

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra botaniky**

**Životní cykly sinic v Národní přírodní památce Třesín**

**Diplomová práce**

**Bc. Lucie Škopíková**

Studijní program: N1501 - Biologie

Studijní obor: Biologie - Geografie

Forma studia: Prezenční

**Olomouc 2019**

**Vedoucí práce: doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.**

**Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně podle metodických pokynů vedoucího práce a za použití uvedené literatury.

V Olomouci dne

.....

Bc. Lucie Škopíková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Petru Hašlerovi, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a za veškerý čas, který mi při zpracování diplomové práce věnoval.

## Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Bc. Lucie Škopíková

Název práce: Životní cykly sinic v Národní přírodní památce Třesín

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP

Vedoucí práce: doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2019

### Abstrakt:

V předkládané diplomové práci jsem provedla studii zaměřenou na výskyt a životní cykly sinic v lokalitě Národní přírodní památky Třesín. V rešeršní části poskytuji přehled aktuálního taxonomického systému sinic a charakteristiky konkrétních řádů. V praktické části se věnuji popisu biodiverzity nalezených druhů sinic v NPP Třesín a popisu jejich životních cyklů v rámci sezonní dynamiky. Z mého výzkumu je patrné, že změny v druhovém složení sinic a jejich životních cyklech jsou závislé především na abiotických podmínkách a jejich růstová fáze je omezena především na letní měsíce v důsledku závislosti na teplotě. Ze vzorků jsem určila celkem 16 druhů sinic a zjistila nejčastější výskyt druhů: *Gloeocapsa punctata*, *Gloeocapsa alpina*, *Gloeocapsa aeruginosa*, *Leptolyngbya* sp., *Potamolinea* sp. a *Phormidium nigrum*. Součástí práce je i didaktická část, ve které jsem zhodnotila využitelnost NPP Třesín pro praktickou výuku biologie, využitelnost sinic ve výuce a určila vhodné druhy sinic do výuky biologie. Sinice jsou velmi vhodné a snadno využitelné pro praktickou výuku biologie z hlediska jejich lehké dostupnosti v přírodě. Pro praktickou výuku jsem navrhla laboratorní cvičení včetně vycházky do přírody, laboratorního protokolu, pracovního listu pro určení zástupců sinic a návrh práce s textem na téma sinice a tvorba vodního květu.

Klíčová slova: životní cykly sinic, diverzita sinic, Národní přírodní památka Třesín, skalnaté podklady, sběr vzorků, vápence.

Počet stran: 78

Počet příloh: 5

Jazyk: Čeština

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Bc. Lucie Škopíková

Title: Life cycles of cyanobacteria in National natural memory Třesín

Type of thesis: Diploma

Department: Department of Botany PřF UP

Supervisor: doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

The year of presentation: 2019

### **Abstract:**

In this diploma thesis I made a study focused on the occurrence and life cycles of cyanobacteria in the National natural memory Třesín. In the theoretical part, I provide an overview of the current taxonomic system of cyanobacteria together with the characteristics of their particular orders. In the practical part, I describe the biodiversity of cyanobacteria species found in NPP Třesín and their life cycles within seasonal dynamics. My research shows that changes in cyanobacterial species composition and their life cycles are mainly depended on abiotic conditions and their growth phase is limited primarily by temperature. From the studied samples, 16 species of cyanobacteria were identified, with the most frequent occurrence of: *Gloeocapsa punctata*, *Gloeocapsa alpina*, *Gloeocapsa aeruginosa*, *Leptolyngbya* sp., *Potamolinea* sp. and *Phormidium nigrum*. One part of this work is also didactic, in which I evaluated the suitability of NPP Třesín for the practical training of biology students, as well as the use of cyanobacteria in teaching. Furthermore I determined suitable types of cyanobacteria for the biology teaching. In general, cyanobacteria are very easy to use for the practical training of biology due to their common accessibility in the nature. For the practical training I designed a laboratory exercise which includes course in the nature, a laboratory protocol and worksheet for the determination of cyanobacteria representatives and also a proposal of work with some information about cyanobacteria and the creation of water bloom.

Keywords: life cycles of cyanobacteria, diversity of cyanobacteria, National natural memory Třesín, rocky substrates, sample collection, limestones.

Number of pages: 78

Number of appendices: 5

Language: Czech

## Obsah

|         |                                                                          |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 1       | Systém sinic.....                                                        | 1  |
| 1.1     | Řád Chroococcales .....                                                  | 3  |
| 1.1.1   | Buněčná morfologie a struktura .....                                     | 3  |
| 1.1.2   | Kolonie, jejich stavba a význam v taxonomii.....                         | 4  |
| 1.1.3   | Buněčné dělení, reprodukce .....                                         | 5  |
| 1.1.4   | Problematika taxonomie rodu <i>Asterocapsa</i> a <i>Gloeocapsa</i> ..... | 8  |
| 1.1.4.1 | Rod <i>Gloeocapsa</i> .....                                              | 8  |
| 1.1.4.2 | Rod <i>Asterocapsa</i> .....                                             | 11 |
| 1.2     | Řád Oscillatoriales .....                                                | 13 |
| 1.2.1   | Buněčná morfologie a struktura .....                                     | 13 |
| 1.2.2   | Morfologie vlákna .....                                                  | 16 |
| 1.2.3   | Větvení vláken.....                                                      | 17 |
| 1.2.4   | Buněčné dělení, reprodukce .....                                         | 18 |
| 1.2.5   | Struktura stélek – kolonie .....                                         | 21 |
| 1.3     | Řád Gloeobacterales .....                                                | 22 |
| 1.4     | Řád Synechococcales.....                                                 | 22 |
| 1.5     | Řád Spirulinales .....                                                   | 23 |
| 1.6     | Řád Pleurocapsales .....                                                 | 24 |
| 1.7     | Řád Chroococcidiopsidales.....                                           | 25 |
| 1.8     | Řád Nostocales .....                                                     | 25 |
| 2       | Metodika práce.....                                                      | 29 |
| 2.1     | Sběr vzorků .....                                                        | 29 |
| 2.2     | Práce v laboratoři .....                                                 | 29 |
| 2.3     | Kultivace vzorků.....                                                    | 30 |
| 2.4     | Determinace vzorků.....                                                  | 31 |
| 3       | Výsledky.....                                                            | 32 |
| 3.1     | Jeskyně Podkova.....                                                     | 32 |
| 3.2     | Řimické vyvěračky .....                                                  | 36 |
| 3.3     | Zhodnocení využitelnosti NPP Třesín pro praktickou výuku biologie.....   | 38 |
| 3.4     | Didaktická část.....                                                     | 40 |
| 3.4.1   | Téma sinic a řas ve výuce.....                                           | 40 |
| 3.4.2   | Laboratorní cvičení.....                                                 | 42 |

|         |                                                         |    |
|---------|---------------------------------------------------------|----|
| 3. 4. 3 | Návrh laboratorního cvičení a vycházky do přírody ..... | 43 |
| 3. 4. 4 | Návrh laboratorního protokolu .....                     | 45 |
| 3. 4. 5 | Návrh pracovního listu pro určení zástupců .....        | 48 |
| 3. 5    | Vhodné druhy sinic do výuky biologie .....              | 53 |
| 3. 6    | Návrh práce s textem .....                              | 57 |
| 3. 6. 1 | Řešení .....                                            | 58 |
| 4       | Diskuze.....                                            | 59 |
| 5       | Závěr.....                                              | 65 |
| 6       | Seznam literatury.....                                  | 67 |
| 7       | Přílohy .....                                           | 78 |

## Úvod

Tato diplomová práce zahrnuje analýzu celkem 42 vzorků sinic ze suchozemského stanoviště jeskyně Podkovy a vodního stanoviště Řimických vyvěraček v Národní přírodní památce Třesín.

V teoretické části diplomové práce se jako první zabývám taxonomickým systémem sinic, jeho vývojem a změnami v průběhu let a jeho nejnovější podobou. Na systém sinic jsem navázala charakteristikou jednotlivých řádů sinic, popisem jejich morfologie, struktury, buněčného dělení a reprodukce.

V druhé a třetí části práce popisuji metodiku a výsledky získané v laboratoři. Součástí výsledků je didaktická část, ve které hodnotím využitelnost NPP Třesín pro praktickou výuku biologie a zabývám se zařazením tématu sinic a řas do výuky a laboratorních cvičení na středních školách. Součástí didaktické části je návrh laboratorního cvičení a vycházky do přírody, návrh laboratorního protokolu, návrh pracovního listu pro určení zástupců, návrh vhodných sinic do výuky biologie a návrh práce s textem na téma sinice a tvorba vodního květu.



## 1 Systém sinic

Sinice jsou zvláště náročnou skupinou pro klasifikaci s ohledem na prokaryotickou stavbu jejich buněk. Jsou jedny z nejstarších organismů na Zemi, přičemž někteří fosilní zástupci mají velmi podobnou morfologii současným druhům (Schopf 1974, Knoll 2008).

V průběhu let bylo publikováno několik systémů klasifikace sinic. Po prvních klasifikačních systémech (Gomont 1892, Bornet & Flahault 1886-1888), Geitler (1925) jako první navrhl třídění sinic na úrovni řádů Chroococcales, Stigonematales, Entophysalidales, Pleurocapsales, Dermocarpales, Siphononematales, Nostocales a Stigonematales. O sedm let později akceptoval návrh třídění dle konceptu od Frémy (1929), který zahrnoval pouze tři řády: Chroococcales, Chamaesiphonales a Hormogonales (Geitler 1932).

O deset let později Geitler stanovil třídění sinic na řády Chroococcales, Dermocarpales, Pleurocapsales a Hormogonales (Geitler 1942). Tento systém akceptovali s jistými modifikacemi Elenkin (1936–1949) a Starmach (1966). Desikachary (1959) zahrnuje druhy s pravým větvením v rámci řádu Stigonematales. Ostatní druhy tvořící akinety a heterocyty řadí v rámci řádu Nostocales. Rippka a kol. (1979) navrhuje vytvoření pěti hlavních skupin (sekcí) sinic na úrovni známých řádů, které se staly základem pro klasifikaci v „Bergey's Manual of Systematic Bacteriology“ Bergeyově manuálu systematické bakteriologie. Tyto hlavní skupiny byly: I (= Chroococcales), II (= Pleurocapsales), III (= Oscillatoriales) (= Nostocales) a V (= Stigonematales) (Castenholz 2001).

Taxonomický systém sinic se radikálně změnil se zavedením elektronové mikroskopie a molekulárních metod využívaných pro charakterizaci taxonů sinic. V tomto období byly sinice nejčastěji rozdělovány na základě buněčné morfologie do čtyř řádů: Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales a Stigonematales (Komárek a Anagnostidis 1999, 2005). Někteří autoři ještě udávali řád Pleurocapsales (Rippka a kol. 1979 nebo Caudales a kol. 2000). Tento řád zahrnoval sinice, které vytváří nepravá vlákna a rozmnožují se pomocí tzv. baeocytů (Caudales a kol. 2000). Použití modernějších systémů vyšší úrovně doporučoval Hoffmann a kol. (2005), kteří rozdělovali třídu *Cyanophyceae* na čtyři podtřídy: *Gloeobacteriophycidae*, *Synechococcophycidae*, *Oscillatoriohaptophycidae* a *Nostochophycidae*. Tento systém odrážel fylogenezi a byl výrazně odlišný od minulých systémů. Kokální druhy (dříve Chroococcales) a vláknité druhy (dříve Oscillatoriales) jsou do jisté míry smíšeny, přičemž zástupci řádů *Synechococcales* a *Pseudanabaenales* zahrnují jak kokální, tak vláknité zástupce obsahující buňky s parietálně uspořádanými tylakoidy (*Synechococcophycidae*). Chroococcales

a Oscillatoriales mající složitější architekturu uspořádání tylakoidů (*Oscillatoriohyphyidae*) (Komárek a Kaštovský 2003).

Tento systém prošel během několika let změnami a následně Komárek a kol. (2014) představují nový systém sinic, který je založená na kombinaci hodnocení morfologických znaků a fylogenetické analýzy. Systém sinic je zde rozdělen do 8 řádů: Gloeobacterales, Synechococcales, Spirulinales, Chroococcales, Pleurocapsales, Oscillatoriales, Chroococcidiopsidales a Nostocales. Tento systém je nadřazen staršímu schématu klasifikace, protože lépe odráží fylogenezi. Je pravděpodobné, že v blízké budoucnosti budou provedeny další revize (Komárek a kol. 2014).

S ohledem na didaktické potřeby výuky biologie na středních školách bývá implementace nových vědeckých poznatků komplikovaná. Žáci a studenti nemají ucelené znalosti z fylogenetiky, aby jim umožňovaly správnou orientaci v nových klasifikačních systémech, proto dřívější systém podle Anagnostidis a Komárek (1985-2005) se jeví vhodnější.

## 1. 1 Řád Chroococcales

Do řádu Chroococcales náleží kokální samostatně žijící sinice nebo kokální sinice vytvářející kolonie. Buněčná diferenciace může být v rámci kolonie složitější. Zástupci řádu Chroococcales se vyskytují jak ve vodním, tak suchozemském prostředí (Anagnostidis a Komárek 1999).

Ve srovnání se starším systémem, který zahrnoval kokální sinice s mnohem komplikovanější cytologií, byl tento řád značně redukován. Nyní je omezen pouze na kokální sinice, které mají nepravidelné tylakoidní uspořádání (Komárek 2014).

Do řádu Chroococcales náleží čeledi *Microcystaceae*, *Aphanothecaceae*, *Cyanobacteriaceae*, *Cyanothrichaceae*, *Stichosiphonaceae*, *Chroococcaceae*, *Gomphosphaeriaceae* a *Entophysalidaceae* (Komárek a kol. 2014).

### 1. 1. 1 Buněčná morfologie a struktura

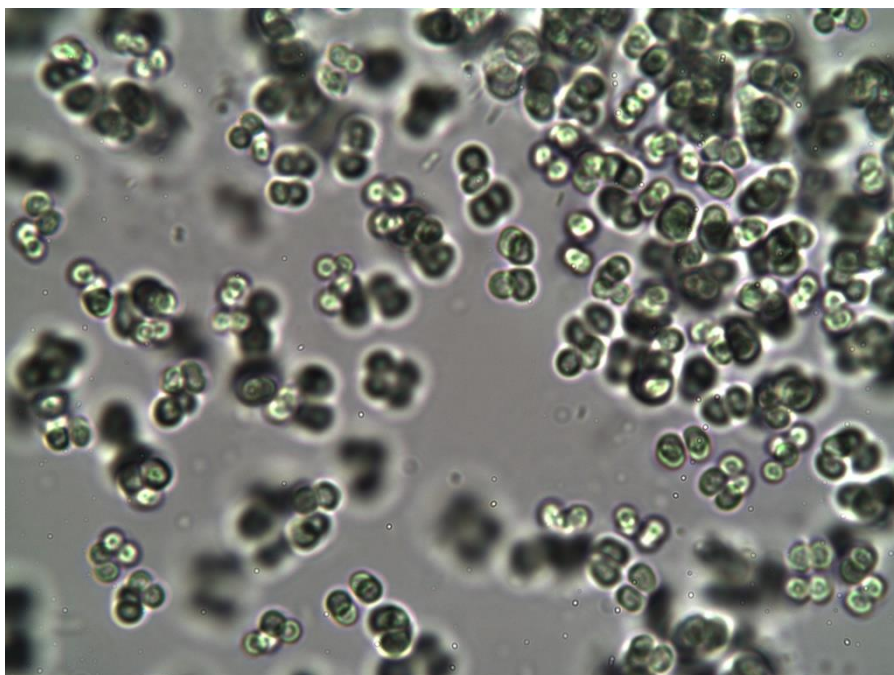
Chroococcales mají velkou variabilitu ve tvaru buněk. Vytváří nepravidelné kulovité, oválné, tyčinkovité, a zřídka větvenovitě tvarované buňky existující jako samostatné buňky nebo buňky tvořící kolonie. Struktura buňky je uniformní a má podobné vnitřní uspořádání. Tvar buněk je stabilní u všech rodů a je ovlivňována faktory vnějšího prostředí a modifikací základního typu dělení (během životního cyklu a buněčného růstu). Souhrn těchto cytomorfologických znaků se používá jako diferenciační znak na úrovni rodů nebo čeledí (Anagnostidis a Komárek 1999).

Souhrnně je cytologie tohoto řádu jednoduchá a všechny buňky mají stejný základní typ buněčné struktury. Slizové obaly se mohou značně lišit mezi jednotlivými rody a druhy (konzistence slizu, jeho ohraničení, šířka, vrstvení a zbarvení), ale jejich charakter je obvykle specifický pro daný taxon (Anagnostidis a Komárek 1999).

### 1. 1. 2 Kolonie, jejich stavba a význam v taxonomii

Zástupci některých rodů (např. *Cyanothece*, *Synechococcus*, *Synechocystis*) žijí jako samostatné buňky, kolem kterých se může vyvinout tenká vrstva velmi jemného slizového obalu. Ve všech ostatních případech se buňky shromažďují do různých forem kolonií. Struktura slizu a výsledná kolonie mohou být pro rody příznačné. Vrstevnatost nebo stratifikace slizu vznikají při jeho periodickém vylučování (obvykle z buněk po sobě jdoucích generací) (Anagnostidis a Komárek 1986).

Forma kolonie je výsledkem charakteristické produkce slizu v kombinaci s typem dělení buněk a polarity buněk. Kolonie mohou být kulovité, nepravidelné, mikroskopické nebo makroskopické, volně plovoucí nebo připevněné k substrátu (Anagnostidis a Komárek 1986). Kulovité až polokulovité mikroskopické kolonie vytváří např. jednobuněčný rod *Chroococcus* (viz obrázek číslo 1).

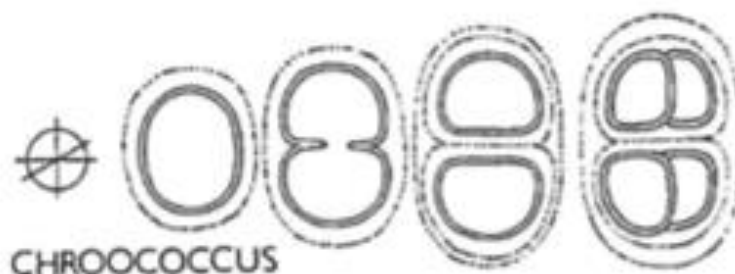


Obrázek č. 1: Kolonie *Chroococcus* – NPP Třesín

### 1. 1. 3 Buněčné dělení, reprodukce

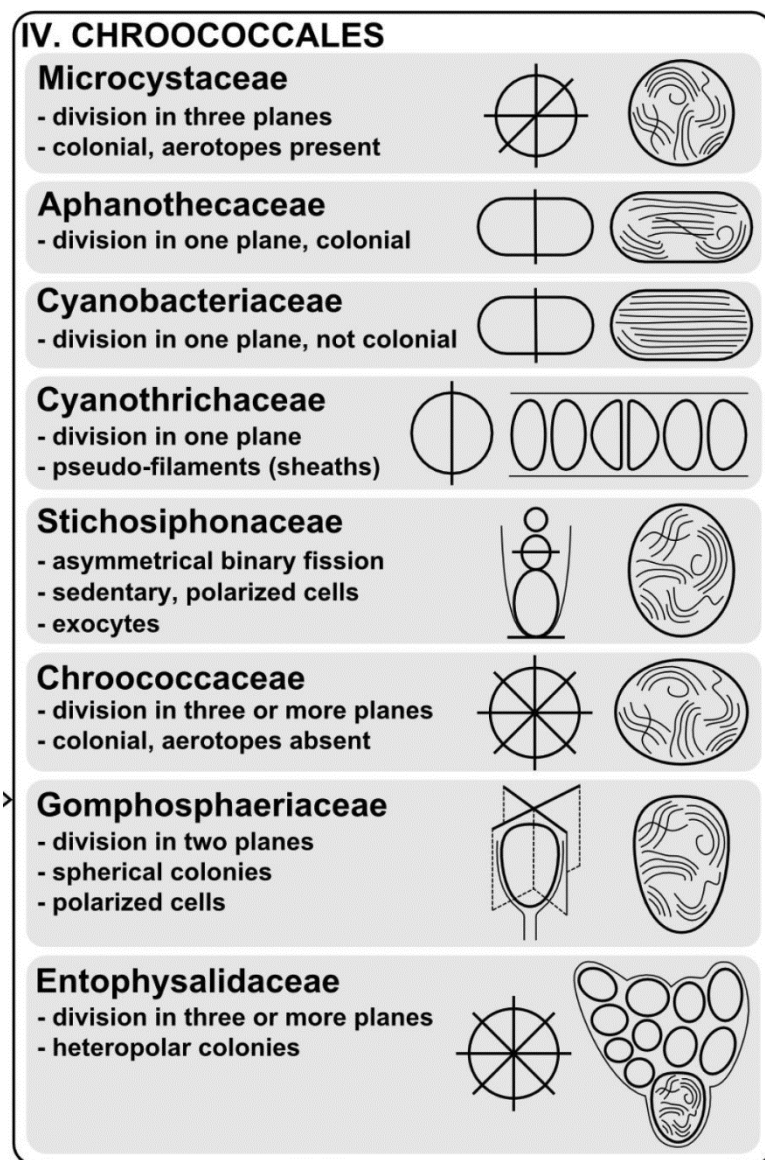
Buňky u řádu Chroococcales se dělí v jedné nebo více rovinách (Komárek a kol. 2014). V zásadě je dělení buněk u všech druhů sinic podobné. Plazmatická membrána, po níž následují vrstvy buněčných stěn, vrůstá (po replikaci genomu) centripetálně do protoplastu a rozděluje buňku na dvě části (binární dělení). Tento proces se vyskytuje v četných modifikacích, které jsou primárním kritériem pro klasifikaci na úrovni rodu. Dceřiné buňky rostou přibližně do původní velikosti a tvaru a poté následuje další rozdělení. Tento proces je spojen s velmi důležitými charakteristikami, které se používají k vymezení jednotlivých čeledí kokálních sinic (Anagnostidis a Komárek 1986).

Na obrázku 2 je znázorněno jednoduché binární dělení, dělení mateřské buňky na dvě stejné části. Dceřiné buňky rostou přibližně do původní velikosti a tvaru a poté následuje další rozdělení (Anagnostidis a Komárek 1986).



Obrázek č. 2: Binární dělení u rodu *Chroococcus* (Komárek a Anagnostidis 1986)

Na schématu (obrázek 3) jsou znázorněny jednotlivé čeledi řádu Chroococcales a jejich důležité taxonomické znaky, které umožňují jejich rozlišení (Komárek a kol. 2014).



Obrázek č. 3: Schématické rozdělení řádu Chroococcales (Komárek a kol. 2014)

Buněčné dělení je spojeno s velmi důležitými charakteristikami, které se používají k vymezení jednotlivých čeledí kokálních sinic (Anagnostidis a Komárek 1986). Anagnostidis a Komárek (1986) vymezují celkem 3 různé způsoby buněčného dělení podle orientace roviny dělení:

- Rovina dělení je orientována ve všech následujících generacích kolmo k podélné ose buňky (tato orientace je snadno rozpoznána, zejména v podlouhlých buňkách). Například čeleď *Synechococcaceae* subf. *Aphanothecoideae*.
- Rovina dělení se pravidelně mění ve dvou kolmých směrech v následujících generacích (čeleď *Merismopediaceae*).
- Rovina dělení se pravidelně mění ve třech kolmých směrech (obvykle u typů s kulovitými buňkami). Například čeleď *Microcystaceae* (Anagnostidis a Komárek 1986).

#### 1. 1. 4 Problematika taxonomie rodu *Asterocapsa* a *Gloeocapsa*

Řada taxonů *Chroococcales* má složité životní cykly s různými stádii, které se mohou v různých rodech / druzích překrývat, což může vést k nesprávným interpretacím (např. *Asterocapsa* / *Gloeocapsa* / *Gloeocapsopsis*) (Komárek 1993).

##### 1. 1. 4. 1 Rod *Gloeocapsa*

Rod *Gloeocapsa* představuje heterogenní skupinu koloniálních sinic, které tvoří malé nebo střední kulovité nebo oválné buňky, které jsou pokryty slizovými obaly různých barev. Většina druhů preferuje aerofytická nebo subaerofytická stanoviště, např. vlhké skály nebo kůru stromů (Komárek a Anagnostidis 1998). Několik zástupců rodu *Gloeocapsa* má morfológickou podobnost s rodem *Chroococcus*.

Životní cyklus rodu *Gloeocapsa* je specifický a zahrnuje několik odlišných morfológických fází, jejichž rozlišení je nezbytné při identifikaci druhů (Dvořák a kol. 2017). Životní cykly druhů rodu *Gloeocapsa* jsou ovlivněny sezónními podmínkami prostředí, které způsobují periodické morfológické změny během vegetativního období (Brand 1900). V rámci rodu *Gloeocapsa* tedy existuje několik morfológicky odlišných linií, které lze rozpoznat na základě velikosti buněk a barvy slizovitých obalů. Malé druhy (buňky <6 µm v průměru), jako jsou typické pro *G. punctata*, *G. atrata*, *G. fusco-lutea*, *G. compacta* nebo *G. aeruginosa* se vyskytují často v rámci aerofytických stanovišť. Identifikace druhů bez molekulárního potvrzení může být problematická z důvodu již zmíněných překrývajících se morfologií. Znalosti rozmanitosti druhů tvořících velké buňky (> 6 µm) jsou neúplné a současný výzkum je založen pouze na floristických datech a ekologiích populací (Dvořák a kol. 2017).

Tyto body spolu s obtížemi v rozpoznávání diakritických znaků jsou překážkami při identifikaci kokálních sinic. Největší variabilita kokálních morfotypů se nenachází ve vodních lokalitách, ale především v suchozemských prostředích, které jsou doteď nedostatečně prozkoumány. To vede k mezerám ve znalostech druhů a brání rekonstrukcím v oboru biogeografie a systematiky (Watson Arantes Gama Jr. a kol. 2014).

Brand (1900) a později zejména Nováček (1934), Jaag (1945), Golubic (1967) a Abdelahad & Bazzicheli (1991) studovali a rozpoznali v životních cyklech druhů *Gloeocapsa*



několik stádií (Komárek 1993). Ty stádia, která se vyskytují pravidelně v životním cyklu *Gloeocapsa*, byly popsány a ilustrovány ve schématech od Nováček (1934).

Období vegetační fáze *Gloeocapsa* s intenzivním buněčným dělením je charakterizováno dělením kulovitých buněk ve třech kolmých rovinách, které narůstají na generace (*status solutus*, *st. familiaris simplex* a *st. familiaris lamellosus*). Rozdělené buňky dosáhnou původní velikosti a tvaru před následujícím dělením (Golubic 1967). Několik dalších stavů představuje klidové stadium, ve kterých jsou buňky obaleny tenkými nebo tlustými, pevnými, vrstevnatými a často intenzivně zbarvenými obaly. V několika případech jsou obaly strukturované, zrnité nebo strukturované bradavičnatými výstupky na povrchu (stav *perdurans*, arthrospory: tabulka I). Buňky v těchto fázích se mohou také dělit, ale pouze na začátku nebo na konci fáze a brzy poté nastupuje vegetativní stav (Komárek 1993).

Nováček (1934) ve svých publikacích rozlišuje dvě skupiny druhů *Gloeocapsa*: (i) s kulovými buňkami (*G. alpina*, *G. biformis*, *G. compacta* a *G. nigrescens*) a (ii) s nepravidelnými buňkami *G. chroococoides*, *G. pleurocapsoides* a *G. dvorakii*). Ve druhé skupině se nevyskytují stavy, které jsou typické pro hlavní vegetační období *Gloeocapsa* (*status familiaris simplex*, *status solutus*) a jejich vegetativní fáze je tudíž reprezentována "klidovými stadii" (*status perdurans*, *status familiaris lamellosus*) (tabulka 1).

Tyto skutečnosti se shodují se studiemi Komárka (1993), který diskutuje morfologické odlišnosti odlišných skupin v rámci rodu *Gloeocapsa sensu* Nováček a část druhů kombinuje do rodu *Gloeocapsopsis*, např. *G. dvorakii* a *G. pleurocapsoides*. U těchto druhů nebyly nikdy nalezeny stádia s kulovitými buňkami a buňky se běžně a nepravidelně dělí ve *status perdurans* a *status familiaris lamellosus*.

Jaag (1945) zkoumal alpské druhy (*Gloeocapsa sanguinea*, *G. alpina*, *G. kuetzingiana*), které měly typický životní cyklus, ale se stádií podobnými *Gloeocapsopsis* (s nepravidelnými buňkami v jejich životních cyklech). Jejich fáze ("dauersporen", "arthrosporen", *status familiaris lamellosus*) jsou pravděpodobně spojeny se stadii typickými pro přechodné typy *Gloeocapsa*, a proto tyto druhy nemohou být z tohoto rodu vyloučeny. Jaagovy výsledky dokazují, že v typickém životním cyklu *Gloeocapsa* se mohou vyskytovat také stádia, která jsou charakteristická pro odvozené rody. Podobná stádia našli Abdelahad a Bazzicchelli (1991) u populací *Gloeocapsa* z hor v centrální Itálii, a to *G. compacta*, *G. sanguinea* a *G. kuetzingiana*. Ze všech těchto dat vyplývá, že existují některé rody (*Gloeocapsa*) v jejichž životním cyklu se vyskytuje více morfologicky odlišných fází, ale i některé jiné rody (např.

*Gloeocapsopsis*) které jsou charakteristické speciálními fázemi, které se vyskytují jen v omezené části životního cyklu *Gloeocapsa*.

Rody, jejichž morfologie v životním cyklu se shoduje pouze s některými fázemi *Gloeocapsa*, byly popsány pod názvy: *Anacystis* Meneghini 1837, *Asterocapsa* CHu 1952, *Cyanosarcina* Kováčik 1988, *Endospora* GARDNER 1927, *Gloeocapsopsis* GEITLER 1925 nebo *Nephrococcus* Li 1984. Některé tyto druhy byly obvykle považovány za vývojová stadia nebo ekomorfózy druhů rodu *Gloeocapsopsis* (Geitler 1925, Bourrelly 1977) a jejich taxonomická pozice je ve většině případů stále nejasná.



Obrázek č. 4: *Gloeocapsa aeruginosa* – NPP Třesín

#### 1. 1. 4. 2      Rod *Asterocapsa*

Rod *Asterocapsa* (CHu 1952) byl popsán v Číně z horských oblastí v provincii Sechwan společně s typovým druhem *Asterocapsa gloeotheciformis*. Rod je charakteristický nepravidelnými kulovitými nebo prodlouženými buňkami (jednotlivé, ve skupinách) obaleny hustými nebo tenkými, pevnými, granulovanými a mnohdy zabarvenými obaly. Buňky se dělí nepravidelným binárním dělením uvnitř slizového obalu, ve dvou nebo třech rovinách (Chu 1952). Rozdělené buňky se občas uvolňují z těchto obalů po jejich prasknutí. Povrch obalů jednotlivých buněk a kolonií je pokryt malými bradavičnatými výběžky různé délky. Rod *Asterocapsa* se liší od rodu *Gloeocapsa* v následujících rysech:

(i) V životním cyklu se nikdy nevyskytují kulovité buňky, které se pravidelně dělí ve třech kolmých rovinách v následujících generacích;

(ii) Buňky se nepravidelně dělí ve více rovinách;

(iii) Obaly s bradavičnatými výběžky jsou stále a vyskytují se během celého životního cyklu; toto je typické pro klidovou fázi rodu *Gloeocapsa* a vegetativní stadium rodu *Asterocapsa* (Aboal a kol. 2003).

Většina znalostí o tomto rodu pochází z oblastí mimo Evropu a doposud bylo popsáno celkem 16 druhů, které rozdělujeme celkem na 2 typy. Tyto dva typy se od sebe liší životními cykly. U druhů *Asterocapsa badii*, *A. atrata*, *A. fujianica*, *A. trochiscioides* a *A. masayuki-watanabei* byl nalezen pouze běžný cyklus typický pro rod *Asterocapsa*, zatímco pro druhy *Asterocapsa divina*, *A. magnifica*, *A. pulchra*, *A. purpurea* a *A. hyalina* jsou v životním cyklu typické kulovité kolonie s velkým počtem buněk (Aboal a kol. 2003).



Obrázek č. 5: *Asterocapsa submersa* (Eva Žiškova 2005)



Obrázek č. 6: *Asterocapsa* sp. – NPP Třesín

## 1. 2 Řád Oscillatoriales

Řád Oscillatoriales zahrnuje vláknité sinice, u kterých není zaznamenána tvorba heterocytů ani akinet (Anagnostidis a Komárek 2005). Podle nejnovějšího systému řád zahrnuje i kokální druhy sinic, které jsou fylogeneticky blízké rodu *Cyanothece*. Tento rod tvoří určitý stupeň mezi řádem Chroococcales a jinými řády s podobným tylakoidním uspořádáním (Komárek a kol. 2014).

Zástupci tohoto řádu se odlišují jeden od druhého primárně na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti slizové pochvy, avšak její tvorba je pouze jedním z diagnostických znaků, která navíc podléhá přímým účinkům prostředí, a proto tento znak není považovaný za spolehlivý (Rippka a kol. 1979, Whitton 1992). Do diagnostických znaků dále patří vzhled vlákna a jeho způsob větvení nebo barva buněk (obsah pigmentu) (Anagnostidis a Komárek 2005).

Do řádu Oscillatoriales náleží čeledi *Cyanothecaceae*, *Borziaceae*, *Coleofasciculaceae*, *Microcoleaceae*, *Homoeotrichaceae*, *Oscillatoriaceae* a *Gomontiellaceae* (Komárek a kol. 2014).

### 1. 2. 1 Buněčná morfologie a struktura

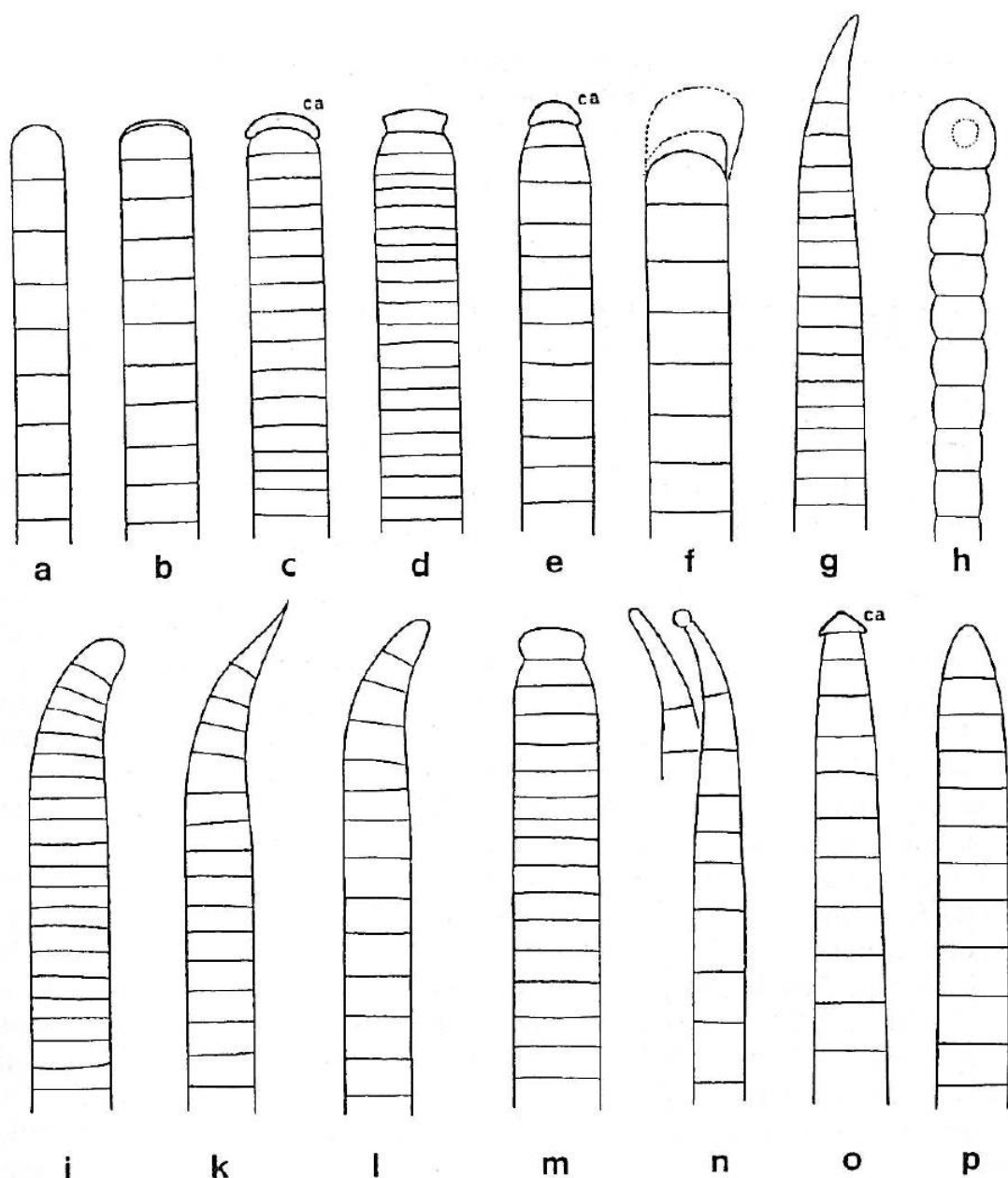
Vláknité taxony mají vlákna tvořena řadou buněk, jejichž morfologie je proměnlivá a závislá na podmínkách vnějšího prostředí. Buňky jsou nejčastěji válcovité, cylindrické, izodiametrické a několikrát kratší nebo delší než širší. Tvar buněk je do jisté míry geneticky fixován a může být použit jako rozlišovací znak mezi taxony. Buňky mají komplikovanější cytologii s radiálním (středovým) nebo nepravidelným tylakoidním uspořádáním. Uvnitř buněk se nachází různé druhy inkluzí (zásobních látek, různé typy granul, počet a poloha), které jsou charakteristické pro jednotlivé taxony. U řádu Oscillatoriales se tyto reverzní inkluze nachází v buňkách podél příčných stěn.

Další důležité taxonomické kritérium představuje schopnost vytvářet plynné vezikuly (aerotopy). Aerotopy nalezneme ve všech sinicích, které vytvářejí vodní květ. V mnoha druzích jsou v buňkách rozmístěny nepravidelně (např. *Planktothrix*, *Trichodesmium*, *Katagnymene*), zatímco v jiných mají charakteristický tvar a polohu (např. *Pseudanabaena*) (Anagnostidis a Komárek 2005). V průběhu sezóny, v závislosti na světle a teplotě, mohou aerotopy měnit svoji velikost a postupně tak ovlivnit polohu sinic ve vodním sloupci. Jejich počet se také

zvyšuje s časem a vývojem buněk po rozdělení (Meffert a Oberhauser 1982). Jednotlivé taxony se mohou rozlišovat také podle rozdílů ve vnitřní organizaci protoplazmy. Příkladem může být rozdílná pigmentace chromatoplazmy a centroplazmy nebo rozdílné tylakoidní uspořádání. Důležitým morfologickým znakem je také velikost buněk, přítomnost slizové pochvy nebo zaškrvení mezi buňkami.

Významným znakem, který je považován za mezidruhový rys je vzhled a struktura terminálních buněk vlákna. Terminální buňky mohou mít odlišný vzhled než ostatní buňky vlákna. Buňky mohou být zaoblené, zašpičatělé, ohnuté, paličkovité, ale po úplném vyvinutí v průběhu času získávají svou zvláštní a specifickou podobu a bývají zúžené. Vnější stěna distálního konce těchto buněk může být tlustší než u ostatních buněk vlákna (tzv. zesílená membrána) (Schwabe 1944, Drews 1959, Geitler 1960, Anagnostidis 1961, Lamont 1969, Bicudo a Senna 1977, Anagnostidis a kol. 1987). Zesílené koncové stěny u některých druhů mohou mít terminální čepičku (kalyptru), která se skládá z amorfního materiálu (zbytky slizové pochvy nebo nekrotické buňky) (Lamont 1969, Drews 1973). Ovšem zesílené vnější stěny a specifické kalyptry na terminálních buňkách nemusí být vždy přítomny. Většinou záleží na době odběru vzorků nebo na použitých kultivačních podmínkách (např. u *Microcoleus autumnale*, *Oscillatoria proboscidea* aj.) a proto je nutné prověřit větší množství materiálu s dobře vyvinutými trichomy, abychom mohli rozpoznat morfologii apikální buňky daného druhu (Anagnostidis a Komárek 2005).

Všechny tyto fenotypové znaky lze použít k taxonomickému hodnocení, avšak s určitými výjimkami.



Obrázek č. 7: Příklady hlavních typů zakončení trichomů u řádu Oscillatoriales, **a** – *Symeploca muralis*, *Phormidium retzii*, *Ph. corium*, *Ph. luteum*, *Porphyrosiphon fuscus*, **b** – *Phormidium calcicola*, *Phormidium irriguum*, **c** – *Oscillatoria sancta*, *Lyngbya semiplena*, **d** – *Oscillatoria princeps*, **e** – *Phormidium subfuscum*, **f** – *Oscillatoria caerulescens*, **g** – *Phormidium aniale*, *Ph. Paulsenianum*, **h** – *Pseudoscytonema subclavatum*, **i** – *Oscillatoria jenensis*, **k** – *Phormidium janthiphorum*, *Ph. Acuminatum*, **l** – *Phormidium breve*, *Phormidium formosum*, *Phormidium tortuosum*, **m** – *Oscillatoria proboscidea*, **n** – *Geitlerinema splendidum*, **o** – *Phormidium endolithum*, **ca** = **calyptra** (podle Anagnostidis a Komárek 2005).

### 1. 2. 2 Morfologie vlákna

Vlákna u řádu Oscillatoriales jsou vždy uspořádána v jedné řadě. Řada buněk tvořící vlákno se obvykle nazývá trichom, který může být obklopen vnějším slizovým obalem. U několika rodů slizové obaly chybí nebo se vyskytují pouze za stresujících podmínek. U rodů ostatních jsou pevné, měkké, bezbarvé nebo pigmentované, homogenní nebo vrstvené. Termín vlákno v užším slova smyslu se používá pro trichomy se slizovým obalem.

Vlákna a trichomy mohou být tvarově různorodé, například přímé, ohnuté, stočené, tenké apod. Tyto formy slouží v určitých mezích jako rozlišovací mezidruhové znaky. Přestože velikost a tvar buněk a rozměry (šířka, velikost) trichomů se mezi zástupci řádu značně liší, v rámci jednotlivých organismů je velikost buněk a tvar buněk poměrně konstantní. Průměr buněk se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 100  $\mu\text{m}$ . Jako příklad můžeme uvést skupinu Oscillatoriaceae, pro kterou je charakteristická šířka trichomů 6 až 20  $\mu\text{m}$  (Komárek a Anagnostidis 2005).

V příčných stěnách mezi buňkami vlákna jsou jednoduché spojovací póry (s mikroplasmodesmaty), jejichž počet a uspořádání jsou charakteristické pro různé druhy (Guglielmi a Cohen-Bazire 1982). Přítomnost perforací je známa u mnoha druhů sinic a je mimořádně důležitá. Informace o perforacích slouží k charakterizaci taxonů na úrovni druhů i rodu. Pro taxonomické hodnocení lze použít průměr pórů, jejich uspořádání a distribuci na povrchu buněk (Komárek a Anagnostidis 2005).



### 1. 2. 3 Větvení vláken

U vláknitých typů sinic, jejichž obaly obsahují jeden trichom, někdy může docházet k nepravému větvení. Před větvením se trichomy nejdříve příčně rozdělí a po jejich zlomení jeden nebo oba konce prorostou slizovým obalem ven. Rozdělení trichomu může být způsobeno úmrtím jedné nebo dvou buněk (usmrčených, nekrotických buněk) nebo tvorbou disků z intercelulární substance. Nepravé větvení je běžné u některých Oscillatoriales, jako je například *Plectonema sensu stricto*, a vzácné například u rodu *Lyngbya* (Komárek a Anagnostidis 2005).

Autoři využívali znaků nepravého větvení k zařazování jednotlivých rodů do čeledí (*Plectonema* je umístěn v Scytonemataceae a *Phormidium* a *Lyngbya* v Oscillatoriaceae), což naznačuje fylogenetický vztah mezi těmito dvěma rody (Schwabe 1944, Stam 1980). Gomont (1892) a Frémy (1930) také využívali nepravé větvení jako mezigenerační rys mezi rody *Lyngbya* a *Plectonema* a klasifikovali je oba v subtribusu Lyngbyoideae. Dnes podle nejnovějšího systému jsou rody *Phormidium*, *Lyngbya* a *Plectonema* zařazeny do čeledi Oscillatoriaceae (Komárek 2014).

Existuje několik rodů, u kterých se vyskytuje nepravé větvení běžně a obligatorně (*Plectonema sensu stricto*, *Pseudophormidium*, *Pseudoscytonema*) a jiné rody, u nichž se naopak nikdy nepravé větvení nevyskytuje (*Borzia*, *Oscillatoria*). Nepravé větvení lze tedy použít (navzdory jeho kvantitativnímu charakteru) jako další mezirodový rys (Komárek a Anagnostidis 2005).

#### 1. 2. 4 Buněčné dělení, reprodukce

Buněčné dělení probíhá binárním dělením v jedné rovině a v pravém úhlu (kolmo) k podélné ose trichomů. Reprodukce probíhá fragmentací trichomu nebo produkcí nediferencovaných hormogonií uvolněných z konců trichomů.

Vývoj rozdělených buněk pokračuje různými způsoby:

- Dceřinné buňky se před dalším dělením rozdělí a rostou do velikosti mateřské buňky (*Pseudanabaena*, *Komvophoron*, *Leptolyngbya*, *Phormidium*),
- Frekvence dělení buněk a tvorba příčných buněčných stěn probíhá v rychlé sekvenci (*Oscillatoria*, *Lyngbya*).

Buněčné dělení a reprodukce jsou velmi důležité pro klasifikaci sinic a u Oscillatoriales jsou charakteristické pro jednotlivé rody (Komárek a Anagnostidis 1986) a pravděpodobně také pro různé evoluční linie.

Fragmentace trichomů, která vede k oddělení hormogonií, probíhá několika způsoby. Mechanismus fragmentace trichomu popsali Lamont (1969), Drews (1973) a někteří další autoři. Rozlišují dva způsoby: první způsob fragmentace probíhá za vzniku nekrotických buněk (*Phormidiaceae*, *Oscillatoriaceae*). U druhého způsobu dochází k "mezibuněčné fragmentaci trichomů", což znamená, že se trichom rozděljuje mezi dvěma vegetativními buňkami (např. *Pseudanabaenaceae*) (Aboal a kol. 2003). Různé typy fragmentace trichomů mohou být použity pro rozlišení rodu nebo čeledi (Rippka a kol. 1979). Buněčné dělení probíhá buď v apikálních nebo subapikálních úsecích trichomu nebo v celém trichomu, a to pravidelně nebo nepravidelně. Trichomy existují buď s meristematickými zónami nebo bez nich.

Reprodukce řádu Oscillatoriales probíhá obvykle pomocí takzvaných hormocytů a hormogonií. Obvykle jsou to krátké jednotné buňky (1-50 mikrometru velké), ale existují i dlouhé části trichomů, které slouží k reprodukci. Podobu hormogonie (konkrétně u rodu *Phormidium*) můžeme vidět na obrázku číslo 8. Hormocyty nejsou pohyblivé, zatímco hormogonie jsou aktivně pohyblivé (Komárek a Anagnostidis 1986).

Hormogonie vznikají:

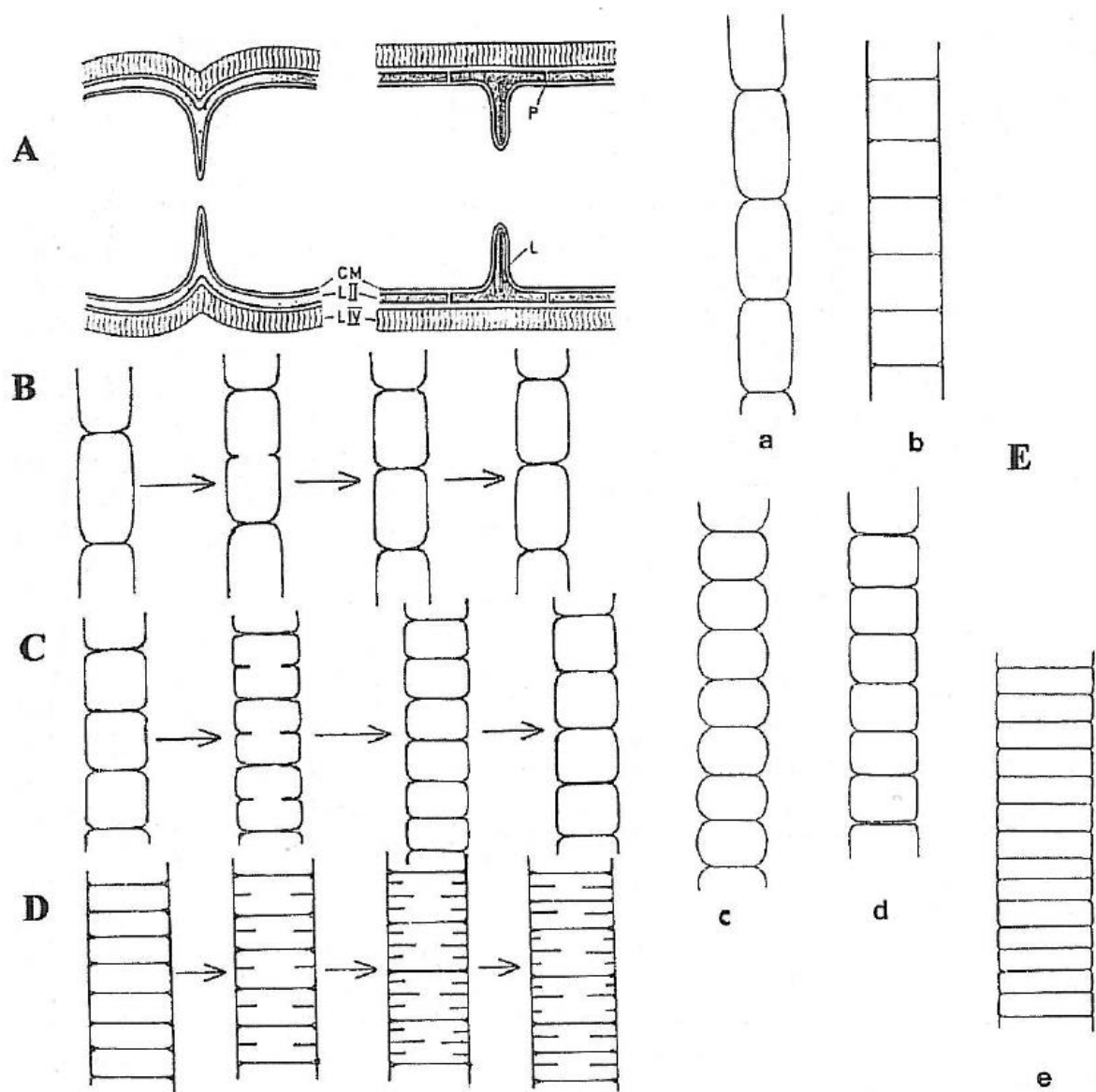
- úmrtím jedné nebo více interkalárních buněk (nekrotické buňky), nebo
- oddělením mezi dvěma sousedními buňkami.

Hormogonie jsou produkovány z terminální části trichomů nebo rozpadem celého trichomu (*Arthronema*, *Arthrospira*, *Borzia*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena*). Když dojde k rozpadu trichomu, septa mezi rozpadlou buňkou a jejími dvěma sousedy se mění na stěny nově vytvořené hormogonie (Drews 1973). Různé způsoby tvorby hormogonií jsou charakteristické pro různé taxony a mohou být využity v taxonomii. Například různé typy separace nekrotickými buňkami byly popsány u *Katagnymene accurata* v (Geitler 1982), *Hormoscilla (Borzia) spongelliae* (Berthold a kol. 1982) aj. Geitler (1982) rozlišuje zejména specializované buňky, které slouží k pravidelnému rozpadu trichomů (*Borzia*, *Komvophoron*), od nahodile se vyskytujících nekrotických buněk.

Mnoho druhů z řádu Oscillatoriales obecně nevytváří nekrotické buňky a mechanismus reprodukce není zcela jasný (Gibson 1975). Typy tvorby hormogonií, jejich vývoj, motilita a morfologie (počet buněk v určitých mezích) jsou pravděpodobně mezirodovými a mezidruhovými znaky ve rodech *Borzia*, *Heteroleibleinia*, *Homoeothrix*, *Katagnymene*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena* a další.



Obrázek č. 8: *Phormidium* – hormogonie, NPP Třesín



Obrázek č. 9: Schéma buněčného dělení u Oscillatoriales: **A** - schéma dělení buněk podle Drews (1973); **B** - buněčné dělení v Pseudanabaenaceae; **C** - buněčné dělení v Phormidiaceae; **D** - buněčné dělení v Oscillatoriaceae; **E** - hlavní morfologické typy buněk v trichomech Oscillatoriales; **a** - Pseudanabaenaceae, Schizotrichaceae; **b** - Phormidiaceae; **c** - Borziaceae, Phormidiaceae; **d** - Phormidiaceae, Pseudanabaenaceae; **e** - Oscillatoriaceae (podle Komárek a Anagnostidis 2005).

### 1. 2. 5 Struktura stélek – kolonie

Stélku u Oscillatoriales tvoří trichomy a/nebo vlákna a hormogonie. Makroskopické nebo mikroskopické shluky vytváří kolonie. Existuje mnoho typů kolonií známých v přírodě, stejně jako v agarech a kapalných kulturách. Nejběžnějšími a nejzákladnějšími druhy stélek jsou:

- solitérní vlákna nebo trichomy (*Borzia*, *Komvophoron*, *Planktothrix*)
- volně plovoucí shluky různých typů vláken (*Plectonema*, *Trichodesmium*):
- vlákna připojená k substrátu (*Homoeothrix*)
- šroubovitě trichomy nebo vlákna (*Arthrospira*)
- povlaky na substrátu (*Oscillatoria*, *Phormidium*):
- vlákna ve volných svazcích připevněných k podkladu (*Symploca*)
- krusty na substrátu (*Lyngbyopsis*, *Phormidium incrustatum*, *Microcoleus*)

Typ stélky je určen několika atributy (motilita, slizový obal) a bývá ovlivněn světlem, pH, nutričními podmínkami a jinými vnitřními (druhovými zvláštnostmi) nebo vnějšími (ekologickými) faktory. Typ je za neměnných podmínek vždy konstantní. Forma stélky je proto více či méně stabilní a může být použita jako taxonomicky významný znak na úrovni vyšších celků.

### 1. 3 Řád *Gloeobacterales*

Tento řád obsahuje pouze jednu monofyletickou čeleď s jedním rodem (Rippka a kol. 1974, Mareš a kol. 2013), a to *Gloeobacteraceae*. Typický rod *Gloeobacter* nedávno studovali Mareš a kol. (2013), kteří zjistili, že rod má jasnou samostatnou taxonomickou pozici v rámci celého systému sinic.

Je to jediný rod cyanobakterií, který postrádá tylakoidy, a proto se fykobilizomy a všechny fotosyntetické pigmenty nachází na povrchu cytoplazmatické membrány (Flores a Herrero 2008). Dva popsané druhy tvoří monofyletickou skupinu – jedná se o *Gloeobacter violaceus* a *Gloeobacter kilaueensis* (Mareš a kol. 2014).

### 1. 4 Řád *Synechococcales*

Velká skupina (s více než 70 rody) zahrnující jednobuněčné (plus koloniální) i vláknité druhy sinic. Pro velkou část taxonů neexistují žádná sekvenční data. Analýza genů naznačuje, že definovaný řád není monofyletický, ale čeledi, které definujeme, nejsou v rozporu se současnými fylogenetickými studiemi (Komárek a kol. 2014).

S dalšími analýzami vzorků je v budoucnu velmi pravděpodobné, že budou rozeznány další čeledi sinic a bude nutné provést revizi řádu *Synechococcales*. Tato skupina je charakterizována přítomností parietálních tylakoidů a v současnosti je ekvivalentní podtřídě *Synechococcophycidae*. Ačkoliv jednotlivé rody mají parietální tylakoidy, autoři oddělili *Spirulinaceae* do nového řádu odděleného od *Synechococcales*. Tato změna je založena na definitivních molekulárních důkazech (Komárek a kol. 2014).

Do řádu *Synechococcales* patří například čeleď *Synechococcaceae*, *Merismopediaceae* nebo *Prochloraceae*. Do čeledi *Synechococcaceae* řadíme celkem 17 rodů – například *Anathece*, *Cyanobium* nebo *Synechococcus* (obrázek číslo 10). Rod *Synechococcus* je rod jednobuněčných kokálních sinic, který se běžně vyskytuje ve vodním prostředí.

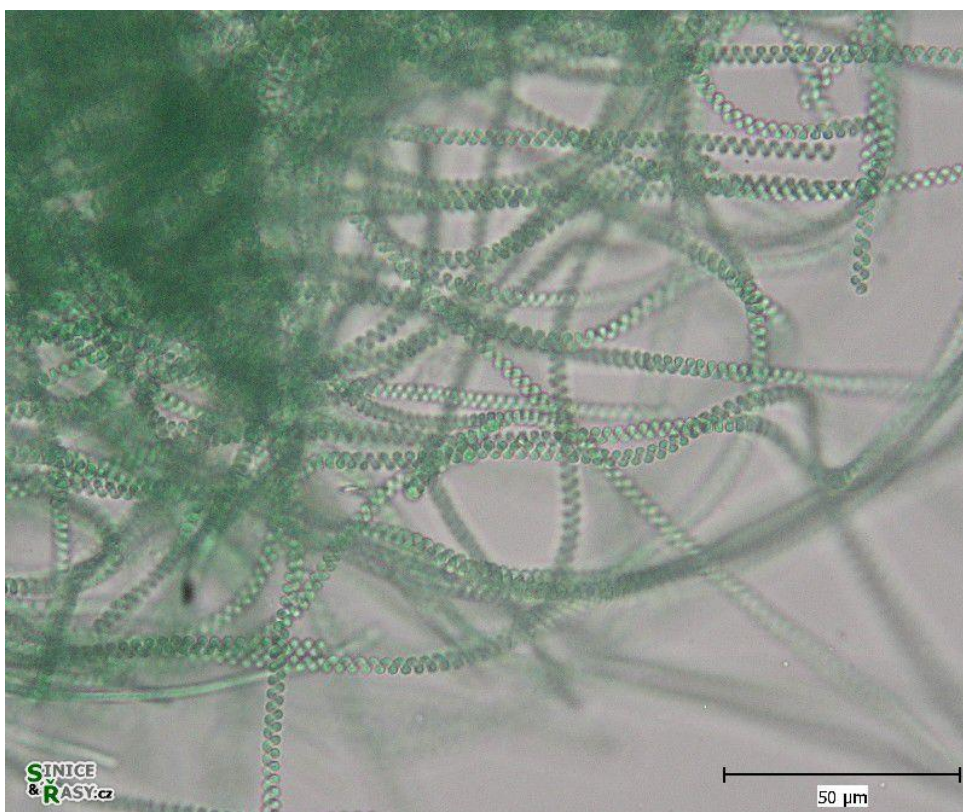


Obrázek č. 10: Rod *Synechococcus* – *S. bigranulatus* (Kaštovský 2008)

## 1.5 Řád Spirulinales

Tento řád je charakterizován typickými pravidelně šroubovitě (spirálovitě) stočenými trichomy bez obalu a má charakteristickou cytologii a ekologii.

*Spirulina* měla dlouhou dobu nestabilní pozici ve fylogenetických analýzách. Z morfologického hlediska zůstává problém otevřených a uzavřených šroubovitých trichomů nevyřešen. Díky úplnému sekvenování genomu, který ulehčuje taxonomické revize, byla *Spirulina* umístěna do své vlastní čeledi i s jejími příbuznými druhy. Tato čeleď je vzdálená od *Synechococcophycidae*, o které se dlouho předpokládalo, že do ní *Spirulina* náleží. Komerčně důležitá "*Spirulina platensis*" je podle všech fylogenetických a cytologických kritérií velmi odlišná a proto nepatří do této čeledi. Byla zařazena do rodu *Arthrospira* (Oscillatoriales, *Microcoleaceae*).



Obrázek č. 11: *Spirulina major* – rybník Nesyt (Kaštovský 2007)

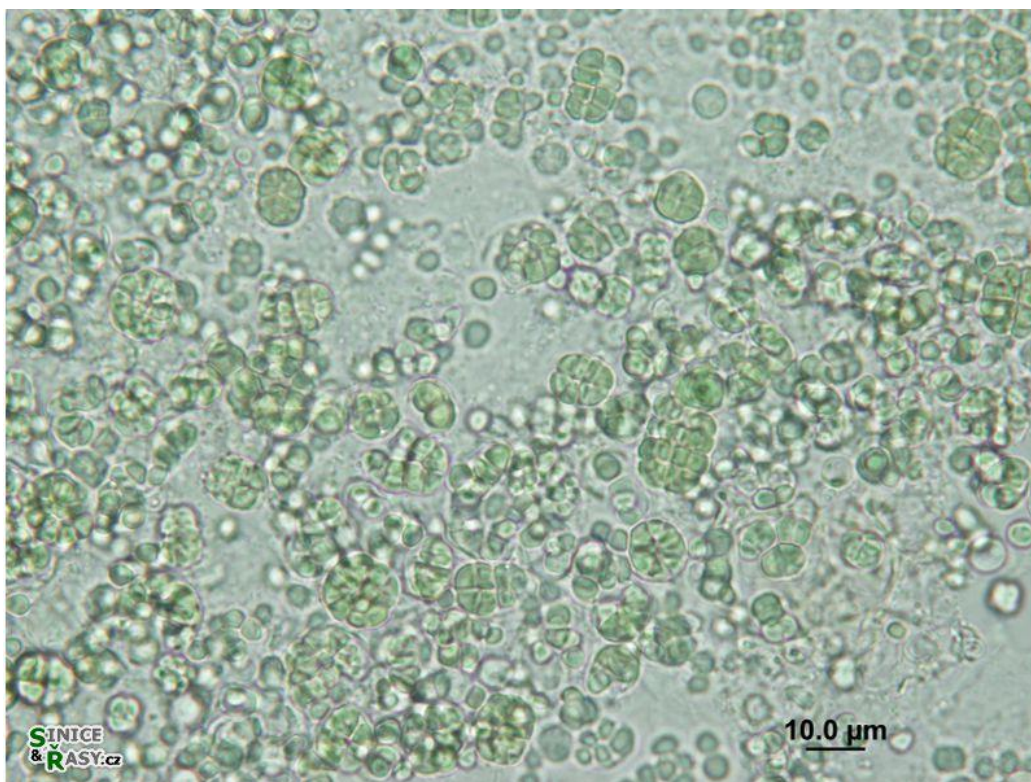
## 1. 6 Řád Pleurocapsales

V současné době se na základě dostupných sekvenčních dat tato skupina jeví jako monofyletická. Problémem je to, že o velkém množství rodů v tomto řádu nemáme dostatečné informace a data. Zástupci tohoto řádu jsou velmi obtížně přenositelní v čistých kulturách (Komárek a kol. 2014).



## 1. 7 Řád Chroococcidiopsidales

Tento řád sinic zahrnuje pouze jediný rod, který se vyskytuje převážně v extrémních stanovištích. Dříve byl spojen s řádem Pleurocapsales, ale fylogeneze založená na genomických a 16 S rRNA datech druhu *Ch. thermalis* naznačuje, že by měl být z řádu Pleurocapsales oddělen (Fewer a kol. 2002).



Obrázek č. 12: *Chroococcidiopsis thermalis* (Kaštovský 2008)

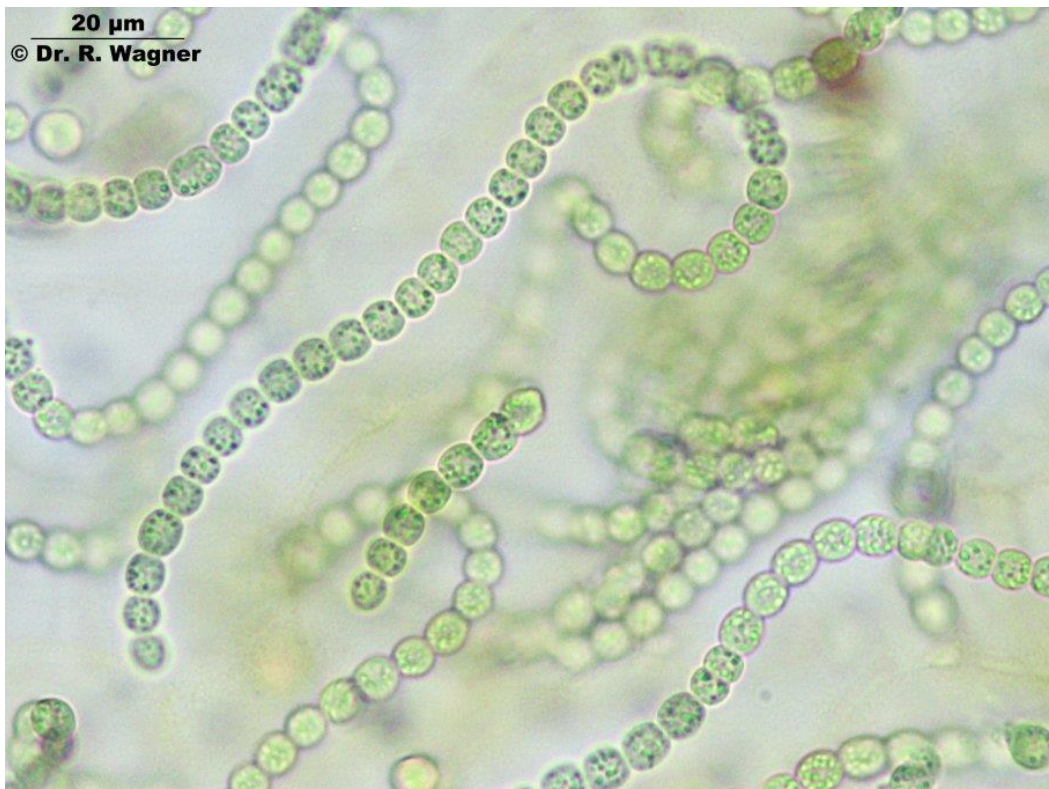
## 1. 8 Řád Nostocales

Tento řád představuje velký a monofyletický soubor vláknitých sinic s různorodou stélkou. Tento řád zahrnuje nerozvětvené a izopolární a nepravě se větvící nebo druhy sinic s pravým větvením. Vlákna několika čeledí mají heteropolární charakter (Komárek a kol. 2014).

Vlákná žijí jednotlivě nebo vytváří kolonie. Zástupci tohoto řádu vytváří tvarově odlišné speciální buňky, heterocyty a akinety. V anaerobních podmínkách je většina zástupců schopna fixovat vzdušný dusík (Komárek a Anagnostidis 1989).

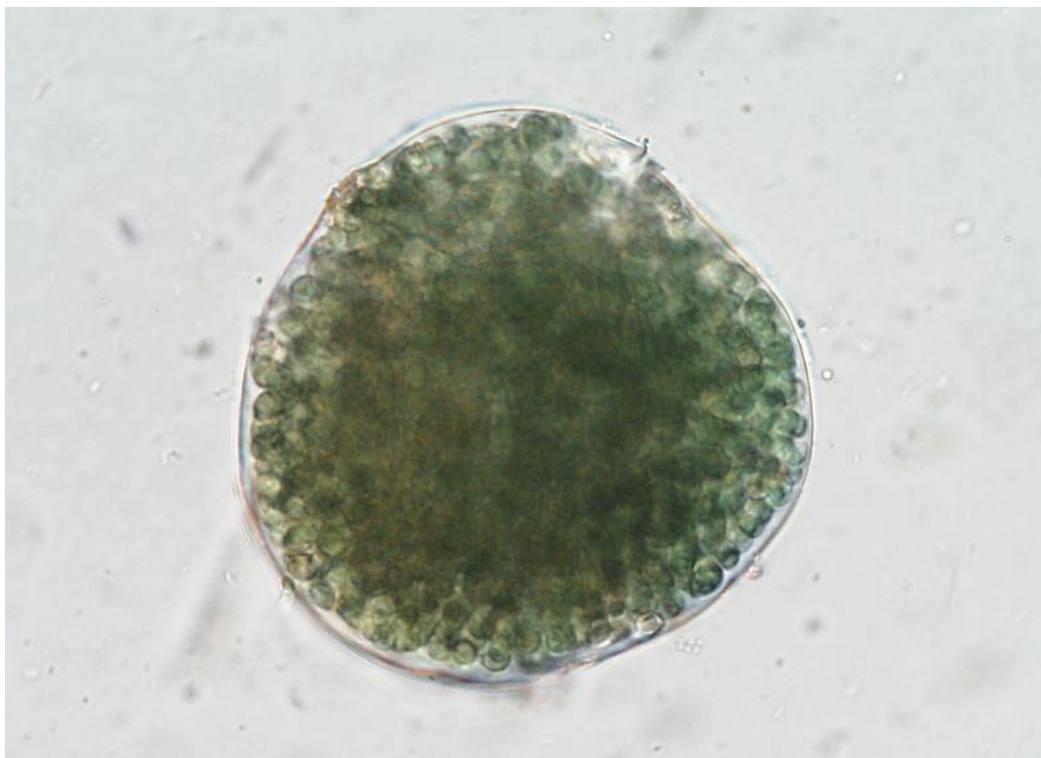


Obrázek č. 13: *Nostoc* sp. (Kaštovský 2008)





Obrázek č. 14: *Nostoc commune* (Wagner)



Obrázek č. 15: *Nostoc paludosum* – tůň Kutnar, jižní Morava (Skácelová 2009)



Obrázek č. 16: *Nostoc commune* – NPP Třesín



Obrázek č. 17: Akineta – NPP Třesín



Obrázek č. 18: Heterocyt – NPP Třesín

## **2 Metodika práce**

### **2.1 Sběr vzorků**

Vzorky sinic jsem odebírala v rámci aerofytických společenstev sinic na vápencích v NPP Třesín. První zkoumanou lokalitou byla jeskyně Podkova a druhou Řimické vyvěračky. Vzorky jsem sbírala v průběhu roků 2017, 2018 a 2019.

K odebrání vzorků ze skalnatých podkladů jsem použila skalpel, kterým jsem opatrně seškrabala nárosty sinic z vápencových skal do PE sáčku s uzávěrem. Pro odběr vzorků z Řimických vyvěraček jsem použila pinzetu a epruvetu, do které jsem společně se vzorkem nabrala menší množství vody.

### **2.2 Práce v laboratoři**

Vzorky sinic jsem zpracovávala v algologické laboratoři Katedry botaniky Univerzity Palackého v Olomouci. Všechny vzorky jsem pozorovala pod mikroskopem Olympus CX21 nebo Zeiss PrimoStar s kamerou AxioCam ERc 5, nejčastěji při zvětšení 100x za použití imerzního oleje. Následně jsem prováděla jejich kultivaci na médiu Z (Staub 1961). Některé vzorky bylo potřeba ošetřit účinným dezinfekčním a léčebným prostředkem proti bakteriím a plísním. K tomuto ošetření jsem použila prostředek Acriflavin v poměru 26 kapek na 100 ml destilované vody. Vzorky z Řimických vyvěraček jsem uchovávala v pootevřené epruvetě na světlém místě za laboratorní teploty. V průběhu výzkumu jsem vzorky pozorovala pod mikroskopem a dokumentovala jejich druhovou bohatost a vývojová stádia.

## 2.3 Kultivace vzorků

Nasbírané vzorky sinic byly nejpozději druhý den od sběru zpracovány v laboratoři. Přírodní vzorky je nutné co nejdříve po odběru umístit až do doby jejich zpracování do chladu. Tímto se zamezí snížení rozpustnosti plynů ve vzorku a změně pH (Křisa & Prášil 1989).

Pro detailnější pozorování jednotlivých druhů sinic je potřeba je izolovat od ostatních a kultivovat je. Následně je možné pozorovat životní cykly a morfologickou variabilitu buněk semikultur nebo čistých kultur na agarových živných půdách 1,5%.

Převážná část sinic optimálně roste v živném mediu „Z“ podle Zehnder (Staub 1961, složení viz Tabulka 1). Vytvořené živné medium jsem smíchala s agarem na výsledný 1,5% roztok a sterilizovala jsem v autoklávu při teplotě 121°C a tlaku 140 kPa po dobu 30 minut. Po dokončení sterilizace jsem agar rozlévala do zhruba jedné třetiny obsahu Petriho misek o průměru 9 cm.

**Tabulka 1: Složení tekutého media**

| Látka                                                 | Množství na 1000 ml destilované vody |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| NaNO <sub>3</sub>                                     | 46,7 g                               |
| Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O | 5,9 g                                |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                       | 3,1 g                                |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                  | 2,5 g                                |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                       | 2,1 g                                |

**Tabulka 2: Dávkování na 1 l media zásobního roztoku**

| Látka                       | Množství na 1000 ml media |
|-----------------------------|---------------------------|
| Fe EDTA                     | 0,2 ml                    |
| Roztok mikroprvků (Gaffron) | 0,08 ml                   |

Na ztuhnutý agar jsem prováděla očkování sinic pomocí očkovací mikrobiologické kličky. Při očkování jsem používala sterilní nástroje, které jsem průběžně sterilizovala nad plamenem kahanu. Očkování jsem prováděla ve sterilním prostředí flowboxu. Snažila jsem se o získání čistých kultur sinic ze studovaných lokalit.

Ke kultivaci sinic v laboratorních podmínkách je nezbytné dodržet některé podmínky pro jejich optimální růst. Pro dlouhodobé udržování kultur sinic z chladnějších habitatů (jeskyně, chladné prameny) je nutné kultivované vzorky umístit do kultivačních zařízení se sníženou teplotou (např. v prosvětlených lednicích nebo v domácí vinotéce s vnitřní teplotou kolem 15 °C). Petriho misky jsem proto uchovávala v prosklené lednici na chlazení nápojů s nastavenou stálou teplotou 15 °C. Kultury a jejich růst jsem průběžně sledovala a v případě potřeby je přeočkovávala.

## **2. 4         Determinace vzorků**

K determinaci vzorků sinic jsem používala určovací klíče Starmach (1966), Kondratěva (1968), Komárek a Anagnostidis (1988, 1999, 2005), Komárek (2014) a Kaštovský, Hauer a kol. (2018) - Atlas sinic a řas České republiky 1.

### 3 Výsledky

Lokality v oblasti NPP Třesín jsem sledovala v průběhu let 2017, 2018 a 2019. Pod mikroskopem bylo analyzováno celkem 42 vzorků. V kultivacích převládaly snadno kultivovatelné sinice (*Gloeocapsa alpina*, *Leptolyngbya* sp.) a zástupci zelených řas.

Ze zkoumaného území jsem určila celkem 16 druhů sinic. Ve vzorcích se nejčastěji vyskytovaly druhy: *Gloeocapsa punctata*, *Gloeocapsa alpina*, *Leptolyngbya* sp., *Potamolinea* sp. a *Phormidium nigrum*. Největší druhovou variabilitu sinic jsem pozorovala v měsících duben a květen a v období června a července postupně docházelo k jejímu poklesu. Seznam mnou nalezených druhů sinic na lokalitách NPP Třesín je uveden v následujících tabulkách.

#### 3.1 Jeskyně Podkova

***Asterocapsa* sp.**, obrázek č. 12 a 13

Jednobuněčná sinice vytvářející nepravidelné mikroskopické kolonie. Buňky jsou kulovité, podlouhlé s homogenním obsahem olivové nebo modrozelené barvy. Buňky mají zhruba 3 až 6  $\mu\text{m}$  v průměru. Slizovitý obal jednotlivých buněk bývá bezbarvý, žlutý, narůžovělý, nažloutlý až tmavě hnědý. Slizový obal kolonií bývá tuhý, s okrajovými vrstvami. Povrch slizových obalů je pokryt bradavičnatými výběžky různé délky, který vytváří ostnatý povrch.

K dělení buněk dochází nepravidelným binárním dělením uvnitř slizového obalu, nejčastěji ve dvou rovinách. Po prasknutí obalů se z nich rozdělené buňky uvolňují. V životním cyklu jsou pro *Asterocapsa* typické kulovité kolonie s velkým počtem buněk.

***Chroococcus spelaus* ERCEGOVIC 1925**, obrázek č. 23

Jednobuněčná sinice se světle modrými, světle fialovými nebo olivově zelenými buňkami, které mají 16-20  $\mu\text{m}$  v průměru. Vytváří mikroskopické až makroskopické kolonie, ve kterých jsou buňky seskupeny ve dvou až čtyřbuněčných shlucích. Slizový obal buněk je bezbarvý a bez lamelace.

Buňky se dělí pomocí jednoduchého binárního dělení ve 2-3 rovinách v následných generacích, kdy dochází k rozdělení mateřské buňky na dvě stejné části. Rozdělené dceřiné



buňky postupně dorůstají přibližně do původní velikosti a tvaru a poté dochází k dalšímu dělení. Buňky jsou kulovité nebo oválné, ale po dělení jsou spíše polokulovité.

#### ***Chroococidiopsis* sp., obrázek č. 24**

Buňky jsou jednotlivé, kulovité, polokulovité nebo nepravidelně zaoblené a obalené slizovými obaly. Buňky mají 2 µm v průměru. Vytváří sférické nebo nepravidelné kolonie. Kolonie jsou obaleny tenkými, pevnými a bezbarvými obaly. Tylakoidy jsou v buňkách rozmístěny nepravidelně.

Buňky se dělí nepravidelně (v různých rovinách), binárním dělením a udržují nepravidelný tvar během buněčného cyklu. Některé buňky se později mění v baeocyty. Počet baeocytů se liší podle jednotlivých druhů. Rozdělené buňky jsou později uvolněny z nepravidelně rozdělených slizovitých obalů.

#### ***Gloeocapsa alpina* BRAND 1900, obrázek č. 7 a 8**

Jednotlivé buňky jsou modrozeleně zbarvené a mají 4-6 µm v průměru. Vytváří mikroskopické kolonie vytvářející nepravidelnou černou masu. Subkolonie mají jemně granulovanou modrou nebo fialovou slizovou pochvu. Kolem subkolonií se nachází bezbarvá nebo jemně namodralá pochva.

Životní cyklus u rodu *Gloeocapsa* zahrnuje několik odlišných morfologických fází a je ovlivněn sezónními podmínkami prostředí. Dělení buněk probíhá binárním dělením ve slizových obalech, a to ve třech kolmých rovinách. Dceřiné buňky produkují své vlastní slizové obaly brzy po dělení. Před dalším dělením buňky rostou do původní velikosti. U některých druhů je známá produkce nanocytů, což jsou malé buňky vzniklé rychlým dělením.

V klidovém stádiu jsou obaleny pevnými, vrstevnatými a intenzivně zbarvenými obaly, které někdy mívají na povrchu bradavičnaté výrůstky. Buňky v těchto fázích se mohou také dělit, ale pouze na začátku nebo na konci fáze a brzy poté nastupuje vegetativní stav.

#### ***Gloeocapsa aeruginosa* KUTZING 1843, obrázek č. 11**

Jednotlivé buňky jsou kulovité, modrozeleně zbarvené a mají 2-3 µm v průměru. Vytváří kolonie, které se skládají ze subkolonií. Slizové obaly jsou převážně bezbarvé.

### ***Gloeocapsa compacta* KUTZING 1845**

Jednotlivé buňky jsou modrozelené s velikostí 2-3  $\mu\text{m}$  v průměru. Vytváří kolonie, které jsou vejčité oválné nebo nepravidelné. Slizové obaly jsou namodralé, fialové až tmavě fialové, občas lamelované.

### ***Gloeocapsa fusco-lutea* KUTZING 1849, obrázek č. 9**

Jednotlivé buňky jsou světle modrozelené a tvarově kulovité až podlouhlé. Mají 1,5  $\mu\text{m}$  v průměru. Samostatné buňky jsou obklopeny 4,5-5,5  $\mu\text{m}$  širokým slizovým obalem. Tvoří mikroskopické kolonie. Kolonie jsou nepravidelné a skládají se z několika malých subkolonií. Obal je mírně vrstvený, zbarvený do žluté až žlutohnědé barvy.

### ***Gloeocapsa nigrescens* NAGELI 1857, obrázek č. 10**

Jednotlivé buňky mají modrozelené zbarvení a mají 3-5  $\mu\text{m}$  v průměru. Vytváří mikroskopické kolonie, které jsou tvořeny dvěma a více buňkami. Makroskopické kolonie jsou nepravidelné a vytvářejí černou masu. Subkolonie jsou obklopeny vlastními slizovými obaly, které jsou nevrstevnaté a fialově až černě zbarvené.

### ***Gloeocapsa punctata* NAGELI 1849**

Jednotlivé kulovité buňky jsou modrozelené a mají 2,5  $\mu\text{m}$  v průměru. Tvoří mikroskopické nebo makroskopické kolonie obalené tmavě šedým vrstevnatým slizovým obalem. Slizovité obaly jsou kulovité a bezbarvé.

### ***Nostoc commune* VOUCHER ex BORNET et FLAHAULT 1888**

Vegetativní buňky jsou válcovité až kulovité, 4-6  $\mu\text{m}$  široké. Vytváří akinety a heterocyty. Akinety vypadají jako mírně zvětšené vegetativní buňky, jsou podlouhlé a mají 8  $\mu\text{m}$ . Heterocyty jsou tvarově kulovité až soudečkovité s průměrem 7  $\mu\text{m}$ . Slizové pochvy jsou zejména na okrajích kolonií žluté až žlutohnědé. Vytváří mikroskopickou nebo makroskopickou stélku. Vlákna jsou nevětvená a uvnitř kolonie hustě aglomerovaná a stočená.

Buňky se dělí příčně, reprodukce probíhá za pomoci pohyblivých hormogonií a klíčení akinet. U rodu *Nostoc* jsou všechny buňky schopny dělení. Velké množství druhů rodu *Nostoc*

vstupuje do množství symbiotických vztahů. Na konci letního období jsem zaznamenala tvorbu klidových spor – akinet, které se u tohoto druhu vytváří od prostřední buňky mezi dvěma heterocyty (směrem k těmto heterocytům). Růstová tohoto druhu sinic je omezena hlavně na letní měsíce v důsledku jejich závislosti na teplotě. Kromě vegetativních buněk se u tohoto druhu vytvářely i heterocyty, jejichž obsah se jeví jako prázdný.

***Nostoc microscopicum* CARMICHAEL ex BORNET et FLAHAULT 1886**, obrázek č. 20, 21 a 22

Vegetativní buňky jsou válcovité až kulovité a široké 5-9  $\mu\text{m}$ . Vytváří akinety a heterocyty. Heterocyty jsou kulovité, akinety kulovité až oválné. Vlákná mají nažloutlé pochvy. Vytváří drobné kulovité kolonie s charakteristickým uložením propletených vláken, někdy ve výraznějších slizových pochvách.

Buňky se dělí příčně, reprodukce probíhá za pomoci pohyblivých hormogonií a klíčení akinet. Akinety vznikají různě ve vlákně. U tohoto druhu jsem také zaznamenala na konci letního období tvorbu klidových spor (akinet) a tvorbu heterocytů, jejichž obsah se jeví jako prázdný.

### 3. 2 Řimické vyvěračky

#### ***Geitlerinema splendidum* ANAGNOSTIDIS 1989**

Má protáhlé trichomy, které nemají pochvy a zužují se v koncových částech. Koncové buňky bývají mírně rozšířené. Buňky jsou protáhlé, 2-3,1  $\mu\text{m}$  široké, 3x delší než široké a světle šedé nebo modrozelené. Tylakoidy jsou nepravidelně parietální, charakteristicky zvlněné a periferně umístěny podél buněčných stěn. Tylakoidy tvoří většinu cytoplazmy.

Reprodukce probíhá rozpadem trichomů na pohyblivou hormogonii bez tvorby nekrotických buněk.

#### ***Potamolinea* sp., obrázek č. 18 a 19**

Trichomy jsou rovné, mírně zvlněné nebo obloukovité a 2-2,5  $\mu\text{m}$  široké. Vyskytují se buď jednotlivě, aglomerovaně ve shlucích nebo v jemných slizovitých koloniích. V koncové části jsou zúžené, zaoblené nebo mírně kuželovité. Buňky jsou válcovité a bez aerotopů.

Buněčné dělení probíhá kolmo k delší ose trichomu. Buňky před dalším dělením dorůstají do původního tvaru a velikosti. Reprodukce probíhá rozpadem trichomů, které se rozpadají poté, co dosáhnou určité délky.

#### ***Leptolyngbya* sp., obrázek č. 15, 16 a 17**

Vlákna jsou dlouhá, víceméně rovná, tenká, jednotlivá nebo svinutá do shluků a jemných rohoží, které jsou někdy makroskopické. Vlákna jsou široká 2,5-3  $\mu\text{m}$ , na koncích nejsou zeslabená (nebo jen mírně) a mají kuželovité apikální buňky. Jednotlivé buňky mívají na délku 0,5-1  $\mu\text{m}$ . Buňky jsou několikrát delší než širší a většinou válcovité. Heterocyty a akinety chybí. Pochvy jsou průhledné a bezbarvé.

Buněčné dělení probíhá dělí binárním dělením a před dalším dělením buňky dorůstají do původní velikosti. Reprodukce probíhá pomocí hormogonií, která se uvolňují z trichomů na jejich koncích.

### ***Microcoleus autumnale* GOMONT 1892**

Vlákná jsou zelená až modrozelená a ke konci se zužují. Jejich apikální buňky bývají prodloužené a kryté kalyptrou. Vlákná jsou 5-7  $\mu\text{m}$  široká. Trichomy jsou pohyblivé.

Buněčné dělení probíhá příčně, kolmo k dlouhé ose trichomu. Reprodukce probíhá pomocí pohyblivé hormogonie, která vzniká úmrtím jedné nebo více interkalárních buněk (vznikají nekrotické buňky) a odděluje se tak z koncových částí trichomů nebo fragmentací celého trichomu.

### ***Phormidium nigrum* ANAGNOSTIDIS et KOMÁREK 1988**

Vlákná jsou modrozelená, modrošedá až načernalá a 6 až 8  $\mu\text{m}$  široká. Na koncích bývají zúžená a jsou pohyblivá. Pochvy chybí nebo jsou tenké. Koncové buňky jsou zaoblené až široce kuželovité. Vlákná bývají na přepážkách granulované.

Buněčné dělení probíhá příčně, kolmo k dlouhé ose trichomu. Dceřiné buňky dorůstají téměř až do původní velikosti před dalším dělením. Reprodukce různě dlouhou, +/- pohyblivou hormogonií, která se odděluje na koncových částech trichomů pomocí nekrotických buněk nebo fragmentací celých trichomů (také s nekrotickými buňkami).

### **3.3 Zhodnocení využitelnosti NPP Třesín pro praktickou výuku biologie**

Sinice jsou organismy, které jsou schopny během krátké doby vytvořit obrovské množství biomasy. Jsou velmi častou součástí přírody kolem nás. Můžeme je nalézt i v prostředí s nepříznivými životními podmínkami pro ostatní organismy. Sinice se vyskytují jak ve sladkých, tak i slaných vodách, v půdě, na kamenech, skálách nebo na kůře stromů. Díky jejich snadné dostupnosti, jakožto biologického materiálu v přírodě, je lze využít pro praktickou a názornou výuku v hodinách biologie.

Vápencové povrchy jsou velmi často pokryté vizuálně nápadnými porosty sinic, které mohou být velmi druhově rozmanité (Golubic 1967). Sinice vykazují velmi vysokou diverzitu i biomasu na vápencových podkladech ve srovnání s jakýmkoliv jiným povrchem (Jaag 1945). Sinice vyskytující se na skalnatých vápencových podkladech v NPP Třesín tvoří společenstva s velmi zajímavou druhovou diverzitou.

Neodmyslitelnou součástí výuky na základních i středních školách jsou praktická terénní cvičení a exkurze organizované formou jednodenních výletů do blízkého okolí. Výuka v terénu umožňuje využití velkého množství výukových metod, které není možné při běžné výuce v budově školy realizovat. Další výhodou terénního cvičení je to, že žáci jsou do výuky sami aktivně zapojeni.

NPP Třesín je místo s významnými krajinnými dominantami, tvořené především krasovými (vápencovými) povrchovými jevy a místy zachovalými fragmenty přirozených lesních porostů (dubohabřiny, bučiny, suťové lesy). Krasové jevy jsou doplněny závrtý, škrapy a puklinami a patří k nim také pozoruhodné Řimické vyvěračky (Litovelsko 2009). Potenciál NPP Třesín také spočívá v jeho lokalizaci, která je velmi vhodná pro jednodenní exkurze nebo terénní cvičení. Na východním úpatí Třesína se nachází obec Mladeč, která dala jméno Mladečským jeskyním nacházejícím se uvnitř Třesína. Nejvýznamnější dominantou jsou právě veřejnosti přístupné Mladečské jeskyně. Další dominantou je umělá jeskyně Podkova, fosilní výtoková jeskyně, která se skládá ze dvou původně nesouvisejících mělkých chodeb. Podkova byla propojená na začátku 19. století a dnes slouží jako zimoviště netopýrů. U Třesína se nachází okružní naučná stezka "Třesín", která začíná na návsi v obci Mladeč. Naučná stezka seznamuje návštěvníky s unikátními přírodními, kulturními a historickými zajímavostmi vápencového bradla Třesín (Litovelsko 2009).

Při exkurzi do NPP Třesín mohou být studenti v rámci geografie seznámeni s geomorfologií tohoto území, jeho vývojem nebo charakteristickou skladbou krajiny. V rámci biologie mohou být studenti seznámeni s biotopovou a druhovou diverzitou, chráněnými druhy rostlin a živočichy nebo druhovou diverzitou sinic vyskytujících se na skalnatých vápencových podkladech. NPP Třesín může také sloužit jako odběrové místo pro praktické laboratorní cvičení při výuce tématu sinic a řas. Žáci mohou být do sběru nárostů sinic na vápencových skalách aktivně zapojeni. Samostatná práce žáků při sběru má velkou výhodu v tom, protože žáci získají představu, kde se sinice vyskytují nebo zda můžeme přítomnost sinic zjistit pouhým pohledem. S kvalitním vybavením se žáci mohou seznámit se základními druhy sinic a naučit se tyto zástupce poznávat a charakterizovat. Praktická činnost v terénu může být doplněna o další úkoly – např. mapování rozložení vybraných jevů v krajině, práce s tabulemi naučných stezek, měření parametrů vody (teploty, pH, průhlednosti apod.).

Z popsaných důvodů hodnotím NPP Třesín jako velmi vhodnou lokalitu pro účely praktické výuky biologie, tak i geografie.

### **3. 4 Didaktická část**

#### **3. 4. 1 Téma sinic a řas ve výuce**

Téma sinic a řas je zařazeno do vzdělávací oblasti Člověk a příroda, předmětu Biologie a tematického okruhu Biologie rostlin.

V tomto vzdělávacím celku jsou od žáka očekávány následující výstupy: žák popíše stavbu těl rostlin, stavbu a funkci rostlinných orgánů, objasní princip životních cyklů a způsoby rozmnožování rostlin, porovná společné a rozdílné vlastnosti stélkatých a cévnatých rostlin, pozná a pojmenuje (s možným využitím různých informačních zdrojů) významné rostlinné druhy a uvede jejich ekologické nároky, zhodnotí rostliny jako primární producenty biomasy a možnosti využití rostlin v různých odvětvích lidské činnosti, posoudí vliv životních podmínek na stavbu a funkci rostlinného těla, zhodnotí problematiku ohrožených rostlinných druhů a možnosti jejich ochrany (Balada a kol. 2007).

Přestože je v učebnicích pro střední školy celkový rozsah učiva širší než v učebnicích pro základní školy, tematice sinic a řas je na středních školách věnována pozornost pouze okrajově. Problémem ve výuce tohoto tématu je absence výukových materiálů pro učitele, které by obsahovaly aktuální vědecké poznatky. Učitelé tak pracují pouze s dostupnými učebnicemi, které obsahují zastaralé informace a podávají učivo velice zjednodušeně až zkresleně, a proto se mnohdy tomuto tématu raději vyhýbají. I přes to, že řasy a sinice jsou jednoduše dostupným přírodním materiálem pro laboratorní cvičení, tak praktická výuka s využitím mikroskopů bývá na školách spíše vzácností. Bývá to většinou z důvodu neexistence námětů na praktická cvičení pro učitele, z nedostatku času nebo nevhodného období, kdy je toto téma ve škole probíráno (období vegetačního klidu) (Nolčová a Vágnerová 2016).

Pro samotné žáky téma sinic a řas nebývá příliš populárním učivem navzdory jejich stále se zvětšujícímu významu v oblasti ekologie, ochrany lidského zdraví nebo biotechnologie. Především je to z důvodu jeho abstraktnosti, protože sinice nemůžeme pozorovat pouhým okem a známé makroskopické druhy řas jsou obvykle součástí pouze mořských ekosystémů. Dalšími důvody mohou být například nedostatečná zajímavost učiva (z důvodu pasivního předkládání), nedostatečné poukázání na využití v praxi nebo nepřítomnost laboratorních cvičení. Ve výsledku je pak malý zájem o učivo ze strany studentů možným důvodem, proč je výuce sinic věnována pozornost pouze okrajově.



Učitel by měl žáky pomocí vhodných metod motivovat ke spolupráci, která je základem toho, aby byl naplněn cíl vyučování, a to předat žákům nové znalosti a vědomosti (Kašpárková 2002). V předmětu biologie mezi dobré motivační činitele patří praktická laboratorní cvičení, při kterých žáci rozvíjejí nejen kompetence pracovní, ale i sociální (práce ve skupinách). Dále by měl učitel umět vzbudit zájem žáků o učení a přimět je tak ke kvalitní práci. Měl by sám jevit zájem a nadšení o dané téma. Důležité je také žákům demonstrovat, jaký význam má obor v reálném životě, jak se učivo uplatňuje v životě každého jedince a propojit tak teorii s praxí.

### 3. 4. 2 Laboratorní cvičení

Biologické praktikum je zaměřeno na aktivní práci žáků, většinou samostatnou nebo ve skupinách. Žáci si mohou práci a postup řešení sami zorganizovat a přijímají tak větší zodpovědnost za jeho splnění. Praktika se nejčastěji konají ve speciálně vybavené biologické laboratoři, v terénu (přírodě) nebo na školním pozemku.

Laboratorní práce představuje náročnou organizační formu výuky a je potřeba se na ni pečlivě připravit, jak po stránce materiální, tak po stránce pedagogické. Učitel by měl dopředu rozhodnout, čeho přesně chce při hodině dosáhnout (například zda si žáci mají přednostně všimnout něčeho konkrétního, zda si mají pořídit nějaký zápis ze cvičení, zda jim bude potřeba pracovní postup demonstrovat apod.) (Petty 2004).

Jako další by si měl sám učitel laboratorní práci předem vyzkoušet, aby dokázal posoudit, zda je možná její realizace, ať už z hlediska časových možností nebo školní vybavenost. Z hlediska vybavenosti pro laboratorních cvičení je potřeba, aby škola vlastnila kvalitní mikroskopy se zabudovaným osvětlením. Během laboratorní práce se doporučuje rozdělení žáků na skupinky, z důvodu podpory týmové spolupráce a rozvoje komunikačních kompetencí u žáků (Vinter a Králíček 2016).

Jako další věc je důležité zajistit, aby laboratorní praktika neznamenal, že žáci budou vždy „otrocky“ postupovat podle pokynů zadaných učitelem. Příliš častý postup podle takových „návodů k použití“ nedává žákům dostatek prostoru k přemýšlení a k osvojení důležitých kompetencí. Písemný popis praktického cvičení by měli mít dispozici všichni žáci a měl by být jasný, stručný a výstižný. V průběhu praktického cvičení by měl učitel průběžně kontrolovat, zda skupinky pracují správně, zda dosahují výsledků, které učitel očekává a zda dodržují zásady bezpečnosti (Petty 2004).

Na konci laboratorní práce by měl být vymezen prostor pro závěrečné shrnutí a prezentaci výsledků (Vinter a Králíček 2016). Velmi důležitá bývá také diskuze, při které žáci mohou diskutovat o dosažených výsledcích jednotlivých skupin a tyto výsledky porovnávat (Petty 2004).

Laboratorní cvičení patří mezi vhodné motivační činitele při výuce. Při praktické výuce žáci rozvíjejí nejen kompetence pracovní a sociální, ale i povědomí o rozmanitosti mikroorganismů, které dosud považovali za abstraktní. Při výuce algologie jsou mikroskopická praktika z tohoto pohledu velmi důležitá (Nolčová a Vágnerová 2016).

### 3. 4. 3 Návrh laboratorního cvičení a vycházky do přírody

**1. Téma:** Sinice a jejich výskyt v přírodě

**2. Tematické ukotvení:** vzdělávací oblast člověk a příroda, předmět biologie, tematický okruh biologie rostlin

**3. Zařazení do výuky:** SŠ (1. – 2. ročník)

**4. Mezipředmětové vztahy:** zeměpis (biomy, výskyt sinic v jednotlivých biomech), chemie (chemické vlastnosti hornin a vody), ekologie (eutrofizace, znečišťování a ochrana životního prostředí)

**5. Průřezová témata:** Environmentální výchova (ekosystémy, základní podmínky života, lidské aktivity a problémy životního prostředí, vztah člověka k prostředí), Osobnostní a sociální výchova (rozvoj schopností poznávání, komunikace, kooperace a kompetice, řešení problémů a rozhodovací dovednosti)

**6. Didaktické cíle:**

- Žák dokáže připravit jednoduchý mikroskopický preparát.
- Žák bude umět popsat stavbu buněk sinic.
- Žák se naučí určit dané zástupce sinic nacházejících se v přírodě nebo vytvářejících vodní květ.
- Žák se naučí zařadit jednotlivé zástupce sinic do rodů.
- Žák dokáže posoudit význam sinic pro člověka.
- Žák bude umět aplikovat teoretické poznatky při řešení praktických situací.

**7. Metody a organizační formy:** metody: informačně-receptivní (výklad, rozhovor), názorně demonstrační, výzkumná (pokus), práce s literaturou, organizační formy: laboratorní práce, vycházka do terénu, skupinová výuka

**8. Prostor pro realizaci:** modelová plocha NPP Třesín nebo například: rybník s nápadným zeleným zbarvením (s vodním květem pro odběr vzorků), zarostlá louže, kámen v tekoucím potoce, borka stromů, vlhké skály s barevným povlakem, školní biologická laboratoř

**9. Pomůcky:** plastové odběrové lahvičky s víčkem (objem cca 100 ml), tupý nož, mikroskopy, podložní a krycí sklíčka, pipety, destilovaná voda, papíry, psací potřeby, odborná literatura

**10. Časová náročnost:** 2 vyučovací hodiny (90 minut)

### **11. Scénář cvičení:**

Laboratorní cvičení by mělo navazovat na teorii sinic a řas vyučovaných v biologii, a proto by žáci před laboratorním cvičením již měli mít potřebné znalosti. Žáci budou zpracovávat celkem čtyři úkoly.

V první vyučovací hodině bude zrealizována vycházka do terénu, kde žáci budou plnit první úkol. Žáci budou pracovat ve skupinkách, ve kterých budou sbírat vzorky pro laboratorní cvičení. Místo sběru bude pro každou skupinku jiné (rybník s nápadným zeleným zbarvením, zarostlá louže, kámen v tekoucím potoce, borka stromů, povrch vlhké skály apod. – záleží na počtu skupin). Z vodního prostředí budou žáci provádět sběr pomocí plastových odběrových lahviček. Z terestrického prostředí budou žáci provádět sběr za pomoci tupého nožíku (skalpelu) seškrábnutím části barevného povlaku do odběrových lahviček.

Druhým úkolem pro žáky bude zpracování vzorků ve školní laboratoři. Budou mít za úkol vytvořit jednoduchý mikroskopický preparát z odebraného vzorku a pozorovat jej pod mikroskopem. V průběhu pozorování pod mikroskopem si budou všimnout nápadných struktur těchto organismů a budou schopni tyto struktury popsat. Dalším úkolem bude určení nejhojnějších zástupců ve vzorku a jejich zařazení do rodu pomocí odborné literatury. Dva nejhojnější se vyskytující zástupce si žáci schematicky zakreslí do protokolu společně s jejich názvem, popisem struktur a zvětšením. Při zakreslování a popisování struktur by si žáci měli uvědomovat rozdíly mezi prokaryotní a eukaryotní buňkou.

Na konci laboratorního cvičení jednotlivé skupinky seznámí ostatní spolužáky se svými výsledky.

### **12. Závěr:**

Cílem tohoto cvičení je především propojení teorie s každodenním a praktickým životem. Žáci budou seznámeni s nejznámějšími zástupci sinic, jejich zařazením podle nejnovějšího systému, základní charakteristikou a ekologií. Vhodná forma výuky tohoto tématu je kombinace výkladu teorie a skupinových praktických činností s mikroskopy.

### 3. 4. 4 Návrh laboratorního protokolu

|                                                        |                  |
|--------------------------------------------------------|------------------|
| <b>LABORATORNÍ CVIČENÍ Z BIOLOGIE Č. x</b><br>Protokol |                  |
| <b>Sinice a tvorba vodního květu</b>                   |                  |
| Jméno a příjmení:                                      | Datum práce:     |
| Třída:                                                 | Datum odevzdání: |

#### **1. Teorie (opakování):**

Sinice jsou prokaryotní organismy s fotosyntézou rostlinného typu. Jejich stélky jsou jednobuněčné nebo vláknité a v obou případech mohou žít jednotlivě nebo tvořit kolonie. Na rozdíl od eukaryotních buněk nemají sinice jako prokaryota žádné buněčné jádro ani buněčné organely, jako jsou mitochondrie, chloroplasty, endoplazmatické retikulum nebo diktyozomy (Golgiho aparát) (Kaštovský a kol. 2003). Sinice nemají mikrotubuly, cytoskelet ani žádný druh bičků. Buněčná stěna je pevná, vícevrstevná a její obal tvoří slizová vrstva složená z lipopolysacharidů (Kalina a Váňa 2005). Pod povrchem buněčné stěny je plazmatická membrána, která je sídlem dýchacích enzymů a slouží k aktivnímu transportu iontů a exkreci látek (Kaštovský a kol. 2003). Nejvýraznějším útvarem uvnitř buňky sinic jsou fotosyntetické membrány – tzv. tylakoidy. Jsou to ploché váčky s fotosyntetickým aparátem. Ve světlejší středové oblasti buňky převládá cytoplazma, velká kruhová molekula DNA, ribozomy a další plazmatické struktury (Kaštovský a kol. 2003). V buňce sinic se vytváří specifické shluky plynových vezikul, zvané aerotopy, které jsou naplněny směsí plynů. Mají tvar šestibokých hranolů, plní funkci plovacích měchýřků a sinicím tak umožňují vznášet se na vodní hladině (Maršálek a kol. 2005). Sinice mají schopnost ukládat důležité živiny a metabolity uvnitř cytoplazmy. Zásobní látky jsou přítomny ve formě granul, kapének lipidů nebo karboxyzomů (Fay a Van Baalen 1987). O sinicích se často hovoří v negativních souvislostech spojených s tzv. vodním květem. Vodní květy vznikají v důsledku eutrofizace krajiny (vodního prostředí), která je zapříčiněna zvýšeným přísunem živin do prostředí (hlavně dusíku a fosforu). Dochází k velké produkci biomasy sinic, která se díky aerotopům shromažďuje na vodní hladině

a zamezuje tak přísunu světla do nižších částí nádrže. Dále dochází k tvorbě toxických látek nebezpečných pro člověka i zvířata, které způsobují problémy v oblasti rekreace a úpravy vod pro konzumaci (Šejnohová a kol. 2004).

**2. Materiál:** nasbírané vzorky ze stanoviště - rybník s nápadným zeleným zbarvením

**3. Pomůcky:** plastové odběrové lahvičky s víčkem (objem cca 100 ml), mikroskopy, podložní a krycí sklíčka, pipety, destilovaná voda, papíry, psací potřeby, pracovní listy

#### **4. Úkol č. 1:**

Postup: Odeberte vzorek z určeného stanoviště. Z vodního prostředí provádíme sběr pomocí plastových odběrových lahviček. Z terestrického prostředí provádíme sběr za pomoci tupého nožíku seškrábnutím části barevného povlaku do odběrových lahviček.

#### **5. Úkol č. 2:**

Postup: Vytvořte tenký preparát přenesením vzorku na podložní sklíčko a zakápnutím kapkou destilované vody. Přikryjte vzorek krycím sklíčkem a pozorujte pod mikroskopem pod různým zvětšením. V průběhu pozorování pod mikroskopem si všímejte nápadných struktur těchto organismů a následně je v nákresu popište.

#### **6. Úkol č. 3:**

Postup: Pomocí pracovního listu určete nejhojněji se vyskytující zástupce, zařaďte je do systému a zakreslete do protokolu (název, zvětšení a nákres).

#### **7. Úkol č. 4:**

Postup: Seznamte zbytek spolužáků se svými výsledky a porovnejte výsledky navzájem.

**8. Nákres (určení zástupce, zařazení, popis struktur, typ stélky, zvětšení):**

Zvětšení:

**9. Nákres (určení zástupce, zařazení, popis struktur, typ stélky, zvětšení):**

Zvětšení:

**10. Závěr:**

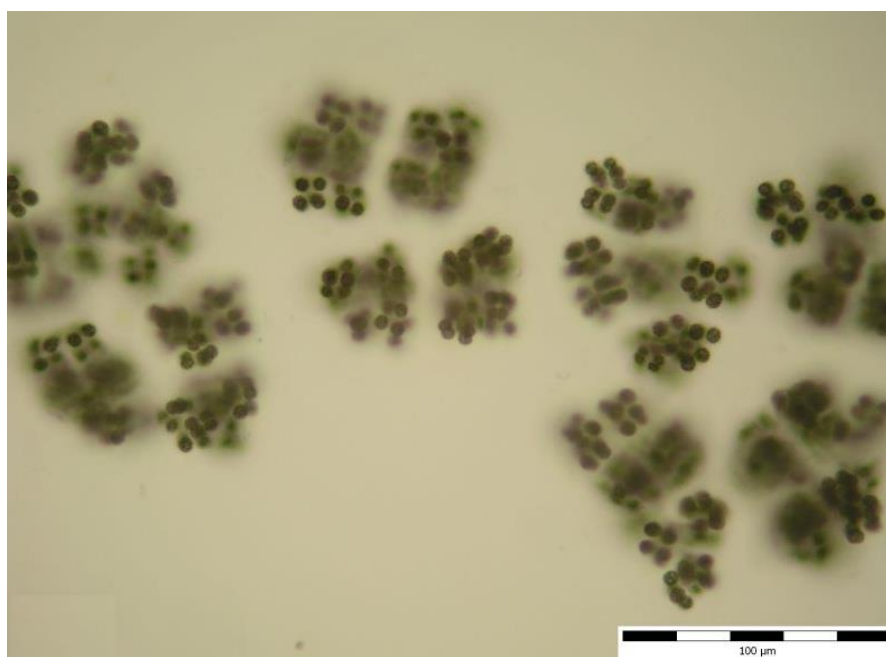
### 3. 4. 5 Návrh pracovního listu pro určení zástupců

#### Pozorování nejběžnějších rodů sinic

**Microcystis** - kokální sinice vytvářející kolonie. Vytváří mohutné vodní květy s častou a vysokou toxicitou (Hašler 2005). Nejběžnější zástupce *Microcystis aeruginosa* patří mezi nejvíce toxické druhy (Znachor 2005). Za zmínku stojí druhy *M. viridis* a *M. wesenbergii*, tvořící pevné slizové obaly a velké buňky (Hašler 2005).



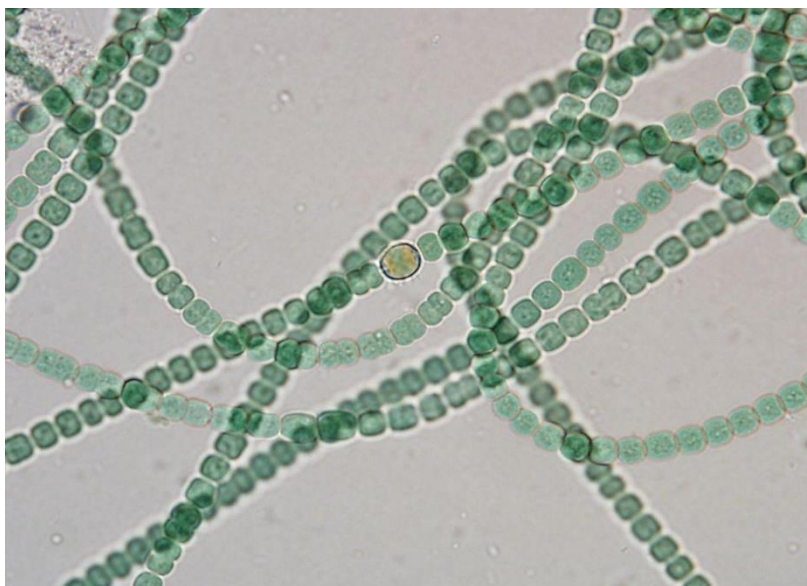
Obrázek č. 1: *Microcystis aeruginosa* – rybník Krajina (Jan Kaštovský 2006)



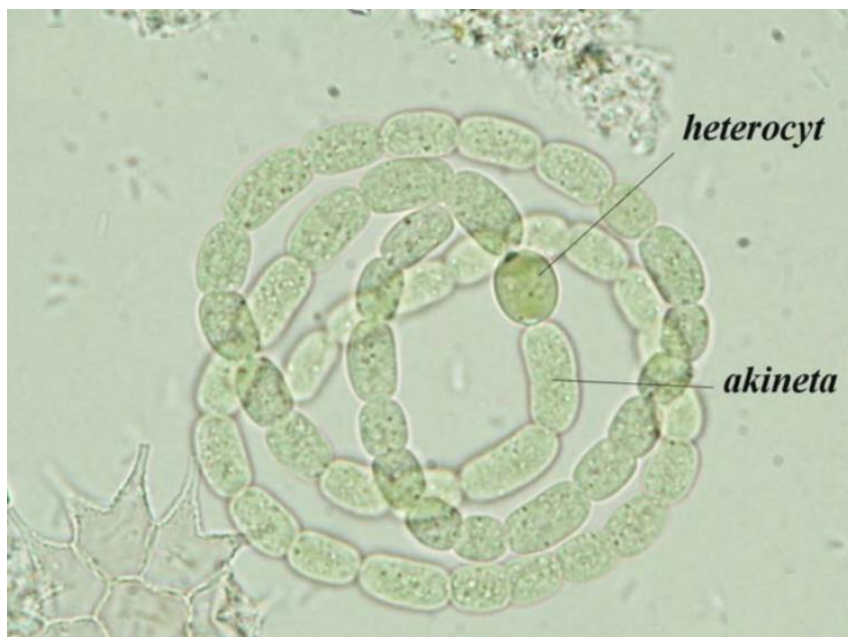
Obrázek č. 2: *Microcystis viridis* – rybník Krajina (Jan Kaštovský 2006)



**Anabaena** – vláknitá sinice, která má tvarově odlišné specializované buňky sloužící k fixaci vzdušného kyslíku. Kulovité buňky této sinice vytváří charakteristické řetízky (Znachor 2005). *Anabaena* vytvářející vodní květ produkuje silné toxiny. Nejčastějším druhem je *A. lemmermanii*, jejichž vlákna se sdružují do nepravidelných chomáčů (Anagnostidis a Komárek 1988).

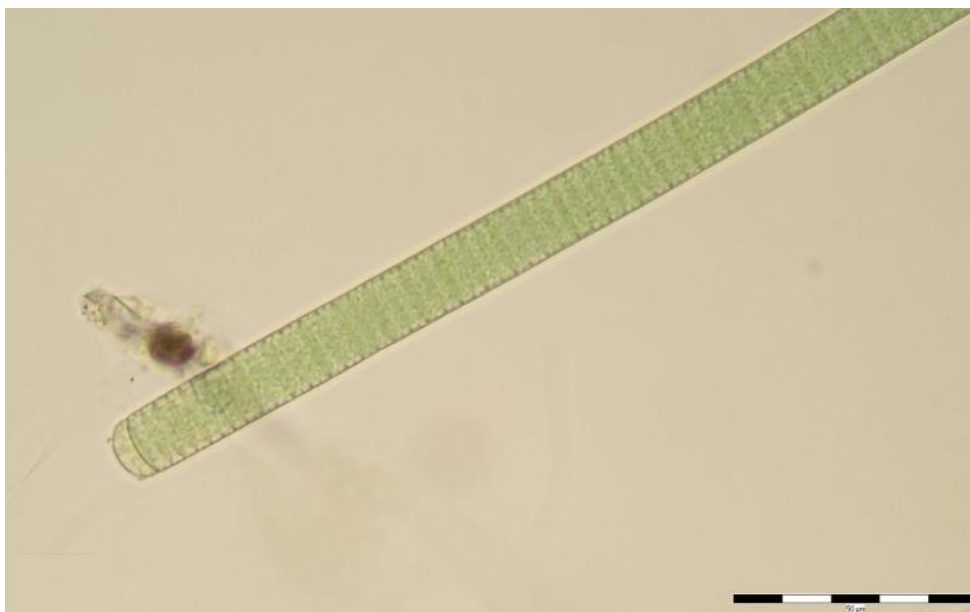


Obrázek č. 3: *Anabaena* sp.

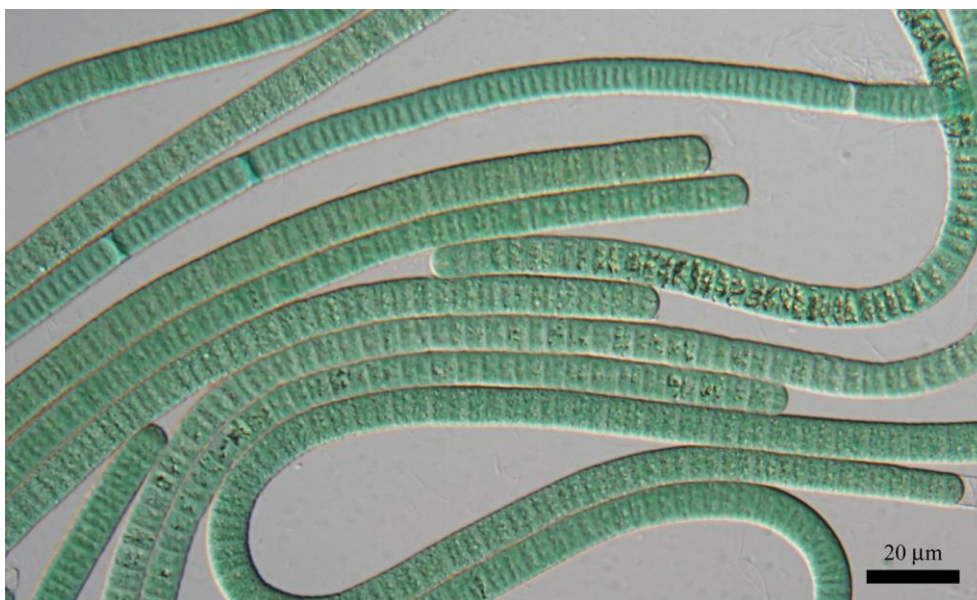


Obrázek č. 4: *Anabaena* sp. – Morava (Hašler 2005)

***Oscillatoria*** - naše nejběžnější vláknitá sinice, jejíž buňky jsou několikrát širší než delší (Anagnostidis a Komárek 1988). Vyskytuje se zejména na povrchu bahnitého dna. Při svém přemnožení vytváří na hladině modrozelené shluky, které se „odlepují“ ode dna vlivem vysoké produkce kyslíku (Hašler 2005).

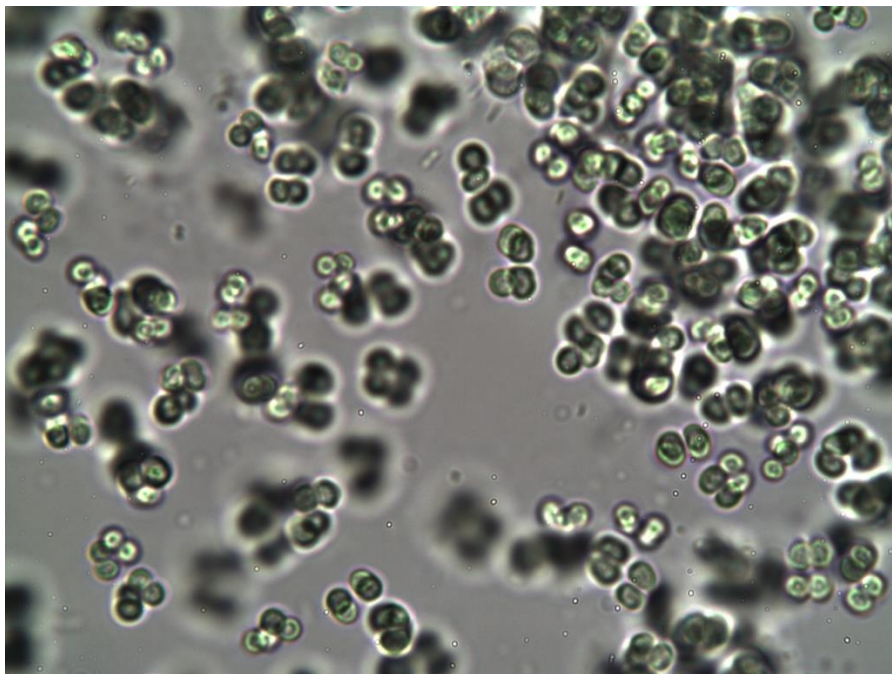


Obrázek č. 5: *Oscillatoria* – Vltava (Jan Kaštovský 2013)



Obrázek č. 6: *Oscillatoria* (Kováčik 2009)

***Chroococcus*** – jednobuněčná kokální sinice, jejíž buňky jsou kulovité nebo polokulovité a vytváří kolonie, které jsou obalené slizovými obaly (Anagnostidis a Komárek 1988). Tato sinice se vyskytuje v menším množství v pobřežních vrstvách vod (Hašler 2005).



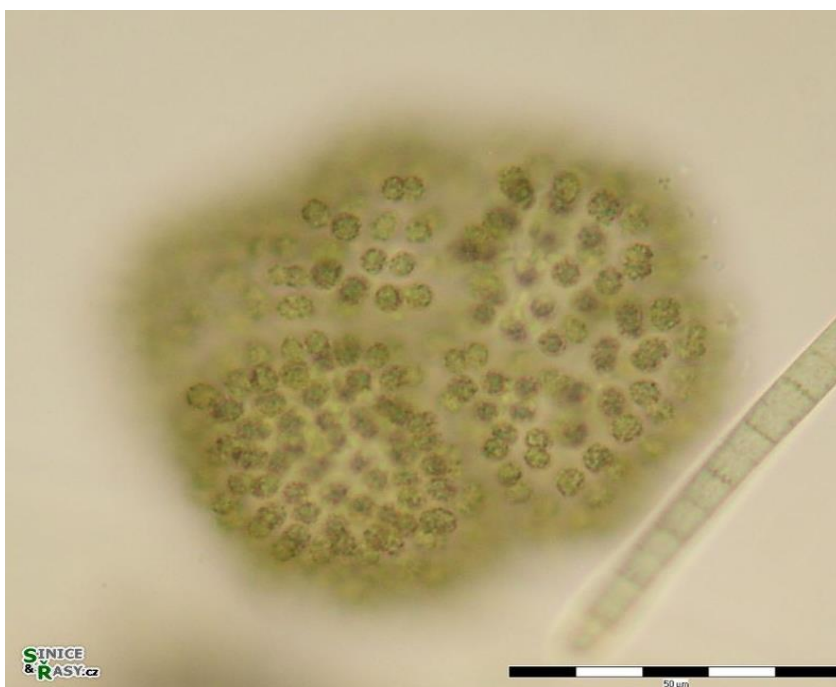
Obrázek č. 7: Kolonie *Chroococcus*, NPP Třesín



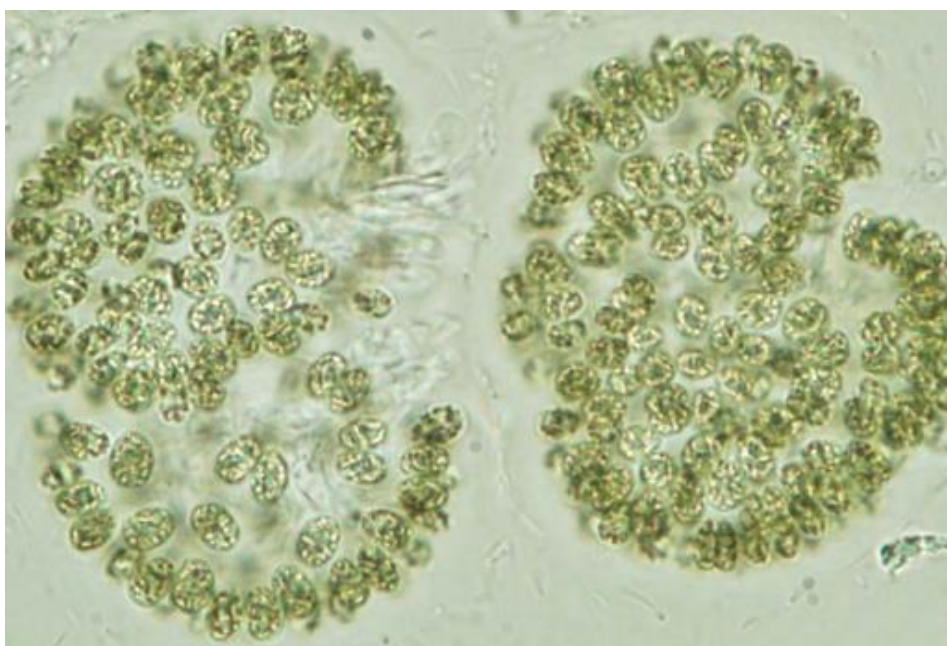
Obrázek č. 8: *Chroococcus limneticus* (*Limnococcus limneticus*) – Líšnice (Hašler 2005)



**Woronichinia** - běžný rod sinice v našich rybnících, který se často se vyskytuje smíšený s rodem *Microcystis* (Hašler 2005). Vytváří kulovité nebo nepravidelné kolonie, často složené ze subkolonií. Buňky sedí na nevětvených slizových stopkách po párech směřujících do středu kolonie (Kaštovský 2005). Na obrázcích níže se nachází nejběžnější zástupce *Woronichinia naegeliana*.



Obrázek č. 9: *Woronichinia naegeliana* (Kaštovský 2006)



Obrázek č. 10: *Woronichinia naegeliana* (Hašler 2005)

### 3. 5      **Vhodné druhy sinic do výuky biologie**

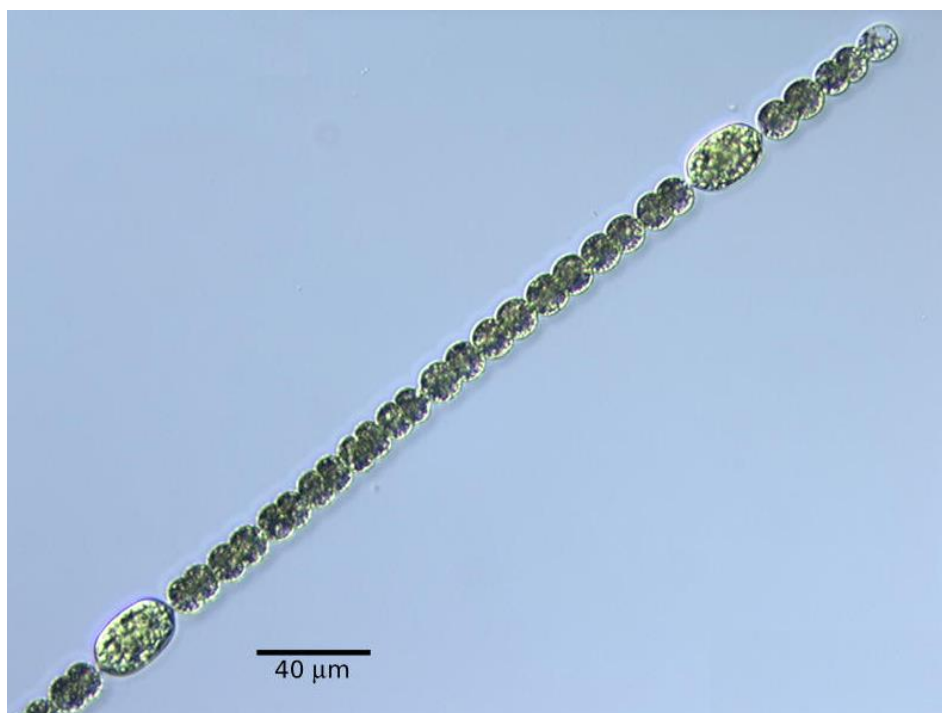
Sinice, které je vhodné zařadit do výuky biologie, jsou především mnohobuněčné sinice s vláknitou stélkou. Pozorování jednobuněčných druhů sinic ve školním prostředí by mohlo být značně problematické z důvodu jejich menších rozměrů. Zvolení zástupci sinic do výuky biologie by měli být takzvanými „modelovými organismy“. Tyto organismy by měli viditelně vykazovat charakteristické rysy probíraných skupin.

Ve výuce tématu sinic na základní nebo střední škole není potřeba určovat velké množství zástupců. Sinice mají často pouze latinské názvy, které mohou být pro žáky složité a demotivující. Proto postačí, když se žáci nalezené druhy sinic naučí zařadit do větších taxonomických skupin, které mají nějaké společné charakteristické znaky. Zároveň je i učitel schopen vést kvalitní výuku tohoto tématu v biologii bez nutnosti použití odborné literatury (Nolčová a Vágnerová 2016).

Žáci by se měli naučit poznat alespoň pár hlavních zástupců sinic. Do výuky tématu sinic v biologii je vhodné zařadit laboratorní cvičení s mikroskopy s použitím pracovních listů. Níže shrnuji pár zástupců sinic, na kterých jsou vizuálně dobře patrné charakteristické znaky, a proto jsou považovány za „modelové druhy“ některých řádů.

#### **Růžencovka (*Anabaena* sp.)**

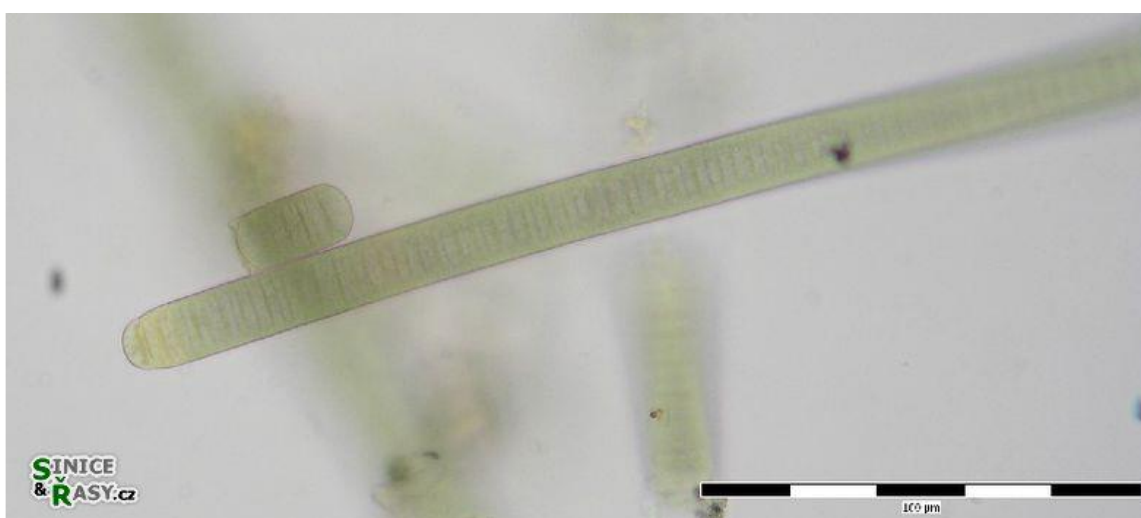
*Anabaena* sp. patří mezi vláknité sinice, která vytváří specializované buňky zvané heterocyty a akinety. Heterocyty slouží k fixaci vzdušného dusíku. Vlákná jsou poměrně dobře pozorovatelná i v mikroskopech s menším maximálním zvětšením. Hojně se vyskytuje v planktonu rybníků. Podílí se na tvorbě vodního květu ve vodních nádržích (Vágnerová 2006).



Obrázek č. 1: *Anabaena* sp. (Jason Oyadomari 2016)

### **Drkalka (*Oscillatoria* sp.)**

Drkalka je vláknitá sinice, která nevytváří žádné specializované buňky a ani se nepodílí na tvorbě vodního květu. Její trichomy se skládají z mnoha cylindrických buněk. Název „Drkalka“ je odvozen od klouzavého pohybu vláken této sinice. Nejčastěji tvoří sladkovodní nárosty na dně rybníků (v bahně, písku, na kamenech) (Komárek a Anagnostidis 1988).



Obrázek č. 2: *Oscillatoria* sp. (Kaštovský 2007)

### **Jednořadka (*Nostoc* sp.)**

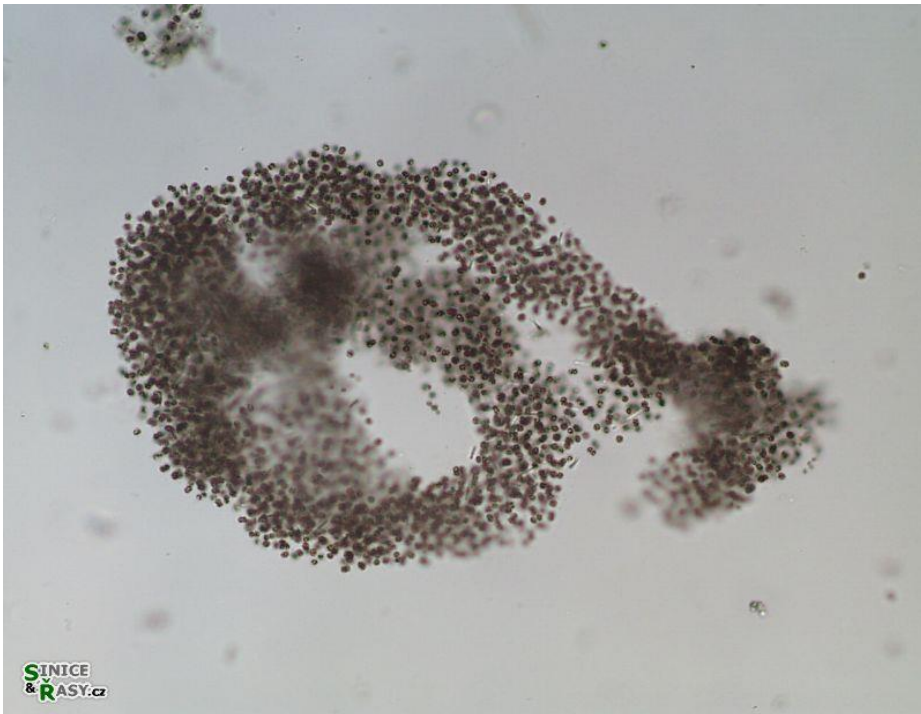
*Nostoc* sp. patří mezi vláknité sinice vytvářející heterocyty a akinety. Vlákná této sinice jsou uložena ve slizovém obalu. Často vytváří makroskopické kolonie. Nejčastěji se vyskytuje aerofyticky, v půdě nebo na skalnatém povrchu (Komárek a Anagnostidis 1988).



Obrázek č. 3: *Nostoc* sp. – NPP Třesín

### ***Microcystis aeruginosa***

Jedná se o velmi hojnou sinici především v rybnících koncem jara a v létě. Často vytváří vodní květy vodních nádrží. Poznáme ji podle charakteristického vzhledu kolonie s kulovitými buňkami (Kaštovský a kol. 2018).



Obrázek č. 4: *Microcystis aeruginosa* (Kaštovský 2004)



### 3. 6 Návrh práce s textem

#### **Práce s textem**

Téma: Sinice a tvorba vodního květu

**Zadání:** Pečlivě si prostudujte text Vodní květy řas a sinic (Znachor 2005) - viz přílohy (příloha V) a odpovězte na otázky níže.

**1) Vysvětli pojmy vodní květ a eutrofizace.**

.....

.....

.....

**2) Zamysli se nad důsledky vzniku vodního květu ve vodní nádrži. Co může ovlivnit?**

.....

.....

.....

**3) Jak se nazývají toxické látky produkovány sinicemi? Co mohou u člověka vyvolávat?**

.....

.....

.....

**3) Napadají tě způsoby, kterými by šlo nežádoucímu přemnožení sinic zabránit (jak udržet výskyt sinic v rozumných mezích)?**

.....

.....

.....

.....

### 3. 6. 1 Řešení

#### **Práce s textem**

Téma: Sinice a tvorba vodního květu

**Zadání:** Pečlivě si prostudujte text Vodní květy řas a sinic (Znachor 2005) - viz přílohy (příloha V) a odpovězte na otázky níže.

#### **1) Vysvětli pojmy vodní květ a eutrofizace.**

Většina našich přehrad je eutrofizovaná – to znamená, že obsahují velké množství živin (především fosforu a dusíku, které se do vody dostávají splachy ze zemědělských ploch, vypouštěním odpadních vod apod.). Vodní květem rozumíme hromadné, pouhým okem viditelné přemnožení řas nebo sinic. Vyskytuje se ve stojatých nebo pomalu tekoucích vodách zejména v letních měsících, kdy bývá teplota vody nejvyšší.

#### **2) Zamysli se nad důsledky vzniku vodního květu ve vodní nádrži. Co může ovlivnit?**

Zhoršení kvality vody, snížení možností jejího využití – např. pro konzumaci (z důvodu přítomnosti toxinů), problémy v oblasti rekreace, problémy pro vodní organismy.

#### **3) Jak se nazývají toxické látky produkované sinicemi? Co mohou u člověka vyvolávat?**

Nazývají se cyanotoxiny a u člověka mohou vyvolávat poruchy zažívacího traktu, alergické reakce, onemocnění jater, mohou spouštět rakovinné bujení aj.

#### **3) Napadají tě způsoby, kterými by šlo nežádoucímu přemnožení sinic zabránit (jak udržet výskyt sinic v rozumných mezích)?**

Například snížením množství živin v nádrži – výstavbou moderních čistíren odpadních vod nebo používáním bezfosfátových pracích prostředků. Další možností jsou revitalizace toků, obnova říční nivy, aplikace chemických přípravků na bázi sloučenin hliníku, výsadky dravých ryb – podpora rozvoje zooplanktonu (konzumenti sinic – vířníci a filtrující zooplankton, aj.).

## 4 Diskuze

Různé druhy z rodů *Chroococcidiopsis*, *Chroococcus*, *Gloeocapsa*, *Gloeotheca*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Gloeocapsopsis* a *Asterocapsa* jsou běžnými organismy vyskytující se na vlhkých skalách (Jaag 1945, Komárek 1993).

Rod *Chroococcidiopsis* byl tradičně zařazen do diverzifikovanějších kokálních sinic, ale podle molekulárních analýz má fylogeneticky blíže k vláknitým rodům (Komárek a kol. 2014). Dle Rippka a kol. (1979) druhy *Chroococcidiopsis* izolované z různých prostředí jsou schopny za anaerobních podmínek fixovat atmosférický dusík. Billi a GrilliCaiola (1996) uvádí, že druhy jsou navíc schopny vytvářet specializované buňky za podmínek omezujících dusík. Tyto buňky interpretují jako buňky přežití, které umožňují přežití v obdobích s omezeným množstvím dusíku a v obdobích sucha. Podle Rippka a kol. (1979) a Wolk a kol. (1994) buňky přežití vznikají za celkových nepříznivých podmínek prostředí. Zmiňují se, že vývojové a fyziologické procesy, které jsou základem pro tvorbu buněk přežití u *Chroococcidiopsis*, mohou souviset s diferenciací heterocytů (Rippka a kol. 1979 a Wolk a kol. 1994). Nicméně *Chroococcidiopsis* heterocyty nikdy nevytváří, pouze vykazuje nitrogenázovou aktivitu přímo u vegetativních buněk, proto je podobná heterocyty tvořícím sinicím. Podle Grilli Caiola a De Vecchi (1980) vícevrstevný buněčný obal vegetativních buněk *Chroococcidiopsis* vykazuje pozoruhodnou podobnost s vícevrstevným obalem akinet u rodu *Nostoc*. Oba typy buněk představují klidová stádia, ale obsahy buněk jsou rozdílné.

Waterbury a Stanier (1978) jako někteří další autoři tradičně zařazují rod *Chroococcidiopsis* do řádu Pleurocapsales, který tvoří jednobuněční zástupci sinic, které se množí několikanásobným dělením buněk (Waterbury a Stanier 1978). Několikanásobné dělení popsali jako komplexní diferenciační proces zahrnující buď současné dělení nebo rychlé postupné dělení jednotlivých buněk, čímž vzniká velké množství specializovaných buněk zvaných baeocyty (Waterbury a Stanier 1978, Kunkel 1984, Waterbury 1989). Podle Rippka a kol. (1979) tento společný způsob reprodukce rozlišuje zástupce řádu Pleurocapsales od všech jiných sinic. Nicméně podle nejnovějšího systému od Komárek a kol. (2014) tvoří Pleurocapsales a Chroococcidiopsidales dva samostatné řády.

Waterbury a Stanier (1978) u *Chroococcidiopsis* nenalezli pohyblivé baeocyty, ale konstatovali, že vznik těchto buněk je dočasný a je závislý na faktorech prostředí. Různé

typy buněčného dělení a produkce baeocytů popsali Geitler a Ruttner (1935) a Friedmann (1962).

Podle Geitler a Ruttner (1935) u rodu *Chroococcidiopsis* binárním dělením vznikají dvě stejné dceřiné buňky (makrocyty; velké mateřské buňky). Tyto buňky postupně rostou a zvětšují se a mohou pokračovat v dalším binárním dělení. Waterbury a Stanier (1978) a Rippka a kol. (2001) uvádí, že binárních dělení probíhá u *Chroococcidiopsis* mnoho. U kmene, který autoři studovali, binární dělení pokračovalo tvorbou velmi malých buněk, které označili za baeocyty. Dle Tandon a kol. (2016) jsou baeocyty přirozeným důsledkem spojitých dělení.

V diskusi o vývojovém cyklu rodu *Chroococcidiopsis* píše Waterbury a Stanier (1978, s. 31), že dřívější autoři předpokládali, že *Chroococcidiopsis* je jednobuněčný organismus, u kterého dochází pouze k několikanásobnému dělení buněk. Z tohoto důvodu byli nuceni zkoumat a podat komplexní vysvětlení tvorby různých typů buněk a agregátů pozorovatelných v kulturách. Friedmann (1962), i když uvádí rod jako jednobuněčný, jasně určil v jeho reprodukčním cyklu dva typy buněčného dělení. Friedmann (1962) tvrdí, že plně vyvinuté buňky se dělí 1-3 krát, produkují buňky, které se postupně zvětšují a následně dochází ke sporogennímu dělení za vzniku endospor.

Popsané binární dělení Waterburyho a Staniera (1978) je stejné jako první, které uvádí Friedmann (1962), a popsané několikanásobné dělení od Waterbury a Stanier (1978) lze přirovnat k popsanému sporogennímu dělení od Friedmanna (1962). Termín baeocyt od Waterbury a Stanier je ekvivalentní k endospoře použitý ve výzkumu od Friedmann (1961). Dle Pinevicha a kol. (2008) mezi těmito dvěma pojmy neexistuje žádný významný rozdíl.

Podle Pinevicha a kol. (2008) poměr binárního a vícenásobného dělení závisí na podmínkách kultivace. Když jsou podmínky příznivé, růst je rychlý. Nicméně za suboptimálních podmínek probíhá růst buněk pomalu a zahrnuje binární dělení. Podle Geitler (1935) je dělení buněk u rodu *Chroococcidiopsis* nepravidelné, probíhá postupně nebo v rychlém sledu. Dělení probíhá v buňkách různé velikosti, nebo ve velkém počtu baeocytů, které se uvolní z roztržených obalů.

Komárek a Anagnostidis (1998) uvádí více než 20 druhů patřících do rodu *Chroococcidiopsis*, které ale v některých případech nejsou jasně definovány. Například *Ch. thermalis* byl zaznamenán z horkých pramenů a *Ch. cubana* byl zaznamenán z mokřadů a přímořských oblastí stojících sladkovodních vod na Floridě, na Kubě a v Mexiku (Komárek

a Hindák, 1975; Komárek a Anagnostidis, 1998). Taxonomicky nedostatečně popsané formy se vyskytují v pouštích jihozápadních oblastí Severní Ameriky, tvořících fototrofní část lišejníků (Büdel a Henssen 1983), nebo na různých stanovištích v Portoriku (1927).

*Chroococcidiopsis* je rod, který vykazuje značnou variabilitu (Broady 1981), ale rozsah variací v rámci druhů není dosud dostatečně zdokumentován. K identifikaci jednotlivých druhů je nezbytná značná srovnávací studie vývojových stadií včetně studií kultur izolovaných z volně žijících populací (Büdel a Henssen 1983).

V mém výzkumu jsem u *Chroococcidiopsis* pozorovala mnohonásobné a nepravidelné dělení mateřské buňky na buňky dceřiné různého tvaru a velikosti. Toto tvrzení souhlasí s Geitler (1935) a Waterbury a Stanier (1978), kteří uvádí, že binárních dělení probíhá u *Chroococcidiopsis* mnoho. Tyto buňky během životního cyklu postupně rostly, zvětšovaly se a později u nich docházelo k dalšímu dělení. Buňky během životního cyklu měly nepravidelný tvar a různou velikost a u některých může během dělení dojít k přeměně na baeocyty. Rozdělené buňky byly později uvolněny z nepravidelně rozdělených slizovitých obalů. Zjištěné výsledky v mém výzkumu se shodují s Geitler a Ruttner (1935) - dceřiné buňky postupně rostou a zvětšují se a mohou pokračovat v dalším binárním dělení, Waterbury a Stanier (1978), Kunkel (1984) a Waterbury (1989).

Nováček (1934) ve své práci uvádí, že u aeorofytických sinic řádu Chroococcales může během jejich životního cyklu docházet k rychlé změně fází. Tyto sinice tak mohou například během krátké doby generace přecházet do status *perdurans*, vytvářet arthrospory, které mohou opět vznikat uvnitř slizového obalu. V jiném případě mohou směřovat ke status *solutus*. Podle Nováčka (1934) je ve vegetačním stadiu střídání fází dělení nejustálenější a nazývá se životním *optimum*. Golubić (1965) uvádí jako příklad rod *Gloeocapsa*, u kterého je životní *optimum* charakterizované stejným poměrem mezi produkcí slizových obalů a dělením buněk. Geitler (1932) uvádí, že u některých rodů můžeme při rychlém rytmu dělení pozorovat tvorbu nanocytů, drobných buněk, které později dorůstají do normální velikosti.

Někteří autoři se dříve domnívali, že různé druhy kokálních rodů sinic by mohly reprezentovat stádia v životním cyklu vláknitých forem. Tento pohled zpochybňuje například Bary (1886) nebo práce od Bornet a Flahault (1886), která později vytvořila současný základ pro klasifikaci sinic vytvářejících akinety a heterocyty a poukázala na možný vliv vnějšího prostředí na životní cyklus jednotlivých druhů sinic.

U rodu *Gloeocapsa* jsem pozorovala několik odlišných morfologických fází, které byly ovlivněny sezónními podmínkami prostředí. To souhlasí s Nováček (1934), který uvádí, že rychlá změna fází v životním cyklu těchto sinic je závislá především na podmínkách prostředí.

Dle Komárek (1992) různé druhy *Gloeocapsa* rostou v morfologicky velmi různorodých stádiích, a to v nezávislosti na sezónních a místních změnách životního prostředí. Podle Komárek (1992) byly různé stavy (st. *perdurans*, *solutus* atd.) popsány u mnoha druhů a pro správnou identifikaci je proto nezbytné znát sezónní variabilitu celé populace. Ve vegetačním období docházelo k intenzivnímu buněčnému dělení ve třech kolmých rovinách. Před dalším dělením buňka dorostla do původní velikosti. Dceřiné buňky produkovaly své vlastní slizové obaly brzy po dělení. V klidovém stádiu byly buňky obaleny pevnými, vrstevnatými a intenzivně zbarvenými obaly, které někdy měly na svém povrchu bradavičnaté výrůstky. Buňky v těchto fázích se mohou také dělit, ale pouze na začátku nebo na konci fáze a brzy poté následuje vegetativní stav. Tyto výsledky souhlasí s Komárek a Anagnostidis (1998), že u buněk dochází k binárnímu dělení ve slizových obalech, a to ve třech kolmých rovinách v následných generacích. Dceřiné buňky pak rostou do původní velikosti a tvaru před dalším dělením. Geitler (1932) uvádí, že u některých druhů můžeme pozorovat tvorbu nanocytů, nicméně já jsem tvorbu těchto drobných buněk nezaznamenala.

Podle Komárek a Anagnostidis (1989) zahrnují životní cykly *Nostoc* specifické fyziologické (pravděpodobně genetické) procesy, které nejsou známe u žádných jiných rodů. Mollenhauer (1986), Dodds a kol. (1995), Tandeau de Marsac (1994) a Lazaroff (1973) mezi tyto procesy řadí tvorbu pohyblivých hormogonií s nebo bez plyných vezikul, tvorbu vláknitých a kulovitých fází, tvorbu mikro a makro kolonií, reprodukci prostřednictvím pučení a fragmentace kolonií nebo vývoj hormogonií.

Podle Meeks a kol. (2001) mají vegetativní buňky *Nostoc* tři vývojové cesty, které jsou závislé na podmínkách prostředí. Dle Neumann a kol. (2002) je jejich životní cyklus charakterizován několika procesy buněčné diferenciace v reakci na vnitřní a vnější faktory. Podle Wolk a kol. (1994) je tvorba heterocytů jednou z vývojových alternativ, přičemž heterocyty jsou ve svém metabolismu vysoce modifikovány a zachovávají si mikrooxidové buněčné prostředí nezbytné pro fixaci dusíku. Wolk (1994) odhaduje, že diferenciace a udržování heterocytů je podmíněno více než 140 geny, zatímco Lynn a kol. (1986) odhaduje jejich počet přibližně na 1000.

Wolk a kol. (1994) a někteří další autoři předpokládají, že akinety jsou progenitory heterocytů. Adams a Podle Duggan (1999) je pokles slunečního záření obecně brán jako hlavní spouštěcí faktor tvorby akinet, tak i pokles buněčného dělení indukovaný například nutričním (zejména fosfátovým) omezením přispívá k jejich tvorbě. Podle Sutherland a kol. (1979), Yamamoto (1995), Adams a Duggan (1999) a Meeks a kol. (2001) mohou akinety přežívat nepříznivé podmínky několik měsíců až několik desetiletí (což je asi 65 - 130krát delší období než u vegetativních buněk). Jejich laboratorní pokusy dokazují, že akinety potřebují určitý čas na zrání. Karlsson (1999) zmiňuje, že i když jsou vnější podmínky opět krátce po procesu diferenciaci příznivé, klíčení nenastane okamžitě.

Dle Fogg a kol. (1973), Robarts a Zohary (1987) a Lehtimaki a kol. (1997) je růstová fáze sinic tvořících vodní květy omezena hlavně na letní měsíce v důsledku jejich závislosti na teplotě, hodnotu optimální teploty ovlivňující růstovou fázi uvádí přibližně 25 ° C a vyšší. Hense a Beckmann (2006) pro zkoumání dynamiky životního cyklu sinic vytvořili numerický model, který předpokládá, že životní cyklus je řízen vnitřními energetickými a dusíkovými kvótami buněk a rozlišuje čtyři různé stupně.

U rodu *Nostoc* jsem na konci letního období, z důvodu poklesu slunečního záření a živin, pozorovala tvorbu klidových spor, zvaných akinet (např. u *Nostoc commune*), které podle Wolk a kol. (1994) vznikají za podmínek buněčného energetického omezení, které je způsobeno například omezením fosfátů. Akinety vypadaly jako mírně zvětšené vegetativní buňky a u tohoto druhu se vytváří od prostřední buňky mezi dvěma heterocyty (směrem k těmto heterocytům). Růstová fáze těchto sinic probíhala hlavně v období léta, a to v důsledku jejich závislosti na příznivých teplotních podmínkách, což souhlasí s Fogg a kol. (1973), Robarts a Zohary (1987) a Lehtimaki a kol. (1997). Kromě vegetativních buněk se u těchto typů dále pozorovala i heterocyty, jejichž obsah se jeví jako prázdný. U rodu *Nostoc* se buňky dělily příčně a reprodukce probíhala na pomoci pohyblivých hormogonií, což uvádí také Komárek (1992) a Adams a Duggan (1999).

Podle Nolčová a Vágnerová (2006) téma sinic a řas nebývá u žáků příliš populárním učivem. Především je to z důvodu jeho abstraktnosti, protože sinice nemůžeme pozorovat pouhým okem a známé makroskopické druhy řas jsou obvykle součástí pouze mořských ekosystémů. Jako další důvody uvádí například nedostatečnou zajímavost učiva, nedostatečné poukázání na využití v praxi nebo nepřítomnost laboratorních cvičení.

Dle Kašpárkové (2002) by měl učitel žáky pomocí vhodných metod motivovat, vést je ke vzájemné spolupráci a vytvářet aktivní zájem o dané učivo. Měl umět vzbudit zájem žáků o učení a měl by sám jevit zájem a aktivní nadšení o dané téma. Měl by žákům umět demonstrovat, jaký význam má obor v reálném životě a jak se uplatňuje v životě každého jedince.

Podle Nolčová a Vágnerová (2016) jsou sinice dobře dostupným přírodním materiálem pro laboratorní cvičení, a i přes to bývá praktická výuka na školách spíše vzácností. Jako důvody časté absence laboratorních nebo praktických cvičení uvádí neexistenci námětů na praktická cvičení pro učitele nebo nedostatek času.

Dle Vinter a Králíček (2016) patří laboratorní cvičení mezi vhodné motivační činitele při výuce. Při praktické výuce žáci rozvíjejí především povědomí o rozmanitosti mikroorganismů, které dosud považovali za abstraktní. Podle Nolčová a Vágnerová (2016) jsou laboratorní praktika při výuce algologie z tohoto pohledu velmi důležitá.

Petty (2004) také uvádí, že jsou laboratorní praktika velmi důležitá, a to z hlediska osvojení potřebných klíčových kompetencí. Podle Petty (2004) je důležité zajistit, aby laboratorní praktika neznamenal, že žáci budou vždy přesně bod po bodu postupovat podle pokynů zadaných učitelem. Je důležité, aby žáci měli dostatek času a prostoru k vlastnímu bádání a přemýšlení.



## 5 Závěr

V diplomové práci jsem provedla studii zaměřenou na výskyt a životní cykly sinic v lokalitě NPP Třesín. Vzorky společenstev aerofytických sinic jsem odebírala ze skalnatého vápencového povrchu jeskyně Podkova a ze stanoviště Řimických vyvěraček. Vzorky jsem zpracovávala a později kultivovala jednotlivé druhy sinic v algologické laboratoři Katedry botaniky Univerzity Palackého v Olomouci.

Po analýze vzorků z Řimických vyvěraček se ukázalo, že nejvíce druhů se nachází v místě blízko vodní hladiny. Ve vzorcích z jeskyně Podkova byly zastoupeny hlavně druhy kokální, které jsou schopné odolávat nepříznivým podmínkám a jsou pro tyto druhy stanovišť typické. Na vlhkých místech na vápencových skalách se vyskytovaly sinice v podobě velkých makroskopických nárostů, zatímco v místech sušších, která nejsou zastíněna, se vyskytovaly v podobě suchých, práškovitých nárostů.

Životní cykly sinic v NPP Třesín jsou charakterizovány několika procesy buněčné diferenciaci, které jsou ovlivněny především vnějšími faktory prostředí. Na konci letního období jsem zaznamenala u heterocytózních typů sinic tvorbu klidových spor – akinet (např. u *Nostoc commune*), které se u tohoto druhu vytváří od prostřední buňky mezi dvěma heterocyty (směrem k těmto heterocytům). Růstová fáze těchto sinic je omezena hlavně na letní měsíce v důsledku jejich závislosti na teplotě. Kromě vegetativních buněk se u těchto typů dále vytvářely i heterocyty, jejichž obsah se jeví jako prázdný. Tvorba těchto specializovaných buněk je velmi složitým procesem, skládající se z několika postupných kroků.

Ze vzorků jsem určila celkem 16 druhů sinic a zjistila nejčastější výskyt druhů: *Gloeocapsa punctata*, *Gloeocapsa alpina*, *Gloeocapsa arguina*, *Leptolyngbya* sp., *Potamolinea* sp. a *Phormidium nigrum*. Z mého výzkumu bylo patrné, že změny v druhovém složení sinic a jejich životních cyklech jsou závislé především na abiotických podmínkách.

Sinice jsou dobře a lehce dostupným přírodním materiálem, který lze velmi snadno využít pro praktickou výuku v hodinách biologie. Žáci mohou být do sběru aktivně zapojeni a získávají tak představu, kde se sinice vyskytují. Jejich význam spočívá především v oborech ekologie, ochrany lidského zdraví nebo biotechnologie. V této diplomové práci, konkrétně v její didaktické části jsem zhodnotila využitelnost NPP Třesín pro praktickou výuku biologie, zhodnotila využitelnost sinic ve výuce, určila vhodné druhy sinic do výuky biologie a navrhla

laboratorní cvičení včetně vycházky do přírody, laboratorního protokolu a pracovního listu pro určení zástupců sinic.

## 6 Seznam literatury

Abdelahad N. & Bazzichelli G. (1991): The genus *Gloeocapsa* Kuetz. (Cyanophyta) on calcareous rock surfaces in the upper valley of the river Aniene (Latium, Italy). *Cryptogamic Botany* 2/3, 155–160

Aboal M., Asencio A. & López-Jiménez E. (2003): Morphological, ultrastructural and ecological study of *Asterocapsa divina* Komárek (Chroococcaceae, Cyanobacteria) from a cave of SouthEastern Spain. *Arch Hydrobiol. Archiv fur Hydrobiologie*. 148. 57-65. DOI: 10.1127/1864-1318/2003/0109-0057.

Adams D. G. & Duggan P. S. (1999): Heterocyst differentiation and akinete differentiation in cyanobacteria. *New Phytol* 144: 3–33.

Balada J., Baladová G., Boněk J. & Zelendová, E. (2007): Rámcový vzdělávací program pro gymnázia. Výzkumný ústav pedagogický v Praze, Praha, 100str.

Barbiero R. P. (1993): A contribution to the life history of the planktonic cyanophyte *Gloeotricha echinulata*. *Arch. Hydrobiol.* 127, 87–100.

Bary A. (1886): Ueber einige Sclerotinien und Sclero. *Botanische Zeitung*, 44, 378.

Berthold R. J., Borowitzka M. A. & Maxkay M. A. (1982): The utrastructure of *Oscillatria spongelliae* the blue green algal endosymbiont of the sponge *Dysidea herbacea*. - *Phycologia* 21: 327-335.

Billi D. & Grilli Caiola M. (1996a): Effects of nitrogen and phosphorus deprivation on *Chroococcidiopsis* sp. (Chroococcales). *Arch.Hydrobiol. Suppl. Algal. Stud.* 83: 93-105.

Billi D. & Grilli Caiola M. (1996b): Effects of nitrogen limitation and starvation on *Choococcidiopsis* sp. (Chroococcales). *New Phytol.* 133: 563-371.

Bornet E. & Flahault C. (1886–1888): Revision des Nostocacées hétérocystées. – *Ann. Sci. Not. Bot.* 7 Ser., 3:323–381, 4: 343–373, 5: 51–129, 7: 177–262.

- Bourrelly P. (1970): Les Algues d'eau douce III. - Ed. N. Boubée et Cie., Paris, p. 1-S12.
- Brand F. (1900): Der Formenkreis von *Gloeocapsa alpina* NAG., - Bot. Zentr. 24: 224 et seq.
- Broady P. A. (1981a): Ecological and taxonomic observations on subaerial epilithic algae from Princess Elisabeth Land and Mac. Robertson Land, Antarctica. Br. J. Phycol. 16: 257-66.
- Broady P. A. (1981b): The ecology of chasmoendolithic algae at coastal locations of Antarctica. Phycologia 20: 259-272.
- Budel B. & Henssen A. (1983): *Chroococcidiopsis* (Cyanophyceae), a phycobiont in the lichen family Lichinaceae. Phycologia, 22, 367-375.
- Carr N. & Whitton B. (1973): The Cyanophyta. (Book Reviews: The Biology of Blue-Green Algae.). Science. 182. 1240-1241.
- Castenholz R. W. (2001): Phylum BX. Cyanobacteria. – In: Boone D. R. & Castenholz R. W. (eds), Bergey's manual of systematic bacteriology, p. 473–599, Springer, New York.
- Caudales R., Wells J. M. & Butterfield J. E. (2000): Cellular fatty acid composition of cyanobacteria assigned to subsection II order Pleurocapsales Int. J. Syst. Bacteriol. 50: 1029–1034.
- Cohen-Bazire G. (1982): Phycobilisomes: composition and structure. The biology of cyanobacteria., 143-190.
- Damerval T., Guglielmi G., Houmard J. & de Marsac N. T. (1991): Hormogonium differentiation in the cyanobacterium *Calothrix*: a photoregulated developmental process. The Plant Cell 3, 191–201.
- Desikachary T. V. (1959): Cyanophyta. – I. C. A. R. Monographs on Algae, New Delhi.
- Dodds W. K., Gudder D. A. & Mollenhauer D. (1995): The ecology of *Nostoc*. J Phycol 31: 2-18.

Drews G. (1959): Beiträge zur Kenntnis der phototaktischen Reaktionen der Cyanophyceen. Arch Protistenkd 104:389–430

Drews R. J. L. C. & Greeff A. M. (1973): Nitrogen elimination by rapid alternation of aerobic/“anoxic” conditions in “orbal” activated sludge plants. Water Research, 7(8), 1183–1194. doi:10.1016/0043-1354(73)90071-7.

Dvořák P., Casamatta D. A., Hašler P., Jahodářová E., Norwich A. R. & Pouličková A. (2017): Diversity of the Cyanobacteria. In: Hallenbeck P. (eds) Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes. Springer, Cham.

Chu, H. (1952): Some new Myxophyceae from Szechwan province China. Ohio J Sci 21, 96–101.

Elenkin A. A. (1936–1949): Monografia algarum cyanophycearum aquidulcium at terrestrium in finibus URSS inventarum [Blue-green algae of the USSR]. – Izdat. Akad. Nauk SSSR.

Fay P. & Van Baalen C. (1987): The Cyanobacteria. Elsevier, Amsterdam, 534 pp.

Fewer D., Friedl T. & Büdel B. (2002): Chroococciopsis and heterocyst-differentiating cyanobacteria are each other's closest living relatives. – Mol. Phylogen. Evol. 23: 82–90.

Flores E. & Herrero A. (2008): The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution. Horizon.

Fogg G. E., Stewart W. D. P., Fay P. & Walsby A. E. (1973): The Blue-Green Algae. Academic Press.

Frémy P. (1929): Les Nostocacées de la Normandie. – Not. Mem. Doc. Soc. Agric. Archéol. Hist. nat. Manche 41:197–228.

Frémy P. (1930): Les myxophycées de l'Afrique équatoriale française. – Arch. Bot. 2: 1–507.

Friedmann, E. I. (1962). The ecology of the atomphytic nitrate algae *Chroococcidiopsis kashaii* Friedmann. Studies on cave algae from Israel. IV. Archiv. Mikrobiol. 42: 42–45

Gama Jr W. A., Laughinghouse IV H. D. & Sant'Anna C. L. (2014): How diverse are coccoid cyanobacteria? A case study of terrestrial habitats from the Atlantic Rainforest (São Paulo, Brazil). Phytotaxa. 178, 61-97.

Geitler L. & Ruttner F. (1935): Die Cyanophyceen der Deutschen limnologischen Sunda-Expedition, ihre Morphologie, Systematik und Oekologie. – Arch. Hydrobiol., Suppl 14 (Tropische Binnengewässer 6): 308–369, 371–483

Geitler L. (1925): Cyanophyceae. – In: Pascher A. (ed.), Süswasserflora 12, p. 481, Gustav Fischer Verl., Jena.

Geitler L. (1932): Cyanophyceae. – In: Rabenhorst's Kryptogamen Flora von Deutschland, Vol. 14, p. 1196, Akad. Verlagsges., Leipzig.

Geitler L. (1942): Schizophyta (Klasse Schizophyceae). – In: Engler A. & Prantl K. (eds), Natürliche Pflanzenfamilien 1b: 1–232, Duncker & Humblot, Berlin.

Geitler L. (1960): Schizophyzeen. In: Handbuch der Pflanzenanatomie (Ed. by W. Zimmermann & P. Ozenda) 6 (1): 1- 131. Borntraeger, Berlin.

Geitler L. (1982): Eine bemerkenswerte Oscillatoriacee, *Katagnymene accurata* n. sp. (Cyanophyceae). — Pl. Syst. Evol. 140, 293–306.

Gibson E. E (1975): Cyclomorphosis in natural populations of *Oscillatoria redekei* Van Goor. Freshw. Biolg. 5, 279-286.

Golubić S. (1967): Algenvegetation der Felsen. In ELSTER, H-J. & OHLE, W. (eds) Die Binnengewässer 23, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Gomont M. (1892): Monographie des Oscillatoriées (Nostocacées homocystées). – Ann. Sci. Nat. Bot. Ser. 7, 15: 263–368, 16: 91–264.

Grilli Caiola, M. & De Vecchi, L. (1980): Akinete ultrastructure of *Nostoc* species isolated from cycad coralloid roots. *Can. J. Bot.* 58: 2513-2519.

Guiry M. D. & Guiry G. M. (2016): *Algae Base* World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. In: [algaebase.org](http://algaebase.org) [online]. [cit. 21.10.2018]. Dostupné na [www: <http://www.algaebase.org>](http://www.algaebase.org)

Hašler P. & Pouličková A. (2005): Cyanobacteria of the spring fens of a part of West Carpathians. – *Biologia (Bratislava)* 60: 335-341.

Hašler P. & Pouličková A. (2005): Cyanobacteria of the West Carpathian Mts spring fens: single samplings. - *Czech Phycology, Olomouc*, 5: 43-55.

Hense I. & Beckmann A. (2006): Towards a model of cyanobacteria life cycle - effects of growing and resting stages on bloom formation of N<sub>2</sub>-fixing species. *Ecological Modelling* 195 (3-4). s. 205-218. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2005.11.018.

Hense I. & Beckmann A. (2010): The representation of cyanobacteria life cycle processes in aquatic ecosystem models. *Ecological Modelling* 221 (19). s. 2330–2338. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2010.06.014.

Hoffmann L. (2005): Nomenclature of Cyanophyta/Cyanobacteria: round table on the unification of the nomenclature under the Botanical and Bacteriological Codes. – *Algol. Stud.* 117: 13–29.

Jaag O. (1945): Untersuchungen über die Vegetation und Biologie der Algen des nackten Gesteins in der Alpen, im Jura und im schweizerischen Mittelland. *Beiträge Kryptogamen Flora Schweiz* 9: 1-560.

Kalina T. & Váňa J. (2005): *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Nakladatelství Karolinum. Praha, 606 pp.

Karlsson I. (1999): On the germination of the akinete-forming cyanobacterium *Gloeotrichia echinulata* in Lake Erken, Sweden. *Arch. Hydrobiol. Algolog. Stud.* 94, 175–180.

Kašpárková J. (2002): Pojetí vyučovacího klimatu a faktory, které se na tvorbě vyučovacího klimatu podílejí. Pedagogická orientace 3.

Kaštovský J. & Hauer T. (2016): Sinice a řasy.cz. Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta. In: sinicearasy.cz [online]. [cit. 3.1.2019]. Dostupné na www: <<http://www.sinicearasy.cz>>.

Knoll A. H. (2008): Cyanobacteria and earth history. – In: Herrero A. & Flores E. (eds), The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution, p. 1–19, Caister Academic Press, Norfolk.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1986): Modern approach to the classification system of cyanophytes 2-Chroococcales. Algological Studies 43: 157-226.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1988): Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3-Oscillatoriales. Archiv. Hydrobio. Suppl. 80,1-4 (Algological studies 50-53): 327-472.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1989): Modern approach to the classification system of cyanophytes 4-Nostocales. Algological Studies 56: 247-345.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1990): Modern approach to the classification system of cyanophytes. 5-Stigonematales. Algological studies 59: 1-73.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1999): Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds), Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1, G. Fischer Verlag Stuttgart, 548 pp.

Komárek J. & Anagnostidis K. (2005): Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota: 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales. Vol. 19. München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, 759 pp.

Komárek J. (1993): Validation of the genera *Gloeocapsopsis* and *Asterocapsa* (Cyanoprokaryota) with regard to species from Japan, Mexico and Himalayas. – Bull Natn. Sci. Mus. Tokyo, Ser. B, 19 (1): 19-37.



Komárek J. (2010): Recent changes (2008) in cyanobacteria taxonomy based on a combination of molecular background with phenotype and ecological consequences (genus and species concept), *Hydrobiologia*, 639:245-259.

Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. & Johansen J. R. (2014): Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. – *Preslia* 86: 295–335.

Komárek, J. & Hindák, F. (1975): Taxonomy of the new isolated strains of *Chroococcidiopsis* (Cyanophyceae). *Archiv für Hydrobiologie* 13: 311-329.

Kondratěva N. (1968): Vyznačnik prsnovodnykh vodorostěj Ukrainskoj SSR I. Sinjozeleni vodorosti - Cyanophyta, 2. Hormogoniopyceae (The key of freshwater algae of Ukrainian SSR I. Blue-green algae - Cyanophyta, 2. Hormogoniophyceae). - 523 pp., Akkad. Nauk. Ukr. SSR, Naukova Dumka, Kyiv.

Kováčik L. (1988): Cell division in simple coccal cyanophytes, *Arch. 1, Hydrobiological Studies* 5D-53: 149-190.

Kunkel D. D. (1984): Cell division in baeocyte producing cyanobacteria. – *Protoplasma* 123: 104–115

Lamont, H. C., 1969. Sacrificial Cell Death and Trichome Breakage in an Oscillatoriacean Blue-green Alga: the Role of Murein. *Arch. Mikrobiol.* 69: 237–259.

Lazaroff N. (1973): Photomorphogenesis and Nostocacean Development. In: Carr N. G. & Whitton B. A. (eds) *The Biology of Blue-Green Algae*, pp 279-319. Botanical Monographs No 9. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne.

Lehtimäki J., Moisander P., Sivonen K. & Kononen K. (1997): Growth, nitrogen fixation and nodularin production by two Baltic Sea cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 1647–1656.

Meeks J. C., Elhai J., Thiel T., Potts M., Larimer F., Lamerdin J., Predki P. & Atlas R. (2001): Photosynthesis Research, 70(1), 85–106. DOI:10.1023/a:1013840025518.

Meffert M. E & R. Oberhauser (1982): Polar and central gas vacuoles in planktonic *Oscillatoria* spp. (Cyanophyta). Arch. Hydrobiol. 95:235-248.

Mollenhauer D. (1986): Blaualgen der Gattung *Nostoc* – ihre Rolle in Forschung und Wissenschaftsgeschichte III. Natur und Museum 115: 104-120.

Neumann T., Fennel W. & Kremp C. (2002): Experimental simulations with an ecosystem model of the Baltic Sea: a nutrient load reduction experiment. Glob. Biogeochem. Cycl. 16 (3), DOI:10.1029/2001GB001450.

Nolčová L. & Vágnerová P. (2016): Zajímavá a motivující výuka řas a sinic na základních a středních školách. Arnica 5, 1–2, 32–38. Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň. ISSN 1804-8366.

Nováček F. (1934): Epilithické sinice serpentínů mohelenských. Pars I.: Chroococcales. In: Podpěra J., (ed) Mohelno. Svaz pro ochranu přírody a domoviny v zemi Moravskoslezské, Brno.

Oliver R. L. (1994): Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria 1. Journal Phycology. s. 30, 161–173. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1994.00161.x.

Petty G. (2004): Moderní vyučování. 3. vydání. Praha: Portál. 380 s. ISBN 807178978X.

Pinevich A. V. (2008): Paradoxes of biodiversity, phylogeny and taxonomy of Cyanobacteria. Moscow University. Biological Sciences Bulletin. Vol. 63. No. 1 s. 21-24.

Pouličková A. & Hašler P. (2007): Aerophytic diatoms from caves in central Moravia (Czech Republic). In. preslia.cz [online]. [cit. 1.3.2019], Dostupné na [www: <http://www.preslia.cz/P072Pou.pdf>](http://www.preslia.cz/P072Pou.pdf).

Rippka R., Deruelles J. B., Waterbury J. B., Herdman M. & Stanier R. Y. (1979): Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J Gen Microbiol* 111: 1-61.

Rippka R., Waterbury J. B., Herdman M. & Castenholz R. W. (2001): Subsection II. (Formerly Pleurocapsales Geitler 1925, emend. Waterbury and Stanier 1978). In *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology* (D. R. Boone and R. W. Castenholz, Eds.), Vol. 3, pp. 1746–1770. Springer-Verlag, New York.

Rippka R., Waterbury J. & Cohen-Bazire G. (1974): Cyanobacterium which lacks thylakoids. – *Arch. Microbiol.* 100: 419–436.

Robarts R. D. & Zohary T. (1987): Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 21, 391–399.

Schopf J. W. (1974): The development and diversification of Precambrian life. – *Origin of Life* 5: 119–135.

Schwabe G. H. (1944): Umraumfremde Quellen. — *Mitt. deutsch. Ges. Nat. — Völkerk. Ostasiens*, Suppl.21: 1–300. — Schanghai.

Stam W. T. (1980): Relationships between a number of filamentous blue-green algal strains (Cyanophyceae) revealed by DNA-DNA hybridization. - *Arch. Hydrobiol. (Suppl)* 56, *Algol. Stud.* 25: 351-374.

Starmach K. (1966): Cyanophyta – sinice, Glaucophyta – glaukofity. Vol. 2. – In: *Flora słodkowodna Polski* [Freshwater microflora of Poland], Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warsaw.

Sutherland J. M., Herdman M. & Stewart W. D. P. (1979): Akinetes of the cyanobacterium *Nostoc pcc 7524*: macromolecular composition, structure and control of differentiation. *J. Gen. Microbiol.* 115, 273–287.

Šejnohová L. & Maršálek B. (2005): Pohled do mikroskopického světa sinic. [online]. [cit. 20.1.2019]. Dostupné na www: <<http://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/pohled-do-mikroskopickeho-sveta-sinic.pdf>>.

Tandeau de Marsac N. (1994): Differentiation of hormogonia and relationships with other biological processes. In: Bryant D. A. (ed.) *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, pp 825-842. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

Tandon R., Kesarwani S. & Tiwari G. L. (2016): Baeocytes and pseudofilamentous stages of *Pleurocapsa concharum* Hansgirg (Cyanobacteria, Pleurocapsales) in culture. *Nova Hedwigia*, 102(3), 429–437.

Vinter V. & Králíček I. (2016): *Začínající učitel biologie*. 1. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 256 s. ISBN 678-80-244-501-6.

Walsby A. E., Hayes P. K. & Boje, R. (1995): The gas vesicles, buoyancy and vertical distribution of cyanobacteria in the Baltic Sea. *Journal Phycol.* s. 30, 87–94.

Waterbury J. B. & Stanier, R. Y. (1978): Patterns of growth and development in Pleurocapsalean cyanobacteria. *Microbiol. Rev.* 42: 2–44.

Waterbury J. B. (1989): Subsection II Order Pleurocapsales. In “*Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*” (R. E. Buchanan, and N. E. Gibbons, Eds.), Vol. 3, pp. 1746–1770. Williams & Wilkins, Baltimore.

Whitton B. A. (1992): Diversity, ecology, and taxonomy of the cyanobacteria. In: Mann NH and Carr N. G. (eds). *Photosynthetic Prokaryotes*, s. 1-51. Plenum, New York.

Whitton Brian & Potts M. (2002): Introduction to the cyanobacteria, in the *Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space* (Eds B. A. Whitton, M. Potts. 1-11.

Wolk C. P., Ernst E. & Elhai J. (1994): Heterocyst metabolism and development. In: Bryant DA (ed) *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, pp 769–823. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Yamamoto Y. (1995): Effect of desiccation on the germination of akinetes of *Anabaena* cylindrical. *Plant Cell Physiol.* 16, 749–752.

Znachor (2005): Vodní květy řas a sinic. In: *fytoplankton.cz* [online]. [cit. 20.10.2018], Dostupné na *www*: <[https://www.fytoplankton.cz/doc/Vodni\\_kvety.pdf](https://www.fytoplankton.cz/doc/Vodni_kvety.pdf)>.

## 7 Přílohy

Příloha I.: Mapa: Místa sběru vzorků sinic v NPP Třesín

Příloha II.: Floristicky zkoumaná místa:

- Obrázek č. 1: Vstup do přírodní Jeskyně Podkovy,
- Obrázek č. 2: Řimické vyvěračky, odtok z pramene velmi studené oligotrofní vody.

Příloha III.: Práce v laboratoři

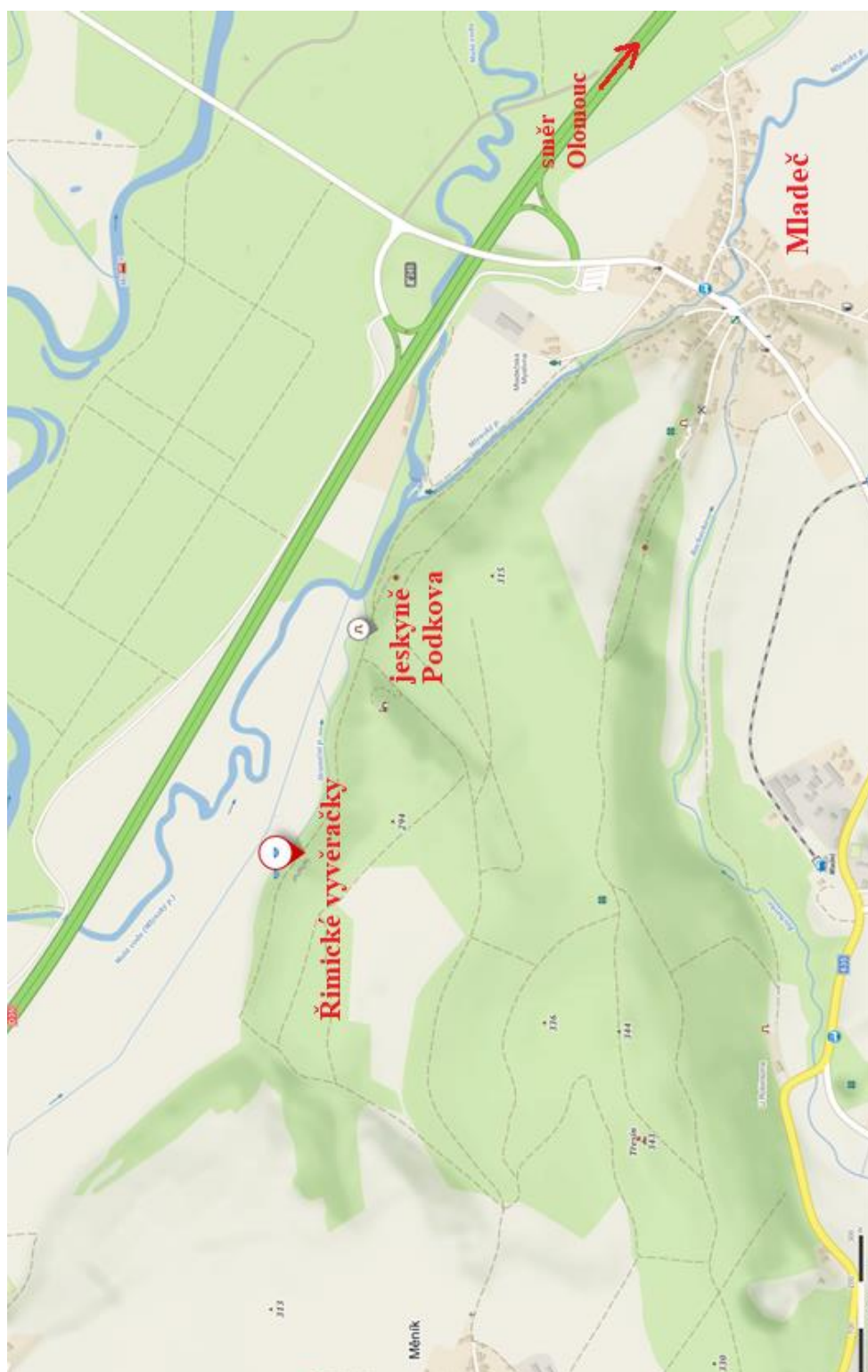
- Obrázek č. 3: Práce ve flowboxu při izolaci vzorků sinic,
- Obrázek č. 4: Naočkované vzorky sinic na agarech,
- Obrázek č. 5: Naočkované vzorky sinic na agarech (detail),
- Obrázek č. 6: Naočkované vzorky sinic na šikmých agarech.

Příloha IV.: Obrazová dokumentace nalezených druhů

- Obrázek č. 7: *Gloeocapsa alpina*,
- Obrázek č. 8: *Gloeocapsa alpina*,
- Obrázek č. 9: *Gloeocapsa fusco-lutea*,
- Obrázek č. 10: *Gloeocapsa nigrescens*,
- Obrázek č. 11: *Gloeocapsa aeruginosa*,
- Obrázek č. 12: *Asterocapsa* sp. – část vývojového stadia,
- Obrázek č. 13: *Asterocapsa* sp.,
- Obrázek č. 14: *Phormidium* – hormogonium,
- Obrázek č. 15: *Leptolyngbya* sp. – vlákna,
- Obrázek č. 16: *Leptolyngbya* sp. – detail vlákna,
- Obrázek č. 17: *Leptolyngbya* sp. – vlákna,
- Obrázek č. 18: *Potamolinea* sp.,
- Obrázek č. 19: *Potamolinea* sp.,
- Obrázek č. 20: *Nostoc microscopicum* – detail vlákna,
- Obrázek č. 21: *Nostoc microscopicum* – vlákna,
- Obrázek č. 22: *Nostoc microscopicum* – kolonie ve slizovém obalu,
- Obrázek č. 23: *Chroococcus spelaesus*,
- Obrázek č. 24: *Chroococcidiopsis* sp.

Příloha V.: Odkaz pro práci s textem: Téma sinice a tvorba vodního květu

## Příloha I.: Mapa: Odběrová místa v NPP Třesín





## Příloha II.: Floristicky zkoumaná místa



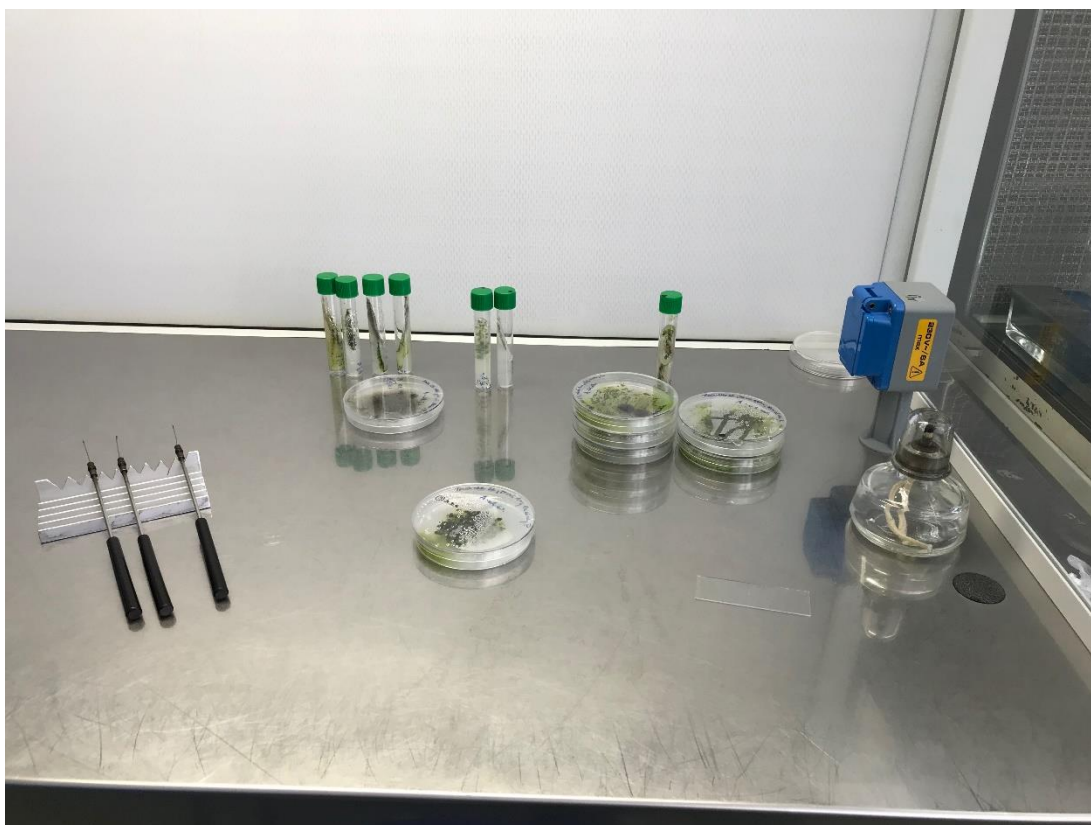
Obrázek č. 1: Vstup do přírodní Jeskyně Podkovy.



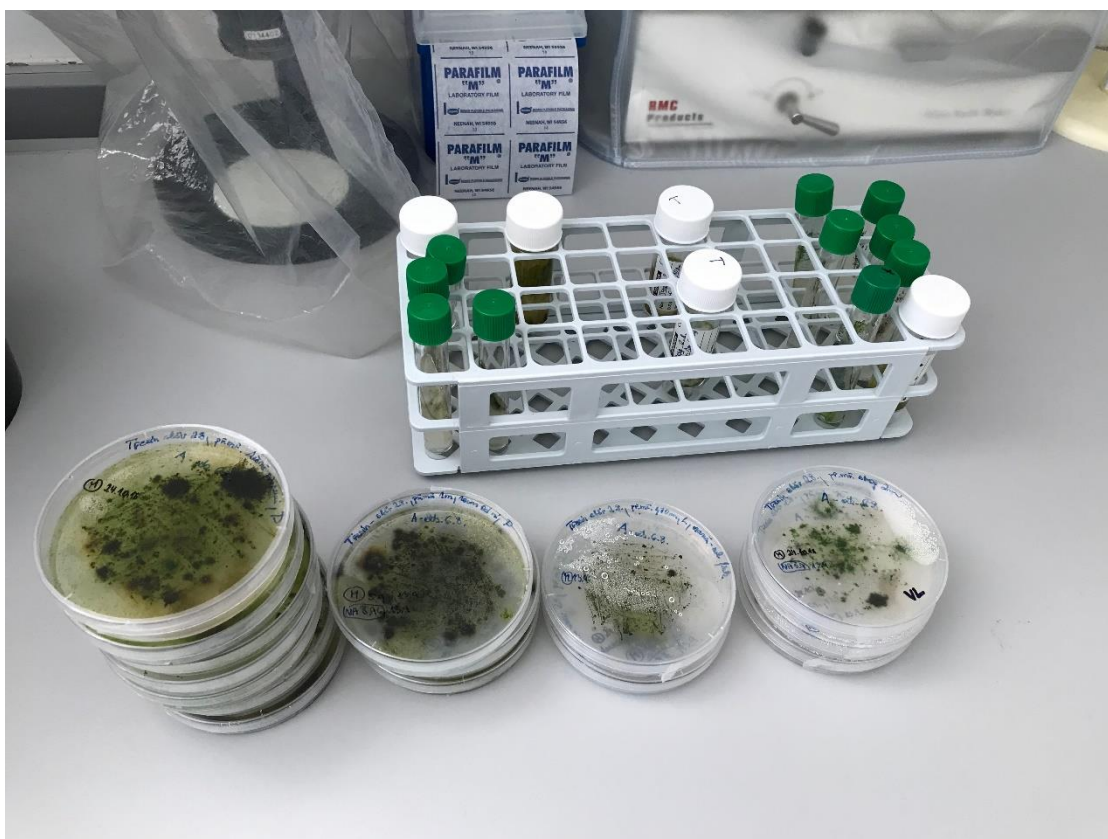
Obrázek č. 2: Řimické vyvěračky, odtok z pramene velmi studené oligotrofní vody.



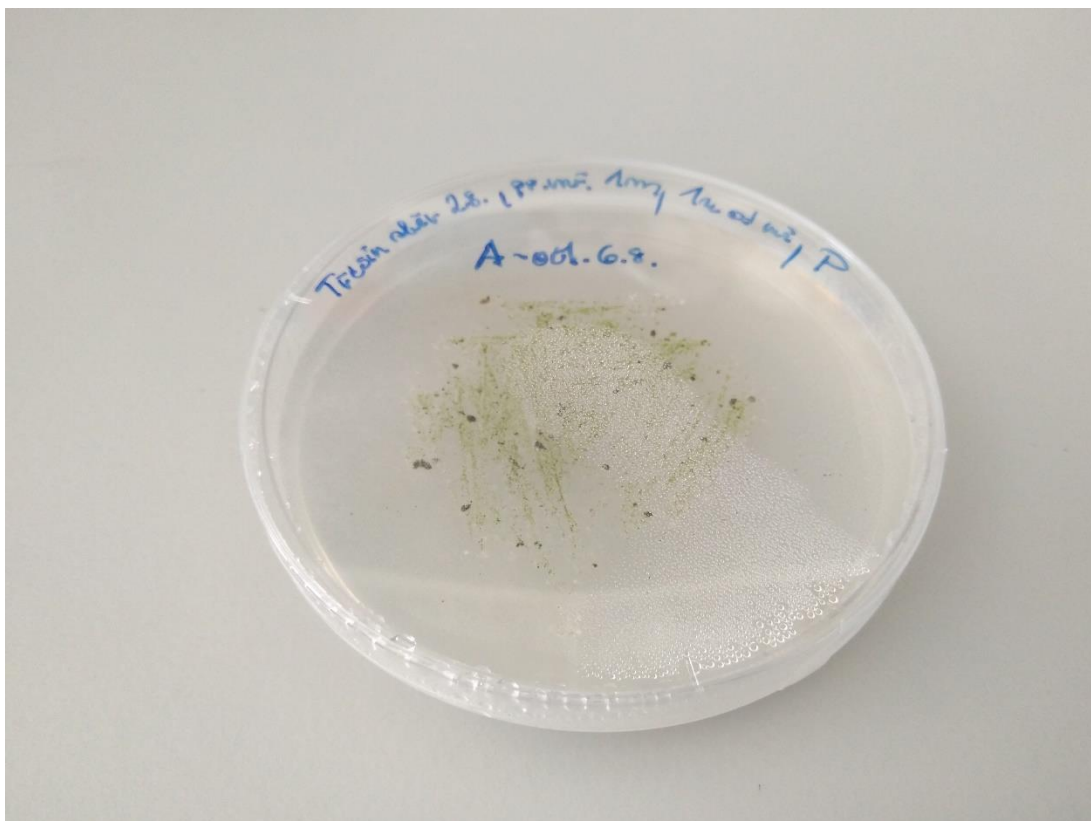
### Příloha III.: Práce v laboratoři



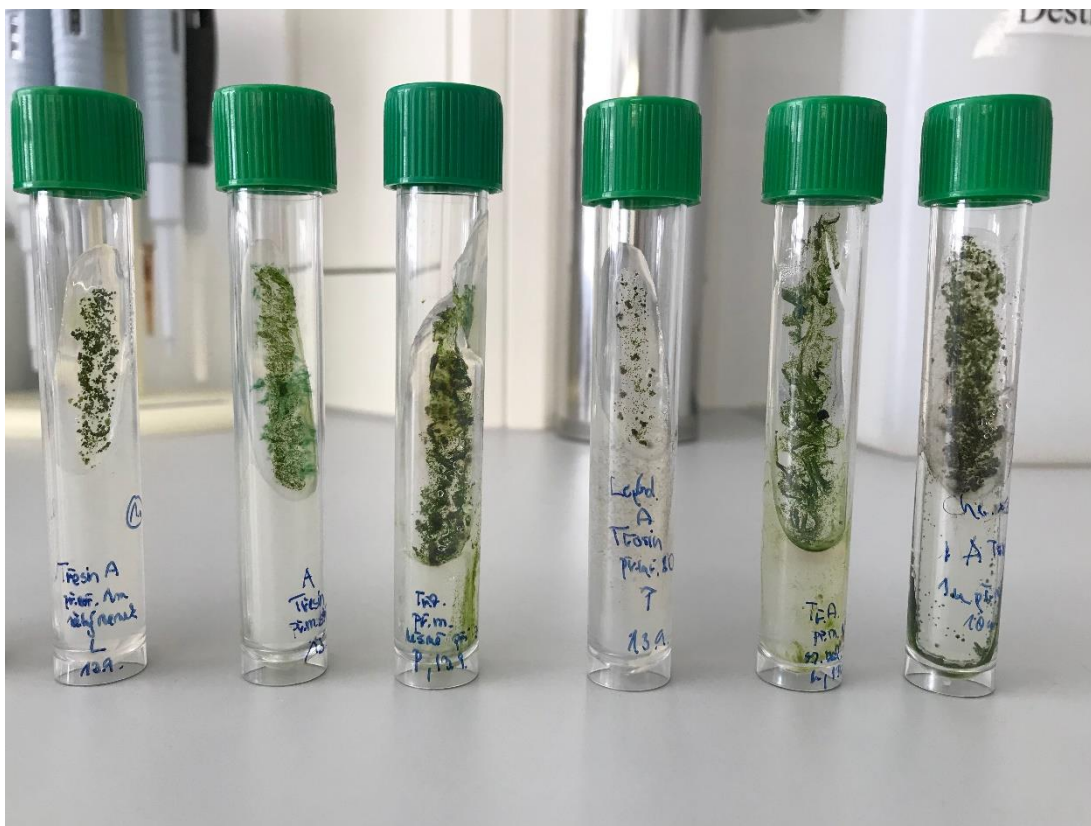
Obrázek č. 3: Práce ve flowboxu při izolaci kmenů sinic.



Obrázek č. 4: Naočkované vzorky sinic na agarech.



Obrázek č. 5: Naočkované vzorky sinic na agarech (detail).



Obrázek č. 6: Naočkované vzorky sinic na šikmých agarech.

#### Příloha IV.: Obrazová dokumentace nalezených druhů

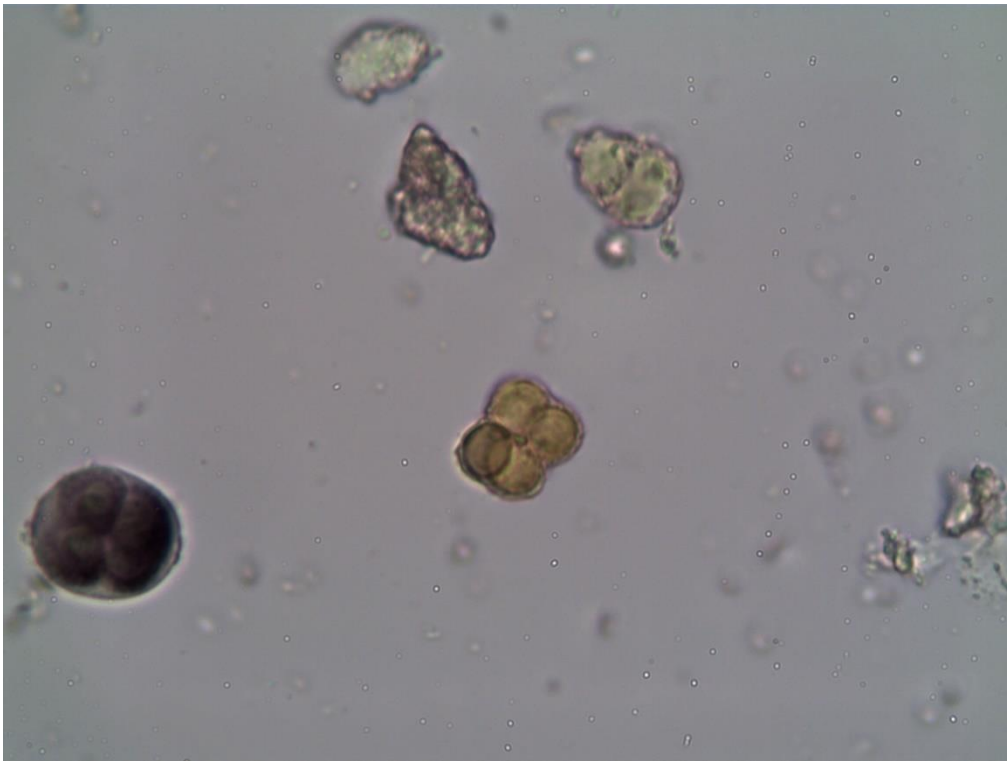


Obrázek č. 7: *Gloeocapsa alpina*.



Obrázek č. 8: *Gloeocapsa alpina*.

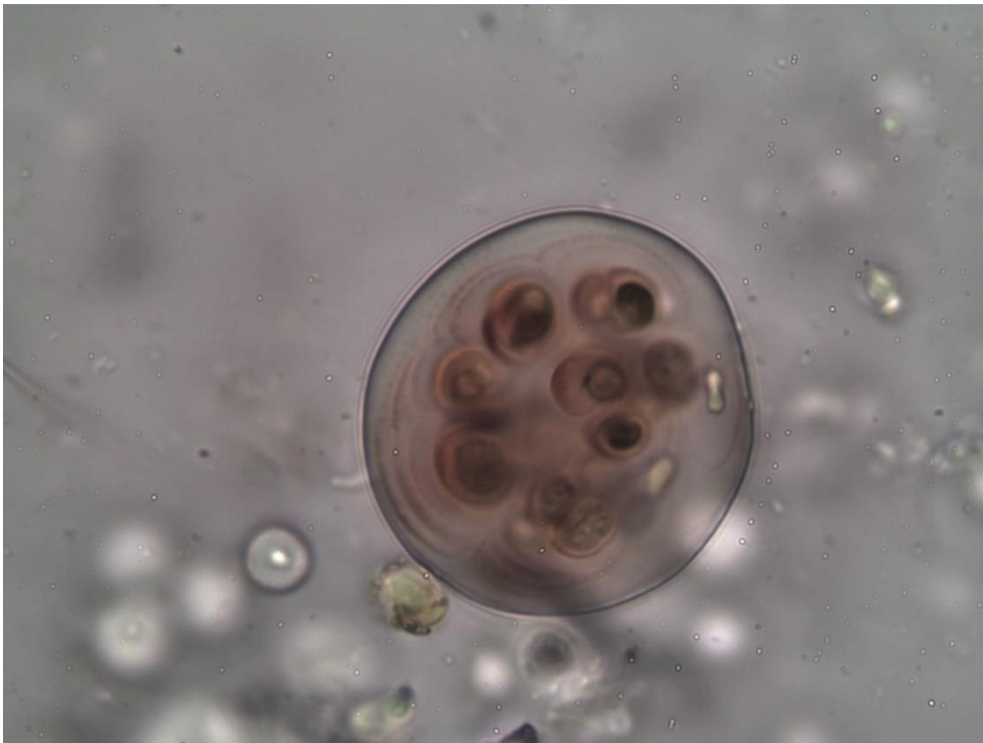




Obrázek č. 9: *Gloeocapsa fusco-lutea*.



Obrázek č. 10: *Gloeocapsa nigrescens*.



Obrázek č. 11: *Gloeocapsa aeruginosa*.



Obrázek č. 12: Část vývojového stadia *Asterocapsa* sp.



Obrázek č. 13: *Asterocapsa* sp.



Obrázek č. 14: *Phormidium* – hormogonium.



Obrázek č. 15: *Leptolyngbya* sp. – vlákna.

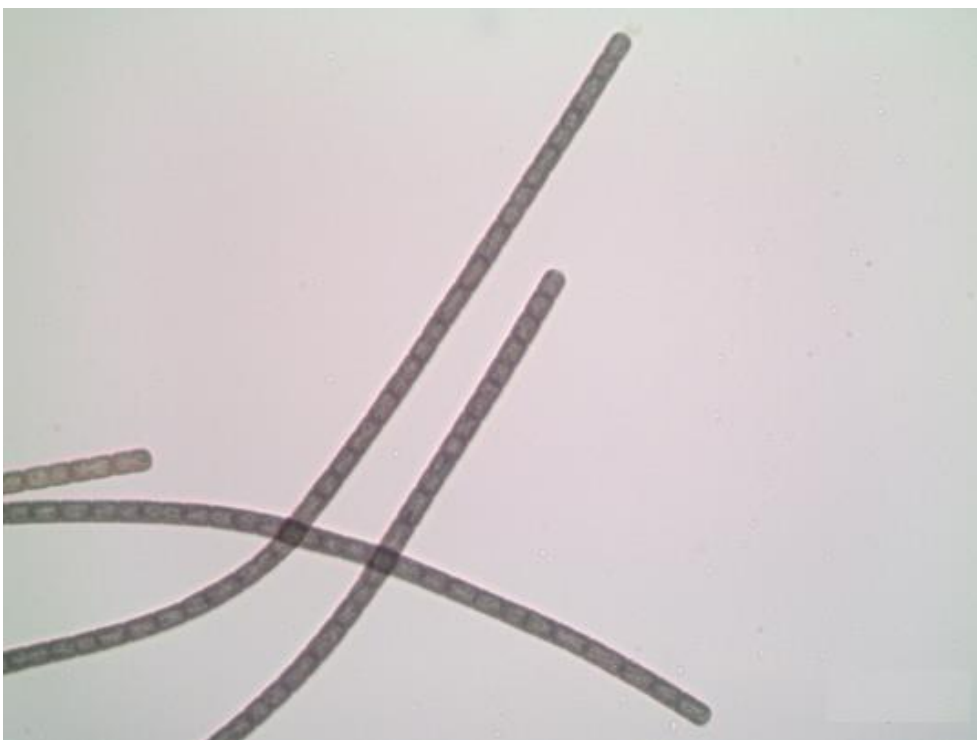


Obrázek č. 16: *Leptolyngbya* sp. – detail vlákna.





Obrázek č. 17: *Leptolyngbya* sp. – vlákna.



Obrázek č. 18: *Potamolinea* sp.





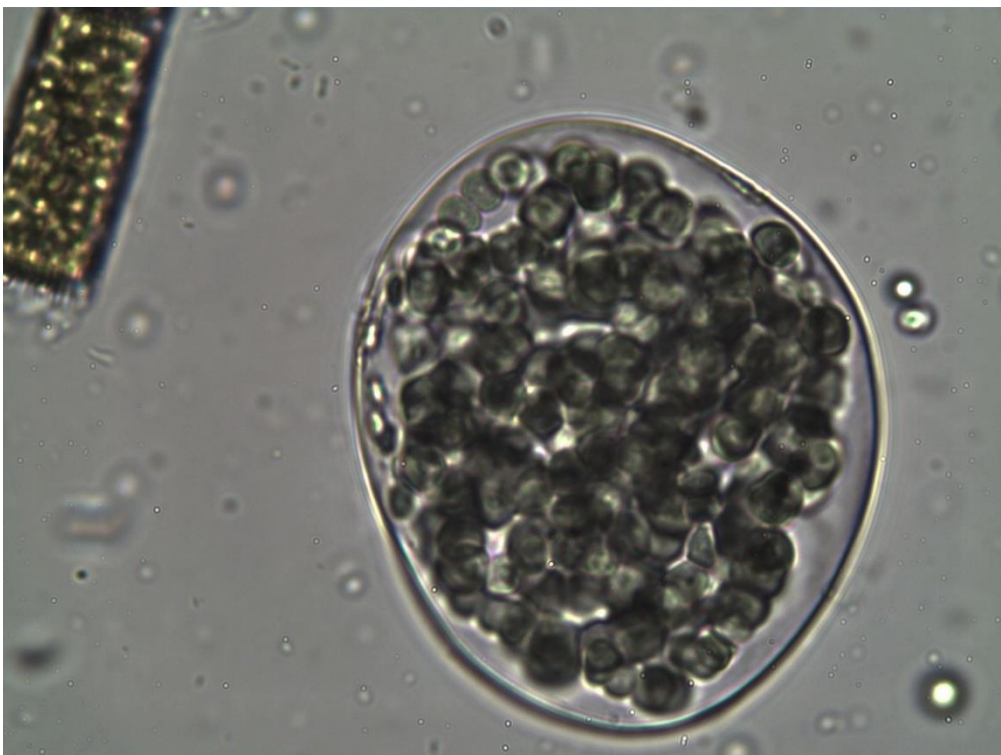
Obrázek č. 19: *Potamolinea* sp. – detail vlákna.



Obrázek č. 20: *Nostoc microscopicum* – detail vlákna.



Obrázek č. 21: *Nostoc microscopicum* – vlákna.



Obrázek č. 22: *Nostoc microscopicum* – kolonie ve slizovém obalu.



Obrázek č. 23: *Chroococcus spelaeus*.



Obrázek č. 24: *Chroococcidiopsis* sp.

## **Příloha V.: Odkaz pro práci s textem: Téma sinice a tvorba vodního květu**

Znachor (2005): Vodní květy řas a sinic. In: fytoplankton.cz [online]. [cit. 20.10.2018], Dostupné na www: <[https://www.fytoplankton.cz/doc/Vodni\\_kvety.pdf](https://www.fytoplankton.cz/doc/Vodni_kvety.pdf)>.