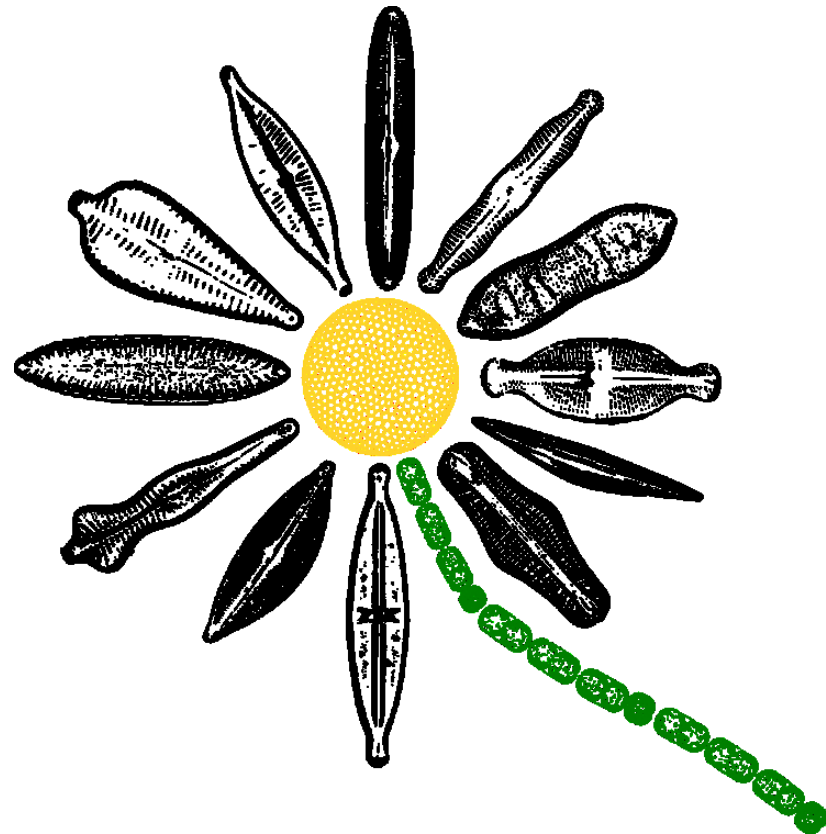


Úvod do diatomologie – Gomphoidní rozsivky- asymetrické, metodiky odběru

6. Přednáška

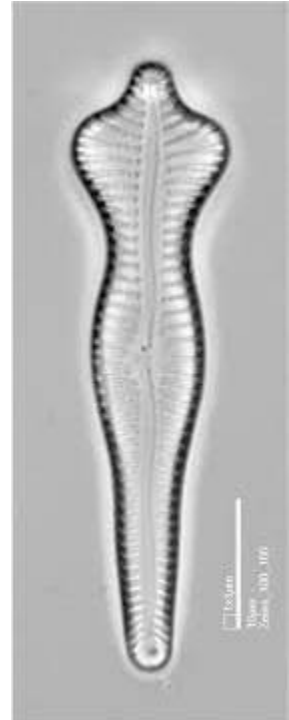




Gomphonema



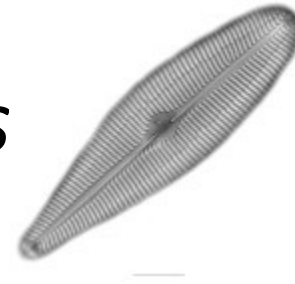
- Valvy jsou asymetrické k transapikální ose, symetrické k apikální ose
- Tvar frustuly kuneátní (*club shaped*)- klavátní (heteropolární)
- Z pleurálního pohledu klínovitý tvar
- Nejsou přítomny longitudinální rýhy
- Často přítomno izolované stigma v centrální oblasti
- Výrazné koncové pole (tvorba stopek)
- Různé ekologické nároky druhů



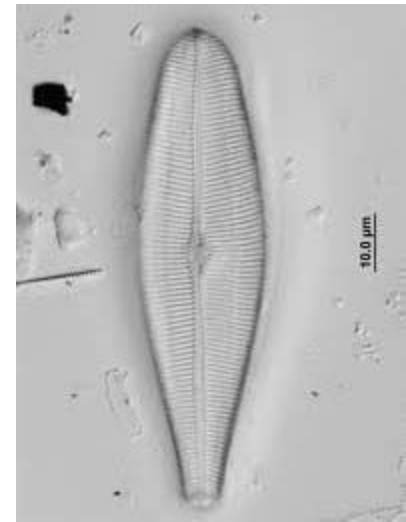
Gomphonema acuminatum



Gomphoneis



- Valvy jsou asymetrické k transapikální ose, symetrické k apikální ose
- Tvar frustuly kyjovitý
- Z pleurálního pohledu klínovitý tvar
- Přítomny longitudinální rýhy
- Často přítomno izolované stigma v centrální oblasti
- Striae multiseriátní
- Tvoří slizové stopky, kolonie



Gomphoneis herculeana

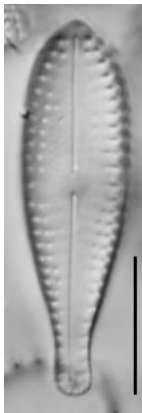


Gomphosphenia



- Valvy jsou asymetrické k transapikální ose, symetrické k apikální ose
- Tvar frustuly kyjovitý
- Z pleurálního pohledu klínovitý tvar
- **Velmi široké osově pole** (axiální oblast)- striae zkrácené
- **Chybí stigma**
- Jen velmi málo druhů
- Od rodu *Gomphonema* separovaná v roce 1995

Gomphosphenia grovei





Didymosphenia



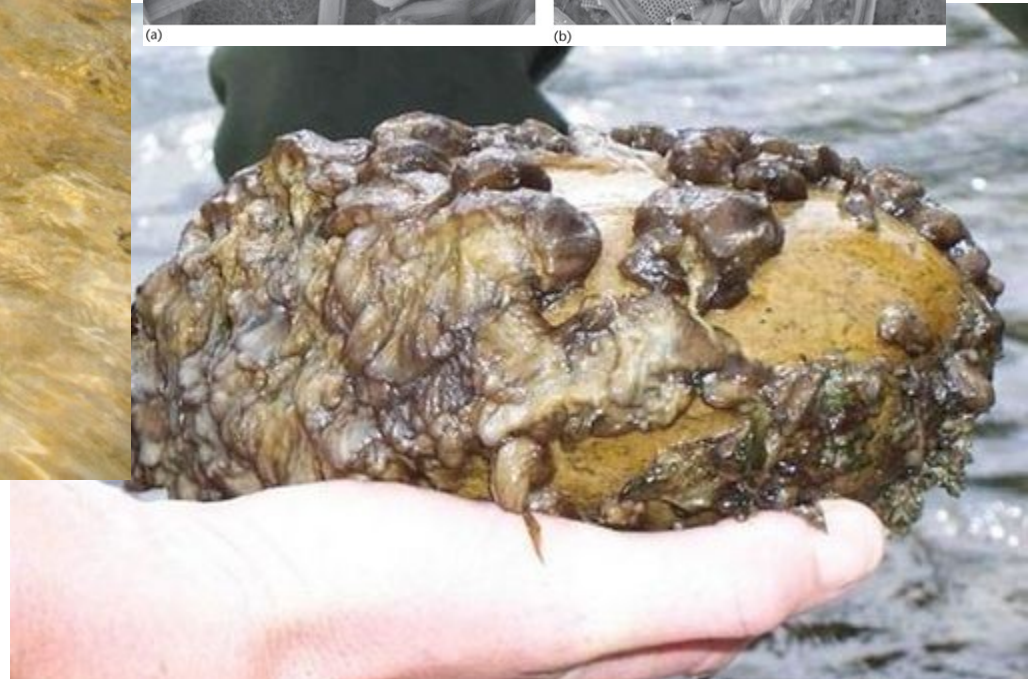
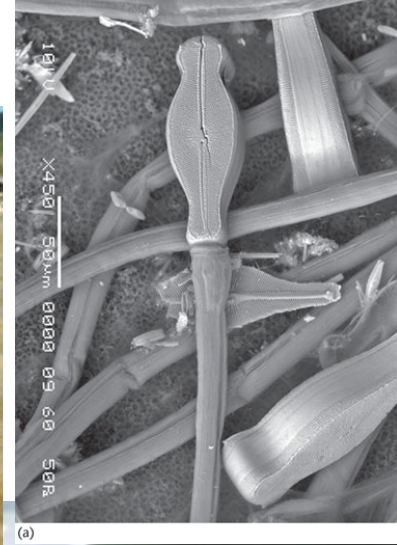
- Valvy jsou asymetrické k transapikální ose, symetrické k apikální ose
- Valvy velmi velké, robustní
- Stigmata přítomna (jedno až vícero)
- Velké koncové pole
- Slizové stopky
- Invazní (Nový Zéland)

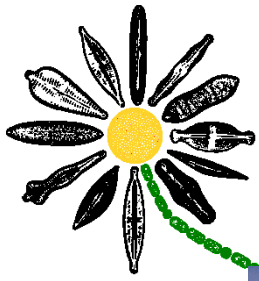
Didymosphenia geminata





Didymosphenia





Didymosphenia

PROTECT OUR WATERS

Help stop the spread of Didymo and other aquatic pests



CHECK Remove all obvious clumps from items that have been in the water.



CLEAN Soak and scrub all items for at least one minute with any of the following:

- hot (60°C) water
- 2% solution of household bleach
- 5% solution of salt
- 5% solution of nappy cleaner
- 5% solution of antiseptic hand cleaner
- 5% solution of dishwashing detergent.

A 2% solution is 200ml, a 5% solution is 500ml (two large cups), with water added to make 10 litres.



DRY If cleaning is not practical, dry items completely and then leave for at least 48 hours.

www.biosecurity.govt.nz



**BIOSECURITY
NEW ZEALAND**



Didymosphenia

YOU CAN



the spread of

DIDYMO

A MICROSCOPIC INVASIVE FRESHWATER ALGAE

After leaving from any waterway...just remember

1 + 1 + 1

1 gallon of water + 1 cup of salt + 1 minute soak

Soak all gear for 1 Minute, all felt soled boots or soft absorbent items should be soaked for 30 minutes

or

Dry all gear for 48 hours before entering another waterway



Cornell University
Cooperative Extension
Ulster County

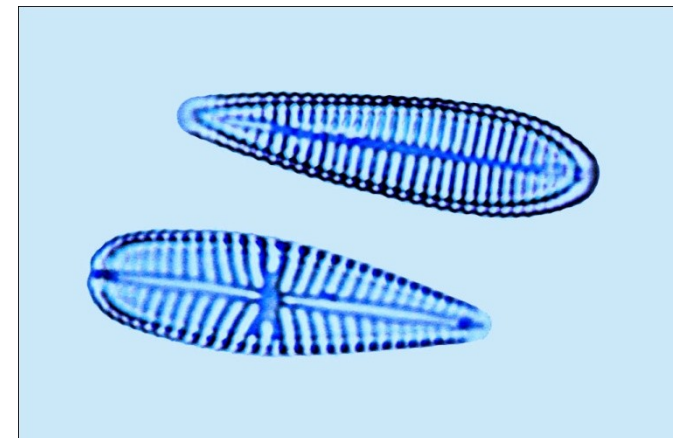
For more information or a laminated copy of this poster contact the Ashokan Watershed Stream Management Program at 845-688-3047



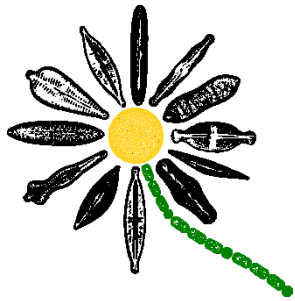
Rhoicosphenia



- Heterovalvární, asymetrická
- 1 valva s kompletním raphe, na druhé valvě jen rudiment raphe
- Frustuly v pleurálním pohledu zakřivené
- Tvoří slizové stopky



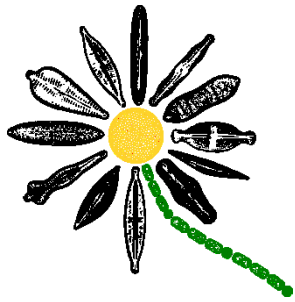
Rhoicosphenia abbreviata



Odběr fytobentosu

http://www.mzp.cz/cz/prehled_akceptovanych_metodik_tekouci_ch_vod

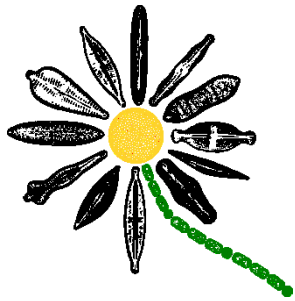
- V souladu s WFD je termín fytobentos používán pro označení souboru fototrofních mikrofyt osidlujících dno.
- Výběr vhodného podkladu
- Oškrab epilitonu
- Transport v chladu a temnu
- Mikroskopický rozbor
- Zhotovení trvalých preparátů rozsivek
- Fixace formaldehydem



Odběr fyto-bentosu

Terénní pomůcky:

- rybářské holinky
- zubní kartáček, nůž, zabroušená lžice nebo skalpel, pinzeta
- plastová miska
- plastová lahvička (optimálně 100 ml) se šroubovacím uzávěrem
- nesmazatelný fix
- chladicí box
- fotoaparát
- GPS přístroj
- terénní přístroje pro analýzu vody (pH, obsah kyslíku, teplota, vodivost)
- gumové rukavice



Odběr fyto bentosu

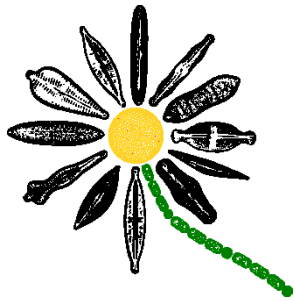
Vzorkování

Vzorkovací období:

Odběr vzorku je optimálně prováděn **čtvrtletně**, zimní odběr je možné vynechat.

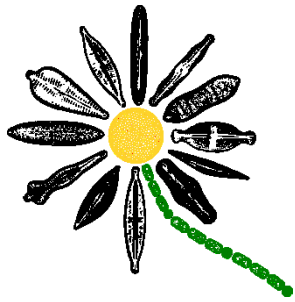
Odběry vzorku se provádějí:

- v jarním období (březen – polovina května)
- v letním období (konec června – polovina srpna)
- v podzimním období (říjen – polovina listopadu)



Odběr fyto-bentosu

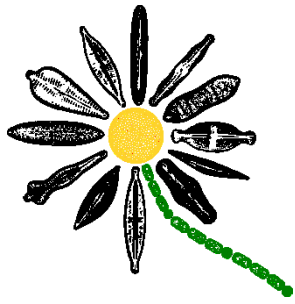
- Výběr reprezentativního- charakteristického úseku toku (s větším množstvím vyjmutelných kamenů)
 - Označení odběrového úseku (slovní, GPS souřadnice, fotografie)
 - Výběr podkladu- odebírá se přednostně epilíton (nárost na kamenech; vedle fototrofních organismů (sinic a řas) obsahuje i heterotrofní složku)
 - Preferovány kameny o velikosti 10-20 cm (stabilní, umožňují rozvoj společenstva)
 - Odběr z cca 5 kamenů
 - Odběr z hlavního proudu řeky
- + Základní měření: (teplota vody, koncentrace rozpuštěného kyslíku, pH a elektrická vodivost)



Odběr fyto bentosu

Vlastní odběr

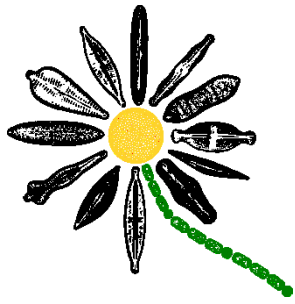
- Odstranění nečistot, detritu
- Dále možné dva způsoby: přímý seškrab do vzorkovnice, či oškrábání nárostu do misky + v misce kamen opláchnout
- K odběru lze použít: kartáček, skalpel, nůž, lžíci- nutno vždy opláchnout v říční vodě
- Odběrová lahvička se neplní až po okraj (ideálně do $\frac{3}{4}$), aby se nevyčerpal kyslík
- Popis
- Transport
- Zpracování do 48 hodin od odběru, jinak nutná konzervace formaldehydem



Odběr fytoENTOSU

Zpracování vzorku

- Analýza v čerstvém stavu
- Determinace
- Kvantifikace
- Registruje se stav organismů
- Fotodokumentace
- Determinace

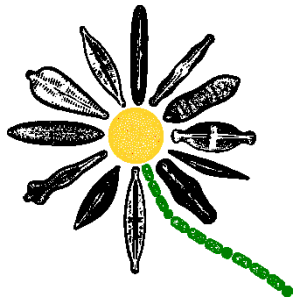


Odběr fytoENTOSU

Kvantifikace: Kvantitativní zastoupení jednotlivých druhů se provádí při slabším zvětšení, pomocí odhadní stupnice, která druhy zařazuje do určitých intervalů na základě odhadu jejich abundance v mikroskopickém preparátu analyzovaného vzorku (Sládečková & Marvan 1978).

Nejčastěji je používána stupnice:

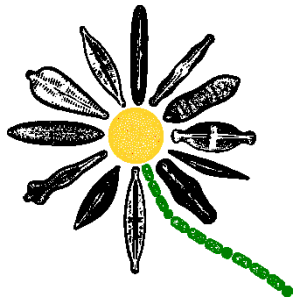
- 6 - druh masově zastoupený, s pokryvností 90 - 100%
- 5 - druh velmi hojný, s pokryvností 50 - 90%
- 4 - druh hojný, s pokryvností 20 - 50%
- 3 - druh dost hojný, s pokryvností 5 - 20%
- 2 - druh zřídka, s pokryvností 1 - 5%
- 1 - druh velmi zřídka, s pokryvností 0,1 - 1%
- + - druh ojediněle zastoupený, s pokryvností do 0,1%



Odběr fytobentosu

Zpracování vzorku rozsivek

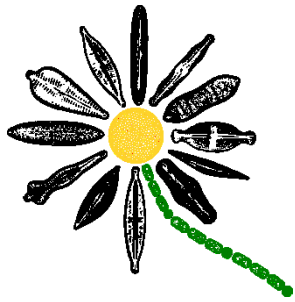
- Odstranění buněčného obsahu oxidačními činidly
- Poté připravení preparátu pomocí uzavíratelných médií



Molekulární metody

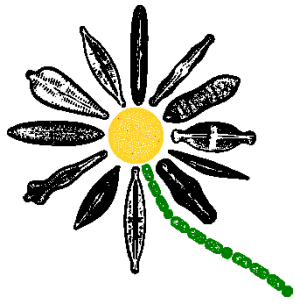
1. Izolace DNA (extrakční kity)
2. Amplifikace DNA (vybraného úseku) – PCR
3. Naklonování DNA (produktů PCR)
4. Sekvenace
5. Analýza (srovnání na www.algaterra.org)

Příklad- výběr 18S SSU rRNA (ideální marker pro rozsivky, z ní výběr např 480 pb pro amplifikaci)



Molekulární metody

- **Extrakce** probíhá podle návodu výrobce vybraného extrakčního kitu (pro rozsivky se používají např. Dneasy Mini Plant kit a Dynabeads DNA Direct Universal Kit)
- **Amplifikace** pomocí primerů (denaturace vlákna, navázání primerů)
- **Klonování** pomocí klonovacích kitů (TOPO TA Cloning™ Kit, klonování často v buňkách E-coli)
- **Sekvenování** (rekombinantních plazmidů E-coli)



Molekulární metody

Důležité nalézt vhodný marker (měla by to být krátká sekvence DNA, která půjde lehce naamplifikovat)

Část DNA pro analýzu by však měla být dostatečně variabilní aby odlišila jednotlivé druhy



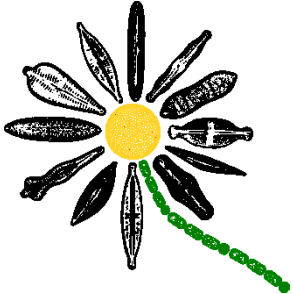
Znaky používané (nejen) pro rozlišení druhů

- **Molekulární analýzy**

- Využívání vedlo k odhalení nečekané kryptické diverzity u rozsivek
- V současné době jsou osekvenovány 2 kompletní genomy rozsivek:
 - centrická *Thalassiosira pseudonana*
 - penátní *Phaeodactylum tricornutum*

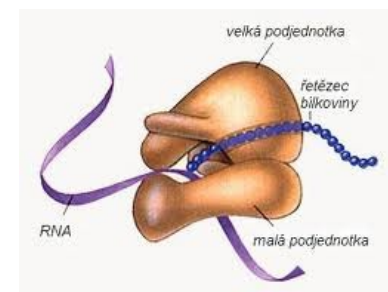
- **Využívání molekulárních dat:**

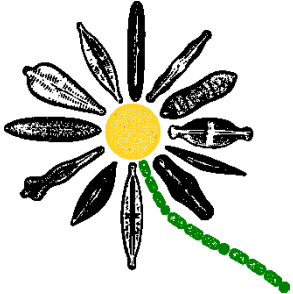
- ITS
- SSU rDNA a LSU rDNA
- plastidové geny *rbcL*
- mitochondriální gen *cox1*



Molekulární analýzy

- **SSU neboli 18S rDNA** (malá ribozómová podjednotka)
 - využití pro rekonstrukci fylogeneze celé třídy rozsivek (zařazení druhu v rámci třídy), méně variabilní
- **LSU neboli 28S rDNA** (velká ribozomální podjednotka)
- **ITS1 a ITS2** (mezerníkové oblasti oddělující ribozomální podjednotku), velmi variabilní
 - ITS2 má schopnost rozlišit reprodukčně izolované druhy
- (Fce ribozomu: tvorba proteinů, probíhá na nich translace, při níž je z řetězce RNA syntetizován polypeptid)





Molekulární analýzy

- **Mitochondriální genom**

- Využívá se oblast kódující proteinovou podjednotku cytochrom oxidasy (**cox1**)

- **Plastidový genom**

- Využívá se oblast kódující proteinovou velkou podjednotku enzymu RUBISCO

- Výhody oproti rDNA: jsou obsaženy

v genomu pouze v jedné kopii+ minimalizuje možnost amplifikace DNA z případné kontaminace houbami, která je poměrně běžná. Nevýhodou je nedostatečná znalost dědičnosti a dalších vlastností organelové DNA

Ekologie

A stylized logo featuring a central yellow circle with black petals radiating outwards, resembling a flower or a sun. A green stem with leaves extends from the bottom right of the central circle.

- Jedna z hlavních akvatických fotosyntetických skupin
- Důležitá součást globální primární produkce
- Mořské i sladkovodní (*centrické-převážně mořské, ve sladkých vodách planktonní, penátní často sladkovodní a přisedlé*)
- Mohou žít epizoicky (velryby) i endozoicky (dírkonoši)
- Jarní a podzimní vrchol ve sladkých vodách
- Ekologické nároky mnohdy druhově specifické (biomonitoring)
- Pevnost schránky- zachování v sedimentech

Ekologie

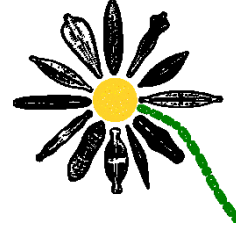


- Důležitá role primárních producentů (primární produkce: produkce organické hmoty fotosyntézou)
- Produkce: přírůstek organické hmoty za jednotku času.
- Čistá primární produkce- 50-70% hrubé primární produkce
- Produkci rozsvitek můžeme měřit jako spotřebu oxidu uhličitého, přírůstek stélky, produkci kyslíku



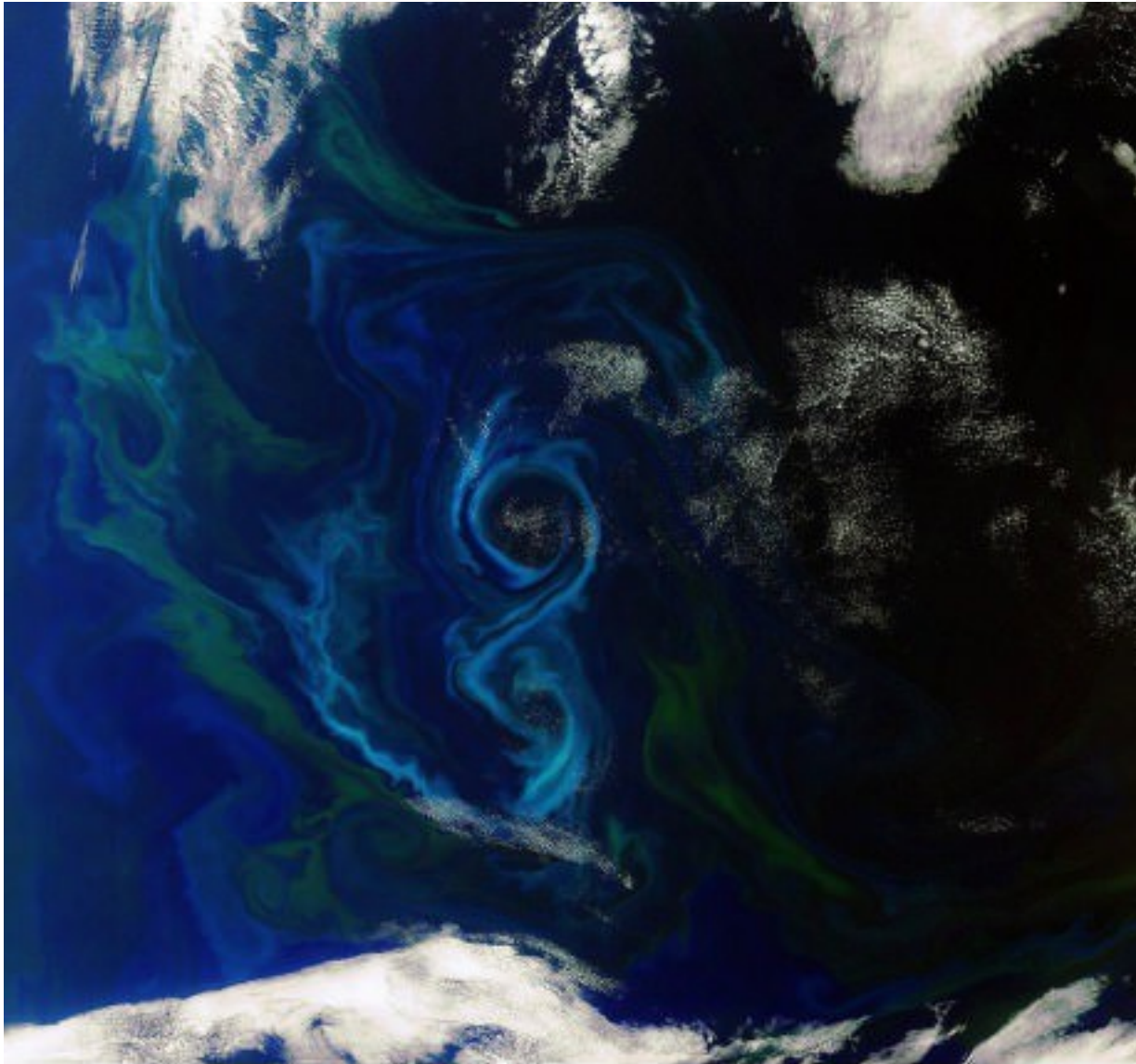
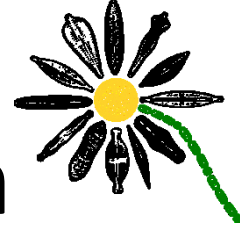
- Závislé na slunečním záření
- Většinou vodní
- Anomálie vody největší hustota při 4 stupních
- Viskozita – vnitřní tření (100x větší než vzduch, umožňuje rozsivkám vznášení)
- Rozdělení vodních těles:
- lotické: proudící
- lentické: stojaté vody

Ekologie



- Rozsivky v planktonu
- Pohyblivé
- x nepohyblivé- vznášejí se a klesají ve vodním sloupci v závislosti na viskozitě vody (*Cyclotella*), dobrou adaptací na pohyb ve vodním sloupci je tvar kolonií- hvězdicovitá *Asterionella formosa* (zpomalení klesání)
- Fytoplankton: sinice a řasy obývající pelagiál hlubokých i mělkých stojatých vod a pomalu tekoucích úseků řek.
- Světový fytoplankton produkuje 70% atmosférického kyslíku

Mořský fytoplankton



Ekologie



- Vodní květ (sinice) x vegetační zákal (zlativky, rozsivky)

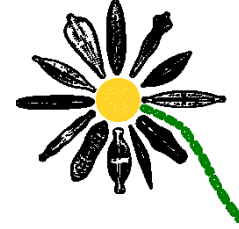
Bentos

- Rozsivky jsou nejčastěji přichyceny k substrátu pomocí slizu

Způsoby přichycení k substrátu:

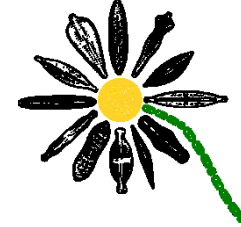
- Celou plochou: *Cocconeis*
- Jedním koncem: *Fragilaria*
- Slizové stopky: *Gomphonema*
- Slizové trubice: *Encyonema*

Různé povrchy



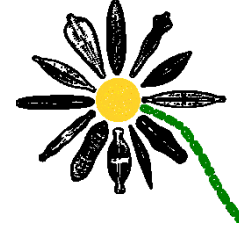
- Na povrchu jemných substrátů (epipelon): *Sellaphora*
- Písečný substrát (epipsamnon): *Nitzschia*, *Navicula*
- V písčitéch sedimentech (endopsamnon): *Surirella*, *Campylodiscus*
- V rostlinách a jejich slizu (endofyton): *Nitzschia* (také v živočiších- endozoon)
- Na živočiších (epizoon): *Fragilaria*

Bioindikátory



- Kyselá voda, pH, dystrofié: *Eunotia*, *Pinnularia*
- Acidifikace: *Eunotia*
- Oligotrofié: *Aulacoseira*
- Mezotrofié: *Asterionella*
- Eutrofié: *Stephanodiscus*

Různé biotopy



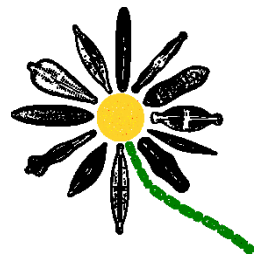
- Zastíněné studánky u pramene- *Surirella*, *Campylodiscus*
- Pramenné mokřady s mechy (helokren): *Pinnularia*, *Hantzschia*

Distribuce rozsivek na lodyžce rašeliníku

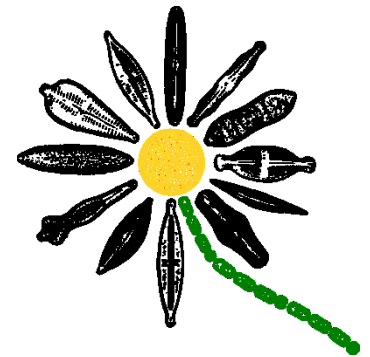
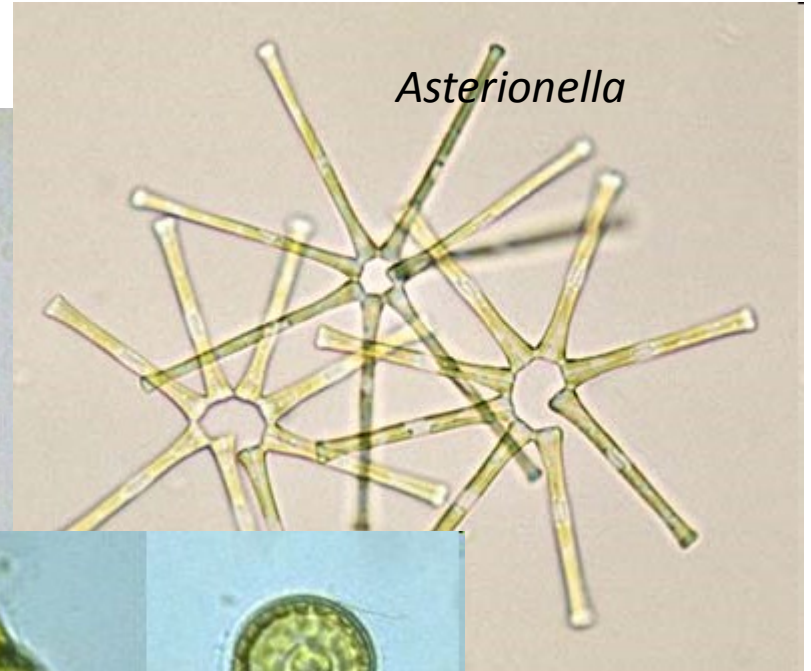
- Tam kde je velká vzdušná vlhkost- na vrcholu rašeliníku
- Vlhké rašeliníky šlenků- u báze

Terestrické prostředí

- *Pinnularia borealis*, *Luticola mutica*, *Orthoseira roseana*,
půdní *Hantzschia amphioxys*



Plankton



Bentos

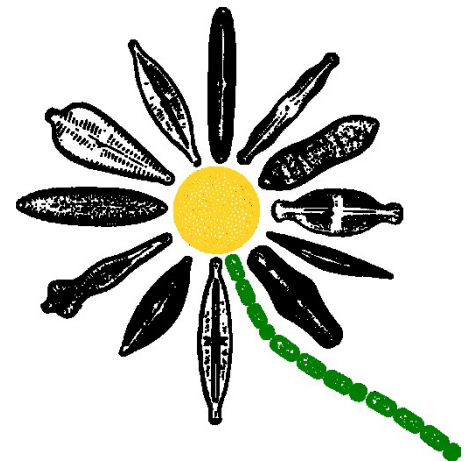
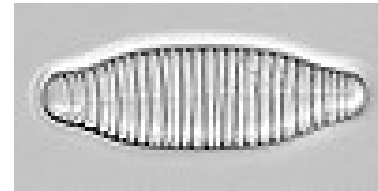
- Přisedlé:
Cymbella

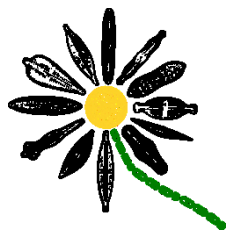


- Cocconeis*



- Volné
Diatoma





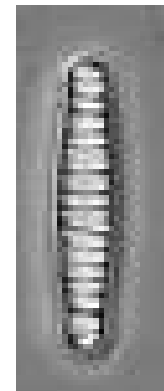
Prameniště

- Stabilní společenstva: *Achnantheidum*, *Cocconeis*, *Cymbella*, *Synedra*, *Navicula*

Achnantheidum minutissimum



- Sezónní společenstva: *Gomphonema*, *Diatoma*



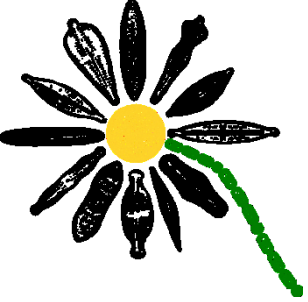


Epilimnion

- *Cocconeis pediculus*, *Diatoma vulgare*,
Gomphoneis olivacea, *Cymbella prostrata*,
Rhoicosphenia abbreviata

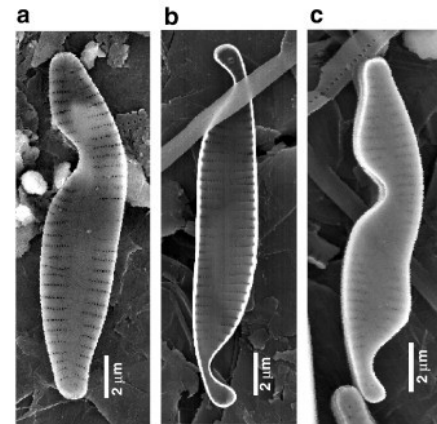
Hypolimnion

- Epipelické rozsivky *Amphora ovalis*, *Diploneis petersenii*, *Fragilaria construens*, *Navicula tenuicephala*



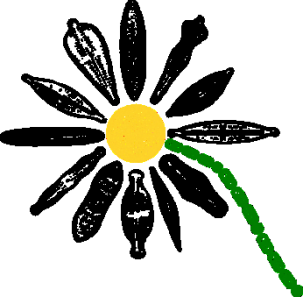
Význam rozsivek

- Biomonitoring
- Biopaliva
- Forezní diatomologie
- Testování optických mikroskopů
- Diatomit
- Výzkum klimatických změn
- Paleoekologické rekonstrukce
- Detektory těžkých kovů a radiace



- Podílí se min. 20% na veškerém objemu C fixovaného během fotosyntézy (více než deštné pralesy)

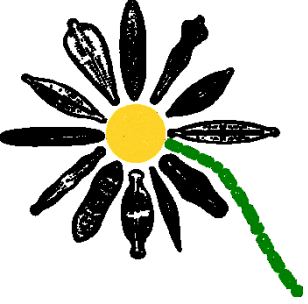
Rozsivkám vděčíme za náš každý pátý vdech...



Praktické využití

- Paleolimnologie: zjišťování subrecentní flóry, vývoje eutrofizace, acidifikace, globálního oteplování
- Křemelina (diatomit): tepelně izolační materiál, filtrace, absorpční materiál, plnidlo
- Diatomit + nitroglycerin = dynamit
- Potravinářský průmysl: zdroj betakarotenu
- Farmaceutický průmysl: prášek proti střevním parazitům
- Nanotechnologie





Forenzní diatomologie

- Vzorke diatomitu z oblečení (protipožární vrstva v sejfách)
- Vzorke frustul rozsivek z oblečení, předmětů, plic, kostní dřeně
- <http://miscarriageofjustice.co/index.php?topic=148.0>