

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Diplomová práce

**Rychlost růstu dominantních rybníčních sinic s rozdílnými strategiemi  
z rybníčních ekosystémů**

**Autor:** Bc. Petra Syslová

**Vedoucí diplomové práce:** Mgr. Otakar Strunecký, PhD

**Studijní program a obor:** N4106, Zemědělská specializace, Rybářství a ochrana vod

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** Druhý

České Budějovice, 2022

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne:

Podpis:

## **Poděkování**

Touto formou bych ráda poděkovala svému vedoucímu Mgr. Otakaru Struneckému, PhD za odborné vedení této práce a jeho kritické připomínky. Dále děkuji svému princi Františkovi, který mi byl po celém studiu velkou oporou, a svým blízkým, kteří mě ve studiu i v samotné práci podporovali.

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra SYSLOVÁ**  
Osobní číslo: **V20N006P**  
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Rybářství a ochrana vod**  
Téma práce: **Rychlost růstu dominantních sinic s rozdílnými strategiemi z rybníčních ekosystémů**  
Zadávací katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

### Zásady pro vypracování

Sinice tvoří dominantní složku primárních producentů současných eutrofních a hypertrofních rybníků. Jejich populace se při značném zjednodušení skládá ze dvou typů ekologicky rozdílných strategií. Jsou to (1) rychle rostoucí jednobuněčné piko-sinice patřící do stejné čeledi jako nejčastější sinice oceánské a (2) pomaleji rostoucí vláknité sinice fixující dusík. Ekologické parametry rychlosti růstu rybníčních sinic ze skupiny (1) nebyly dosud stanoveny a ze skupiny (2) jsou zřídka literární údaje o jejich růstových možnostech.

Student se proto zaměří na zjištění parametrů rychlosti růstu pro zástupce sinic z těchto skupin. Nejdříve zjistí fundamentální niku na základě kultivace sinic v gradientu teploty, světla, živin (P a N), a dále kombinaci parametrů, ve které dojde k jejich vzájemné kompetici a jejich ovlivnění realizované niky. Získané výsledky pak studentka dále vyhodnotí pomocí počítačového SW (např. Statistica, MS Office) a srovná s informacemi z dostupné literatury. Student vytvoří ekologické modely pro rychlost růstu těchto dvou typů sinic a srovná je s abiotickými i biologickými parametry z reálného prostředí rybníků získanými v rámci předchozích projektů. Do modelů se pak pokusí zahrnout např. délku dne, teplotu vody, koncentraci živin, predaci atd. Takto vytvořené ekologické modely budou srovnány s výsledky z literatury. Výsledky pomohou zvýšit porozumění procesům, které se odehrávají v jihočeských rybnících a mohou vytvořit doporučení pro jejich účinnější management.

Rozsah pracovní zprávy: **50-70 stran**  
Rozsah grafických prací: **10 a více tabulek a grafů**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

### Seznam doporučené literatury:

Allewalt JP, Bateson MM, Revsbech NP, Slack K, Ward DM (2006) Effect of temperature and light on growth of and photosynthesis by *Synechococcus* isolates typical of those predominating in the octopus spring microbial mat community of Yellowstone National Park. *Appl Environ Microbiol* 72:544-550. doi:10.1128/AEM.72.1.544-550.2006

Hindák F, Křídlová J, Lukavský J (2013) Growth characteristics of selected thermophilic strains of cyanobacteria using crossed gradients of temperature and light. *Biologia* 68. doi:10.2478/s11756-013-0215-1

Inoue N, Taira Y, Emi T, Yamane Y, Kashino Y, Koike H, Satoh K (2001) Acclimation to the growth temperature and the high-temperature effects on photosystem II and plasma membranes in a mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant Cell Physiol* 42:1140-1148. doi:10.1093/pcp/pce147

Leao PN, Engene N, Antunes A, Gerwick WH, Vasconcelos V (2012) The chemical ecology of cyanobacteria. *Nat Prod Rep* 29:372-391. doi:10.1039/c2np00075j

Lürling M, Eshetu F, Faassen EJ, Kosten S, Huszar VLM (2013) Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biol* 58:552-559. doi:10.1111/j.1365-2427.2012.02866.x


Romo S, Becares E (1992) Preservation of Filamentous Cyanobacteria Cultures (Pseudanabaena-Galeata Bocher and Geitlerinema-Amphibium (Ag Ex Gom) Anagn under Low-Temperatures. Journal of Microbiological Methods 16:85-89.  
Ryan CN, Thomas MK, Litchman E (2017) The effects of phosphorus and temperature on the competitive success of an invasive cyanobacterium. Aquatic Ecology 51:463-472. doi:10.1007/s10452-017-9629-0  
Sabour B, Sbiyyaa B, Loudiki M, Oudra B, Belkoura M, Vasconcelos V (2009) Effect of light and temperature on the population dynamics of two toxic bloom forming Cyanobacteria – Microcystis ichthyoblabe and Anabaena aphanizomenoides. Chem Ecol 25:277-284. doi:10.1080/02757540903062525  
Whitton BA (2012) Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. Springer, New York  
Whitton BA, Potts M (2000) The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space. Kluwer Academic Publishers Netherlands:632

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Otakar Strunecký, Ph.D.**  
Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání diplomové práce: **8. ledna 2021**  
Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2022**

02.   
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zátiší 728/II  
389 25 Vodňany

 (2)  
Ing. Jan Kašpar  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 25. ledna 2021

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Literární přehled.....</b>	<b>10</b>
2.1	Obecná charakteristika sinic.....	10
2.2	Stavba buňky .....	10
2.3	Výskyt .....	15
2.4	Produkční strategie řádů <i>Nostocales</i> a <i>Synechococcales</i> .....	17
2.5	Růstová rychlost sinic .....	21
2.6	Co ovlivňuje růst sinic.....	24
2.7	Vývoj rybníků v ČR za posledních 50. let .....	31
<b>3</b>	<b>Materiál a metodika .....</b>	<b>36</b>
3.1	Výběr zástupců sinic .....	36
3.2	Příprava média.....	36
3.3	Jednotlivé fáze experimentu .....	38
3.4	Vytvoření kalibračních křivek.....	41
3.5	Měření optické hustoty .....	43
3.6	Počítání buněk.....	43
3.7	Měření velikosti buněk .....	44
3.8	Měření světla.....	44
3.9	Použití softwaru.....	44
<b>4</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>46</b>
4.1	Kmen <i>Synechocystis</i> .....	46
4.2	Kmen <i>Cyanobium</i> .....	51
4.3	Kmen <i>A. lemmermannii</i> .....	56
4.4	Kmen <i>A. compacta</i> .....	63
4.5	Kmen <i>A. reniformis</i> .....	70
4.6	Společný růst kmenů <i>Synechocystis</i> a <i>A. lemmermannii</i> .....	74

4.7	Měření světla v inkubačních komorách .....	75
<b>5</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>88</b>
<b>7</b>	<b>Přehled použité literatury .....</b>	<b>89</b>
<b>8</b>	<b>Seznam příloh.....</b>	<b>100</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>101</b>
<b>10</b>	<b>Abstrakt .....</b>	<b>107</b>
<b>11</b>	<b>Abstract.....</b>	<b>108</b>

# 1 Úvod

Sinice jsou rozmanitou skupinou prokaryotických organismů, které jsou schopné osidlovat téměř všechny ekosystémy na Zemi. Mají schopnost odolávat vysokým teplotám, dehydrataci a dokážou vytvářet kyslík pomocí fotosyntézy. Navíc obsahují pigmenty, které pohlcují ultrafialové záření a chrání je před jeho nepříznivými účinky. Díky těmto vlastnostem se sinice mohou vyskytovat i v podmínkách environmentálního stresu, a dokonce v něm dokážou vytlačovat nebo nahrazovat jiné organismy.

Vodní květ vzniká zvláště v letních měsících masivním rozvojem sinic a vyniká především svými negativními vlastnostmi. Pro ostatní organismy omezuje přísun slunečního záření, vyčerpává živiny (fosfor, dusík, uhlík) a může způsobit hypoxii v prostředí, která může vyvolat úhyn ostatních organismů. Obzvláště nebezpečné jsou toxické vodní květy, které produkují toxické látky – tzv. cyanotoxiny. Cyanotoxiny (zejména pak hepatotoxiny a neurotoxiny) jsou nebezpečné i pro organismus člověka, neboť mohou narušit jeho životně důležité vnitrobuněčné procesy. Mohou způsobovat např. ekzémy, nádory, poškození jater a v konečném důsledku mohou vést až k úmrtí.

Růst sinic v rybníčních ekosystémech je nejvíce ovlivňován faktory, jakými jsou: sluneční záření, teplota a množství živin. Závisí také na nízké povrchové turbulenci a hydrologické stabilitě. Nostokální sinice se vyznačují vysokou efektivitou ve využívání zdrojů, vysokou rychlostí růstu a celkem lepší konkurenční schopností oproti ostatním druhům, obzvláště při nižších koncentracích rozpuštěného dusíku.

Jelikož během posledních padesáti let došlo ke zvýšení produkce ryb a tím i používání krmiv, došlo také v rybnících ke zvýšení množství fosforu, který je hlavní omezující živinou primární produkce. V důsledku toho se zhoršila kvalita vody a sedimentů. Z původních oligotrofních rybníků se tak staly eutrofní až hypertrofní. Výsledkem je celkové narušení rybníčního ekosystému a vytvoření vhodných podmínek pro rozvoj sinic, které mohou svým uvolňováním vybraných sloučenin nepříznivě ovlivňovat kvalitu rybího masa (dodávají mu bahnitou chuť), avšak zároveň mohou sloužit jako účinný indikátor pro sledování kvality vody v rybnících a jiných vodních nádržích.

Cílem této diplomové práce bylo zjištění rychlosti růstu vybraných zástupců sinic z řádů *Nostocales* a *Synechococcales* pomocí jejich kultivace při odlišných teplotách a v médiích s různým množstvím dusíku. Dále byla pozornost věnována společnému růstu dvou vybraných zástupců ze zvolených řádů. Výsledky provedeného experimentu



byly srovnány s reálnými parametry z prostředí rybníků a mohou přispět k lepšímu porozumění procesům, které probíhají v našich rybnících.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Obecná charakteristika sinic

Sinice, známé též jako cyanobakterie či cyanophyta, jsou fotosyntezující autotrofní prokaryota. Řadí se mezi kvantitativně nejdůležitější organismy na Zemi (Whitton a Potts, 2012), neboť jsou klíčovými primárními producenty a některé kmeny, jako např. *Nostoc*, jsou schopné fixovat atmosférický dusík ( $N_2$ ), takže představují důležité zdroje dusíku (N) a uhlíku (C) pro ostatní organismy (Kvíděrová, 2019; Davey a Marchant, 1983).

Geologové společně s geochemiky se shodují na dlouhé evoluční historii sinic. K rozporu však dochází při odhadu délky jejich stáří. Někteří výzkumníci zastávají názor, že sinice byly první skupinou fotosyntetizujících organismů. Jejich možný fosilní původ se datuje do doby asi 3,46 miliard let (Schopf, 2002), nicméně jednoznačně nejstarší fosilní sinice byly nalezeny v sedimentárních horninách se stářím asi 2 miliard let (Hofmann, 1976).

V současné době se sinice vyskytují téměř ve všech biotopech a biomech na Zemi (Whitton a Potts, 2002). Tradiční odhad celosvětové biomasy sinic činí  $3 \times 10^{14}$  g C, což představuje tisíc miliónů metrických tun ( $10^{15}$  g) mokré biomasy (Whitton a Potts, 2012). V mořském planktonu vynikají 2 kmeny sinic: Kmen *Prochlorococcus*, který má množství celosvětové biomasy  $120 \times 10^{12}$  g C, a kmen *Synechococcus*, s přibližnou hmotností  $43 \times 10^{12}$  g C; takové množství dělá z těchto kmenů nejhojněji se vyskytující sinice na Zemi. Tropický mořský kmen *Trichodesmium* dosahuje celosvětové biomasy  $10 \times 10^{12}$  g C. Sinice žijící půdě suchozemských oblastí mají  $54 \times 10^{12}$  g C. U planktonních sinic v jezerech se celosvětová biomasa odhaduje na  $3 \times 10^{12}$  g C (Garcia-Pichel a kol., 2003).

### 2.2 Stavba buňky

Morfologie buněk sinic vykazuje řadu znaků, které se využívají při mikroskopickém zkoumání a identifikaci. Jedná se především o tvar a velikost buněk, subcelulární struktury a specializované buňky. Některé taxony obsahují buňky, které nabývají různých tvarů (Vidal a kol., 2021). Mohou být jednobuněčné nebo vláknité, v obou případech

mohou žít jednotlivě nebo tvořit kolonie (Beljakova a kol., 2006). Jejich velikost se u jednotlivých taxonů liší, např. kulovité buňky jednobuněčných sinic mají průměr od 0,2  $\mu\text{m}$  do více než 40  $\mu\text{m}$ . Nejmenší buňky tvořící tzv. pikoplankton, mají okrouhlé, mírně protáhlé buňky o průměru v desetinách mikrometru, např. kmeny *Prochlorococcus* a *Cyanobium* mají průměr buněk 0,6  $\mu\text{m}$ . Buňky kmene *Synechococcus* mají rozměry v rozmezí od 0,5 do 1,8  $\mu\text{m}$ . U některých kmenů buňky dosahují průměru až 45  $\mu\text{m}$  (Šmarda, 1996, Passoni a Callieri, 2000).

Jednobuněčné (kokální) druhy mají oválné, vejčité, kulovité a paličkovité buňky. Vlákňité kmeny mají buňky soudečkovité, válcovité, nepravidelné a velmi krátké. Koloniální kmeny mají ve slizu pravidelně či nepravidelně umístěné buňky v řadách kolmých na sebe (Ambrožová, 2002). V některých případech (např. u kmene *Gloeocapsa*) mohou být slizové obaly zbarveny scytoneminy (karotenoidy) (Kalina a Váňa, 2005). Tato barviva slouží jako ochrana proti krátkovlnnému slunečnímu ultrafialovému (UV) záření (Rastogi a kol. 2015).

### 2.2.1 Buněčná stěna

Sinice patří do skupiny gramnegativních bakterií. To znamená, že jejich buňky mají pevnou buněčnou stěnu, která znemožňuje barvení podle K. Gramma. Buněčná stěna je v průměru 35 až 50 nm silná. Pevná část buněčné stěny je složena z peptidoglykanu, kde hlavní složkou je murein. Mureinová vrstva může tvořit až 50 % suché hmotnosti buňky. Vnější buněčný obal tvoří slizová vrstva (tzv. glykokalyx), která je složena z lipopolysacharidů (Beljakova a kol., 2006).

### 2.2.2 Fotosyntetický aparát

Jak již bylo zmíněno výše, sinice jsou schopné fotosyntézy. Fotosyntetické membrány, tzv. thylakoidy, jsou uloženy v cytoplazmě. Jejich uspořádání je zčásti typické pro jednotlivé skupiny sinic, ale vlivem vnějších faktorů se může měnit (Beljakova a kol., 2006). V membráně thylakoidu se nacházejí fotosyntetické pigmenty, tj. chlorofyl *a*,  $\beta$ -karoten a několik xantofylů (echinenon, zeaxantin aj.). Výjimku tvoří *Gloeobacter violaceus*, který thylakoidy nemá a fotosyntetické pigmenty jsou součástí plazmatické membrány. Thylakoidy v heterocytech mají funkční pouze komplexy fotosystému I, které na světle neprodukují kyslík (Kalina, 1994; Kalina a Váňa, 2005) a podílejí se na fixaci N (Tyagi, 1975).

Sinice produkují pigmenty jako je fykobilin a fykocyanin, který při dostatečně vysoké koncentraci dodává buňkám namodralou – sinou barvu. Odtud také pochází lidový název sinice. U některých kmenů se tvoří červený akcesorický pigment fykoerytrin, případně se tvoří i jiné akcesorické pigmenty, které lze najít např. u kmene *Prochlorococcus* (Whitton a Potts, 2012).

S fotosyntézou souvisí i přítomnost karboxyzomů, které obsahují důležitý enzym Rubisco (ribulóza-1,5-bifosfát karboxyláza/oxidáza). Tento enzym je významným činitelem v temné fázi fotosyntézy, kdy probíhá fixace ( $\text{CO}_2$ ) a jeho přeměna na polysacharidy (Calvinův cyklus) (Lin a kol., 2014).

### 2.2.3 Zásobní látky

Hlavní zásobní látkou je sinicový škrob ( $\alpha$ -1,4glukan), který je svými vlastnostmi shodný s glykogenem některých bakterií, hub a živočichů. Dusíkatá zásobní látka je zastoupena canofycinovými zrnky, která jsou tvořena aminokyselinami argininem a asparaginem. Jako poslední jsou uváděny polyfosfátové granule, tzv. volutin obsahující kondenzované ortofosforečnany. Volutin se hromadí v buňkách v době přebytku fosforečnanů v prostředí a je využíván v období jejich nedostatku. Tím to způsobem sinice dokážou překonat kritické období bez fosforečných živin (Kalina, 1994; Kalina a Váňa, 2005).

### 2.2.4 Aerotopy

Aerotopy, popř. plynové vakuoly, jsou svazky mnohostěnných proteinových mikrostruktur tvořící plynové měchýřky (vezikuly). Tyto vezikuly jsou naplněné vzduchem, který se do nich dostává difúzí. Plynové vezikuly mají hustotu přibližně jedné desetiny hustoty vody; to buňkám zajišťuje vztlak a umožňuje jim se vznášet nebo se vynořovat na vodní hladinu. Jednotlivé vezikuly jsou přibližně 75 nm široké a často dosahují délky až 1  $\mu\text{m}$ . Rozložení aerotopů v buňkách je charakteristické pro jednotlivé taxony (Vidal a kol., 2021). V buňce *Aphanizomenon* může být až 10 000 vezikul (Kalina a Váňa, 2005).

### 2.2.5 Specializované buňky

Sinice fixující  $\text{N}_2$  lze rozdělit na 2 skupiny podle toho, zda obsahují nebo naopak neobsahují heterocyty. Heterocyty jsou jedny ze specializovaných buněk, které se

morfologický liší od vegetativních buněk. Sinice řádu *Nostocales*, též nazývané jako heterocytní sinice, neboť obsahují heterocyty, jsou schopné fixace N<sub>2</sub> v aerobních podmínkách (Bergman a kol., 1997). Ke specializovaným buňkám se řadí také akinety, které sinicím slouží k přežití v nepříznivých podmínkách (Vidal a kol., 2021). V tabulce 1 je přehledné shrnutí řádů se zástupci, které mají a které naopak nemají specializované buňky.

Heterocyty umožňující tzv. biologickou fixaci N<sub>2</sub> (diazotrofii) mají zesílenou buněčnou stěnu, která ještě více podporuje anoxické nitrobuněčné prostředí potřebné pro fixaci N<sub>2</sub>. Na tomto ději se podílí enzym nitrogenáza, která syntetizuje amonné sloučeniny a skládá se ze dvou složek, železitého proteinu (Fe-protein) a železo-molybdenového proteinu (MoFe-protein) (Berman-Frank a kol., 2003; Guerrero a Lara, 1987).

Heterocyty postrádají složku fotosystému II, která obsahuje mangan, tudíž nedochází k produkci kyslíku (O<sub>2</sub>). Některé sinice nemající heterocyty, jako např. *Lyngbya majuscula*, fixují N<sub>2</sub> v noci, poté co intenzivním dýcháním odstranily O<sub>2</sub> z buněk (Šmarda, 1996).

Akinety (arthrospory) jsou nepohyblivá klidová stádia, která se nacházejí u stejných taxonů tvořících heterocyty. Vyznačují se větší velikostí ve srovnání s vegetativními buňkami a odlišným lomem světla při mikroskopickém pozorování. Buněčná stěna je vícevrstevná a často obsahuje glykogen a cyanofycin. Jejich odolnost vůči chladu a vysychání poskytuje sinicím prostředek k přezimování a přežívání suchých období. Např. akinety *Anabaena cylindrica* mohou přežít 5 let ve tmě a v suchém stavu, zatímco vegetativní buňky za podobných podmínek nepřežijí déle než 2 týdny (Adams a Duggan, 1999).

Tabulka 1: Vybrané řády s nebo bez obsahu specializovaných buněk. Podtržení zástupci byly vybrány do experimentu (Šejnohová a Maršálek, 2005, upraveno).

Řád	Heterocyty	Akinety	Zástupci
<i>Chroococcales</i>	ne	ne	<i>Microcystis</i> , <i>Chroococcus</i> , <i>Pseudocapsa</i> <i>Gloeocapsa</i>
<i>Oscillatoriales</i>	ne	ne	<i>Planktothrix</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Trichodesmium</i>
<i>Nostocales</i>	ano	ano	<i>Nostoc</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Tolypothrix</i>
<i>Synechococcales</i>	ne	ne	<u><i>Synechocystis</i></u> , <u><i>Cyanobium</i></u> , <i>Prochlorococcus</i> , <i>Limnococcus</i>

## 2.2.6 Dělení buněk

Kokální sinice se rozmnožují pouze prostým dělením; zaškrcením buňky nebo fragmentací kolonie. Dělení buněk začíná tvorbou příčné přehrádky, která vrůstá po celém obvodu buňky ve směru od obvodu do nitra buňky. V první fázi vrůstá pouze vnitřní plazmatická membrána, posléze se připojují i další vrstvy buněčné stěny. Slizový obal se na dělení nepodílí. Buňky se tak zcela oddělují, netvoří pravá vlákna a v jednoduchém případě se dělí na dvě stejné dceřiné buňky (Kalina a Váňa, 2005).

U ostatních kmenů probíhá dělení ve dvou nebo třech vzájemně kolmých rovinách. Vznikají tak např. deskovité kolonie u kmene *Merismopedia*. *Chamaesiphon confervicola* se rozmnožuje endosporami (exocyty), které se uvolňují po roztržení buněčné stěny (Beljakova a kol., 2006).

Vláknité sinice se množí buď prostým dělením nebo pomocí klouzavě se pohybujících hormogonií, které se nemusí lišit velikostí a tvarem od vegetačních buněk. Jedná se o několika buněčné části vlákna, které jsou oddělované z vlákna mateřského a postupem času dorůstají do jeho velikosti (Vidal a kol., 2021).

## 2.2.7 Cyanotoxiny

Cyanotoxiny jsou sekundární metabolity, které mají škodlivý účinek na jiné organismy, jejich tkáně nebo buňky. Cyanotoxiny jsou sinicemi uvolňovány do okolního vodního prostředí a svojí přítomností ovlivňují fyzikální a chemické vlastnosti vody (Ambrožová, 2002). Jejich další vlastností je bioakumulace v trávicím traktu vodních organismů (Sivonen a Jones, 2009).

Podle účinků se cyanotoxiny dělí na 2 skupiny: cytotoxiny (nepůsobící smrtelné otravy) a skupinu s neurotoxiny, anatoxiny a hepatotoxiny (působící smrtelné otravy) (Carmichael, 1992). V tabulce 2 jsou vypsány příklady.

Cytotoxiny mají selektivní účinek na bakteriální, houbovité a jiné buňky. Při kontaktu s lidským organismem mohou způsobit chronické otravy až trvalé poškození organismu. Oproti tomu se v lékařství využívají cytotoxická antibiotika s protinádorovými účinky (Kalina a Váňa, 2005).

Velké množství cyanotoxinů produkuje *Lyngbya majuscula*, vyskytující se v tropických mořských oblastech. Pokud s ní přijde do kontaktu plavec, může mu

způsobit poškození kůže, očí a horních cest dýchacích (Belkin a Colwell, 2006). V brakických vodách je smrtelnou hrozbou pro zvířata i člověka *Nodularia spumigena* produkující nodularin, který způsobuje vážné poškození jater (Pattanaik a kol., 2010). Ve sladké vodě sinice *Raphidiopsis raciborskii* produkuje saxitoxiny a navíc i cylindropermopsin, který inhibuje syntézu proteinů (Ramos a kol., 2021).

U vodních živočichů může intoxikace proběhnout buď přímou konzumací cyanotoxinů nebo nepřímou konzumací jiných zvířat, ve kterých byly cyanotoxiny kumulovány (Sivonen a Jones, 2009). Drobac a kol. (2021) zjistili, že cyanotoxiny sinic *Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis flos-aquae*, *Microcystis wesenbergii* a další způsobují u ryb histopatologické změny převážně na ledvinách a žábrách. U obojživelníků způsobuje microcystin-LR letalitu, zpomalení vývoje a malformace (Dvořáková a kol. 2002).

Tabulka 2: Vybrané příklady cyanotoxinů u vybraných zástupců kmenů se způsobujícími nemocemi, upraveno (Codd a kol., 2017).

Příklady cyanotoxinů	Vybraní zástupci	Způsobená onemocnění
Microcystin	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Planktothrix</i> ,	poškození jater, podporující vznik nádorů, inhibice fosfatázy PP1
Cylindropermopsin	<i>Cylindropermopsis</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Aphanizomenon</i>	neurotoxické, genotoxické, inhibitory syntézy proteinů
Anatoxin-a	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Phormidium</i>	neurotoxické, vážou se na acetylcholinové receptory
Saxitoxin	<i>Lyngbya</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Raphidiopsis</i>	neurotoxické, blokují sodíkové kanály

## 2.3 Výskyt

Sinice jsou schopny žít na všech místech, na které proniká sluneční záření, včetně míst s extrémními podmínkami (Pouličková, 2011). Celkem se rozlišují 3 ekosystémy, ve kterých se sinice vyskytují: mořský, terestrický a sladkovodní. Tyto ekosystémy se liší podmínkami prostředí a vytvářejí tak odlišná stanoviště pro kolonizaci sinicemi (Kvíděrová, 2019).

### 2.3.1 Mořský ekosystém

Sinice se vyskytují ve všech oceánech v různých morfologických formách, které se mohou lišit v závislosti na ročním období a zeměpisné poloze. V oceánském

fytoplanktonu jich ve srovnání s vnitrozemskými moři se zvýšenou eutrofizací není mnoho (Andreeva a kol., 2020). Růst sinic v mořských ekosystémech nejvíce omezují dva faktory. Prvním je dostatek světla pro fotosyntézu, který je dostupný jen v blízkosti vodní hladiny. Druhým je množství základních živin. Některé živiny totiž mohou být přítomny pouze v nízkých koncentracích (Fogg, 1987). Hlavními představiteli fytoplanktonu jsou kokoidní sinice kmenů *Synechococcus*, *Synechocystis* a *Prochlorococcus*. Ty zaujímají klíčové postavení na začátku potravních řetězců jako potenciální dodavatelé C (Beljakova a kol., 2006).

### 2.3.2 Terestrický ekosystém

Klíčovým faktorem k osidlování terestrických ekosystémů je tolerance sinic k vysychání a nedostatku vody (Whitton a Potts, 2002). Úspěšná kolonizace suchozemských biotopů znamená tedy schopnost odolat extrémnímu vysychání, při kterém dochází k poškození membránové struktury, proteinů a nukleonových kyselin. Tato schopnost sinic podstoupit téměř absolutní dehydrataci, aniž by došlo k jejich odumření, je známá jako anhydrobióza nebo jako tolerance k vysychání (Büdel, 2011). Například v poušti Negev, kde teplota povrchu půdy sahá k 60 °C, přežívají kmeny *Chroocidiopsis*, *Aphanocapsa* a *Plectonema* (Kalina a Váňa, 2005).

V půdě se nejčastěji vyskytují vláknité druhy s tmavě zbarvenými slizovými pochvami. Ovšem vyskytují se i zbarvení modročerné, hnědé, červenohnědé až červené, která jsou způsobena přítomností pigmentu scytoneminu (Stiborová, 2017).

### 2.3.3 Sladkovodní ekosystém

Sladkovodní prostředí se stálou vodní plochou se jeví pro sinice jako nejméně stresující (Pentecost a Whitton, 2002). Sinice zde mohou růst jako součást planktonu nebo být přichycené na pevných površích (Vidal a kol., 2021). Pechar (1995) uvádí, že mezi nejčastěji se vyskytujícími sladkovodními kmeny sinic v našich rybnících patří: *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* a *Limnothrix*. Jejich dominance závisí např. na hustotě rybí obsádky a množství perlooček (*daphnií*). Dále je uvedeno, že pokud je nízký poměr mezi N:P a vysoké pH, může docházet k masivnímu rozvoji vodního květu, především kmene *Aphanizomenon*. S masivním rozvojem vodního květu souvisí pojem eutrofizace, který je popsán v kapitole o vývoji rybníků v ČR za posledních 50. let.



## 2.4 Produkční strategie řádů *Nostocales* a *Synechococcales*

### 2.4.1 Způsob hibernace

Sinice řádu *Nostocales* dokážou v nepříznivém růstovém období (nedostatek světla, živin, teplota aj.) přetrvat v podobě akinet. Díky nim dokážou mimo vegetačního období (zima a jaro) přežívat v dnových sedimentech (Adams a Duggan, 1999). Maršálek a kol. (1996) uvádí, že nástup nové vlny rozvoje těchto sinic trvá déle, jelikož dochází ke klíčení akinet a k velkému počtu dělení vegetativních buněk.

Oproti tomu jsou populace sinic tvořící akinety schopné přežít v proměnlivých podmínkách, které se předpokládají ve spojitosti se změnami klimatu. Má se za to, že by mohly být lépe přizpůsobeny přerušované dostupnosti živin, způsobené např. změnami srážkového režimu nebo intenzity světla (Carey a kol. 2012).

Řád *Synechococcales* nemá akinety. Na konci vegetačního období jsou kolonie zpevněné slizem a jako celek klesají ke dnu (Šejnohová a kol., 2004). Přežívací strategie *Microcystis* v hlubších místech nádrže spočívá v akumulaci dostatečného počtu buněk v povrchu sedimentu na rozhraní voda-sediment. V těchto místech jsou částečně anaerobní podmínky, které pozitivně ovlivňují jarní nástup. Při vývoji nové vlny vyplouvají k hladině celé kolonie (Fallon a Brock, 1981). Z toho lze vyvodit, že *Microcystis* zůstává ve vysoké abundanci po celý rok; přes zimu a jaro přežívá na dně, přes léto v epilimniu. A tudíž dokáže dominovat ve vrcholné fázi rozvoje fytoplanktonu (Maršálek a kol., 1996).

### 2.4.2 Vodní květ

Díky vysokým koncentracím N a fosforu (P) v povrchových a podzemních vodách dochází k tvorbě škodlivých vodních květů sinic. Ty jsou tvořeny masivní akumulací jednoho nebo více druhů o objemu  $10^4$  až  $10^6$  buněk v 1 mililitru (Novotný, 2011). Za vhodných meteorologických a hydrologických podmínek může dojít k silnému rozvoji vodního květu (Gu, 2012). Míra znečištění vodním květem se může orientačně měřit na základě průhlednosti vody pomocí Secchiho desky, což je kruhová bílá deska o průměru 30 cm, která se spouští do vody, dokud nezmizí z dohledu. Hloubka, ve které již deska není vidět, je vizuálním měřítkem čistoty vody (Preisendorfer, 1986).

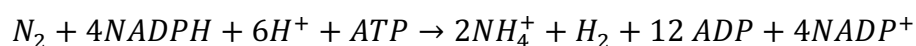
Vodní květ může vyvolávat krizi v zásobování vodou ve spojení se zvýšeným obsahem fosforečnanů, které se sorbují na dnových sedimentech. Ty se totiž za určitých podmínek uvolňují a jejich koncentrace se ve vodách zvyšuje. Důsledkem je vysoká koncentrace sinic ve zdrojích pitné vody a problémy ve vodárenských systémech, např. ucpání filtrů a zhoršení organoleptických vlastností upravené vody (Kočí, Burkhard a Maršálek, 2000). Velké riziko pro lidské zdraví hrozí po chloraci povrchové vody s obsahem sinic, kdy mohou vznikat nebezpečné toxické organické látky, jako např. trihalogenmethany, bromdichlormethan a tribrommethan (Janda, Pech a Pechová, 2004). V krajním případě může vodní květ způsobit i ekologickou katastrofu, viz kapitola eutrofizace a podkapitola cyanotoxiny.

Maršálek a kol. (1996) uvádí, že populace sinic řádu *Synechococcales* mají schopnost na hladině tvořit během bezvětří souvislé neustonické smaragdově zelené povlaky, které zabraňují výměně plynů mezi vodou a atmosférou. Zároveň tak dochází ke snížení průniku světla do spodních vrstev vodního sloupce, což způsobuje zhoršení životních podmínek pro vodní organismy. Oproti tomu sinice řádu *Nostocales* sice vytváří silné vrstvy na hladině, ty ale nikdy nemají povahu souvislých neustonických povlaků.

### 2.4.3 Fixace dusíku

V zásadě mohou sinice k svému růstu využívat amonný iont ( $\text{NH}_4^+$ ) nebo dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ) jako dostačující zdroj N (Kalina a Váňa, 2005). Řády sinic *Nostocales* a *Stigonematales* však vynikají schopností fixovat  $\text{N}_2$  pomocí enzymu nitrogenázy (Guerrero a Lara 1987), což z nich činí velmi důležitou součást mnoha mikrobiálních společenstev, neboť N často omezuje primární produkci (Kvíderová, 2019). Za autotrofních podmínek je využití jakékoli formy anorganického N sinicemi závislé na dostupnosti světla a  $\text{CO}_2$  (Guerrero a Lara 1987).

Obecnou rovnicí pro fixaci dusíku (Jensen, 1983) lze napsat ve tvaru:



Tato koncepce fixace  $\text{N}_2$  má zajímavé aspekty. Energetické náklady na fixaci  $\text{N}_2$  jsou vyšší než náklady na tvorbu  $\text{NH}_4^+$  vzniklé redukcí  $\text{NO}_3^-$  (Van Baalen, 1987), pro to je pro sinice výhodnější získávat N z prostředí. Dále se například se předpokládá, že tvorba vodíku ( $\text{H}^+$ ) je nutnou součástí reakce (Simpson a Burris, 1984). Z rovnice vyplývá, že konečným produktem redukce N je  $\text{NH}_4^+$ , který je inhibítoem syntézy N látek.  $\text{NH}_4^+$  je

tak zpracováván na neinhibiční N sloučeniny některými enzymy v heterocytech (Tyagi, 1975).

### 2.4.3.1 Vliv kyslíku na nitrogenázu

Fixace  $N_2$  je anaerobní proces. Pokud by se jedna či druhá složka nitrogenázy setkala s  $O_2$ , došlo by k jejímu nevratnému poškození. Proto musejí kmeny fixující  $N_2$  chránit svou nitrogenázu před inaktivací  $O_2$ . Inaktivaci nitrogenázy může způsobit i vlastní fotosynteticky vyprodukovaný kyslík (Gallon, 1981).

Heterocytní sinice mají své heterocyty chráněny silnou buněčnou stěnou (Gallon, 1981). Co se týče sinic nemajících heterocyty, některé vykazují pravidelné cykly mezi světlem a tmou, aby nedošlo k poškození nitrogenázy. Typickým příkladem může být již výše zmíněná *Lyngbya majuscula* (Šmarda, 1996). Při světle vrcholí fotosyntéza, oproti tomu ve tmě je maximální aktivita nitrogenázy. Obsah sacharidů v buňkách dosahuje nejvyšších hodnot uprostřed světelné fáze. Během tmavé fáze obsah sacharidů rychle klesá a kryje se zvýšenou aktivitou N látek. To znamená, že fixace  $N_2$  závisí na spotřebě buněčných zásob sacharidů a také, že možná ochrana nitrogenázy před  $O_2$  je poskytována dýcháním (Fay, 1992).

Ještě další adaptace je pozorována u mořské vláknité sinice kmene *Trichodesmium* nemajících heterocyty. Tyto sinice během dne fixují  $N_2$  a jejich mechanismus ochrany nitrogenázy před  $O_2$  je pro výzkumníky již řadu let matoucí, jelikož fotosyntetické složky se vyskytují i v buňkách obsahující nitrogenázu, což by podle dosavadních znalostí mělo vést k poškození nitrogenázy (Berman-Frank a kol., 2003). Je možné, že nostokální sinice tvořící kolonie podobné *Trichodesmium*, jako např. *Aphanizomenon* či *Anabaena*, budou mít podobné mechanismy fixace  $N_2$ .

### 2.4.3.2 Vliv substrátu na nitrogenázu

Úvahy o správnosti předpokladu, že asimilace N omezuje růst, lze zkoumat z hlediska rychlosti autotrofního růstu. Tuto teorii ověřil Van Baalen (1987), který upravil pro experiment 3 kultivační média: chlorid amonný ( $NH_4Cl$ ), dusičnan sodný ( $NaNO_3$ ) a  $N_2$  se shodnou koncentrací N. Bylo zjištěno, že u rychle rostoucích kmenů *Anabaena* byl průměr generačních časů za optimálních růstových podmínek na  $NH_4Cl$  3,8 h, na  $NaNO_3$  4,9 h a 5,2 h na  $N_2$ . Z toho plyne, že sinice dokážou rychleji využít  $NH_4^+$  než  $N_2$ , neboť proces přeměny  $N_2$  na využitelný  $NH_4^+$  trvá déle a stojí i více energie.

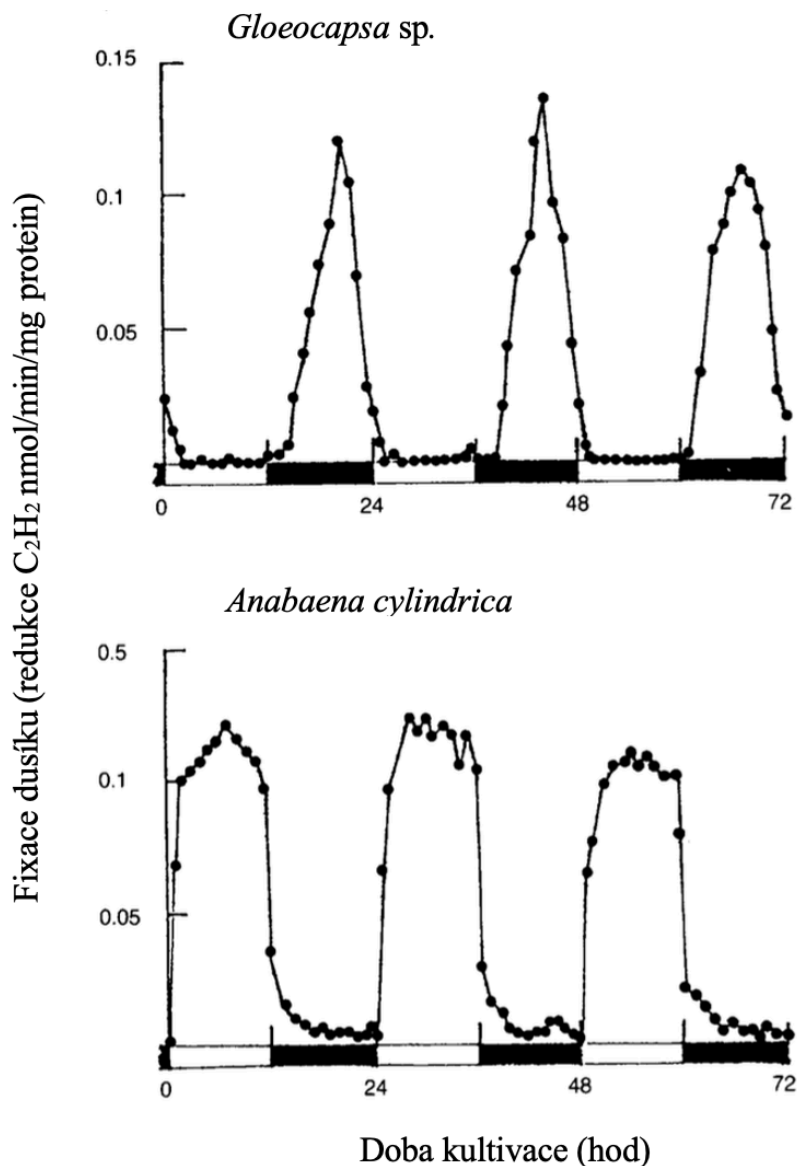
Další experiment vlivu substrátu na nitrogenázu provedl Bergman (1980). Ten pozoroval u *Anabaena cylindrica*, *Anabaena variabilis* a *Nostoc muscorum* vliv glyoxylátu na aktivitu nitrogenázy a fotosyntézy. V časech, kdy nejsou k dispozici komplexní zdroje, jako je glukóza, je to právě glyoxylát, který umožňuje buňkám využívat jako hlavní zdroj C jednoduché organické sloučeniny (Beever, 1980). Výsledky z pokusu ukázaly, že glyoxylát snižuje fotorespiraci a následně zvyšuje činnost fotosyntézy a nitrogenázy (Bergman, 1980).

### 2.4.3.3 Vliv světla

Fay (1976) uvádí, že při pokusu přenesení *Anabaenopsis circularis* ze světlého prostředí do tmavého rychlost a trvání fixace N<sub>2</sub> závisely na podmínkách převládajících během předchozí světelné periody. Faktory, jako intenzita světla, CO<sub>2</sub> a přísun glukózy (zdroj energie), které na světle ovlivňují fotosyntézu a akumulaci rezervního C, mají zásadní vliv na fixaci „tmavého“ N<sub>2</sub>. Glukóza podporující fixaci N<sub>2</sub> na světle podporuje i aktivitu nitrogenázy ve tmě. Výsledky tak naznačují, že fixace N<sub>2</sub> sinicemi je důležitá jak za světla, tak za tmy.

Wyatt a Silvey (1969) zjistili, že *Gleocapsa* sp., ačkoliv neobsahuje heterocyty, může růst a fixovat N<sub>2</sub> aerobně za stálého osvětlení. Při stálém osvětlení totiž vzniká časové oddělení mezi maximální aktivitou nitrogenázy a maximální fotosyntetickou aktivitou. K dramatičtějšímu oddělení aktivit lze dosáhnout při pěstování *Gleocapsa* sp. za střídání světla a tmy. Na grafu 1 je znázorněna kultivace s cyklem: 12 hod. světlo a 12 hod. tma. Bylo zjištěno, že fotosyntetická aktivita probíhala pouze na světle a za tmy sinice fixovaly přibližně 95 % N<sub>2</sub>. Oproti tomu druh *Anabaena cylindrica*, mající heterocyty, při stejném světelném cyklu fixovala asi 90 % N<sub>2</sub> na světle (Gallon, 1981).

Podobně byly zkoumány účinky různých světelných cyklů na nitrogenázu u sinic *Cyanothece* sp. ATCC 51142 a PCC 7822. Kultivace obou vzorků probíhala při cyklu: 12 hod. světlo a 12 hod. tma, 8 hod. světlo a 16 hod. tma. Z výsledků bylo usouzeno, že nitrogenáza dosahovala vrcholu na začátku tmavé fáze, což je stejný trend, jaký byl pozorován již v minulých letech (Schneegurt a kol., 1994). Dále bylo zjištěno, že během kratších dnů byla nižší schopnost fotosyntézy, produkce energie i fixace CO<sub>2</sub> (Arshad a kol., 2014). Když byla *Cyanothece* sp. ATCC 51142 vystavena nepřetržitému světlu, fixace N<sub>2</sub> probíhala cyklicky, ovšem s nižší aktivitou. Dále byla nižší také respirace a fotosyntéza (Toepel a kol. 2008).



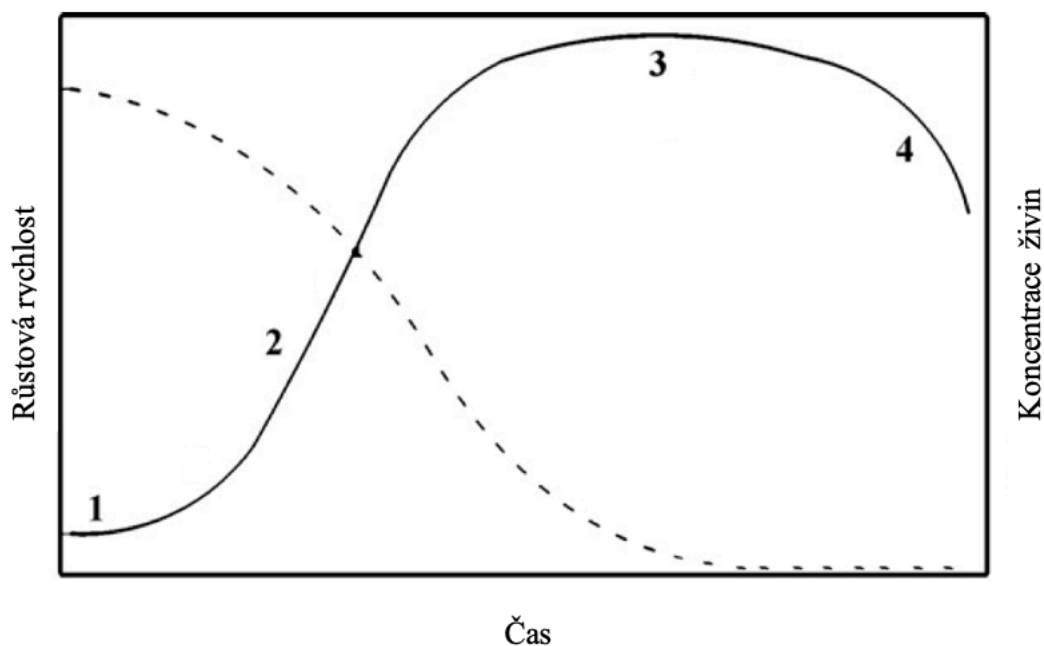
Graf 1: Fixace N kmenů *Gloeocapsa sp.* a *Anabaena cylindrica* po dobu 7 dní s cyklem 12 hod. světla, 12 hod. tmy. Fixace N byla měřena pomocí techniky redukce acetyleny (Gallon, 1981).

## 2.5 Růstová rychlost sinic

Zvyšování počtu jednotlivých mikroorganismů se označuje jako tzv. růst populace (Pazlarová, 2018) a jeho rychlost je závislá na velikosti buněk (Pouličková, 2011). Během svého růstu se mohou sinice potýkat s nepříznivými podmínkami, které mají vliv na jejich růstovou schopnost. Výskyt takových stresových podmínek závisí na: vystavení UV záření, živinách, periodicitě denních nebo ročních cyklů teplot a amplitudě mezi maximálními a minimálními hodnotami teplot. Působení několika stresových podmínek najednou, jako jsou zvýšené teploty, vysoké ozáření, vysychání a nepravidelnost, sinicím znemožňuje růst (Kvíděrová, 2019).

Doba, během které se populace zdvojnásobí, se označuje jako generační (Pouličková, 2011). Mata a kol. (2010) uvádí, že sinice jsou schopné zdvojnásobit svoji biomasu za 24 hodin, během exponenciální fáze dokonce již za 3,5 hodiny. Vonshak a Maske, (1982) poukazují na výhody, které s sebou přinesla velkoplošná kultivace (chemostat, turbidostat), díky které dochází ke zdvojnásobení biomasy během 3 až 10 hodin. Kondo a kol. (1997) zjistili, že *Synechococcus* PCC 7942 má dobu zdvojení 5 až 6 hodin a lze ji snadno regulovat změnou teploty nebo světelného toku. A Yamagishi a kol. (2016) při kultivaci *Cyanobium* sp. NIES-981, která probíhala při teplotě  $23 \pm 1$  °C, zjistili, že růstová rychlost činila  $1,16 \text{ den}^{-1}$ .

V laboratorních podmínkách se rychlost růstu sinic obvykle zjišťuje metodou inokulace. Její princip spočívá v přenesení menšího množství buněk do zvoleného kultivačního média (Vonshak a Maske, 1982). Růst sinic pěstovaných ve statické kultivaci (bez přívodu živin a odvodu odpadních produktů) lze znázornit graficky pomocí tzv. růstové křivky, skládající se ze 4 fází (Parker a kol. 2016), které jsou zobrazeny na grafu 2 a jednotlivě popsány níže.



Graf 2: Znárodnění růstu sinic (plná čára) a koncentrace živin (přerušovaná čára) (Mata a kol., 2010, upraveno).

První fázi je tzv. lag fáze, která je fyziologicky označována jako přechodné období. Její definici tvoří (1.) interval mezi inokulací sinicové kultury a (2.) doba počátku její maximální růstové rychlosti. Buňky se v této fázi adaptují na nové prostředí a jejich počet zůstává konstantní. Zvětšují svoji velikost a svým metabolismem syntetizují proteiny, které jsou potřebné k růstu. Délka trvání lag fáze je ovlivňována několika faktory,

zejména druhem sinic a jejich genetickém složení, složení média a velikosti inokula (množství buněk na začátku kultivace) (Robinson a kol., 1998).

Druhou fází je tzv. exponenciální (logaritmická) fáze. V této fázi dochází k aktivnímu dělení buněk binárním štěpením, přičemž rychlost dělení je konstantní a počet buněk exponenciálně roste (Doležálková, 2010, Mata a kol, 2010). Se zkracující se dobou zdvojení roste specifická růstová rychlost (Huesemann a kol., 2003). Podle Whitton a Potts (2002) byla u *Anacystis nidulans* zjištěna nejvyšší rychlost růstu. Její doba zdvojnásobení činila 2,1 h. Oproti tomu Mata a kol (2010) uvádí, že během této fáze se může předčasně celá populace zhroutit.

Třetí fází je tzv. stacionární fáze. Populace je tu tvořena konstantním počtem buněk, takže počet nově vzniklých buněk je roven počtu odumírajících. Postupně jsou spotřebovány všechny živiny a začínají se hromadit odpadní produkty. Dochází také k postupnému odbourávání O<sub>2</sub>, což má za následek omezování růstu aerobních buněk a postupné zpomalování až zastavení růstu populace. Buňky reagují na tento stav metodou přežití (Parker a kol., 2016), při níž stacionární populace buněk postupně vytvoří subpopulace, jejichž jednotlivé buňky se mohou na nepříznivé podmínky adaptovat rozdílně, např. znovuoobením růstu, adaptivní mutagenezí, indukci růstu či sporulací. Populace tak má zvýšenou pravděpodobnost přežití v limitujících podmínkách (Motlová, 2009).

Čtvrtou a zároveň i poslední fází je tzv. fáze poklesu, známá též jako fáze úmrtí či útlumu. V prostředí (kultivační médium) se hromadí toxický odpad a pro buňky již nejsou dostupné žádné živiny. Takové podmínky vedou ke zvyšující se úmrtnosti buněk. Brzy je tak počet dělících se buněk převyšován počtem umírajících a dochází k exponenciálnímu poklesu počtu buněk (Parker a kol., 2016).

Koncentraci biomasy lze stanovit několika způsoby, např. se stanovuje hmotnost sušiny, celkový objem buněk anebo počet buněk. Rychlost nárůstu koncentrace buněk se obecně vyjadřuje jako specifická růstová rychlost ( $\mu$ ), kterou lze vypočítat podle následujícího vzorce (Vonshak a Maske, 1982):

$$\mu = \frac{dx}{dt} \times \frac{1}{X}$$

kde značí:  $X$  – koncentrace biomasy.

## 2.6 Co ovlivňuje růst sinic

Výskyt vodního květu sinic lze nalézt převážně v mezotrofních a eutrofních nádržích. Na jeho úplné vyloučení z ročního cyklu by byly zapotřebí prostředky, jejichž aplikace je spojena s vážnými riziky. Uvažuje se např. o algicidních preparátech apod. Ovšem použití těchto látek má jen dočasný efekt a jejich použití je zbytečné, pokud nebude pozornost věnována i základním faktorům podmiňujícím rozvoj sinic (Maršálek, Drábková, 2004).

Mezi důležité faktory podmiňující masový rozvoj sinic např. patří: dostatek biologicky přístupných mikro a makro prvků a jejich vyvážený poměr, na jaře je potřebná teplota vody pro jarní rozvoj min. 10 °C, predace zooplanktonu (likviduje řasy, takže sinice pak nemají konkurenci), podmínky vhodné pro hibernaci, zvýšení doba zdržení vody aj. (Maršálek, Drábková, 2004).

Nároky sinic na koncentraci a poměr živin, teplotu a světlo jsou druhově specifické (Pouličková, 2011). Zároveň jsou tu i další ovlivňující faktory, jako např. kompetice o živiny. Druhy fytoplanktonu živící se stejnými živinami snižují jejich dostupnost pro sebe i pro ostatní druhy (Huisman a Hulot, 2005). Sinice se tak dostávají do kompetice s ostatními organismy o limitující živiny, především se jedná o P, kterému je věnovaná podkapitola níže (Sigeo, 2005).

### 2.6.1 Teplota

Jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující růstovou rychlost je teplota. Sinice obecně lépe rostou při vyšších teplotách, než jiné druhy fytoplanktonu, tj. obvykle nad 25 °C. Naproti tomu při nižších teplotách se jejich rychlost růstu snižuje. Např. rozsivky mají až 6x vyšší růstovou rychlost při 15 °C a až 3x vyšší růstovou rychlost při 20 °C než sinice (Berg a Sutula, 2015). To zapříčiňuje, že při vyšších teplotách mají sinice nižší konkurenci (Paerl a Huisman, 2008, Whitton a Potts, 2012). Zvýšení teploty o 10 °C způsobuje až 3x vyšší intenzitu životních procesů, jako je např. metabolismus, dýchání, růst apod. (Hartman a kol., 1998).

Lürling a kol. (2013) uvádí, že sinice obývající mírné zeměpisné šířky mají teplotní růstové optimum mezi 25 až 35 °C. Na základě svého výzkumu s osmi kmeny sinic uvádí, že *Synechococcus elongatus* PCC 6301 měla růstové optimum při nejvyšší použité teplotě 35 °C. *Microcystis aeruginosa* NIVA-CYA 140 a PCC 7941 vykazovaly růstové optimum



mezi 30 až 32,5 °C a podobně i *Aphanizomenon gracile*, jejíž optimální teplota pro růst byla 32,5 °C. *Planktothrix agardhii* NIVA-CYA 116 a NIVA-CYA 126 s *Raphidiopsis raciborskii* měly růstové optimum při nižších teplotách, a to při 27,5 °C. Poslední sledovanou byla *Anabaena cylindrica* PCC 7122 s optimem 25,5 °C. Tabulka 3 poukazuje na podobné výsledky optimálních teplot pro růst vybraných sinic zjištěných Robarts a Zohary, (1987).

Tabulka 3: Přehled teplotního optima pro růst vybraných sinic.  $T_{min}$ =teplota, při které se zastavil růst.  $T_{opt}$ = teplota s dosaženou maximální růstovou rychlostí ( $\mu_{max}$ ). PAR=fotosynteticky dostupné záření v  $\mu E m^2 s^{-1}$  (Robarts a Zohary, 2010).

Species	$T_{min}$ (°C)	$T_{opt}$ (°C)	$\mu_{max}$ (day <sup>-1</sup> )	PAR	Notes and reference
<i>Microcystis</i> sp	10 5–13 5	28 8–30 5	0 25–0 30	<35	Kruger & Eloff (1978)
<i>M. aeruginosa</i>	10	27 5	0 8	102	Nicklisch & Kohl (1983)
<i>Microcystis</i> sp	13	—	—	—	Kappers (1984)
<i>M. aeruginosa</i>	—	32	0 59	75	Watanabe & Oishi (1985)
<i>M. aeruginosa</i>	—	32	0 81	200	Van der Westhuizen & Eloff (1985)
<i>Anabaena oscillarioides</i>	—	28	0 8	105	Vincent & Silvester (1979)
<i>A. spiroides</i>	—	24	0 9	48	Seki et al (1981)
<i>A. variabilis</i>	<10	35	1 1	500	Collins & Boylen (1982)
<i>Anabaena</i> spp	16–17	—	—	—	Stulp et al (1984)
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	<13	28	1 2	220	Uehlinger (1981)
<i>O. agardhu</i>	<12	23–25	0 59	37	Ahlgren (1978)
<i>O. agardhu</i>	—	>19	—	—	natural population Persson (1981)
<i>O. agardhu</i>	5	≥30	—	—	Post et al (1985)
<i>Anabaena flos aquae</i>	—	18	—	—	natural populations
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	—	15	—	—	Foy et al (1976)
<i>O. agardhu</i>	—	10	—	—	natural populations
<i>O. redekei</i>	—	6	—	—	Foy et al (1976)
<i>Microcystis</i>	15	25	0 50	120	isolates from
<i>Anabaena</i>	<10	25	0 40	120	Lake Mendota
<i>Aphanizomenon</i>	<10	25	0 18	120	Konopka & Brock (1978)
<i>Microcystis</i>	10	30–35	—	36	Imamura (1981)
<i>Anabaena</i>	10	25	—	36	Imamura (1981)
<i>Aphanizomenon</i>	<10	25	—	36	Imamura (1981)
<i>Anabaena</i>	15	30	—	—	Novak & Brune (1985)
<i>Oscillatoria</i>	<15	27	—	—	Novak & Brune (1985)

U mořských sinic je růstové teplotní optimum mezi 20 až 27,5 °C (Berg a Sutula, 2015). Např. *Trichodesmium* vykazuje růstové teplotní optimum při 27 °C. Zajímavostí je, že dokáže přežít i při teplotě 17 °C, jen není schopna růstu (Stal, 2009).

Berg a Sutula (2015) zjistili, že sinice jsou schopné v rychlosti růstu konkurovat eukaryotním organismům, pokud je teplota nad 20 °C. Při teplotách nad 25 °C dokážou konkurovat i rozsivkám. K tomu ale sinice potřebují vysokou dávku ozáření na rozdíl od rozsivek, které jsou schopné dosáhnout vysoké růstové rychlosti i během nízkých dávek ozáření. Dále uvádějí, že teplota vody musí být nad 19 °C, aby došlo k rozkvětu sinic.

Hindák a kol. (2013) uvádí, že termofilní sinice *Hapalosiphon fontinalis*, *Chroococciopsis thermalis* a *Synechococcus bigranulatus* mají růstové teplotní optimum v rozmezí 45 až 50 °C a jsou schopné se přizpůsobit teplotám od 40 do 70 °C.

Podle Whitton a Potts (2012) dominují během období se zvýšenou teplotou např. *Planktothrix agardhii* a *Microcystis aeruginosa*.

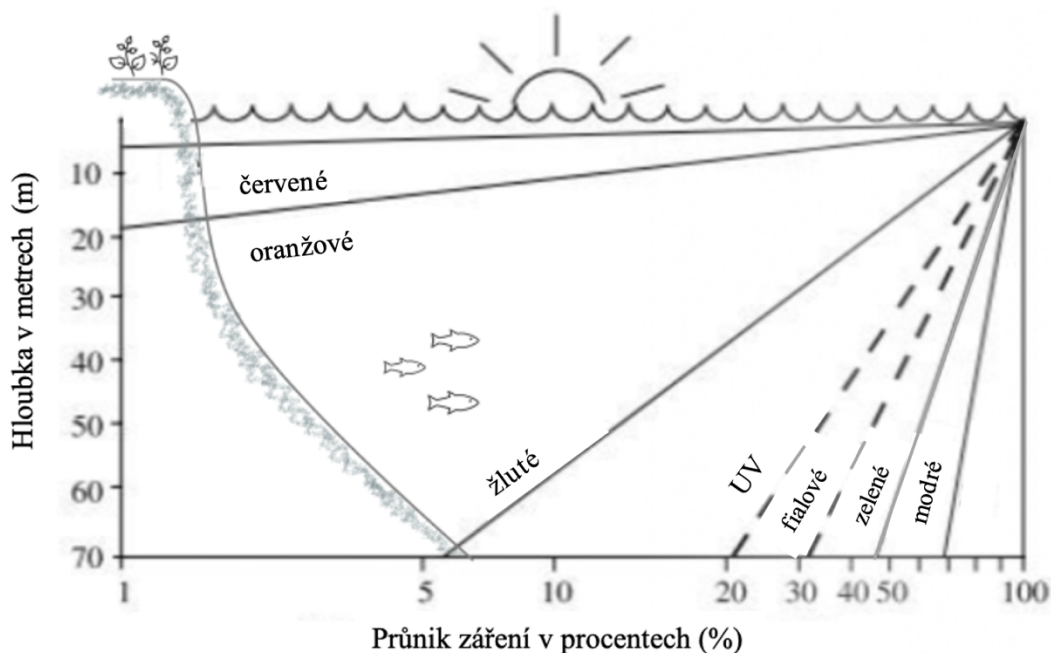
Ve vodním ekosystému při vysokých letních teplotách dochází ke snížení vertikálního turbulentního míchání a také k vyšší stabilitě vodní sloupce. Tento stav vyhovuje vznášejícím se sinicím, které tak získávají konkurenční výhodu (Whitton a Potts, 2012). Pokud se tedy bude vlivem globálního oteplování a změny klimatu zvyšovat teplota, sinice budou vůči ostatním druhům fytoplanktonu konkurenceschopnější (Berg a Sutula, 2015).

## 2.6.2 Světlo

Ve vodě má sluneční světlo úlohu především pro činnost fotosyntézy, která vede k tvorbě organických látek, jež jsou důležité pro potravní řetězce. Poměr respirace a intenzity fotosyntézy působí na kolísání obsahu O<sub>2</sub> a hodnotu pH, což ovlivňuje složení společenstev. Kolísání intenzity světla a délky světelné části dne (fotoperioda) působí u vodních organismů na jejich biologické rytmy. Délka periody má vliv především na dobu rozmnožování obojživelníků, ryb a jiných organismů. To se dále promítá do sezónní periodicity vodních ekosystémů. Cirkadiální rytmy se např. projevují migrací planktonních organismů mezi hladinou a dnem a v jejich aktivitě (Hartman a kol., 1998).

Sinice patří mezi vodní organismy, které jsou schopné oxygenní fotosyntetické reakce. Zdrojem energie toho procesu je světlo o vlnových délkách od 380 do 720 nm, přezdívané jako fotosynteticky aktivní radiace (PAR) (Pouličková, 2011). Světlo však proniká jen do určité hloubky vodního sloupce, přičemž se zvyšující hloubkou se snižuje jeho intenzita vlivem absorpce a rozptylem na částicích. To způsobuje změnu spektrálního složení (Hartman a kol., 1998), která je znázorněna na obrázku 1. Nejhlouběji do vodního sloupce proniká modré záření. Obecně platí, že v prvních metrech vodního sloupce je absorbováno více než 50 % celkové světelné energie. Hloubka, do které může pronikat záření, je dána zejména obsahem rozpuštěných a suspendovaných látek (Brönmark a Hansson 2017).

Pisciotta a kol. (2010) uvádí, že sinice pro svoji fotosyntézu nejvíce využívají záření modré a červené. Dále zmiňují, že modré záření má nejvíce energie, a tudíž je pod ním fotosyntéza účinnější než pod zářením červeným. V eutrofních nádržích je průchod světla do vodního sloupce tlumen vodním květem, avšak řada sinic má aerotopy, které byly popsány výše a pomocí kterých se dokážou udržet ve vhodných světelných podmínkách.



Obrázek 1: Propustnost jednotlivých částí světelného spektra v destilované vodě v % (Brönmark a Hansson, 2017, upraveno).

V závislosti na úhlu dopadu je část záření odražena od vodní hladiny, zbytek prostupuje vodním sloupcem (Pouličková, 2011). Prosvětlená zóna s převládající fotosyntetickou produkcí se nazývá eufotická. Její hloubka může dosahovat v rybnících od několika cm až do 5 m, v oligotrofních jezerech až do 20 m a v oceánech může sahát až do 200 m. Na tuto zónu navazuje zóna afotická, vyznačující se rozkladem organické hmoty a úbytkem záření (Kalff, 2002).

Jak již bylo zmíněno výše, pro zachytávání slunečního záření mají sinice fotosyntetické pigmenty. Brönmark a Hansson (2017) zmiňují, že chlorofyl *a* má absorpční maxima při 430 a 665 nm. Jedná se o hlavní pigment využívající sluneční energii k přeměně oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ) a vody ( $\text{H}_2\text{O}$ ) na cukr ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) a  $\text{O}_2$ :



Díky ostatním fotosyntetickým pigmentům ( $\beta$ -karoten, xantofyly, u některých sinic např. chlorofyl *b* a *d*), které mají absorpční maxima v jiných vlnových délkách než chlorofyl *a*, mohou sinice využívat širší spektrum vlnových délek. Pokud dochází ke změně světelného režimu, sinice optimalizují fotosyntézu tím, že upraví množství chlorofylu v závislosti na intenzitě záření, tj. že obsah chlorofylu se v buňce zvyšuje při nízké dostupnosti záření (Brönmark a Hansson, 2017).

De Tezanos Pinto a Litchman (2010) zjistily na vybraných nostokálních sinicích, že pokud jsou tyto sinice vystaveny dlouhodobé tmě, dochází následně ke snížení jejich hustoty a k degradaci akinetů. V trvale tmavých sedimentech by tudíž měla být jejich koncentrace nízká. Litchman (2003) dále zjistil, že při kolísajícím světelném režimu je soužití dvou druhů snazší než při podmínkách, které by vedly ke konkurenčnímu vyřazení jednoho druhu.

### 2.6.3 Tři hlavní živiny

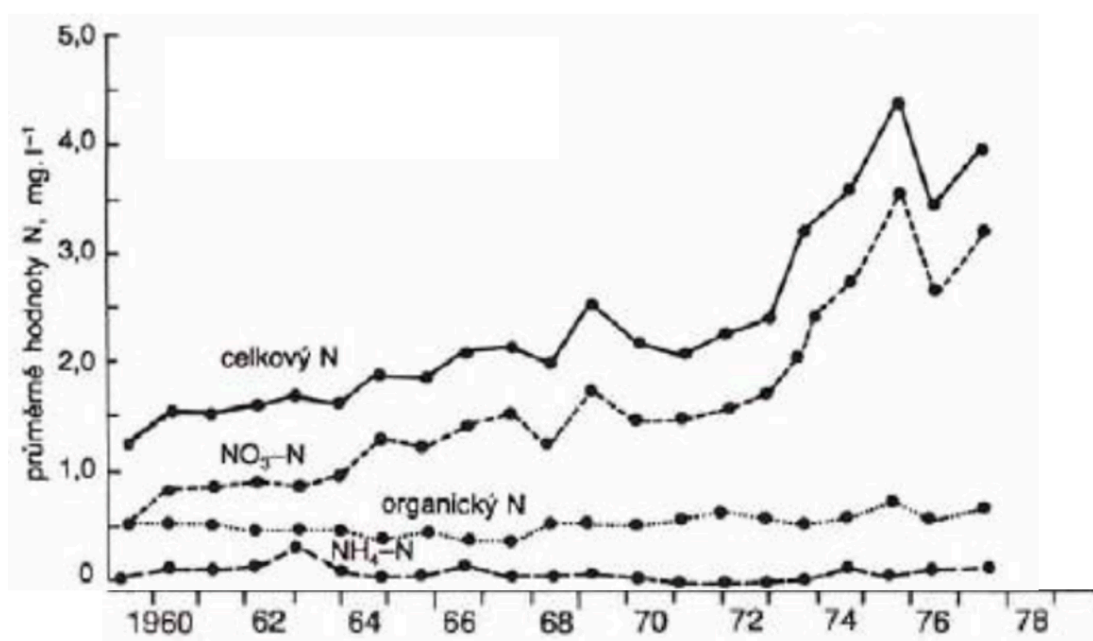
Živiny jsou chemické látky, které organismy potřebují jako tzv. stavební kameny pro své buňky. Do vody se dostávají různými procesy, např. při zvětrávání hornin, růstu, odumírání, asimilaci, rozkladu a vylučování rostlin a živočichů nebo díky kulturní eutrofizaci. Rozpuštěné látky mohou být přijímány bakteriemi, řasami, sinicemi a dalšími primárními producenty, kteří je začleňují do potravního řetězce. Obecně platí, že sinice mají poměr příjmu 106C:16N:1P, tzv. Redfieldův poměr (Brönmark a Hansson, 2017).

#### 2.6.3.1 Dusík

N se nachází převážně v aminokyselinách a bílkovinách organismů. Do vod se dostává srážkami, povrchovým a podzemním přítokem a fixací  $N_2$ . Koncentrace ve vodách se pohybují v širokém rozpětí, od přibližných  $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  až do více než  $6000 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Obecně se N za hlavní limitující živinu pro organismy ve sladké vodě nepovažuje. Tato vlastnost náleží P. Ovšem v některých znečištěných vodách může být koncentrace P tak vysoká, že se hlavní limitující živinou pro růst sinic stane N. V oligotrofních nádržích se N ve formě  $\text{NH}_4^+$  vyskytuje v malém množství v celém vodním sloupci. Naopak v eutrofních nádržích jsou procesy díky vysokému odtoku  $\text{NH}_4^+$  ze sedimentů komplikovanější. To je způsobeno bakteriálním rozkladem organické hmoty při nízkých koncentracích  $\text{O}_2$  (Brönmark a Hansson, 2017).

V ČR se pro hodnocení jakosti vod sledují dusičnanový ( $\text{N-NO}_3^-$ ), amoniakální ( $\text{N-NH}_4^+$ ) a dusitanový ( $\text{N-NO}_2^-$ ) N (Kvítek, 2018). Jejich průměrné hodnoty v minulých letech jsou znázorněny v grafu 3. Z grafu mimo jiné vyplývá, že od roku 1960, kdy byla zahájena tzv. zelená revoluce spočívající převážně v používání velkých dávek průmyslových hnojiv s obsahem N, se koncentrace N ve vodách zvyšuje především splachy ze zemědělsky obhospodařovaných ploch (Noskovič a kol., 2007, Novotný, 2011).

$\text{N-NO}_3^-$  patří mezi nejrozšířenější polutanty v povrchových i podzemních vodách. Pokud by člověk pil vodu s vysokými koncentracemi  $\text{NO}_3^-$ , hrozí mu toxické účinky v podobě methemoglobinémie, kterou způsobují z  $\text{NO}_2^-$  bakterie svojí činností.  $\text{NO}_2^-$  navíc podporují tvorbu N-nitrosoaminů s karcinogenním účinkem. Nedisociované molekuly  $\text{NH}_3$  mají toxický účinek především na ryby (Kvítek, 2018). Nejhojnější formy dusíku přítomné v suchozemských i vodních ekosystémech v sestupném pořadí jsou:  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  (Guerrero a Lara, 1987).



Graf 3: Zobrazení sledovaných forem N s průměrnými hodnotami v povrchových vodách v období od 1960 do 1978 (Hrbáček, 1981).

Sinice dokážou využívat N ve formách  $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$ , dusitanů ( $\text{NO}_2^-$ ) a  $\text{NO}_3^-$ . Ale nejvíce upřednostňují absorpci  $\text{NH}_4^+$  (Chaffin a Bridgeman, 2014).  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  tedy musí být před asimilací v buňce nejprve zredukovány na  $\text{NH}_4^+$  (Brönmark a Hansson, 2017). Příklady rozdílnosti mezi sinicemi, které jsou schopné přeměnit  $\text{N}_2$  na  $\text{NH}_4^+$ , neboli jsou schopné biologické fixace, a sinicemi nefixující  $\text{N}_2$  byly popsány výše. Na biologické fixaci N se podílí enzym nitrogenáza skládající se ze dvou složek Fe-proteinu a MoFe-proteinu. Více o nitrogenáze bylo popsáno v kapitole o heterocytech.

### 2.6.3.2 Fosfor

P je biogenní prvek, který je v prostředí nejméně hojný, ale často limituje biologickou produkci. Nevytváří plynné sloučeniny, a proto je jeho cyklus v biosféře sedimentárního typu. Největší množství je obsaženo v minerálech zemské kůry, ze kterých se

zvětráváním hornin uvolňuje. Následně se P akumuluje v půdě, odkud je čerpán terestrickými organismy. V rámci hydrologického cyklu je jen malá část P, která se vymývá do povrchových a podzemních vod a následně je unášena říčními systémy, aby skončila v sedimentech na dně nádrží a oceánů (Hejzlar a Borovec, 2004).

P je mimořádně důležitým prvkem z hlediska vlivu na růst sinic. Čím více se koncentrace P v povrchových vodách zvyšuje, tím více roste produkce sinic (Kočí, Burkhard a Maršálek, 2000). Malé množství P, které obsahují půdy, je posilováno průmyslovými hnojivy, především superfosfáty. P však přechází do forem, ve kterých není pro rostliny dostupný. Většina aplikovaného P tak zůstane v místě, kde bylo hnojivo aplikováno. Působením erozních smyčů dochází k odplavování půdních částic, na jejichž povrchu je P sorbován. Pomocí povrchových vod je pak P transportován až do nádrží, jezer a rybníků (Voplakal, 2001). Downing a kol. (2001) uvádí, že pokud se během letního období průměrné koncentrace celkového P (TP) v jezeře pohybují nad  $70 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , je pravděpodobnost dominance sinic nad ostatním fytoplanktonem 80%.

TP ve vodách se dělí na nerozpuštěný ( $P_{\text{nerozp}}$ ) a na rozpuštěný ( $P_{\text{rozp}}$ ). Obě tyto formy P se dále dělí na organicky ( $P_{\text{org}}$ ) a anorganicky ( $P_{\text{anorg}}$ ) vázaný. Anorganicky vázaný  $P_{\text{rozp}}$  se dělí na polyfosforečnanový a pro sinice důležitý a využívaný ortofosforečnanový (Kvítek, 2018). Biologicky dostupný P se definuje jako součet vázaného P na nerozpuštěných látkách a okamžitě dostupného P ( $P_i$ ) (Huisman a Hulot, 2005).

Přestože je  $P_i$  nezbytný pro růst sinic, v období jeho nedostatku si sinice vyvinuly strategie, které jim pomáhají vyrovnat se s (dočasným) nedostatkem  $P_i$ . Sinice, které jsou vystaveny nedostatku P vykazují mnoho fenomenologických změn ve srovnání se sinicemi, které nedostatkem P nestrádaly. Např. barva se z intenzivní modrozelené přeměňuje na nažloutlou a buňky se zmenšují. Existují tři předpoklady na fyziologické úrovni pro přežití nedostatku  $P_i$  (Falkner a kol., 1998), a to: buňky musí mít účinné absorpční systémy i při nízkých a kolísavých koncentracích  $P_i$ ,  $P_i$  musí být ukládán do buněk, aby byla zajištěna jeho dostupnost při nedostatku, a za třetí musí být na vnějších koncentracích  $P_i$  nezávislé buněčné procesy (La Roche a kol., 1999).

V ČR se koncentrace fosforečnanů ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pohybuje v rozmezí  $1\text{-}300 \text{ mg P}\cdot\text{l}^{-1}$ , přičemž pravděpodobnost eutrofizace je připouštěna při koncentraci  $0,03 \text{ mg P}\cdot\text{l}^{-1} P_{\text{rozp}}$  nebo  $0,1 \text{ mg P}\cdot\text{l}^{-1} \text{ PT}$  (Kotula, 2011). Drápalová (2017) uvádí, že voda na koupalištích má přípustnou hodnotu  $0,05 \text{ mg P}\cdot\text{l}^{-1}$  a že k masovému rozvoji vodního květu dochází již

při koncentraci 0,01  $\mu\text{g P}\cdot\text{l}^{-1}$ . Rybník má přirozenou schopnost retence P, která závisí na době zdržení vody a pohybuje se v rozmezí 25 až 65 % P. U menších rybníků se tak jedná o desítky až stovky kg P za rok, ale u větších jsou uváděny až tuny P za rok. Např. v Horusickém rybníce byla v roce 2015 v epilimniu naměřena koncentrace TP 0,25 mg  $\text{P}\cdot\text{l}^{-1}$ , tatáž byla naměřena i v největším rybníku Rožmberk (Baxa a kol., 2017, Duras a Potužák, 2012).

### 2.6.3.3 Uhlík

C je základním stavebním kamenem živé hmoty. Jeho základní cyklus začíná v atmosféře v podobě  $\text{CO}_2$ . Ten je odčerpáván primárními producenty, kteří jej předávají dále ke konzumentům. Ve vodě je v plynné podobě  $\text{CO}_2$  asi 200krát více rozpustný než  $\text{O}_2$ . Při běžném tlaku a teplotě 0 °C voda obsahuje zhruba 1 mg  $\text{CO}_2\cdot\text{l}^{-1}$  (Petrtyl, s.a.).

Rozpuštěný  $\text{CO}_2$  se váže s  $\text{H}_2\text{O}$  a vzniká kyselina uhličitá ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), která ovlivňuje hodnoty pH.  $\text{H}_2\text{CO}_3$  je z části disociována na  $\text{H}^+$  ionty a hydrogenuhličitanové ionty ( $\text{HCO}_3^-$ ), které následně disociují na  $\text{H}^+$  a uhličitanové ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) ionty. To způsobuje zvyšování koncentrace  $\text{H}^+$  iontů v roztoku. Velké část C je přítomná ve vodě ve formě hydrogenuhličitanů ( $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ ), které jsou rozpustné. Ty jsou využívány jako zdroj C sinicemi a řasami. V rámci hydrogenuhličitan-uhličitanového systému jsou tak provázané hodnoty  $\text{CO}_2$ , pH a alkality. Množství  $\text{CO}_2$  je ve vodním prostředí nejvíce ovlivňováno fotosyntézou a respirací organismů (Petrtyl, s.a.).

Během intenzivního rozvoje vodního květu může způsobit fotosyntetická aktivita vyčerpání volného  $\text{CO}_2$  z vody. To má za následek zvyšování pH, což vede k přesouvání sinic na rozhraní vzduch-voda, kde je množství  $\text{CO}_2$  dostupnější. Sinice tak sice získají vhodné podmínky pro fotosyntézu a fixaci  $\text{N}_2$ , ovšem ostatním organismům způsobují zastínění (Paerl a Ustach, 1982). Kann a Smith (1999) zjistili, že vysoké hodnoty pH způsobené rozkladem vodního květu mohou zapříčinit deficit  $\text{O}_2$  a  $\text{NH}_4^+$  a naopak zvýšit koncentrace methanu ( $\text{CH}_4$ ), amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) a sulfanu ( $\text{H}_2\text{S}$ ). V konečném důsledku dochází k poškození žaberního aparátu a nakonec i smrti ryb udušením.

## 2.7 Vývoj rybníků v ČR za posledních 50. let

V České republice se v současné době nachází kolem 24 000 rybníků s odhadovaným objemem 456 mil.  $\text{m}^3$  a o celkové výměře 52 000 ha, ze které slouží k produkčnímu chovu

ryb přibližně 42 000 ha (Urbánek, 2015). Počet vodních nádrží (uměle vytvořený prostor sloužící pro manipulaci s vodou) je mnohem nižší, a to 165 (47 vodárenských a 118 tzv. víceúčelových) se zásobním objemem 3 360 mil. m<sup>3</sup> (Bílý, 2020, Šálek a kol., 1989). Pro snazší vyjádření budu dále v textu označovat rybníky a vodní nádrže jednotně jako nádrže.

Kvalita vody v nádržích je dána především jejich historií, stavem povodí a aktuálním způsobem hospodaření (Máchová a kol., 2010). Na jejím ovlivnění se dále podílejí interakce mezi fyzikálně-chemickými faktory. Zejména se jedná o teplotu, průhlednost, pH, režim O<sub>2</sub>, obsah živin, alkalitu a vodivost. Poslední složkou, která má také vliv na kvalitu vody, je složka biologická včetně ryb tvořících poslední článek potravního řetězce nádrže (Ponce a kol., 1994). Mezi faktory, které se podílejí na ovlivňování kvality vody v nádrži, patří zejména přítok a jeho kvalita, dále způsoby výlovů a napouštění vody, kvalita sedimentů a manipulace s vodní hladinou (Duras a Potužák, 2012). Mikšíková a kol. (2012) uvádí, že na dobu zdržení vody v nádrži mají vliv klimatické faktory a reliéf krajiny. Tyto faktory rovněž ovlivňují zdržení živin v nádrži.

V minulých století byla produkce ryb limitována množstvím živin, jelikož chov ryb byl založen pouze na přirozeném produkčním potenciálu nádrží. To mělo za následek postupné vyčerpání zásob živin (Pechar, 2015). Podle Grosse a kol. (2017) je produktivita nádrže závislá na dostupnosti P, ale zároveň je důležitý i poměr mezi jednotlivými živinami.

Ve 20. století se začaly k chovu ryb využívat moderní způsoby, tj. intenzifikace rybní produkce. Ta se datuje od 30. let, kdy se začaly nádrže přihnojovat a vápnit. V posledních padesáti letech se zvýšila produkce ryb a příkrmování pomocí umělé potravy (rybní pelety). To má za následek změny struktury a dynamiky celého ekosystému v nádrži. Vznikl tak trend směřující ke zvyšování rybních obsádek a i trofické úrovně (Pechar, 1995). Na zhoršení kvality vody v nádrži se podílí také zemědělská činnost, která, jak již bylo zmíněno výše, v roce 1960 zahájila tzv. zelenou revoluci. Ta spočívá kromě používání průmyslových hnojiv na zemědělsky obhospodařovaných pozemcích také v odvodňování zamokřených pozemků a rozšíření zavlažování (Novotný, 2011).

Dlouhodobý vývoj hlavních ukazatelů pro hodnocení trofie v našich rybnících ukazuje tabulka 4. Pechar (1995) uvádí, že se množství N<sub>celk</sub> od 50. do 90. let 20. století zvýšilo přibližně 2,5krát. Změna koncentrace P<sub>celk</sub> během druhé periody (1973-1984) je



způsobená poklesem minerálních hnojiv, které se nejvíce používaly v 60. a 70. letech 20. stol. Během třetí periody (1990-1993) byla hnojiva minerální nahrazena organickými, což mělo za následek opětovné zvýšení koncentrace  $P_{\text{celk}}$ . Pokles průhlednosti a zvýšení koncentrace chlorofylu *a* dobře znázorňuje vysoký stupeň trofie (Pechar, 1995).

*Tabulka 4: Dlouhodobé změny celkového N ( $N_{\text{celk}}$ ),  $P_{\text{celk}}$ , průhlednosti a chlorofylu *a*. První perioda představuje 9 rybníků v okolí Blatné, Druhá perioda prezentuje 12 rybníků v okolí Blatné a Třeboňska a třetí perioda představuje 40 rybníků na Třeboňsku (Pechar, 1995, upraveno).*

perioda	$N_{\text{celk}}$ (mg·l <sup>-1</sup> )	$P_{\text{celk}}$ (mg·l <sup>-1</sup> )	$N_{\text{celk}}:P_{\text{celk}}$	Průhlednost (m)	Chlorofyl <i>a</i> (μg·l <sup>-1</sup> )
1954-1958	1,00	0,20	5,0	1,70	35
1973-1984	1,48	0,12	12,3	1,04	64
1990-1993	2,51	0,25	10,0	0,50	102

### 2.7.1 Trofie

Kvalita vody v nádrži je určována jeho úživností, neboli trofií (Duras a kol. 2015). Dle OECD (1992) jsou stojaté vody rozděleny podle koncentrace  $P_{\text{celk}}$  a chlorofylu *a* do základních čtyř tříd. Jednotlivé třídy s hodnotami jsou popsány v tabulce 5. V současné době je většina nádrží na našem území řazena mezi eutrofní až hypertrofní (Máchová a kol., 2010).

*Tabulka 5: Klasifikace stojatých vod podle úživnosti (mg·l<sup>-1</sup>) (OECD, 1992, upraveno).*

Úživnost	$P_{\text{celk}}$	Chlorofyl <i>a</i>	
		průměr	maximum
Oligotrofie	<0,010	<2,5	<8
Mezotrofie	0,010-0-035	2,5-8	8-25
Eutrofie	0,035-0,100	8-25	25-75
Hypertrofie	>0,100	>25	>75

K vysoké úživnosti nádrží může docházet zvýšeným přísunem P. Ten se do nádrží dostává buď přítokem nebo přímým zaústěním odpadních vod z obydlených oblastí. Dále ke zvýšení trofie v nádrži pomáhají erozní smyvy ze zemědělsky užívané krajiny při srážko-odtokových situacích (Krása a kol., 2013). Kvalita vody v nádrži je proto velmi nestála a její proměnlivost závisí jak na aktuálním přísunu živin, tak na jejich uvolňování

ze sedimentu díky bioturbaci ryb a v období anoxie u dna. Fotosyntéza spojená s růstem řas a sinic spojená s jejich sedimentací pak způsobuje další zadržování živin v rybnících a jejich ukládání do sedimentu (Duras a kol., 2015). Kopp a kol. (2012) uvádí, že v nádrži je dosahováno nejvyšší kvality vody v jarních měsících, oproti tomu v létě bývá kvalita vody nejhorší.

### 2.7.1.1 Eutrofizace

Pojem eutrofizace znamená soubor přírodně a antropogenně vyvolaných procesů, které vedou ke zvyšování obsahu anorganických živin tekoucích a stojatých vod. Jedná se o přírodní děj, jenž je v důsledku ještě lidskou činností posílen. Přírodní eutrofizaci způsobuje uvolňování N a P z půdy, sedimentů, odumřelých vodních organismů a z činnosti půdních organismů. Oproti tomu je antropogenní eutrofizace způsobena intenzivní zemědělskou činností, používáním polyfosforečnanů v čistících a pracích prostředcích, některými druhy průmyslových odpadních vod a v poslední řadě i zvýšenou produkcí komunálních odpadních vod (Smith a kol., 1999).

Důsledkem eutrofizace je všeobecně známý pravidelný masový rozvoj vodního květu sinic nebo vegetační zákal zelených řas. Může ovšem docházet i k dominantnímu postavení rozsivek a vyšší vodní vegetace, dále k častým výskytům deficitu O<sub>2</sub>, kolísání pH a nadbytkům produktů vznikajících rozkladem organické hmoty (především CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>S) (Pechar, 1995, Marvan a Maršálek, 2004). Vodní květ obvykle nastává během letních měsíců, kdy je dostatek slunečního záření a tepla. Nadměrný nárůst fytoplanktonu způsobuje vyšším rostlinám problémy, které mohou vést k jejich úhynu (Marvan a Maršálek, 2004).

Další důsledek eutrofizace může být snížená samočistící schopnost toků a jezer. Sinice se společně s řasami shromažďují u hladiny a vytvářejí bariéru pro sluneční záření, které tak nepronikne k organismům žijícím ve větší hloubce a napomáhají k čištění vody. Dále může vysoká koncentrace fytoplanktonu způsobovat úbytek citlivějších organismů, což následně vede k přemnožení odolnějších organismů a mnohdy nevratným změnám v ekosystémech, např. odolná makrofyta pak rychlým a nelimitovaným růstem způsobují zarůstání toků nebo snižují retenční kapacitu nádrží (Kocí, Burkhard a Maršálek, 2000).

Jak již bylo zmíněno výše, vodní květ sinic narušuje O<sub>2</sub> režim. Sinice se pomocí svých aerotopů drží u hladiny (Vidal a kol., 2021), kde dochází během dne vlivem fotosyntézy k přesycení O<sub>2</sub> a narůstání pH. Oproti tomu v nočních hodinách nebo při zamračených

dnech dochází ke spotřebě  $O_2$ . Tak mohou především těsně před svítáním nastávat anoxické podmínky v nádrži, jež mohou vést až k úhynu organismů. Na podzim mohou anoxické podmínky a zároveň zvyšování pH vznikat během dne, jelikož dochází k rozkladu vodního květu sinic (Kopp a Sukop, 2012, Valentová a kol., 2009). Během tohoto rozkladu se uvolňují do vody cyanotoxiny ovlivňující vodárenské a rekreační využití nádrže (Maršálek, 2000.). Více o cyanotoxinech a jejich účincích je popsáno v kapitole výše.

V našich nádržích se vyskytují po většinu vegetačního období především zástupci planktonních sinic: *Aphanizomenon* sp., *Anabaena* sp., *Microcystis* sp. a *Planktothrix* sp. (Kopp a Sukop, 2012). Ve více živinami znečištěných vodách se vyskytuje spíše populace *Planktothrix* sp. než *Anabaena* sp. či *Aphanizomenon* sp. U *Microcystis* sp. je uváděna obecně široká ekologická valence (Marvan a Maršálek, 2004). Tyto zástupci sinic mohou za určitých situací sloužit jako potrava pro filtrující zooplankton, prvoky nebo ryby (*Tolstobik bílý-Hypophthalmichthys molitrix*) (Sevrin-Reyssac a Pletikosic, 1990).

Jak již bylo zmíněno výše, v našich nádržích je přítomný především během letního období silný rozvoj vodního květu sinic, který má velmi negativní dopady jak pro člověka tak pro ekosystém nádrže. Proto je studium sinic žádoucí. Sinice pro svůj růst spotřebovávají živiny (N, P, C), z nich se obecně za limitující považuje P. Nicméně se ukázalo, že kromě P může být v některých případech limitujícím prvkem N. Hargreaves (1998) zjistil, že v rybnících mírného pásma se pohybuje příjem N od 150 do 450 mg N  $m^{-2}d^{-1}$ , za předpokladu, že příjem živin fytoplanktonem je přibližně úměrný Redfieldovu poměru. Na rozdíl tomu se může denitrifikace v eutrofních rybnících pohybovat v rozmezí od 150 do 700 mg N  $m^{-2}d^{-1}$ . Při této rychlosti by se mohl veškerý N uvolnit během 3 až 21 dnů s ohledem na množství dostupného celkového C potřebného pro růst (Olah, Pekar a Szabo, 1994). Tato práce se zaměřuje na lepší pochopení závislosti růstové rychlosti sinic na různých koncentracích N.

## 3 Materiál a metodika

### 3.1 Výběr zástupců sinic

Pro pozorování odlišnosti v růstu v různých koncentracích N a také pro porovnání růstových strategií byly vybrány dva řády ze dvou skupin sinic s odlišným způsobem fixace N. Z první, méně prozkoumané skupiny, byl vybrán řád *Nostocales*, jehož zástupci jsou schopní fixace N<sub>2</sub>. Z tohoto řádu byly vybrány 3 zástupci: *Anabaena lemmermannii* (*A. lemmermannii*), *Anabaena compacta* (*A. compacta*) a *Anabaena reniformis* (*A. reniformis*). Z druhé skupiny sinic byl zvolen řád *Synechococcales*, který zahrnuje sinice neobsahující specializované buňky. Z něj byly vybrány 2 zástupci: *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*) a *Cyanobium gracile* A1 (*Cyanobium*) pocházející z rybníka Dehtář. Snímky jednotlivých zvolených zástupců pořízené mikroskopem jsou v přílohách 1 až 5. Všichni zvolení zástupci byli již před zahájením experimentu kultivováni v kultivačních lahvích o objemu 250 ml v médiu BG11 za normálního denního světelného režimu a při teplotě 21 °C.

### 3.2 Příprava média

Jako základ pro namíchání všech kultivačních médií bylo používáno upravené médium BG11 (zásobní roztok-ZR). Médium bylo upraveno a namícháno tak, aby kultivace probíhala při co nejnižších koncentracích N pro pozorování jednotlivých odlišností a závislostí sinic právě na jeho množství. V tabulce 6 jsou rozepsány jednotlivé složky s použitým množstvím. Oproti standardnímu receptu nebyl dávkován dusičnan sodný (NaNO<sub>3</sub>) a namísto citrátu železito-amonného bylo dávkováno 0,02 g síranu železitého. Aby bylo pH udrženo na hodnotě 7, bylo do ZR přidáno 7 ml HEPES (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S). Kontrola pH byla provedena indikátorovými pH papírky. Všechny složky média byly kvůli následnému ředění nadávkovány 2x. V tabulce 7 je přehled látek s potřebným množstvím pro namíchání roztoku s obsahem stopových kovů.

*Tabulka 6: Recept pro namíchání média BG11 s 2x vyššími hodnotami bez dusičnanu sodného. Citrát železito-amonný nahrazen síranem železitým. Zaokrouhloeno na 3 desetinná místa (Schneegurt, 1997; upraveno).*

Chemická látka	Použité množství na 1 litr média
NaNO <sub>3</sub>	0 g

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,080 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,150 g
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,054 g
Kyselina citrónová	0,012 g
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0,020 g
EDTA (disodná sůl)	0,002 g
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,040 g
Roztok stopových prvků	2 ml
Destilovaná voda	doplněna do 1000 ml

Tabulka 7: Recept pro namíchání roztoku s obsahem stopových prvků. Zaokrouhleno na 2 desetinná místa (Schneegurt, 1997).

Chemická látka	Použité množství na 1 litr média
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 g
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1,81 g
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,22 g
NaMoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,39 g
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,08 g
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,05 g
Destilovaná voda	doplněna do 1000 ml

Dále bylo v 0,5 l destilované vody rozmícháno NaNO<sub>3</sub> v dávce 13,36 mg, aby koncentrace N v 1 l byla 4,40 mg. Tak vznikl zásobní roztok s obsahem N (ZRN). Odlišným dávkováním destilované vody a namíchaných médií ZR a ZRN podle tabulky 8, bylo získáno pro experiment 5 kultivačních médií s rozdílnou koncentrací N v mg · l<sup>-1</sup>. Médium o nejnižší koncentraci bylo označeno jako M1 a obsahovalo 0,1 mg N · l<sup>-1</sup>. Druhé médium označené jako M2 obsahovalo 0,3 mg N · l<sup>-1</sup>. Třetí médium bylo označeno jako M3 a obsahovalo 0,6 mg N · l<sup>-1</sup>. Čtvrté médium označené jako M4 obsahovalo 0,9 mg N · l<sup>-1</sup>. Poslední páté médium bylo označeno jako M5 a obsahovalo

1,2 mg N · l<sup>-1</sup>. Všechna namíchaná média byla poté vložena do autoklávu OT 40L (Nüve, Turecko).

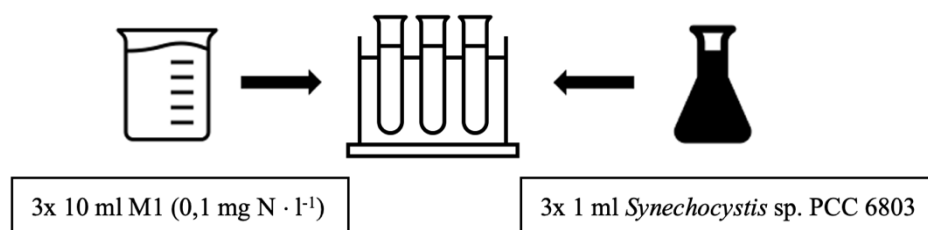
Tabulka 8: Postup pro namíchání pěti médií s různou koncentrací N v mg v 1 l.

ml	médium M1	médium M2	médium M3	médium M4	médium M5
ZRN	0	18	45	73	100
ZR	100	100	100	100	100
Destilovaná voda	100	82	55	27	0

### 3.3 Jednotlivé fáze experimentu

#### 3.3.1 První fáze experimentu

Během první fáze byl experiment ověřen kultivací kmene *Synechocystis*. Pro jeho kultivaci bylo potřeba vytvořit celkem 15 kultivačních zkumavek po pěti sadách, přičemž každá sada byla tvořena 3 zkumavkami s obsahem 10 ml příslušného kultivačního média (M1 až M5) a 1 ml kultury, viz obrázek 2. Pipetování média i kultury probíhalo ve flox boxu Bio II Advance Plus (Telstar, Japonsko). Následně byly zkumavky umístěny do inkubační komory SI-300 se třepačkou (Lab Companion, Korea), kde byla nastavena teplota na 25 °C a délka světla na 14 hod. (od 7 do 21 hodin).



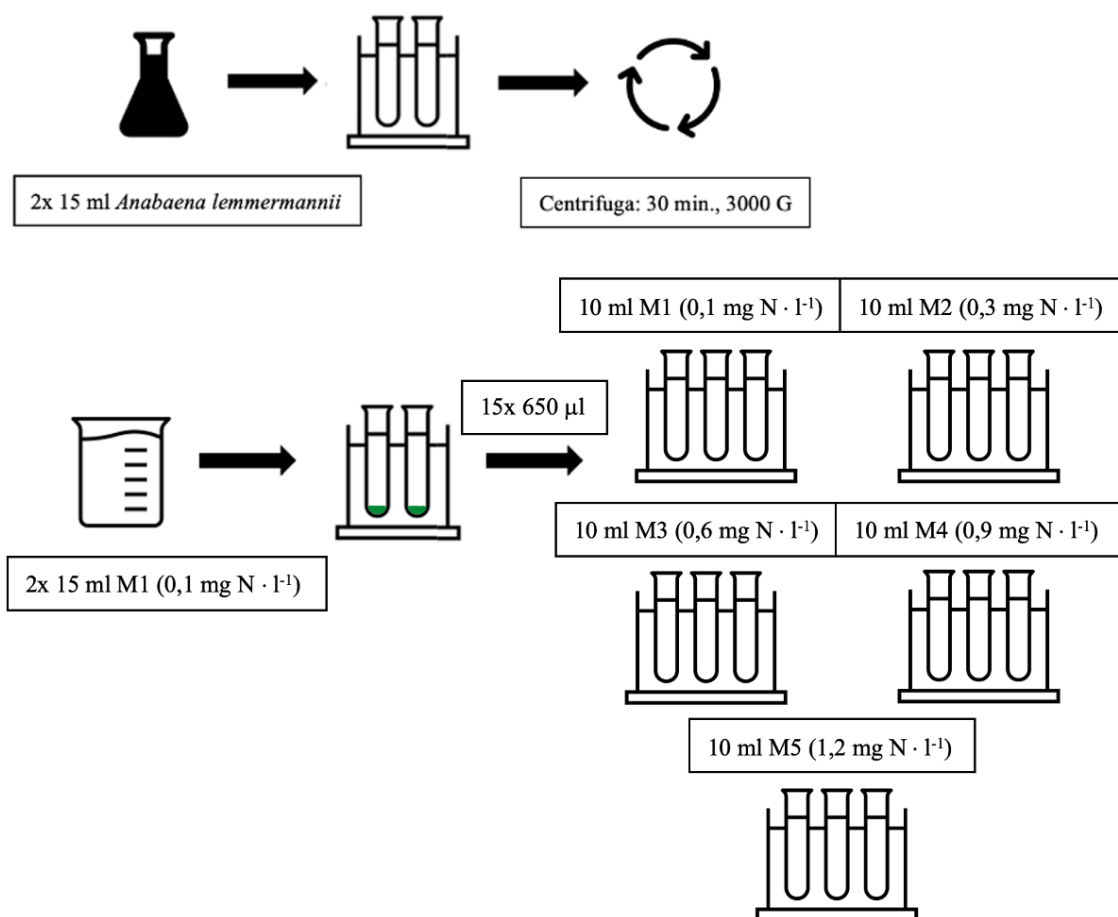
Obrázek 2: Obrázek se zjednodušeným schématem pro vytvoření 3 kultivačních zkumavek pro kmen *Synechocystis*.

#### 3.3.2 Druhá fáze experimentu

Podle výsledků růstové křivky kmene *Synechocystis* z první fáze experimentu byla zjištěna chyba při přípravě média. Koncentrace N byla ve všech namíchaných kultivačních médiích (M1 až M5) cca 22krát vyšší oproti předpokládanému stavu. Následkem toho byla připravena kultivační média nová (M1 až M5) a kmen *Synechocystis* byl znovu rozkultivován podle postupu z prvního experimentu. Dále byl podle postupu z prvního experimentu rozkultivován také kmen *Cyanobium*.

### 3.3.3 Třetí fáze experimentu

Po dvou týdnech byly rozkultivovány kmeny *A. lemmermannii* a *A. compacta*. V tomto případě spočívala příprava kultivace kmene *A. lemmermannii* v naplnění 2 zkumavek po patnácti ml kultury. Tyto zkumavky byly následně vloženy do centrifugy Megafuge 16R Centrifuge (Thermo Scientific™, USA) na 30 minut s přetížením 3000G za účelem následného odběru reprezentativního vzorku. Centrifugace způsobila, že kultura ve zkumavkách byla soustředěna na dně a původní médium bylo snadno odebráno. Ve flow boxu bylo poté do zkumavek přidáno 15 ml média M1 ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Z těchto zkumavek bylo následně odebíráno vždy po  $650 \mu\text{l}$  vzorku do patnácti kultivačních zkumavek, z nichž každá obsahovala 10 ml předem napipetovaného příslušného média, viz obrázek 3. Stejný postup byl zopakován s kmenem *A. compacta*. Poté byly zkumavky umístěny do inkubační komory se třepačkou, kde byla nastavena teplota na  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a délka světla na 14 hod.



Obrázek 3: Obrázek se zjednodušeným schématem pro vytvoření 20 kultivačních zkumavek pro kmen *A. lemmermannii*.

Vzhledem k pomalému růstu *A. lemmermannii* a *A. compacta* po několika týdnech a s přihlédnutím k obecně známému poznatku, že při vyšší koncentraci kultury dochází k jejímu rychlejšímu nárůstu, bylo do kultivačních zkumavek přidáno 1300  $\mu$ l kultury získané stejným způsobem, jaký byl aplikován při namíchání vzorků.

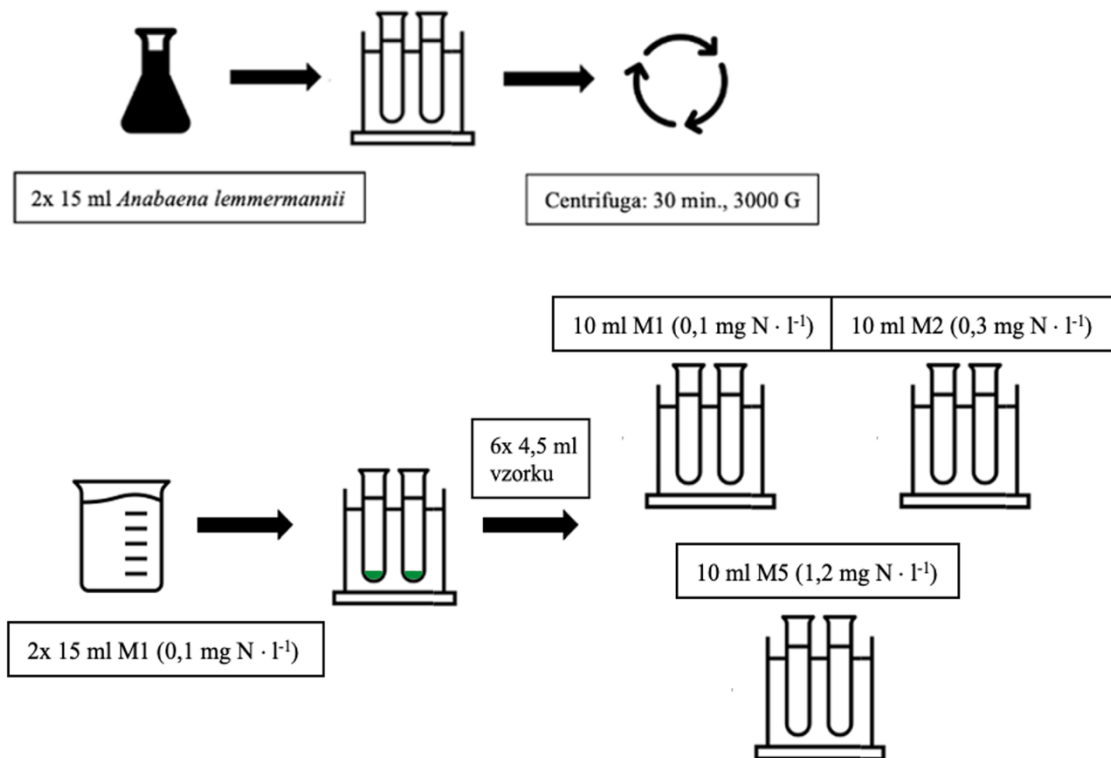
### 3.3.4 Čtvrtá fáze experimentu

Pro kultivaci všech vybraných sinic pro druhou zvolenou teplotu, tj. 22 °C, byly pracovní postupy obdobné jako v předchozích případech, avšak s rozdílem, že místo 1 ml kultury bylo do kultivačních patnácti zkumavek všech kmenů pipetováno 500  $\mu$ l dané kultury. Po dokončení pipetování byly zkumavky umístěny do inkubační komory Inkubationshaube TH 15 (Edmund Bühler, Německo) se třepačkou s teplotou 22 °C a délkou světla 14 hod.

### 3.3.5 Pátá fáze experimentu

Pro sledování růstu při vyšších hustotách kultury byly vybrány kmeny: *A. lemmermannii*, *A. compacta* a *A. reniformis*. Dále byly zvoleny, z důvodu malého množství vzorků jednotlivých kmenů, jen 3 kultivační média, a to: M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>), M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>) a M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Proto bylo vytvořeno jen šest kultivačních zkumavek pro každý vybraný kmen. Pracovní postup byl podobný s třetí fází experimentu. Do dvou zkumavek bylo odebráno 15 ml *A. lemmermannii*, zkumavky byly poté vloženy do centrifugy. Následně bylo ve flow boxu odebráno původní médium a zkumavky byly doplněny na 15 ml médiem M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>). Ze zkumavek bylo následně odebráno 4,5 ml vzorku do šesti kultivačních zkumavek, ve kterých již bylo 10 ml předem napipetovaného příslušného kultivačního média (M1, M2 a M5), viz obrázek 4. Kultivační zkumavky byly následně umístěny do inkubační komory se třepačkou s 25 °C a délkou světla 14 hod.





Obrázek 4: Obrázek se zjednodušeným schématem pro vytvoření 6 kultivačních zkumavek pro kmen *A. lemmermannii*.

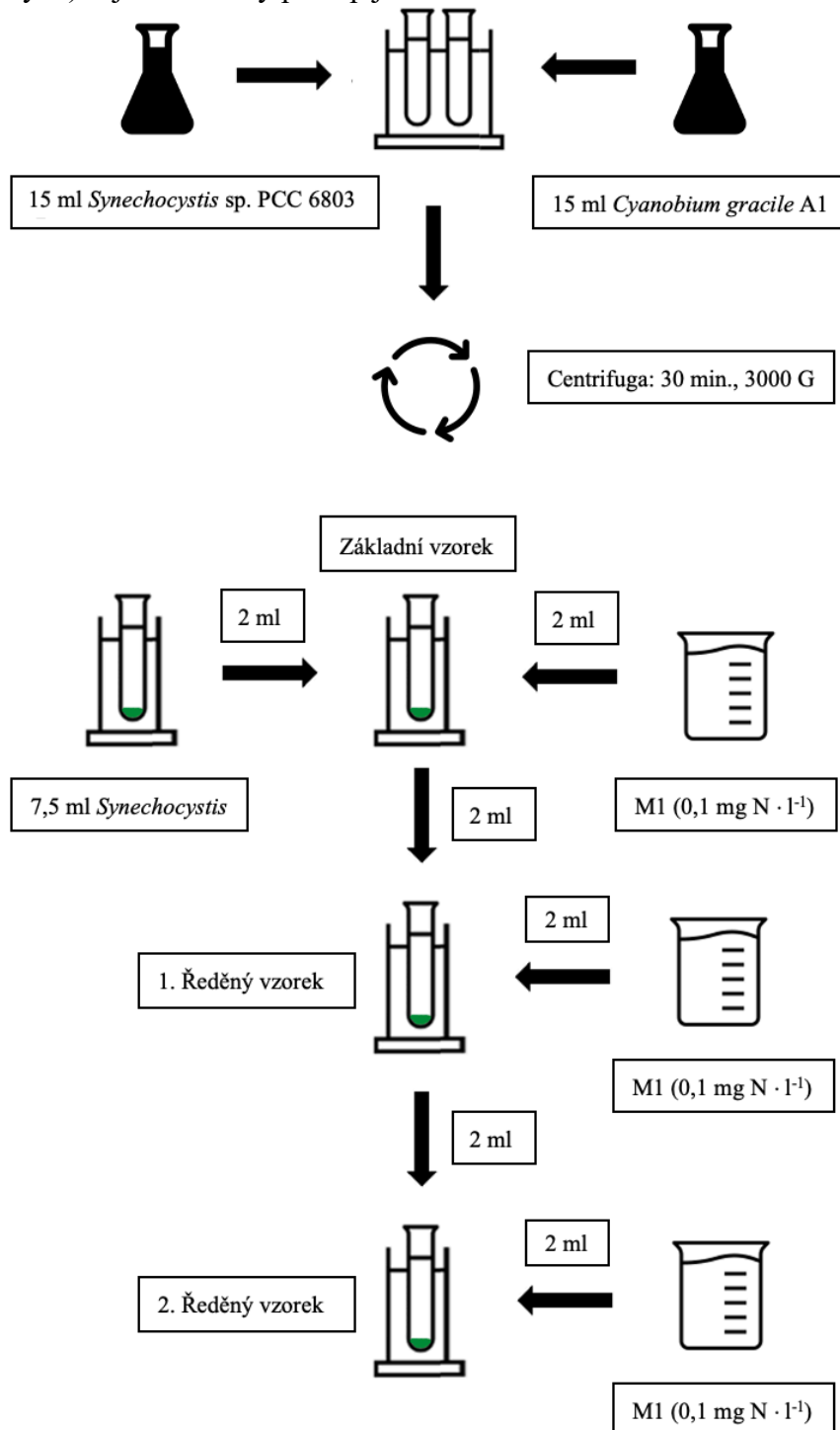
### 3.3.6 Šestá fáze experimentu

Pro porovnání společného růstu mezi dvěma zvolenými řády, *Nostocales* a *Synechococcales*, byly využity již neměřené vzorky kmene *Synechocystis* z druhé fáze experimentu. K nim byly přidány jednotlivá kultivační média (M1 až M5) na 10 ml a ze dvou zkumavek byl přidán kmen *A. lemmermannii*. Zkumavky s kmenem *A. lemmermannii* byly získány stejným způsobem jako v případě třetí fáze experimentu, tedy pomocí centrifugy. Po centrifuzi bylo ze zkumavek slito původní médium a bylo přidáno 11 ml média M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>). Následně bylo ze zkumavek pipetováno do kultivačních zkumavek s kmenem *Synechocystis* 650 µl získaného vzorku s *A. lemmermannii*. Kultivační zkumavky byly vloženy do inkubační komory se třepačkou s 25 °C a 14 hod. světlem.

### 3.4 Vytvoření kalibračních křivek

Pro vytvoření kalibrační křivky pro kmene *Synechocystis* a *Cyanobium* bylo nejprve odebráno do zkumavky 15 ml vzorku kmene *Synechocystis* a totéž bylo provedeno s kmenem *Cyanobium*. Obě zkumavky byly umístěny do centrifugy, která byla spuštěna na 30 minut s přetížením 3000G. Následně bylo ve flow boxu z každé zkumavky

odebráno 7,5 ml původního média. Tak vznikl základní vzorek. Z tohoto vzorku byly odebrány 2 ml, které byly napipetovány do zkumavky s 2 ml média M1 ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Tak byl namíchán 1. ředěný vzorek. Následně byly z prvního ředěného vzorku odměřeny 2 ml a pipetovány do druhé zkumavky s 2 ml média M1. Tak vznikl 2. ředěný vzorek. Z této zkumavky byly odebrány 2 ml pipetované do třetí zkumavky s 2 ml média M1. Tak vznikl 3. ředěný vzorek. Tímto způsobem vzniklo celkem 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných). Zjednodušený postup je zobrazen obrázkem 5.



Obrázek 5: Obrázek se zjednodušeným schématem ředění kmene *A. lemmermannii*.

Stejné ředění bylo provedeno i s ostatními vybranými kmeny: u *Cyanobium* bylo získáno 7 zkumavek (1 neředěná a 6 ředěných), u *A. lemmermannii* bylo získáno 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných), u *A. compacta* bylo získáno 7 zkumavek (1 neředěná a 6 ředěných) a u poslední *A. reniformis* bylo získáno 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných).

Následně bylo ze zkumavek odebráno množství 150  $\mu\text{l}$ , které bylo pipetováno do kultivační destičky pro měření optické hustoty (OD) při 550 nm, viz přílohy 6 až 10. Dále byla měřena velikost buněk a počítán jejich objem. Postupy jednotlivých kroků jsou popsány níže.

### 3.5 Měření optické hustoty

Do kultivační destičky s 96 jamkami bylo pipetováno během prvního experimentu 200  $\mu\text{l}$  řádně protřepaného vzorku. V následujících experimentech bylo množství upraveno na 150  $\mu\text{l}$ . Po napipetování byla kultivační destička se vzorky vložena do spektrofotometru PlateReader AF2200 (Eppendorf, Německo) s nastaveným OD při 550 nm. OD popisuje pohlcení světla měřenou suspenzí. Během experimentů došlo k poruše spektrofotometru a po dobu jeho opravy muselo být měření po dobu tří týdnů prováděno na jiném pracovišti se spektrofotometrem Synergy H1 (BioTek, USA). Výsledky měření byly zpracovány v programu Microsoft Excel.

### 3.6 Počítání buněk

Pro počítání buněk byl využíván mikroskop Olympus CKX41 (Olympus, Japonsko) při zvětšení 20x, 10  $\mu\text{l}$  vzorku z každé zkumavky vytvořené pro kalibrační křivku a Bürkerova komůrka (skleněná destička s počítací sítí s hloubkou 0,1 mm a různě velkými čtverci). Buňky byly počítány v 10 malých čtvercích o ploše 0,04  $\text{mm}^2$ . Pro stanovení koncentrace buněk v 1  $\text{mm}^3$  média byl používán výpočet (Roušar, 2012):

$$b = \frac{n}{c \times v \times h} \times z$$

kde značí:  $b$  – počet buněk v 1  $\text{mm}^3$

$n$  – celkový počet napočítaných buněk

$c$  – počet počítaných čtverců (10)

$v$  – plochu použitého čtverce (0,04 mm<sup>2</sup>)

$h$  – hloubku komůrky (0,1 mm)

$z$  – použité ředění

Pro počítání buněk u kmenů *Synechocystis* a *Cyanobium* bylo nutné první tři namíchané zkumavky (neředěný vzorek, 1. a 2. ředěný vzorek) z důvodu husté biomasy naředit. Ředění bylo provedeno tím způsobem, že ze zkumavky s kulturou bylo odebráno 20 µl vzorku do mikrozkušavky, do které bylo následně přidáno 100 µl média BG 11. Takto vznikl 5x ředěný vzorek, z něhož bylo odebráno 10 µl na Bürkerovu komůrku.

### 3.7 Měření velikosti buněk

Měření velikosti buněk bylo prováděno pod mikroskopem Olympus BX53 (Olympus, Japonsko) při zvětšení 100x, na sklíčku s 10 µl vzorku z každé zkumavky pro kalibrační křivku. Pro samotné měření velikosti buněk byl používán program CellSens, viz příloha 11. Z výsledků byl následně počítán objem jednotlivých buněk ve všech zkumavkách pomocí vzorce pro objem koule:

$$V = \frac{1}{6} \times \pi \times d^3$$

kde  $d$  označuje průměr koule.

### 3.8 Měření světla

Měření světla bylo provedeno v obou inkubačních komorách pomocí malého přístroje Spectrapen mini (PSI, Česká republika), který měří spektrální kvalitu, intenzitu světla a barvu. Získaná data byla dále zpracována v programu Spectrapen.

### 3.9 Použití softwaru

K vyhodnocení výsledků a k tvorbě grafů byly využívány 3 softwary: Microsoft Excel, TIBCO Statistica a Spectrapen. Microsoft Excel je tabulkový procesor společnosti Microsoft určený pro výpočty a zpracování velkého množství dat. Je součástí kancelářského balíku Microsoft Office. V této práci byl využit za účelem průběžného zaznamenávání a hodnocení dat z jednotlivých měření.

TIBCO Statistica je pokročilý analytický softwarový balíček, který poskytuje postupy pro analýzu a správu dat, statistické nástroje, tvorbu grafů aj. V rámci této práce byl využit pro grafické vyhodnocení růstu jednotlivých kmenů sinic za sledovaných podmínek.

Software Spectrapen byl vyvinut firmou PSI (Photon Systems Instruments) pro vizualizaci dat z přístrojů používaných pro měření světla. K tomuto účelu byl použit v této práci.

## 4 Výsledky

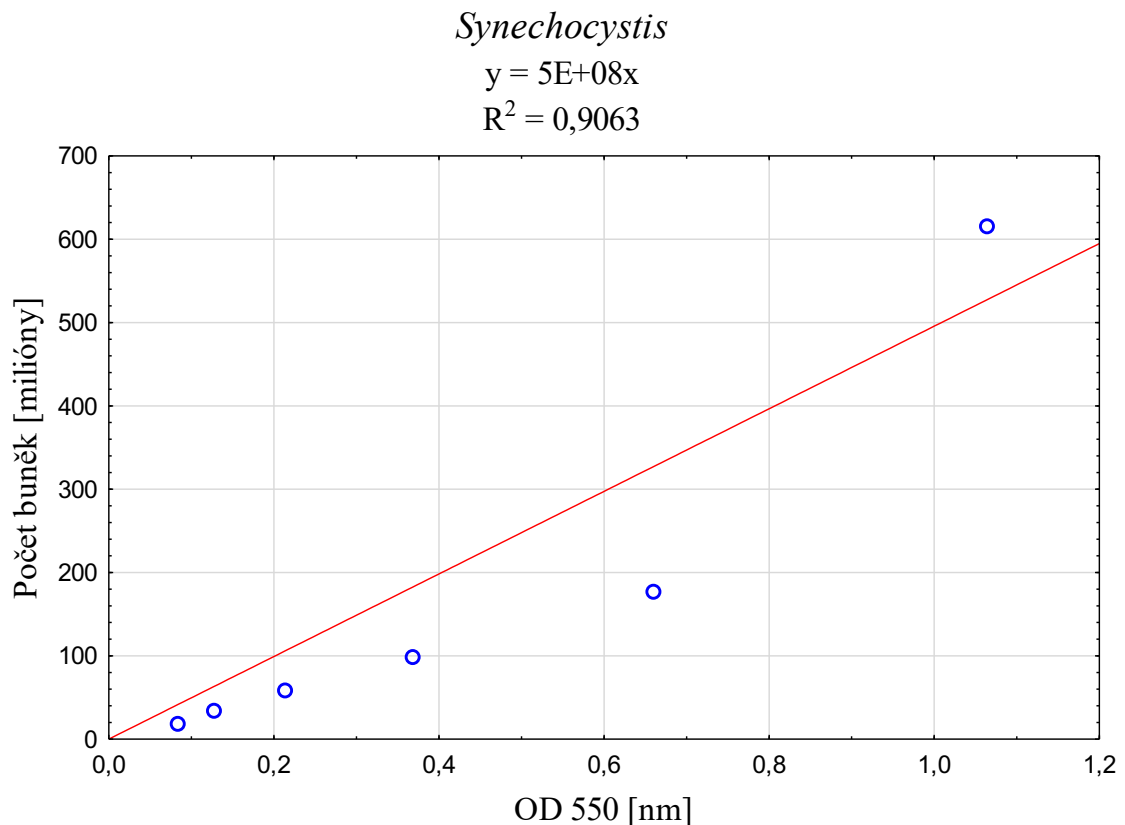
### 4.1 Kmen *Synechocystis*

#### 4.1.1 Kalibrační křivka

Pro kalibrační křivku kmene *Synechocystis* bylo připraveno celkem 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných). Nejprve bylo ze zkumavek do kultivační destičky odebráno dané množství pro změření OD při 550 nm. Následně byly odebrány ze zkumavek vzorky pro spočítání množství buněk, vypočítání jejich objemu a také pro změření jejich velikosti.

##### 4.1.1.1 Počet buněk

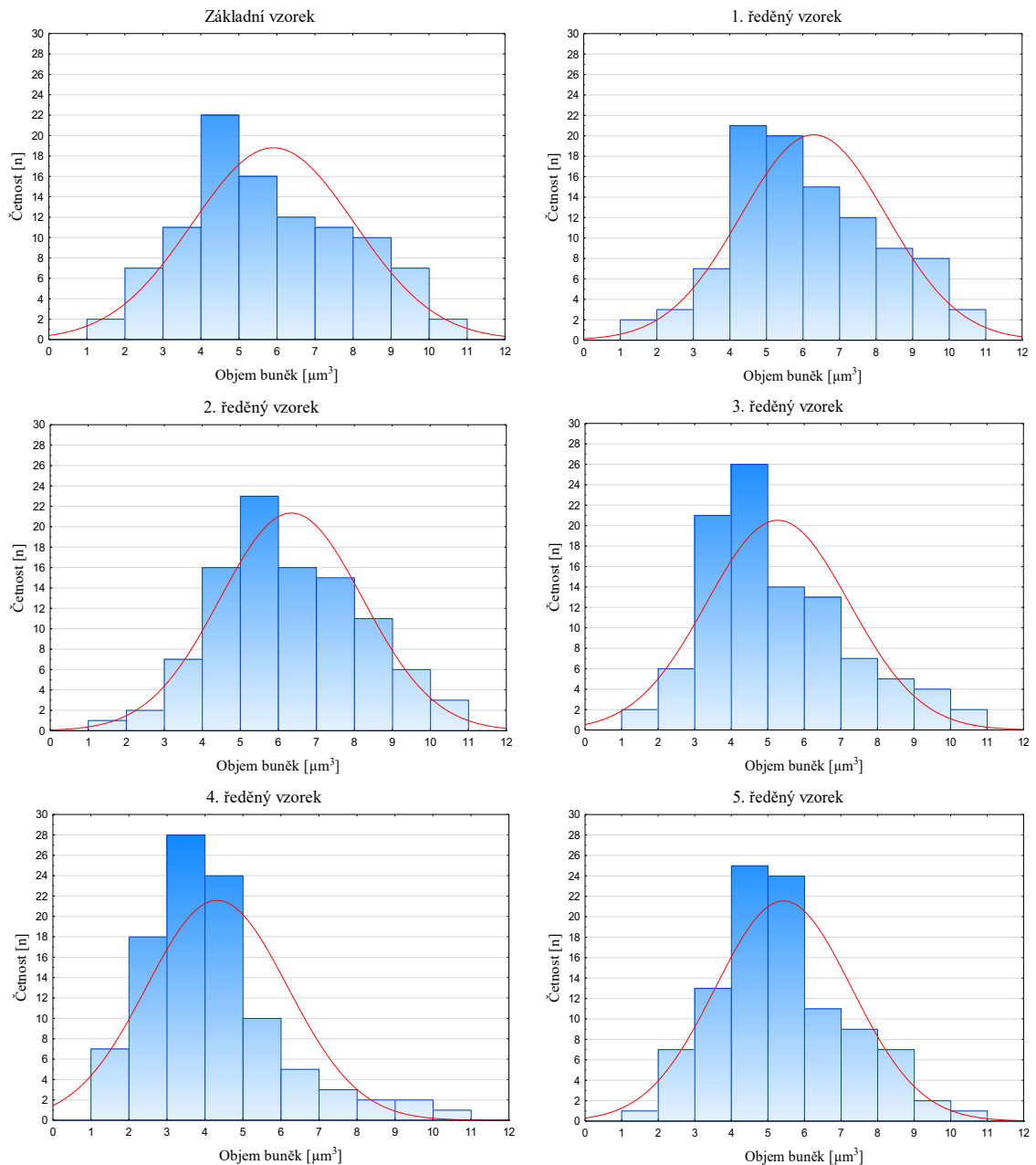
V grafu 4 jsou na ose x zobrazené vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům 6 zkumavek od nejvíce ředěné (5. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) s jejich zjištěným množstvím buněk na ose y. Například největší množství buněk, přes 600 milionů v 1 ml, bylo zjištěno v základním vzorku, kterému odpovídá nejvyšší hodnota OD.



Graf 4: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s počtem buněk [milióny] v 1 ml kmene *Synechocystis*.

#### 4.1.1.2 Průměrný objem buňky

Na obrázku 6 jsou znázorněny grafy s objemy buněk vypočítaných ve vzorcích, které byly odebrány ze šesti namíchaných zkumavek. Pro každý graf bylo použito 100 hodnot. Z grafů je patrné, že nejčastější hodnota objemu jedné buňky je mezi třemi až šesti  $\mu\text{m}^3$ . Dále je zřejmé, že hodnoty objemů byly naměřeny v rozmezí od jedné do jedenácti  $\mu\text{m}^3$ .



Obrázek 6: Jednotlivé histogramy ukazují hodnoty vypočítaných objemů buněk kmene *Synechocystis* v jednotlivých namíchaných zkumavkách.

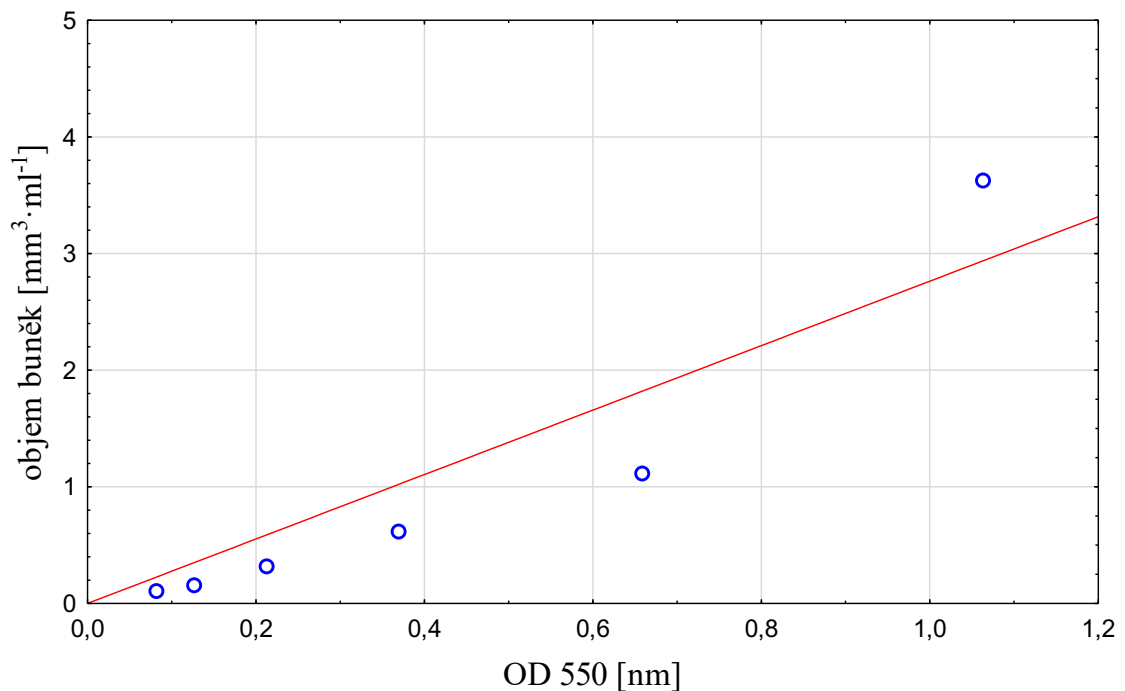
### 4.1.1.3 Buněčný objem v 1 ml

V grafu 5 jsou na ose x zobrazeny, stejně jako u grafu 4, vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům šesti zkumavek od nejvíce ředěné (5. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) s vypočítaným buněčným objemem na ose y. Například největší buněčný objem, přes 3,5 mm<sup>3</sup> v 1 ml, bylo zjištěno v základním vzorku, kterému odpovídá nejvyšší hodnota OD.

*Synechocystis*

$$y = 2,7631x$$

$$R^2 = 0,8586$$



Graf 5: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s objemem buněk [mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>] kmene *Synechocystis*.

### 4.1.2 Růstové křivky

Růst kmene *Synechocystis* v různých koncentracích N byl zjišťován při dvou teplotách, a to při 25 (vyšší) a 22 °C (nižší) v inkubačních komorách se třepačkou a nastaveným 14 hod. světlem (od 7 do 21 hod.).

### 4.1.3 Růstová křivka z první fáze experimentu

V grafu 6 znázorňují jednotlivé body hodnoty růstu, tj. zvyšující se objem buněk na ose y za čas. Koncentrace N byla ve všech namíchaných kultivačních médiích (M1 až M5) cca 22krát vyšší oproti předpokládanému stavu. Bylo to způsobeno vinou



nesprávného namíchaní. Je očividné, že mezi jednotlivými médii M1 (2,2 mg N · l<sup>-1</sup>) až M5 (26,4 mg N · l<sup>-1</sup>) není patrný velký rozdíl. Z grafu je dále patrný exponenciální růst podobný tvaru růstové křivky.

### *Synechocystis*

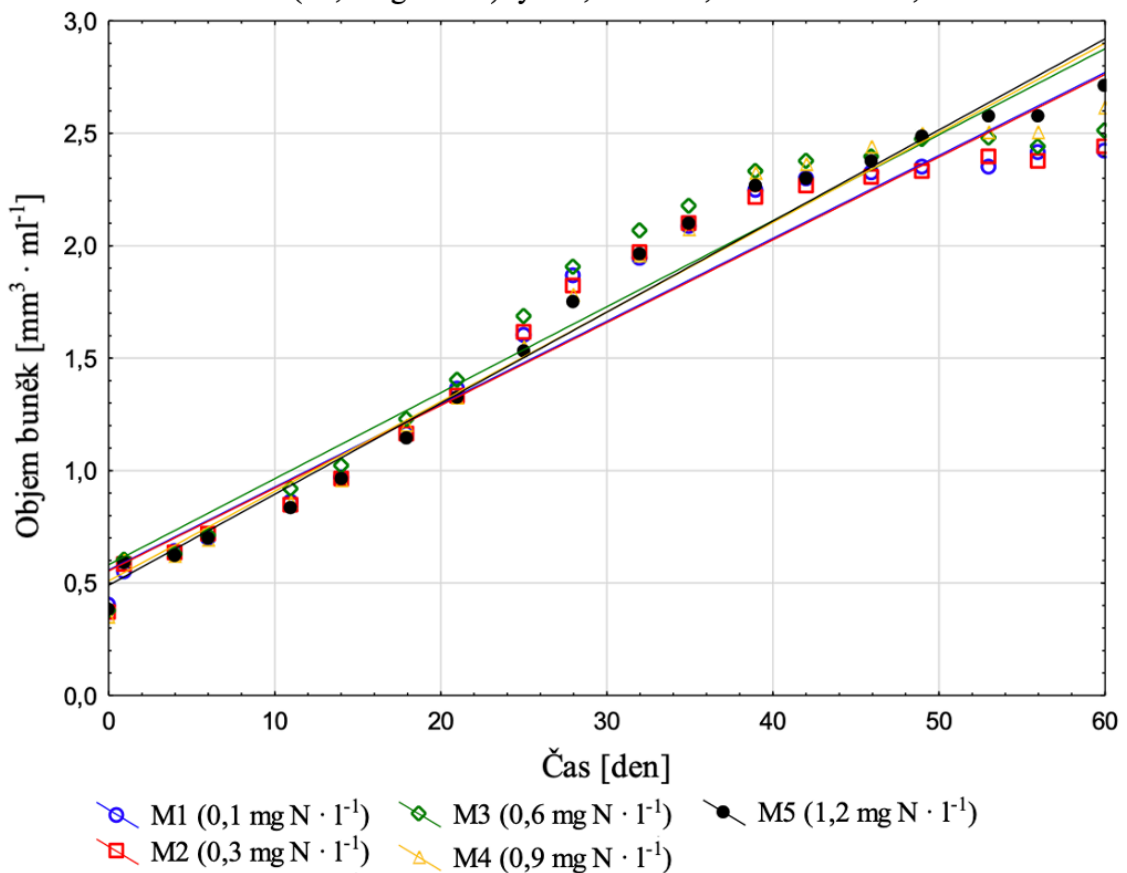
$$\text{M1 (2,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,5574 + 0,0369x \quad R^2 = 0,9440$$

$$\text{M2 (6,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,5541 + 0,0368x \quad R^2 = 0,9464$$

$$\text{M3 (13,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,5812 + 0,0382x \quad R^2 = 0,9397$$

$$\text{M4 (19,8 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,5090 + 0,0399x \quad R^2 = 0,9641$$

$$\text{M5 (26,4 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,4896 + 0,0405x \quad R^2 = 0,9774$$



Graf 6: Růst kmene *Synechocystis* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích, která byla nesprávně namíchaná.

#### 4.1.3.1 Vyšší teplota

V grafu 7 je zaznamenán růst kmene *Synechocystis* při teplotě 25 °C se 14 hod. světlem v inkubační komoře. Z grafu je zřejmé, že růst nebyl lineární, jako u vyšší teploty, ale spíše kopíroval tvar růstové křivky. Jeho nejvyšší hodnoty bylo dosaženo v médiu M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>). Oproti tomu pomalejší růst byl naměřen v médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>).

### *Synechocystis*

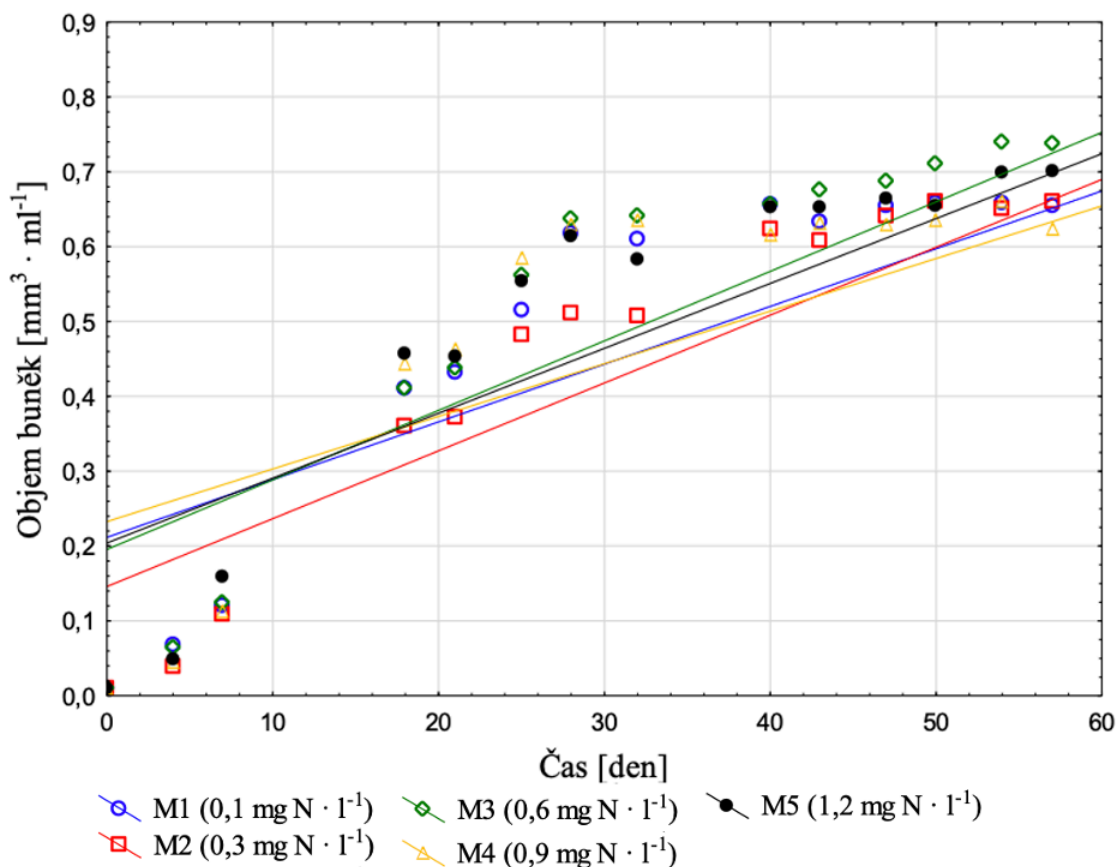
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,2116 + 0,0077x \quad R^2 = 0,7286$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1460 + 0,0368x \quad R^2 = 0,8736$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1956 + 0,0093x \quad R^2 = 0,8166$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,2327 + 0,0070x \quad R^2 = 0,6369$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,2041 + 0,0087x \quad R^2 = 0,8024$$



Graf 7: Růst kmene *Synechocystis* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích.

#### 4.1.3.2 Nižší teplota

V grafu 8 je zaznamenán růst kmene *Synechocystis* při teplotě 22 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Z grafu je rozeznatelný odlišný trend v růstu u jednotlivých koncentrací N. Při nejnižší koncentraci N (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zjištěn nejmenší růst a s postupně se zvyšujícími koncentracemi byl pozorován narůstající trend růstu.

## *Synechocystis*

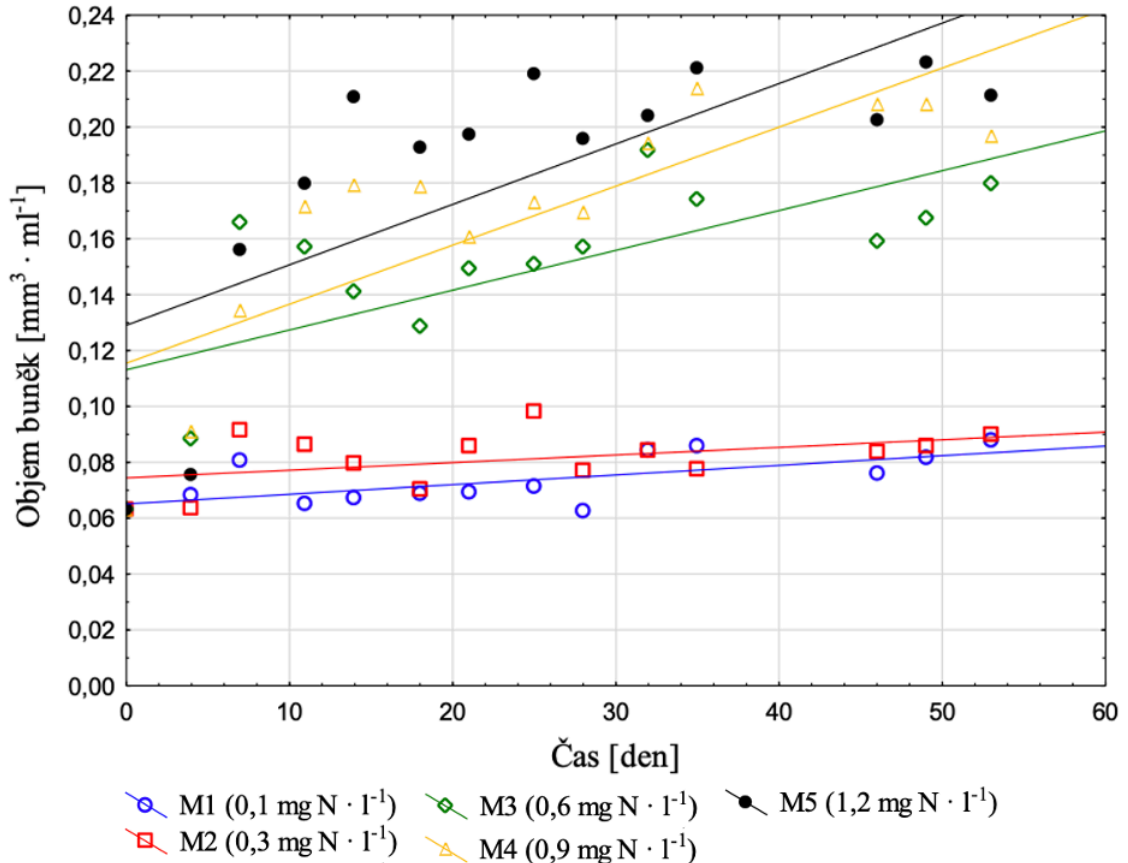
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0651 + 0,0003x \quad R^2 = 0,80,50$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0744 + 0,0003x \quad R^2 = 0,7864$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1131 + 0,0014x \quad R^2 = 0,5035$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1155 + 0,0021x \quad R^2 = 0,6689$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1291 + 0,0022x \quad R^2 = 0,5179$$



Graf 8: Růst kmene *Synechocystis* při 22 °C v různých koncentracích N v médiích.

## 4.2 Kmen *Cyanobium*

### 4.2.1 Kalibrační křivka

Kalibrační křivka pro kmen *Cyanobium* byla tvořena celkem 7 namíchanými zkumavkami (1 neředěná a 6 ředěných). V první řadě bylo ze zkumavek odebráno dané množství do kultivační destičky pro změření OD při 550 nm. Dále bylo ze zkumavek odebráno množství pro změření velikosti, vypočítání objemu a spočítání množství buněk.

#### 4.2.1.1 Počet buněk

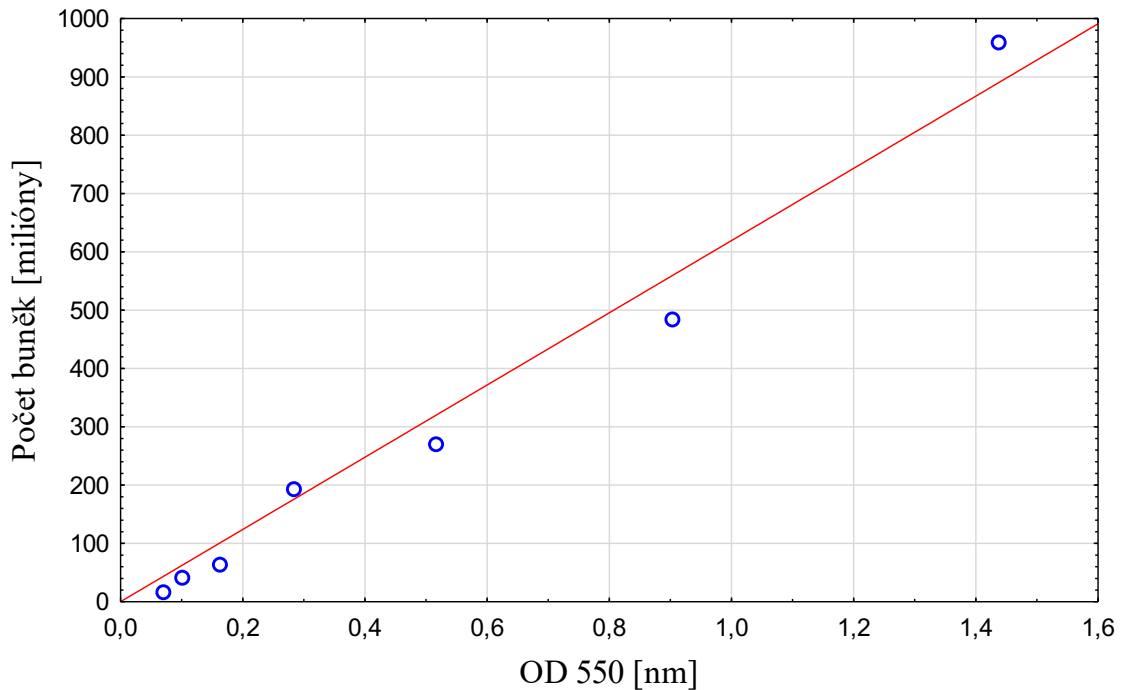
Graf 9 má na ose x zobrazeny vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům 7 zkumavek od nejvíce ředěné (7. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku

(základní vzorek) s jejich zjištěným množstvím buněk na ose y, např. největší množství buněk, přes 940 miliónů v 1 ml, bylo zjištěno v základním vzorku, kterému odpovídá nejvyšší hodnota OD.

*Cyanobium*

$$y = 6E+08x$$

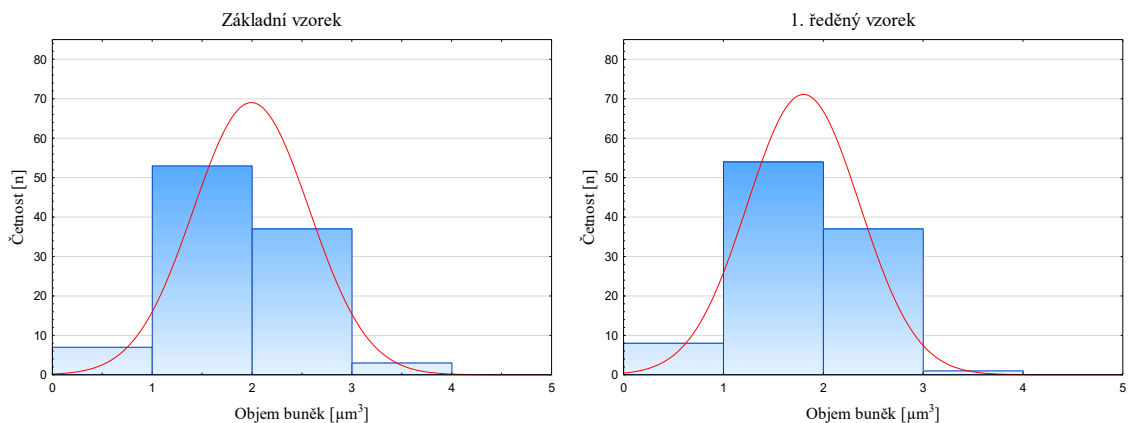
$$R^2 = 0,9872$$

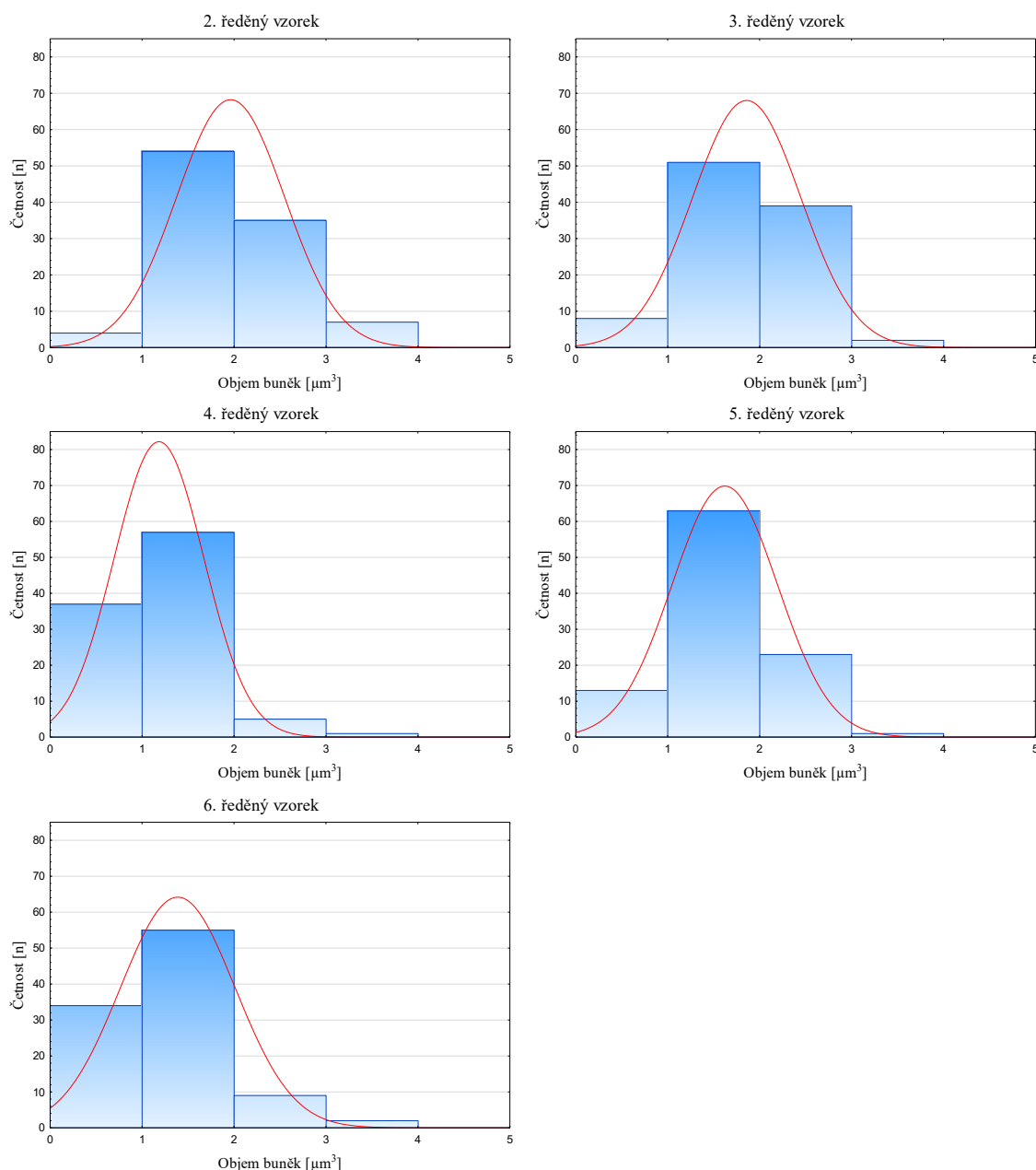


Graf 9: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s počtem buněk [milióny] v 1 ml kmene *Cyanobium*.

#### 4.2.1.2 Průměrný objem buňky

Obrázek 7 představuje 7 histogramů s objemy buněk odebraných vzorků ze 7 namíchaných zkumavek. Pro každý graf bylo použito 100 hodnot. Z grafů je patrné, že nejčastější hodnoty objemu jedné buňky jsou mezi jednou až dvěma  $\mu\text{m}^3$ . Dále je zřejmé, že hodnoty objemů byly naměřeny v rozmezí od nuly do čtyř  $\mu\text{m}^3$ .





Obrázek 7: Jednotlivé histogramy ukazují hodnoty vypočítaných objemů buněk kmene *Cyanobium* v jednotlivých namíchaných zkumavkách.

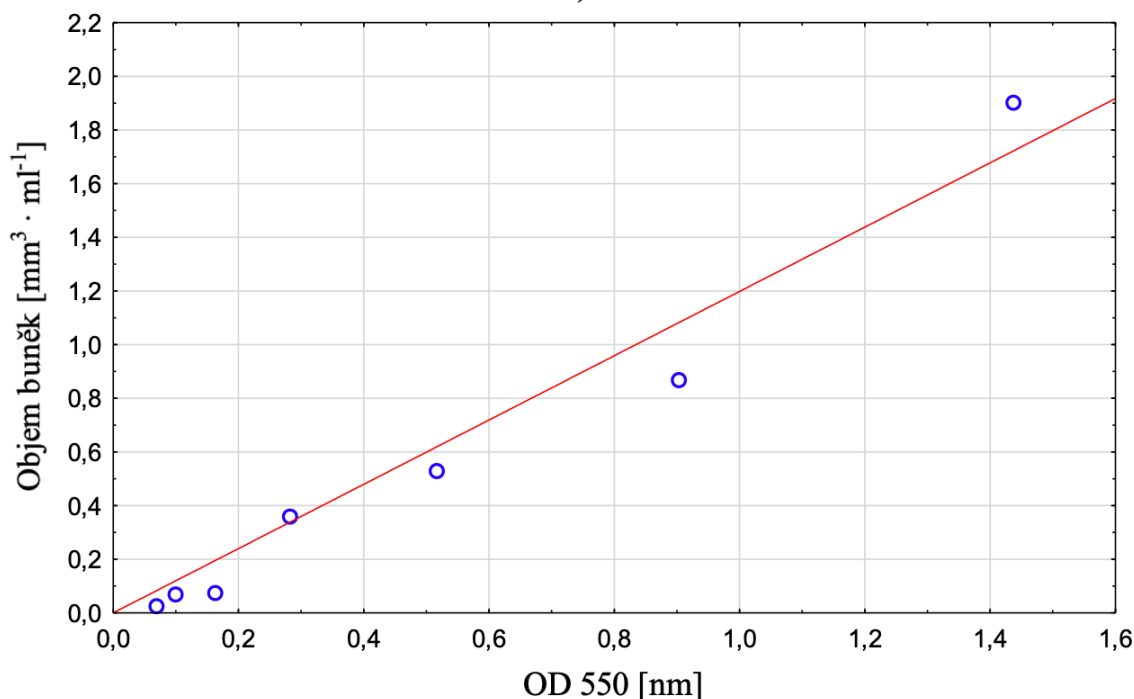
#### 4.2.1.3 Buněčný objem v 1 ml

Graf 10 má na ose x zobrazeny změřené vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům sedmi zkumavek od nejvíce ředěné (7. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) s vypočítaným objemem buněk na ose y. Například nejnižší objem buněk, pod  $0,1 \text{ mm}^3$  v 1 ml, byl zjištěn v nejvíce ředěných vzorcích, a to v 7., 6., a 5. ředěném vzorku, kterým odpovídají nejnižších hodnoty OD.

## *Cyanobium*

$$y = 1,1917x$$

$$R^2 = 0,9769$$



Graf 10: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s objemem buněk [mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>] kmene *Cyanobium*.

### 4.2.2 Růstové křivky

U kmene *Cyanobium* byl růst pozorován v různých koncentracích N při dvou teplotách, a to při 25 (vyšší) a 22 °C (nižší) v inkubačních komorách se třepačkou a nastaveným 14 hod. světlem (od 7 do 21 hod.).

#### 4.2.2.1 Vyšší teplota

Graf 11 zobrazuje růstovou křivku kmene *Cyanobium* při teplotě 25 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Z grafu je patrné, že růst dosáhl k hodnotám objemu buněk 0,5 mm<sup>3</sup> · l<sup>-1</sup>. V médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>) byl pozorován rychlejší růst oproti ostatním médiím, která dosáhla velmi podobných výsledků. Dále je očividné, že počátek růstu vykazuje exponenciální hodnoty, které postupně stagnují až klesají.

## *Cyanobium*

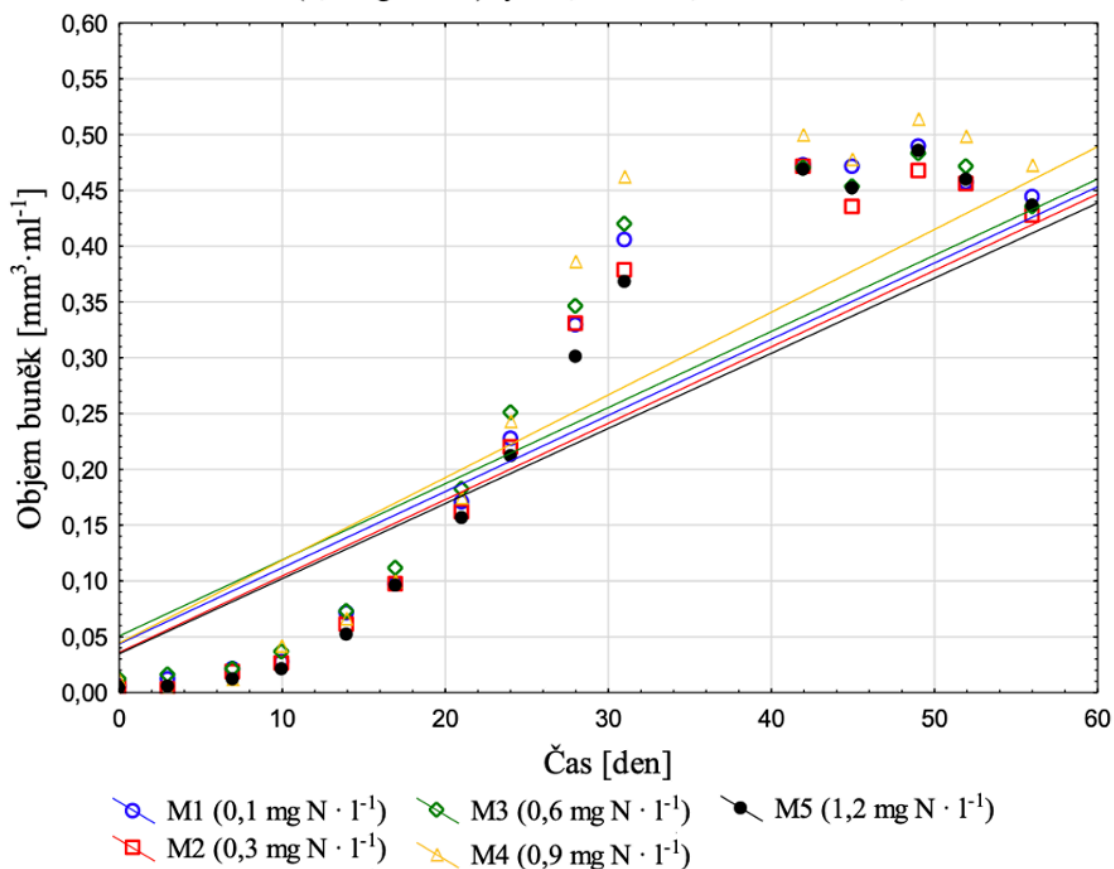
M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0436 + 0,0068x$   $R^2 = 0,8288$

M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0359 + 0,0068x$   $R^2 = 0,8437$

M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0506 + 0,0068x$   $R^2 = 0,8312$

M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0443 + 0,0074x$   $R^2 = 0,8308$

M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0347 + 0,0067x$   $R^2 = 0,8211$



Graf 11: Růst kmene *Cyanobium* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích.

### 4.2.2.2 Nižší teplota

Graf 12 znázorňuje růst kmene *Cyanobium* při teplotě 22 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu o nejvyšší koncentraci, M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Naopak nejnižší trend byl viditelný v médiu M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>).

## Cyanobium

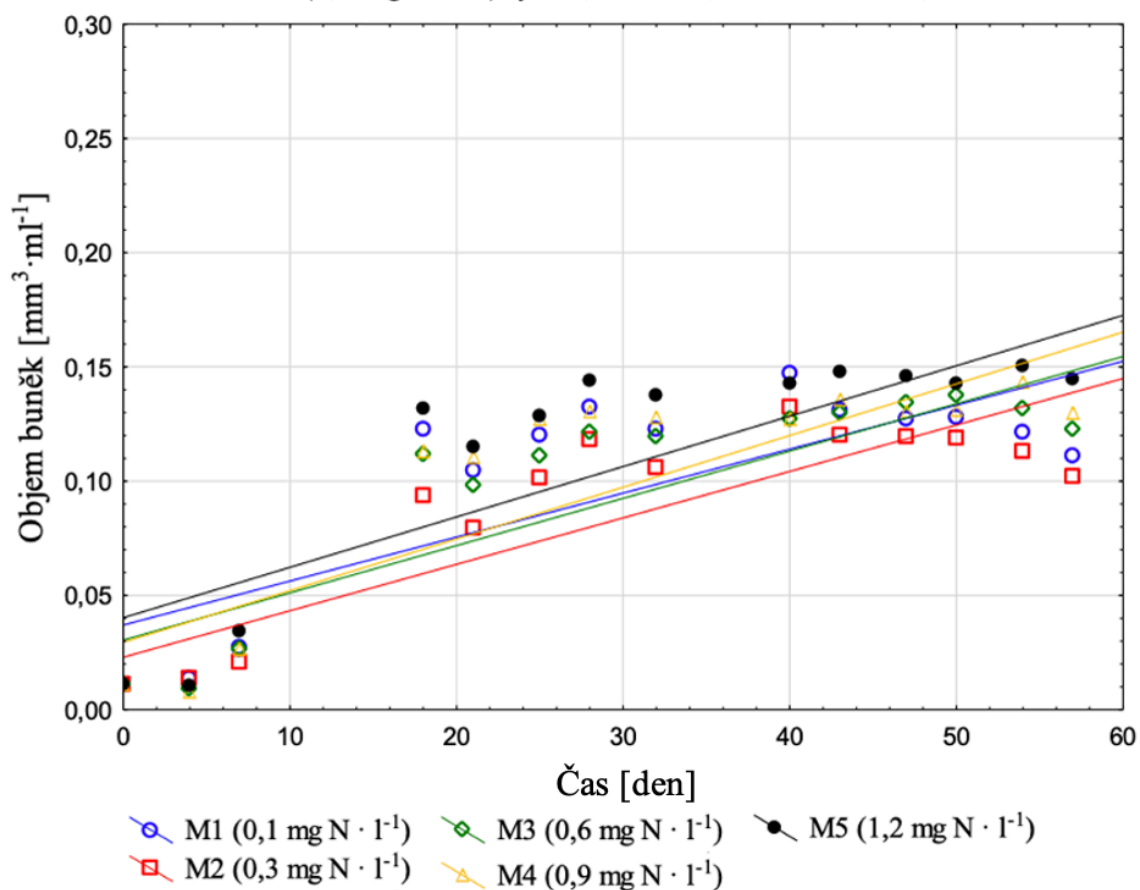
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0383 + 0,0019x \quad R^2 = 0,3687$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0195 + 0,0021x \quad R^2 = 0,4229$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0304 + 0,0021x \quad R^2 = 0,4369$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0278 + 0,0023x \quad R^2 = 0,4386$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0391 + 0,0022x \quad R^2 = 0,5107$$



Graf 12: Růst kmene *Cyanobium* při 22 °C v různých koncentracích N v médiích.

### 4.3 Kmen *A. lemmermannii*

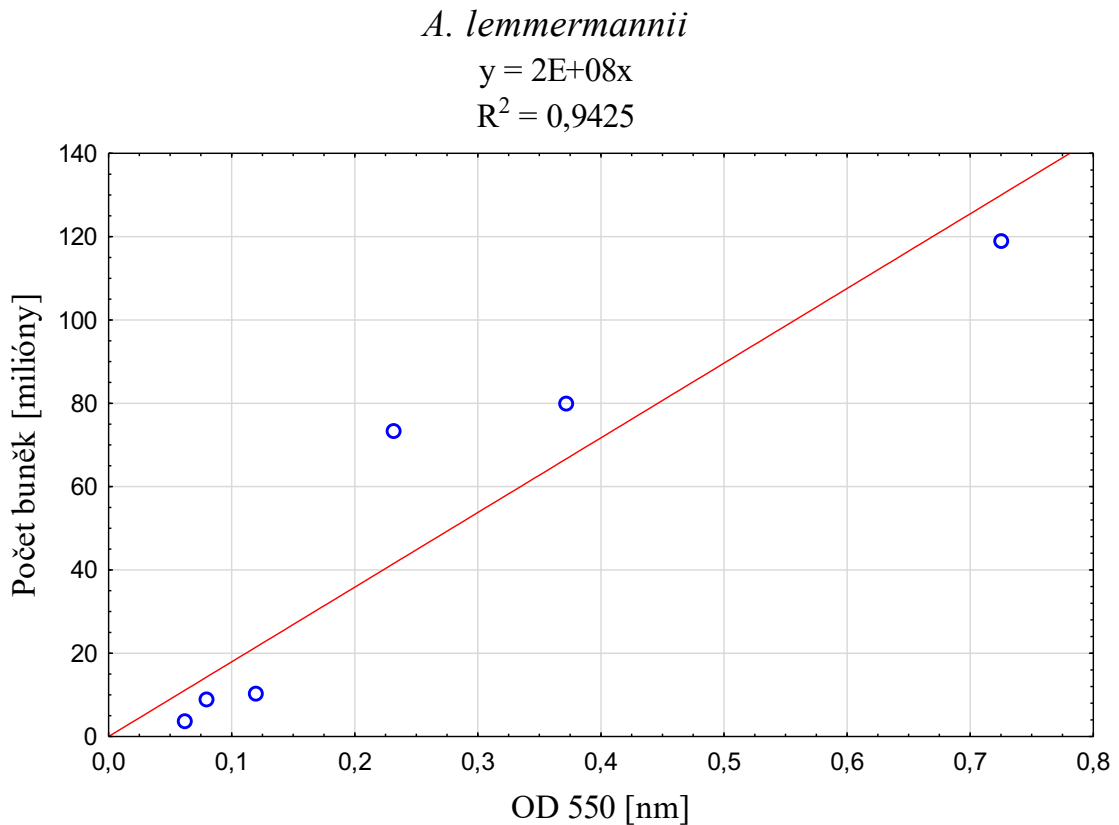
#### 4.3.1 Kalibrační křivka

Pro kalibrační křivku kmene *A. lemmermannii* bylo připraveno celkem 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných), ze kterých byly odebrány v první řadě vzorky pro změření OD při 550 nm a dále vzorky pro spočítání množství, změření velikosti a vypočtení objemu buněk.



#### 4.3.1.1 Počet buněk

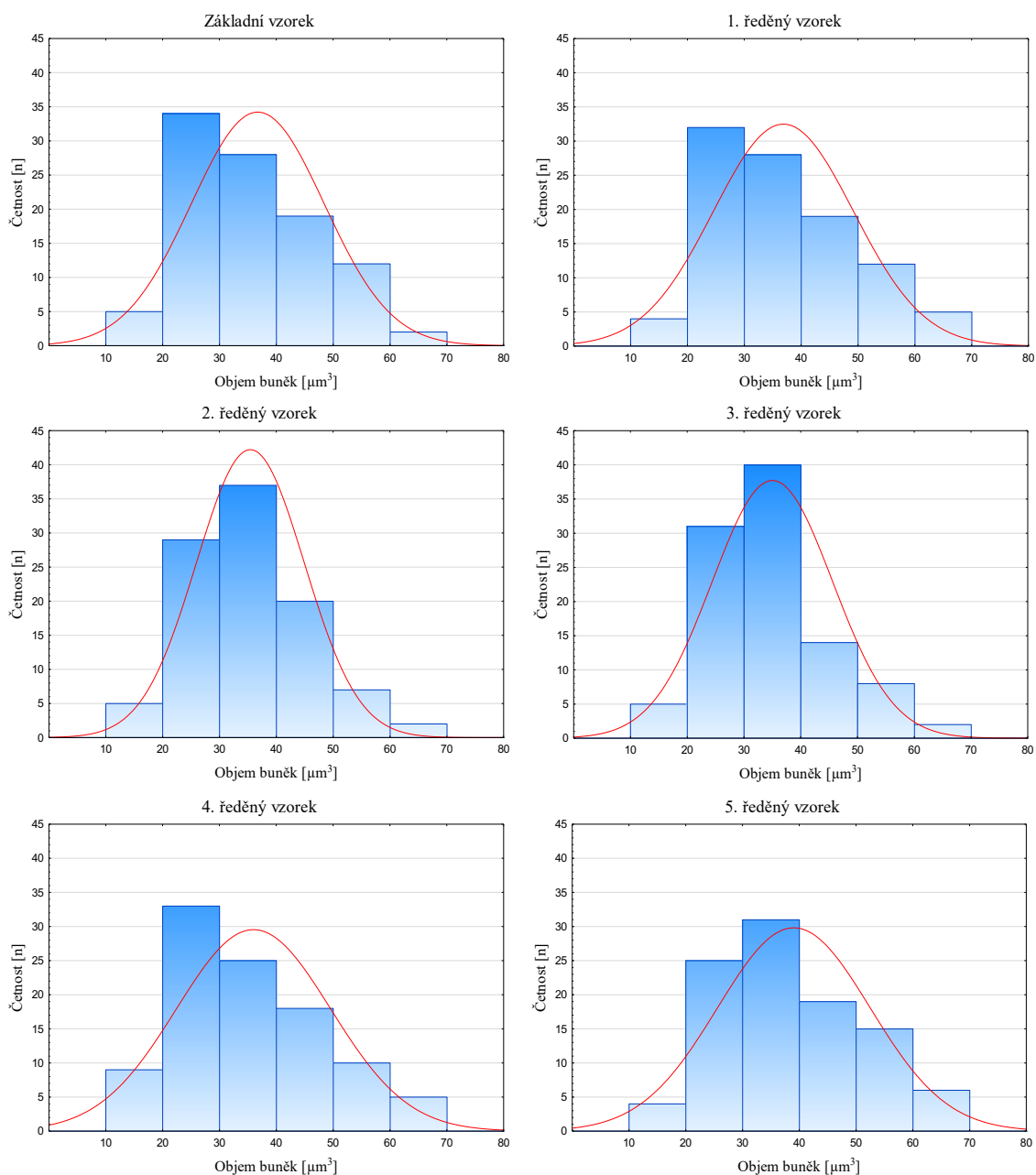
V grafu 13 je zobrazeno na ose y množství buněk zjištěných v 6 namíchaných zkumavkách od nejvíce ředěné (6. ředěný vzorek – vlevo) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek – vpravo) se změřenými hodnotami OD na ose x. Například v základním vzorku s nejvyšším naměřeným OD bylo zjištěno skoro 120 miliónů buněk v 1 ml vzorku.



Graf 13: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s počtem buněk [milióny] v 1 ml kmene *A. lemmermannii*.

#### 4.3.1.2 Průměrný objem buňky

Na obrázku 8 je 6 grafů s vypočítanými objemy buněk v šesti namíchaných zkumavkách. Pro každý graf bylo použito 100 hodnot. Z grafů je zřejmé, že nejčastější hodnoty objemu jedné buňky jsou mezi dvaceti až čtyřiceti  $\mu\text{m}^3$ . Dále je patrné, že hodnoty objemů byly naměřeny v rozmezí od desíti do sedmdesáti  $\mu\text{m}^3$ .



Obrázek 8: Jednotlivé histogramy ukazují hodnoty vypočítaných objemů buněk kmene *A. lemmermannii* v jednotlivých namíchaných zkumavkách.

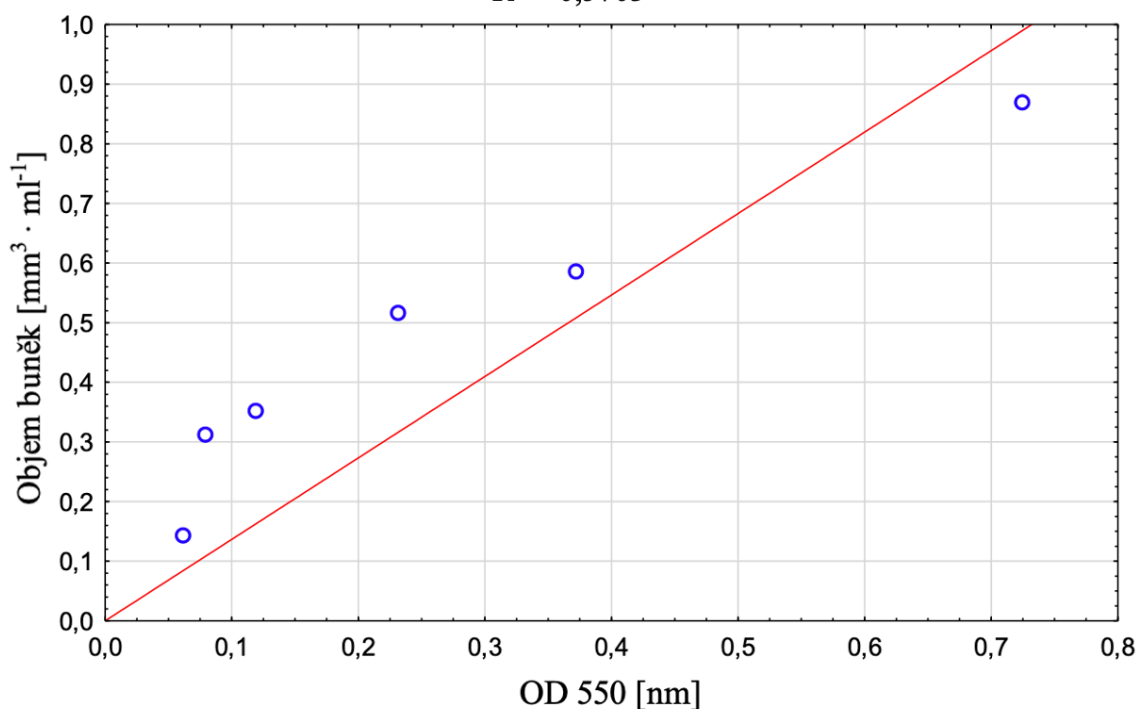
### 4.3.1.3 Buněčný objem v 1 ml

V grafu 14 jsou zobrazeny na ose x vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům šesti zkumavek od nejvíce ředěné (5. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) se zjištěným buněčným objemem na ose y. Například největší buněčný objem, skoro  $0,9 \text{ mm}^3$  v 1 ml, byl zjištěn v základním vzorku, kterému odpovídá nejvyšší hodnota OD.

### *A. lemmermannii*

$$y = 1,4031x$$

$$R^2 = 0,5703$$



Graf 14: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s objemem buněk [mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>] kmene *A. lemmermannii*.

#### 4.3.2 Růstové křivky

U kmene *A. lemmermannii* byl růst pozorován v různých koncentracích N při dvou teplotách, a to při vyšší (25 °C) a nižší (22 °C) v inkubačních komorách se třepačkou a periodou světla nastavenou na 14 hod. (od 7 do 21 hod.).

##### 4.3.2.1 Vyšší teplota

V grafu 15 je zobrazen růst kmene *A. lemmermannii* v délce 40 dní při teplotě 25 °C se 14 hod. světlem. Z grafu je patrné, že růst dosahoval velmi nízkých výsledků, proto bylo měření po čtyřiceti dnech ukončeno přidáním kultury a další vývoj byl měřen zvlášť. Dále je očividné, že nejvyššího růstu bylo dosaženo v médiích M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>) a M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>). Naopak nejnižší růst byl zaznamenán v médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>).

*A. lemmermannii*

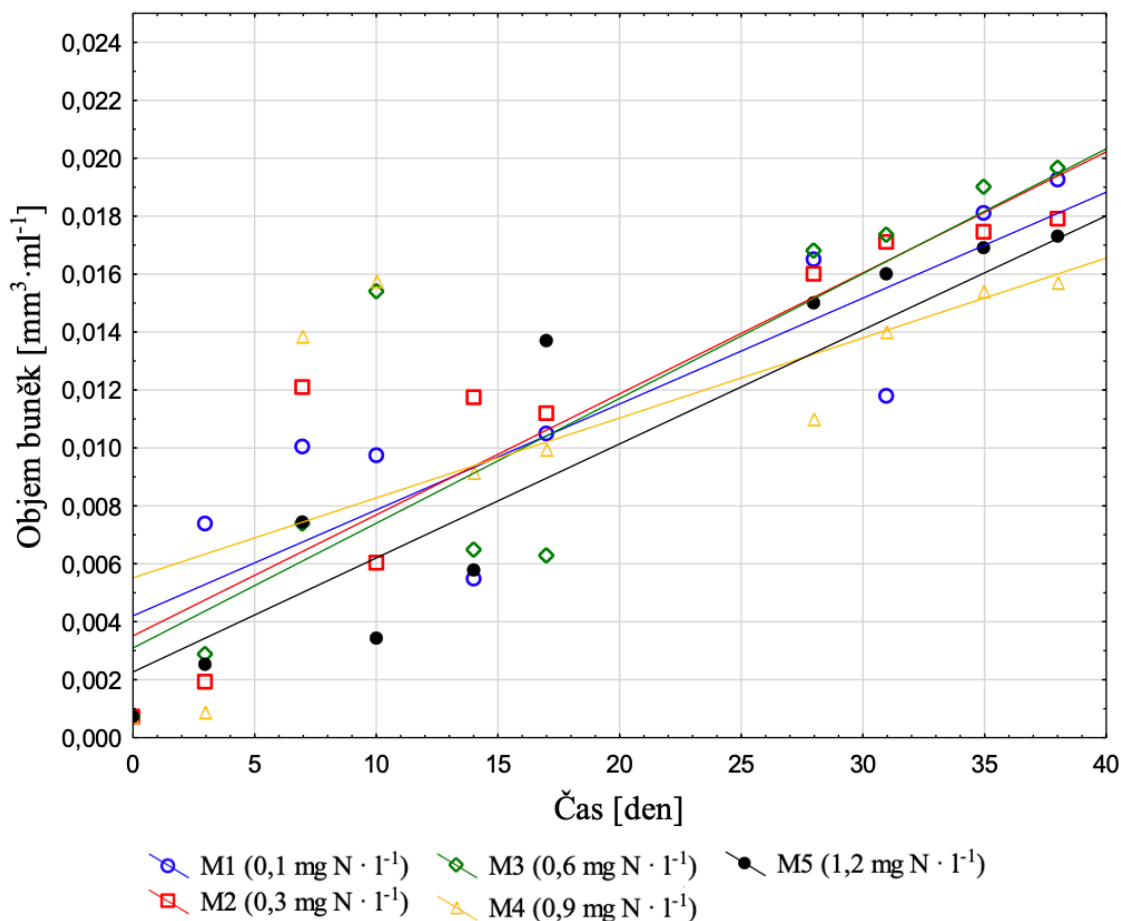
M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0042 + 0,0004x$   $R^2 = 0,8159$

M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0035 + 0,0004x$   $R^2 = 0,8654$

M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0031 + 0,0004x$   $R^2 = 0,7959$

M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0055 + 0,0003x$   $R^2 = 0,5199$

M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0023 + 0,0004x$   $R^2 = 0,8413$



Graf 15: Růst kmene *A. lemmermannii* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích.

Vzhledem k pomalému růstu a obecně známému poznatku, že při vyšší koncentraci kultury dochází k jejímu rychlejšímu nárůstu, bylo do každé kultivační zkumavky přidáno 1300  $\mu$ l kultury. Výsledky následného měření jsou zobrazeny v grafu 16. Z grafu jsou jasně rozeznatelné jednotlivé trendy růstu v namíchaných médiích (M1 až M5). Nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>), naopak nejnižší trend byl pozorován v médiu M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>).

### *A. lemmermannii*

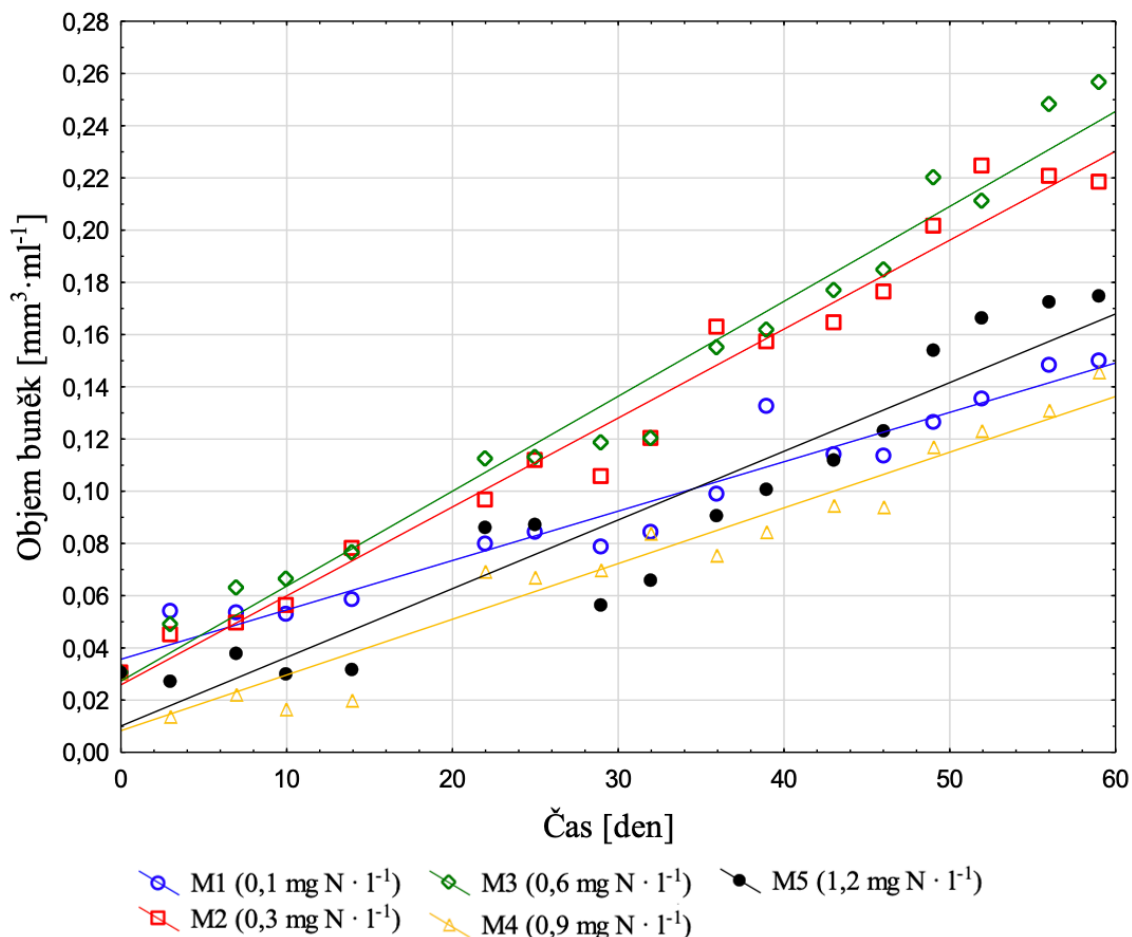
M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0356 + 0,0019x$   $R^2 = 0,9440$

M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0259 + 0,0034x$   $R^2 = 0,9758$

M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0273 + 0,0036x$   $R^2 = 0,9746$

M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0083 + 0,0021x$   $R^2 = 0,9363$

M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0101 + 0,0026x$   $R^2 = 0,8997$



Graf 16: Růst kmene *A. lemmermannii* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích po přidání 1300  $\mu$ l kultury.

#### 4.3.2.2 Nižší teplota

V grafu 17 je zaznamenán růst kmene *A. lemmermannii* při teplotě 22 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Je zřejmé, že nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu s nejvyšší koncentrací N (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Oproti tomu nejnižší trend byl zjištěn v médiu M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>).

### *A. lemmermannii*

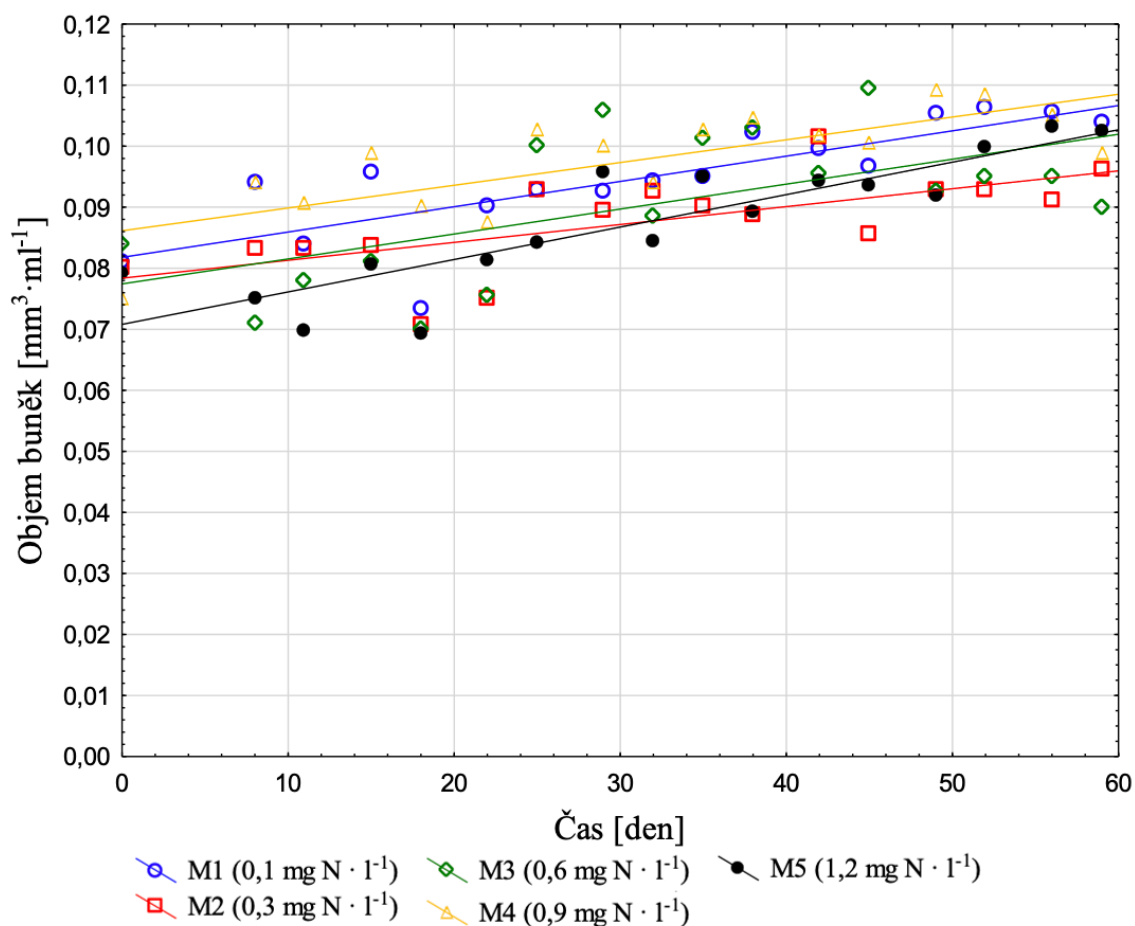
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0356 + 0,0019x \quad R^2 = 0,9440$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0259 + 0,0034x \quad R^2 = 0,9758$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0273 + 0,0036x \quad R^2 = 0,9746$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0083 + 0,0021x \quad R^2 = 0,9363$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0101 + 0,0026x \quad R^2 = 0,8997$$



Graf 17: Růst kmene *A. lemmermannii* při 22 °C v různých koncentracích N v médiích.

#### 4.3.2.3 Růst při vyšší hustotě buněk

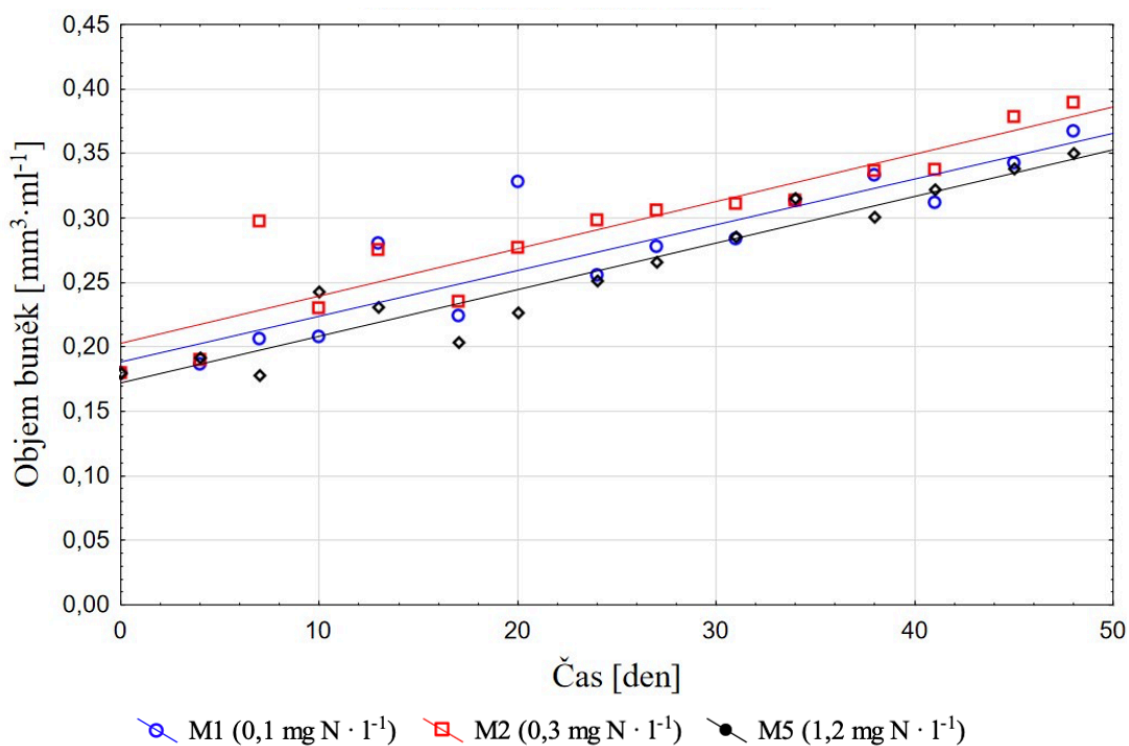
V grafu 18 je zobrazen trend růstu při vyšších hustotách buněk kmene *A. lemmermannii* při teplotě 25 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Z grafu je zřejmé, že při sledování vyšší hustoty buněk v použitých médiích (M1, M2 a M5) dochází k rychlejšímu nárůstu buněk než při nižších hustotách buněk. Vyšší nárůst buněk byl zaznamenán v médiu M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>). V médiích M1 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) a M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) byl pozorován nárůst nižší.

### *A. lemmermanni*

$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1880 + 0,0036x \quad R^2 = 0,8178$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,2029 + 0,0037x \quad R^2 = 0,8394$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1725 + 0,0036x \quad R^2 = 0,9234$$



Graf 18: Růst kmene *A. lemmermannii* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích s vyšší hustotou buněk.

## 4.4 Kmen *A. compacta*

### 4.4.1 Kalibrační křivka

Namíchaná kalibrační křivka pro kmen *A. compacta* obsahovala celkem 7 zkumavek (1 neředěnou a 6 ředěných). Z nich byly odebrány vzorky pro změření OD při 550 nm a vzorky pro spočtení množství buněk. Také byly odebrány vzorky pro změření velikosti buněk, podle nichž byl následně vypočítán jejich objem.

#### 4.4.1.1 Počet buněk

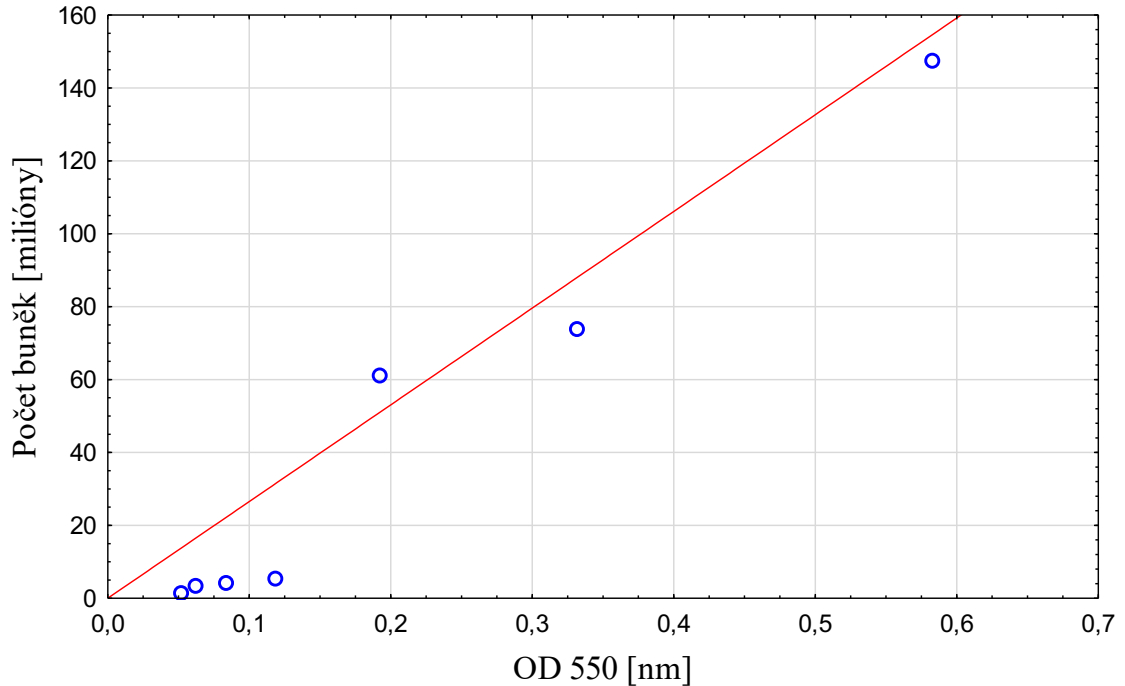
Graf 19 znázorňuje na ose x naměřené vzrůstající hodnoty OD 7 namíchaných zkumavek od nejvíce ředěné (7. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek), které mají hodnoty se zjištěným množstvím buněk zobrazené na ose y. Například nejnižší množství buněk, pod 10 miliónů v 1 ml, bylo zjištěno v nejvíce

řaděných zkumavkách s nízkými hodnotami OD (7. řaděný vzorek, 6. řaděný vzorek, 5. řaděný vzorek a 4. řaděný vzorek).

*A. compacta*

$$y = 2E+08x$$

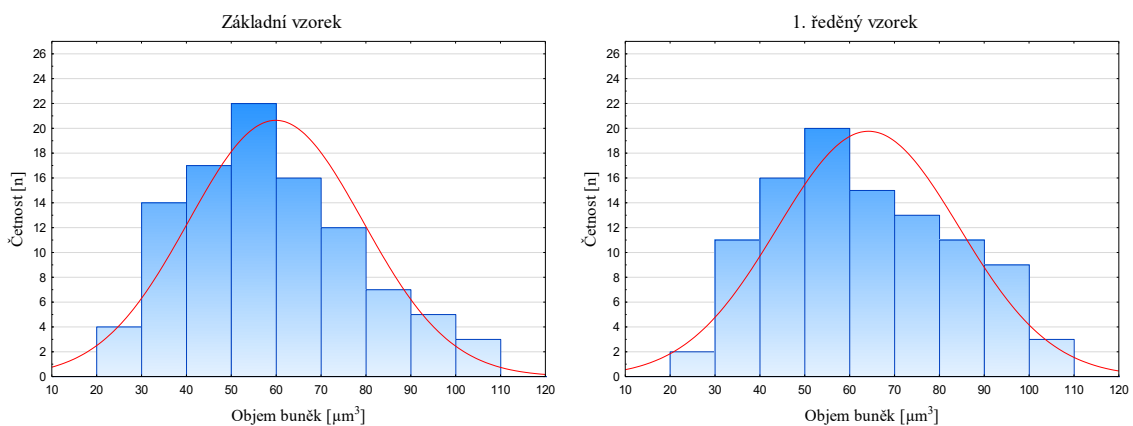
$$R^2 = 0,9558$$



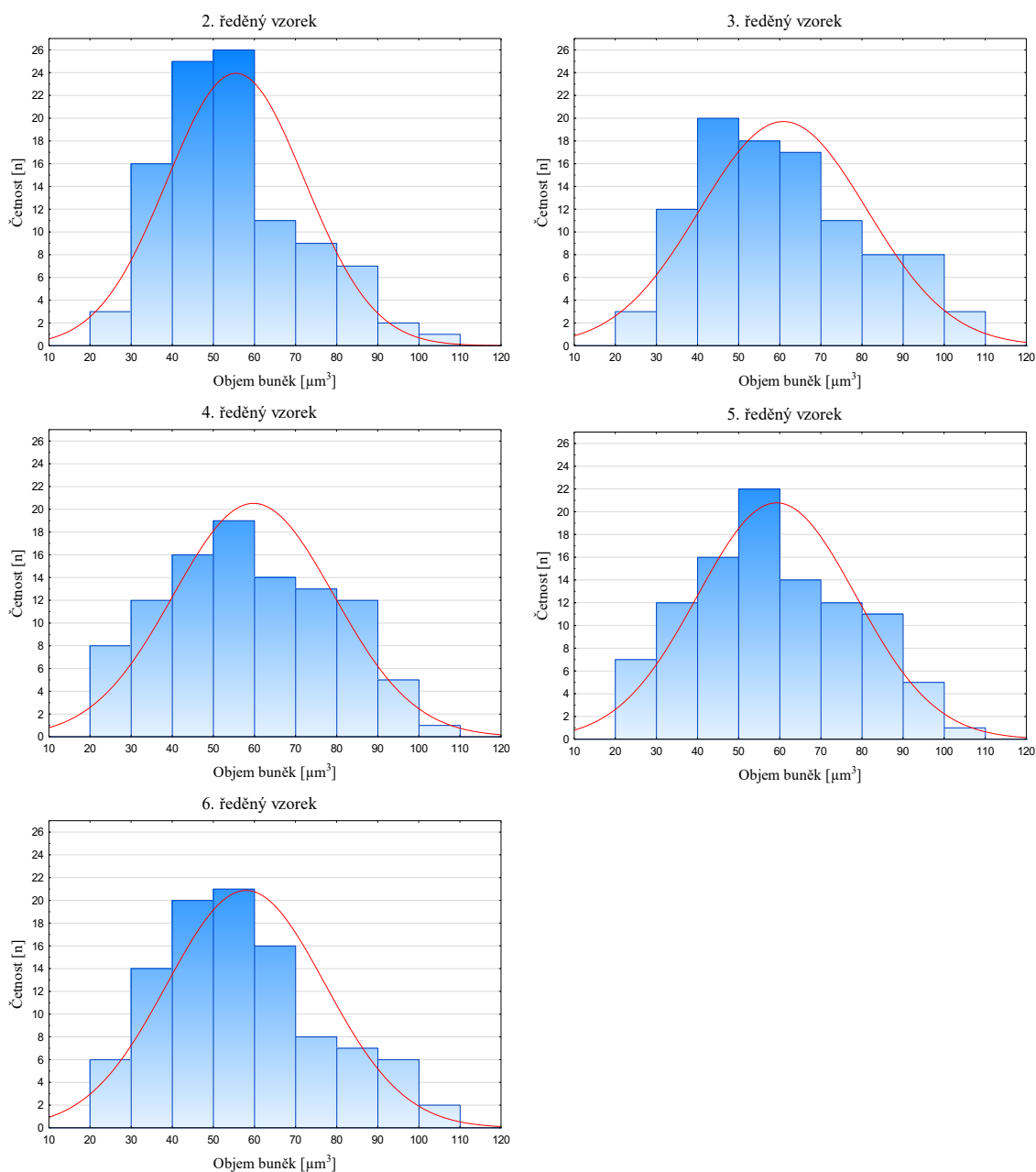
Graf 19: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejméně řaděné po nejméně řaděnou zkumavku s počtem buněk [milióny] v 1 ml kmene *A. compacta*.

#### 4.4.1.2 Průměrný objem buňky

Obrázek 9 obsahuje 7 grafů s vypočtenými objemy buněk v sedmi vytvořených zkumavkách. Pro každý graf bylo použito 100 hodnot. Z grafů je evidentní, že nejčastější hodnoty objemu jedné buňky jsou mezi čtyřiceti až šedesáti  $\mu\text{m}^3$ . Dále je zřejmé, že hodnoty objemů byly naměřeny v rozmezí od dvaceti do sto deseti  $\mu\text{m}^3$ .







Obrázek 9: Jednotlivé histogramy ukazují hodnoty vypočítaných objemů buněk kmene *A. compacta* v jednotlivých namíchaných zkumavkách.

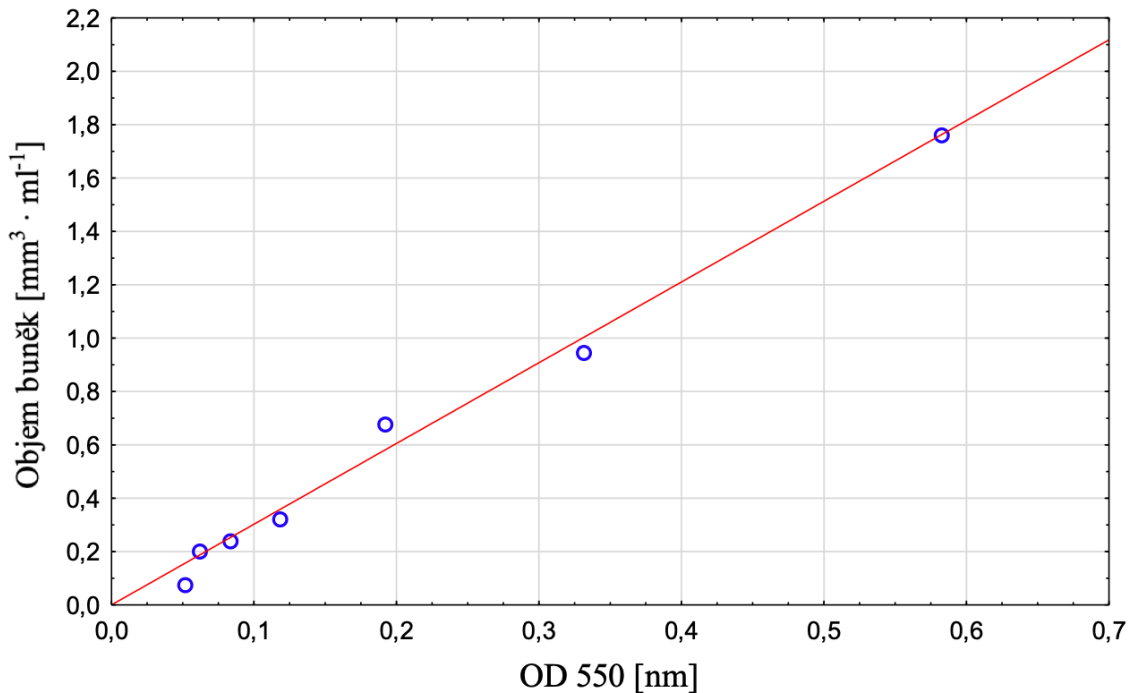
#### 4.4.1.3 Buněčný objem v 1 ml

Graf 20 má na ose x změřené vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům sedmi zkumavek od nejvíce ředěné (6. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) s vypočítaným objemem buněk na ose y. Například nejnižší objem buněk, pod  $0,1 \text{ mm}^3$  v 1 ml, bylo zjištěno v nejvíce ředěném vzorku (6. ředěný vzorek), kterému odpovídá nejnižší hodnota OD.

### *A. compacta*

$$y = 2,9884x$$

$$R^2 = 0,9955$$



Graf 20: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s objemem buněk [ $\text{mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ ] kmene *A. compacta*.

#### 4.4.2 Růstové křivky

U kmene *A. compacta* byl trend růstu zjišťován v různých koncentracích N v inkubačních komorách s periodou světla nastavenou na 14 hod. (od 7 do 21 hod.) a při teplotách 25 (vyšší) a 22 °C (nižší).

##### 4.4.2.1 Vyšší teplota

Graf 21 zobrazuje růst kmene *A. compacta* v délce 40 dní při teplotě 25 °C se 14 hod. světlem v inkubační komoře. Podobně jako u kmene *A. lemmermannii*, nevykazoval kmen *A. compacta* po čtyřiceti dnech většího růstu, proto bylo měření ukončeno přidáním kultury a další vývoj byl měřen zvlášť. Z grafu je očividné, že v médiích s nižšími koncentracemi N (M1 a M2) byla naměřena nižší růstová rychlost než v médiích s vyššími koncentracemi N (M4, M5). Nejnižšího růstu bylo dosaženo v médiu s nejnižší koncentrací N ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Naopak vyšší růst byl zaznamenán v médiu s nejvyšší koncentrací N ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

### *A. compacta*

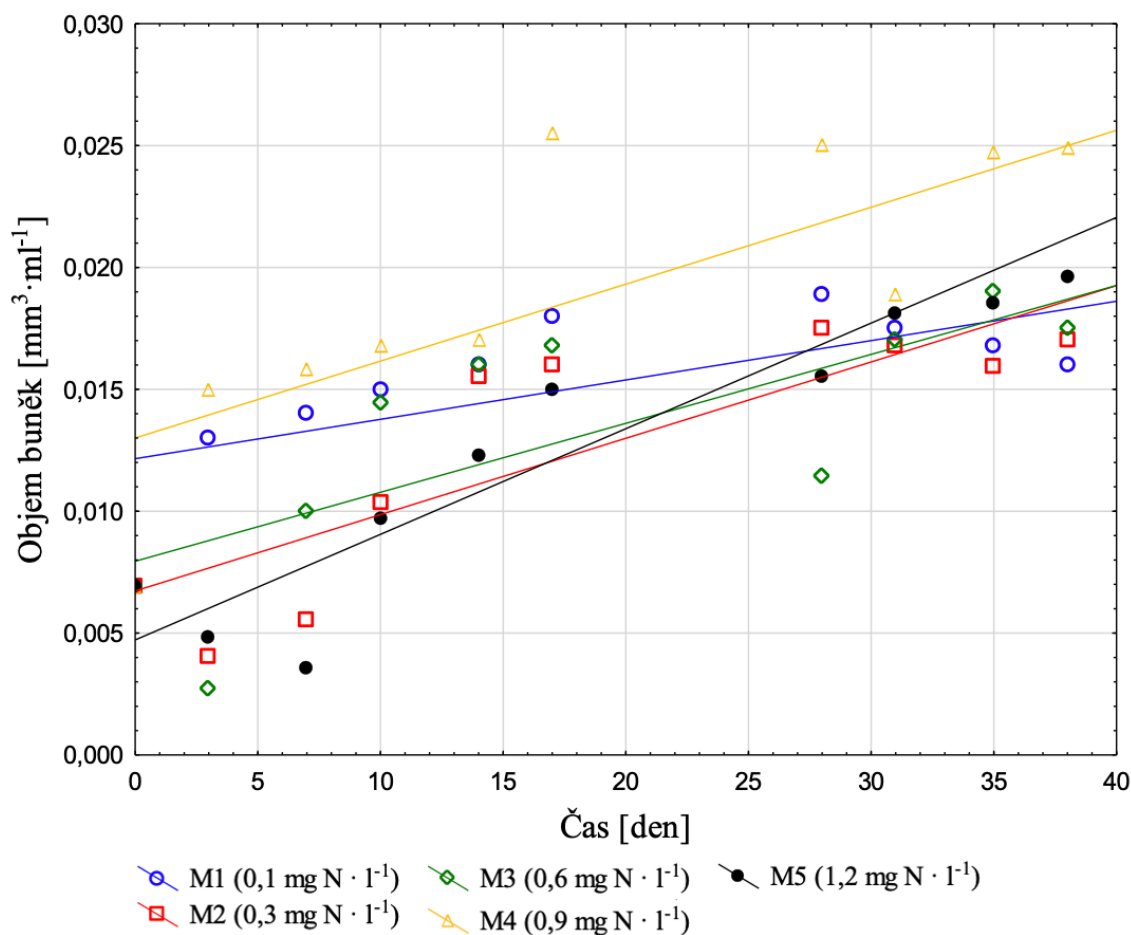
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0122 + 0,0002x \quad R^2 = 0,5182$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0067 + 0,0003x \quad R^2 = 0,7557$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0080 + 0,0003x \quad R^2 = 0,6226$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0130 + 0,0003x \quad R^2 = 0,6432$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0047 + 0,0004x \quad R^2 = 0,8970$$



Graf 21: Růst kmene *A. compacta* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích.

Jelikož byl pozorován velmi pomalý růst a je znám obecný poznatek, že při vyšší koncentraci kultury dochází k jejímu rychlejšímu nárůstu, bylo do každé kultivační zkušavky přidáno 1300  $\mu\text{l}$  kultury. Následné měření má výsledky znázorněny v grafu 22. Je očividné, že růstový trend v médiu M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>) dosahoval nižších hodnot. Naproti tomu v médiu M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>) a M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zaznamenán trend nejvyšší.

### *A. compacta*

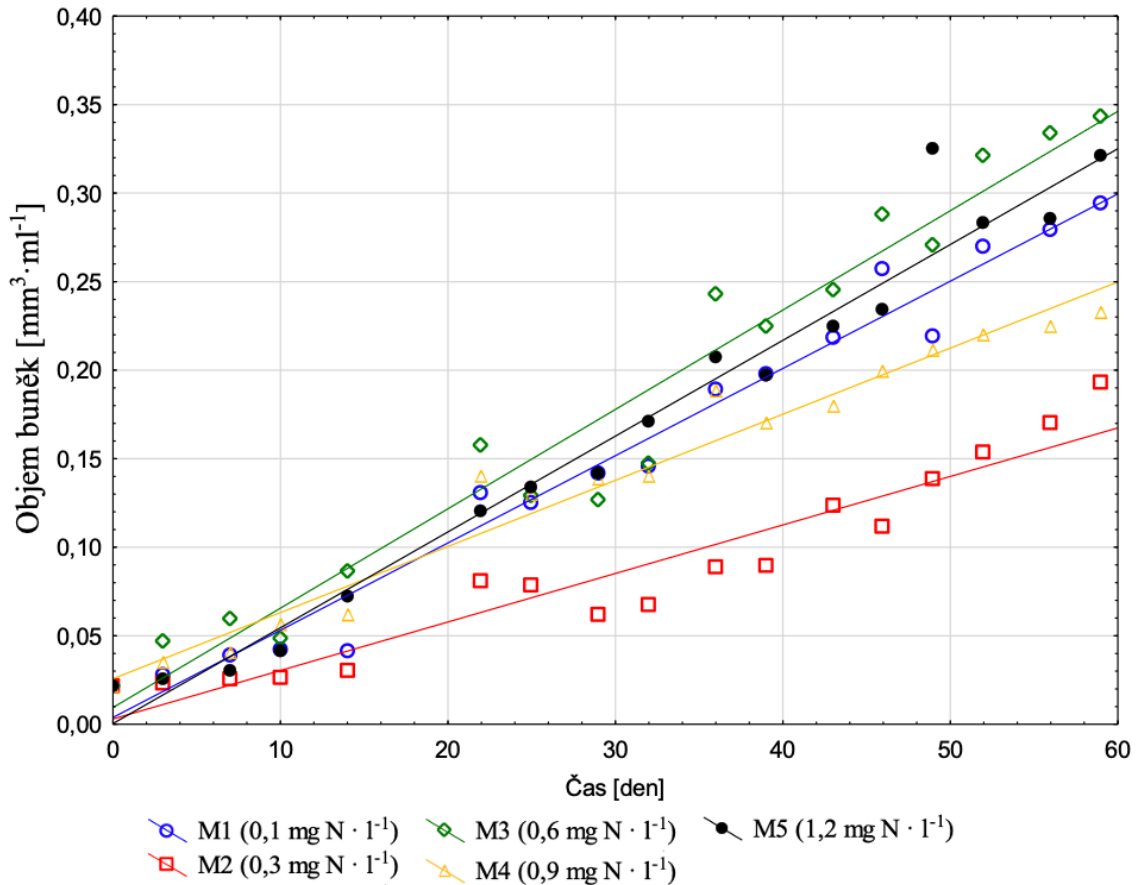
M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0039 + 0,0049x$   $R^2 = 0,9748$

M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0030 + 0,0027x$   $R^2 = 0,9173$

M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0095 + 0,0056x$   $R^2 = 0,9585$

M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0257 + 0,0037x$   $R^2 = 0,9668$

M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>):  $y = 0,0005 + 0,0054x$   $R^2 = 0,9684$



Graf 22: Růst kmene *A. compacta* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích po přidání 1300  $\mu$ l kultury.

#### 4.4.2.2 Nižší teplota

Graf 23 zobrazuje růst kmene *A. compacta* v inkubační komoře se 14 hod. světlem a s teplotou 22 °C. Je zřejmé, že nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>). Oproti tomu nejnižší trend byl zjištěn v médiu s nejnižší koncentrací N (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>). Dále je očividné, že v médiích s vyššími koncentracemi N byly naměřeny vyšší hodnoty růstových trendů než v médiích s nižšími koncentracemi N.

### *A. compacta*

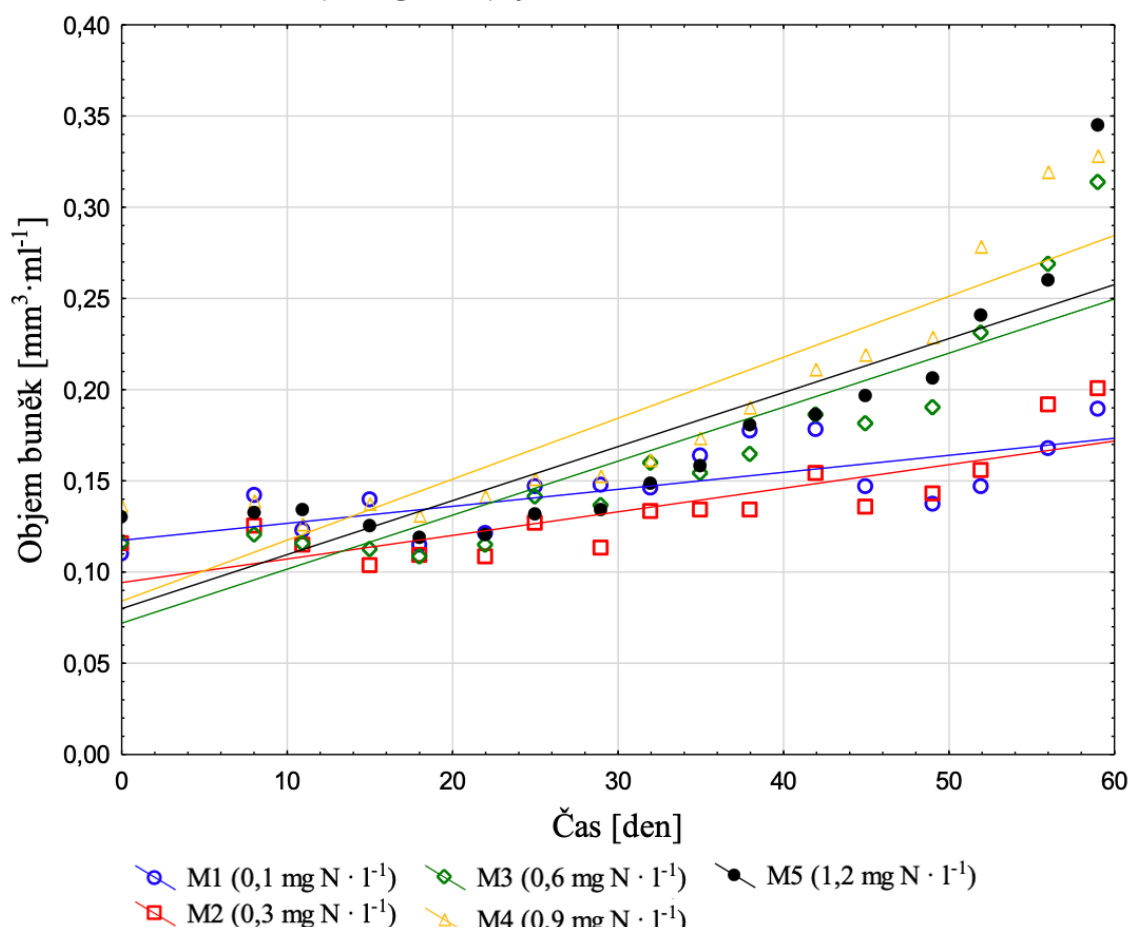
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,1174 + 0,0009x \quad R^2 = 0,5301$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0943 + 0,0013x \quad R^2 = 0,6828$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0721 + 0,0030x \quad R^2 = 0,7893$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0841 + 0,0033x \quad R^2 = 0,8121$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0800 + 0,0030x \quad R^2 = 0,7207$$



Graf 23: Růst kmene *A. compacta* při 22 °C v různých koncentracích N v médiích.

#### 4.4.2.3 Růst při vyšší hustotě buněk

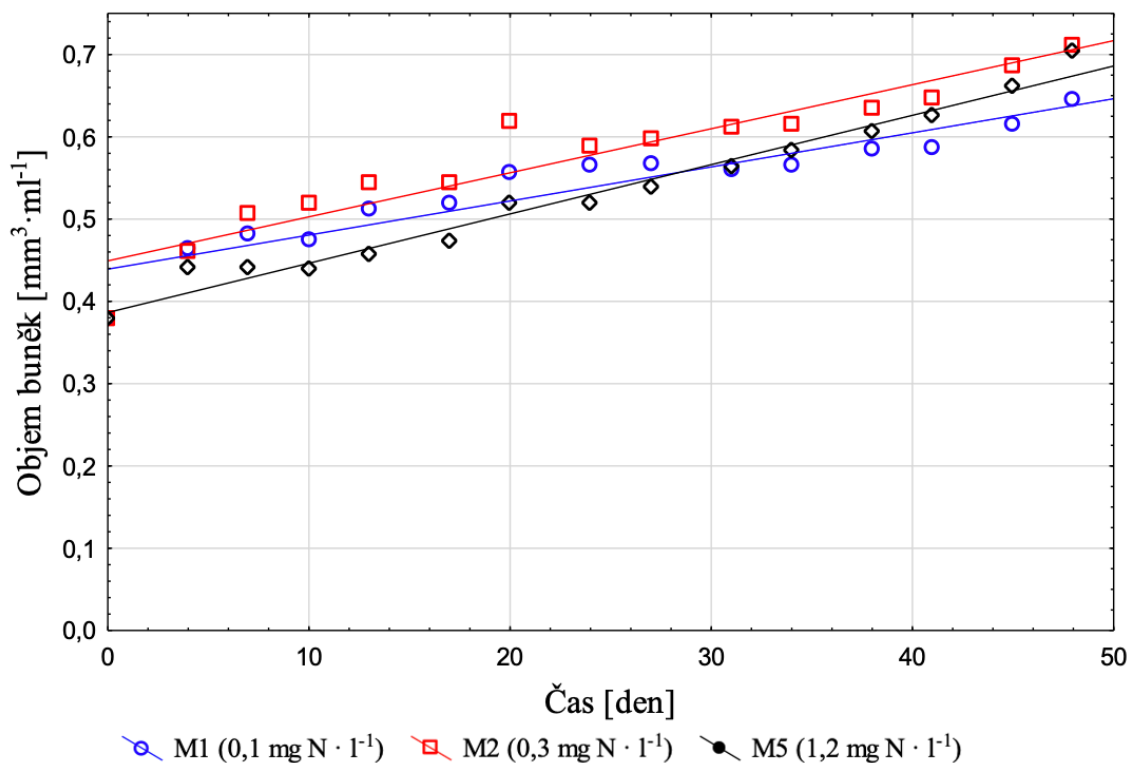
V grafu 24 je zachycen trend růstu při vyšších hustotách buněk kmene *A. compacta* při teplotě 25 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Z grafu je zřejmé, že při sledování vyšší hustoty buněk v použitých médiích (M1, M2 a M5) dochází k rychlejšímu nárůstu buněk než při nižších hustotách buněk. Nejnižší trend růstu byl pozorován v médiu M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>). Naopak nejvyšší trend byl zaznamenán v médiu o nejvyšší koncentraci N (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>).

### *A. compacta*

$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,4391 + 0,0041x \quad R^2 = 0,8835$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,4493 + 0,0054x \quad R^2 = 0,8924$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,3864 + 0,0060x \quad R^2 = 0,9763$$



Graf 24: Růst kmene *A. compacta* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích s vyšší hustotou buněk.

## 4.5 Kmen *A. reniformis*

### 4.5.1 Kalibrační křivka

Pro získání kalibrační křivky kmene *A. reniformis* bylo namícháno 6 zkumavek (1 neředěná a 5 ředěných). Ze zkumavek bylo odebráno množství do kultivační destičky pro změření OD při 550 nm. Dále byly ze zkumavek odebrány vzorky pro spočítání množství buněk a změření jejich velikosti pro výpočet objemu.

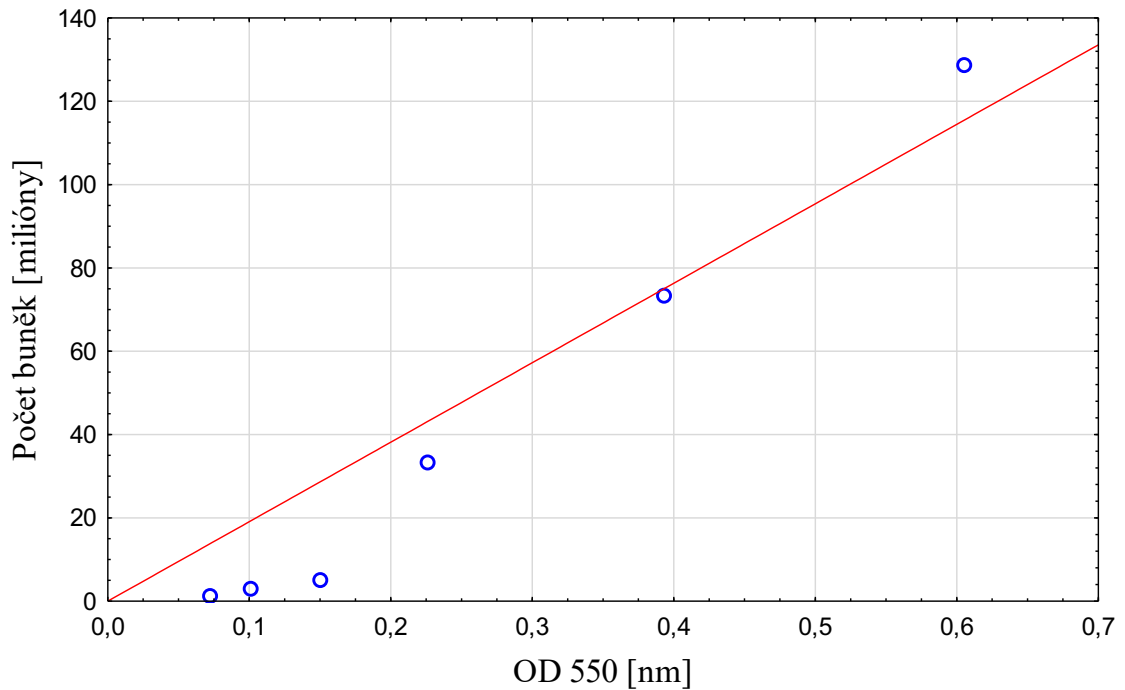
#### 4.5.1.1 Počet buněk

V grafu 25 jsou na ose x zobrazeny vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům 6 zkumavek od nejvíce ředěné (6. ředěný vzorek) až po nejméně ředěnou zkumavku (základní vzorek) s jejich zjištěným množstvím buněk na ose y. Například nejnižší množství buněk, pod 5 miliónů v 1 ml, bylo zjištěno v 6. ředěném vzorku, kterému odpovídá nejnižší hodnota OD.

*A. reniformis*

$$y = 2E+08x$$

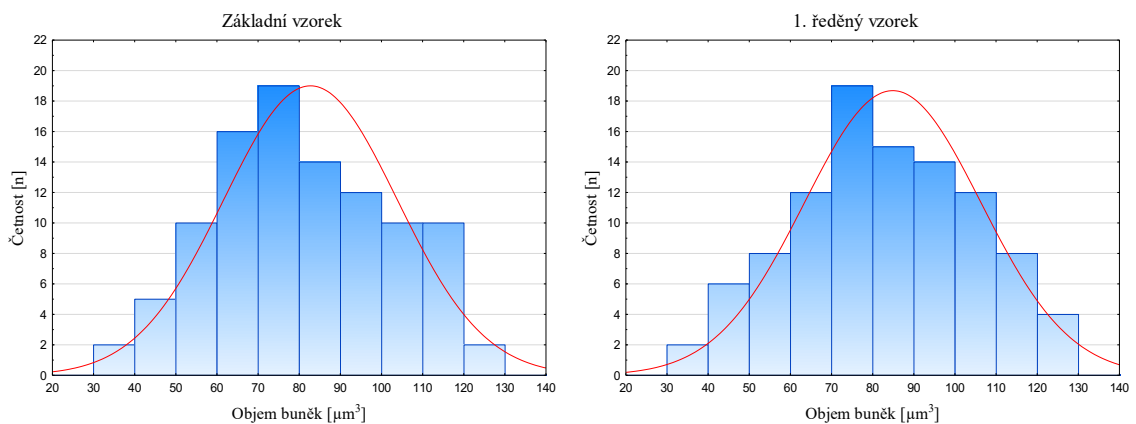
$$R^2 = 0,9445$$

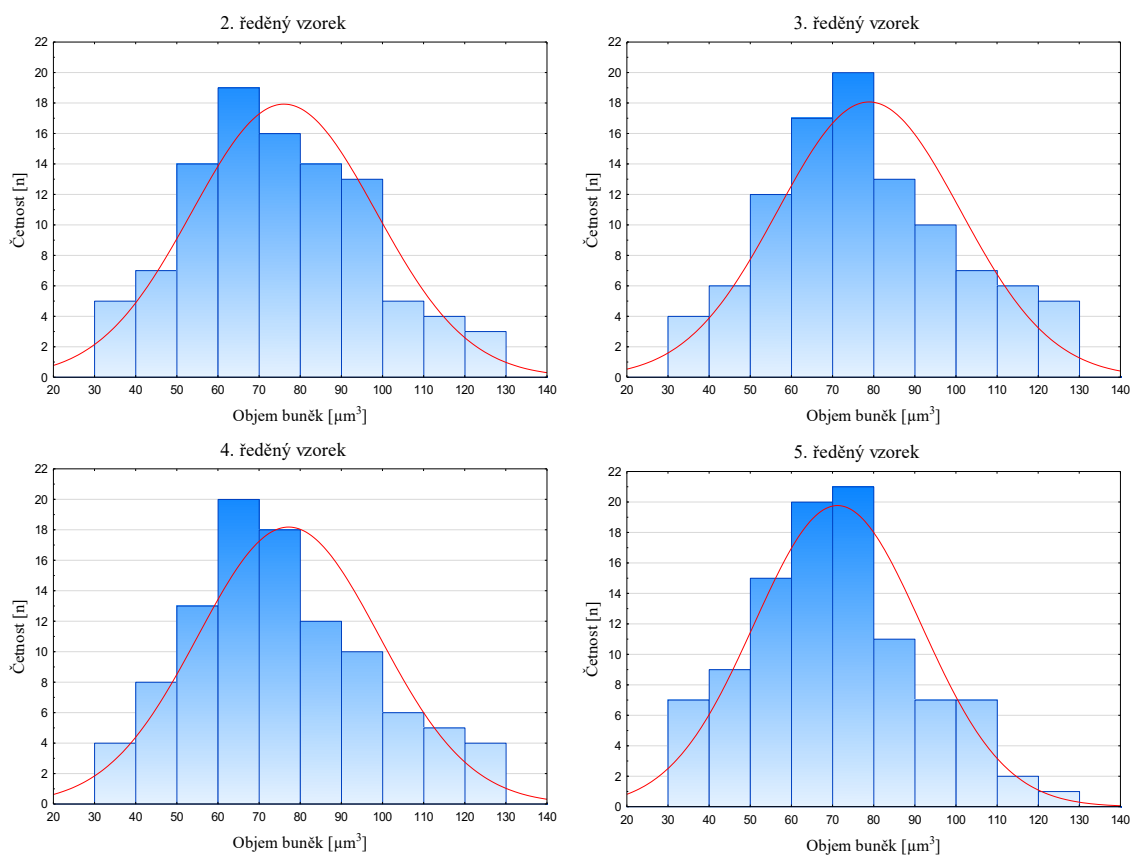


Graf 25: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s počtem buněk [milióny] v 1 ml kmene *A. reniformis*.

#### 4.5.1.2 Průměrný objem buňky

Na obrázku 10 je 6 grafů s vypočítanými objemy buněk v šesti namíchaných zkumavkách. Pro každý graf bylo použito 100 hodnot. Z grafů je očividné, že nejčastější hodnoty objemu jedné buňky jsou mezi šedesáti až osmdesáti  $\mu\text{m}^3$ . Dále je zřejmé, že hodnoty objemů byly naměřeny v rozmezí od třiceti do sto třiceti  $\mu\text{m}^3$ .





Obrázek 10: Jednotlivé histogramy ukazují hodnoty vypočítaných objemů buněk kmene *A. reniformis* v jednotlivých namíchaných zkumavkách.

#### 4.5.1.3 Buněčný objem v 1 ml

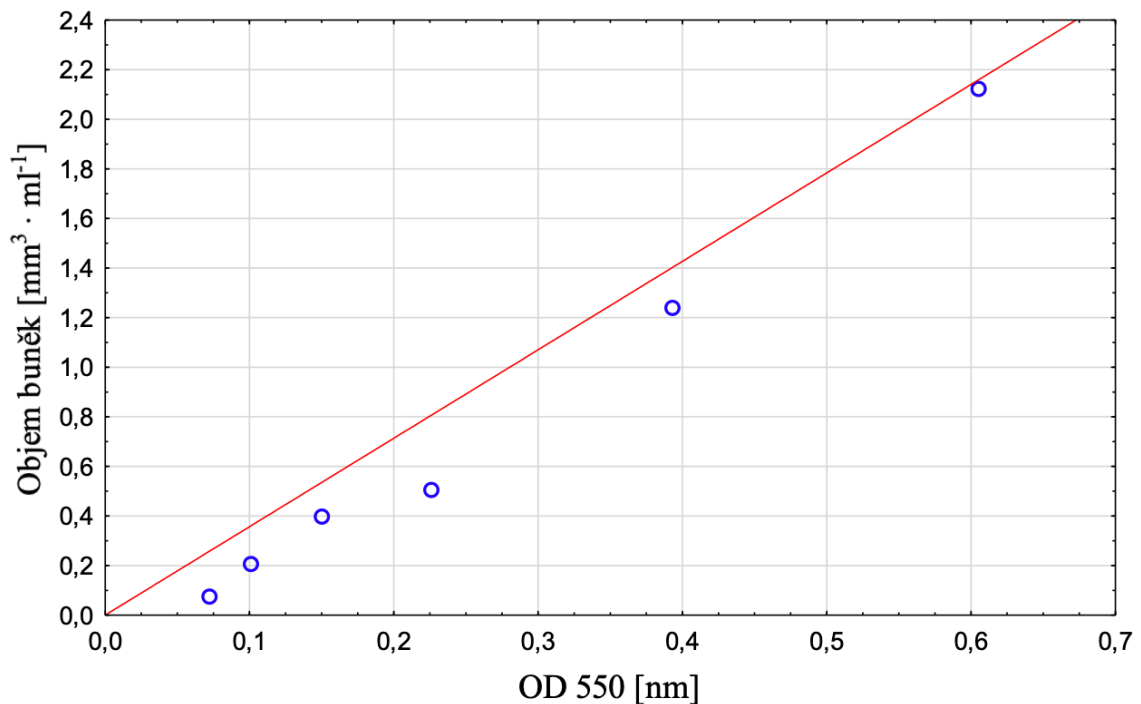
V grafu 26 jsou na ose y zjištěné buněčné objemy a na ose x jsou vzrůstající hodnoty OD, které odpovídají vzorkům šesti zkumavek od nejvíce řaděné (5. řaděný vzorek) až po nejméně řaděnou zkumavku (základní vzorek). Například největší buněčný objem, skoro  $2,2 \text{ mm}^3$  v 1 ml, byl naměřen v základním vzorku, kterému odpovídá nejvyšší hodnota OD.



### *A. reniformis*

$$y = 3,2211x$$

$$R^2 = 0,9445$$



Graf 26: Zobrazení růstu hodnot OD při 550 nm od nejvíce ředěné po nejméně ředěnou zkumavku s objemem buněk [mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>] kmene *A. reniformis*.

#### 4.5.2 Růstové křivky

Trend růstu byl u kmene *A. reniformis* zjišťován v různých koncentracích N v inkubačních komorách při teplotách 25 (vyšší) a 22 °C (nižší) a s periodou světla nastavenou na 14 hod. (od 7 do 21 hod.)

##### 4.5.2.1 Růst při vyšší hustotě buněk

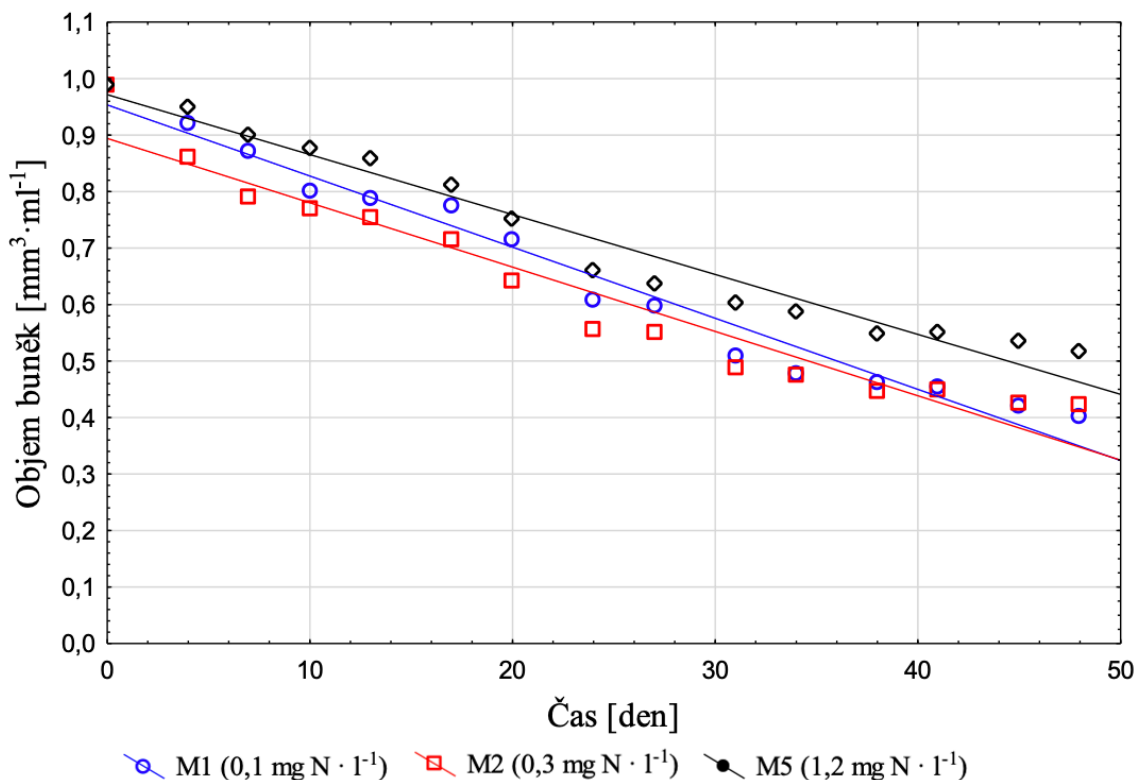
V grafu 27 je zobrazen trend růstu při vyšších hustotách buněk kmene *A. reniformis* při teplotě 25 °C v inkubační komoře se 14 hod. světlem. Z grafu je očividné, že při sledování vyšší hustoty buněk v použitých médiích (M1, M2 a M5) dochází k rychlejšímu poklesu počtu buněk. Pomalejší trend tohoto poklesu byl pozorován v médiu M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Rychlejší pokles byl zaznamenán ve zbylých dvou médiích, kdy v médiu M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zjištěn rychlejší pokles než v médiu M2 (0,3 mg N · l<sup>-1</sup>).

### *A. reniformis*

$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,9537 + 0,0126x \quad R^2 = 0,9717$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,8942 + 0,0114x \quad R^2 = 0,9377$$

$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,9717 + 0,0106x \quad R^2 = 0,9623$$



Graf 27: Růst kmene *A. reniformis* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích s vyšší hustotou buněk.

## 4.6 Společný růst kmenů *Synechocystis* a *A. lemmermannii*

Pro sledování společného růstu v kultivačních zkumavkách při 25 °C byly vybrány 2 zástupci, *Synechocystis* a *A. lemmermannii*, ze zvolených řádů. Jejich výsledek růstového trendu je zobrazen v grafu 28. Je očividné, že v médiu M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zaznamenán nejpomalejší trend růstu. Oproti tomu, bylo v médiu s nejvyšší koncentrací N (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) naměřen trend růstu nejrychlejší. Dále je zřejmé, že vyšší růstové rychlosti byly naměřeny v médiích s vyššími koncentracemi N (M4 a M5).

### *Synechocystis a A. lemmermannii*

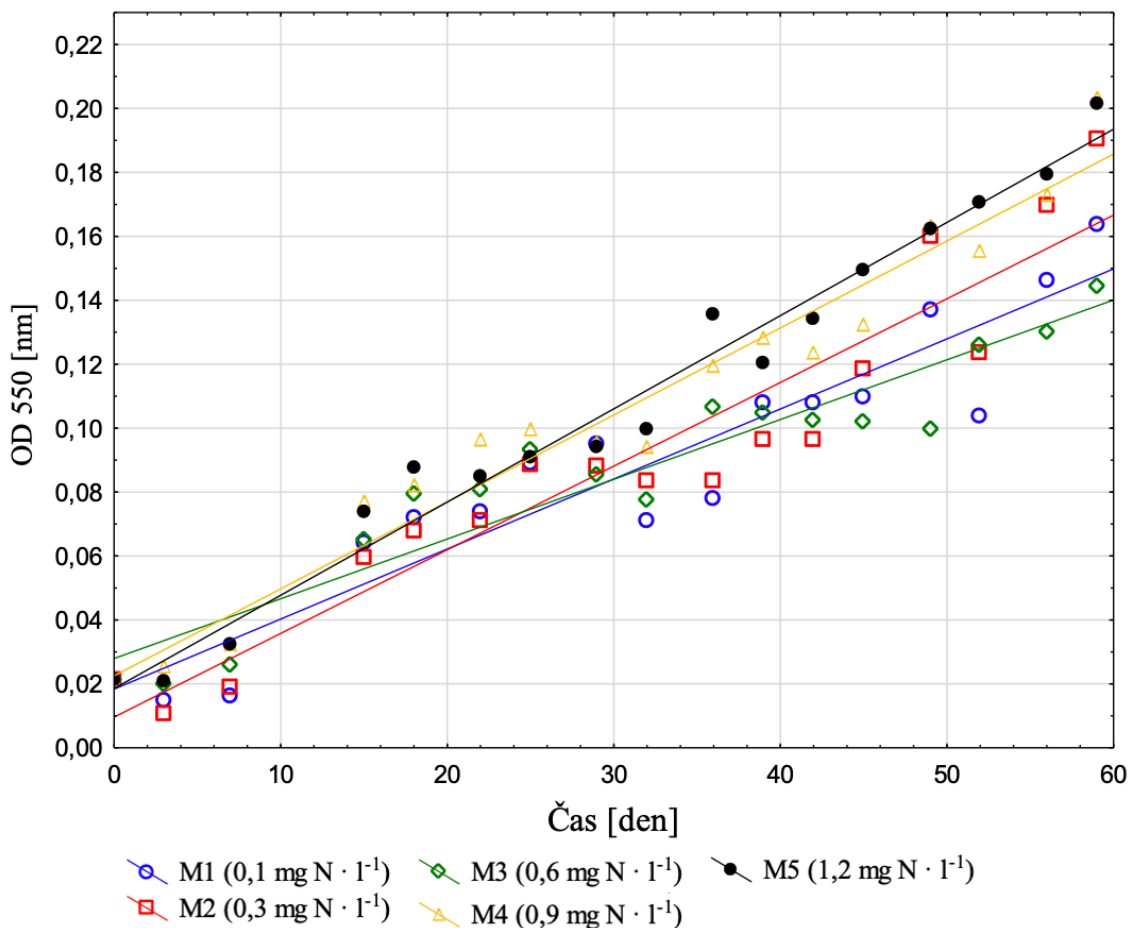
$$\text{M1 (0,1 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0184 + 0,0022x \quad R^2 = 0,8902$$

$$\text{M2 (0,3 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0096 + 0,0026x \quad R^2 = 0,9047$$

$$\text{M3 (0,6 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0279 + 0,0019x \quad R^2 = 0,8991$$

$$\text{M4 (0,9 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0225 + 0,0027x \quad R^2 = 0,9564$$

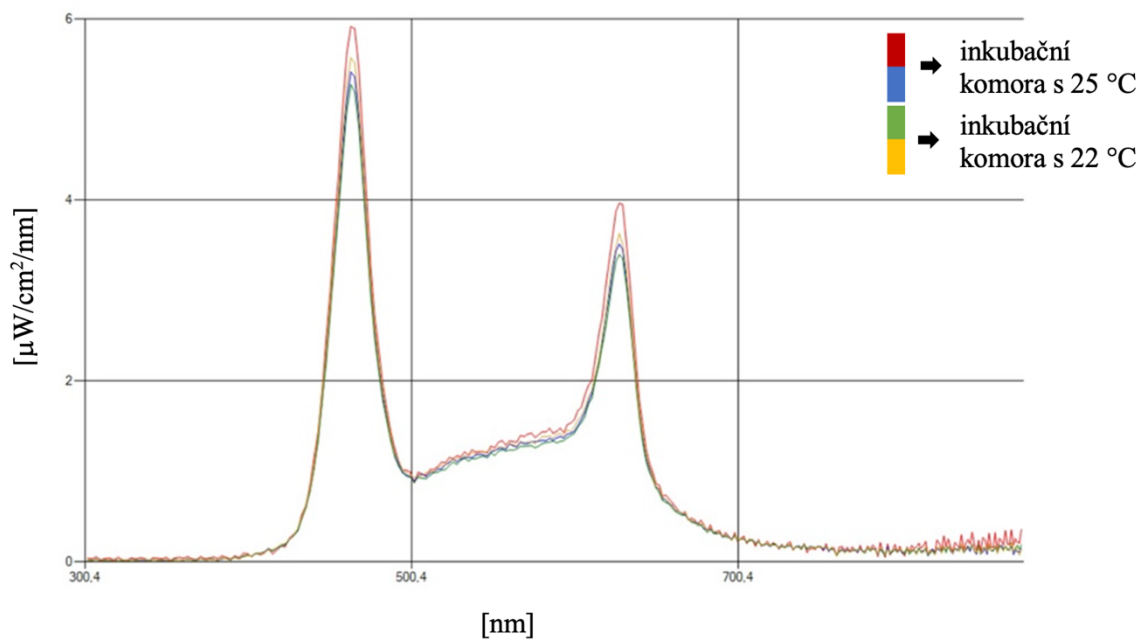
$$\text{M5 (1,2 mg N} \cdot \text{l}^{-1}\text{): } y = 0,0186 + 0,0029x \quad R^2 = 0,9746$$



Graf 28: Společný růst kmenů *Synechocystis a A. lemmermannii* při 25 °C v různých koncentracích N v médiích.

## 4.7 Měření světla v inkubačních komorách

V inkubačních komorách byly používány jako zdroj světla tři diody (červená, modrá a bílá). Po jejich změření v obou inkubačních komorách spektrometrem byl získán graf 29, který zobrazuje na ose x vlnovou délku a na ose y světelnou intenzitu. Z grafu jsou patrné 2 píky, a to přibližně při 450 a 630 nm. První pík představuje modrou diodu, druhý pík diodu červenou. Mezi nimi, přibližně od 510 do 590 nm, byla zachycena dioda bílá.



Graf 29: Změřené světlo v inkubačních komorách s teplotou 25 a 22 °C.

## 5 Diskuse

V minulém století byla provedena změna v hospodaření s rybníky. Začala se používat hnojiva a krmiva pro ryby, aby výtěžnost byla co nejvyšší (Pechar, 1995). Zároveň došlo ke změně v hospodaření i v zemědělství, které mělo stejný cíl (Novotný, 2011). Tyto dva faktory, a tehdy ještě málo rozvinuté čištění odpadních vod, začaly posilovat tekoucí i stojaté vody živinami, zejména N a P. Tímto způsobem se naše vody staly eutrofními až hypertrofními (Krása a kol., 2013). V současné době klesá podíl znečištění komunálními vodami a stoupá vliv globálního oteplování. Během letních období dochází na našem území ke zhoršení jakosti vod. Díky vysokým teplotám a velkému množství N, P a C dochází k masivnímu rozvoji vodního květu sinic, který je znám především svými negativními vlastnostmi (Marvan a Maršálek, 2004).

Experiment byl zaměřen na prozkoumání produkční strategie sinic vyskytujících se v našich českých rybnících. Za tím účelem byly zvoleny 2 odlišné řády sinic, a to řád *Nostocales* se zástupci *Anabaena lemmermannii* (*A. lemmermannii*), *Anabaena compacta* (*A. compacta*) a *Anabaena reniformis* (*A. reniformis*), které jsou schopné fixovat N<sub>2</sub> (Guerrero a Lara 1987), a řád *Synechococcales* se zástupci *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*) a *Cyanobium gracile* A1 (*Cyanobium*), jež nemají specializované buňky (Šejnohová a Maršálek, 2005).

Vybrané kmeny byly kultivovány v upraveném médiu BG11 v pěti rozdílných koncentracích N. Ernst a kol. (2005) uvádí, že médium BG11 má dostatek živin pro dlouhodobou kultivaci. Koncentrace P byla ve všech namíchaných médiích stejná. Nejnižší použitá koncentrace N v médiu byla 0,1 mg N · l<sup>-1</sup>, nejvyšší obsahovala 1,2 mg N · l<sup>-1</sup>. Tyto koncentrace byly zvoleny podle měřených koncentrací celkového N (N<sub>celk.</sub>) v našich rybních. Máchová a kol. (2010) uvádějí u vybraných 3 jihočeských rybníků koncentrace N<sub>celk.</sub> v rozmezí 0,82–3,4 mg · l<sup>-1</sup>. U rybníků Žabakor, Rokytnický a Hrudba, nacházejících se v CHKO Český ráj, byly zjištěny koncentrace N<sub>celk.</sub> od 0,57 do 1,09 mg · l<sup>-1</sup> (Chmelický a kol. 2020). Rutegwa (2020) uvádí, že rybník Dehtář má koncentraci celkového N v rozmezí od 1,29 do 2,04 mg · l<sup>-1</sup>.

Uvádí se, že většina sinic dosahuje vyšších růstových rychlostí při teplotách nad 25 °C (Berg a Sutula, 2015). Pro srovnání, jak se bude rychlost růstu vyvíjet při teplotách odpovídajících průměrné teplotě vody v českých rybnících během letních měsíců, byl růst

jednotlivých kmenů pozorován při teplotách 22 (nižší) a 25 (vyšší) °C v inkubačních komorách. Perioda světla byla nastavená na 14 hod. (od 7 do 21 hod.). Kmeny *Synechocystis* a *Cyanobium* preferují ozáření přibližně 25 až 50  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (Jezberová a Komárková, 2007). Sinice obecně nejvíce využívají světlo modré, které ovlivňuje míru rychlosti růstu. U kmene *Cyanobium* jsou nepříznivé světelné podmínky, během kterých fykobilisomy ani chlorofyl neabsorbují dostatek světla, kompenzovány zvětšenou velikostí antén (Bernát a kol., 2021). Měření optické hustoty (OD) probíhalo ve spektrofotometru při 550 nm. Během experimentu byl také zjišťován počet a objem buněk jednotlivých kmenů a působící světlo v inkubačních komorách.

U kmene *Synechocystis* byly pozorovány charakteristické kulovité nebo polokulovité buňky s modrozeleným, šedomodrým nebo olivově zeleným obsahem. Kmen se řadí mezi sladkovodní sinice vyskytující se v hojném množství na našem území. Buňky těchto sinic nemají akinety ani heterocyty (Komárek, 1999) a jejich dělení probíhá vždy na 2 dceřiné buňky (Ikeuchi a Tabata, 2001).

Vytvořením kalibrační řady kmene *Synechocystis* byl zjištěn počet a objem buněk. Kalibrační řada byla tvořena celkem 6 zkumavkami (základní neřaděný vzorek a 5 vzorků vzniklé postupným ředěním základního vzorku). Bylo zjištěno, že základní vzorek, s nejvyšším OD, obsahoval přibližně 615 milionů buněk v 1 ml. Oproti tomu v nejvíce ředěném vzorku, s nejnižším OD, bylo zaznamenáno přibližně 17 milionů buněk v 1 ml. Tyto výsledky odpovídají vytvořené řadě ředění. Podle WHO (2003) je už při koncentraci 20 000 buněk v 1 ml dosaženo nízké úrovně pravděpodobnosti nepříznivých účinků sinic na zdraví, které se mohou projevit podrážděním kůže nebo gastrointestinálním onemocněním.

Dále byl v namíchané kalibrační řadě kmene *Synechocystis* zjištěn objem buněk, a to v rozmezí od 3 do 6  $\mu\text{m}^3$ , což odpovídá zjištěné průměrné velikosti buňky přibližně 2  $\mu\text{m}$ . Získaná velikost buňky je shodná s velikostí, kterou uvádí Zavřel a kol. (2017).

Pomocí kalibrační řady kmene *Synechocystis* byl následně vypočten buněčný objem (objem buněčné hmoty v 1 ml). Bylo zjištěno, že v nejvíce ředěném vzorku byla hodnota objemu buněk přibližně  $0,2 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Naopak v neřaděném základním vzorku činila hodnota objemu skoro  $5,6 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . To opět svědčí o provedeném ředění, neboť v nejméně ředěných vzorcích nabýval buněčný objem vyšších hodnot než ve více ředěných vzorcích.

Při první fázi experimentu bylo zjištěno, že během šedesáti dní při teplotě 25 °C v inkubační komoře vykazoval růst kmene *Synechocystis* velmi podobné hodnoty ve všech kultivačních médiích. Tento výsledek byl způsoben nesprávným postupem při namíchání jednotlivých médií. Podle Yu a kol. (2013) je rychlost příjmu  $\text{NO}_3^-$  0,46 g N/g suché hmotnosti buněk  $\text{d}^{-1}$ . Koncentrace N ve všech médiích byla 22krát vyšší oproti předpokládanému stavu. Na základě výsledků měření byl pozorován poměrně vysoký růstový potenciál při vyšší teplotě, ovšem rozdíl v růstu mezi jednotlivými médii by byl znatelný až po delší době kultivace. Yu a kol. (2013) uvádí, že průměrná doba zdvojení kmene *Synechocystis* za optimálních světelných podmínek je 7 až 10 h.

Během druhé fáze byl kmen *Synechocystis*, po namíchání nových kultivačních médií, znovu kultivován při teplotě 25 °C v inkubační komoře s dvanácti hod. světlem po dobu šedesáti dní. Bylo dosaženo vysokých buněčných objemů, přičemž mezi jednotlivými koncentracemi nebyly pozorovány významné rozdíly v růstu. Nejpomalejší růst byl zjištěn při koncentraci N v médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>). Dále byly pozorovány tři fáze růstové křivky, a to lag, exponenciální a stacionární fáze. Fáze útlumu způsobená nedostatkem N by se projevila degradací fykobilisomů, která vyvolává žlutozelené zbarvení buněk (Van Alphen a kol., 2018). Nejvyšší hodnoty buněčného objemu byly zaznamenány v médiu M3 (0,6 mg N · l<sup>-1</sup>), kde přesáhly hodnotu 0,7 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>. Z výsledků je však patrné, že v tomto médiu docházelo ke konci kultivace ke stagnaci růstu, oproti médiu M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>), které vykazovalo nadále exponenciální růst. Po porovnání s předchozím výsledkem z první fáze experimentu, kdy objem buněk dosahoval hodnot přes 2,5 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>, bylo v této fázi dosaženo pouze 0,7 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>. Z toho lze usoudit, že při nižších koncentracích N v médiu není dosahováno vyššího růstového trendu.

Ve čtvrté fázi experimentu, při nižší teplotě a s délkou kultivace 60 dní, vykazoval kmen *Synechocystis* mnohem nižších růstových trendů než při vyšší teplotě. Z výsledků také vyplývají patrné rozdíly v růstu mezi jednotlivými kultivačními médii. Při nejnižší koncentraci N (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zjištěn nejmenší růst a s postupně se zvyšujícími koncentracemi N byl pozorován narůstající trend růstu.

Na základě výsledků kultivace kmene *Synechocystis* lze konstatovat, že při vyšší teplotě bylo v médiích s vyššími koncentracemi N dosaženo spíše vyššího růstového trendu než v médiích s nižším obsahem N. Při nižší teplotě bylo dosaženo mnohem

nižšího růstového trendu než při vyšší teplotě a rozdíl mezi jednotlivými koncentracemi N byl velmi znatelný. Podle Inoue a kol. (2001) dochází k maximálnímu růstu kmene *Synechocystis* při 30 °C. Mezi teplotami 25 až 40 °C dosahuje růst podobných rychlostí. Při teplotách pod 25 °C buňky trpí stresem, což se projevuje zpomalením růstu. Esteves-Ferreira a kol. (2017) zjistili, že při kultivaci kmene *Synechocystis* v přirozeně dostupných zdrojích N ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , močovina a některé aminokyseliny) vykazovaly buňky kultivované s močovinou nejvyšších růstové rychlosti.

Pro kmen *Cyanobium* jsou typické oválné, široce oválné až krátce cylindrické buňky, které byly během experimentu pozorovány pomocí mikroskopu. Pro buňky jsou dále charakteristické úzké slizové obaly. Jejich dělení je symetrické a probíhá vždy na 2 polokulovité dceřiné buňky (Komárek, 1999). Albrecht a kol. (2017) uvádí, že kmen *Cyanobium* může být celosvětově nejvýznamnějším zástupcem pikosinic ve sladkých eutrofních a brakických vodách.

Pomocí kalibrační řady kmene *Cyanobium* byl zjištěn počet a objem buněk. Kalibrační řadu tvořil základní neředěný vzorek a 6 zkumavek (6 vzorků) vzniklých postupným ředěním základního vzorku. Bylo zjištěno, že v základním vzorku, s nejvyšším OD, bylo přibližně 970 miliónů buněk v 1 ml. Počet buněk klesal se zvyšujícím se počtem ředění, takže v posledním nejvíce ředěném vzorku, s nejnižším OD, byl počet buněk nižší než 20 miliónů buněk v 1 ml. Albrecht a kol. (2017) uvádí, že během roku 2006 se v Baltském moři vyskytoval kmen *Cyanobium* v počtu 2 až 21 miliónů buněk v 1 ml a společně s řádem *Synechococcales* tvořil 47 až 93 % biomasy fytoplanktonu.

V namíchané kalibrační řadě kmene *Cyanobium* bylo dále zjištěno, že objem jednotlivých buněk se nejčastěji nacházel v rozmezí mezi 1 až 2  $\mu\text{m}^3$ . Tato hodnota odpovídá přibližně 1,5  $\mu\text{m}$  průměrné velikosti buňky. Komárek (1999) uvádí, že průměrná velikost buňky kmene *Cyanobium* nabývá hodnoty 1,35  $\mu\text{m}$ .

Poslední hodnota, která byla pomocí namíchané kalibrační řady kmene *Cyanobium* získána, byl buněčný objem. Bylo zjištěno, že nejnižší hodnoty buněčného objemu, pod  $0,1 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ , se nacházely hned u tří nejvíce ředěných vzorků. Oproti tomu u neředěného základního vzorku dosahovala hodnota objemu přes  $1,9 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ .

Během druhé fáze, při 25 °C v inkubační komoře s dvanácti hod. světlem, byl kultivován kmen *Cyanobium* po dobu šedesáti dní. Z výsledků je zřejmé, že růst dosáhl k hodnotám objemu buněk  $0,5 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ , poté nastala poslední fáze růstové křivky,



tzv. fáze útlumu. Ta mohla být způsobena vyčerpáním živin v médiu. Yamagishi a kol. (2013) uvádí, že specifická růstová rychlost kmene *Cyanobium* je  $1,16 \text{ d}^{-1}$ . Nejrychlejší růstový trend byl zaznamenán v médiu M4 ( $0,9 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Nicméně rozdíly v jednotlivých růstových trendech nejsou příliš znatelné. To by mohlo být způsobeno vytvořením vhodných růstových podmínek ve všech kultivačních médiích.

Kmen *Cyanobium*, ve čtvrté fázi experimentu při nižší teplotě a s délkou kultivace 60 dní, vykazoval nejnižší růstový trend v médiích o nejnižší koncentraci N, a to v M1 ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a M2 ( $0,3 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Naopak nejvyššího trendu bylo dosaženo v médiu o nejvyšší koncentraci N ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Během posledních dnů kultivace byl pozorován pokles hodnot objemu buněk v pořadí od nejnižší koncentrace N ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) po nejvyšší koncentraci N v médiu ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). To by mohlo být zapříčiněno postupnou spotřebou až nedostatkem N nebo P, který je obecně pokládán za limitující živinu růstu sinic.

Při srovnání výsledků růstových trendů kmene *Cyanobium* při nižší a vyšší teplotě je zřejmé, že optimální růstové podmínky byly vytvořeny v inkubační komoře s vyšší teplotou a v médiích o vyšších koncentracích N. Při nižší teplotě byl zaznamenán pomalejší růst s výraznějšími výkyvy v růstových trendech v jednotlivých médiích a vyšší rychlost spotřeby živin. Ke konci kultivace v obou teplotách byl zaznamenán pokles růstu. Ten mohl být způsoben vyčerpáním živin, během kterého kmen *Cyanobium* vytváří kolonie (Albrecht a kol. (2017)).

Mezi kmény *Synechocystis* a *Cyanobium* byla zjištěna podobná velikost buněk. Tato podobnost byla pozorována také v práci Jezberové a Komárkové (2007). Zároveň byly tyto kmény vhodné pro přesné měření OD, jelikož vytvářely homogenní suspenzi (Hodáčová, 2011). Dále bylo u obou kmenů zjištěno, že při vyšší teplotě dosahují v médiích s koncentrací  $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$  vyššího růstu.

Řád *Nostocales* obsahuje vláknité sinice vytvářející kolonie s akinety a heterocyty. Většina zástupců má tak schopnost fixovat  $\text{N}_2$  (Rajaniemi a kol., 2005). Největší podíl při tvorbě vodního květu z vláknitých sinic na našem území mají zástupci sinic: *Anabaena*, *Planktothrix* a *Aphanizomenon* (Kopp a Sukop, 2012). Kmen *A. lemmermannii* je nejčastějším kmenem z rodu *Anabaena*. Během experimentu byly pozorovány charakteristická plovoucí vlákna, nepravidelně zkroucená v koloniích. Samotné buňky byly soudečkovitě podlouhlé a heterocyty nabývaly kulovitěho tvaru. Pro kmen jsou dále

typické oválné až cylindrické akinety vytvářející shluky. Hojně se vyskytuje např. v celém povodí Labe (Komárek, 1999).

Vytvořením kalibrační řady kmene *A. lemmermannii* byl zjištěn počet a objem buněk. Kalibrační řada byla tvořena celkem 6 zkumavkami (základní neřaděný vzorek a 5 vzorků vzniklých postupným ředěním základního vzorku). Bylo zjištěno, že základní vzorek, s nejvyšším OD, obsahoval skoro 120 miliónů buněk v 1 ml. Oproti tomu ve 3 nejvíce řaděných vzorcích, s nejnižším OD, nepřesáhl počet buněk 12 miliónů v 1 ml. Callieri a kol. (2014) uvádí, že v italském jezeře Maggiore od roku 2005 pokrývá kmen *A. lemmermannii* během léta rozsáhlé zóny na hladině, a to v množství 2 milióny buněk v 1 ml.

Dále byl v namíchané kalibrační řadě kmene *A. lemmermannii* zjištěn objem jednotlivých buněk, a to v rozmezí od 20 do 40  $\mu\text{m}^3$ . To odpovídá zjištěné průměrné velikosti buňky přibližně 4  $\mu\text{m}$ . Komárek (1999) uvádí velikost buněk kmene *A. lemmermannii* od 2,5 do 12,1  $\mu\text{m}$ .

Pomocí kalibrační řady kmene *A. lemmermannii* byl následně vypočten buněčný objem. Bylo zjištěno, že v nejvíce řaděném vzorku byla hodnota buněčného objemu přes 0,14  $\text{mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Naopak v neřaděném základním vzorku činila hodnota objemu skoro 0,88  $\text{mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Tyto výsledky opět svědčí o provedeném ředění, neboť v nejméně řaděných vzorcích nabýval buněčný objem vyšších hodnot než ve více řaděných vzorcích. Příklad buněčného objemu kmene *A. lemmermannii* z reálného prostředí uvádí práce Palacio a kol. (2015), podle které byl v přehradě Rio Grande (Colorado, USA) v červnu 2012 zjištěn buněčný objem 0,0028  $\text{mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . To je při srovnání s hodnotami z experimentu provedeného v rámci této diplomové práce mnohem méně.

Během třetí fáze experimentu byl kmen *A. lemmermannii* kultivován při teplotě 25 °C v inkubační komoře s dvanácti hod. světlem po dobu celkem devadesáti dní. Během čtyřiceti dní byl zaznamenán velmi pomalý růst, při kterém bylo v médiích M2 (0,3  $\text{mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a M3 (0,6  $\text{mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) dosaženo nejvyšších růstových trendů. Tyto výsledky ovšem nemusejí být zcela reprezentativní, neboť při měření OD byly naměřeny velmi nízké hodnoty a zároveň byly pozorovány shluky sinic, které mohly výsledky měření ovlivnit.

K obecně známému poznatku, že při vyšší koncentraci kultury dochází k jejímu rychlejšímu nárůstu, bylo do kultivačních zkumavek kmene *A. lemmermannii*

přidáno určité množství téže kultury. V médiu s nejnižší koncentrací N ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) byl zaznamenán nejnižší trend růstu, v ostatních médiích bylo dosaženo vyšších růstových trendů. Nejvyššího růstové trendu bylo dosaženo v médiu M4 ( $0,9 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Nicméně mezi jednotlivými médii nebyla prokázána přímá úměra mezi množstvím N a rychlostí růstu v daném médiu. Komárková (1988) uvádí, že čím je rychlost růstu vyšší, tím jsou menší velikosti buněk a buňky se více shlukují. Shluky byly pozorovány také během experimentu, což mohlo negativně ovlivňovat výsledky měření OD.

Čtvrtá fáze experimentu probíhala při nižší teplotě, s délkou kultivace 60 dní a s 12 hod. periodou světla. Kmen *A. lemmermannii* vykazoval mnohem nižší růstový trend než při vyšší teplotě. Z výsledků bylo zjištěno, že růstový potenciál je poměrně dobrý ve všech kultivačních médiích (M1 až M5). Nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu s nejvyšší koncentrací N ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ), nejnižší růst byl pozorován v médiu M2 ( $0,3 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

Při páté fázi experimentu byl kmen *A. lemmermannii* kultivován 50 dní při vyšší teplotě, podobně jako během třetí fáze experimentu. Bylo zjištěno, že při vyšší hustotě buněk dochází k rychlejšímu růstu, avšak rozdíly mezi jednotlivými kultivačními médii nebyly zcela zřetelné. To by mohlo znamenat, že při velkém množství biomasy kmene *A. lemmermannii* nehraje N klíčovou roli v ovlivňování růstu. Tato role mohla přejít na množství dostupných stopových kovů, jak uvádí Dengg a kol. (2022).

Při srovnání třetí a čtvrté fáze experimentu bylo zjištěno, že kmen *A. lemmermannii* dosahuje vyššího růstu při vyšší teplotě, což odpovídá teorii Berga a Sutuly (2015), podle které při nižších teplotách dochází ke snížení růstu. Dále bylo zjištěno, že kromě výsledku z páté fáze, kde N nehrál klíčovou roli v ovlivnění růstu, a první části třetí fáze, je nejnižšího růstu dosaženo v médiích s nejnižší koncentrací N ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a v ostatních koncentracích bylo dosahováno vyššího růstu.

Během experimentu byla u kmene *A. compacta* pozorována typická volně plovoucí vlákna s kulovitými buňkami. Dále jsou pro kmen charakteristické sférické heterocyty a oválné akinety. Vyskytují se v mezotrofních a eutrofních jezerech a nádržích, převážně v severních částech Německa (Komárek, 1999).

Pomocí kalibrační řady kmene *A. compacta* byl zjištěn počet a objem buněk. Kalibrační řadu tvořil základní neřaděný vzorek a 6 zkumavek (6 vzorků) vzniklých postupným ředěním základního vzorku. Ve 4 nejvíce ředěných vzorcích, s nejnižším OD,

bylo zjištěno množství buněk pod 6 miliónů v 1 ml. Počet buněk postupně stoupal se snižujícím se počtem ředění, takže v základním neředěném vzorku, s nejvyšším OD, byl počet buněk skoro 150 miliónů buněk v 1 ml. V řece Uruguay byly během letních sezón 2006 až 2009 pozorovány především kmeny *A. compacta* a *Microcystis aeruginosa*, jejich hustota dosahovala k 6,2 miliónům buněk v 1 ml (Ferrari a kol., 2011).

V namíchané kalibrační řadě kmene *A. compacta* bylo dále zjištěno, že objem buňky se nejčastěji nacházel v rozmezí mezi 40 až 60  $\mu\text{m}^3$ . Tato hodnota odpovídá přibližně 5  $\mu\text{m}$  průměrné velikosti buňky.

Pomocí kalibrační řady kmene *A. compacta* byla zjišťována hodnota buněčného objemu. Nejvyšší hodnota buněčného objemu, skoro  $1,8 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ , se nacházela u neředěného základního vzorku. Nejnižší hodnota byla stejná jako u kmenů *Synechocystis* a *Cyanobium*, a to pod  $0,1 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ .

Ve třetí fázi experimentu byl kmen *A. compacta* kultivován stejně jako kmen *A. lemmermannii* (90 dní, vyšší teplota, 12 hod. světlo) a během čtyřiceti dní byly zaznamenány podobné výsledky. Kmen *A. compacta* vykazoval velmi pomalý růst, ovšem na rozdíl od kmene *A. lemmermannii* byly zaznamenány větší rozdíly mezi růstovými trendy v jednotlivých kultivačních médiích (M1 až M5). Nejvyššího růstového trendu bylo dosaženo v médiu s nejvyšší koncentrací N ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Nejnižší růst byl zaznamenán v médiích s nejnižšími koncentracemi N ( $0,1 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$  a  $0,3 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Bohužel tyto výsledky nemusejí být zcela přesné, jelikož při měření OD byly získány velmi nízké hodnoty a také kmen *A. compacta* vytvářel shluky, které mohly měření ovlivnit.

Dále bylo ve třetí fázi postupováno jako u kmene *A. lemmermannii*, jelikož bylo předpokládáno, že při vyšší koncentraci kultury dochází k jejímu rychlejšímu nárůstu. Bylo tedy přidáno určité množství kultury kmene *A. compacta*. Na základě výsledků bylo zjištěno, že získaný růstový trend dosáhl podobných výsledků, které byl zaznamenány ve fázi před přidáním tohoto množství buněk, tudíž nejvyšší růstový trend byl zjištěn v médiu M5 ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Oproti tomu nejnižšího růstu bylo dosaženo v médiu M2 ( $0,3 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

Během čtvrté fáze experimentu probíhala kultivace kmene *A. compacta* při nižší teplotě, s délkou kultivace 60 dní a s 12 hod. periodou světla. Bylo zjištěno, že získané

růstové trendy jsou podobné jako při vyšší teplotě. Z výsledků vyplývá, že nejvyšších růstových rychlostí bylo dosaženo při vyšších koncentracích N (0,9 a 1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Nejvyššího růstové trendu bylo dosaženo v médiu M4 (0,9 mg N · l<sup>-1</sup>). Naopak nejnižší trend byl zaznamenán v médiu s nejnižší koncentrací N (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>).

Během páté fáze experimentu byl kmen *A. compacta* kultivován při vyšší teplotě, po dobu 50 dní, podobně jako u třetí fáze experimentu, ovšem v koncentrovanějším množství. Byl zaznamenán opět podobný trend růstu jako během předchozích fází experimentu u téhož kmene. Nejvyšší růst byl zaznamenán v médiu M5 (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). V médiu M1 (0,1 mg N · l<sup>-1</sup>) byl zjištěn nejpomalejší růst. Obecně lze konstatovat, že nejvyššího růstu je dosahováno v médiích s nejvyššími koncentracemi N.

Při srovnání všech fází experimentu kmene *A. compacta* bylo zjištěno, že při vyšší teplotě dochází k rychlejšímu růstu. Stejného závěru bylo dosaženo i u *A. lemmermannii*. To opět odpovídá teorii Berga a Sutuly (2015), kteří uvádějí, že při vyšších teplotách dochází k rychlejšímu růstu.

Dále bylo zjištěno, že koncentrace N se podílí na ovlivnění růstové rychlosti. Pokud byl kmen *A. compacta* kultivován v médiích s vyššími koncentracemi N, dosáhl vždy vyššího růstu než v médiích s nižšími koncentracemi N. Dále bylo zaznamenáno, že u kmenů *A. compacta* a *lemmermannii* kultivovaných při vyšší teplotě v médiích s vyššími koncentracemi N bylo dosahováno vyšších růstových trendů, což zcela nepotvrzuje závěr Zapomělové a kol. (2010), která uvádí, že při nízkých koncentracích N u sinic obsahujících heterocyty nebylo pozorováno významné ovlivnění růstu, jelikož vybraní zástupci byly schopni fixace N<sub>2</sub>. Ovšem Thomas a Litchman (2016) prokázali, že u kmene *Cylindrospermopsis raciborskii*, který je schopen fixace N<sub>2</sub>, nedostatek N snížil toleranci k vysokým teplotám a naopak zvýšil toleranci k nízkým teplotám. To naznačuje, že kmen *Cylindrospermopsis raciborskii* bude dosahovat vyšších koncentrací na začátku sezóny (tj. při nižších teplotách).

U kmene *A. reniformis* byla pozorována charakteristická vlákna v malých koloniích nebo jednotlivě. Dále jsou pro kmen typické soudečkovité až oválné buňky. Heterocyty jsou kulovité až elipsoidní a akinety kulovitěho tvaru vznikají po jedné nebo obou stranách heterocytů. Sinice tohoto kmene se vyskytují především během podzimu (Komárek, 1999).

Vytvořením kalibrační řady kmene *A. reniformis* byl zjištěn počet a objem buněk. Kalibrační řada byla tvořena zkumavkou s neřaděným vzorkem a 5 zkumavkami vzorků vzniklými postupným ředěním základního vzorku. Bylo zjištěno, že v neřaděném vzorku, s nejvyšším OD, bylo skoro 130 miliónů buněk v 1 ml. Oproti tomu v nejvíce řaděných vzorcích, s nejnižším OD, byly zaznamenány hodnoty počtu buněk pod 6 miliónů v 1 ml. Tyto výsledky odpovídají vytvořené řadě ředění.

Dále byl v namíchané kalibrační řadě kmene *A. reniformis* zjištěn objem jedné buňky, a to v rozmezí od 60 do 80  $\mu\text{m}^3$ . To odpovídá zjištěné průměrné velikosti buňky přibližně 5,5  $\mu\text{m}$ . Získaná velikost buňky je shodná s velikostí, kterou uvádí Komárek (1999).

Pomocí kalibrační řady kmene *A. reniformis* byl následně vypočten buněčný objem. Bylo zjištěno, že v nejvíce řaděném vzorku byla hodnota buněčného objemu pod  $0,1 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Naopak v neřaděném základním vzorku činila hodnota objemu skoro  $2,2 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . To opět svědčí o provedeném ředění, neboť v nejméně řaděných vzorcích nabýval buněčný objem vyšších hodnot než ve více řaděných vzorcích.

U kmene *A. reniformis* byl růst pozorován jen při vyšším množství buněk a při vyšší teplotě, po dobu 50 dní. Bylo zjištěno, že během kultivace trend růstu spíše klesal a v posledních dnech začal stagnovat. Nejmírnější pokles byl pozorován v médiu s nejvyšší koncentrací N ( $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Na základě výsledků je možné konstatovat, že kmen *A. reniformis* při začátku kultivace s vyšším množstvím snižuje svůj růst až do doby, než se přizpůsobí novým podmínkám.

Ve srovnání s předchozími kmeny *A. compacta* a *A. lemmermannii* je kmen *A. reniformis* citlivější na změnu kultivačních podmínek, a také u něj byl vypočítán nejvyšší objem buňky. U *A. lemmermannii* byl ve srovnání s ostatními kmeny *Anabaena* zjištěn objem buňky nejnižší. Dále byl u všech tří kmenů *Anabaena* zjištěn podobný počet buněk v 1 ml. Tyto hodnoty jsou mnohem nižší než u kmenů *Synechocystis* a *Cyanobium*.

Během šesté fáze probíhala kultivace kmenů *Synechocystis* a *A. lemmermannii* společně při vyšší teplotě se 14. hod. světlem po dobu 60 dnů. Bylo zjištěno, že při společné kultivaci bylo dosaženo v médiích s vyššími koncentracemi N ( $0,9$  a  $1,2 \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$ ) vyšších růstových trendů, které dosahovaly k hodnotě  $0,20 \text{ mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Pomocí dalších experimentů by bylo možné stanovit míru kompetice mezi kmeny.

Z experimentů lze pozorovat, že všechny vybrané kmeny jsou schopné růst v širokém rozmezí teplotních podmínek a v prostředí s různými koncentracemi N. Byl učiněn závěr, že všechny vybrané kmeny s výjimkou *A. reniformis* vykazovaly lepší růst při vyšší teplotě. Callieri a kol. (2014) uvádí, že nejvyšší spotřeba živin (C a N) sinicemi bývá na jaře, oproti tomu během podzimu roste spotřeba P. Na základě této skutečnosti a výsledků experimentu lze konstatovat, že s rostoucími teplotami v období jaro-léto budou koncentrace N v rybnících ovlivňovány kmeny: *Synechocystis*, *Cyanobium*, *A. lemmermannii* a *A. compacta*.

## 6 Závěr

Diplomová práce se zabývá rychle rostoucími jednobuněčnými sinicemi (*Synechocystis* a *Cyanobium*) a pomaleji rostoucími vláknitými sinicemi schopnými fixace atmosférického N (*A. lemmermannii*, *A. compacta* a *A. reniformis*). Oba tyto typy sinic se vyskytují v našich eutrofních až hypertrofních rybnících. Experiment byl zaměřen na pozorování růstu vybraných zástupců z obou uvedených typů při dvou různých teplotách v prostředí s odlišnými koncentracemi N, které lze naměřit v našich rybnících.

Bylo zjištěno, že kmeny *Synechocystis* a *Cyanobium* při teplotě 25 °C dosáhly v médiích s nejvyšší použitou koncentrací (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) vyššího růstu a docílily buněčných objemů od 0,5 do 0,7 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>. Při vyšším množství N v médiu (od 2 do 22 mg N · l<sup>-1</sup>) dosahovala u kmene *Synechocystis* nejvyšší hodnota buněčného objemu 2,7 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>. U kmenů *A. lemmermannii* a *A. compacta* bylo zaznamenáno, že při teplotě 25 °C v médiích s vyššími koncentracemi N (0,9 a 1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) bylo dosahováno vyšších růstových trendů. Zjištěné buněčné objemy při kultivaci vyššího množství kultury kmenů *A. lemmermannii* a *A. compacta* dosahovaly hodnot od 0,38 do 0,7 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>. Pouze u kmene *A. reniformis* nebyl při teplotě 25 °C pozorován růst. Ze společného růstu *Synechocystis* a *A. lemmermannii* při teplotě 25 °C lze usoudit, že v médiu s nevyšší koncentrací N (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) bylo dosaženo buněčného objemu 0,2 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>.

Při teplotě 22 °C byl zaznamenán u všech kultivovaných kmenů v médiích s nízkými koncentracemi N (0,1 a 0,3 mg N · l<sup>-1</sup>) nižší růst. U kmenů *Synechocystis* a *Cyanobium* byly zjištěny nejvyšší buněčné objemy od 0,14 do 0,22 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup> v médiích s vyššími koncentracemi N (0,9 a 1,2 mg N · l<sup>-1</sup>). Buněčné objemy u kmenů *A. lemmermannii*, *A. compacta* vykazovaly nižších hodnot (0,11 a 0,34 mm<sup>3</sup> · ml<sup>-1</sup>) oproti výsledkům z vyšší teploty.

Byl učiněn závěr, že při teplotě 25 °C a při vyšších koncentrací N (1,2 mg N · l<sup>-1</sup>) vykazují sinice, kromě kmene *A. reniformis*, vyššího růstu. Kromě zvýšené teploty tedy při růstu hraje významnou roli i zvýšená koncentrace N. Z toho lze usoudit, že během letního období budou v našich rybnících s dostatečným obsahem N všechny zkoumané sinice, s výjimkou *A. reniformis*, ochotně zvětšovat svoji biomasu a budou tak ovlivňovat rybníční management.



## 7 Přehled použité literatury

- Adams, D. G., Duggan, P. S., 1999. Tansley Review No. 107. Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. *New Phytologist*, **144**, s. 3-33.
- Albrecht, M., Pröschold, T., Schumann, R., 2017. Identification of Cyanobacteria in a eutrophic coastal lagoon on the Southern Baltic Coast. *Frontiers in microbiology*, **8**(923).
- Ambrožová, J., 2002. *Mikroskopické praktikum z hydrobiologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN: 80-7080-496-3
- Andreeva, N. A., Melnikov, V. V., Snarskaya, D. D., 2020. The role of cyanobacteria in marine ecosystems. *Russian Journal of Marine Biology*, **46**(3), s. 154-165.
- Arshad, S., Mishra, S., Sherman, L. A., 2014. The effects of different light–dark cycles on the metabolism of the diazotrophic, unicellular cyanobacteria *Cyanothece* sp. ATCC 51142, and *Cyanothece* sp. PCC 7822. *Journal of phycology*, **50**(5), s. 930-938.
- Baxa, M., Baxová Chmelová I., Benedová, Z., Duras, J., Hrubec, R., Kröpfelová, L., Novotný, O., Pokorný, J., Potužák, J., Svoboda, T., Šulcová, J., 2017. *Technologický postup recyklace živin z rybníčních sedimentů s využitím sacího bagru, integrované stanice pro dávkování flokulantu a geotextilních vaků pro lokální aplikaci v mikropovodí*. Třeboň: Enki o.p.s., 51 s. ISBN: 978-80-905483-0-5
- Beevers, H., 1980. The role of the glyoxylate cycle. In: *Lipids: Structure and Function* Academic Press, s. 117-130.
- Beljakova, G. A., Djakov, Ju. T., Tarasov, K. L., 2006. *Botanika. T.1. Vodorosli i griby: učebnik dlja studentov vysšich učebnyh zavedenij*. Moskva: Akademija. ISBN: 5-7695-2731-5.
- Belkin, S., Colwell, R. R., 2006. *Oceans and health: pathogens in the marine environment*. New York: Springer Science and Business Media. 464 s.
- Berg, M., Sutula, M., 2015. *Factors affecting the growth of cyanobacteria with special emphasis on the Sacramento-San Joaquin Delta*. Southern California: Project Technical Report 869, 100 s.
- Bergman, B., 1980. Stimulation of nitrogenase activity and photosynthesis in some cyanobacteria by glyoxylate. *Physiologia plantarum*, vol. **49**(4), s. 398-404.
- Bergman, B., Gallon, J. R., Rai, A. N., Stal, L. J., 1997. N<sub>2</sub> fixation by non-heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiology reviews*, **19**(3), s. 139-185.

- Berman-Frank, I., Lundgren, P., Falkowski, P., 2003. Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. *Research in microbiology*, **154**, s. 157-164.
- Bernát, G., Zavřel, T., Kotabová, E., Kovács, L., Steinbach, G., Vörös, L., Prášil, O., Somogyi, B., Tóth, V. R., 2021. Photomorphogenesis in the Picocyanobacterium *Cyanobium gracile* Includes Increased Phycobilisome Abundance Under Blue Light, Phycobilisome Decoupling Under Near Far-Red Light, and Wavelength-Specific Photoprotective Strategies. *Frontiers in plant science*, **12**(352).
- Bílý, V., 2020. Ministr zemědělství: Současné vodní zdroje v budoucnu nepostačí, je nutné rozšířit seznam území pro možné stavby vodních nádrží. In: *eAGRI.cz* [online]. Praha: 11.05. 2020 [cit. 19.03.2022]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2020\\_ministr-zemedelstvi-soucasne-vodni.html](https://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2020_ministr-zemedelstvi-soucasne-vodni.html)
- Brönmark, C., Hansson, L. A., 2017. *The biology of lakes and ponds*. Oxford: Oxford university press, 285 s.
- Büdel, B., 2011. Cyanobacteria: habitats and species. In: *Plant desiccation tolerance*. Berlín: Springer, s. 11-21.
- Callieri, C., Bertoni, R., Contesini, M., Bertoni, F., 2014. Lake level fluctuations boost toxic cyanobacterial “oligotrophic blooms”. *Plos one*, **9**(10).
- Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., Brookes, J. D., 2012. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research*, **46**(5), s. 1394-1407.
- Carmichael, W. W., 1992. Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. *Journal of applied bacteriology*, **72**(6), s. 445-459.
- Codd, G. A., Meriluoto, J., Metcalf, J. S., 2017. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. West Sussex: John Wiley and Sons.
- Davey, A., Marchant, H. J., 1983. Seasonal variation in nitrogen fixation by *Nostoc commune* Vaucher at the Vestfold Hills, Antarctica. *Phycologia*, **22**(4), s. 377-385.
- De Tezanos Pinto, P., Litchman, E., 2010. Eco-physiological responses of nitrogen-fixing cyanobacteria to light. *Hydrobiologia*, 639(1), s. 63-68.
- Dengg, M., Stirling, C. H., Reid, M. R., Verburg, P., Armstrong, E., Kelly, L. T., Wood, S. A., 2022. Growth at the limits: comparing trace metal limitation of a freshwater cyanobacterium (*Dolichospermum lemmermannii*) and a freshwater diatom (*Fragilaria crotonensis*). *Scientific reports*, **12**(1), s. 1-12.

- Doležalková, I., 2010. Účinky vybraných monoacylglycerolů na růst bakterií a mikroskopických vláknitých hub. Brno, Rigózní práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.
- Downing, J. A., Watson, S. B., Mccauley, E., 2001. Predicting Cyanobacteria dominance in lakes, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **58**(10), s. 1905-1908.
- Drobac Backović, D., Tokodi, N., Marinović, Z., Lujić, J., Dulić, T., Simić, S. B., Nevena B. Đorđević, Kitanović, N., Šćekić, I., Urbányi, B., Meriluoto, J., Svirčev, Z., 2021. Cyanobacteria, cyanotoxins, and their histopathological effects on fish tissues in Fehérvárcsurgó reservoir, Hungary. *Environmental Monitoring and Assessment*, **193**(9), s. 1-14.
- Duras J., Potužák J., Marcel, M., 2015. Rybníky-producenti či příjemci znečištění? In: *Sborník referátů třetího ročníku odborné konference*. České Budějovice: Rybářské sdružení, s. 67-72. ISBN: 978-80-87699-04-1.
- Duras, J., Potužák, J., 2012. Látková bilance fosforu v produkčních a rekreačních rybnících. *Vodní hospodářství*, **6**, s. 14-20.
- Dvořáková, D., Dvořáková, K., Bláha, L., Maršálek, B., Knotková, Z., 2002. Effects of cyanobacterial biomass and purified microcystins on malformations in *Xenopus laevis*: teratogenesis assay (FETAX). *Environmental Toxicology: An International Journal*, **17**(6), s. 547-555.
- Ernst, A., Deicher, M., Herman, P. M., Wollenzien, U. I., 2005. Nitrate and phosphate affect cultivability of cyanobacteria from environments with low nutrient levels. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**(6), s. 3379-3383.
- Esteves-Ferreira, A. A., Inaba, M., Obata, T., Fort, A., Fleming, G. T., Araújo, W. L., Alisdair, R. F., Sulpice, R., 2017. A novel mechanism, linked to cell density, largely controls cell division in *Synechocystis*. *Plant Physiology*, **174**(4), s. 2166-2182.
- Falkner, R., Wagner, F., Aiba, H., Falkner, G., 1998. Phosphate-uptake behaviour of a mutant of *Synechococcus* sp. PCC 7942 lacking one protein of the high-affinity phosphate-uptake system. *Planta*, **206**(3), s. 461-465.
- Fallon, R. D. a Brock, T. D., 1981. Overwintering of *Microcystis* in lake Mendota. *Freshwater Biology*, **11**(3), s. 217-226.
- Fay, P., 1976. Factors influencing dark nitrogen fixation in a blue-green alga. *Applied and environmental mikrobiology*, vol. **31**(3), s. 376-379.
- Fay, P., 1992. Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiological reviews*, **56**(2), s. 340-373.

- Ferrari, G., Pérez, M. D. C., Dabiez, M., Míguez, D., Saizar, C., 2011. Planktic cyanobacteria in the lower Uruguay river, South America. *Fottea*, **11**(1), s. 225-234.
- Fogg, G. E., 1987. Marine planktonic cyanobacteria. In: *The cyanobacteria*. Amsterdam: Elsevier Science B.V, s. 393-410.
- Gallon, J. R., 1981. The oxygen sensitivity of nitrogenase: a problem for biochemists and microorganisms. *Trends in Biochemical Sciences*, vol. **6**, s. 19-23.
- Garcia-Pichel, F., Belnap, J., Neuer, S., Schnaz, F., 2003. Estimates of global cyanobacterial biomass and its distribution. In: *Algological Studies*. Stuttgart: E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, s. 213-227.
- Grosse, J., Burson, A., Stomp, M., Huisman, J., Boschker, H. T., 2017. From ecological stoichiometry to biochemical composition: variation in N and P supply alters key biosynthetic rates in marine phytoplankton. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 1299 s.
- Gu, Z., 2012. Life Cycle of Bloom-forming cyanobacteria and its influencing factors. In: *Applied Mechanics and Materials* (Vol. 209). Switzerland: Trans Tech Publications, s. 1227-1230.
- Guerrero, M. G., Lara, C., 1987. Assimilation of inorganic nitrogen. In: *The cyanobacteria*. Amsterdam: Elsevier Science B.V, s. 163-186.
- Hargreaves, J. A., 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture*, **166**(3-4), s. 181-212.
- Hartman, P., Štědranský, E., Příkryl, I., 1998. *Hydrobiologie*. Praha: Informatorium, 335 s. ISBN 80-86073-27-0.
- Hejzlar, J., Borovec, J., 2004. Fosfor ve vodních ekosystémech-formy, stanovení, koloběhy. In: *Sborník z konference Cyanobakterie*. Brno: Aquatis, a.s., s. 85-95.
- Hindák, F., Kvíderová, J., Lukavský, J., 2013. Growth characteristics of selected thermophilic strains of cyanobacteria using crossed gradients of temperature and light. *Biologia*, **68**(5), s. 830–837.
- Hodáčová, A., 2011. Sinice spojené se stromatolitovými biofilmy v německém potoce Westerhöfer. Praha, Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta.
- Hofmann, H. J., 1976. Precambrian microflora, Belcher Islands, Canada: significance and systematics. *Journal of Paleontology*, vol. **50**(6), s. 1040-1073.
- Hoiczky, E., 2000. Gliding motility in cyanobacteria: observations and possible explanations. *Archives of mikrobiology*, **174**, s. 11-17.

Hrbáček, J., 1981. *Produkční vztahy, výchozí struktura pro posuzování faktorů eutrofizace údolních nádrží*. Praha: Academia, 58 s.

Huesemann, M. H., Bartha, R., Hausmann, T. S., Benemann, J. R., 2003. An innovative approach for screening marine microalgae for maximum flue gas CO<sub>2</sub> biofixation potential. In: *Second Annual Conference on Carbon Sequestration*. Sequim: Pacific Northwest National Laboratory, 11 s.

Huisman, J., Hulot, F. D., 2005. Population dynamics of harmful cyanobacteria. In: *Harmful cyanobacteria*. Netherlands: Springer, s. 143-176. ISBN: 1-4020-3009-6

Chaffin, J. D., Bridgeman, T. B., 2014. Organic and inorganic nitrogen utilization by nitrogen-stressed cyanobacteria during bloom conditions. *Journal of applied phycology*, **26**(1), s. 299-309.

Chmelický, P., Kopp, R., Müllerová, B., 2020. Kvalita vody vybraných rybníků CHKO Český ráj. In: *Rybníky*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, Česká společnost krajinných inženýrů ČSSI, Univerzita Palackého v Olomouci, Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Česká zemědělská univerzita v Praze, s. 35-44.

Ikeuchi, M., Tabata, S., 2001. *Synechocystis* sp. PCC 6803-a useful tool in the study of the genetics of cyanobacteria. *Photosynthesis research*, **70**(1), s. 73-83.

Inoue, N., Taira, Y., Emi, T., Yamane, Y., Kashino, Y., Koike, H., Satoh, K., 2001. Acclimation to the growth temperature and the high-temperature effects on photosystem II and plasma membranes in a mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant and Cell Physiology*, **42**(10), s. 1140-1148.

Janda, V., Pech, P. a Pechová, M., 2004. Dezinfekce vody a její nežádoucí vedlejší produkty. *Kvasný průmysl*, **50**, s. 11-12.

Jensen, B. B., 1983. Energy requirement for diazotrophic growth of the cyanobacterium *Anabaena variabilis* determined from growth yields in the dark. *Microbiology*, vol. **129**(8), s. 2633-2640.

Jezberová, J., Komárková, J., 2007. Morphometry and growth of three *Synechococcus*-like picoplanktic cyanobacteria at different culture conditions. *Hydrobiologia*, **578**(1), s. 17-27.

Kalff, J., 2002. *Limnology: inland water ecosystems*. New Jersey: Prentice Hall, 592 s.

Kalina, T., 1994. *Systém a vývoj sinic a řas*. Praha: Karolinum. ISBN 80-7066-854-7.

Kalina, T., Váňa, J., 2005. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Univerzita Karlova. ISBN 80-246-1036-1.

- Kann, J., Smith, V. H., 1999. Estimating the probability of exceeding elevated pH values critical to fish populations in a hypereutrophic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **56**(12), s. 2262-2270.
- Kočí, V., Burkhard, J. a Maršálek, B., 2000. Eutrofizace na přelomu tisíciletí. In: *Eutrofizace 2000*. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, s. 3-13. ISBN 80-7080-396-7.
- Komárek, J., 1999. *Přehled planktonních sinic v povodí Labe*. Magdeburk: Mezinárodní komise pro ochranu Labe, 84 s.
- Komárková, J., 1988. Morphological variation in natural populations of *Anabaena lemmermannii* in respect to existence of *Anabaena utermoehlii*. *Archiv für Hydrobiologie Supplement*, **80**, s. 93-108.
- Kondo, T., Mori, T., Lebedeva, N. V., Aoki, S., Ishiura, M., Golden, S. S., 1997. Circadian rhythms in rapidly dividing cyanobacteria. *Science*, **275**(5297), s. 224-227.
- Kopp, R., Hadašová, L., Lang, Š., Brabec, T., Mareš, J., 2012. Diurnální změny hodnot rozpuštěného kyslíku a pH v intenzivně obhospodařovaných rybnících. In: Sborník referátů konference, Chov ryb a kvalita vody. České Budějovice: Rybářské sdružení, s. 65-72.
- Kopp, R., Sukop, I., 2012. Planktonní společenstva Lednických rybníků ve vegetační sezóně roku 2008 a 2009. *Příroda*, **30**, s. 47-62.
- Kotula, P., 2011. Fosfor-limitující prvek eutrofizace. Ostrava, bakalářská práce. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, Hornicko-geologická fakulta.
- Krása, J., Rosendorf, P., Hejzlar, J., Borovec, J., Dostál, T., David, V., Ansorge, L., Duras, J., Janotová, B., Bauer, M., Devátý, J., Strouhal, L., Vrána, K., Fiala, D., 2013. *Hodnocení ohroženosti vodních nádrží sedimentem a eutrofizací podmíněnou erozí zemědělské půdy*. Praha: ČVUT v Praze, Fakulta stavební, 57 s. ISBN: 978-80-01-05428-4.
- Kvíděrová, J., Elster, J., Komárek, J., 2019. Ecophysiology of cyanobacteria in the Polar Regions. In: *Cyanobacteria*. London: Academic Press, s. 277-302.
- Kvítek, T., 2018. *Retence a jakost vody v povodí vodárenské nádrže Švihov na Želivce: význam retence vody na zemědělském půdním fondu pro jakost vody a současně i průvodce vodním režimem krystalinika*. Praha: Povodí Vltavy, státní podnik, 487 st.
- La Roche, J., McKay, R. M. L., Boyd, P., 1999. Immunological and molecular probes to detect phytoplankton responses to environmental stress in nature. *Hydrobiologia*, **401**, s. 177-198.
- Lin, M. T., Occhialini, A., Andralojc, P. J., Parry, M. A. J., Hanson, M. R., 2014. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature*, **513**, s. 547-550.

- Litchman, E., 2003. Competition and coexistence of phytoplankton under fluctuating light: experiments with two cyanobacteria. *Aquatic Microbial Ecology*, **31**(3), s. 241-248.
- Lürling, M., Eshetu, F., Faassen, E. J., Kosten, S., Huszar, V. L., 2013. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology*, **58**(3), s. 552-559.
- Máchová, J., Faina, R., Mráz, J., Picková, J., Valentová, O., Beránková, P., Sudová, E., Svobodová, Z., 2010. Vliv intenzity rybářského hospodaření na kvalitu vody v rybnících a kvalitu masa ryb. *Bulletin VÚRH Vodňany*, **46**, s. 19-30.
- Maršálek, B., 2000. Biologické aktivní látky produkované řasami a cyanobakteriemi. In: *Eutrofizace 2000*. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, s. 24-31. ISBN 80-7080-396-7.
- Maršálek, B., Drábková, M., 2004. Základní principy omezení masového rozvoje cyanobakterií. In: *Sborník z konference Cyanobakterie*. Brno: Aquatis, a.s., s. 111-110.
- Maršálek, B., Keršner, V., Marvan, P., 1996. *Vodní květy sinic*. Brno: Nadatio flos-aquae.
- Marvan, P., Maršálek, B., 2004. Živiny a jejich realizace ve vodních ekosystémech. In: *Sborník z konference Cyanobakterie*. Brno: Aquatis, a.s., s. 79-84.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*. **14**(1), s. 217-232.
- Mikšíková, K., Dostál, T., Vrána, K., Rosendorf, P., 2012. Transport sedimentu a fosforu při výlovu malých vodních nádrží. *Vodní hospodářství*, **6**, s. 203-208.
- Motlová, L., 2009. Stacionární fáze růstu *Bacillus subtilis*. Praha, Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta.
- Noskovič, J., Jausch, M., Kočík, K., Beňačková, J., 2007. hodnotenie koncentrácie anorganických foriem dusíka vo vodných nádržiach Veľká richňava, Malá richňava a Veľká vindšachta. *Acta Facultatis Ecologiae*, **15**, s. 21-27.
- Novotný, V., 2011. The danger of hypertrophic status of water supply impoundments resulting from excessive nutrient loads from agricultural and other sources. *Journal of Water Sustainability*, **1**(1), s. 1-22.
- OECD, 1992. *Eutrophication of Waters: Monitoring, assessment and control*. Paris: OECD.
- Olah, J., Pekar, F., Szabo, P., 1994. Nitrogen cycling and retention in fish-cum-livestock ponds. *Journal of Applied Ichthyology*, **10**(4), s. 341-348.
- Paerl, H. W., Huisman, J., 2008. Blooms like it hot. *Science*, **320**(5872), s. 57-58.

- Paerl, H. W., Ustach, J. F., 1982. Blue-green algal scums: An explanation for their occurrence during freshwater blooms 1. *Limnology and oceanography*, **27**(2), s. 212-217.
- Palacio, H. M., Palacio, J. A., Echenique, R. O., Sant'anna, C. L., Ramírez, J. J., 2015. *Dolichospermum lemmermannii* (Cyanobacteria): A temperate species in a neotropical, eutrophic reservoir. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, **50**(3), s. 309-321.
- Parker, N., Schneegurt, M., Tu, A.T, Lister, P., Forster B.M., 2016. How Microbes Grow. In: *Microbiology: OpenStax.ca* [online]. Vancouver: [cit. 14.03.2022]. Dostupné z: <https://opentextbc.ca/microbiologyopenstax/chapter/how-microbes-grow/>
- Passoni, S. a Callieri, C., 2000. Picocyanobacteria single forms, aggregates and microcolonies: survival strategy or species succession? *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, **27**(4), s. 1879-1883.
- Pattanaik, B., Wulff, A., Roleda, M. Y., Garde, K., Mohlin, M., 2010. Production of the cyanotoxin nodularin – a multifactorial approach. *Harmful Algae*, **10**(1), s. 30-38.
- Pazlarová, J., 2018. Mikrobiologické zkoumání potravin. In: *old-biomikro.vscht.cz*. [online]. Praha: Ústav biochemie a mikrobiologie VŠCHT [cit. 4.3.2022]. Dostupné z: [http://old-biomikro.vscht.cz/vyuka/pm/Mikrobiologicke\\_zkoumani\\_potravin.pdf](http://old-biomikro.vscht.cz/vyuka/pm/Mikrobiologicke_zkoumani_potravin.pdf)
- Pechar, L., 1995. Long-term changes in fish pond management as 'an unplanned ecosystem experiment': Importance of zooplankton structure, nutrients and light for species composition of cyanobacterial blooms. *Water Science and Technology*, **32**(4), s. 187-196.
- Pechar, L., 2015. Století eutrofizace rybníků–synergický efekt zvyšování zátěže živinami (fosforem a dusíkem) a nárůstu rybích obsádek. *Vodní hospodářství*, **65**(7), s. 1-6.
- Pentecost A., Whitton B.A. Limestones., 2002. In: *The Ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space*. New York: Kluwer Academic Publishers, s. 257-279. ISBN: 978-0-7923-4755-2.
- Petrýl, M., s.a. *Úvod do hydrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 72 s.
- Pisciotta, J. M., Zou, Y., Baskakov, I. V., 2010. Light-dependent electrogenic activity of Cyanobacteria. *Plos one*. **5**(5), s. 1-10.
- Ponce, J. T., Arredondo, J. L., De La Lanza, G., 1994. Effects of polyculture and fertilization on water quality in carp ponds. 1. Physico-chemical factors. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, **25**(3), s. 1315-1317.
- Pouličková, A., 2011. *Základy ekologie sinic a řas*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN: 978-80-244-2751-5



- Preisendorfer, R. W., 1986. Secchi disk science: Visual optics of natural waters. *Limnology and oceanography*, **31**(5), s. 909-926.
- Rajaniemi, P., Hrouzek, P., Kaštovska, K., Willame, R., Rantala, A., Hoffmann, L., Komárek, J., Sivonen, K., 2005. Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **55**(1), s. 11-26.
- Ramos, T. K., Costa, L. D. F., Yunes, J. S., Resgalla Jr, C., Barufi, J. B., de Oliveira Bastos, E., Antunes Horta, P., Rörig, L. R., 2021. Saxitoxins from the freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* can contaminate marine mussels. *Harmful Algae*, **103**, 12 s.
- Rastogi, R. P., Sonani, R. R., a Madamwar, D., 2015. Cyanobacterial sunscreen scytonemin: role in photoprotection and biomedical research. *Applied biochemistry and biotechnology*, **176**(6), s. 1551-1563.
- Robarts, R. D., Zohary, T., 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, **21**(3), s. 391-399.
- Robinson, T.P., Ocio, M.J., Kaloti, A., Mackey, B.M., 1998. The effect of the growth environment on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *International journal of food microbiology*, **44**(1-2), 83-92.
- Roušar, T., 2012. *Laboratorní cvičení z hematologie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 72 s.
- Rutegwa, M., 2020. *Pond ecosystem dynamics in terms of production ecology*. Vodňany: JENA Šumperk, 114 s. ISBN 978-80-7514-113-2.
- Sevrin-Reyssac, J., Pletikosic, M., 1990. Cyanobacteria in fish ponds. *Aquaculture*, **88**(1), s. 1-20.
- Schneegurt, M. A., Sherman, D. M., Nayar, S., Sherman, L. A., 1994. Oscillating behavior of carbohydrate granule formation and dinitrogen fixation in the cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain ATCC 51142. *Journal of bacteriology*, **176**(6), s. 1586-1597.
- Schneegurt, M.A., 1997. *Cyanosite, a webserver for cyanobacterial research* [online]. West Lafayette: Purdue University, [cit. 4.3.2022]. Dostupné z: <https://www-cyanosite.bio.purdue.edu>
- Schopf, J. W., 2002. The Fossil Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage. In: *The Ecology of Cyanobacteria*. New York: Springer Science and Business Media, s. 13-35.
- Sigeo, D. C., 2005. *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. Chichester: John Wiley and Sons, 524 s. ISBN: 978-0-471-48529-2

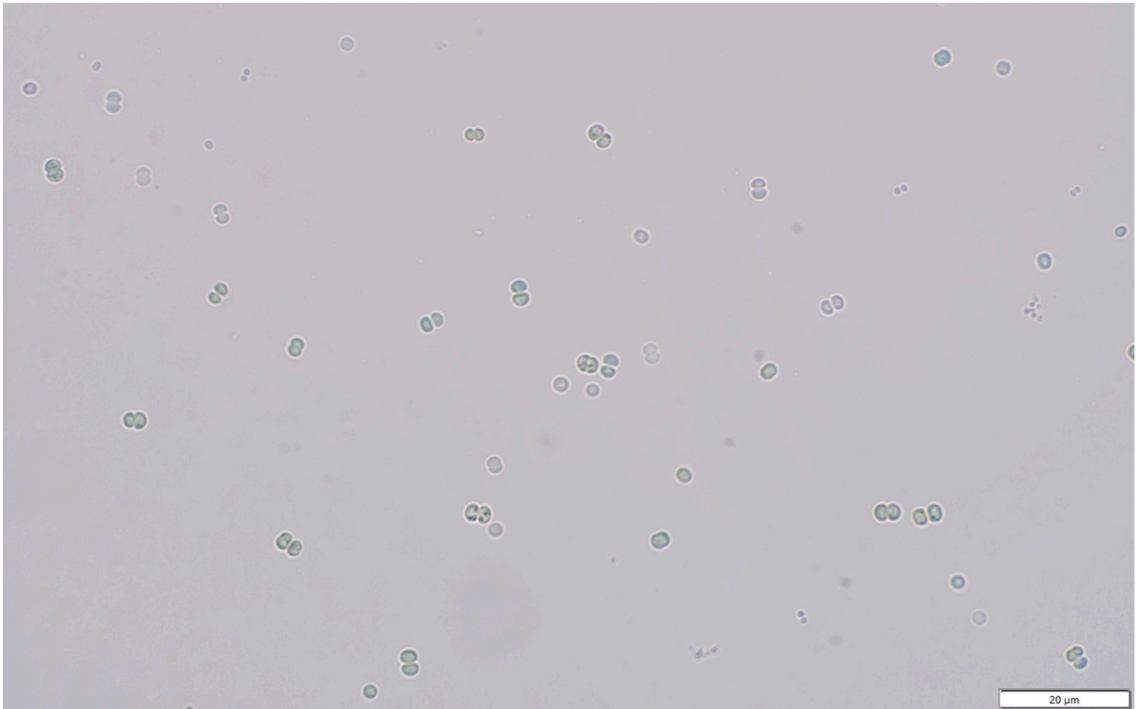
- Simpson, F. B., Burris, R. H., 1984. A nitrogen pressure of 50 atmospheres does not prevent evolution of hydrogen by nitrogenase. *Science*, vol. **224**, s. 1095-1097.
- Sivonen, K. a Jones, G., 2009. Cyanobacterial toxins. In: *Encyclopedia of microbiology*. San Diego: Academic Press, s. 209-307.
- Smith, V. H., Tilman, G. D., Nekola, J. C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental pollution*, **100**(1-3), s. 179-196.
- Stal, L. J., 2009. Is the distribution of nitrogen-fixing cyanobacteria in the oceans related to temperature? *Environmental microbiology*. **11**(7), s. 1632–1645.
- Stiborová, K., 2017. Druhová diverzita a morfologická variabilita subtropických sinic. Olomouc. Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.
- Šálek, J., Mika, Z., Tresová, A., 1989. *Rybníky a účelové nádrže*. Praha: SNTL, 272. s.
- Šejnohová, L., Maršálek, B., 2005. Pohled do mikroskopického světa sinic. *Živa*, vol. **3**, s. 105-107.
- Šejnohová, L., Maršálek, B., Drábková, M., 2004. *Autekologie rodu Microcystis – literární přehled*. Brno: Seminář „Cyanobakterie, s. 13-23.
- Šmarda, J., 1996. Jednoduchá a přece důmyslná podoba života. *Vesmír*, vol. **75**. ISSN: 0042-4544
- Štangelová, P., 2013. Monitorování výskytu sinic na vodním díle Seč pomocí analytických metod. Praha, Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta.
- Thomas, M. K., Litchman, E., 2016. Effects of temperature and nitrogen availability on the growth of invasive and native cyanobacteria. *Hydrobiologia*, **763**(1), s. 357-369.
- Toepel, J., Welsh, E., Summerfield, T. C., Pakrasi, H. B., Sherman, L. A., 2008. Differential transcriptional analysis of the cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain ATCC 51142 during light-dark and continuous-light growth. *Journal of bacteriology*, **190**(11), s. 3904-3913.
- Tyagi, V. V. S., 1975. The heterocysts of blue-green algae (*Myxophyceae*). *Biological Reviews*, **50**(3), s. 247-284.
- Urbánek, M., 2015. *Naše rybářství*. České Budějovice: Rybářské sdružení České republiky, 248 s. ISBN 978–80–87699–05–0.
- Valentová, O., Máchová, J., Faina, R., Kroupová, H., Svobodová, Z., 2009. *Souprava kombinované analýzy vody*. Vodňany: Edice Metodik. VÚRH JU Vodňany, č. **90**, 28 s.
- Van Alphen, P., Abedini Najafabadi, H., Branco dos Santos, F., Hellingwerf, K. J., 2018. Increasing the photoautotrophic growth rate of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by identifying the limitations of its cultivation. *Biotechnology journal*, **13**(8), 8 s.

- Van Baalen, Ch., 1987. Assimilation of inorganic nitrogen. In: *The cyanobacteria*. Amsterdam: Elsevier Science B.V, s. 187-198.
- Vidal, L., Ballot, A., Azevedo, S. M. F. O., Padisák, J., Welker, M., 2021. Introduction to cyanobacteria. In: *Toxic Cyanobacteria in Water*. Boca Raton: CRC Press, s. 163-213.
- Vonshak, A., Maske, H., 1982. Algae: growth techniques and biomass production. In: *Techniques in bioproductivity and photosynthesis*. Oxford: Pergamon Press, s. 188-200.
- Voplakal, K., 2001. Fosfor v půdě. In: *Úroda.cz* [online]. Praha: 04.01.2001 [cit. 19.03.2022]. Dostupné z: <https://www.uroda.cz/fosfor-v-pude/>
- Weiperová L., 2011. Sinice jako bioindikátory eutrofizace vod. Ostrava, Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Hornicko-geologická fakulta.
- Whitton, B. A., Potts, M., 2012. *The ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. New York: Springer Science and Business Media. 760 s. ISBN: 978-94-007-3854-6.
- Whitton, B. A., Potts, M., 2002. Introduction to the Cyanobacteria. In: *The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space*. New York: Kluwer Academic Publishers, s. 1-11. ISBN: 978-0-7923-4755-2.
- World Health Organization, 2003. *Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters, 1*. Geneva: World Health Organization. 219 s.
- Wyatt, J. T., Silvey, J. K. G., 1969. Nitrogen fixation by *Gloeocapsa*. *Science*, vol. **165**, s. 908-909.
- Yamagishi, T., Katsumata, M., Yamaguchi, H., Shimura, Y., Kawachi, M., Koshikawa, H., Horie, Y., Tatarazako, N., 2016. Rapid ecotoxicological bioassay using delayed fluorescence in the marine cyanobacterium *Cyanobium* sp.(NIES-981). *Ecotoxicology*, **25**(10), s. 1751-1758.
- Yamagishi, T., Katsumata, M., Yamaguchi, H., Shimura, Y., Kawachi, M., Koshikawa, H., Horie, Y., Tatarazako, N., 2016. Rapid ecotoxicological bioassay using delayed fluorescence in the marine cyanobacterium *Cyanobium* sp. (NIES-981). *Ecotoxicology*, **25**(10), s. 1751 – 1758.
- Yu, Y., You, L., Liu, D., Hollinshead, W., Tang, Y. J., Zhang, F., 2013. Development of *Synechocystis* sp. PCC 6803 as a phototrophic cell factory. *Marine drugs*, **11**(8), s. 2894-2916.
- Zapomělová, E., Řeháková, K., Jezberová, J., Komárková, J., 2010. Polyphasic characterization of eight planktonic *Anabaena* strains (Cyanobacteria) with reference to the variability of 61 *Anabaena* populations observed in the field. *Hydrobiologia*, **639**(1), s. 99-113.
- Zavřel, T., Očenášová, P., Červený, J., 2017. Phenotypic characterization of *Synechocystis* sp. PCC 6803 substrains reveals differences in sensitivity to abiotic stress. *PLoS One*, **12**(12).

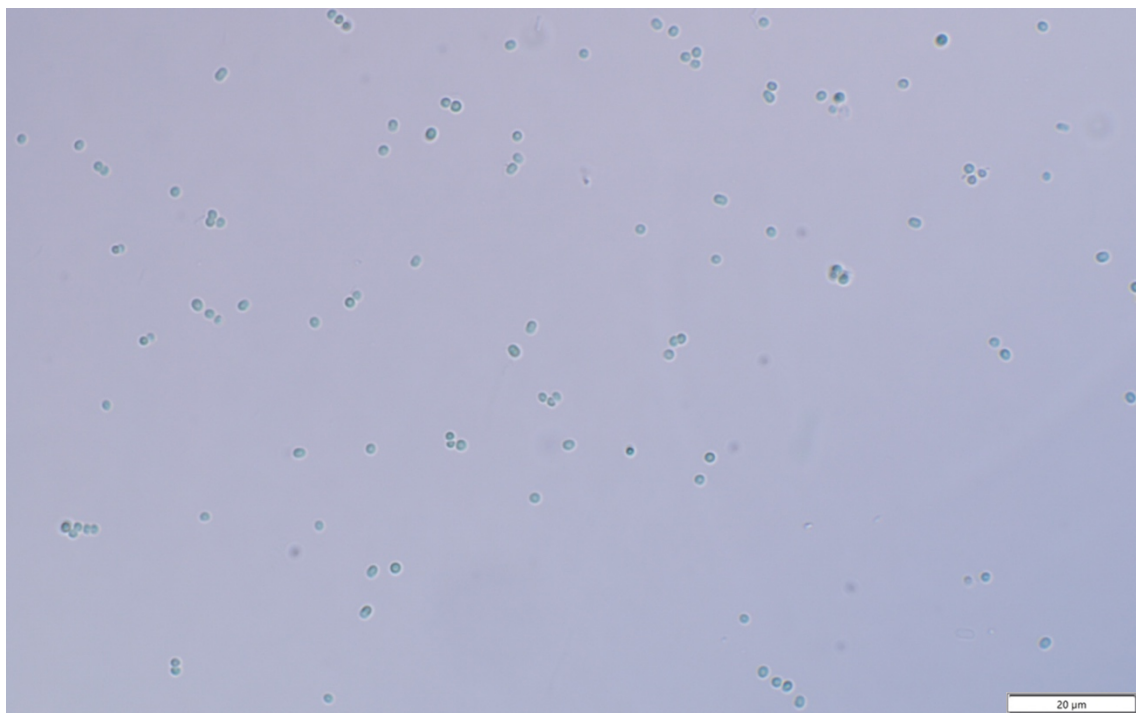
## 8 Seznam příloh

Příloha č. 1: Kmen <i>Synechocystis</i> , zvětšení 100x.....	101
Příloha č. 2: Kmen <i>Cyanobium</i> , zvětšení 100x.....	101
Příloha č. 3: Kmen <i>A. lemmermannii</i> , zvětšení 100x.....	102
Příloha č. 4: Kmen <i>A. compacta</i> , zvětšení 100x.....	102
Příloha č. 5: Kmen <i>A. reniformis</i> , zvětšení 100x.....	103
Příloha č. 6: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene <i>Synechocystis</i> v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno dvakrát do řádku A.....	103
Příloha č. 7: Odebrané množství ze sedmi namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene <i>Cyanobium</i> v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B. ....	104
Příloha č. 8: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene <i>A. lemmermannii</i> v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B.....	104
Příloha č. 9: Odebrané množství ze sedmi namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene <i>A. compacta</i> v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B. ....	105
Příloha č. 10: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene <i>A. reniformis</i> v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B. ....	105
Příloha č. 11: Ukázka měření buněk kmene <i>Synechocystis</i> v programu CellSens. ....	106

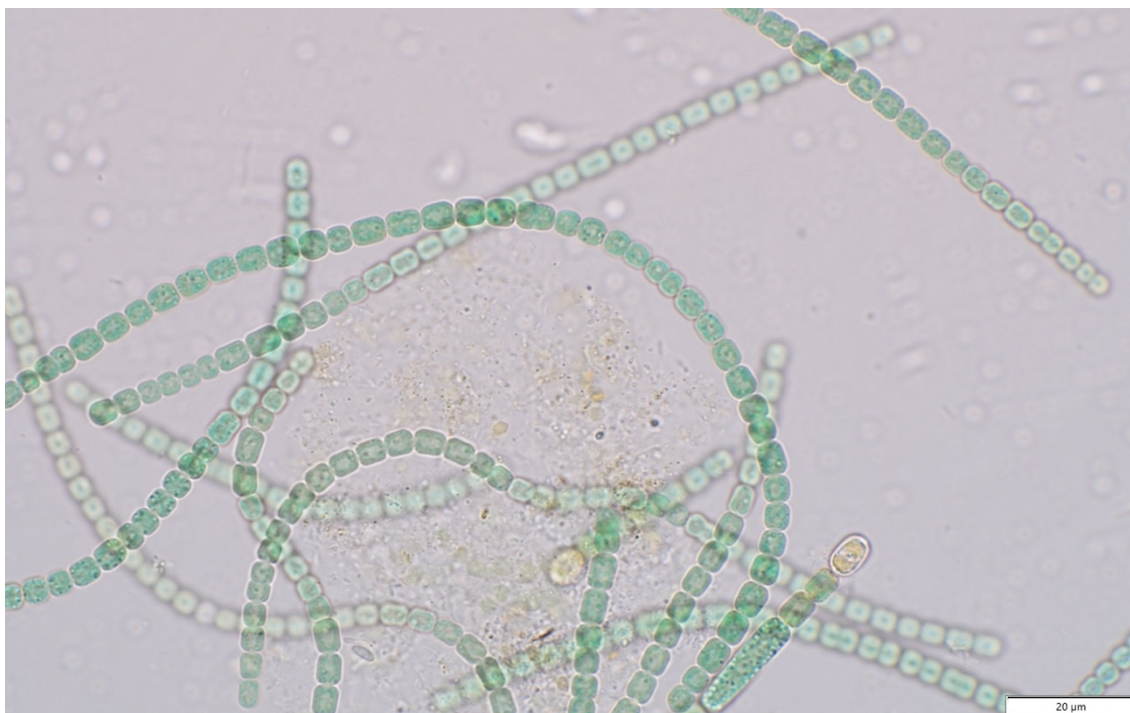
## 9 Přílohy



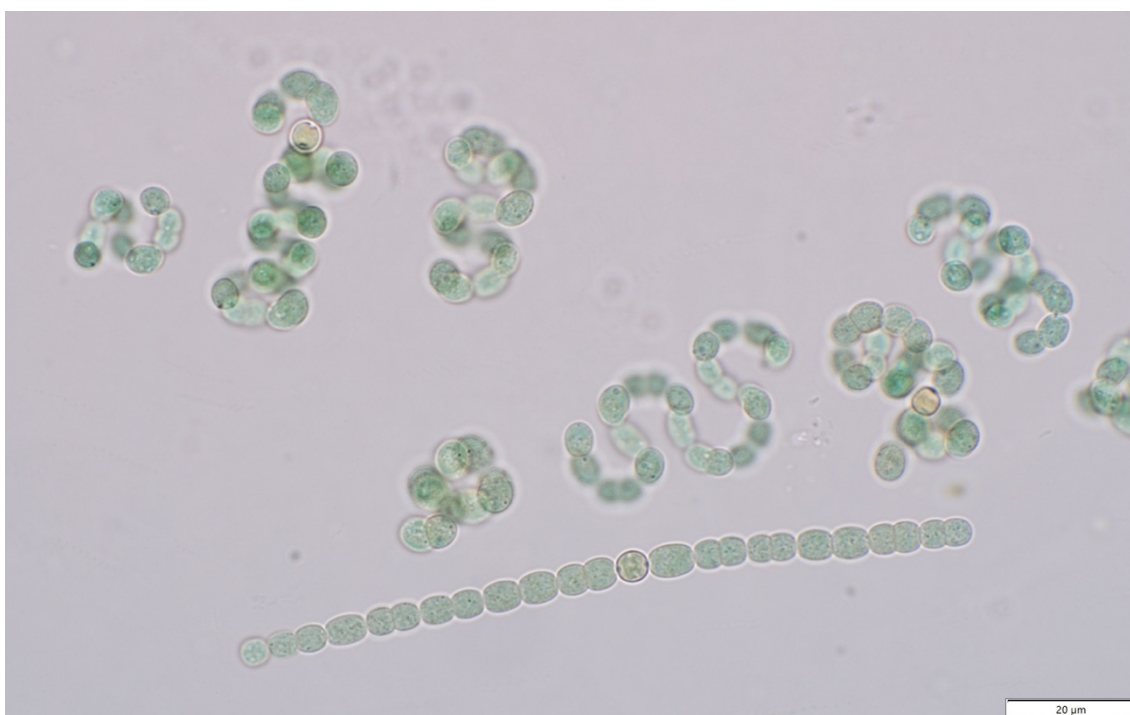
Příloha č. 1: Kmen *Synechocystis*, zvětšení 100x.



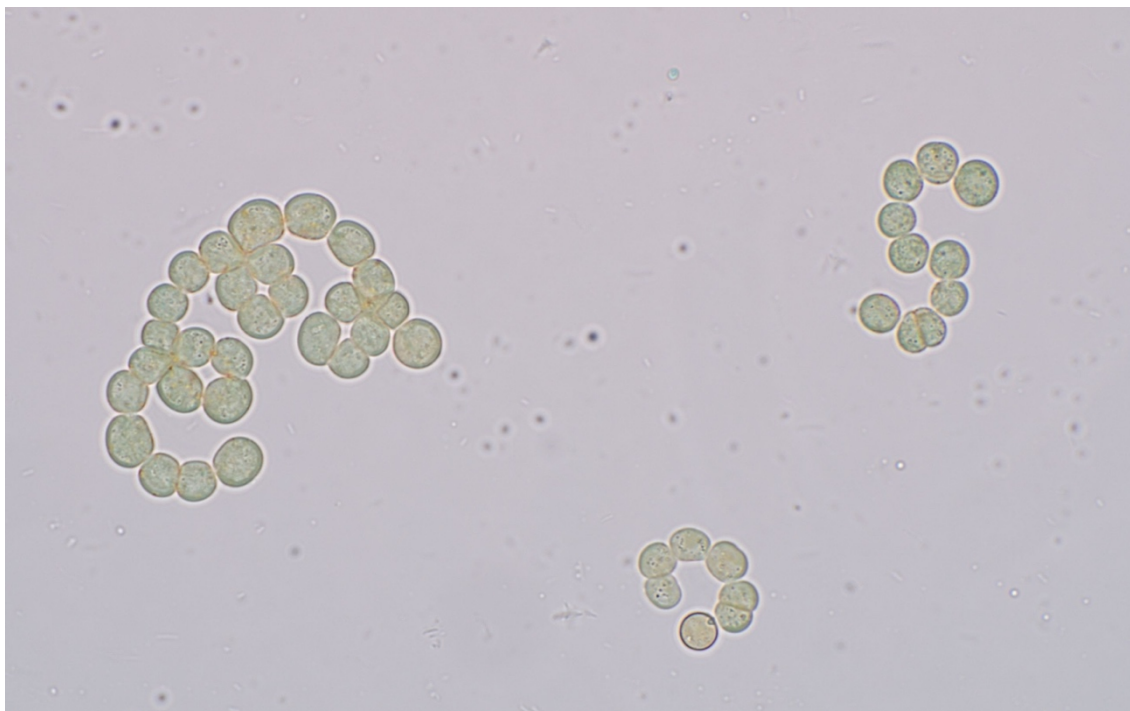
Příloha č. 2: Kmen *Cyanobium*, zvětšení 100x.



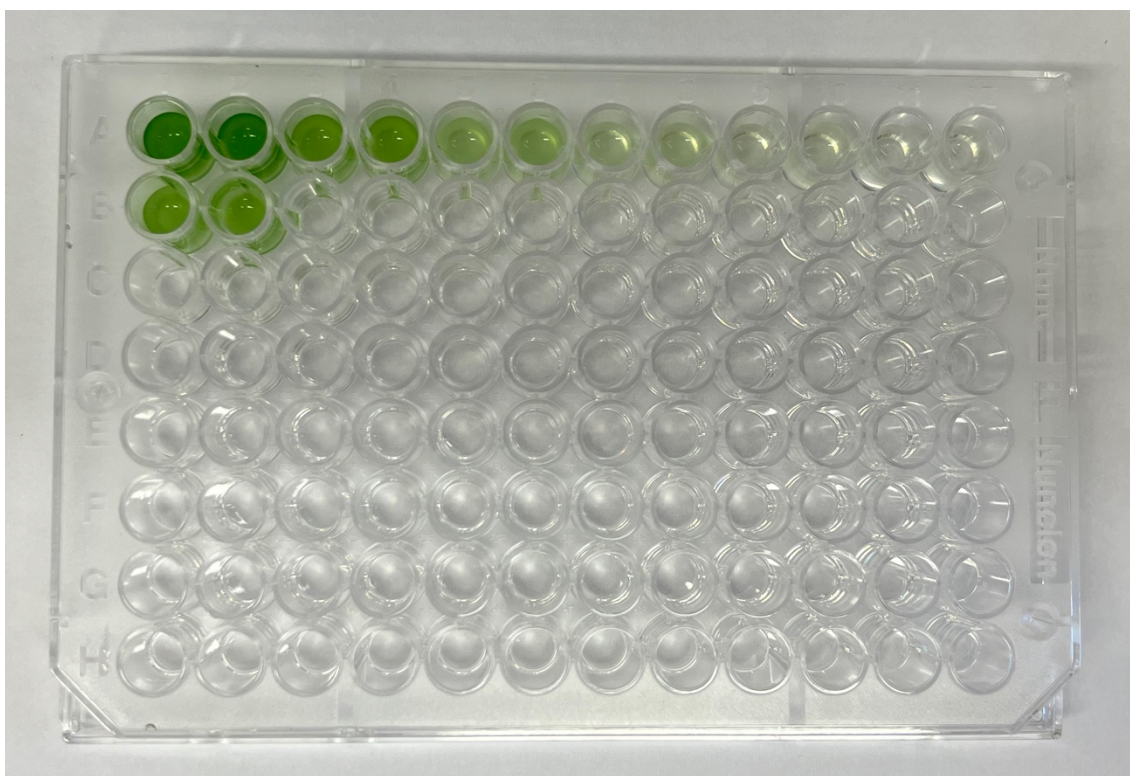
Příloha č. 3: Kmen *A. lemmermannii*, zvětšení 100x.



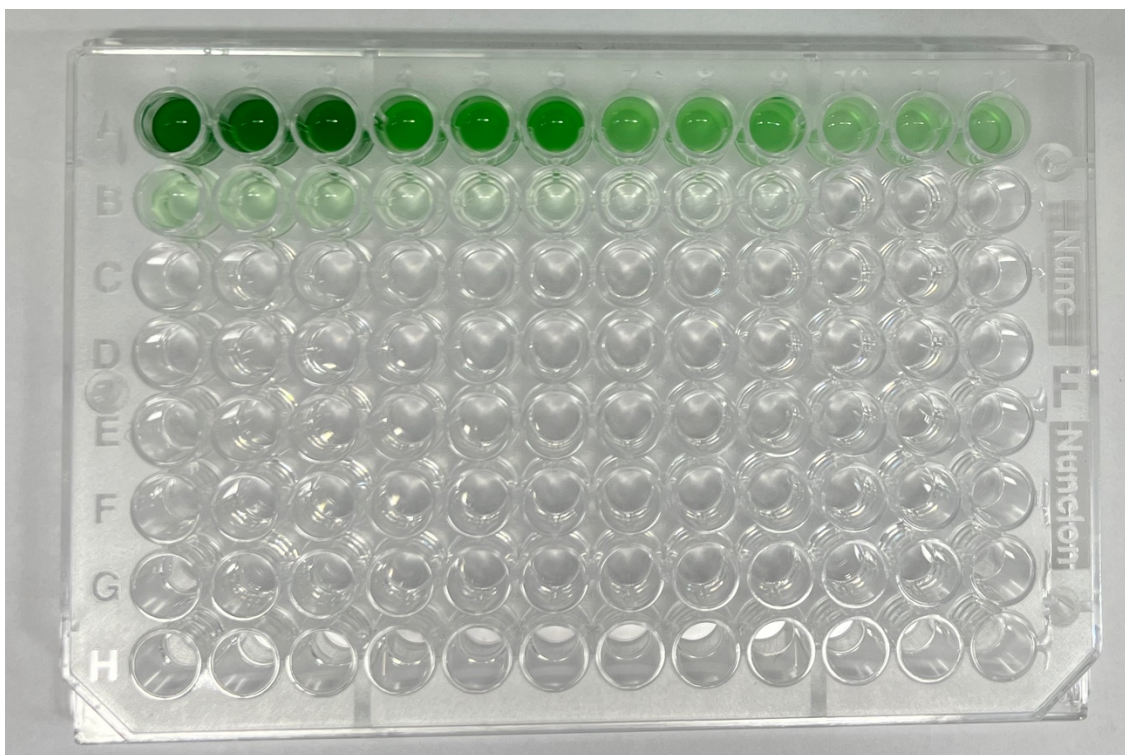
Příloha č. 4: Kmen *A. compacta*, zvětšení 100x.



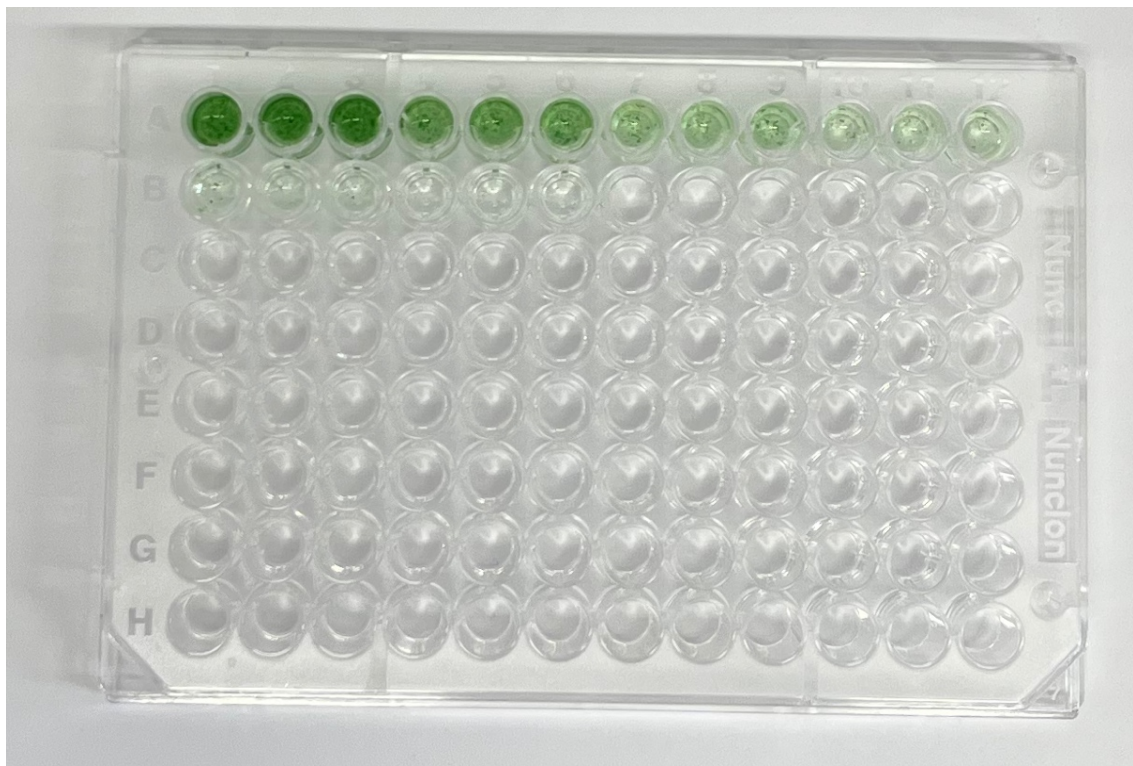
Příloha č. 5: Kmen *A. reniformis*, zvětšení 100x.



Příloha č. 6: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene *Synechocystis* v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno dvakrát do řádku A.

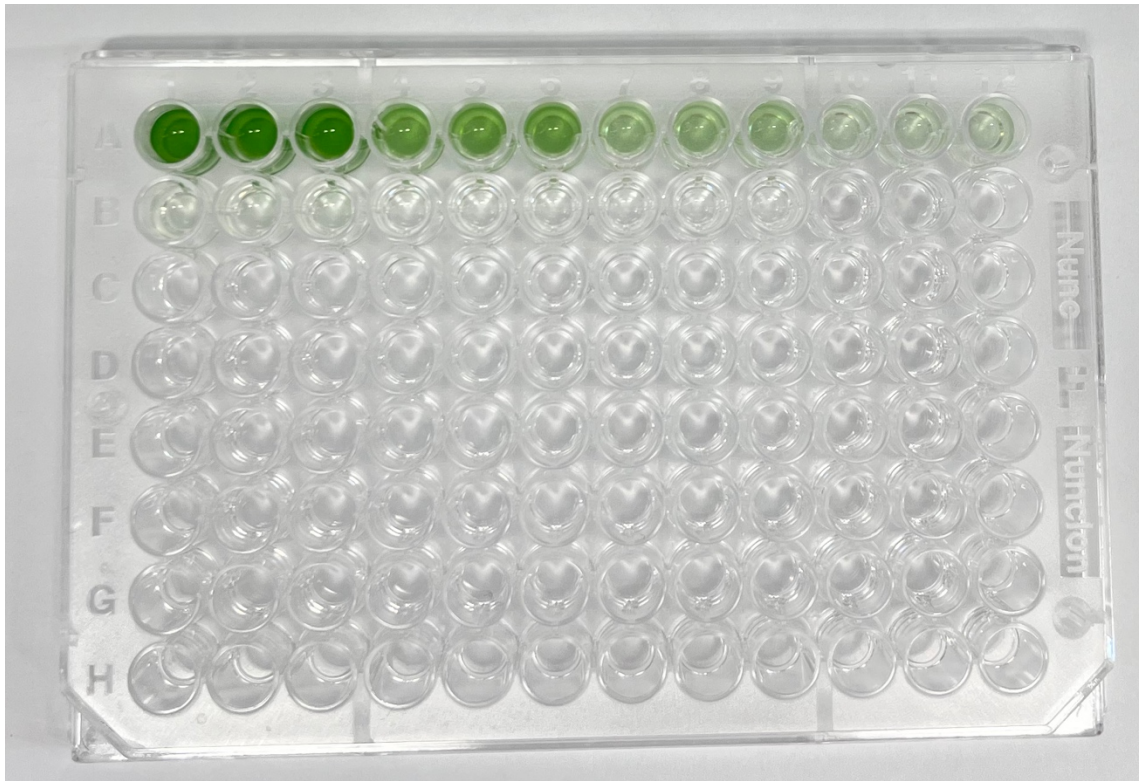


*Příloha č. 7: Odebrané množství ze sedmi namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene Cyanobium v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B.*

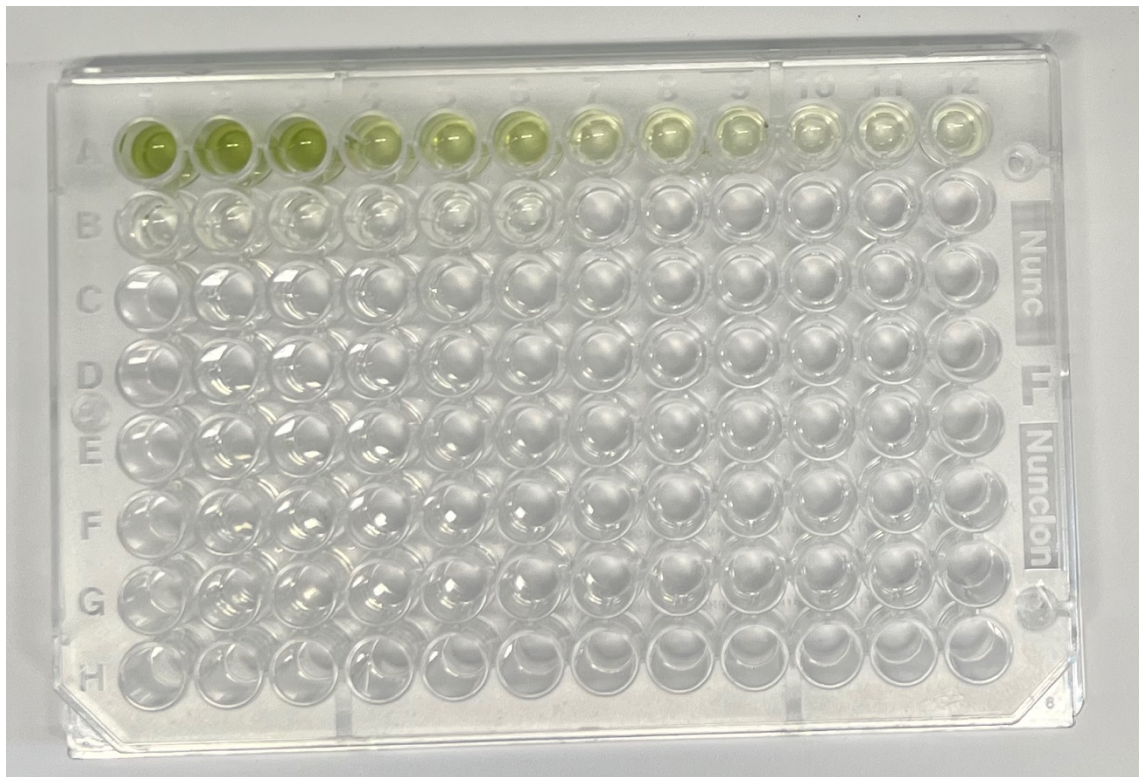


*Příloha č. 8: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene A. lemmermannii v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B.*

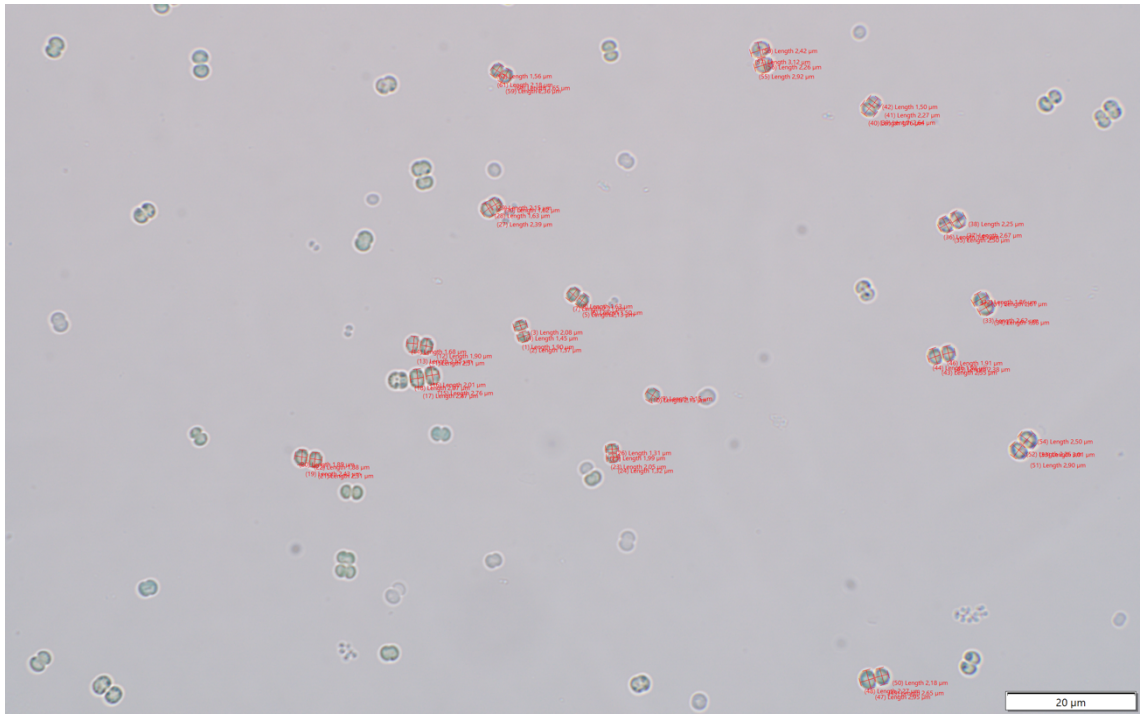




*Příloha č. 9: Odebrané množství ze sedmi namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene *A. compacta* v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B.*



*Příloha č. 10: Odebrané množství ze šesti namíchaných zkumavek pro kalibrační křivku kmene *A. reniformis* v kultivační destičce pro měření OD při 550. Z každé zkumavky bylo odebráno třikrát do řádku A a B.*



Příloha č. 11: Ukázka měření buněk kmene *Synechocystis* v programu CellSens.

## 10 Abstrakt

### **Rychlost růstu dominantních rybnických sinic s rozdílnými strategiemi z rybnických ekosystémů**

Diplomová práce se zabývá rychle rostoucími jednobuněčnými sinicemi (*Synechocystis* sp. PCC 6803 a *Cyanobium gracile* A1) a pomaleji rostoucími vláknitými sinicemi schopnými fixace atmosférického dusíku (*Anabaena lemmermannii*, *Anabaena compacta* a *Anabaena reniformis*). Experiment byl zaměřen na pozorování růstu vybraných zástupců z obou uvedených typů při různých teplotách v prostředí různými koncentracemi dusíku. Růst byl měřen na základě optické hustoty při vlnové délce 550 nm. Výsledky z jednotlivých měření byly graficky vyhodnoceny pomocí růstových křivek. Dále byly zjištěny hodnoty velikosti a objemy buněk jednotlivých kmenů. Byl učiněn závěr, že při vyšší teplotě a při vyšších koncentracích dusíku vykazuje většina sinic vyššího růstu. Z toho lze usoudit, že během letního období budou v našich rybnících s dostatečným obsahem dusíku tyto sinice ochotně zvětšovat svoji biomasu a budou tak ovlivňovat rybníční management.

Klíčová slova: *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Cyanobium gracile* A1, *Anabaena lemmermannii*, *Anabaena compacta*, *Anabaena reniformis*, růstová rychlost, dusík, sinice

## 11 Abstract

### **Growth rate of dominant cyanobacteria with different strategies from pond ecosystems**

The thesis deals with fast growing unicellular cyanobacteria (*Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Cyanobium gracile* A1) and slower growing filamentous cyanobacteria capable of fixing atmospheric nitrogen (*Anabaena lemmermannii*, *Anabaena compacta* and *Anabaena reniformis*). The experiment was designed to observe the growth of selected representatives from both these types at different temperatures in media with different concentrations of nitrogen. Growth was measured using optical density at a wavelength of 550 nm. The results from the individual measurements were graphically evaluated using growth curves. The cell size and cell volumes of each strain were also determined. It was concluded that at higher temperature and at higher nitrogen concentrations, most of the cyanobacteria showed higher growth. It can be concluded that during the summer period, in our ponds with sufficient nitrogen, these cyanobacteria will readily increase their biomass and thus influence pond management.

Key words: *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Cyanobium gracile* A1, *Anabaena lemmermannii*, *Anabaena compacta*, *Anabaena reniformis*, growth rate, nitrogen, cyanobacteria