

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**



**Změny rychlosti růstu a silifikace rozsvitek na
různých místech nádrže Římov v roce 2011**

Diplomová práce

Bc. Veronika Visocká

Školitel: RNDr. Petr Znachor, Ph.D.

České Budějovice 2012

Diplomová práce

Visocká V., 2012: Změny rychlosti růstu a silifikace rozsivek na různých místech nádrže Římov v roce 2011.

[Seasonal changes in growth and silification rates of diatoms at spatially distinct sampling sites in the Římov Reservoir in 2011, Mgr. Thesis, in Czech] – 39 p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech republic.

Anotace:

Silification and growth rates of diatoms were measured at three spatially distinct sampling sites in the Římov Reservoir in 2011. Silica deposition measured via PDMPO fluorescence technique was significantly related to growth rates of three dominant diatom species (*Fragilaria crotonensis*, *Asterionella formosa*, *Aulacoseira italica*). Over the study season, light has a decisive effect on diatom growth, which was the highest at the transition zone of the reservoir.

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 diplomové práce, a to v nezkrácené podobě 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.

České Budějovice, 27. dubna 2012

Veronika Visocká

Financování práce:

Tato diplomová práce vznikla za významné podpory Grantové agentury České Republiky v rámci projektů P504/11/2177 a P504/11/2182

Poděkování:

V první řadě bych chtěla poděkovat svému školiteli Petru Znachorovi za obrovskou pomoc a dobré rady k této práci, za ochotu a za trpělivost, kterou se mnou vždy měl a za veškerý čas, který mi věnoval. Dále děkuji Jirkovi Nedomovi a ostatním zaměstnancům HBÚ za pomoc a za poskytnutá data potřebná k napsání této práce. A samozřejmě bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za jejich podporu, pomoc a pochopení.

Obsah:

1. Úvod	1
2. Literární rešerše	3
2.1. Heterogenita vodního prostředí	3
2.2. Sezónní rozvoj fytoplanktonu	4
2.2.1. PEG Model	6
2.3. Rozsivky	7
2.3.1. Nejběžnější rody sladkovodních rozsivek	8
2.4. Fluorescenční značení ukládání křemíku	9
3. Materiál a metody	11
3.1. Popis lokality a odběr vzorků	11
3.2. Měření depozice Si pomocí PDMPO	12
3.2.1. Analýza obrazu	13
3.2.2. Stanovení abundance a růstové rychlosti rozsivek	14
3.3. Statistické metody	14
4. Výsledky	15
4.1. Charakteristika sezóny	15
4.2. Základní fyzikální a chemické parametry	15
4.3. Sezónní průběh fytoplanktonu	17
4.4. Sezónní změny v depozici křemíku	20
4.5. Faktory ovlivňující depozici Si u dominantních druhů rozsivek	23
4.6. Vztah mezi fluorescencí PDMPO a růstovou rychlostí rozsivek	23
4.7. Značení PDMPO a nové možnosti vyhodnocení růstu vláknitých rozsivek	24
5. Diskuse	28
6. Závěr	35
7. Citovaná literatura	36

1. Úvod

Nádrže jsou nejčastější člověkem vytvořené vodní ekosystémy. Od jezer se liší v několika základních aspektech, mimo jiné ve vytváření výrazných podélných gradientů fyzikálních a chemických parametrů (Thorton et al. 1990). Kaňonovité nádrže mírného pásu často slouží jako zásobárny pitné vody a zajištění dostatečné kvality vody je v nich prioritou (Komárková et al. 2003). Rozsivky jsou významná skupina řas tvořící dominantní složku mořského i sladkovodního fytoplanktonu (Werner 1977). Na rozdíl od sinic, sladkovodní rozsivky neprodukuje toxické látky, ale nadměrné množství jejich biomasy může ve vodárenské nádrži vést ke zhoršení upravitelnosti surové vody. V nádrži Římov se rozsivky za poslední roky staly dominantní složkou fytoplanktonu a často způsobují intenzivní vegetační zbarvení (Znachor et al. 2008). Výsledky této práce mohou přispět k minimalizaci problémů, které rozsivky způsobují vodárenským úpravárnám na celé řadě našich nádrží.

Cíle práce:

Cíl 1: Na základě sezónního sledování zjistit, jak se mění rychlost depozice křemíku u rozsivek během roku na různých místech nádrže Římov měřená pomocí značení PDMPO.

Cíl 2: Zjistit, jaké faktory mají vliv na depozici křemíku u rozsivek.

Cíl 3: Zjistit, jaký je vztah mezi rychlostí růstu rozsivek a depozicí křemíku.

Cíl 4: Zjistit, jak se liší růstová rychlost a rychlost depozice křemíku mezi jednotlivými dominantními druhy rozsivek.

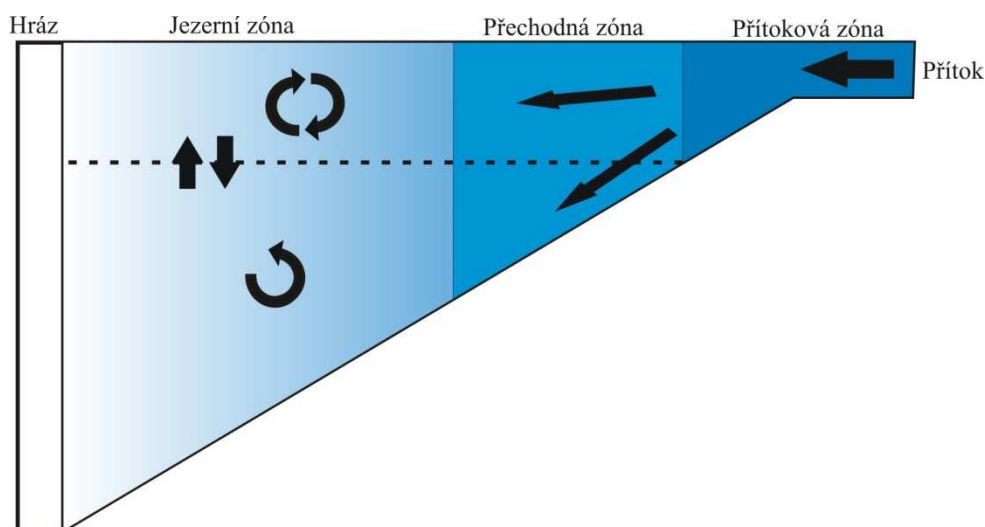
2. Literární rešerše

2.1. Heterogenita vodního prostředí

V jezerech i nádržích nejsou podmínky prostředí a rozmístění fytoplanktonu homogenní, ale vykazují prostorovou heterogenitu v horizontálním i vertikálním směru (Reynolds 2006, Wetzel 2001). Nádrže jsou umělé ekosystémy vytvořené člověkem a vznikají převážně přehrazením vodního toku. Jezera i nádrže mají mnoho společného, například rozdělení vodního prostředí na litorál a pelagiál, mezidruhové interakce, potravní řetězce, složení biomasy planktonu apod. Nicméně v několika základních aspektech se nádrže od jezer liší. Nádrže mají zpravidla tvar protáhlý v jednom směru s nejvyšší hloubkou u hráze (u odtoku), zatímco jezera bývají nejhlubší zpravidla uprostřed (Kalff 2002). Významným rozdílem je také poměr rozlohy povodí k ploše hladiny, který je u přehrad řádově větší než u jezer. Jezera mají většinou trvale horní odtok, zatímco přehrady lze pomocí různých technických zařízení odpouštět z různých hloubek. Teoretická doba zdržení vody v nádrži je výrazně nižší než u jezer (Thornton et al. 1990).

V důsledku působení biologických, chemických a fyzikálních faktorů se v přehradách vytvářejí prostorové gradienty, z nichž nejvýznamnější je gradient živin. Na základě rychlosti proudění, doby zdržení vody, množství suspendovaných částic, dostupnosti světla, množství živin a složení a produkce organismů lze v podélném profilu nádrže obecně rozlišit 3 zóny – říční, přechodnou a jezerní (Kalff 2002, Obr. 1).

Říční zóna je poměrně úzká, mělká a dostatečně okysličená díky dobrému promíchávání celého vodního sloupce. Směrem ke hrázi postupně klesá rychlost proudění a dochází k sedimentaci suspendovaných částic. Nízká dostupnost světla u přítoku je limitující pro primární produkci. Koncentrace živin je u přítoku nejvyšší a postupně směrem k hrázi klesá. V hlubší přechodné zóně se zvyšuje dostupnost světla v důsledku odsedimentování většiny částic přinášených přítokem. Nízká rychlost proudění s rostoucí dobou zdržení vody a dostatkem živin přispívají k nárůstu biomasy a produkce fytoplanktonu. Jezerní zóna se nachází v hrázové části nádrže, která je charakterizována relativně dobrou dostupností světla, avšak nízkými koncentracemi živin a nižším množstvím fytoplanktonu, než je tomu ve výše položených částech nádrže (Thornton et al. 1990).



Obrázek 1: Tři zóny přehrady vytvořené podle chemických, biologických a fyzikálních faktorů (vytvořeno podle Thornton et al. 1990). Rovné šípky naznačují směr proudění, zahnuté šípky míchání vodního sloupce.

2.2. Sezónní rozvoj fytoplanktonu

Fytoplankton během sezóny ovlivňují různé fyzikální, chemické a biologické parametry. Fytoplankton tvoří řasy a sinice, které jsou fotoautotrofní, jejich růst je tedy plně závislý na světelné energii (Reynolds 2006). Fytoplankton využívá fotosynteticky aktivní záření (FAR) v rozmezí vlnových délek 380–710 nm (Kalff 2002), které je při průniku vodou rozptylováno molekulami vody i suspenzovanými částicemi. Hloubka, do které pronikne 1 % povrchového záření, se nazývá eufotická vrstva (Z_{eu}). Dlouhodobé přežití fytoplanktonu tedy v podstatě závisí na schopnosti udržet se ve svrchní osvětlené části vodního sloupce (Reynolds 2006). O dostupnosti světla pro fytoplankton rozhodují tři vzájemně propojené složky: (1) intenzita a doba záření dopadajícího na hladinu, (2) rozptyl a ztráta intenzity s rostoucí hloubkou a (3) hloubka vertikálního promíchávání vodního sloupce (tloušťka epilimnia – Z_{mix}). Pokud je Z_{mix} větší než Z_{eu} , dostává se fytoplankton do oblasti bez světla a dochází k omezení fotosyntézy (Reynolds 2006).

Dalším stejně důležitým faktorem je dostupnost živin (Becker et al. 2010). Nejčastějšími prvky, které limitují růst sinic a řas, jsou fosfor, dusík a v některých případech i křemík. Ve vodách mírného pásma je hlavním limitujícím prvkem fosfor (Wetzel 2001). Ve vodách se fosfor dostupný pro fytoplankton vyskytuje převážně v oxidovaném stavu ve formě

anorganických orthofosforečnanů (Reynolds 2006). Druhým nejdůležitějším prvkem je dusík. Fytoplankton ho využívá především ve formě NO_3^- a NH_4^+ , dusík fixující sinice ještě ve formě N_2 . Dusík může fytoplankton přijímat i v dalších anorganických i organických formách, ale jejich obsah ve vodách je velmi nízký, a význam tedy zanedbatelný (Reynolds 2006). Křemík je významný prvek pro rozsivky a některé chrysomonády, které ho využívají na stavbu buněčných schránek. Přijímají ho v podobě rozpuštěné kyseliny křemičité $\text{Si}(\text{OH})_4$ (Martin-Jezequel et al. 2000).

Další faktory, které přímo ovlivňují růst a složení fytoplanktonu, je teplota a doba zdržení. Teplota vody působí přímo na buňky fytoplanktonu – ovlivňuje metabolismus buněk (rychlost růstu, rychlost fotosyntézy), ale také na teplotní stratifikaci. Teplota rozhoduje o velikosti a stabilitě míchané vrstvy (epilimnia), která ovlivňuje rozvoj sinic a řas (Wetzel 2001, Reynolds 2006). Doba zdržení je teoretická doba nutná k výměně celého objemu vody v přehradě. Pokud je tato doba nižší, než je průměrná generační doba fytoplanktonu, dochází k tzv. hydraulickému vymytí – populace sinic a řas nejsou schopné svým růstem nahradit ztráty způsobené vymýváním (Kalff 2002, Reynolds 2006).

Sladkovodní planktonní společenstva zahrnují kromě sinic a řas i jiné organismy včetně drobných živočichů (zooplankton). Většina z nich jsou herbivoři živící se právě řasami a sinicemi. Herbivorní predace snižuje množství fytoplanktonu, má proto významný vliv na dynamiku a populační ekologii fytoplanktonu a je jedním z nejdůležitějších biotických faktorů (Reynolds 2006).

V případě konkrétní nádrže není jednoduché přesně určit, který faktor prostředí je pro složení a množství fytoplanktonního společenstva rozhodující. Obecně lze říci, že význam jednotlivých faktorů závisí na trofii systému. Obsah živin má větší vliv spíše v oligotrofním prostředí, zatímco v mezotrofním prostředí má větší význam žrací tlak zooplanktonu. V eutrofních systémech je fytoplankton ovlivněn především dostupností světla (Naselli-Flores 2000). Nicméně fyzikální, biologické i chemické parametry jsou spolu úzce propojeny a přesná předpověď toho, kdy a kde bude dominovat určitý druh řasy nebo sinice, je téměř nemožná (Reynolds et al. 2002).

Komplikovanou situaci s existencí velkého množství koexistujících fytoplanktonních druhů vystihuje tzv. Hutchinsonův paradox nebo také paradox planktonu. Ve většině planktonních společenstev koexistuje značné množství druhů, které si konkurují o poměrně malý počet zdrojů (Hutchinson 1961), což by podle principu kompetičního vyloučení

(Tilman 1977) mělo vést k selekci několika málo nejlépe adaptovaných druhů. Nicméně prostředí, ve kterém se fytoplankton pohybuje, není zcela homogenní a limitující faktory se dynamicky mění v různých časových intervalech (Reynolds 2006).

2.2.1. PEG Model

Sezónní cyklus fytoplanktonu byl popsán na základě sledování mnoha jezer a nádrží již v 80. letech minulého století a souhrnně publikován v tzv. PEG-modelu (Sommer et al. 1986). Tento model popisuje sled sezónních událostí, které se v ideálním jezeře rok co rok opakují:

Během zimních měsíců je biomasa fytoplanktonu na svém sezónním minimu vlivem limitace světlem a nízké teploty. Na konci zimního období zlepšující se podmínky pro růst fytoplanktonu umožní jeho následný rozvoj, který vede k vytvoření jarního maxima biomasy fytoplanktonu. Biomasa tvoří zpravidla malé, rychle rostoucí řasy jako jsou kryptomonády, chlamydomonády nebo drobné centrické rozsivky. Následně dochází k rozvoji herbivorního zooplanktonu, který vytváří silný predanční tlak na fytoplankton. Kombinací filtračního tlaku zooplanktonu s možnou limitací živinami, které mohou být v období růstu fytoplanktonu vyčerpány, dochází k rychlému poklesu biomasy řas, což se často projevuje zvýšením průhlednosti. Tato fáze sezónního cyklu na přelomu jara a léta se nazývá období „clear water“, během níž dochází k recyklaci živin a utváření teplotní stratifikace. Herbivorní zooplankton je limitován nedostatkem potravy, a proto zpravidla následuje pokles jeho četnosti a biomasy.

V letním období je nádrž zpravidla již teplotně stratifikována a za těchto podmínek dochází k rozvoji letního fytoplanktonu, jehož růst je charakterizován střídáním nejrůznějších limitujících faktorů. Hlavním limitujícím faktorem bývá zpravidla množství dostupného rozpuštěného fosforu, ale uplatňují se i další, např. dostupnost Si, N, dostupnost světla, predanční tlak zooplanktonu atd. PEG model předpokládá nejprve dominanci zelených řas, kompetice o fosfor vede k postupnému převládání koloniálních rozsivek. Ty jsou následně kvůli vyčerpání křemíku nahrazeny dinoflageláty nebo sinicemi. Předpokládaný pokles koncentrace dusíku ve vodě vede k rozvoji vláknitých sinic, schopných dusík fixovat. Tato modelová sekvence sukcesního vývoje složení fytoplanktonního společenstva může mít však v konkrétních případech značně odlišný průběh. S koncem léta dochází k postupnému

ochlazování vody v epilimniu až do doby, kdy se teploty u hladiny a dna vyrovnají a nastává podzimní míchání celého vodního sloupce. Biomasa fytoplanktonu postupně klesá a mění se také jeho složení. Dominují druhy adaptované na míchání vodního sloupce, jako jsou např. rozsivky nebo kryptomonády. Se zkracujícím se dnem klesá množství světla, které limituje růst fytoplanktonu. Teplota u hladiny se snižuje a s příchodem zimy se celý cyklus uzavírá.

2.3. Rozsivky

Rozsivky jsou mikroskopické jednobuněčné hnědé řasy schopné vytvářet mnohobuněčné kolonie. Z celkové roční světové primární produkce odhadované na $1,4 * 10^{14}$ kg rok⁻¹ sušiny připadá podle odhadů až 20–25 % právě na mořské rozsivky (Werner 1977). Jako každé řasy obsahují fotosyntetické pigmenty, které jim umožňují přijímat vzdušný oxid uhličitý a vytvářet z něj pomocí světelné energie organické látky. Z velké části se tak podílejí na produkci kyslíku a odstraňování oxidu uhličitého z atmosféry (Werner 1977). Nyní je známo asi 10–12 tisíc druhů, ale odhaduje se, že jejich skutečný počet je ještě několikanásobně vyšší (Werner 1977, Martin-Jezequel et al. 2000). Rozsivky osídlily široké spektrum biotopů. Vyskytují se převážně v planktonu živinově bohatých mořských vod, ale jsou v podstatě všudypřítomné, jak mořské tak i sladkovodní (Werner 1977).

Rozsivky představují jednu z nejvíce zastoupených skupin fytoplanktonu ve sladkovodních jezerech a nádržích. Charakteristickým znakem rozsivek je dvoudílná křemitá schránka - frustula, která se skládá ze dvou misek. Schránka rozsivek připomíná krabičku, na jejíž spodní část přiléhá jako víko větší horní část (Round et al. 1990, Kalina & Váňa 2005). Podle tvaru schránky se rozsivky rozdělují na centrické (kruhové, centrálně symetrické) a penátní (podlouhlé, podélně symetrické). Schránka rozsivek má obvykle složitou strukturu s různými žebry a póry, jejichž uspořádání je často velmi ornamentální a také druhově specifické. Rozsivky, které mají ve směru podélné osy na schránce štěrbinu, se aktivně pohybují ve směru této štěrbinu pomocí slizu. Buňky některých druhů se mohou různými způsoby spojovat a vytvářet tak mnohobuněčné kolonie, např. spojení plochou misek nebo pomocí výběžků – např. *Aulacoseira* (Kalina & Váňa 2005).

Frustula rozsivek vzniká uvnitř buňky v podobě rozrůstajícího se křemičitého depozičního váčku. Hlavním stavebním materiálem je amorfni polymer oxidu křemičitého. Depoziční váček se postupně plní koloidním křemitým materiálem, který uvnitř polymeruje

a ukládá se v podobě submikroskopických granulí. Křemitý materiál nemá předem stanovený tvar a musí být do určitého tvaru teprve zformován (Kalina & Váňa 2005). Rozsivky křemík přijímají aktivně z prostředí v podobě rozpuštěné kyseliny křemičité Si(OH)_4 (Martin-Jezequel et al. 2000). Pokud je křemíku nedostatek, rozsivky nemohou růst a množit se, a posléze hynou. Při dělení buněk si dceřiná buňka jednu část schránky ponechá od buňky mateřské a druhou část si vytváří sama. Tato část je však vždy o trochu menší, a proto postupně dochází ke zmenšování velikosti schránek. Pokud velikost schránky poklesne pod určitou mez, dochází buď ke smrti buňky, nebo k přechodu na pohlavní způsob rozmnožování, při kterém se obnoví optimální velikost schránky (Round et al. 1990).

V našich zeměpisných šířkách rozsivky vytvářejí podstatnou část fytoplanktonu přehrad a nádrží (Znachor & Nedoma 2008). Jejich hojná přítomnost ve vodě se projevuje hnědým vegetačním zbarvením vody. Vyskytují se zejména na jaře a na podzim, některé druhy také v létě (Znachor & Nedoma 2008, Werner 1977). Bohužel v posledních letech jsou v létě tyto relativně neškodné rozsivky vytlačovány toxickými sinicemi, které vytvářejí nebezpečný vodní květ a výrazně snižují kvalitu vody.

2.3.1. Nejběžnější rody sladkovodních rozsivek

Mezi nejčastěji se vyskytující sladkovodní rody rozsivek patří jednobuňčné *Stephanodiscus* a *Cyclotella* a koloniální *Fragilaria*, *Asterionella* a *Aulacoseira*. V nádrží Římov dosahují největší biomasy zpravidla mnohobuňčné koloniální typy (Rychtecký & Znachor 2011). Rod *Fragilaria* tvoří páskovité kolonie spojené plochou misek. Frustuly jsou z boku a ke koncům symetricky zúžené. Rod *Asterionella* vytváří hvězdicovité kolonie. Rod *Aulacoseira* je vláknitá koloniální rozsivka, jejíž hlavním diagnostickým znakem je spojení sousedních buněk pomocí ostnů dobře viditelných na volných koncích vláken. Jde o kosmopolitní, variabilní druh, přítomný i ve fytoplanktonu větších vodních nádrží (Kalina & Váňa 2005).

Fragilaria i *Asterionella* žijí v planktonu sladkovodních rybníků, přehrad a tůní, kde často tvoří dominující skupinu rozsivek. *Asterionella* patří mezi typické jarní druhy tvořící jarní maximum rozvoje fytoplanktonu, znovu pak nastupuje na podzim. Výskyt *Aulacoseiry* je druhově rozmanitý, nicméně obecně platí, že se vyskytuje hlavně na jaře a na začátku léta (Round 1990). Naproti tomu *Fragilaria* je typický letní druh (Reynolds 2006).

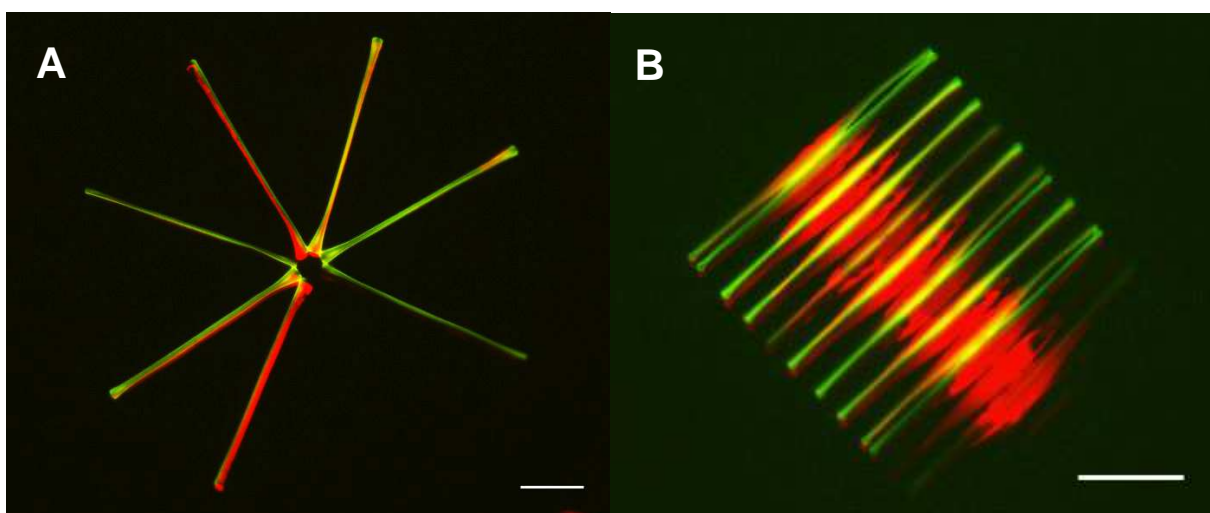
2.4. Fluorescenční značení ukládání křemíku

V roce 2001 byla popsána fluorescenční metoda umožňující studovat ukládání křemíku u rozsivek (Shimizu et al. 2001). Jejím základem je inkubace rozsivek s fluorescenční proubou (2-(4-pyridyl)-5-[[4-dimethylaminoethyl-aminocarbonyl]-methoxy]phenyl)oxazole, PDMPO, LysoSensorTM Yellow/Blue DND-160), která vytváří s křemíkem komplex snadno vstupující do buněk rozsivek, a který je zabudováván společně s křemíkem do nově vytvořené schránky (Shmizu et al. 2001). Komplex PDMPO-Si po excitaci UV zářením produkuje intenzivní zelenou fluorescenci, jejíž intenzita je úměrná množství zabudovaného křemíku (Leblanc & Hutchins 2005).

Metoda fluorescenčního značení PDMPO byla úspěšně použita ke sledování rychlosti tvorby schránky u druhu *Navicula salinarum* v laboratorní kultuře (Hazelaar et al. 2005). V stejném roce byla tato metoda standardizována pro použití s přírodními vzorky (Leblanc & Hutchins 2005). Hlavní výhodou této metody spočívá v její jednoduchosti a schopnosti rozlišit snadno buňky, které aktivně ukládají křemík od těch, u kterých k ukládání Si nedochází (Obr. 2). Intenzita fluorescence je měřítkem aktivity rozsivek a vzniku nových buněk, může tedy sloužit i pro odhad rychlosti růstu rozsivek (Znachor & Nedoma 2008). V posledních letech byla tato fluorescenční metoda použita při studiu různých aspektů ekologie rozsivek v nádrži Římov (Czech Republic; Znachor et al. 2008, Znachor & Nedoma 2008). Měření fluorescence probíhalo u druhu *Fragilaria crotonensis*, která tvoří dominantní druh fytoplanktonu během letních měsíců. Bylo zjištěno, že ukládání křemíku v eufotické vrstvě Z_{eu} (2–6,5 m) je významně omezeno nedostatkem světla, zatímco u hladiny má limitující vliv fosfor (Znachor & Nedoma 2008). V eufotické vrstvě jsou pomalu roztoucí rozsivky více kolonizovány bakteriemi než je tomu u hladiny (Znachor et al. 2012). Významným faktorem ovlivňujícím ukládání Si u rozsivek během roku jsou také extrémní srážky. Bylo zjištěno, že po silných letních deštích se významně zvýšilo ukládání křemíku do buněk v hrázové části nádrže Římov s následným dramatickým nárůstem abundance *Fragilarie* (Znachor et al. 2008). *Fragilaria* jako opakovaně dominantní letní druh byla použita také jako modelový organismus pro studium osmotrofie fytoplanktonu (Znachor & Nedoma 2010, Znachor et al. 2011). Bylo prokázáno, že po přidavku glukózy v koncentracích vyšších než 10^{-7} mol l^{-1} došlo k statisticky významnému zvýšení fluorescence PDMPO, což naznačuje, že rozsivky mohou ke svému růstu využívat organický substrát (Znachor & Nedoma 2010). Ve dvou vzorcích z léta 2008 byla změřena rychlost růstu

paralelně s fluorescencí PDMPO (Znachor et al. 2011), systematické porovnání rychlosti růstu s měřením intenzity fluorescence PDMPO však doposud neproběhlo.

Tato práce je zaměřena na sezónní sledování ukládání Si u rozsivek na různých místech nádrže Římov. Cílem této práce je zjistit, jaké faktory ovlivňují depozici křemíku na jednotlivých odběrových místech, jak se liší jednotlivé druhy v rychlosti ukládání Si a jaký je vztah mezi ukládáním křemíku a růstovou rychlostí dominantních druhů rozsivek.



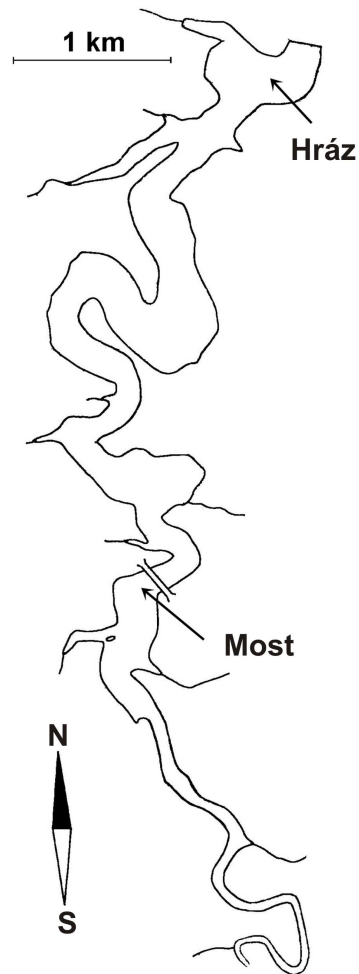
Obrázek 2: Buňky rozsivek značené fluorescenční proubou PDMPO. Zeleně označen nově ukládaný křemík, červeně je autofluorescence chlorofylu. A – *Asterionella formosa*, B – *Fragilaria crotonensis*, měřítko 20 μm .

3. Materiál a metody

3.1. Popis lokality a odběr vzorků

Terénní experimenty a měření probíhaly na vodní nádrži Římov v jižních Čechách. Nádrž byla vybudována v roce 1978 na řece Malši pro vodárenské a vodohospodářské účely. Má typický kaňonovitý tvar, leží v nadmořské výšce 470 m a je dlouhá 13,5 km. Průměrná hloubka činí 16,5 m, nejhlubší je nádrž u hráze, kde hloubka dosahuje 43 m. Rozloha nádrže je 2,06 km² a objem 34,5 milionů m³. Průměrná doba zdržení vody v nádrži činí 80–180 dní v závislosti na průtoku Malše. Nádrž je dimiktická s jarním a podzimním mícháním, vodou ji zásobuje povodí o rozloze 488 km² s převážně lesnatým, vegetačním pokryvem (Hejzlar & Straškraba 1989).

Terénní práce probíhaly od začátku dubna do konce listopadu v jedno- až tří-týdenních intervalech. Vzorky byly odebírány pomocí Friedingerova odběráku na dvou odběrových místech. Odběrové místo MOST charakterizuje přechodnou zónu nádrže a odběrové místo HRÁZ jezerní zónu (dle Thorton et al. 1990, Obr. 3). Vzorky byly odebírány z hloubky 0,5 m, u hráze byla ještě vzorkována eufotická hloubka (Z_{eu} , 2–6,5 m). Hloubka eufotické vrstvy byla zjištěna z měření vertikálního světelného profilu fotosynteticky aktivního světla (LICOR LI-1400 s podvodním senzorem LI 193 SA, LI-COR, Lincoln, USA) jako hloubka s 1 % záření dopadnuvšího na hladinu. Na místě byly také měřeny základní fyzikální a chemické parametry – množství světla během inkubace s PDMPO (měřeno až od června), teplota, pH a koncentrace rozpuštěného O₂ (WTW 330i Oximeter, pH meter; WTW, Weilheim, Germany). Dále byly odebrány vzorky pro stanovení koncentrace rozpuštěného Si (DSi), rozpuštěného reaktivního fosforu (SRP), celkového fosforu (TP) a nitrátového dusíku (NO₃⁻-N) podle analytických metod rutinně používaných na Hydrobiologickém ústavu. Vzorky pro počítání biomasy fytoplanktonu v sedimentačních komůrkách (Lund et al. 1958) byly fixovány Lugolovým roztokem, paralelní vzorek pro stanovení růstové rychlosti rozivek byl fixován formaldehydem (výsledná koncentrace 4%). Data o průměrném přítoku do nádrže Římov za sledované období byla získána z měřicí stanice Pořešín ležící bezprostředně nad zaústěním řeky Malše do nádrže.



Obrázek 3: Grafické znázornění nádrže Římov s označenými odběrovými místy.

3.2. Měření depozice Si pomocí PDMPO

K měření biogenní depozice křemíku v přírodních vzorcích byla použita metoda značení rozsivek fluorescenční próbou PDMPO (Leblanc & Hutchins 2005). Próba byla získána od firmy Molecular Probes (Europe BV, Leiden, Nizozemsko), použitá finální koncentrace ve vzorku byla $0,125 \mu\text{M}$. Vzorky byly po přidání PDMPO inkubovány *in situ* u hráze po dobu 24 hodin v 50 ml lahvích v hloubce, odkud byly odebrány ($0,5 \text{ m}$ a Z_{eu}). Po skončení inkubace se vzorky převezly do laboratoře, kde se přefiltrovali přes $1 \mu\text{m}$ polykarbonátové filtry (Osmonics, Poretics Corp., Livermore, CA, USA). Filtry se poté propláchly destilovanou vodou, aby se odstranila nenavázaná próba a umístili se do kapky imerzního oleje na podložní sklíčko. Filtr byl zakápnut imerzním olejem a zakryt krycím sklíčkem. Fluorescence PDMPO se měřila ihned po přípravě filtrů v epifluorescenčním mikroskopu

(Nikon Eclipse 90i, objektiv Nikon Plan Fluor 20×, Tokyo, Japonsko) ve spojení s digitální kamerou VDF Voskühler (Norimberk, Německo) a digitální analýzou obrazu NIS-Elements 3.0 (Laboratory Imaging, Praha, Česká Republika).

3.2.1. Analýza obrazu

V epifluorescenčním mikroskopu lze pouhým okem snadno odlišit buňky, které ukládají křemík od těch, které jsou neaktivní. Použití analýzy obrazu však umožňuje také kvantifikovat fluorescenci PDMPO a tak zjistit míru silifikace jednotlivých druhů rozsivek během sezónního cyklu. Metoda pro stanovení fluorescence byla upravena podle Nedomy et al. (2003). Z každého filtru bylo pořízeno 50 snímků, z nichž se každý skládá ze dvou jednotlivých do sebe zapadajících 8-bitových monochromatických snímků stejného pole za použití dvou různých fluorescenčních nastavení: (1) PDMPO snímek (excitace/emise: 360-370 nm/520-540 nm) s cílem kvantifikovat intenzitu zelené PDMPO fluorescence, (2) snímek autofluorescence chlorofylu (excitace/emise: 510-550 nm/>590 nm) s cílem lokalizovat kolonie. Bylo použito zvětšení 200×. Nejdříve byla ve složeném obrázku manuálně označena pozice kolonie, poté byla změřena intenzita fluorescence ve stupních šedi a další parametry (plocha, délka, maximální a minimální rozměr) pomocí funkcí zabudovaných v programu analýzy obrazu Nis Elements. Počet buněk v kolonii rozsivek byl určen manuálně. Pro každou kolonii byla vypočítána PDMPO fluorescence (F^{PDMPO} , v relativních jednotkách fluorescence RFU kolonie⁻¹) podle rovnice (Nedoma et al. 2003):

$$F^{\text{PDMPO}} = \text{Area} \times (\text{MGray} - \text{BgMGray}) \times \text{Fcal} / (\text{IT} \times \text{Gain})$$

kde Area (μm^2) je plocha, MGray (bezrozměrný) jsou průměrné hodnoty stupňů šedi, BgMGray (bezrozměrný) jsou průměrné hodnoty stupňů šedi pozadí, Gain je zesílení (bezrozměrný), IT (doba expozice; ms) jsou specifická nastavení citlivosti kamery pro každý obrázek a Fcal (bezrozměrný) je fluorescenční kalibrační faktor. Fcal byl stanoven při každém odběru den před snímkováním pomocí mikroskopického skla s čerstvě připraveným fluorescenčním standardem (fluorescein 100 g l⁻¹) podle Model & Burkhart (2001). Fcal je definován jako poměr mezi nominální a skutečnou hodnotou fluorescence tohoto standardu. PDMPO fluorescence byla normalizována vydělením celkové fluorescence kolonie celkovým počtem buněk v této kolonii (bez ohledu na jejich aktivitu). Pro každý vzorek normalizovaná PDMPO fluorescence reprezentuje průměrnou hodnotu z 50 měření.

V každém odběru byla kvantifikována fluorescence PDMPO všech dominantních křemík využívajících organismů (rozsivky + chrysomonády). Aby bylo možné porovnat intenzitu biogenní silifikace mezi jednotlivými odběrovými místy, byla vypočtena celková fluorescence společenstva PDMPO_C (RFU ml⁻¹) pro jednotlivé odběry podle vzorce:

$$\text{PDMPO}_C = \sum (\text{PDMPO}_{N_i} * A_{N_i})$$

kde PDMPO_{N_i} je fluorescence PDMPO na buňku daného druhu, A_{N_i} je počet buňek daného druhu na ml.

3.2.2. Stanovení abundance a růstové rychlosti rozsivek

Abundance rozsivek byla stanovena ve vzorcích fixovaných Lugolovým roztokem počítáním buněk v Utermöhlových sedimentačních komůrkách pomocí obráceného mikroskopu Olympus IX 71, zvětšení 300× a 600×. Vzorky byly počítány v duplikátech. Růstová rychlost rozsivek (μ) byla vypočtena podle vzorce:

$$\mu = \frac{\ln(A_K) - \ln(A_P)}{t}$$

kde A_K je abundance na konci inkubace, A_P je počáteční abundance a t je čas (dny). Pro stanovení konečné abundance rozsivek byly použity vzorky inkubované s PDMPO po dobu 24 hodin fixované formaldehydem (finální koncentrace 4 %).

3.3. Statistické metody

Rozdíly ve fyzikálních, chemických a biologických parametrech mezi jednotlivými odběrovými místy byly testovány pomocí jednocestné analýzy variance (ANOVA) s následným mnohonásobným porovnáním Tukeyho testem, porovnání hloubky epilimnia mezi hrází a mostem bylo provedeno pomocí párového t-testu (Prism 5, GraphPad Software Inc., La Jolla, USA). Vztah mezi fluorescencí PDMPO a růstovou rychlostí byl testován lineární regresí. Pro zjištění faktorů ovlivňujících depozici Si u dominantních druhů rozsivek byla použita mnohonásobná regrese s postupným výběrem (SigmaPlot, Systat Software, Inc., Chicago, IL, USA).

4. Výsledky

4.1. Charakteristika sezóny

Rok 2011 byl srážkově i teplotně rozkolísaný, s chladnými i teplými obdobími. Duben a červen byly v porovnání s dlouhodobým průměrem velmi teplé a slunečné, červen byl ale srážkově podprůměrný. Červenec patřil celorepublikově k velmi deštivým měsícům, nicméně v jižních Čechách byl srážkově, teplotně i množstvím slunečního záření podprůměrný. Srpen byl opět teplotně i množstvím slunečního záření nadprůměrný. Záříví a začátek října byly neobvykle teplé a suché, zbytek podzimu už byl teplotně i srážkově v normálu (Portál ČHMÚ). V roce 2011 byly dešťové srážky v povodí nádrže Římov podprůměrné, čemuž odpovídal i nízký průměrný přítok $2,63 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ během sledované sezóny (duben-listopad), což je výrazně méně než průměr za toto období ($4,8 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). Nejnižší naměřený přítok byl v srpnu ($1,87 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$).

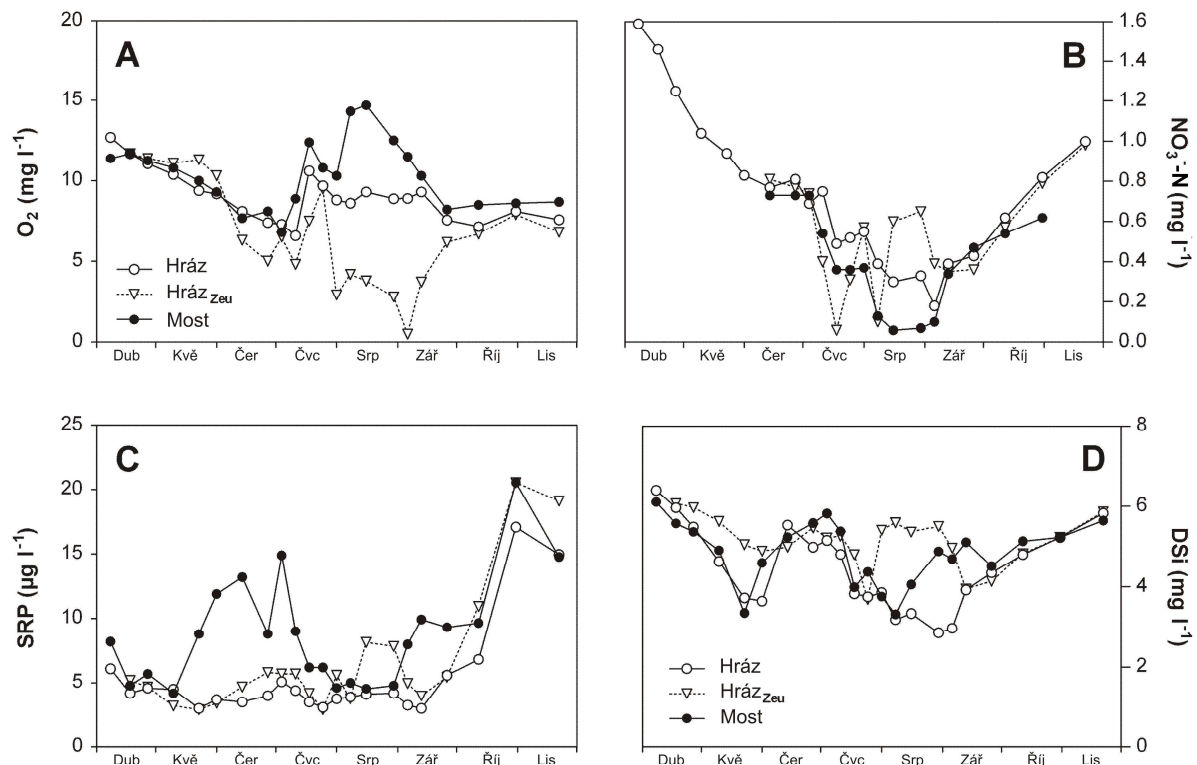
4.2. Základní fyzikální a chemické parametry

V období duben až listopad 2011 byla na odběrových stanovištích nádrže měřena řada biologických, fyzikálních a chemických parametrů. Jejich souhrn s průměrnými hodnotami a rozsahy je uveden v Tabulce 1. Teplotní stratifikace nádrže se začala vytvářet již koncem dubna a vydržela až do konce října, kdy se nádrž začala míchat (Vítková 2012). Dostupnost světla charakterizovaná hloubkou eufotické vrstvy, případně průhledností, byla statisticky významně nižší u mostu než u hráze (Tab. 1, $p < 0,001$).

Tabulka 1: Sezónní průměry a rozsah měřených abiotických a biotických parametrů.

	Hráz		Z_{eu}		Most	
	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah
pH	8,3	6,3 - 9,7	7,5	6,2 - 9,7	8,7	6,5 - 10,5
Průhlednost (m)	2,4	1,5 - 4,2	-	-	1,6	0,7 - 2,5
Hloubka míchané vrstvy (m)	5,2	2 - 15	-	-	4,6	1,8 - 11
Z_{eu}/Z_{mix}	1,1	0,25 - 2,6	-	-	0,8	0 - 2,1
Kyslík ($mg\ l^{-1}$)	9,0	6,6 - 12,7	6,7	0,5 - 11,7	10,3	6,8 - 14,7
Saturace kyslíkem (%)	97,4	66 - 127	67,8	5 - 109	113	75 - 170
$NO_3^- - N$ ($mg\ l^{-1}$)	0,7	0,18 - 1,59	0,5	0,1 - 1	0,4	0,1 - 0,7
SRP ($\mu g\ l^{-1}$)	5,3	3 - 17,1	6,6	2,9 - 20,5	8,8	4,2 - 20,5
TP ($\mu g\ l^{-1}$)	15,4	9,3 - 25	15,4	8 - 25,5	22,5	13,8 - 34,7
DSi ($mg\ l^{-1}$)	4,5	2,9 - 6,4	5,1	3,7 - 6,1	4,9	3,3 - 6,1
Chlorofyl <i>a</i> ($\mu g\ l^{-1}$)	8,5	0,4 - 23,3	8,4	0,5 - 20,5	38,2	1,1 - 140
Celková biomasa ($mm^3\ ml^{-1}$)	3,4	0,17 - 7,7	2,3	0,15 - 6,2	21,4	0,1 - 84,2
Podíl rozsvívek (%)	39,9	0,03 - 97,4	41,2	0 - 92,9	20,9	0,1 - 78
Podíl chrysomád (%)	6,4	20,9	3,7	0 - 25,1	1	0 - 7,1

Nejvyšší koncentrace kyslíku byly naměřeny u mostu. V letním období stoupaly koncentrace až k hodnotám $14,7\ mg\ l^{-1}$ (Obr. 4A). Množství rozpuštěného kyslíku bylo nejnižší v eufotické hloubce (Tab.1, $p < 0,001$), koncem léta klesla koncentrace kyslíku v Z_{eu} až k téměř k anoxii (Obr. 4A). Průměrné koncentrace dusičnanového dusíku se na jednotlivých odběrových místech téměř nelišily (Tab. 1). U mostu a u hráze však došlo koncem léta k téměř úplnému vyčerpání $NO_3^- - N$ ve vodě (Obr. 4B). U hráze nebyl pokles koncentrace $NO_3^- - N$ tak výrazný a došlo k němu později než u mostu. V eufotické hloubce koncentrace $NO_3^- - N$ oscilovaly během sezóny (Obr. 4B). Průměrné sezónní koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu byly nejvyšší u mostu (Obr. 4C, $p < 0,05$). Nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v koncentracích rozpuštěného Si, jeho množství kolísalo během roku v rozmezí $3-6\ mg\ l^{-1}$ (Tab. 1, Obr. 4D). Hodnoty biomasy fytoplanktonu a chlorofylu *a* byly u mostu výrazně vyšší než na ostatních lokalitách (Tab. 1, $p < 0,01$).

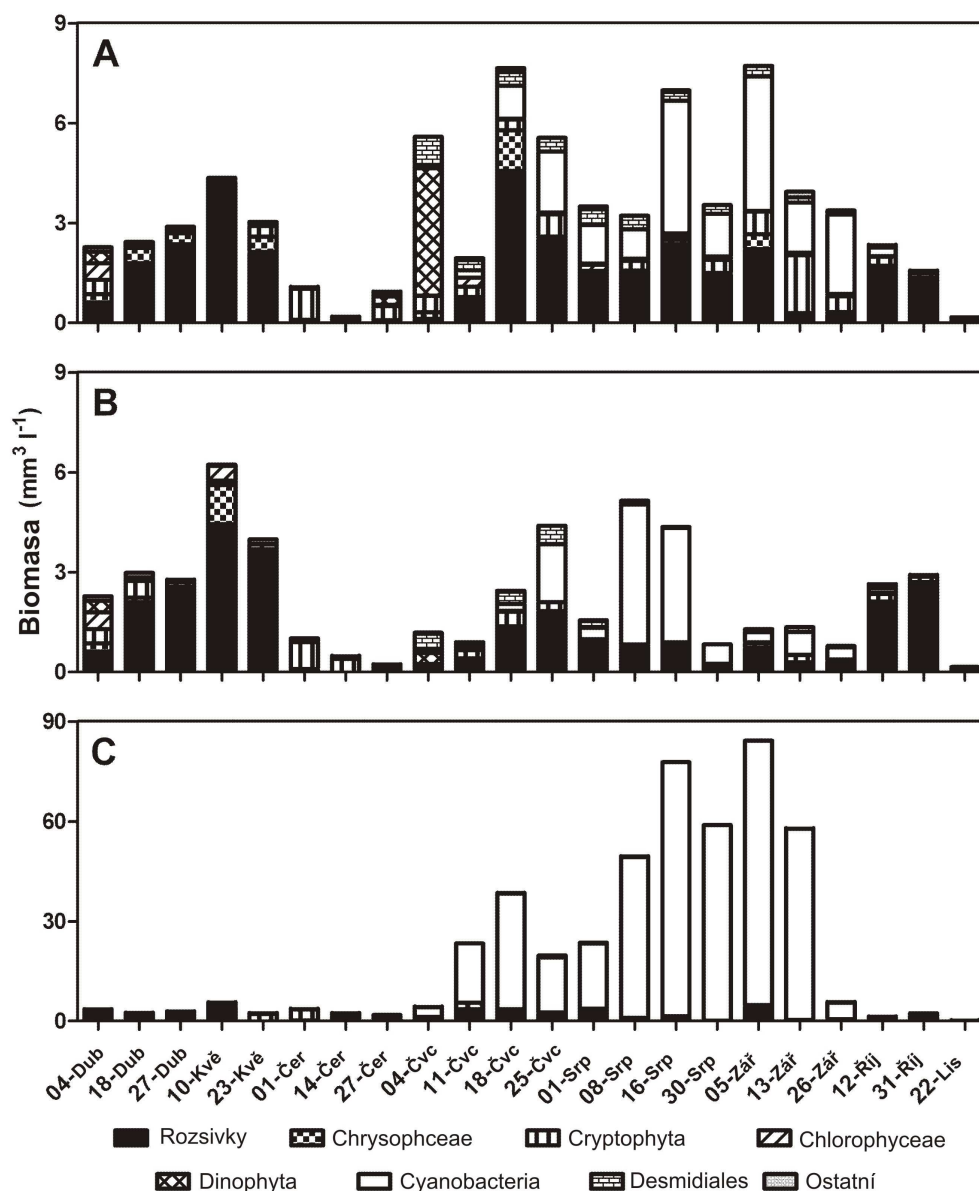


Obrázek 4: Sezónní průběh vybraných chemických parametrů v nádrži Římov.

4.3. Sezónní průběh fytoplanktonu

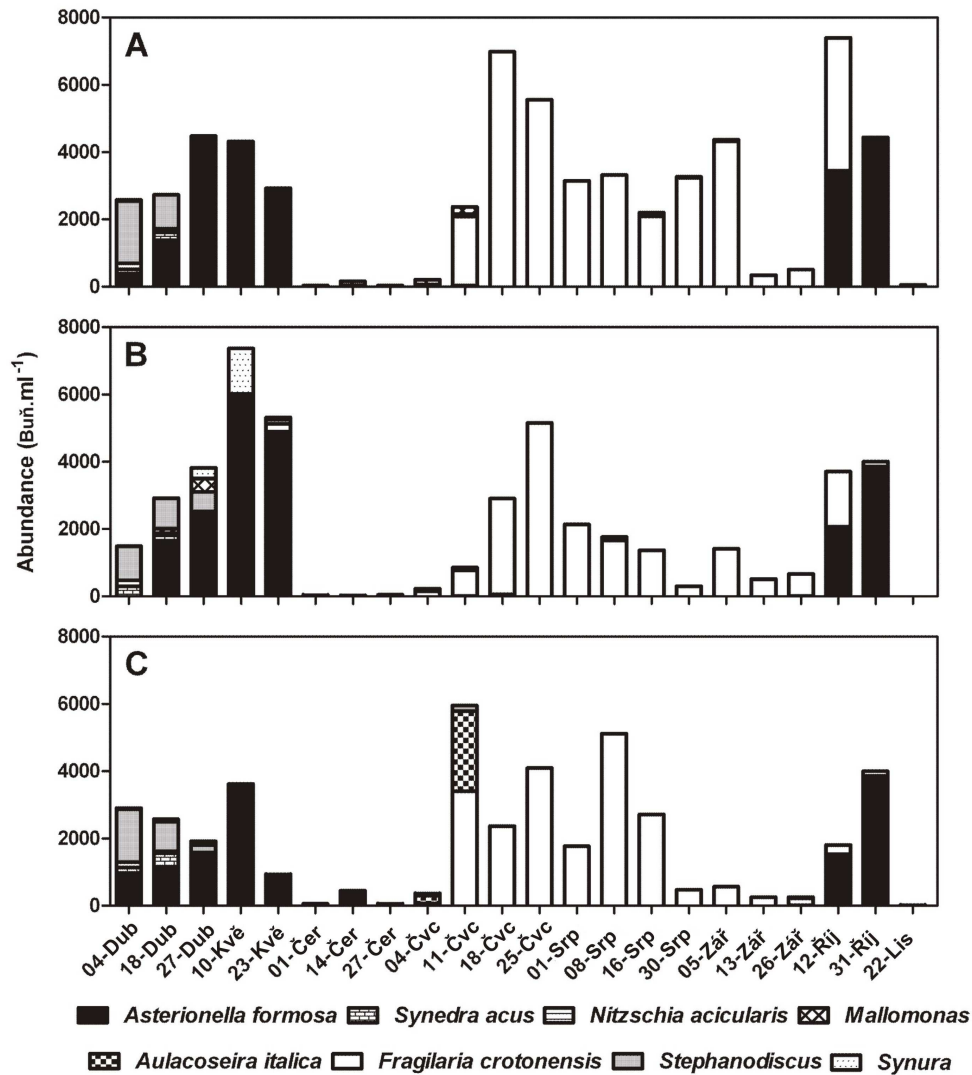
Biomasa jednotlivých skupin fytoplanktonu je znázorněna na Obrázku 5. Složení a biomasa fytoplanktonu a hráze a v Z_{eu} byly srovnatelné. Nejvyšší biomasa fytoplanktonu se vytvořila u mostu, kde hlavní složku společenstva tvořili sinice (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabena* sp. div.) dominující od července do poloviny září. U hráze měli sinice zastoupení nižší a velký podíl fytoplanktonu tvořili hlavně rozsivky s dominantním druhem *Fragilaria crotonesis* (Obr. 5).

U hráze a v Z_{eu} bylo jarní maximum biomasy fytoplanktonu srovnatelné s letním maximumem. U mostu došlo během léta k obrovskému statisticky významnému růstu sinic ($p < 0,001$), jejichž biomasa byla až dvacetinásobná ve srovnání s jarním maximumem biomasy (Obr. 5C). Průměrné zastoupení rozsivek činilo u hráze 39,9 %, v Z_{eu} 41,2 % a u mostu pouze 20,9 % celkové biomasy fytoplanktonu (Tab. 1). Celková biomasa rozsivek se ale mezi jednotlivými odběrovými místy nelišila. Zastoupení chrysomonád, které stejně jako rozsivky využívají Si, činilo v průměru u hráze 6 %, v Z_{eu} 4 % a u mostu pouze 1 % (Tab. 1).



Obrázek 5: Biomasa jednotlivých skupin fytoplanktonu v nádrži Římov (A – Hráz, B - Zeu, C – Most). Data byla získána v rámci pravidelného sledování podélných profilů nádrže Římov pracovníky HBÚ.

Na začátku sledovaného období (duben–květen) dominovaly hlavně malé centrické rozsivky (*Stephanodiscus* sp. div.) a větší penátní rozsivky (*Asterionella formosa*, *Synedra acus* a *Nitzschia acicularis*). Později na všech lokalitách rozšířila *Asterionella formosa*, v Zeu tvořili významnou část také chrysomonády (*Mallomonas* sp., *Synura* sp., Obr 6).

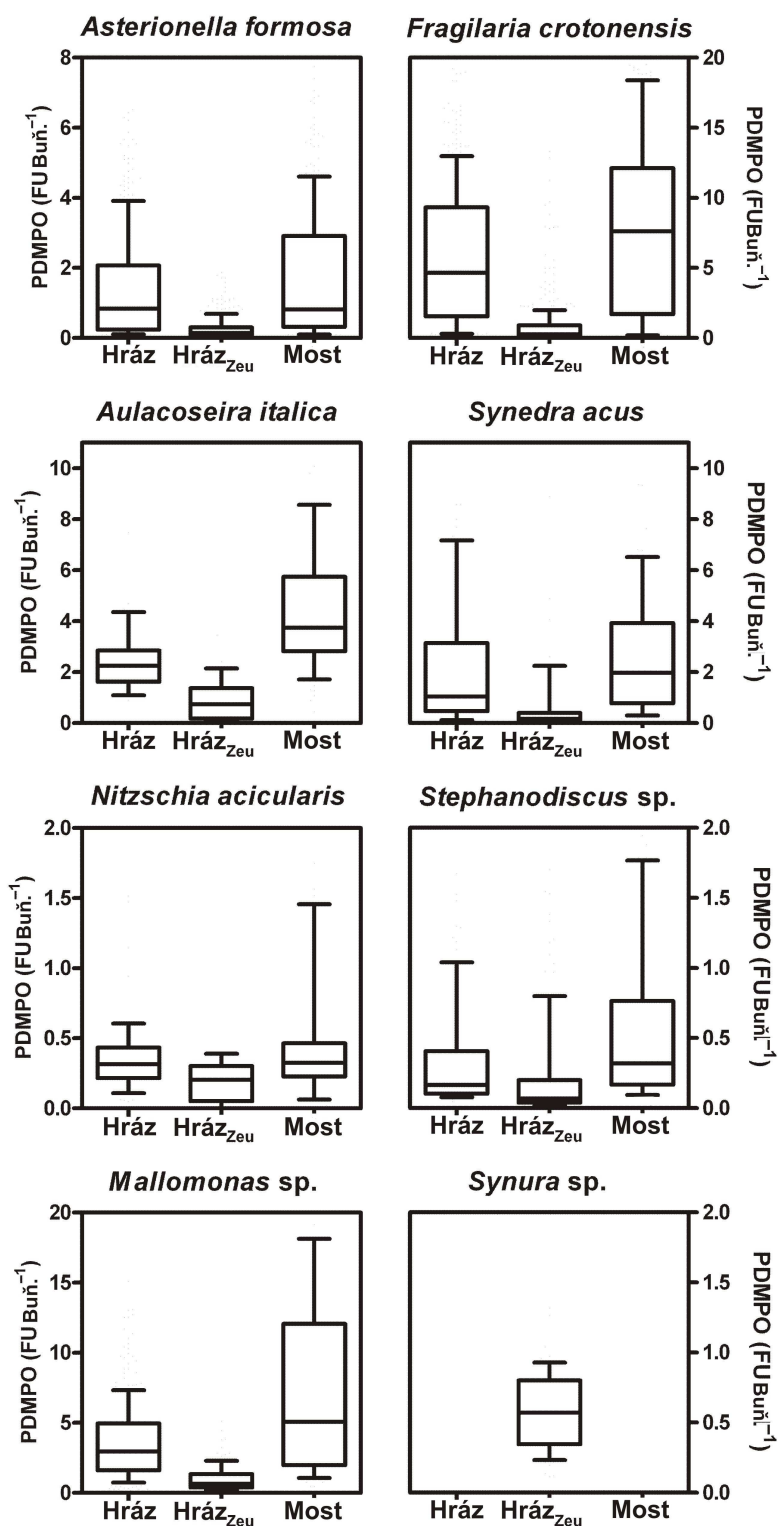


Obrázek 6: Abundance jednotlivých křemík využívajících taxonů v nádrži Římov (A – Hráz, B - Z_{cu}, C – Most).

V červnu došlo k poklesu abundance rozsivek na všech lokalitách, letní biomasa rozsivek se začala vytvářet na začátku července. Druhová rozmanitost se omezila téměř na jediný dominantní druh *Fragilaria crotonensis*, pouze na začátku období u mostu tvořila významnou část biomasy rozsivek také *Aulacoseira italica* (Obr. 6). Na podzim došlo k poklesu abundance druhu *F. crotonensis*, na její místo nastoupila *Asterionella*. V listopadu došlo k vymizení rozsivek z celého vodního sloupce.

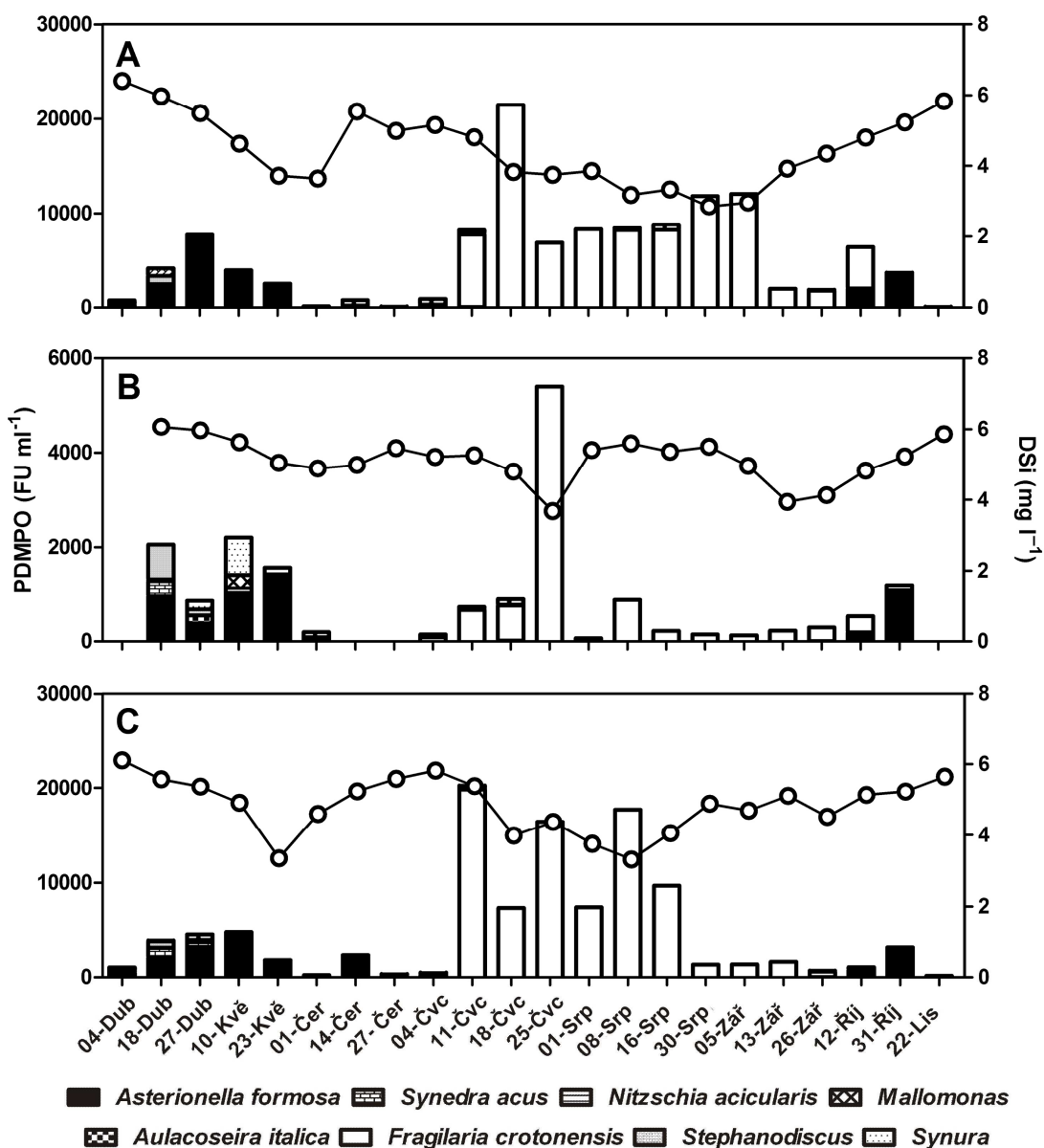
4.4. Sezónní změny v depozici křemíku

Depozice Si byla měřena u šesti taxonů rozsivek a dvou chrysomonád (Obr. 7). U všech druhů byla fluorescence PDMPO u mostu vyšší než u hráze, v Z_{eu} byla silifikace vždy nejnižší (Obr. 7). Pro porovnání depozice křemíku celkovým společenstvem fytoplanktonu na jednotlivých odběrových místech byly intenzity fluorescence PDMPO pro každý taxon vynásobeny jeho abundancí. Tímto způsobem lze porovnat celkovou silifikaci mezi odběrovými místy a vyčíslit podíl jednotlivých druhů (Obr. 8). Na začátku sledovaného období byla silifikace nízká na všech odběrových místech. Nejvýznamější byla na všech místech *Asterionella formosa* podílející se až 57 % na celkové silifikaci. V červnu byla depozice Si výrazně snížena vlivem poklesu abundance rozsivek i chrysomonád. Od začátku července až do poloviny října se na depozici Si podílela téměř výhradně *Fragilaria crotonensis*, pouze v říjnu převládla opět *Asterionella*. V eufotické hloubce během jarního maxima biomasy fytoplanktonu vzrostl podíl chrysomonád až na 25 % celkové silifikace, ve zbytku sezóny jejich význam byl již nepatrný (pod 1 %, Obr. 8B). Dne 25. července, kdy eufotická hloubka byla nejmenší během léta (3,8 m) a zároveň abundance rozsivek byla nejvyšší (Obr. 6B) se vytvořil výrazný vrchol depozice Si (Obr. 8B).



Obrázek 7: Sezónní mediány s vyznačenými kvartily a 10 a 90% percentily intenzity fluorescence PDMPO na buňku u jednotlivých taxonů rozsivek a chrysomonád.

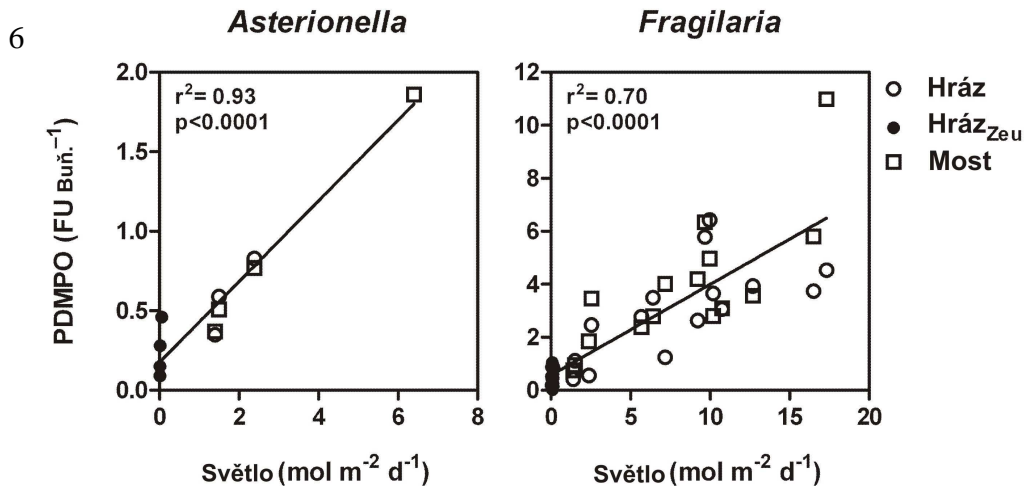
Obecně mezi mostem a hrází nebyly výrazné rozdíly v silifikaci, pouze v Z_{eu} byla silifikace vždy nejnižší (ANOVA, $p < 0,0001$, Obr. 8). U hráze byla významná negativní korelace mezi koncentrací rozpuštěného křemíku ve vodě a velikostí fluorescence PDMPO na ml ($r^2 = 0,27$, $p < 0,05$), zatímco u mostu ani v Z_{eu} závislost nebyla statisticky významná. Jinými slovy, aktivita rozsivek statisticky významně snížila koncentraci Si pouze u hráze.



Obrázek 8: Podíl jednotlivých taxonů na celkovém ukládání křemíku na třech odběrových místech (A – Hráz, B – Z_{eu} , C – Most).

4.5. Faktory ovlivňující depozici Si u dominantních druhů rozsivek

K určení faktorů ovlivňujících depozici Si u rozsivek za sledované období byla použita mnohonásobná regrese s postupným výběrem. Statistické analýzy byly provedeny pouze u dvou druhů rozsivek (*Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis*), protože ostatní druhy se vyskytovaly příliš krátce k zajištění dostatečného množství pozorování. K analýze byly použity údaje ze všech odběrových míst. Překvapivě koncentrace rozpuštěných živin (SRP, Si, NO_3^- -N) neměly významný vliv, zatímco množství světla během inkubace významně ovlivňovalo depozici křemíku (Obr. 9). I v případě, že bychom pro statistické vyhodnocení použili pouze data z hladinových vzorků, vliv světla byl stále vysoce signifikantní (*Asterionella*: $r^2=0,98$, $p<0,0001$; *Fragilaria*: $r^2=0,52$, $p<0,0001$).

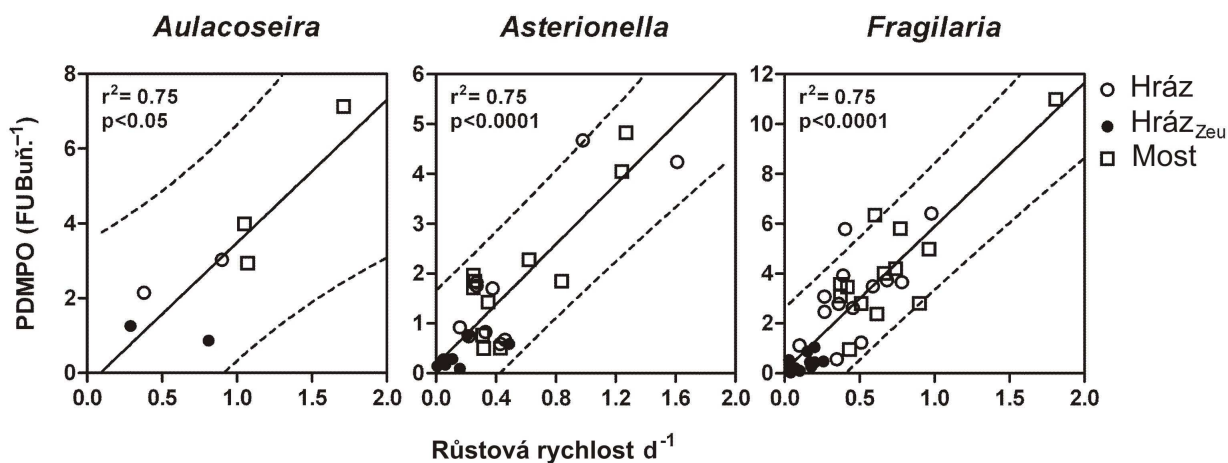


Obrázek 9: Vztah mezi intenzitou fluorescence PDMPO a množstvím světla během inkubace.

4.6. Vztah mezi fluorescencí PDMPO a růstovou rychlostí rozsivek

U třech nejhojnějších druhů rozsivek (*Aulacoseira italica*, *Asterionella formosa* a *Fragilaria crotonensis*) byl zjišťován vztah mezi intenzitou fluorescence PDMPO a růstovou rychlostí. Vzhledem k malému počtu měření byla nejslabší, avšak statisticky průkazná korelace nalezena pro druh *Aulacoseira italica* ($r^2=0,75$, $p<0,05$; Obr. 10). Pro zbývající dva druhy byl vztah mezi fluorescencí PDMPO a růstovou rychlostí vysoce průkazný ($r^2=0,75$, $p<0,0001$; Obr. 10). Sklon regresních přímků byl u obou druhů průkazně odlišný

(*Asterionella*: $3,23 \pm 0,22$, *Fragilaria*: $5,92 \pm 0,34$; ANOVA, $F=8,37$, $p < 0,001$), což naznačuje, že vztah mezi PDMPO a růstovou rychlostí je druhově specifický.



Obrázek 10: Vztah růstové rychlosti a intenzity fluorescence PDMPO.

4.7. Značení PDMPO a nové možnosti vyhodnocení růstu vláknitých rozsivek

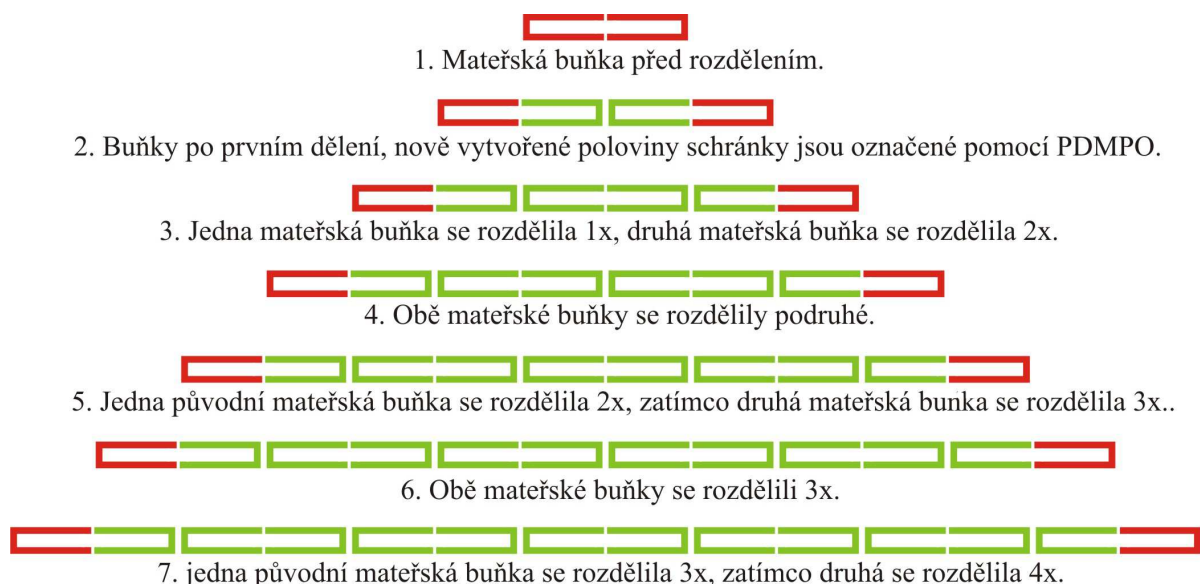
U vláknitých typů rozsivek bylo možné získat nové informace o populační dynamice pomocí pouhého pozorování vzorků inkubovaných s PDMPO. Díky vláknitému uspořádání kolonií lze snadno určit, kolik buněk vzniklo během inkubace z původní mateřské buňky (Obr. 11). U rozsivek probíhá buněčné dělení tak, že z jedné mateřské buňky vzniknou dvě dceřiné, z nichž každá si ponechává jednu polovinu původní frustuly a druhou si vytváří sama. Protože se během inkubace fluorescenčně značí pouze nově ukládaný Si, původní nezačtené části mateřské buňky ohraničují nově vzniklé zeleně svítící segmenty na vlákně (Obr. 12A). V případě, že došlo pouze k jednomu dělení, je segment tvořen pouze dvěma polovinami frustuly (Obr. 12A). Pokud došlo během inkubace k více buněčným dělením, fluorescenčně značený segment může být tvořen větším počtem zeleně svítících frustul, výsledný počet je však vždy sudý (Obr. 12B). Pouze pokud dojde k fragmentaci vlákna, vlákno je zakončeno fluorescenčně značenou částí (Obr. 12B). Za předpokladu, že dělení buněk ve vlákně není výrazně asymetrické (jedna dceřiná buňka se nedělí vícekrát než jiná), lze určit, kolikrát se fluorescenčně značené buňky rozdělily během inkubace (Obr. 11).

Pokud známe, kolik buněk vzniklo z jedné mateřské buňky, můžeme snadno vypočítat růstovou rychlost vláknitých rozsivek podle vzorce:

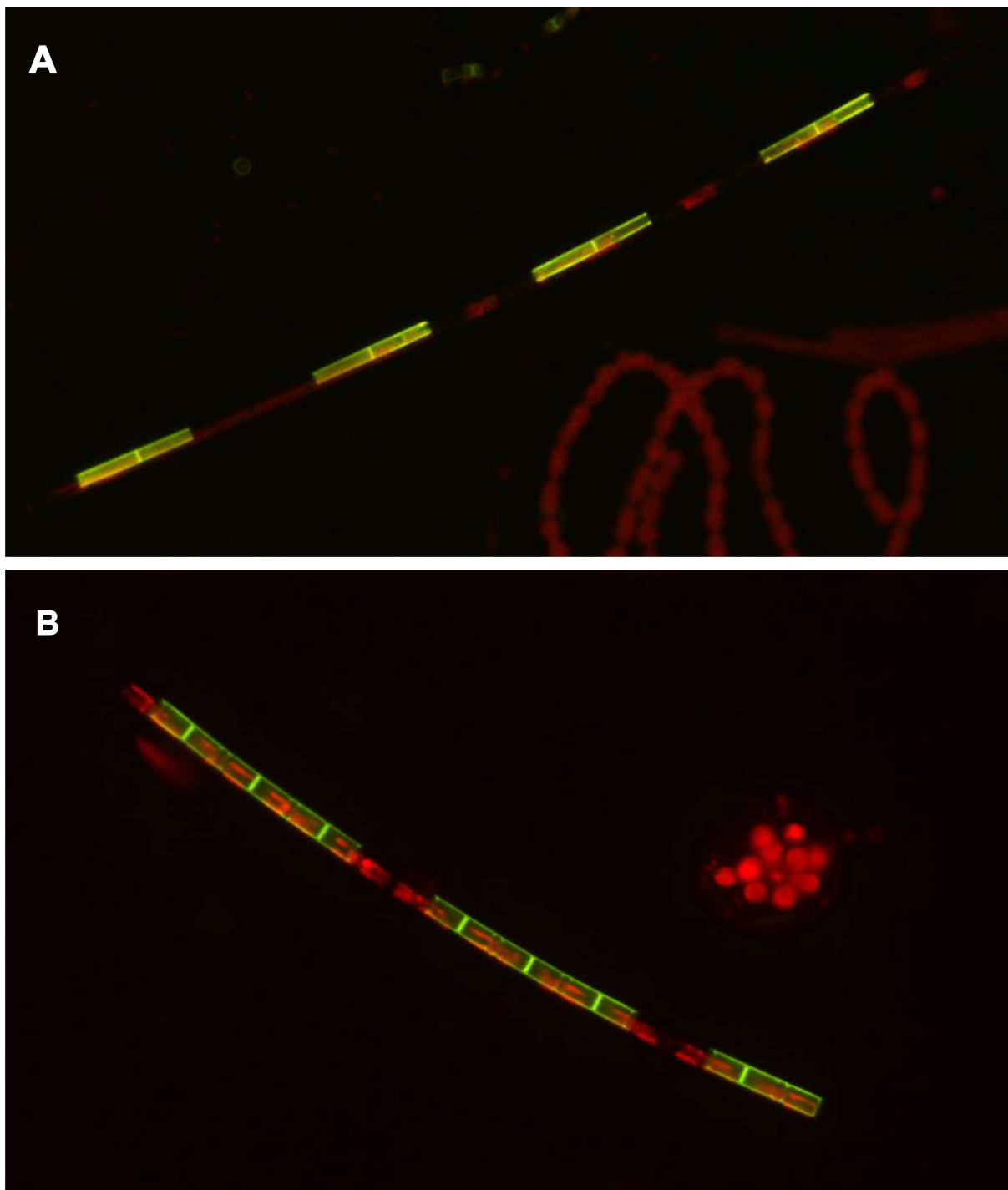
$$\mu = \frac{\ln(K) - \ln(P)}{t}$$

kde P je počet segmentů vlákna ohraničených neznačenými částmi frustul, K počet buněk v těchto segmentech, t je čas ve dnech.

Na Římově byla zástupcem vláknitých rozsivek *Aulacoseira italica*, která se vyskytovala v malých počtech zejména v první polovině července na všech odběrových místech. Její podíl na celkové depozici Si společenstvem fytoplanktonu byl však téměř zanedbatelný (Obr. 8). V Tabulce 2 jsou uvedeny počty buněk na počátku inkubace a na jejím konci společně s vypočtenou růstovou rychlostí. Podíl fragmentovaných segmentů vláken (zakončených fluorescenčně značenou zelenou částí) se pohyboval v průměru okolo 8 % a silně závisel na růstové rychlosti (Obr. 13). Nejvyšší byl 28. června u mostu (29 %), kde byla naměřena zároveň i nejvyšší rychlost dělení buněk (Tab. 2), minimálně 42 % buněk zde podstoupilo dvě buněčná dělení během 24 hodin. Naopak v Z_{eu} byla zřejmě fragmentace vláken nejnižší, fluorescenčně značené segmenty představovaly průměrně pouze 1 % z celkového počtu.



Obrázek 11: Segmenty značené vláknité rozsivky (*Aulacoseira italica*) podle počtu dělení jednotlivých buněk.

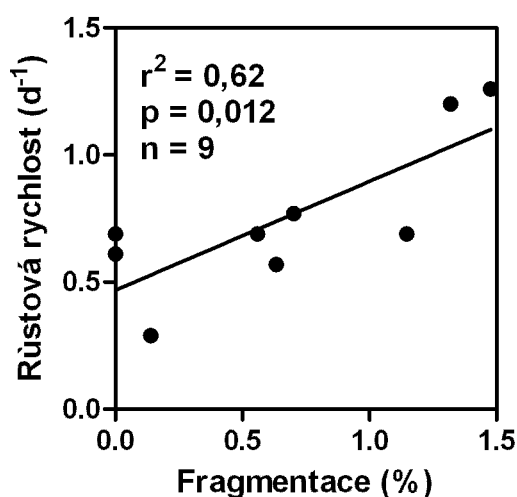


Obrázek 12: Fotografie vláknité rozsivky (*Aulacoseira italica*) s vyznačeným nově uloženým Si. Červená barva je autofluorescence chlorofylu, zelená je fluorescence PDMPO. A – pravidelné dělení buněk během 24 hodinové inkubace s PDMPO, nově vytvořené poloviny frustul u dceřiných buněk jsou značeny zeleně, původní poloviny jsou neznačeny (slabá červená autofluorescence chlorofylu). B – během 24 hodinové inkubace se jedna z nově vzniklých dceřiných buněk rozdělila podruhé a vznikl úsek na vlákně tvořený

sousedícími čtyřmi polovinami frustuly značenými PDMPO. Pravý konec vlákna je zakončen značenou částí, což znamená, že během inkubace zde došlo k fragmentaci vlákna.

Tabulka 2: Růstová rychlost vláknité rozsivky (*Aulacoseira italica*) na třech odběrových místech vypočtená na základě vyhodnocení přírůstku buněk pomocí značení nově vzniklých buněk PDMPO během 24 hodinové inkubace.

	Hráz			Hráz Z _{eu}			Most		
	Počet buněk- počátek	Počet buněk- konec	Růstová rychlost	Počet buněk- počátek	Počet buněk- konec	Růstová rychlost	Počet buněk- počátek	Počet buněk- konec	Růstová rychlost
28. 6.	-	-	-	-	-	-	152	534	1,3
4. 7.	46	92	0,7	30	55	0,6	156	517	1,2
11. 7.	91	160	0,6	260	347	0,3	223	483	0,8
18. 7.	64	128	0,7	38	75	0,7	-	-	-



Obrázek 13: Vztah mezi růstovou rychlostí u druhu *Aulacoseira italica* a fragmentací vláken. Data o fragmentaci vláken vyjádřené jako procentuální podíl koncových segmentů vláken zakončených fluorescenčně značenou (zelenou) částí byla logaritmičsky transformována (log +1).

5. Diskuse

Získané výsledky potvrdily, že značení ukládání Si pomocí fluorescenční próby PDMPO je vhodná metoda pro hodnocení sezónních změn růstu rozsivek v závislosti na faktorech prostředí. Již v předchozích studiích se předpokládalo, že intenzita fluorescence PDMPO je měřítkem aktivity rozsivek a vzniku nových buněk a může tedy sloužit pro odhad rychlosti růstu rozsivek (Leblanc & Hutchins 2005, Znachor & Nedoma 2008). V této práci byly rychlost růstu společně s intenzitou fluorescence PDMPO stanoveny pro tři dominantní druhy rozsivek: *Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis* a *Aulacoseira italica*. Lineární závislost intenzity fluorescence PDMPO na růstové rychlosti byla signifikantně průkazná pro každý z těchto druhů, nicméně při střední intenzitě fluorescence je patrná značná variabilita růstové rychlosti (Obr. 10). Variabilita měření intenzity fluorescence PDMPO charakterizovaná průměrnou střední chybou průměru (SEM) byla kolem 15 %. Variabilita při stanovení růstové rychlosti počítáním buněk v sedimentačních komůrkách charakterizovaná směrodatnou odchylkou byla nejvyšší u druhu *Fragilaria crotonensis* a činila v sezónním průměru 24 %. Takto poměrně vysoká variabilita je zapříčiněna často nehomogenním rozmístěním kolonií v sedimentačních komůrkách. Nicméně podobné metodické problémy jsou běžné a měření mají obdobnou variabilitu, jako je uvedeno v literatuře (např. Van Donk & Kilham 1990 uvádí směrodatnou odchylku v rozmezí 5 – 35 %). Měření růstové rychlosti rozsivek mohlo být ovlivněno i přítomností zooplanktonu ve vzorku. Dominantní rozsivky na Římově patří mezi mikroplanktonní druhy s velikostí kolonií často přesahující 200 μm a tudíž jsou pro většinu filtrátorů považované za nežratelné. Nicméně někteří klanonožci (např. *Eudiaptomus*) jsou schopni pozřít i větší druhy rozsivek, jako jsou *Fragilaria* nebo *Aulacoseira* (Kagami et al. 2002). Experimenty zjišťující význam sedimentace a buněčné lyze u rozsivky *F. crotonensis* v jezeře Biwa poukázaly na fakt, že žrací tlak zooplanktonu může i u této velké rozsivky být významným ztrátovým procesem (až 95 % celkových ztrát, Kagami et al. 2006). V nádrži Římov je však zpravidla početnost klanonožců schopných selektivní predace velkých druhů rozsivek příliš nízká (Sed'a, ústní sdělení) na to, aby výrazně ovlivnili početnost rozsivek během inkubace, zvláště uvážíme-li malý objem pokusných baněk (50 ml) a přítomnost dalšího fytoplanktonu jako možného zdroje potravy.

Sklon regresních přímek závislosti intenzity PDMPO na růstové rychlosti u dvou nejčastěji se vyskytujících druhů rozsivek (*F. crotonensis* a *A. formosa*) se prokazatelně lišil

(Obr. 10). *F. crotonensis* má při stejné růstové rychlosti asi dvakrát větší fluorescenci PDMPO, tedy obsahuje dvojnásobně více křemíku na buňku než *A. formosa*. Ačkoli jsou obě rosnivky podobně dlouhé, povrch buňky vypočtený podle Hillebrand et al. (1999) se u obou druhů významně liší (*F. crotonensis* – 1360 μm^2 , *A. formosa* – 766 μm^2). *Fragilaria* má tedy téměř dvakrát větší schránku než *Asterionella* a rozdíly ve fluorescenci jsou dané velikostí schránky. Metoda PDMPO je tedy vhodná i pro mezidruhové porovnání růstové rychlosti rozsivek, vždy se však musí zohlednit velikost buněk jednotlivých druhů.

Fragilaria a *Asterionella* se nevyskytovaly na Římově ve stejném období ale většinou v různém období v závislosti na podmínkách prostředí (Obr. 5). Zatímco *A. formosa* tvořila jarní a podzimní maximum, *F. crotonensis* dominovala výhradně v létě. V literatuře jsou k nalezení jak případy časově odděleného rozvoje těchto druhů (Butterwick et al. 2005, Interlandi et al. 1999), tak případy, kdy se oba druhy vyskytují zároveň (Saros et al. 2005, Tilman 1982). Van Donk & Kilham (1990) uvádí rozsivky *A. formosa* a *F. crotonensis* jako druhy s velmi podobnými živinovými nároky, což bylo zjištěno na kulturách získaných z jezera Maarsseveen (Nizozemsko). Obě rozsivky měly stejné požadavky na množství křemíku, nicméně *A. formosa* je zřejmě lepší kompetitor o fosfor, v prostředí limitovaném fosforem byla tedy *A. formosa* dominantní. V prostředí limitovaném křemíkem není možné na základě individuálních nároků na křemík spolehlivě predikovat, která rozsivka bude dominovat. Saros et al. (2005) zkoumali nárůst početnosti *F. crotonensis* a *A. formosa* v oligotrofních jezerech v západní části USA (oblast Beartooth Mountain Range, Montana-Wyoming) a vliv fyzikálně-chemických parametrů na geografické rozšíření těchto druhů. Ačkoliv jsou oba druhy přítomny spíše v mezo- a eutrofních vodách, v posledních letech se začínají významně šířit i v oligotrofních vodách zkoumané oblasti. V experimentech s přidavkem P, Si, N a jejich kombinací bylo zjištěno, že růst obou druhů byl nejvíce ovlivněn přidavkem dusíku, zatímco přidavek fosforu neměl u obou druhů žádný efekt. *F. crotonensis* po přidavku dusíku i fosforu zvětšila svoji abundanci až šestkrát ve srovnání s kontrolním vzorkem, což naznačuje, že tato rozsivka byla primárně limitována dusíkem, nicméně s dostatečným množstvím dusíku pozitivně reagovala i na přidavek fosforu.

Z výsledků práce Van Donk & Kilham (1990) vyplývá, že *A. formosa* i *F. crotonensis* mají shodně nejvyšší rychlost růstu při 20 °C. Často se naopak *A. formosa* vyskytuje během jarního maxima fytoplanktonu, zatímco *F. crotonensis* tvoří letní maximum. Například v nádržích v oblasti Durance-Verdon (Francie) tvořila *Asterionella* vyšší zimní nebo jarní maximum a nižší podzimní maximum (Bertrand et al. 2003) v rozmezí teplot 3,7 a 8,8 °C.

Během sezóny se ve fytoplanktonu vyskytovala pouze tehdy, když byla teplota vody nižší než 20 °C. Butterwick et al. (2005) uvádí 27 °C jako teplotu, při které už *A. formosa* umírá, zatímco *F. crotonensis* aktivně roste i při 30 °C, což je pro rozsivku neobvyklé. *F. crotonensis* tedy je schopna tolerovat mnohem vyšší teploty než *A. formosa*, která má nižší teplotní optimum a dominantní se stává spíše při nižších teplotách.

Další příčinou odděleného výskytu těchto dvou rozsivek může být různá rychlost sedimentace u obou druhů. Na jaře a na podzim byla hloubka epilimnia větší než v létě, kdy dominovala *Fragilaria* (průměrná Z_{mix} jaro, podzim – 5,5 m, léto – 4,3 m). Rychlost sedimentace je určena Stokesovou rovnicí zahrnující kromě gravitačního zrychlení také velikost, hmotnost a tvar buňky nebo kolonie (Reynolds 2006). *Fragilaria* obsahuje dvakrát větší množství Si než *Asterionella*, měla by tedy sedimentovat podstatně rychleji. Rychlost sedimentace ale závisí také na tvaru a velikosti kolonie. *Asterionella* tvoří hvězdicovité kolonie, které mají nejnižší sedimentaci při počtu 8 buněk v kolonii (Reynolds 2006). *Fragilaria* tvoří pásovité kolonie, které mají nejnižší rychlost sedimentace při počtu nad 20 buněk v kolonii. Při porovnání obou druhů ale *Fragilaria* sedimentuje rychleji než *Asterionella*. Buňky jsou schopné snížit svoji hmotnost ukládáním zásobních látek lehčích než voda, jako olej a lipidy (Reynolds 2006), obsah těchto látek se však může lišit mezi jednotlivými druhy. *Fragilaria* se vyskytuje v létě, kdy má u hladiny dostatek světla pro fotosyntézu a může tedy hromadit tyto zásobní látky a kompenzovat tak svou vyšší hmotnost schránky. Sedimentace je také ovlivňována fyziologickým stavem buněk. Je známo, že mrtvé buňky sedimentují rychleji než živé (Reynolds 2006). V práci Horn & Horn (1993) naměřili, že mrtvé buňky *Asterionella formosa* sedimentují téměř třikrát rychleji než živé, zatímco rychlost sedimentace u mrtvých a živých buněk *Fragilaria crotonensis* se významně nelišila. Při paralelním použití fluorescenční próby SYTOX Green pro zjištění životaschopnosti buněk obou druhů v nádrži Římov bylo zjištěno, že *A. formosa* je zřejmě v horším fyziologickém stavu než *F. crotonensis* (Rychtecký et al., in prep.), což může mít vliv na rychlost sedimentace obou druhů.

Celková míra silifikace a rychlost růstu se významně lišily v různých místech podélného profilu nádrže Římov. Byla sledována dvě odběrová místa – MOST, který představoval přechodnou zónu nádrže (Šimek et al. 2008, Rychtecký & Znachor 2011), a HRÁZ v jezerní části nádrže. Ačkoliv byla intenzita fluorescence PDMPO u většiny druhů v přechodné zóně nádrže vyšší, abundance rozsivek byla srovnatelná nebo dokonce nižší než v hrázové části nádrže (Obr. 5). Vzniká tak paradox, při němž rozsivky rychleji rostou

v přechodné zóně, ale v konečném důsledku jich je zde méně než u hráze. Jediným logickým vysvětlení se zdá být rozdílná rychlost ztrátových procesů v různých místech nádrže. Mezi hlavní ztrátové procesy u fytoplanktonu patří sedimentace, predace zooplanktonem, hydraulické vymytí a přirozená mortalita, kdy buňky odumírají a ztrácejí se z populace z různých důvodů – nedostatek světla, živin, infekce houbami, viry nebo bakteriemi (Reynolds 2006). Nicméně přímé značení fytoplanktonu pomocí fluorescenční próby SYTOX Green probíhající paralelně s naším měřením prokázalo, že mortalita dominantních druhů rozsivek byla v přechodné části nádrže Římov stejná nebo dokonce výrazně nižší než u hráze (Rychecký et al., in prep.). Vzhledem k nízkým průtokům ve sledované sezóně 2011 lze vyloučit také hydraulického vymytí a přesun biomasy do nižších částí nádrže, který byl popsán během extrémních průtoků v roce 2007 (Rychecký & Znachor 2011).

Ztráty způsobené predacním tlakem zooplanktonu se mohou podstatným dílem podílet na celkových ztrátových procesech fytoplanktonu. Jedna ze sezónních fází vývoje fytoplanktonu – „clear water“, dokonce bývá často vysvětlována jako důsledek žracího tlaku zooplanktonu (viz PEG model, Sommer et al. 1987). Velké koloniální a vláknité rozsivky rodů *Asterionella*, *Fragilaria* a *Aulacoseira* nejsou v potravě zooplanktonu tak časté jako menší druhy fytoplanktonu, nicméně menší kolonie nebo jednotlivá vlákna se mohou stát běžnou součástí potravy perlooček rodu *Daphnia* (Reynolds 2006). Horn & Horn (2000) uvádí druh *Fragilaria crotonensis* a *Asterionella formosa* jako běžnou součást potravy tří nejběžnějších druhů koryšů v nádrži Saldenbach (*Cyclops abyssorum*, *Eudiaptomus gracilis* a *Daphnia galeata*), kteří se běžně vyskytují také v nádrži Římov (Seďa & Kubečka, 1997). Z dlouhodobého sledování nádrže Římov vyplývá, že biomasa zooplanktonu může být v určitých částech rok vyšší v přechodné zóně (Seďa, ústní sdělení), což zde může způsobovat větší predacní tlak na rozsivky. Nicméně Horn & Horn (2000) uvádí na základě dlouholetého měření ztrátových procesů u fytoplanktonu, že ztráty predací představují u velkých druhů rozsivek pouze 9 % celkových ztrát. Nejvýrazněji se na ztrátových procesech rozsivek projevuje sedimentace, která může představovat až 91 % celkových ztrát (Horn & Horn 2000). Rozsivky jsou bezbičíkaté nepohyblivé organismy, které mají omezenou schopnost regulovat svoji pozici ve vodním sloupci, jsou zpravidla zcela závislé na míchání vodního sloupce a díky přítomnosti těžkých křemitých schránek snadno sedimentují (Reynolds 2006). Z ekologických faktorů ovlivňuje sedimentaci zejména hloubka míchané vrstvy, tedy čím je hlubší míchaná vrstva, tím déle se rozsivky udrží ve vznosu a pomaleji sedimentují (Reynolds 2006). Hloubka epilimnia byla v přechodné zóně nádrže statisticky

průkazně nižší než u hráze (Tab. 1, párový t-test, $p < 0,05$), což znamená, že ztráty sedimentací zde byly výrazně vyšší než u hráze. Na Římově se začátkem léta krátce vyskytovala také vláknitá rozsivka *Aulacoseira italica*. I přes její vysokou růstovou rychlost (Tab. 2, Obr. 10) byla její abundance poměrně nízká a během 14 dnů úplně vymizela z vodního sloupce. Její rychlé vymizení nutně souviselo s vysokými ztrátovými procesy, které však bez bližšího zkoumání nelze přesně identifikovat.

Ačkoliv je přechodná zóna nádrže místo, kde probíhají intenzivní mikrobiální procesy (primární produkce, bakteriální produkce, fixace N_2 , Thorton et al. 1990, Šimek et al. 2008, Scott et al. 2009), v roce 2011 nebyl významný rozdíl v intenzitě biogenní silifikace společenstvem rozsivek a chrysomonád mezi přechodnou a jezerní zónou (Obr. 7). I když v přechodné zóně byla celková biomasa fytoplanktonu nejvyšší, rozsivky zde představovaly pouze 21 % na celkové biomase, jejich abundance byla také nižší než u hráze (Tab. 1). Stejně jako v roce 2007 se zde během letního období vyskytoval silný vodní květ tvořený sinicí *Aphanizomenon flos-aquae* (Rychtecký & Znachor 2011), který se zde mohl rozvinout díky příznivým podmínkám (stabilní stratifikace, tenký epilimnion, trvalý přísun fosforu atd, Rychtecký & Znachor 2011).

Klíčovým faktorem ovlivňujícím rychlost depozice Si u dvou dominantních druhů rozsivek bylo množství světla během 24 hodinové *in situ* inkubace. U všech měřených druhů byla depozice Si nejnižší v eufotické hloubce, což je v souladu s výsledky předchozích prací (Znachor & Nedoma 2008). Vliv světla na depozici Si u druhu *Fragilaria crotonensis* byl ověřen také přímým měřením pomocí světlých a tmavých lahví (Znachor & Nedoma 2008). Ke stejným závěrům došli i Rhee & Gotham (1981). Rozhodující vliv světla na ukládání Si u přírodních populací mořských rozsivek prokázali i Azam & Chisholm (1976), kteří měřili příjem Si bez přístupu světla a zjistili, že rozsivky ve tmě přijaly pouze 44 % Si ve srovnání s rozsivkami na světle. Naopak Brzezinski & Nelson (1989) a Nelson & Brzezinski (1997) pozorovali u mořských rozsivek vysoký příjem Si i v prostředí bez přístupu světla, který se vyrovnal nebo převyšoval příjem Si na světle. Obecně se předpokládá, že buněčná energie potřebná pro příjem Si pochází z aerobního dýchání bez přímého využití energie z fotosyntézy (Martin-Jezequel et al. 2000). Metabolismus Si u rozsivek se tedy liší od metabolismu ostatních významných makronutrientů (N a P), které jsou úzce spojené s fotosyntézou. Intenzita fluorescence PDMPO statisticky významně závisela na intenzitě světla i v případě, že byla provedena statistická analýza dat pocházejících pouze hladinových vzorků. Množství ukládaného Si, respektive rychlost růstu rozsivek byla tedy určována

množstvím světla během inkubace, tj. charakterem počasí a délkou dne. Se stejnými výsledky přišli Neale et al. (1991), kteří po dobu 25 let studovali v týdenních intervalech sezónní rozvoj dominantní rozsivky *A. formosa* v jezeře Windermere (Anglie). Růst rozsivky během jarního maxima a její mizení bylo významně ovlivněno především množstvím světla mezi jednotlivými odběry.

V této práci nebyl vliv živin na růst rozsivek statisticky průkazný, narozdíl od roku 2006, kdy byla rychlost růstu u druhu *Fragilaria crotonensis* v hladinové vrstvě u hráze nádrže Římov limitována množstvím rozpuštěného reaktivního fosforu (Znachor & Nedoma 2008). Nicméně v roce 2006 nebyla měřena intenzita světla přímo, ale byla použita data z měřicí stanice v Třeboni vzdálené od místa experimentu cca. 25 km. Také charakter sezóny byl v roce 2006 značně rozdílný, během roku byly zaznamenány dva extrémní průtoky, které významně ovlivnily dynamiku fytoplanktonu v nádrži (Znachor et al. 2008). Průměrná koncentrace rozpuštěného fosforu byla v roce 2006 výrazně nižší (2006 – $3,2 \mu\text{g l}^{-1}$ u hráze, 2011 – $5,3 \mu\text{g l}^{-1}$ u hráze, $8,8 \mu\text{g l}^{-1}$ u mostu, Tab. 1), a proto také limitace fosforem byla zřejmě silnější než v roce 2011. Nicméně Van Donk & Kilham (1990) uvádí polosaturační konstantu (K_S), která indikuje nároky druhů na živiny, pro *A. formosa* $0,8 \mu\text{g l}^{-1}$, pro *F. crotonensis* $1,4 \mu\text{g l}^{-1}$. Pro populace rozsivek obývajících oligotrofní jezera v západní části USA udávají Saros et al. (2005) hodnoty K_S dokonce ještě nižší: *A. formosa* $0,03 \mu\text{g l}^{-1}$, pro *F. crotonensis* $0,025 \mu\text{g l}^{-1}$.

Dusík, který je dalším makronutrientem, se na Římově obvykle nachází ve vysokých celkových koncentracích (průměrně $2,46 \text{ mg l}^{-1}$, Komárková et al. 2003). Nicméně v roce 2011 došlo koncem léta téměř úplnému vyčerpání dusičnanů na všech odběrových místech (obr. 4B). Sladkovodní fytoplankton obecně je limitován dusíkem při koncentracích pod $0,14 \text{ mg l}^{-1}$ (Interlandi et al. 1999), k čemuž mohlo dojít zejména u mostu, kdy koncentrace dusičnanového dusíku klesly až na $0,09 \text{ mg l}^{-1}$. To mohl být také další z faktorů, který mohl přispět k dominanci sinice *Aphanizomenon flos-aquae*, neboť tento druh je schopen při nedostatku rozpuštěného N fixovat dusík z atmosféry (Reynolds 2006).

Vliv koncentrace rozpuštěného křemíku na růst rozsivek nebyl velký, neboť její hodnoty se pohybovaly v rozmezí $3\text{--}6 \text{ mg l}^{-1}$. Reynolds (2006) uvádí jako limitní hodnotu pro růst rozsivek až pod $0,1 \text{ mg l}^{-1}$, Van Donk & Kilham (1990) a Saros et al. (2005) uvádí polosaturační konstantu pro *A. formosa* shodně $0,1 \text{ mg l}^{-1}$, pro *F. crotonensis* je uváděna

polosaturační konstanta v rozsahu 0,03–0,05 mg l⁻¹. Bertrand et al. (2003) uvádí pro druh *A. formosa* vyšší hodnotu 0,5 mg l⁻¹.

Fluorescence PDMPO byla sledována také u dvou druhů chrysomonád využívajících křemík (*Mallomonas*, *Synura*). U hráze měly ve srovnání s hladinou vyšší abundanci v eufotické hloubce a také jejich podíl na inkorporaci Si v Z_{eu} dosahoval téměř 50 % (Obr. 8). Chrysomonády se často vyskytují v eufotické hloubce, kde jsou ostatní druhy řas limitovány nedostatkem světla. Je známo, že pohyblivé chrysomonády migrují ve vodním sloupci a ve větších hloubkách vodního sloupce se vyskytují záměrně (Nicholls 1995). Jsou běžnou součástí fytoplanktonu spíše oligotrofních nebo slabě eutrofních vod. Nejvyšší abundance dosahují v letních měsících, zatímco na podzim a v zimě se téměř nevyskytují (Eloranta 1995). Nicméně jsou i záznamy, kdy druhy, které se v přírodě vyskytují a aktivně rostou v hlubších místech, v laboratorních podmínkách při vyšší intenzitě světla a vyšší teplotě rostly lépe než v přirozeném prostředí. Healey (1983) publikoval pokus s druhem *Synura sphagnicola*, která se v přírodě vyskytuje na hranici epilimnia a metalimnia. V laboratorních podmínkách rostla při vyšší intenzitě světla a teplotě lépe než v přirozených podmínkách. Pokud chrysomonády nevyhledávají hlubší místa z důvodů světla a teploty, musí pro to být jiné důvody. Jedním z nich může být vyšší obsah živin než u hladiny a nižší konkurence ostatních druhů řas a sinic. V metalimniu je více živin z důvodů dekompozice a mineralizace sedimentujícího materiálu a přimíchávání na živiny bohaté vody z hypolimnia. V eufotické hloubce je výrazná limitace světlem, kterou nepohyblivé druhy fytoplanktonu dokáží jen obtížně překonat (Nicholls 1995) a pohyblivé chrysomonády zde získávají kompetiční výhodu.

Fluorescenční značení buněk pomocí PDMPO se prokázalo jako účinná a rychlá proxy metoda pro měření růstových rychlostí rozsivek v závislosti na podmínkách prostředí. Lze ji aplikovat na mořské i sladkovodní vzorky stejně jako na vzorky přírodní i kultivované. Intenzita fluorescence PDMPO u třech druhů dominantních rozsivek dobře koreluje s rychlostí růstu a při menším úsilí je tato metoda lépe použitelná než klasické stanovení růstové rychlosti na základě počítání v Utermöhlových sedimentačních komůrkách. U vláknitých rozsivek lze navíc snadno stanovit přírůstek nových buněk během inkubace i bez použití poměrně drahé počítačové analýzy obrazu.

6. Závěr

Prokázalo se, že rychlost depozice křemíku je úměrná rychlosti růstu rozsivek, sklon regresních přímk charakterizující tuto závislost však může být pro každý druh odlišný a závisí pravděpodobně na velikosti schránky daného druhu. Při mezidruhovém srovnání rychlosti růstu za použití PDMPO jako proxy metody je nutné zohlednit (vypočítat) velikost povrchu buněk zkoumaných druhů. Metodu PDMPO lze použít jako rychlou a pohodlnou metodu pro odhad růstové rychlosti rozsivek.

Měření fluorescence PDMPO ukázalo, že rychlost depozice křemíku rozsivek na dvou odběrových místech v různých částech podélného profilu nádrže Římov byla odlišná. V přechodné zóně nádrže Římov byly depozice křemíku a růst rozsivek vyšší, ale jejich biomasa rozsivek nižší nebo srovnatelná jako u hráze. Pravděpodobným vysvětlením jsou ztrátové procesy společenstva rozsivek, které mohou probíhat na různých místech nádrže různě rychle.

Depozice křemíku a růst rozsivek závisely především na množství světla během inkubace, rozvoj rozsivek byl tedy primárně ovlivněn délkou dne a charakterem počasí. Vliv živin (N, P, Si) nebyl statisticky významný.

7. Citovaná literatura

- Azam, F., S. W. Chisholm, 1976. Silicic-acid uptake and incorporation by natural marine-phytoplankton populations. *Limnol.Oceanogr.* 21: 427-35.
- Becker V., L. Caputo, J. Ordóñez, R. Marcé, J Armengol, L. O. Crossetti, V. L. M. Huszar, 2010. Driving factors of the phytoplankton functional groups in a deep Mediterranean reservoir. *Water Res.* 44: 3345-3354.
- Bertrand C., S. Fayolle, E. Franquet, A. Cazaubon, 2003. Responses of the planktonic diatom *Asterionella formosa* Hassall to abiotic environmental factors in a reservoir complex (south-eastern France). *Hydrobiologia* 501: 45-58.
- Brzezinski, M. A., D. M. Nelson, 1989. Seasonal-changes in the silicon cycle within a Gulf-Stream warm-core ring. *Deep-Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 36: 1009-1030.
- Butterwick C., S. I. Heaney, J. F. Talling, 2005. Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance. *Freshwater Biol.* 50: 291-300.
- Eloranta P., 1995. Biogeography of chrysophytes in Finnish lakes. In Sandgren C. D., J. P. Smol, J. Kristiansen, (eds). *Chrysophyte algae: Ecology, phylogeny and development.* Cambridge University Press, Cambridge, 399 pp.: 181-213.
- Hazelaar S., H. J. van der Strate, W. W. C. Gieskes, E. G. Vrieling, 2005. Monitoring rapid valve formation in the pennate diatom *Navicula salinarum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 41:354-358.
- Healey F. P., 1983. Effect of temperature and light-intensity on the growth-rate of *Synura-sphagnicola*. *J. Plankton Res.* 5: 767-774.
- Hejzlar J., M. Straškraba, 1989. On the horizontal distribution of limnological variables in Rímov and other stratified Czechoslovak reservoirs. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 33: 41-55.
- Hillebrand H., C. D. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollingher, T. Zohary, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* 35: 403-424.
- Horn H., W. Horn, 1993. Sedimentary losses in the Reservoir Saidenbach – flux and sinking velocities of dominant phytoplankton species. *Int. Rev. Ges. Hydrobio.* 78: 39-57.
- Horn H., W. Horn, 2000. Sedimentation – the main loss factor in waters dominated by diatoms. Results of long-term investigations. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 85: 191-208.
- Hutchinson G. E., 1961. The paradox of the plankton. *Am. Nat.* 95: 137-145.
- Interlandi S. J., S. S. Kilham, E. C. Theriot, 1999. Responses of phytoplankton to varied resource availability in large lakes of the Greater Yellowstone Ecosystem. *Limnol. Oceanogr.* 44: 668-682.

- Kagami M., T. Yoshida, T. B. Gurung, J. Urabe, 2002. Direct and indirect effects of zooplankton on algal composition in in situ grazing experiments. *Oecologia* 133: 356-363.
- Kagami M., T. B. Gurung, T. Yoshida, J. Urabe, 2006. To sink or to be lysed? Contrasting fate of two large phytoplankton species in Lake Biwa. *Limnol. Oceanogr.* 51: 2775-2786.
- Kalff J., 2002. *Limnology: Inland water ecosystems*. Prentice-Hall, London, 592 pp.
- Kalina T., J. Váňa, 2005. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*, Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, Praha, 606 pp.
- Komárková J., O. Komárek, J. Hejzlar, 2003. Evaluation of the long term monitoring of phytoplankton assemblages in a canyon-shape reservoir using multivariate statistical methods. *Hydrobiologia* 504: 143-157.
- Leblanc K., D. A. Hutchins, 2005. New applications of a biogenic silica deposition fluorophore in the study of oceanic diatoms. *Limnol. Oceanogr. Methods* 3:462-476.
- Lund J. W. G., C. Kipling, E. D. Le Cren, 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimation by counting. *Hydrobiologia* 11:14-70.
- Martin-Jezequel V., M. Hildebrand, M. A. Brzezinski, 2000. Silicon metabolism in diatoms: implications for growth. *J. Phycol.* 36:821-840.
- Model M. A., J. K. Burkhardt, 2001. A standard for calibration and shading correction of a fluorescence microscope. *Cytometry* 44: 309-316.
- Naselli-Flores, L., 2000. Phytoplankton assemblages in twenty-one Sicilian reservoirs: relationships between species composition and environmental factors. *Hydrobiologia* 424: 1-11.
- Neale P. J., J. F. Talling, S. I. Heaney, C. S. Reynolds, J. W. G. Lund, 1991. Long time series from the English Lake District: Irradiance-dependent phytoplankton dynamics during the spring maximum. *Limnol. Oceanogr.* 36: 751-760.
- Nedoma J., A. Štrojsová, J. Vrba, J. Komárková, K. Šimek, 2003. Extracellular phosphatase activity of natural plankton studied with ELF97 phosphate: fluorescence quantification and labelling kinetics. *Environ. Microbiol.* 5:462-472.
- Nelson, D. M., M. A. Brzezinski, 1997. Diatom growth and productivity in an oligotrophic midocean gyre: a 3-yr record from the Sargasso Sea near Bermuda. *Limnol. Oceanogr.* 42: 473-486.
- Nicholls K. H., 1995. Chrysophyte blooms in the plankton and neuston of marine and freshwater systems. In Sandgren C. D., J. P. Smol, J. Kristiansen, (eds). *Chrysophyte algae: Ecology, phylogeny and development*. Cambridge University Press, Cambridge, 399 pp.: 214-231.

Portál ČHMÚ, online, citováno 3.4. 2012. Dostupné z: <http://www.infomet.cz/index.php?id=archiv&kategorie=článek>.

Reynolds C. S., V. L. M. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores, S. Melo, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.* 24: 417-428.

Reynolds, C. S., 2006. *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 535 pp.

Rhee G., I. J. Gotham, 1981. The effect of environmental factors on phytoplankton growth: Light and the interactions of light with nitrate limitation. *Limnol. Oceanogr.* 26: 649-659.

Round F. M., R. M. Crawford, D. G. Mann, 1990. *The Diatoms – Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, Cambridge, 747 pp.

Rychtecký P., P. Znachor, 2010. Spatial heterogeneity and seasonal succession of phytoplankton along the longitudinal gradient in a eutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 663: 175-186

Saros J. E., T. J. Michel, S. J. Interlandi, A. P. Wolfe, 2005. Resource requirements of *Asterionella formosa* and *Fragilaria crotonensis* in oligotrophic alpine lakes: implication for recent phytoplankton community reorganizations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62: 1681-1689.

Scott J. T., W. Stanley, R. D. Doyle, M. G. Forbes, B.W. Brooks, 2009. River-reservoir transition zones are nitrogen fixation hot-spots regardless of ecosystem trophic state. *Hydrobiologia* 625: 61–68.

Sed'a J., J. Kubečka, 1997. Long-term biomanipulation of Rimov Reservoir (Czech Republic). *Hydrobiologia* 345: 95-108.

Shimizu K., Y. Del Amo, M. A. Brzezinski, G. D. Stucky, D. E. Morse, 2001. A novel fluorescent silica tracer for biological silicification studies. *Chem. Biol.* 8: 1051-1060.

Sommer U., Z. M. Gliwicz, W. Lampert, A. Duncan, 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Arch. Hydrobiol.* 106: 433-471.

Šimek K., K. Horňák, J. Jezbera, J. Nedoma, P. Znachor, J. Hejzla, J. Sed'a, 2008. Spatio-temporal patterns of bacterioplankton production and community composition related to phytoplankton composition and protistan bacterivory in a dam reservoir. *Aquat. Microb. Ecol.* 51: 249-262.

Thornton K. W., B. L. Kimmel, F. F. Payne, 1990. *Reservoir Limnology: Ecological Perspectives*. Wiley and Sons, New York, 246 pp.

Tilman D., 1977. Resource competition between planktonic algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology* 58: 338-348.

Tilman D., 1982. *Resource competition and community structure*. Princeton University Press, Princeton, N.J.

- Van Donk E., S. S. Kilham, 1990. Temperature effects on silicon- and phosphorus-limited growth and competitive interactions among three diatoms. *J. Phycol.* 26: 40-50.
- Vítková J., 2012. Fyzikálně chemické gradienty a prostorová heterogenita chlorofylu v podélném profilu nádrže Římov. Magisterská práce, Zemědělská fakulta JU, České Budějovice.
- Werner D., 1977. *The Biology of Diatoms*, University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 498 pp.
- Wetzel R. G., 2001. *Limnology. Lake and river ecosystem*. Academic Press, San Diego, 1006 pp.
- Znachor P., J. Nedoma, 2008. Application of the PDMPO technique in studying silica deposition in natural populations of *Fragilaria crotonensis* (Bacillariophyceae) at different depths in a eutrophic reservoir. *J. Phycol.* 44: 518-525.
- Znachor P., E. Zapomělová, K. Řeháková, J. Nedoma, K. Šimek, 2008. The effect of extreme rainfall on summer succession and vertical distribution of phytoplankton in a lacustrine part of a eutrophic reservoir. *Aquat. Sci.* 70: 77-86.
- Znachor P., J. Nedoma, 2010. Importance of dissolved organic carbon for phytoplankton nutrition in a eutrophic reservoir. *J. Plankton Res.* 32: 367-376.
- Znachor P., J. Nedoma, P. Rychtecký, 2011. Kinetics of glucose stimulatory effect on silica deposition and growth of natural populations of *Fragilaria crotonensis*. *Phycol. Res.* 59: 123-128.
- Znachor P., K. Šimek, J. Nedoma, 2012. Bacterial colonization of the freshwater planktonic diatom *Fragilaria crotonensis*. *Aquat. Microb. Ecol.* 66: 87-94.