloha:** Vyberte si dva druhy rozsievok, ktoré sa nachádzajú vo vašom preparáte a sú prítomné na nákrese vyššie. Určite tieto rozsievky do rodu s použitím nižšie uvedeného dichotomického určovacieho kľúča. (Na Slovensku sa vyskytujú stovky druhov rozsievok – ak druh, ktorý ste si vybrali, nedokážete určiť podľa kľúča, nemusí sa tam nachádzať – vyberte si na určovanie iný druh.)

1. Viacero buniek je zoskupených do tabuľkovitej kolónie .....2  
 Jednotlivé bunky sú prevažne samostatné.....3

2a. Kolónie sú tvorené viacerými zhlukmi buniek spojených na rohoch alebo vytvárajú hviezdicovité usporiadanie.....*Tabellaria sp.*

2b. Bunky asociujú do veľkých kolónií, chloroplasty jednotlivých buniek sú umiestnené hlavne v centrálnej časti bunky.....*Fragilaria sp.*

3a. Bunky sú pri pohľade zhora kruhové alebo oválne.....4

3b. Bunky sú najmenej štyrikrát také dlhé ako široké a bilaterálne súmerné.....6

4a. Bunky sú pri pohľade zhora kruhové, ryhy sú viditeľné najmä po obvode, smerujú k stredu schránky..... *Cyclotella sp.*

4b. Bunky sú pri pohľade zhora oválne.....5

5a. Bunka je pri pohľade zhora pravidelne oválna, s ryhami viditeľnými naprieč celou schránkou, chloroplast je umiestnený centrálné.....*Cocconeis sp.*

5b. Výrazná a široká stredná ryha (rafé), chloroplast tvaru písmena H, jednotlivé časti schránky majú mesiačkovitý tvar (pozorovateľné aj samostatne).....*Amphora sp.*

6a. Bunka je v strede zúžená, ryhy viditeľné najmä po obvode schránky.....*Cymatopleura sp.*

6b. Bunky sú v strede najširšie .....7

7a. Schránka nie je súmerná podľa priečnej osi, jeden koniec bunky je zúžený.....*Roicosphenia sp.*

7b. Schránka je súmerná podľa priečnej osi.....8

8a. Schránka má lodičkovitý tvar, na koncoch je zašpicatená, v bunke sú viditeľné dva chloroplasty, ktoré prechádzajú po obvode bunky.....*Navicula sp.*

8b. Konce schránky sú zaoblené alebo je schránka dlhá a úzka..... 9

9a. Schránka je aspoň päťkrát taká dlhá ako široká, dva chloroplasty sú oddelené priečne.....*Nitzschia sp.*

9b. Schránka je menej ako päťkrát taká dlhá ako široká.....10

10a. Schránka je približne rovnako široká po celej dĺžke, pri pohľade z boku sú viditeľné dva chloroplasty oddelené pozdĺžnou osou bunky.....*Pinnularia sp.*

10b. Schránka je rozšírená v strede, zakončenia schránky sú oblé a mierne pretiahnuté.....*Achnantheidium sp.*

Na nasledujúcich riadkoch uveďte pre obidva určované druhy rodový názov riasy, ktorú ste určili, identifikujte, o ktorý nákres sa jedná (druh 1/2/3/4 z nákresu v úlohe 1) a zaznačte postupnosť bodov v dichotomickom kľúči, ktoré vás priviedli k určeniu jednotlivých druhov:

Určovaný druh – číslo nákresu:

Názov:

Postupnosť krokov v kľúči:

Určovaný druh – číslo nákresu:

Názov:

Postupnosť krokov v kľúči:

**3. úloha:** Rozsievky patria medzi významné indikátory čistoty životného prostredia. Na Slovensku bolo doteraz objavených niekoľko stoviek druhov rozsievok, ktoré majú rôznu schopnosť tolerovať znečistenie. Nasledujúca tabuľka uvádza výsledky monitoringu druhového zastúpenia rozsievok v niekoľkých nádržiaciach na Slovensku. Čísla v tabuľke uvádzajú v percentách, v koľkých vzorkách z danej nádrže sa daný druh vyskytol.

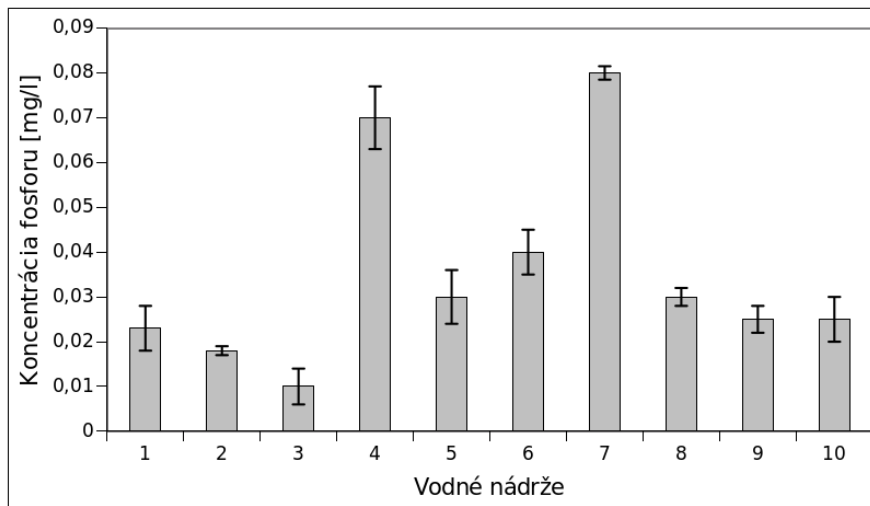
Druh	Vodné nádrže									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Achnantheidium minutissimum</i>	25,4	13,1	13,4	8,1	10,5	9,9	6,6	8,5	0,1	4,7
<i>Asterionella formosa</i>	0,6	2	0,6	5,8	0,4	0,1		0,6		0,9
<i>Cyclotella wuethrichiana</i>			0,5							
<i>Nitzschia inconspicua</i>				1,4			1,1			
<i>Fragilaria crotonensis</i>	1,1	4,8	0,3	9	3,5					9,7
<i>Navicula reichardtiana</i>	0,5	0,7	0,1	0,2	1,6	1,8	1,5	1,4	0,1	0,3
<i>Denticula tenuis</i>			7,9	0,1		0,1				
<i>Pseudostaurosira robusta</i>			2,8							

a) Uveďte, ktorý z druhov v tabuľke je euryekný (má širokú ekologickú valenciu) a ktorý je stenoekný (s úzkou ekologickou valenciou) – vyberte jeden najcharakteristickejší druh pre každú kategóriu:

Euryekný:

Stenoekný:

Ďalšia tabuľka uvádza obsah fosforu v nádržiaciach, z ktorých boli odoberané vzorky. V grafe je zaznačená priemerná hodnota obsahu fosforu, úsečky pri každom stĺpci označujú smerodajnú odchýlku.



b) Ktoré tri z uvedených nádrží považujete na základe dostupných údajov za najviac znečistené?

---

c) Ktoré z druhov rozsievok uvedených v tabuľke vyššie môžu podľa vás fungovať ako bioindikátory miery znečistenia životného prostredia? Uveďte všetky relevantné možnosti.

---



---



---

d) Označte, pre ktoré z nasledujúcich charakteristík meraných vo vodných nádržiach platí, že jej zvýšené hodnoty naznačujú zvýšenú mieru znečistenia vody:

- A) obsah dusíka
- B) zákal
- C) pH
- D) teplota vody
- E) obsah chlořofylu a

**4. úloha:** Morské rozsievky hrajú významnú úlohu ako geochemický element. Po odumretí bunky často klesajú na dno, kde sú málokedy rozložené a postupne sú zabudované do hlbokomorských sedimentov.

a) Rozsievky, ktoré majú vyšší pomer kremíka a uhlíka (Si:C) sú častejšie zabudované do hlbokomorských sedimentov. Prečo je to tak?

- A) Veľké množstvo uhlíka v tele rozsievky znamená nahromadenie zásobných látok, ktoré sú ťažké, a tým uľahčujú klesanie bunky na morské dno.
- B) Veľké množstvo uhlíka znamená masívnu schránku, ktorá je schopná efektívnejšie klesať na morské dno.
- C) Vysoké množstvo kremíka naznačuje, že bunka nahromadila veľké množstvo zásobných látok (napr. olejov), ktoré spôsobia menej efektívne klesanie na dno, pretože majú nižšiu hustotu ako voda.
- D) Vysoké množstvo kremíka znamená masívnu schránku, ktorá je schopná efektívnejšie klesať na morské dno.

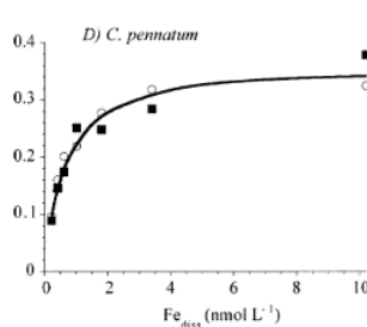
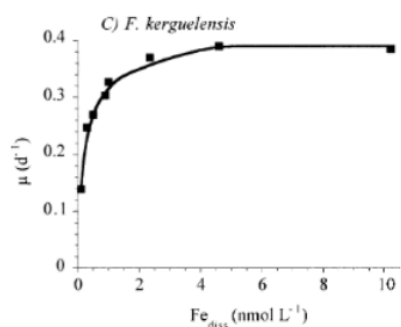
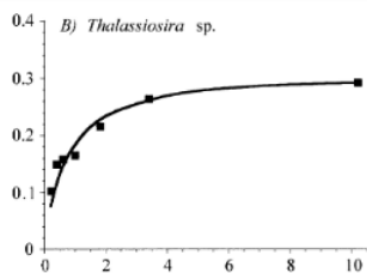
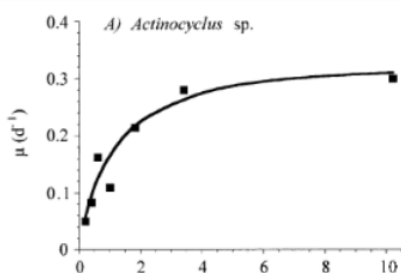
b) Akú úlohu v cykle uhlíka hrajú rozsievky?

- A) V procese fotosyntézy uvoľňujú z organických látok oxid uhličitý, čím zvyšujú jeho koncentráciu v atmosfére.
- B) V procese fotosyntézy fixujú oxid uhličitý z atmosféry do organických látok, ktoré sú spolu s ich bunkami deponované na morskom dne – znižujú teda množstvo CO<sub>2</sub> v atmosfére.
- C) V procese fotosyntézy premieňajú oxid uhličitý na kyslík, čo vedie k zmene pomeru týchto dvoch plynov v atmosfére.
- D) Svojou činnosťou udržiavajú koncentráciu CO<sub>2</sub> v atmosfére konštantnú.
- E) Ani jedno z vyššie uvedeného.

c) Niektorí vedci sa domnievajú, že jedno z riešení globálneho otepľovania by mohlo byť sprostredkované ovplyvnením rastu rozsievok v oceáne. Prečo?

- A) Stimulácia rastu rozsievok by viedla k zvýšenému uvoľňovaniu CO<sub>2</sub> do atmosféry, čo by pomohlo predísť zvyšovaniu teploty Zeme.
- B) Stimulácia rastu rozsievok by viedla k zvýšenému vychytávaniu CO<sub>2</sub> z atmosféry, čo môže viesť k zníženiu prejavov globálneho otepľovania.
- C) Keďže oxid kremičitý je významný skleníkový plyn, jeho zvýšené vychytávanie z atmosféry prostredníctvom stimulácie rastu rozsievok by mohlo prispieť k zníženiu skleníkového efektu.
- D) Prostredníctvom stimulácie rastu rozsievok by mohlo dôjsť k zvýšeniu koncentrácie kyslíka v atmosfére, a teda k zvýšeniu koncentrácie ozónu (O<sub>3</sub>), čo by následne viedlo k stabilizácii ozónovej vrstvy a zaceleniu ozónových dier.

d) Nižšie sú uvedené údaje z experimentov, pri ktorých bola testovaná odpoveď štyroch druhov rozsievok na prídavok železa do vody, v ktorej boli kultivované. Meraná bola rýchlosť rastu (grafy, udávaná v kumulatívnom násobnom prírastku biomasy za deň [d<sup>-1</sup>]) a depozícia kremíka do schránky (tabuľka).

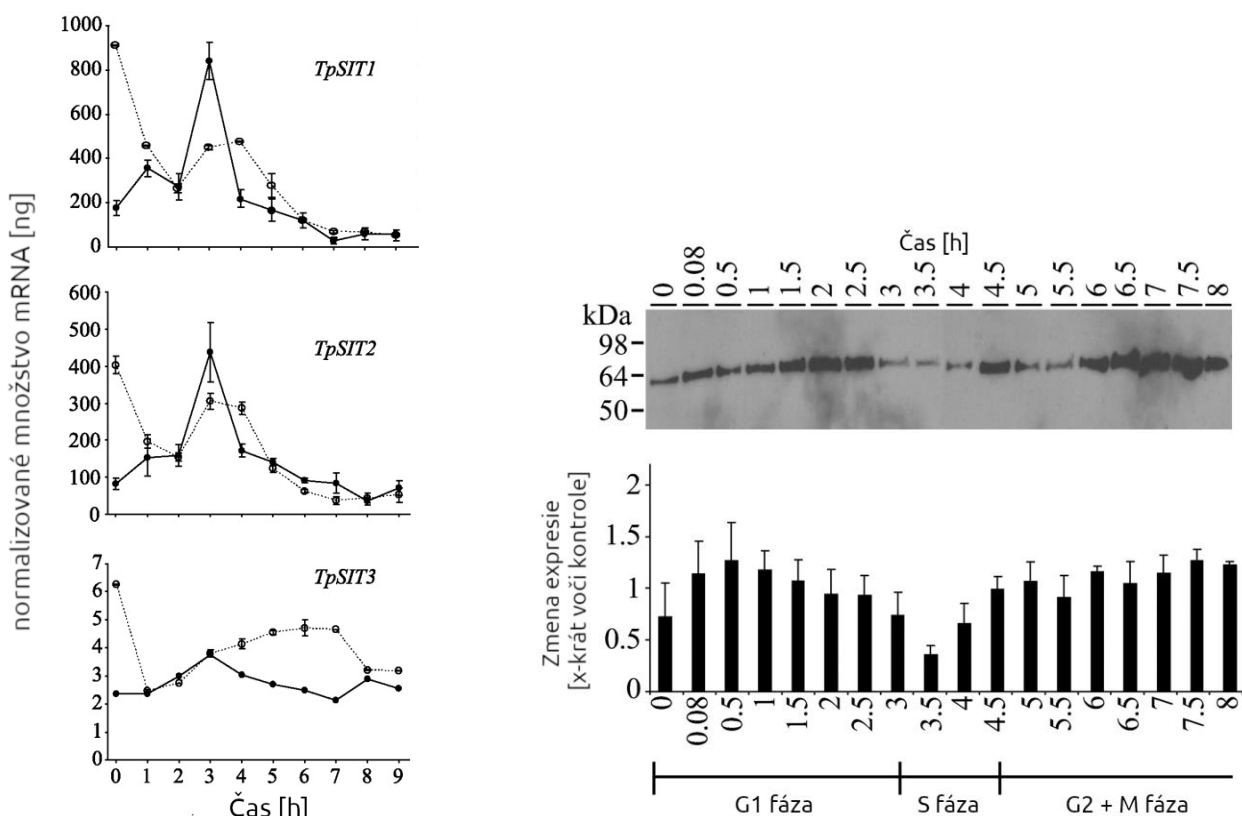


Fe <sub>diss</sub> (nmol L <sup>-1</sup> )	Si(OH) <sub>4</sub> (pmol cell <sup>-1</sup> )
<i>Actinocyclus</i> sp.	
0.2	1,436
0.4	1,657
0.6	1,225
1.0	704
1.8	941
3.4	784
10.2	624
<i>Thalassiosira</i> sp.	
0.2	58
0.4	43
0.6	54
1.0	34
1.8	38
3.4	29
10.2	23
<i>F. kerguelensis</i>	
0.11	6.7
0.25	5.5
0.40	4.2
0.68	4.9
1.25	4.0
2.40	3.8
4.69	3.2
9.17	4.2
<i>C. pennatum</i>	
0.2	216
0.4	267
0.6	184
1.0	186
1.8	248
3.4	256
10.2	ND

Na základe týchto údajov, aký efekt by malo pridanie železa do morskej vody? (Vo veľkej časti oceánov je primárna produktivita – a teda aj rast rozsievok – limitovaný obsahom železa.)

- A) Viedlo by to k vyššej miere zabudovania organického materiálu do hlbokomorských sedimentov.
- B) Rozsievky by rástli pomalšie, a zároveň by mali ťažšie schránky.
- C) Rozsievky by rástli rýchlejšie, a zároveň by mali ľahšie schránky.
- D) Bunky rozsievok by mali vyšší obsah kremíka, a teda by ľahšie sedimentovali.
- E) Ani jedno z vyššie uvedeného.

**5. úloha:** Tvorba schránok je u rozsievok vysoko regulovaný proces, ktorý stále nie je dostatočne preštudovaný. Je známe, že rozsievky používajú na presun kyseliny ortokremičitej do buniek aktívny transport prostredníctvom membránových transportérov kódovaných génmi SIT1, SIT2 a SIT3. Grafy nižšie zobrazujú mieru expresie mRNA a proteínov kódovaných týmito tromi génmi počas bunkového cyklu u rozsievky *Thalassiosira pseudonana*. V prípade mRNA (grafy vľavo) bola expresia meraná RT-qPCR a každý graf obsahuje krivky pre dve nezávislé repliky. V prípade proteínov (obrázok vpravo) je v hornej časti obrázka Western blot, v dolnej časti kvantifikácia signálu v jednotlivých dráhach vynesena do grafu – výška stĺpcov zodpovedá priemeru z troch meraní, úsečky zodpovedajú smerodajným odchýlkam; všetky tri proteíny – SIT1, 2 aj 3, boli v tomto prípade rozoznávané rovnakou protilátkou, a kvantifikácia preto zahŕňa všetky proteíny spoločne.



Ktoré z nasledujúcich tvrdení sú v súlade s pozorovanými experimentami?

- A) Transport kremíka prebieha najmä v S-fáze.
- B) Transport kremíka prebieha najmä v G1 a v G2/M fáze.
- C) Transport kremíka je sprostredkovaný mRNA.

- D) Expresia transportérov kremíka SIT1, SIT2 a SIT3 je významne regulovaná na post-transkripčnej úrovni.
- E) Expresia transportérov kremíka SIT1, SIT2 a SIT3 je významne regulovaná na post-translačnej úrovni, čo vedie ku kolísavým hladinám mRNA v nezávislých experimentoch.
- F) Množstvo mRNA všetkých troch génov stúpa v S fáze.
- G) Polčas rozpadu mRNA týchto génov sú 4 hodiny.
- H) Množstvo mRNA a proteínov kódovaných týmito génmi vzájomne koreluje v každej fáze bunkového cyklu.

Autor: Mgr. Katarína Juríková, PhD.

Recenzent: Oliver Pitoňak