MIKROORGANISMY - SINICE /CYANOBAKTERIE

Bakterie

Cyanobakterie/Sinice

Zelené řasy

Mgr. Veronika Vymětalová, Ph.D.

FBMI ČVUT, 2023

Inovace výuky přírodovědných předmětů na ČVUT FBMI

GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE – SINICE/CYANOBAKTERIE

Sinice **tvoří jedinečnou skupinu gramnegativních bakterií** – autotrofní prokaryotní organismy schopné fotosyntézy.

DNA volně v cytoplazmě, ribozómy 70S, zásobní látky – sinicový škrob, volutin, někteří zástupci mají **plynové měchýřky (tzv. aerotypy)**.

Hlavní fotosyntetický pigment - chlorofyl *a* – thylakoidy – fotosyntéza s PS I a PS II.

PS II – fotolýza vody – uvolňuje se kyslík – oxygenní fotosyntéza.

Vznik kyslíkové atmosféry na Zemi.

Fykobilizomy – světlosběrné antény.

Některé **schopnost fixace vzdušného dusíku – heterocyty** (ne heterocysty!).

Produkce sekundárních metabolitů – **cyanotoxinů**. Toxičtější než kurare!

GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE – SINICE/CYANOBAKTERIE

Sinice obsahují **fotosyntetické pigmenty** (chlorofyl a, modré fykocyaniny a červené fykoerythriny, souborně nazývané fykobiliny a karotenoidy).

Jejich vzájemný poměr je závislý na osvětlení a výživě a určuje výsledné zbarvení, které přechází širokou škálou odstínů od olivově zelené, přes šedomodrou, červenofialovou, temně zelenomodrou až po černou barvu.

Sinice mohou mít buňky či kolonie buněk obklopené slizem, pohyb.

Sinice obsahují silné toxiny, **cyanotoxiny** (např. mikrocystiny), které na člověka působí alergeně, neurotoxicky a hepatotoxicky.

Sinice jsou velmi dobře pozorovatelné pomocí optické mikroskopie.

Stavba buněčné stěny gramnegativních bakterií

[Gram negative cell wall-cs - Sinice – Wikipedie (wikipedia.org)]

TAXONOMIE SINIC/CYANOBAKTERIÍ

Jednotlivé řády

- Gloeobacteriales – primitivní sinice

Chroobacteria

- Chroococcales
- Pleurocapsales
- Oscillatoriales

Hormogonaea

- Nostocales
- Stigonematales

Doména	bakterie (Bacteria)
Kmen	**sinice** (Cyanobacteria) Stanier ex Cavalier-Smith, 2002
Třída	**Cyanophyceae** Schaffner, 1909

STROMATOLITY

Stromatolit je vápenitá **biogenní usazenina bochníkovitého až polokulovitého tvaru**.

Na jejich tvorbě se v období prekambria podílela řada mikroorganismů, ale mezi nejdůležitější složku patří cyanobakterie.

V té době se jednalo o mikroorganismy, které patřily mezi **první fotosyntetizující organismy** a při svém metabolizování obohacovaly atmosféru kyslíkem na naší planetě, tím přispěly ke vzniku **kyslíkové atmosféry** na Zemi.

Stromatolity patří mezi **nejstarší zkameněliny**, **jsou staré cca 3,5 až 3,7 mld. let**, dnes je můžeme spatřit v Austrálii, Bolívii apod.

DĚLENÍ PRO IDENTIFIKACI VE CVIČENÍCH

Kokální ad 1, vláknité ad 2,3,4

1) Jednobuněčné zástupci, žijící samostatně nebo se sdružují do kolonií - zástupci řádů Gloeobacterales, Chroococcales (***Microcystis, Woronichia***), Chroococcidiopsidales, Pleurocapsales a Synechococcales (***Merismopedia***)

2) Jednoduché vláknité sinice - zástupci z řádů Oscillatoriales (***Oscillatoria)***, Synechococcales a Spirulinales ***(Spirulina)***

3) Vláknité sinice s heterocyty, s občas nepravým dělením - část zástupců řádu Nostocales (***Anabaena/Dolichospermum, Aphanizomenon/Cuspidothrix, Nostoc***)

4) Vláknité sinice s heterocyty, s pravým dělením - část zástupců řádu Nostocales

Následně prezentace obsahuje jen některé vybrané druhy sinic, pro vlastní identifikaci při cvičeních použijte další doporučené zdroje.

ROD MICROCYSTIS

Třída: Cyanophyceae

Řád: Chroococcales

Zástupce: *Microcystis aeruginosa*

Microcystis flos-aquae

Rod Microcystis patří mezi nejdůležitější rody, vytvářející **sinicové vodní květy**.

Je tvořen přibližně 20 popsanými druhy, řada se vyskytuje v tropických oblastech.

Druhy sinice jsou významné velkou produkcí biomasy a také produkcí cyanotoxinů.

Cyanotoxiny jsou produkty metabolismu bakterií a jsou toxické pro teplokrevná zvířata a člověka.

Jejich název je microcystiny, cyanopeptoliny a působí neurotoxicky, hepatotoxicky.

ROD WORONICHINIA

Třída: Cyanophyceae

Řád: Chroococcales

Zástupce: *Woronichia naegeliana*

Plaktonní druh, buňky spojené slizovitými stopkami do kolonie.

Rozmnožuje se vystřelujícími buňkami.

ROD MERISMOPEDIA

Třída: Cyanophyceae

Řád: Synechococcales

Zástupce: ***Merismopedia tenuissima***

Merismopedia punctata

Merismopedia glauca

Sinice tvoří deskovité kolonie tvořené 8 – 64 buňkami.

Kolonie vznikají binárním dělením buněk ve dvou k sobě kolmých rovinách.

Sinice se vyskytuje ve sladkovodním planktonu, eutrofní vody.

ROD OSCILLATORIA

Třída: Cyanophyceae

Řád: Oscillatoriales

Rod sinic, který se česky označuje jako Drkalka, podle pohybu.

Zástupce *Oscillatoria limosa*, *Oscillatoria major*.

Sinice se dokáže aktivně pohybovat zvláštním drkavým, rotačním pohybem při produkci velkého množství slizu.

Netvoří heterocyty.

Dělí se binárně.

Vyskytuje se i ve vlhké půdě, předmětech studia i půdní mikrobiologie.

ROD LIMNOSPIRA/ ARTHROSPIRA

Třída: Cyanophyceae

Řád: Spirulinales

Sinice je známá komerčně pod jménem Spirulina, **Zástupce *Spirulina magna***, používá se v potravinových doplňcích.

Její působení na člověka je ale předmětem dalšího výzkumu a řada odborníků nedoporučuje její používání!

ROD ANABAENA, (DOLICHOSPERMUM)

Třída: Cyanophyceae

Řád: Nostocales

Zástupce *Anabaena flos-aquae* je vláknitá sinice schopná klouzavého pohybu.

Její vlákna se mohou vyskytovat ve vodě ve svinutých spirálách.

Produkuje cyanotoxiny (anatoxin-a).

ROD ANABAENA, (DOLICHOSPERMUM)

Třída: Cyanophyceae

Řád: Nostocales

Taxonomie u zástupců rodu Anabaena je poměrně složitá (Komárek a Zapomělová, 2007)

Zástupce *Anabaena sigmoide* je vláknitá sinice. Porovnejte s ***Anabaena flos-aquae***.

Její vlákna se mohou vyskytovat ve vodě ve svinutých spirálách.

Produkuje cyanotoxiny (anatoxin-a).

SPECIALIZOVANÉ TYPY BUNĚK A VLÁKEN

Heterocyty – tlustostěnné buňky – fixace vzdušného dusíku

Akinety – vznik z jedné nebo více vegetativních buněk, větší než heterocyty. Přežití v nepříznivých podmínkách, přes zimu…

Výskyt – jen u některých druhů sinic.

Hormogonium, mn.č. hormogonie jedná se o pohyblivá slizem spojená vlákna z buněk, které vytváří některé sinice z čeledi Nostocaceae, kterými se mohou množit.

ROD APHANIZOMENON/CUSPIDOTHRIX

Třída: Cyanophyceae

Řád: Nostocales

Cyanobakterie rodu Aphanizomenon hrají významnou roli v koloběhu dusíku, protože mohou provádět fixaci dusíku.

Zástupce Aphanizomenon flos-aquae, A. yezonse

Velká část fixovaného dusíku se může uvolňovat do okolní vody, což představuje významný zdroj biologicky využitelného dusíku pro ekosystém.

Cyanobakterie je charakteristická tvorbou lineárních (nerozvětvených) vláken zvaných trichomy. Paralelní trichomy se pak mohou dále spojovat do útvarů – **svazečků vláken** – vloček(Puman 2011).

ROD NOSTOC

Třída: Cyanophyceae

Řád: Nostocales

Zástupce Nostoc calcicola*, *Nostoc commune*, *Nostoc punctiforme jejich modrozelené buňky tvoří slizovité kolonie – nevětvená vlákna připomínající šňůry korálků.

Ve vláknech se mohou vyskytovat **heterocyty**, ve kterých dochází k **fixaci vzdušného dusíku**.

Klidová stádia buněk označujeme jako **akinety**.

Sinice se vyskytuje v mělkých tůních, v půdě, ale stejně také ji najdeme v miskách pod květináči.

Nostoc může symbioticky růst uvnitř buněk vodní kapradiny Azolla.

Kosmopolitní výskyt, i v chladném prostředí – Antarktida.

VODNÍ KVĚT

- Jako vodní květ označujeme nápadné zelené zbarvení vod, způsobené přemnožením mikroorganismů ve vodě, zejména se jedná o sinice.
- Nejčastěji se vyskytuje koncem léta v srpnu a září, ale díky současným klimatickým změnám je možné se s ním setkat již od června.
- Hlavní zástupci sinic ve vodním květu jsou rody ***Microcystis***, ***Aphanizomenon*** a ***Anabaena***.
- Vodní květ je spojený s tzv. **eutrofizací vod,** procesem obohacování vod o živiny, především dusík a fosfor.
- Fotografie přírodního vodního zdroje s vodním květem a mikrofotografie zastoupení cyanobakterií.

VÝZNAM PRO ČLOVĚKA

Pozitivní:

Součást potravy ve východních zemích (Asie, Japonsko, Čína)

Výroba biopaliv

Zdroj vitamínů B a karotenů

Výzkum v oblasti biomedicíny, použití látek z cyanobakterií na potlačení růstu ostatních bakterií, nádorová terapie

Negativní:

Cyanotoxiny

Vodní květ

GLAUCOCYSTIS NOSTOCHIARUM

Sladkovodní řasy *Glaucocystis nostochinearum* mají zajímavé organely plastidy označované jako **cyanely**.

Uvedené organely jsou ohraničené **peptidoglykanem**.

To vede k úvahám, že v tomto případě došlo podle **endosymbiotické teorie** k proniknoutí sinic do buněk původních glaukofyt.

Peptidoglykan totiž nacházíme v povrchových strukturách u bakterií.

OTÁZKY K PROCVIČOVÁNÍ:

1) Jak můžete charakterizovat cyanobakterie?
2) Co je to stromatolit?
3) Co způsobují cyanotoxiny, jaká je jejich toxicita?
4) Vysvětlete pojem vodní květ.
5) U jaké sinice najdete microcystiny?
6) Vysvětlete, co to je a k čemu slouží akineta?
7) Jaká je funkce heterocytů?
8) K čemu slouží hormogonie?
9) Co jsou to cyanely, kde je najdeme?
10) Uveďte hlavní rozdíly mezi buňkami cyanobakterií a buňkami zelených řas.

POUŽITÁ LITERATURA, MIKROFOTOGRAFIE A FOTOGRAFIE

1. KALINA, Tomáš; VÁŇA, Jiří. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1036-1. S. 606.
2. VYMĚTALOVÁ, Veronika: *Biologie pro biomedicínské inženýrství, Laboratorní cvičení*, ČVUT, Praha 2021, ISBN 978-80-01-06789-5
3. VYMĚTALOVÁ, Veronika: výstup projektu Projekt ČVUT ESF II. - č. Z.02.2.69/0.0/0.0/18_056/0013243
4. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana: *Atlas mikroorganismů*, UJEP 2014, ISBN 987-80-7414-855-2 (on-line, pdf)
5. KOMÁREK, Jiří; ZAPOMĚLOVÁ, Eliška: *Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus Anabaena = subg. Dolichospermum – 1. part: coiled types*. Fottea, Olomouc , 7(1): 1–31, 2007 dostupné z https://fottea.czechphycology.cz/pdfs/fot/2007/01/01.pdf
6. PUMAN, Petr: *Vločky tvořící Aphanizomenon* dostupné z https://archiv.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/dk2011/Aphanizomenon.pdf
7. https://cs.wikipedia.org/wiki/Sinice
8. https://stromatolites.weebly.com/morphology.html
9. Autor všech mikrofotografií v prezentaci, fotografie vody s vodním květem – Mgr. V. Vymětalová, Ph.D., vzorky pro přípravu preparátů jsou z přírodních zdrojů na P6 a P7, rod Arthrospira je kultura z PřF UK.

LABORATORNÍ CVIČENÍ

Příprava protokolu:

1) **Název experimentu** – např. Mikroskopická identifikace gramnegativních bakterií

2) **Cíl, teorie** – seznámit se s přípravou……

3) Metodika – může být jen odkaz na použitou pracovní metodiku

4) **Materiál, přístrojové vybavení, laboratorní sklo a plast, použité chemikálie** (může být i jednotlivě) – kultura cyanobakterií…..

5) **Vlastní pracovní postup** – pečlivě popsat odchylky (např. časové) od metodiky

6) **Získané výsledky a vyhodnocení**

7) **Diskuse a závěr**

LABORATORNÍ CVIČENÍ III

1) **Mikroskopická identifikace gramnegativních bakterií - cyanobakterií**

2) **Cíl, teorie**:

a) seznámit se gramnegativními bakteriemi - cyanobakteriemi

b) U vybraných kultur (ze sbírky z PřF UK) bez znalosti kultur, proveďte identifikaci a zařazení, určit tvar, velikost buněk a barvu sinic

c) Proveďte vlastní odběr z přírodního prostředí zkuste identifikovat a taxonomicky zařadit cyanobakterie, určit tvar, velikost buněk a barvu sinic

Teorie viz prezentace výše

4) **Materiál, laboratorní sklo a plast, použité přístroje a další** – kultury cyanobakterií, odběry vzorků z přírodního prostředí, pipety, mikroskopická sklíčka, preparační soupravy, destilovaná voda, minicentrifuga, eppendorf zkumavky, optický mikroskop, software na snímání mikrofotografií QuickPHOTO a cellSens .

LABORATORNÍ CVIČENÍ III

5) **Vlastní pracovní postup**

a) Z předložených kultur (alespoň 5 sbírkových kultur) ze sbírky (bez znalosti konkrétní kultury) připravíme mikroskopické preparáty, provedeme nasnímání mikrofotografií. U jednotlivých preparátů provedeme návrh taxonomického zařazení podle charakteristických znaků.

b) Z vlastních vzorků z přírodních zdrojů (bez znalosti konkrétní kultury) připravíme mikroskopické preparáty, ve kterých najdeme alespoň (5 druhů sinic). Pokud nebudeme úspěšní a ve vlastních vzorcích nenajdeme sinice, dostaneme vzorky z přírodních míst se sinicemi.

c) Provedeme přípravu vitálních preparátů a provedeme výběr a nasnímání vybraných zorných polí. U jednotlivých druhů sinic provedeme návrh taxonomického zařazení podle charakteristických znaků.

d) Pomocí minicentrifugy a centrifugace můžeme provést přípravu vzorků ze sedimentu.

e) Pomocí softwaru provedeme proměření velikostí buněk v preparátech a porovnáme jednotlivé druhy.

f) Všechny údaje zaznamenáme do protokolu formou tabulky.

ATLASY SINIC A ŘAS ČR 1 A 2

K přesné identifikaci mohou odborníci použít:

Atlas sinic a řas ČR 1 - sinice, chloromonády, zlativky, Xanthophyceae, Eustigmatophyceae, Haptophyta,centrické rozsivky, penátní rozsivky

Citujte následujícím způsobem:Kaštovský, J., Hauer, T., Geriš, R., Chattová, B., Juráň, J., Lepšová-Skácelová, O., Pitelková, P., Pusztai, M., Škaloud, P., Šťastný, J., Čapková, K., Bohunická, M. & Mühlsteinová, R. (2018): Atlas sinic a řas ČR 1. powerprint, Praha, 384 s.

Atlas sinic a řas ČR 2 - skrytěnky, obrněnky, krásnoočka, glaukofyty, krásivky, parožnatky, zelené řasy *sensu lato*

Citujte následujícím způsobem: Kaštovský, J., Hauer, T., Geriš, R., Chattová, B., Juráň, J., Lepšová-Skácelová, O., Pitelková, P., Pusztai, M., Škaloud, P., Šťastný, J., Čapková, K., Bohunická, M. & Mühlsteinová, R. (2018): Atlas sinic a řas ČR 2. powerprint, Praha, 480 s.

LABORATORNÍ CVIČENÍ III

6) **Získané výsledky a vyhodnocení**

Do protokolu, do tabulky, popíšeme jaké druhy a rody cyanobakterií jsme získali a pozorovali, jaký tvar, barvu mají kultury sinic, jakou velikost buněk jsme u jednotlivých cyanobakterií naměřili. Popíšeme postup vlastní identifikace cyanobakterií, podle jakého klíče jsme postupovali.

7) **Diskuse a závěr**

Zjistíme, jak proběhla identifikace u dalších studentů ve skupině, provedeme diskusi a popíšeme závěr.