

Jihočeská universita v Českých Budějovicích  
Biologická fakulta



Bakalářská práce

# Závislost vybraných kmenů halofilních řas na koncentraci NaCl



Eliška Hořejší  
2005

Vedoucí práce: Prof. RNDr. Jiří Komárek, DrSc.

## Závislost vybraných kmenů halofilních řas na koncentraci NaCl

ANOTACE: This bachelor's thesis is focused on halophilic/halotolerant cyanobacteria in salinity gradient. For this study, eight strains of Cyanobacteria from localities, where halotolerance/halophilism is usually needed, were chosen. These strains were provided by CCALA Culture Collection, Třeboň (Czech Republic). The main aim of the study was to establish salinity gradient and estimate optimal NaCl concentration for growth of each strain by means of optical density measurements. Miniaturized growth algal bioassay of LUKAVSKÝ (1984, 1992) was used for this purpose. The studied strains were maintained by two media: BG11 (nutrient rich) and Z (nutrient poor). Second part of this bachelor's thesis provides an overview of morphology of four chosen strains in salinity gradient. In addition, this study contains a literature review, which summarizes generally known facts about halophilic and halotolerant algae and which could be useful for those who are interested in this topic.

Prohlašuji, že jsem tuto práci zpracovala samostatně, pouze s pomocí citované literatury a osob uvedených v poděkování.

V Českých Budějovicích, dne 15.5. 2005 ..... Eliška Hořejší *Hořejší* .....

Poděkování: Děkuji svému školiteli, prof. Komárkovi, a taktéž konzultantovi, RNDr. Lukavskému za odborné vedení, moudré rady, poskytnutí prostoru a materiálu pro mou bakalářskou práci a v neposlední řadě za důvěru a podporu. Dále děkuji Janu Kaštovskému za všemožnou pomoc, pochopení a trpělivost. Poděkování patří i Pavlu Hrouzkovi za jeho rady, pomoc a milý přístup. Simoně děkuji za „technical support“. V neposlední řadě patří obrovský dík mým milým rodičům, kteří mě v dobrém i zlém podporovali psychicky i finančně. Ještě děkuji všem nejmenovaným, přesto však důležitým přátelům, kteří při mně po celou tu dobu stáli. Bez Vás, jmenovaných i nejmenovaných, by tato práce nemohla vzniknout. Děkuji.

*How surprising it is that any creatures should be able to exist in a fluid, saturated with brine, and that they should be crawling among crystals of sulphate of soda and lime!*

Charles Darwin

převzato z ORENA (2002a)

## OBSAH

<b>I. ÚVOD</b> .....	1
<b>I. 1. Rozšíření halofytní mikroflóry</b> .....	1
I. 1.1. Základní přehled halofytních biotopů.....	1
I. 1.2. Halofytní biotopy v České Republice.....	3
I. 1.3. Sekundární zasolené biotopy vzniklé lidskou činností.....	4
<b>I. 2. Jak se řasy vyrovnávají s osmotickým stresem?</b> .....	5
I. 2.1. Látky produkované při osmotickém stresu.....	5
I. 2.1.1. Skupina CS látek.....	6
I. 2.1.2. Ostatní látky.....	7
I. 2.2. Přizpůsobení membrán.....	7
I. 2.3. Energetické aspekty.....	8
<b>I. 3. Mají halofilní řasy a sinice také praktické využití?</b> .....	8
<b>II. METODIKA</b> .....	10
<b>II. 1. Použité kmeny</b> .....	10
<b>II. 2. Média, gradient NaCl</b> .....	11
<b>II. 3. Mikrometoda kultivace v serologických destičkách</b> .....	11
<b>II. 4. Hodnocení optimální koncentrace pro růst</b> .....	12
<b>II. 5. Hodnocení halofilie, nebo halotorance</b> .....	12
<b>II. 6. Studium morfologie</b> .....	13
II. 6.1. Doplňující gradienty .....	14
II. 6.2. Měření morfologických parametrů.....	14
<b>III. VÝSLEDKY</b> .....	16
<b>III. 1. Hodnocení optimální koncentrace</b> .....	16
<b>III. 2. Studium morfologie</b> .....	19

<b>IV. DISKUSE</b> .....	21
<b>IV. 1. Hodnocení optimální koncentrace</b> .....	21
IV. 1. 1. Metodika.....	21
IV. 1. 2. Vyhodnocování pokusů v gradientu NaCl.....	22
<b>IV. 2. Studium morfologie</b> .....	26
<b>V. ZÁVĚR</b> .....	27
<b>Seznam citované literatury</b> .....	28

**Příloha I:** grafy závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

**Příloha II:** grafy závislosti morfologických parametrů na přidavku NaCl v mediu

**Příloha III:** fotografie-část A: kmeny, u nichž byla hodnocena morfologie  
:fotografie-část B: ostatní kmeny

**Příloha IV:** Tabulky, shrnutí - část A: hodnocení optimální koncentrace  
: Tabulky, shrnutí - část B: studium morfologie

## Cíle práce:

1. Výběr kmenů z různých lokalit a zvládnutí jejich kultivace.
2. Zvládnutí metodiky studia kultivace mikroskopických řas v závislosti na nutričních gradientech a na koncentraci solí.
3. Zjištění typu tolerance vůči soli u osmi vybraných kmenů, izolovaných z různých halofytních biotopů.
4. Zjištění růstové odpovědi těchto kmenů na různou koncentraci NaCl v mediu.
5. Zjištění morfologické variability v různých koncentracích soli.

# I. ÚVOD

(shrnutí teoretických poznatků získaných z literatury k zadanému tématu)

## I. 1. Rozšíření halofytní mikroflóry

### I. 1. 1. Základní přehled halofytních biotopů

Největším, z mnoha hledisek nejdůležitějším a také nejznámějším „slaným“ biotopem je samozřejmě moře. Nicméně zvýšená koncentrace soli není významným omezujícím ekologickým faktorem pouze v mořích a oceánech.

Biotopy s vysokou mírou salinity se dají rozdělit do dvou základních skupin (OREN,2002a):

#### **Thalassohalinní biotopy**

Jeich iontová skladba se podobá mořské vodě, neboť vznikají jejím odparem. Dominuje v nich  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  a  $\text{SO}_4^{2-}$ , pH v těchto prostředích se pohybuje od neutrálního po lehce alkalinní.

Patří sem mořské zátoky a slaná, sluncem vysoušená přílivová jezírka a také slané mokřiny v blízkosti moří. Odpar však má logicky za následek „zahuštění“ vody, což vede k odchylkám od původního iontového složení. Svou roli zde hrají zejména minerály jako je  $\text{CaCO}_3$  ve formě kalcitu či aragonitu a také sádrovec.

Zajímavostí je, že mezi thalassohalinní biotopy patří svým složením také Velké Solné jezero, přestože je od světového oceánu izolováno už tisíce let. Dominantním fytoplanktonním druhem je *Dunaliella viridis* a *D. salina*. V bentosu najdeme sinice (*Aphanothece*, *Oscillatoria*) a rozsivky (*Navicula*, *Amphora*, *Nitzschia*). Vždy v průběhu několika let zde dochází k fluktuaci vodní hladiny. V osmdesátých letech dvacátého století, kdy se stav vody značně zvýšil a klesla míra salinity, se zde dokonce vyskytly makroskopické řasy *Ulva marginata* a *Polycystis parckardii*.

Thalassohalinním prostředím, které uměle pro svou potřebu vytvořil člověk, jsou odpařovací nádrže sloužící k produkci mořské soli. Tyto mělké rybníčky nacházíme v tropických a subtropických oblastech světa. Jedná se většinou o systém několika nádrží, mezi kterými je voda postupně přečerpávána vždy, když díky odparu dosáhne určité „hustoty“ (zvýší se koncentrace soli). Je zde v podstatě vytvořen gradient od původní mořské vody přes nasycený solný roztok až po krystalickou sůl. Koncentrace soli v jednotlivých nádržích tak zůstává přibližně stejná. V koncentracích asi třikrát až sedmkrát vyšších než v mořské vodě se v mikroflóře objevuje nejčastěji rod *Dunaliella*, dále pak některé sinice,



zejména *Dactylococcopsis* a *Synechococcus* (DAVIS & GIORDANO, 1996). Velmi zajímavým prostředím je dno těchto nádrží, kde se vyskytuje nárost mnoha bentických druhů.

V nejrůznějších salinitách zde objevíme bohatství Cyanobacterií. Většinou dominuje *Aphanothce halophytica* (*Halothece*) a/nebo *Microcoleus*. Sinice, které se zde vyskytují, jsou schopny tolerovat salinitu až 174-188 g/l. Další složkou bentosu pak mohou být rozsivky, jmenovitě převážně rody *Cocconeis*, *Amphora*, *Nitzschia* a některé další. Tolerují salinitu až 150 g/l. U mikroflóry a mikrobiálních společenstev v těchto nádržích s extrémními podmínkami dochází k hromadění pigmentů (různých karotenoidů, bacteriorhodopsinu), což způsobuje červené až hnědé zbarvení vody. To zvyšuje absorpci světla, tím také teplotu a následně odpar, čímž je urychlován proces produkce soli ( JAVOR, 2002).

Na mořském pobřeží vznikají slané mokřady (tzv. „salt marshes“). Mezi ně patří i přímořské mangrovové porosty, na jejichž kořenový systém je vázána zajímavá epifytická mikroflóra. V zóně, kde dochází k fluktuaci hladiny vody se objevují společenstva ruduch (*Caloglossa*, *Bostrychia*, *Murrayella*). V trvale zatopených částech lze najít druh *Caulerpa verticillata*. Na rhizoforech jsou také časté nárosty různých sinic (ROUND, 1985).

Velmi zvláštní a extrémní biotopy vznikají v antarktické oblasti. Tvoří se zde množství menších či větších slaných jezírek. Obsah soli v nich snižuje bod mrazu. Salinita a teplota vody v jednotlivých jezírcích se značně liší a také složení mikroflóry je v každém z nich do značné míry specifické. Lze tu najít bentické nárosty sinic (hlavně skupin Oscillatoriales a Nostocales), vyskytuje se také hojnost rozsivek. JUNGBLUT et al. (2005) uvádí, že cyanobacteria nejsou významnou skupinou pouze v antarktických chladných oblastech, ale také v Arktidě.

### **Athalassohalinní biotopy**

Výrazně se svým iontovým složením liší od mořské vody. Patří sem mnoho různých lokalit.

Jednou z těch nejznámějších je Mrtvé moře, hypersalinní pouštní jezero na hranicích Izraele a Jordánska. Ionty  $Mg^{2+}$  a  $Ca^{2+}$  značně převažují nad  $Na^+$  a  $K^+$ . Dominantní anionty jsou chloridy a bromidy. Zajímavostí je, že zde existuje zvláštní stratifikace. Jsou přítomny dvě vrstvy vody s rozdílným obsahem soli (horní cca 300 g/l, spodní cca 332 g/l). Kvůli odčerpávání sladké vody z řeky Jordán, která je jediným přítokem, však klesá hladina a salinita jezera pomalu stoupá. Primárním producentem je zde rod *Dunaliella*, na kterém závisí veškerý ostatní mikroskopický život. Ta však není schopna růstu v příliš vysokých salinitách. K jejímu namnožení dochází pouze v horní vrstvě vody většinou v zimním deštivém období. Díky vysychání jezera jsou však období, kdy se zde probudí život, stále vzácnější. Je

s podivem, že se tu nevyskytují žádné rozsivky (ROUND, 1985), které jsou známy svou schopností tolerovat velmi vysoké koncentrace soli (BEGIN et al. (1974) považuje za horní hranici pro některé rozsivky přibližně 150 ‰). Ani Cyanobacteria zde netvoří významnější populace (OREN & SECKBACH, 2001).

V tropických a subtropických vnitrozemských oblastech se v zónách srážkového stínu mohou někdy vytvářet zásaditá hypersalinní jezera (tzv. Soda lakes). Hlavní iontová kompozice je zde  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{CO}_3^{2-}$ . Za takovýchto podmínek může pH dosahovat až 10-11, i více (GRANT & TINDALL, 1986). Jezera tohoto charakteru nalezneme v Africe (např. jez. Magadi v Keni, jezera ve východoafrické příkopové propadlině a mělká jezera v oblasti vádí v Egyptě), dále pak v Asii (Čína, Indie) a v Severní Americe (Mono Lake, Big Soda Lake). Některá alkalinní slaná jezera se také nacházejí v Evropě, například v Maďarsku. Z jezer v Egyptské oblasti vádí jsou zaznamenány významnější populace sinic, nejčastěji opět v bentických nárostech (rody *Spirulina*, *Phormidium*, *Synechococcus*). Ve stejné oblasti v jezeře Gaar (konc. soli 374 g/l) byl zaznamenán masivní rozvoj populace zelené řasy *Dunaliella salina*, v důsledku čehož jsou vody jezera supersatureovány kyslíkem. Ve většině východoafrických jezer je díky výskytu  $\text{Na}_3(\text{CO}_3)(\text{HCO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  a dvoumocných iontů  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  velmi nepříznivé prostředí pro řasy. Pouze v těch nejméně slaných (cca 50 g/l; Bogoria, Nakuru) nalezneme významnější množství sinic (především rod *Spirulina*) a z jezera Magadi (konc. soli až 250-300 g/l, pH 10, teplota až 55°C) se podařilo izolovat dva kmeny rodu *Cyanospira*; výskyt eukaryotních řas je zde však jen sporadický. V indických alkalinních jezerech jsou hojné populace sinic, hlavními primárními producenty jsou rody *Aphanothece*, *Cyanothece*, *Halothece*. Z amerického Mono Lake jsou k dispozici údaje o výskytu zelené řasy *Picocystis* jako dominantního druhu (ROESLER et al. 2002). Bentos je zde bohatě osídlen rozsivkami (různé druhy rodu *Nitzschia*, *Anomoeoneis*, *Amphora*). V jezeře Big Soda Lake rozsivky dominují naopak ve fytoplanktonu společně s několika rody zelených řas (*Dunaliella*, *Oocystis*, *Ankistrodesmus*).

### I. 1. 2. Halofytní biotopy v České Republice

V naší republice se také nachází několik významnějších slanisek. Žádné z nich samozřejmě nijak nesouvisí s mořem a všechna tedy patří mezi biotopy athalassohalinní se specifickým iontovým složením. Přirozená slaniska u nás vznikla především v důsledku vymývání různých solí z vhodného podloží, navíc za přispění geoklimatických podmínek.

Nejznámější slaniska u nás se nacházejí v panonské oblasti na Jižní Moravě v okolí Čejče (GRULICH, 1987). Převažují zde sírany hořčíku a sodíku, menší podíl solí tvoří chloridy

(PELÍŠEK, 1948). FOTT (1956) zmiňuje, že se zde objevují zástupci zelených řas (*Enteromorpha intestinalis*) a rozsivek (*Bacillaria paradoxa*).

Další přirozená slaniska je možno najít v Severozápadních Čechách, konkrétně na Mostecku. Většinu lokalit nalezneme v pomyslném trojúhelníku, tvořeném městy Most, Louny a Chomutov. Salinita je zde způsobena rozpustnými sírany (především  $MgSO_4$ ; hořká sůl), které jsou produktem místních soligenních hornin. Kromě vymývání z podloží ještě ke vzniku místních halofytních biotopů přispívají další faktory, např. klimatický v podobě srážkového stínu a také rovinný reliéf s pomalým odtokem spodních vod. V obdobích sucha s dlouhodobým výparem zde může docházet až ke krystalizaci solí a vzniku tzv. výkvětů solí (SLÁDEK, 1988). Jedním z dosud zachovaných slanisek je lokalita u Volevčic, která je také vyhlášena Přírodní památkou. Slanost půdy zde na první pohled indikuje výskyt *Plantago maritima*.

Znamé slanisko je také nedaleko Františkových Lázní. Rezervace Soos však za zvýšenou salinitu vděčí vývěřům minerálních vod obsahujícím zejména chloridy a sírany (JENÍK, 1972). FOTT (1956) zde uvádí nálezy Bacillariophyceí (*Navinula salinarum*, *N. halophila*) a také Chlorophyceí (*Enteromorpha salina*, *E. intestinalis*).

Halofilní a/nebo halotolerantní fototrofní mikrovegetace se také může vyskytovat přímo v minerálních pramenech a jejich těsném okolí, jako je tomu například v Karlových Varech (KAŠTOVSKÝ & KOMÁREK, 2001).

### I. 1. 3. Sekundární zasolené biotopy vzniklé lidskou činností

Často vznikají v důsledku odvodňování rozlehlých oblastí pro účely zemědělství, hlavně v tropických oblastech. Dále pokud se půda naopak zavlažuje vodou s vysokým obsahem solí. Lidé vytvořili i hypersalinní odparové nádrže k produkci mořské NaCl (viz. výše: Thalassohalinní biotopy). Také na výsypkách složených ze soligenních zemin vznikají sekundární slaná prostředí. Lokální zvýšení koncentrace solí se objevuje podél komunikací, které jsou v zimě udržovány pomocí solení.

Z oblasti České republiky může být příkladem takového sekundárního biotopu Sokolovská výsypka (PŘIKRYL, 1999, unpublished data). Dochází tu k bohatým výkvětům solí. Jsou zde vytvořeny desítky malých slaných vodních nádržek. V jedné z těch nejslanějších, Muší, se vodivost pohybuje běžně kolem 1000  $\mu S$ , pH je neutrální.

## I. 2. Jak se řasy vyrovnávají s osmotickým stresem?

Zvýšený obsah solí v prostředí ohrožuje životně důležité procesy organismů. Chtějí-li tedy v takovém prostředí přežít, musí nalézt vhodnou strategii, jak si poradit s iontovou nerovnováhou. Musí být tím rafinovanější, čím vyšší je koncentrace solí. Jaké strategie používají pro přežití v (hyper)salinních biotopech řasy?

Halofilní/tolerantní řasy v první řadě, zvýší-li se osmotický tlak, přistupují k biochemickým a fyziologickým změnám ve svých buňkách.

Mikroorganismy si v principu mohou vybrat ze dvou strategií (OREN, 1999, 2002a):  
**„salt-in“ strategie**

Buňky si udržují vysokou intracelulární koncentraci solí. Všechny vnitřní buněčné systémy (orgány, enzymy) musí být adaptovány. U řas zatím není známo využívání tohoto principu.

**„compatible solutes“ (CS) strategie**

Tento přístup volí většina řas vystavená osmotickému stresu. Buňky udržují nízkou koncentraci anorganických solí v cytoplazmě, osmotický tlak vyrovnávají pomocí rozpuštěných organických látek. Není třeba adaptace vnitřních systémů. Malé organické molekuly jsou vyráběny v buňce a také přijímány z média (je-li to možné).

Obecná definice CS: rozpustné látky, které dovolují enzymům účinně fungovat i při vysoké koncentraci.

Existuje velká diverzita typů těchto rozpustných látek. Zastoupeny jsou polyalkoholy (např. glycerol, arabitol), cukry a jejich deriváty (např. sacharosa, trehalosa, glukosylglycerol), aminokyseliny a jejich deriváty (např. glycin betain). Mezi jejich typické vlastnosti patří nízká molekulární hmotnost a rozpustnost ve vodě i při vysokých koncentracích.

### I. 2. 1. Látky produkované při osmotickém stresu

Již dlouhou dobu je známo, že řasy a sinice vystavené stresu zasolením, produkují mnoho nejrůznějších látek, které buď hromadí ve svých buňkách, nebo je vypouští do okolního substrátu. Funkcí těchto produktů však nemusí být vždy striktně jen ochrana buňky

proti hyperosmotickému šoku. Takovýchto látek je nepřeborné množství, proto zde zmíním pouze ty nejvýznamnější.

### I. 2. 1. 1. Skupina CS látek (OREN, 1999, 2002a):

Mnoho halofilních/tolerantních organismů má schopnost využívat k osmoregulaci více různých CS. Mají tedy v cytoplazmě směs těchto látek a regulace syntézy je optimalizována podle potřeb buňky. Primárně však preferují jeden typ CS.

Glycerol vzniká většinou redukcí dihydroaceton fosfátu. Je to nejjednodušší CS. Využívají ho zejména Eukaryota (např. rod *Dunaliella* (OREN, 1999, 2002a, 2002b; FISHER et al., 1996), *Asteromonas* (OREN, 2002a)). Má přímo perfektní vlastnosti pro osmoregulaci až na jednu „drobnost“: většina biomembrán je pro glycerol vysoce propustná! Jsou tedy nutné speciální adaptace. *Dunaliella* vykazuje mnohem nižší propustnost membrány pro glycerol, ale propustnost pro vodu není nijak zvlášť snížena. Principy těchto adaptací jsou zatím zahaleny tajemstvím, ale nejspíš hraje roli vysoký obsah sterolu. Sterol chybí v membránách prokaryot, to je nejspíš důvodem, proč tento CS nevyužívají.

Prokaryota syntetizují různé jiné CS. Preference určitých typů závisí do značné míry na stupni jejich halotolerance.

Trehalosa a sacharosa jsou hlavními CS u nejméně halofilních typů sinic. Využití sacharosy je dobře zdokumentováno například u druhu *Nostoc muscorum* (BLUMWALD & TEL-OR, 1982; PANDEY & CHATTERJEE, 1999), dalším příkladem hromadění sacharosy může být rod *Synechococcus* (BLUMWALD et al., 1983).

Sinice, žijící ve vyšších koncentracích solí (mořské a mírně halofilní), hromadí ve svých buňkách glukosylglycerol, který vzniká reakcí ADP-glukózy a glycerolfosfátu. KEBEDE (1997) uvádí výskyt této látky například u druhu *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*). Tento CS může (společně se sacharosou) využívat také *Synechococcus* (FERJANI et al., 2003; KARANDASHOVA et al., 2002; OREN & SECKBACH, 2001). JUNGBLUT et al. (2005) zmiňují, že glukosylglycerol společně s trehalosou syntetizuje i jeden antarktický druh sinice *Microcoleus*.

Cyanobacteria žijící v hypersalinních prostředích chrání své buňky před osmotickým stresem produkcí glycin-betainu, který vzniká oxidací cholinu. Příkladem mohou být *Aphanothece halophytica* a *Halospirulina* (OREN & SECKBACH, 2001).

Primární a v podstatě výhradní funkcí CS je chránit buňku před osmotickým stresem, ale mohou být alespoň někdy využity i jinak? Nasnadě je otázka, zda by se nedaly použít jako zdroj uhlíku. Odpověď zní ano, ale tato schopnost je poměrně vzácná a dochází k tomu výjimečně, pouze za určitých podmínek. Například rod *Dunaliella* je schopen při zředění

média převést glycerol na škrob a opačně. Většinou však mají buňky řas striktně oddělenou osmoregulaci pomocí CS a biosyntetické procesy a tvorbu energie.

### I. 2. 1. 2. Ostatní látky:

Již dlouhou dobu je známa značně zvýšená produkce  $\beta$ -karotenu u rodu *Dunaliella*. Oproti dřívějším názorům, že toto hromadění karotenoidů je způsobeno pouze osmotickým stresem, je dnes již dobře prokázáno, že *Dunaliella* takto reaguje na suboptimální podmínky obecně. Mnoho autorů se zabývá také praktickým využitím této řasy k masové produkci karotenoidů. Publikací o této problematice je opravdu celá řada. Z nejvýznamnějších lze jmenovat například BEN-AMOTZ (1987, 1999), BEN-AMOTZ & AVRON (1983), GINZBURG (1987), COWAN et al. (1992), CIFUENTES et al. (2001) a mnoho jiných.

Další zajímavou skupinou látek, které často tvoří halofilní sinice, jsou mykosporiny (mykosporinové deriváty aminokyselin, tzv. MAAs). Jsou to látky s nízkou molekulární hmotností, rozpustné ve vodě. Nejspíše slouží hlavně jako ochranný faktor před UV zářením (QUESADA et al., 2001; CASTENHOLZ & GARCIA-PICHEL 2000; PORTWICH & GARCIA-PICHEL, 1999; GARCIA-PICHEL & CASTENHOLZ, 1993). Chrání buňky především před UVB zářením (SINHA et al., 2003; PORTWICH & GARCIA-PICHEL, 1999). Vzhledem k jejich chemickým vlastnostem však není vyloučena ani možnost, že mohou sloužit jako CS látky (OREN, 2002a, 2000, 1997; PORTWICH & GARCIA-PICHEL, 1999).

V poslední době výzkumy ukazují, že některé řasy a sinice při osmotickém stresu tvoří kyselinu abscisovou (ABA). Funkce této látky ještě není plně objasněna, je však možné, že vylučování ABA do media je stresovým signálem pro ostatní buňky (MARŠÁLEK et al., 1992), také může ovlivnit obsah  $\text{Ca}^{2+}$  v buňkách a počet heterocytů (POTTS, 2000).

### I. 2. 2. Přizpůsobení membrán

Organické CS mohou z buněk řas také částečně pronikat do okolního média, membrány totiž nejsou pro tyto látky dokonale nepropustné. Proto mají halofilní organismy, produkující CS, ve svých membránách často zabudovány speciální transportní proteiny, umožňující tyto látky přijímat ze substrátu. Jejich primární funkcí je „zachránit“ unikající CS. Pokud se však v okolním médiu objeví vhodné organické osmolyty, mohou být těmito proteiny výhodně transportovány přes membránu, aniž by je buňka musela „draze“ syntetizovat (OREN, 1999, 2002a). Ke změnám často dochází také ve fosfolipidovém složení membrán (RUSSELL & KOGUT, 1984; RUSSELL, 1989; OREN 1999, 2002a). Navíc musí být v membráně přítomny iontové pumpy, aby si buňky byly schopny udržet v cytoplazmě nízkou koncentraci iontů  $\text{Na}^+$ , které difundují přes membránu. Ionty jsou „pumpovány“ z buněk

pomocí antiportů, nebo membránových P-ATPáz (GIMMLER, 2000; OREN, 2002a). Zajímavé je, že u sinic je dokladováno hromadění  $K^+$  v buňkách (intracelulární koncentrace je vyšší než v mediu), což je nejspíše způsobeno tím, že se iontů  $Na^+$  často zbavují pomocí  $Na^+/K^+$  ATPázy (APTE & ALAHARI, 1994; PADHI et al., 1997, OREN, 2002a).

### I. 2. 3. Energetické aspekty (OREN, 1999)

Všechny mikroorganismy žijící v prostředí se zvýšenou salinitou musí počítat se zvýšenými energetickými výdaji, které takový biotop vyžaduje. Veškerá přizpůsobení buněk jsou energeticky náročná.

Spotřeba ATP na výrobu organických CS z využitím uhlíku z  $CO_2$  u autotrofií je značná. Autotrofní biosyntéza jedné molekuly různých CS spotřebuje 30 až 109 molekul ATP. „Nejlevnější“ je glycerol a „nejdražší“ sacharosa a trehalosa. Přestože syntéza Glycerolu je energeticky nejméně vyčerpávající, využívají ho jen Eukaryota (*Dunaliella*), která tvoří jen malou část ze všech halofilních mikroorganismů (vysvětlení viz. výše, část I. 2. 1. 1.) .U mikroorganismů v nejvyšších salinitách se vyskytují CS méně náročné na spotřebu energie a naopak v málo slaném prostředí využívají organismy CS, jejichž syntéza je poměrně energeticky náročná. Tento jev logicky vyplývá z toho, že čím slanější je prostředí, tím více organických CS musí buňka vyprodukovat. Dalším důvodem výskytu „drahé“ sacharózy a trehalózy pouze u nejméně halofilních druhů je to, že tyto CS při vysokých koncentracích nejsou příliš účinné při podpoře činnosti enzymů citlivých na soli. Sacharóza je navíc hůře rozpustná ve vodě než jednodušší CS a tvoří značně hustý (=těžký) roztok, který buňky stahuje ke dnu, kde mají špatný přístup k důležitým zdrojům jako je světlo a kyslík.

Další výdej energie pro buňku představují iontové pumpy, které aktivním transportem udržují nízkou hladinu  $Na^+$ , neustále difundujícího do cytoplazmy.

### I. 3. Mají halofilní řasy a sinice také praktické využití?

Odpověď zní ano. Mohou být využity k produkci různých látek a také mohou být prospěšné v zemědělství.

Některé jednobuněčné sinice (např. *Aphanothece halophytica*, *Aphanocapsa halophytica*, *Cyanothece*) jsou v biotechnologii používány k produkci polysacharidů (OREN, 2002a).

Z řasových biotechnologií je asi nejznámější produkce betakarotenu s využitím *Dunaliella salina* a *D. bardawil*. Betakaroten získaný z řas se používá jako potravinářské barvivo, jako provitamin A, přidává se do kosmetických výrobků (BOROWITZKA et al., 1984; BOROWITZKA, 1986; BEN-AMOTZ, 1999) a v současné době se zkoumají jeho antioxidační vlastnosti (např. MURTHY et al., 2005). *Dunaliella* je schopna tvořit také velké množství glycerolu, jeho produkce z biomasy této řasy však zatím není ekonomicky příliš reálná (OREN, 2002a).

V zemědělství je možno využít sinice jako ekologická hnojiva. Jsou používány zejména na rýžových polích. Zlepšují úrodnost polí především svou schopností fixovat dusík (WHITTON, 2000; BHARGAVA et al., 2003) .



## II. METODIKA

### II. 1. Použité kmeny

Všechny studované kmeny cyanobakterií pocházejí ze sbírky CCALA Botanického ústavu AVČR v Třeboni. Vzhledem k zadanému tématu bakalářské práce jsem po konzultaci se školitelem vybrala kmeny, u kterých jsem předpokládala (vzhledem k lokalitám, z jakých byly izolovány) halotoleranci a/nebo halofilii. Konkrétně to jsou:

- : *Arthronema africanum* (kmen LUKAVSKÝ 1980/1) dále I  
(bentický druh slaných mokřadů pouštní oblasti Kuwaitu)
- : *Arthrospira* sp. (kmen COMPÉRE 1968/3786) dále II  
(planktonní druh z jezera Bodon, Čad)
- : *Arthrospira fusiformis* (kmen HEGEWALD 1976/83) dále III  
(planktonní druh, Keňa)
- : *Anabaena torulosa* (kmen JAHNKE/1c) dále IV  
(bentický druh, Rostock, Německo)
- : *Fischerella tisserantii* (kmen KOMÁREK 1964/47) dále V  
(subaerofytní druh z kůry mangrove (*Rhizophora*), ústí řeky Rio Arimao, Kuba, prov. Las Villas)
- : *Nostoc* sp. (kmen V. FLECHNER/JT2-VF2) dále VII  
(půdní druh z pouštní oblasti, Národní park Joshua Tree, Kalifornie, USA)
- : *Synechocystis* cf. *salina* (kmen MARKLE/1430-3) dále VIII  
(planktonní druh z neznámé lokality)
- : *Chroococciopsis cubana* (kmen HINDÁK 1964/48) dále IX  
(peryfyton z minerální vody, San Diego, prov. Pinar del Rio, Kuba)

Pozn.: původně byla jako kmen číslo VI vybrána *Leptolyngbya foveolarum*, u které se však nezdařila kultivace. Rozhodla jsem se ji tedy z pokusu vyřadit.

Všechny tyto kmeny jsem použila pro studium optimální koncentrace v gradientu NaCl. Dále jsem u čtyřech z nich sledovala morfologické adaptace, a to u následujících:

- : *Arthronema africanum* (kmen LUKAVSKÝ 1980/1) - I
- : *Arthrospira* sp. (kmen COMPÉRE 1968/3786) - II
- : *Anabaena torulosa* (kmen JAHNKE/1c) - IV
- : *Synechocystis* cf. *salina* (kmen MARKLE/1430-3) - VIII

## II. 2. Média, gradient NaCl

Ke kultivaci jsem použila dvě média: médium BG 11 a médium Z. V nich jsem vytvořila koncentrační gradient NaCl. Konkrétní hodnoty jednotlivých koncentrací jsou: 0; 0,01; 0,03; 0,1; 0,3; 1; 3; 10; 30; 100 g NaCl/l media. Rozhodla jsem se pro zkrácení koncentraci uvádět jako g/l(p.), přičemž (p.) označuje, že se jedná o přídavek NaCl do media, které samo o sobě už mnoho různých iontů obsahuje.

## II. 3. Mikrometoda kultivace v serologických destičkách

(LUKAVSKÝ, 1984, 1992)

Použila jsem destičky 12 x 8 jamek. Rámcové jamky byly naplněny destilovanou vodou (aby se zabránilo vysychání). Na samotný pokus tedy bylo použito vždy 10 x 6 „vnitřních“ jamek. Tak bylo možno na každé jednotlivé destičce provést pokus s daným kmenem v příslušném gradientu hned v šesti opakováních.

Do pokusných jamek jsem automatickou mikropipetou nadávkovala vždy 0,2 ml média s rozpuštěným NaCl a to takto:

sloupec jamek	konc. NaCl [g NaCl/l media]
B2 až G2	0
B3 až G3	0,01
B4 až G4	0,03
B5 až G5	0,1
B6 až G6	0,3
B7 až G7	1
B8 až G8	3
B9 až G9	10
B10 až G10	30
B11 až G11	100

Na každý kmen jsem použila dvě destičky, jednu s gradientem chloridu sodného v BG11 a druhou v mediu Z.

Naplněné destičky bylo nutno před naočkováním unialgálního inokula sterilizovat. Sterilizaci jsem provedla v boxu s UV zářivkou po dobu 2 hodin.

Abych určila optimální objem očkovaného inokula na jednotlivou jamku, odebrala jsem od každého kmene malé množství a několikrát změřila OD 750 nm.

kmen	I	II	III	IV	V	VII	VIII	IX
	0,431	0,5	0,46	1,085	0,035	0,061	0,314	0,053
	0,422	0,358	0,406	2,103	0,033	0,069	0,313	0,057
	0,427	0,453	0,484	2,046	0,031	0,065	0,339	0,051
	0,416	0,47	0,461	1,11	0,035	0,062	0,318	0,054
OD [750 nm]	0,421	0,38	0,459	2,117	0,033	0,07	0,316	0,057
	0,434	0,396	0,487	2,021	0,032	0,065	0,339	0,053
	0,415	0,342	0,446	1,116	0,035	0,062	0,319	0,054
	0,423	0,391	0,418	2,124	0,034	0,069	0,319	0,057
	0,432	0,357	0,513	1,997	0,032	0,066	0,343	0,053
OD průměr	<b>0,42456</b>	<b>0,40522</b>	<b>0,45933</b>	<b>1,74656</b>	<b>0,03333</b>	<b>0,06544</b>	<b>0,32444</b>	<b>0,05433</b>

Na základě těchto měření jsem u kmenů I, II, III, a VIII naočkovala do každé jamky 10  $\mu$ l inokula. U kmenů V, VII a IX (nízká OD) 50  $\mu$ l inokula a u kmene IV (vysoká OD) jsem suspenzi 3x zředila a naočkovala 10  $\mu$ l inokula do každé jednotlivé jamky.

#### II. 4. Hodnocení optimální koncentrace pro růst (dále jen OK)

Cca po 1 týdnu kultivace jsem začala s měřením OD 750 nm na přístroji Labsystems iEMS reader MF, type 1401. Toto měření bylo vždy v intervalu několika dní opakováno a to pro každou destičku celkem 4x, přičemž poslední měření bylo provedeno 4 týdny po začátku kultivace.

Celý postup popsany v části II. 2. a II. 3. jsem pak ještě jednou zopakovala, abych u každého kmene získala celkem 12 opakování.

Zpracování statistiky: u získaných dat jsem provedla logaritmickou transformaci a následně byla data srovnána pomocí metody ANOVA Repeated measures v programu STATISTICS verze 6.0.

#### II. 5. Hodnocení halofilie, nebo halotorance

K tomuto účelu jsem použila 2 rozdělení, aby bylo možno studované kmeny co nejlépe charakterizovat.

Základní rozdělení: halotolerantní

: halofilní

Oba typy jsou schopny žít ve zvýšené koncentraci soli, ale pouze halofilní řasy přímo vyžadují sůl.

Podle FOTTA (1956) se řasy rozdělují podle toho, jak snášejí obsah chloridů takto:

1. Euhalobní

Vyžadují  $Cl^-$ .

a) Polyhalobionta

Patří sem mořské řasy, nebo řasy žijící ve vyšších koncentracích NaCl.

b) Mesohalobionta

Patří sem řasy žijící v brakické vodě, nebo v nižších koncentracích NaCl.

2. Oligohalobní

Jsou schopny žít v prostředí bez obsahu chloridů, ale mohou chloridy snášet.

a) Halofilní

Omezený obsah chloridů působí stimulačně

b) Indiferentní

Jsou sladkovodní, ale chloridy snášejí.

3. Halofóbní

## II. 6. Studium morfologie

Pro studium případných morfologických změn jsem se rozhodla u každého z vybraných kmenů srovnat tři případy: extrém – optimum – extrém.

Extrém (minimum) - dále jen MIN

- minimální experimentální koncentrace NaCl v mediu, ve které je kmen schopen růstu

Optimum - dále jen OPT

- optimální experimentální koncentrace NaCl, ve které dochází k nejintenzivnějšímu růstu

Extrém (maximum) - dále jen MAX

- maximální experimentální koncentrace NaCl, ve které je kmen schopen růstu

U kmenů III, IV a VIII bylo předběžně zjištěno, že MAX se nejspíše nachází mezi koncentrací 30 – 100. Toto rozmezí pokusy určené ke studiu OK však nepokrývaly. Bylo tedy

nutno zpracovat ještě doplňující gradient pro tyto kmeny. U kmene I bylo možno odebrat vzorky pro studium morfologie přímo z původních destiček.

Kmen I, odběry: 0 g/l(p.) (MIN); 0,03 g/l(p.) (OPT); 10 g/l(p.) (MAX)

### II. 6. 1. Doplňující gradienty (v mediu BG11)

Kmen II: 0-10-20-30-35-40-45-50-55-60 g NaCl/l media

Odběry: 0 g/l(p.) (MIN); 30 g/l(p.) (OPT); 60 g/l(p.) (MAX)

Kmen IV: 0-1-2-3-5-8-10-13-15-20 g NaCl/l media

Odběry: 0 g/l(p.) (MIN); 13 g/l(p.) (OPT); 20 g/l(p.) (MAX)

Kmen VIII: 0-1-2-3-10-15-20-30-35-40 g NaCl/l media

Odběry: 0 g/l(p.) (MIN); 3 g/l(p.) (OPT); 40 g/l(p.) (MAX)

### II. 6. 2. Měření morfologických parametrů

Kmen I: šířka a délka vláken, počet involučních buněk na úsek vlákna (50  $\mu$ m)

Kmen II: počet závitů/vlákno, rozpětí závitů, vzdálenost mezi závitů (pokud závitů tvoří), šířka vláken, pokud netvoří závitů-délka vláken

Kmen IV: délka a šířka akinet (pokud jsou), šířka vláken, počet heterocytů/úsek vlákna (pokud jsou), délka vláken

Kmen VIII: průměr buněk, kolik buněk se dělí/nedělí

Pro studium morfologie jsem se rozhodla použít pouze materiál z media BG11.

V mediu Z v mnoha případech bylo jen malé množství biomasy, takže by se měření provádělo obtížně.

Vzhledem k tomu, že měření morfologických parametrů je časově náročné, nafižovala jsem vzorky formaldehydem (samozřejmě až po provedení potřebných měření k hodnocení OK). Do každé jamky jsem napipetovala 12  $\mu$ l 30% formaldehydu, tak aby jeho koncentrace byla přibližně 2%.

U kmenů II, IV a VIII jsem pro každý parametr provedla 200 měření, u kmene I pro každý parametr 30 měření. K těmto měřením a k získání fotografické dokumentace jsem použila program OLYMPUS DP SOFT verze 3.0. Data byla srovnána metodou one way

ANOVA v programu STATISTICS verze 6.0. U některých dat bylo nutno provést logaritmickou transformaci.

### III. VÝSLEDKY

#### III. 1. Hodnocení optimální koncentrace (OK)

Viz. Příloha I, shrnutí: Příloha IV- Tab. 10

U všech kmenů lze konstatovat, že se měření OD 750 v jednotlivých koncentracích liší (lze zamítnout nulovou hypotézu)

U všech kmenů a u obou použitých medií lze konstatovat, že ve 100 g/l(p.) už vybrané kmeny nejsou schopny růstu.

*Arthronema africanum* kmen LUKAVSKÝ 1980/1

(bentický druh slaných mokřadů pouštní oblasti Kuwaitu)

Viz. Příloha I: Obr. 1 a 2

OK není z pokusu v mediu BG11 jednoznačně patrná. Od nulového přídávku NaCl až po přidavek 10 g/l media jsou naměřené hodnoty OD 750 v podstatě vyrovnané a kmen I vykazuje v tomto rozmezí dobrý růst. K výraznému poklesu dochází až v koncentraci 30 g/l(p.), která už je pro tuto sinici zřejmě letální. Maximální extrém se tedy nachází v rozmezí 10-30 g/l(p.).

Z pokusu v mediu Z se jako optimum celkem zřejmě jeví koncentrace s přídávkem 3 až 10 g NaCl/l media. Nicméně kmen I je schopen růstu i ve všech zkoumaných nižších koncentracích. Maximální extrém se nejspíše nachází mezi 10-30 g/l(p.), neboť ve 30 g/l(p.) už kmen nevykazuje růst.

*Arthrospira* sp. kmen COMPERE 1968/3786

(planktonní druh z jezera Bodon, Čad)

Viz. Příloha I: Obr. 3, 4 a 5

Za OK v mediu BG11 se dá z vybraných pokusných koncentrací považovat hodnota 30 g/l(p.). Od nulového přídávku NaCl až po toto optimum se koncentrace NaCl jeví pro kmen II jako celkem dobře snesitelná.

Vezmeme-li v úvahu také doplňující gradient, který byl použit pro určení hodnoty maximálního extrému (pro účely morfologických pokusů), pak je zřejmé, že optimum se pohybuje v rozmezí 30 až 40 g/l(p.). Nicméně i v přídávku 60 g NaCl/l media je kmen II ještě

schopen celkem uspokojivého růstu. Maximální extrém se tedy pohybuje mezi hodnotami 60 a 100 g/l(p.).

Určení optima z pokusu v mediu Z se shoduje s mediem BG11 (30 g/l(p.)). V přidavku 1 a 3 g NaCl/ l media se však postupem času měřené hodnoty OD 750 vyrovnávají s hodnotami optima. Je to způsobeno jednak postupným nárůstem měřených hodnot u koncentrací 1 a 3 g/l(p.) a jednak stagnováním hodnot v koncentraci 30 g/l (p.) po počátečním rychlém růstu při prvních dvou měřeních. V koncentracích 0-0,3 a 10 g/l(p.) je sinice také schopna dobře růst.

***Arthrospira fusiformis*** kmen HEGEWALD 1976/83

(planktonní druh, Keňa)

Viz. Příloha I: Obr. 6 a 7

Z pokusu v mediu BG11 se na OK nedá usuzovat zcela jasně. V rozmezí od 0,01 až po 30 g/l(p.) se dá růst považovat za v podstatě vyrovnaný. V nulovém přidavku soli jsou patrné o něco nižší hodnoty naměřené OD 750.

Pokus v mediu Z je dost nejednoznačný, obzvláště matoucí je měření 3. Nicméně za hodnotu OK se dá považovat 3 g/l(p.). V nižších koncentracích a v koncentraci 30 g/l(p.) kmen III roste, ale hodnoty OD jsou nízké. V přidavku 10g NaCl/l kmen v průběhu celého pokusu nevykazuje růst.

***Anabaena torulosa*** kmen JAHNKE/1c

(bentický druh, Rostock, Německo)

Viz. Příloha I: Obr. 8, 9 a 10

V mediu BG11 lze za OK označit koncentraci 10 g/l(p.). Ve všech koncentracích od 0 až do 10 g/l(p.) roste kmen IV dobře a hodnoty naměřené OD se od optima liší jen mírně. Významný pokles měřených hodnot OD 750 je patrný v koncentraci 30g/l(p.), tento přídatek se tedy dá označit za maximální extrém v tomto mediu.

Pokud k hodnocení přidáme také výsledky doplňujícího gradientu z morfologické části práce, můžeme za OK označit rozmezí 10-15 g/l(p.). V přidavku 20 g NaCl/l hodnoty OD klesají.

OK v mediu Z je zřejmě v koncentraci 3 g/l(p.), maximální extrém je v rozmezí 10-30 g/l(p.).



***Fischerella tisserantii*** kmen KOMÁREK 1964/47

(subaerofytní druh z kůry mangrove (*Rhizophora*), ústí řeky Rio Arimao, Kuba, prov. Las Villas)

Viz. Příloha I: Obr. 11 a 12

V BG11 jsou naměřené hodnoty OD 750 nejvyšší v koncentraci 0 g/l(p.) a pak pozvolna klesají až k hodnotě maximálního extrému 10-30 g/l(p.).

V mediu Z se dá za optimální označit rozmezí 0,3 až 1g/l(p.). Od nulového přídavku NaCl až po tyto optimální hodnoty je sinice také schopna růstu, nicméně celkově roste v tomto mediu jen velmi málo (naměřené hodnoty OD jsou značně nízké). V koncentraci 3 g/l(p.) je růst už jen minimální.

***Nostoc* sp.** kmen V.FLECHNER/JT2-VF2

(půdní druh z pouštní oblasti, Národní park Joshua Tree, Kalifornie, USA)

Viz. Příloha I: Obr. 13 a 14

V mediu Z jasně vyvstává OK v přídavku 3 g NaCl/l media. V ostatních koncentracích je růst této sinice sice slabý, ale je v nich schopna přežívat. Za maximální extrém se dá označit konc. 10 g/l(p.), neboť ve 30g/l(p.) již kmen VII neroste.

Z pokusů v mediu BG11 optimum nevyplývá zřetelně. Nulový přídavek soli zjevně kmeni VII příliš nevyhovuje, růst je zde oproti dalším přídavkům zřetelně nižší. Již v 0,01 g/l(p.) ale roste dobře, dokonce jsou zde měřené hodnoty OD 750 nejvyšší. Od této koncentrace pak růst velice pozvolna klesá až ke koncentraci 10g/l(p.), kde roste o poznání méně, ale přesto uspokojivě. V přídavku 30 g NaCl/l již kmen VII neroste. Maximální extrém se tedy zjevně nachází mezi konc. 10 a 30 g/l(p.).

***Synechocystis cf. salina*** kmen MARKLE/1430-3

(planktonní druh z neznámé lokality)

Viz. Příloha I: Obr. 15, 16 a 17

V mediu BG11 není OK jasně patrná. Od přídavku 0,03 g NaCl/l media roste tato sinice velmi dobře až do 30 g/l(p.). V koncentraci 0 a 0,01 jsou hodnoty OD 750 nižší, ale růst se také dá označit za vcelku dobrý.

Vezmeme-li v úvahu doplňující gradient použitý pro účely morfologických měření, můžeme konstatovat, že kmen VIII roste vcelku dobře až do koncentrace 40 g/l(p.). Maximální extrém se zřejmě nachází někde mezi hodnotami 40 a 100 g/l(p.). Dochází zde k velmi citelnému propadu měřených hodnot OD 750 v přídavku 2 g NaCl/l.

Výsledky pokusů s použitím media Z ukazují, že od nulového přídavku soli až po přídavek 1 g/l tato sinice neroste. Maximální hodnoty OD 750 jsou v koncentracích 3 a 30 g/l(p.). V koncentraci 10 g/l (p.) je růst jen velmi malý. Maximální extrém se nachází někde mezi hodnotami 30 a 100 g/l(p.)

***Chroococidiopsis cubana*** kmen HINDÁK 1964/48

(peryfyton z minerální vody, San Diego, prov. Pinar del Rio, Kuba)

Viz. Příloha I: Obr. 18 a 19

V mediu BG11 je růst této sinice celkem vyrovnaný a OK není zřejmá. Růst v čistém BG11 a v přídavku 0,01 g NaCl/l media je zřetelně nižší než v rozmezí od 0,03-3 g/l(p.). Maximální extrém bude zřejmě mezi hodnotami 10 a 30 g/l(p.). Ve 30 g/l(p.) již kmen IX neroste.

Z gradientu v mediu Z je OK jasně patrná v koncentraci 3 g/l(p.). Od nulového přídavku soli až po konc. 1 g/l(p.) je růst zřetelně nižší a měřené hodnoty OD 750 směrem k optimu velmi pozvolna stoupají. V koncentraci 10 a 30 g/l(p.) je růst jen velmi malý.

### III. 2. Studium morfologie

Viz. Příloha II, fotografie: Příloha III, shrnutí: Příloha IV: Tab. 11-14

***Arthronema africanum*** kmen LUKAVSKÝ 1980/1

Viz. Příloha II: Obr. 23, 24, 25 a Tab. 4, 5, 6

Délka vlákna se v jednotlivých skupinách prokazatelně liší. DF=2; F=4,194; p=0,0182. Tukey test prokázal, že odlišnosti jsou mezi skupinami MAX a OPT (p=0,0216). MIN se od ostatních skupin neliší. Variabilita měření je ve všech skupinách značná.

Šířka vlákna se také prokazatelně liší: DF=2; F=283;304; p<10<sup>-6</sup>. Z výsledků Tukey testu lze říci, že v šířce vláken není rozdíl mezi skupinami MIN a OPT, skupina MAX se od nich výrazně liší (p<0,001). Variabilita měření není velká a také odhad průměru je celkem přesný.

V počtu involučních buněk se dle Tukey testu liší od ostatních také pouze MAX (p=0,008), kde je počet těchto buněk nižší než v MIN a OPT.

Dá se říci, že ve skupině MAX jsou vlákna výrazně širší a o něco delší s menším počtem involučních buněk než v MIN a OPT. V maximální koncentraci se u tohoto kmene také projevuje určitá deformace buněk, u některých vláken dochází ke spirálnímu stáčení.

***Arthrospira* sp.** kmen COMPERE 1968/3786

Viz. Příloha II: Obr. 26, 27 a Tab. 7, 8

Ve skupině MIN tato *Arthrospira* tvořila charakteristické závity. Rozpětí (šířka) závitů je v průměru 36,14 um se standartní odchylkou 4,73. Vzdálenost mezi sousedními závitů (výška závitů) je průměrně 73,94 um, SD=7,64.

Ve skupinách OPT a MAX byla tato sinice bez závitů. Šířka vlákna se u všech třech skupin prokazatelně liší ( $p < 0,001$ ). Kmen II má nejširší vlákna v MAX, v MIN a OPT se postupně vlákna zužují. V měření je sice jistá variabilita, ale odhad průměru je celkem přesný.

Délka vlákna je srovnána pouze u OPT a MAX a dle Tukey testu se tyto skupiny prokazatelně liší ( $p < 0,001$ ). Odhad průměru je celkem přesný. V OPT tvoří kmen II delší vlákna.

***Anabaena torulosa*** kmen JAHNKE/1c

Viz. Příloha II: Obr. 20, 21, 22 a Tab. 1, 2, 3

Jednotlivé měřené skupiny se prokazatelně liší v délce vlákna (DF=2, F=12,71,  $p < 0,001$ ). Tukey test ukazuje, že se od ostatních liší skupina MAX ( $p < 0,001$ ), kde jsou vlákna o něco delší. MIN a OPT se dle Tukey testu od sebe neliší.

Také v šířce vlákn jsou prokazatelné rozdíly (DF=2, F=5,15,  $p = 0,006$ ). Skupina MIN se liší od všech ostatních (Tukey:  $p = 0,02$  a  $0,009$ ), MAX a OPT se neliší. V minimální koncentraci jsou vlákna širší. Odhad průměru je velmi přesný.

Délka buněk se v OPT a MIN neliší, rozdíly nastávají až v MAX (Tukey:  $p < 0,001$ ), kde jsou buňky delší.

V maximální koncentraci jsou na buňkách patrné deformace a sinice zde tvoří víceméně kompaktní sliz.

***Synechocystis cf. salina*** kmen MARKLE/1430-3

Viz. Příloha II: Obr. 28 a Tab. 9

Průměr buněk se prokazatelně mezi skupinami liší (DF=2, F=16,5,  $p < 10^{-6}$ ). Tukey test ukazuje, že rozdíly jsou ve všech třech případech. Buňky jsou největší v OPT a nejmenší v MAX.

V MIN se dělí 27,5% buněk (55 z 200), V OPT se dělí 31,5 % buněk (63 z 200) a v MAX se dělí 45,5 % (91 z 200).

## IV. DISKUSE

### IV. 1. Hodnocení optimální koncentrace (OK)

#### IV. 1. 1. Metodika

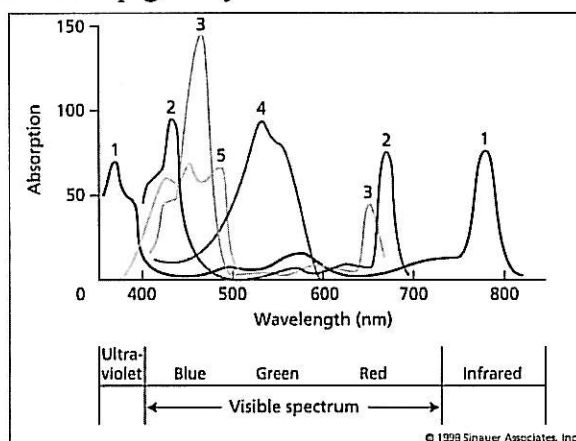
##### Použití optické density

OD při vlnové délce 750 nm jsem použila z toho důvodu, že v této oblasti není měření „rušeno“ absorbcí pigmentů obsažených v buňkách sinic. Tato hodnota OD tedy nejlépe vypovídá o množství buněk v měřených jamkách.

Schéma absorpčního spektra některých pigmentů

Buňky sinic mohou obsahovat pigmenty číslo 2 a 4.

- 1-bakteriochlorofyl
- 2-chlorofyl A
- 3-chlorofyl B
- 4-fycoerytrobin
- 5-betakaroten



(zdroj: Sinauer Associates, Inc. (www))

Optimální koncentrace pro růst je hodnocena pouze na základě této veličiny (OD 750). Tento způsob vyhodnocení podává základní potřebnou informaci, nicméně není naprosto ideální. Pokud bychom chtěli získat přesnější data a přehled o růstových parametrech použitých kmenů, bylo by vhodné převést optickou densitu na koncentraci biomasy a/nebo koncentraci buněk. Dalšími možnostmi, jak co nejlépe charakterizovat růst, by mohlo být například také měření objemu fotosyntézy, měření vývoje kyslíku, nebo určení obsahu chlorofylu (za předpokladu přizpůsobení kultivačních podmínek těmto účelům). Tyto metody by měly být použity při dalším studiu této problematiky.

### Očkování inokula

U kmenů V, VII a IX jsem očkovala 50  $\mu$ l inokula do 200  $\mu$ l media s přidavkem NaCl. Tento přidavek již může změnit původní koncentraci NaCl (konkrétně snížení původní hodnoty o 20%), bylo by tedy vhodné u těchto kmenů provést korekci hodnot přidavku soli do media. Konkrétně vydělením původní hodnoty koeficientem 1,25. Zjistíme pak že korigovaná koncentrace u těchto kmenů je: 0; 0,008; 0,0024; 0,08; 0,24; 0,8; 2,4; 8; 24 a 80 g/l(p.). Je tedy jasně zřejmé, že zejména u vyšších koncentrací toto zředění při inokulaci může citelně ovlivnit výsledný obsah soli v mediu. Jestliže budou ještě v budoucnu pokusy opakovány je nutno tento problém včas zohlednit a pokud možno se ho vyvarovat. Lze toho dosáhnout buď zahuštěním příliš řídkého inokula, nebo připravit koncentrovanější roztoky a předem počítat s jejich zředěním při inokulaci.

Je jen shodou náhod, že kmeny, u kterých došlo ke snížení koncentrace NaCl v průběhu inokulace, nejsou schopny růstu v nejvyšších použitých přidavcích (30 a 100 g/l respektive 24 a 80 g/l), u kterých je vzniklý rozdíl zvláště relevantní.

### **IV. 1. 2. Vyhodnocování pokusů v gradientu NaCl**

#### Určení OK

Za hodnotu OK byla označena vždy ta, kde OD 750 převyšovala ostatní měřené OD 750 alespoň o 0,2 (při logaritmické transformaci dat).

U pokusů v mediu BG11 často OK nevyplývá příliš zřetelně. Rozdíly mezi koncentracemi se zde pravděpodobně stírají v důsledku vysokého obsahu živin v tomto mediu, což může studovaným sinicím pomáhat lépe zvládat stresové podmínky. V mediu Z je většinou OK celkem jasně patrná až na malé nejasnosti u některých kmenů.

OK (pokud je možno určit), stejně jako maximální extrém jsou v mediu Z zpravidla stejné, nebo nižší než v BG11. I tento fakt napovídá možnosti, že za eutrofních podmínek jsou vybrané kmeny odolnější vůči osmotickému stresu.

Vliv určitého faktoru (v tomto případě salinity) je vždy třeba posuzovat s ohledem na další podmínky a faktory, neboť odolnost vůči stresu a/nebo růstové parametry vždy závisí na celém souboru vlivů.

Práce, týkající se výzkumu halotolerance či halofilie řas ve spojitosti s některými dalšími významnými ekologickými faktory (např. záření, teplota či obsah těžkých kovů)

v poslední době publikovali například GEISS et al. (2004); HENLEY et al. (2002), PORTWICH & GARCIA-PICHEL (1999); PANDEY & CHATTERJEE (1999).

#### Určení maximálního extrému a letální koncentrace NaCl

Jako koncentraci, ve které už sinice není schopna růstu jsem označila vždy tu, kde se hodnoty OD 750 blížily hodnotě, která při této vlnové délce odpovídá destilované vodě (při použití logaritmické transformace dat je to cca -1,4). Za letální jsem označila přidavek NaCl, pokud byla log OD 750 v rozmezí cca -1,4 až -1,2 a současně zde hodnoty v průběhu všech čtyř měření zůstávaly přibližně stejné, navíc jen s minimální variabilitou. Jako příklad můžeme použít hned kmen I (viz. Příloha I – Obr. 1 a 2), kde sice OD 750 ve 30 g/l(p.) je o něco málo vyšší než ve 100 g/l(p.), ale odpovídá výše uvedeným kritériím. O něco vyšší OD ve 30 g/l(p.) lze nejspíše vysvětlit tím, že po naočkování v této salinitě sinice byla schopna se ještě několikrát rozdělit, než vyčerpala své fyziologické zásoby asimilátů. Je možné, že ve 100 g/l(p.) mohly být buňky téměř okamžitě usmrceny příliš vysokou koncentrací soli, neboť log OD 750 je zde velice blízká číslu -1,4 (H<sub>2</sub>O).

Za maximální extrém byly označeny koncentrace v nichž sinice vykazovala růst (postupné zvyšování OD 750 v průběhu měření, zlogaritmované hodnoty větší než cca -1,2) a současně byly hodnoty log OD 750 výrazně nižší než hodnoty OK (přibližně o 0,6 až 0,8).

#### Určení halofilie, nebo halotolerance

Halofilie a halotolerance jsou pojmy, které jsou sice jasně definovány, nicméně zdaleka nezahrnují veškeré eventuality, které mohou nastat. Vezmeme-li si jako příklad třeba hned kmen I v mediu Z (viz. Příloha I-Obr. 2), je vidět, že zde tato sinice roste od nulového přídávku soli až po 10 g/l (p.), což by odpovídalo halotoleranci. Optimum tohoto kmene se však nachází někde kolem přídávku 3-10 g NaCl/l media Z, což by mohlo naznačovat spíše jistou tendenci k halofilii. Základní rozdělení, které jsem použila, je tedy značně ovlivněno subjektivním přístupem k věci a jiný autor by k tomuto problému samozřejmě mohl zaujmout jiné stanovisko.

Rozdělení podle FOTTA (1956) je přesnější a zohledňuje více možných variant. Je proto dle mého názoru o něco spolehlivější. Nicméně také neudává žádné konkrétní hranice koncentrací pro jednotlivé skupiny, což může někdy také dávat prostor pro jistou subjektivitu.

## Kmen I:

Dle základního rozdělení lze konstatovat halotoleranci s preferencí přídavku NaCl za oligotrofních podmínek. Dle FOTTA (1956) spadá kmen I do skupiny oligohalobních halofilních řas.

## Kmen II:

Podle základního rozdělení lze kmen II označit za halotolerantní sinici s preferencí většího přídavku NaCl. Podle FOTTA (1956) ji můžeme zařadit mezi oligohalobní halofilní sinice. Tento kmen byl již dříve podrobně studován. KOMÁREK & LUKAVSKÝ (1988) zjistili, že optimum této sinice se nachází v rozmezí 0,5 až 1,5 g NaCl/l v mediu Z, což se s mými výsledky neshoduje (OK je zjištěno ve 3-10 g/l). Nicméně hodnota optima je vždy ovlivněna množstvím dalších faktorů. KOMÁREK & LUKAVSKÝ (1988) například zmiňují, že *A. africanum* je stínomilná a lehce termofilní, pokusy tedy mohly teoreticky být ovlivněny také mírou osvětlení, teplotou při kultivaci apod.

## Kmen III:

V základním rozdělení spadá do kategorie halotolerantní. V rozdělení podle FOTTA (1956) ji lze zařadit mezi oligohalobní halofilní sinice.

## Kmen IV:

Tuto sinici lze označit za halotolerantní. V rozdělení podle FOTTA (1956) nejvíce odpovídá označení oligohalobní indiferentní.

## Kmen V:

Zdá se, že odolnost tohoto kmene vůči salinitě značně závisí na trofii prostředí. Za eutrofních podmínek jeví známky jisté halotolerance (optimum je v nulovém přídavku a je schopna růst až do přídavku 30 g NaCl/l media). V oligotrofním mediu sice preferuje malý přídavek soli (0,3 až 1 g/l), ale rozmezí, ve kterém je zde schopna růst je úzké a končí u poměrně nízké salinity (3 g/l(p.)).

## Kmen VII:

Kmen VII vykazuje známky mírné halotolerance (v základním rozdělení). V rozdělení podle FOTTA (1956) odpovídá skupině oligohalobních řas. Tento kmen je jedinou půdní sinicí ve výběru pokusných kmenů.

## Kmen VIII:

Vzhledem k obtížné interpretaci výsledků, je zařazení do konkrétní skupiny velice nejisté. Podle mého názoru jde o sinici s tendencí k halofilii (nižší měřené hodnoty OD 750 v nižších koncentracích a dobrý růst i v koncentracích vysokých), která za eutrofních podmínek může růst i bez výrazného obsahu soli.

Kmen IX:

V základním rozdělení spadá kmen IX mezi mírně halotolerantní, dle FOTTA (1956) pak mezi oligohalobní halofilní sinice.

#### Odchytky v měřených OD 750

U většiny kmenů se při vyhodnocení dat objevil pokles měřených OD 750 vůči sousedním hodnotám při určité koncentraci. Vznikl tak jakýsi větší či menší „gap“ v jinak víceméně logicky navazujících hodnotách OD 750. Tyto „gapy“ mají v podstatě dvojí charakter:

a) Průměr je zde sice oproti ostatním okolním koncentracím o něco nižší, ale současně je v měření značná variabilita. V takovém případě lze tento pokles v podstatě zanedbat. Tento případ se objevuje u následujících kmenů (viz. grafy v Příloze I): kmen I, BG11 konc. 10 g/l(p.); kmen IV, doplňující gradient BG11 konc. 10 g/l(p.); kmen VII, BG11 konc. 0,3 g/l(p.); kmen VIII, Z konc. 10 g/l(p.).

b) Průměr je zde oproti ostatním okolním koncentracím výrazně nižší, v měření je malá variabilita a kmen zde vykazuje jen malý, nebo dokonce žádný růst. Tento případ se objevuje u následujících kmenů (viz. grafy v Příloze I): kmen II, doplňující gradient BG11 konc. 10 g/l(p.); kmen III, Z konc. 0,03 a 10 g/l(p.); kmen VIII, doplňující gradient BG11 konc. 2 g/l(p.).

Zejména u případů odpovídajících možnosti b) by k objasnění tohoto jevu bylo nutno pokusy zopakovat. Je také možné, že v těchto případech došlo k nějaké chybě při přípravě pokusu.

U některých kmenů dochází v určitých koncentracích k zajímavému vývoji měřených hodnot OD 750 nm, který by teoreticky mohl napovídat možné postupné aklimatizaci. Tato hypotéza by nicméně musela být prokázána rozsáhlejšími pokusy.

Takový vývoj je patrný u kmene I v přidavku 10g NaCl/l média Z. Při prvním měření, zde byly hodnoty ve srovnání s optimem značně nižší. V dalších měřeních se hodnoty v této koncentraci začali vůči optimu „dotahovat“. Při posledním měření už byla v koncentraci 10 g/l(p.) hodnota OD druhá nejvyšší. Z toho lze usoudit, že kmen I je schopen dobře růst i v této salinitě, nicméně je možné, že potřebuje (při úživné kapacitě média Z) delší dobu na aklimatizaci.

U kmene IV jsou při prvním měření nejvyšší hodnoty v nulovém přidavku soli. V pozdějších měřeních však hodnoty OD 750 značně stoupají v koncentraci 10 g/l(p.). Zdá se tedy, že je možné, že sinice potřebuje nějakou dobu na aklimatizaci a poté je v této



koncentraci schopná růst velice dobře. Hodnota 10 g/l(p.) se dokonce již od druhého měření jeví jako možná optimální koncentrace

Dalším případem, kde je teoreticky možné vývoj měření OD vysvětlit aklimatací, je kmen VIII. Konkrétně u koncentrace 35 a 40 g/l(p.) v doplňujícím gradientu v mediu BG11.

## IV. 2. Studium morfologie

### Koncentrace MIN, OPT a MAX

Výběr koncentrací MIN, OPT a MAX u kmene I, ze kterých byla biomasa použita k měření vybraných morfologických parametrů, byl určen ještě z předběžných výsledků po první sérii pokusů se šesti opakováními. Tento předběžný výběr (MIN=0 g/l(p.), OPT=0,03 g/l(p.) a MAX=10 g/l(p.)) byl do jisté míry nepřesný. Koncentrace MIN a MAX jsou zvoleny celkem vhodně. Vzhledem ke konečnému zhodnocení optimální koncentrace u tohoto kmene v mediu BG11, se však zdá jako ne příliš dobře odhadnutá hodnota OPT. Bylo by nejspíše lepší jako OPT zvolit některou koncentraci ze „středu“ gradientu, například konc. 1, nebo 3 g/l(p.). Konkrétní optimum je však v mediu BG11 nejasné.

U kmenů II, IV a VIII jsem vytvořila doplňující gradienty, které měly pokud možno určit maximální extrém, který rozmezí původního gradientu nezahrnovalo. Tento záměr se však bohužel nezdařil zcela podle původního předpokladu. V koncentracích, vybraných jako MAX, jsou sice měřené hodnoty OD 750 nižší než v OK, ale všechny tři kmeny zde ještě rostou celkem dobře. K přesnému určení hodnoty maximálního extrému, který by mohl být použit jako koncentrace MAX pro morfologická měření, by bylo nutno pokus ještě zopakovat s ještě více rozšířeným gradientem.

### Délka vláken

V měření tohoto parametru byla značná variabilita. Ta je způsobena tím, že vlákna sinic mají tendenci k větší či menší rozpadavosti a změřena byla jak dlouhá vlákna, tak jejich úlomky.

U kmene II (*Arthrospira* sp.) bylo v OPT a MAX mnoho vláken delších než 1000  $\mu\text{m}$ . Tato vlákna jsou obtížně měřitelná, neboť se často ani při zvětšení 100x nevejdou do jednoho záběru z objektivu. Přesně změřena tedy byla pouze vlákna kratší a u ostatních bylo konstatováno, že jsou delší než 1000  $\mu\text{m}$ . Ve skupině OPT bylo 84% vláken delších než 1000  $\mu\text{m}$  a ve skupině MAX bylo takových vláken 67%.

Další problémy při morfologických měřeních nevznikly a u všech kmenů bylo možno konstatovat větší či menší rozdíly měřených parametrů v různých koncentracích. Tyto výsledky přispívají alespoň malou měrou k poznání morfologické variability sinic.

## V. ZÁVĚR

- Podařilo se sledovat růstovou odpověď osmi vybraných kmenů řas na různou koncentraci soli v mediu BG11 a Z.
- Byly zjištěny rozdíly v optimální koncentraci pro růst jednotlivých kmenů mezi těmito medii. Z faktu, že v eutrofním mediu BG11 všechny kmeny vykazují stejnou, nebo vyšší míru tolerance NaCl než v oligotrofním mediu Z, je teoreticky možno usuzovat, že jim eutrofní podmínky pomáhají vyrovnat se s osmotickým stresem. Růstové odpovědi kmenů I, IV a VIII naznačují, že jsou tyto kmeny v určitých koncentracích možná schopny se postupně aklimatizovat. Nicméně veškeré pokusy by bylo nutno podrobněji zopakovat, aby tyto předběžně vyplývající hypotézy byly potvrzeny.
- Ze studovaných kmenů tolerují nejvyšší koncentrace soli kmeny II, III a VIII, jejichž maximální růstový extrém se nachází mezi hodnotami 60-100 g/l(p.) pro kmen II; 30-100 g/l(p.) pro kmen III a 40-100 g/l(p.) pro kmen VIII.
- Podařilo se sledovat morfologickou variabilitu v různých koncentracích NaCl.

**Seznam citované literatury**

- APTE, S. K. & ALAHARI, N. H. (1994): Role of alkali cations (K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>) in cyanobacterial nitrogen fixation and adaptation to salinity and osmotic stress. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 31: 267-79.
- BEGIN, Z. B., EHRLICH, A. & NATHAN, Y. (1974): Lake Lisan. The Pleistocene precursor of the Dead Sea. *Geological Survey of Israel, Bulletin* 63: 1- 30.
- BEN-AMOTZ, A. (1987): Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben-Amotz and Avron (Vivocales, Chlorophyta). *Journal of Plant Physiology* 131: 479-487.
- BEN-AMOTZ, A. (1999): *Dunaliella* β-carotene. From science to commerce, pp. 401-420 In: Seckbach, J. (Ed.), *Enigmatic microorganisms and life in extreme environments*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- BEN-AMOTZ, A. & AVRON, M. (1983): On the factors which determine massive β-carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiology* 72: 593-597.
- BHARGAVA, S., SAXENA, R. K., PANDEY, P. K. & BISEN, P. S. (2003): Mutational engineering of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* for resistance to growth inhibitory action of LiCl and NaCl. *Current Microbiology* 47: 5-11.
- BOROWITZKA, M. A. (1986): Micro-algae as sources of fine chemicals. *Microbiological Sciences* 3: 372-375.
- BOROWITZKA, L. I., BOROWITZKA, M. A. & MOULTON, T. P. (1984): The mass culture of *Dunaliella* for fine chemicals: from laboratory to pilot plant. *Hydrobiologia* 116/117: 115-121.
- BLUMWALD, E. & TEL-OR, E. (1982): Osmoregulation and cell composition in salt-adaptation of *Nostoc muscorum*. *Archives of Microbiology* 132: 168 –172.
- BLUMWALD, E., MEHLHORN, R. J. & PACKER, L. (1983): Studies of osmoregulation in salt adaptation of cyanobacteria with ESR spin-probe techniques. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 80: 2599-2602.
- CASTENHOLZ, R. W. & GARCIA-PICHEL, F. (2000): Cyanobacterial Responses to UV-Radiation, pp. 591-611 In: Whitton, B., A. & Potts, M. (Eds), *The Ecology of Cyanobacteria - Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- CIFUENTES, A. S., GONZALEZ, M. A., INOSTROZA, I. & AGUILERA, A. (2001): Reappraisal of physiological attributes of nine strains of *Dunaliella* (Chlorophyceae): Growth and pigment content across a salinity gradient. *Journal of Phycology* 37: 334-344.
- COWAN, A. K., ROSE, P. D. & HORNE, L. G. (1992): *Dunaliella salina* – a model system for studying the response of plant cells to stress. *Journal of Experimental Botany* 43: 1535-1547.
- DAVIS, J. S. & GIORDANO, M. (1996): Biological and physical events involved in the origin, effects, and control of organic matter in solar saltworks. *International Journal of Salt Lake Research* 4: 335-347.
- FERJANI, A., MUSTARDY, L., SULPICE, R., MARIN, K., SUZUKI, I., HAGEMANN, M. & MURATA, N. (2003): Glucosylglycerol, a compatible solute, sustains cell division under salt stress. *Plant Physiology* 131: 1628-37.
- FISHER, M., GOKHMAN, I., PICK, U. & ZAMIR, A. (1996): A Salt-resistant plasma membrane carbonic anhydrase is induced by salt in *Dunaliella salina*. *The Journal of Biological Chemistry* 271: 17718-17723.
- FOTT, B. (1956): *Sinice a řasy*. Nakladatelství ČSAV, Praha.

- GARCIA-PICHEL, F. & CASTENHOLZ, R. W. (1993): Occurrence of UV-absorbing, Mycosporine-like compounds among cyanobacterial isolates and an estimate of their screening capacity. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 163-169.
- GIMMLER, H. (2000): Primary sodium plasma membrane ATPases in salt-tolerant algae: facts and fictions. *Journal of Experimental Botany* 51: 1171-1178.
- GINZBURG, M. (1987): *Dunaliella*: a green alga adapted to salt. *Advances in Botanical Research* 14: 93-183.
- GRANT, W. D. & TINDALL, B. J. (1986): The alkaline saline environment, pp. 25-54 In: Herbert, R. A. and Codd, G. A. (Eds), *Microbes in extreme environments*. Academic Press, London.
- GRULICH, V. (1987): Slanomilné rostliny na Jižní Moravě. Český svaz ochránců přírody, Břeclav.
- JAVOR, B. J. (2002): Industrial microbiology of solar salt production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 28: 42-47.
- JENÍK, J. (1972): *Obecná geobotanika: Úvod do nauky o rostlinstvu*, Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- JUNGBLUT, A. D., HAWES, I., MOUNTFORT, D., HITZFELD, B., DIETRICH, D. R., BURNS, B. P. & NEILAN, B. A. (2005): Diversity within cyanobacterial mat communities in variable salinity meltwater ponds of McMurdo Ice Shelf, Antarctica. *Environmental Microbiology* 7: 519-529.
- KARANDASHOVA, I., ELANSKAYA, I., MARIN, K., VINNEMEIER, J. & HAGEMANN, M. (2002): Identification of genes essential for growth at high salt concentrations using salt-sensitive mutants of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Current Microbiology* 44: 184-188.
- KAŠTOVSKÝ, J. & KOMÁREK, J. (2001): Phototrophic microvegetation of thermal springs in Karlovy Vary, Czech Republic, pp. 107-120 In: Elster, J., Seckbach J., Vincent, W. F., Lhotský, O. (Eds), *Nova Hedwigia - Algae and extreme environments*, Beiheft 123, Gebr. Borntraeger, Berlin.
- KEBEDE, E. (1997): Response of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to salinity stress from sodium salts. *Journal of Applied Phycology* 9: 551-558.
- KOMÁREK, J. & LUKAVSKÝ, J. (1988): *Arthronema*, a new cyanophyte genus from Afro-Asian deserts. *Archiv für Hydrobiologie, Suppl.* 80: 249-267.
- LUKAVSKÝ, J. (1984): Mikrometoda stanovení trofického potenciálu a toxicity řasovým testem. *Vodní Hospodářství* 34: 79-83.
- LUKAVSKÝ, J. (1992): The evaluation of algal growth potential (AGP) and toxicity of water by miniaturized growth bioassay. *Water Research* 26: 1409-1413.
- MARŠÁLEK, B., ZAHRADNÍČKOVÁ, H. & HRONKOVÁ, M. (1992): Extracellular Abscisic acid produced by cyanobacteria under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 139: 506-508.
- MURTHY, K. N. C., VANITHA, A., RAJESHA, J., MAHADEVA SWAMY, M., SOWMYA P.R. & RAVISHANKAR, G. A. (2005): In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* - a green microalga. *Life Sciences* 76: 1381-1390.
- OREN, A. (1997): Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria. *Geomicrobiology Journal* 14: 231-240.
- OREN, A. (1999): Bioenergetic aspects of halophilism (Rev.). *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63: 334-348.
- OREN, A. (2000): Salt and Brines, pp. 281-306 In: Whitton, B., A. & Potts, M. (Eds.), *The Ecology of Cyanobacteria-Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

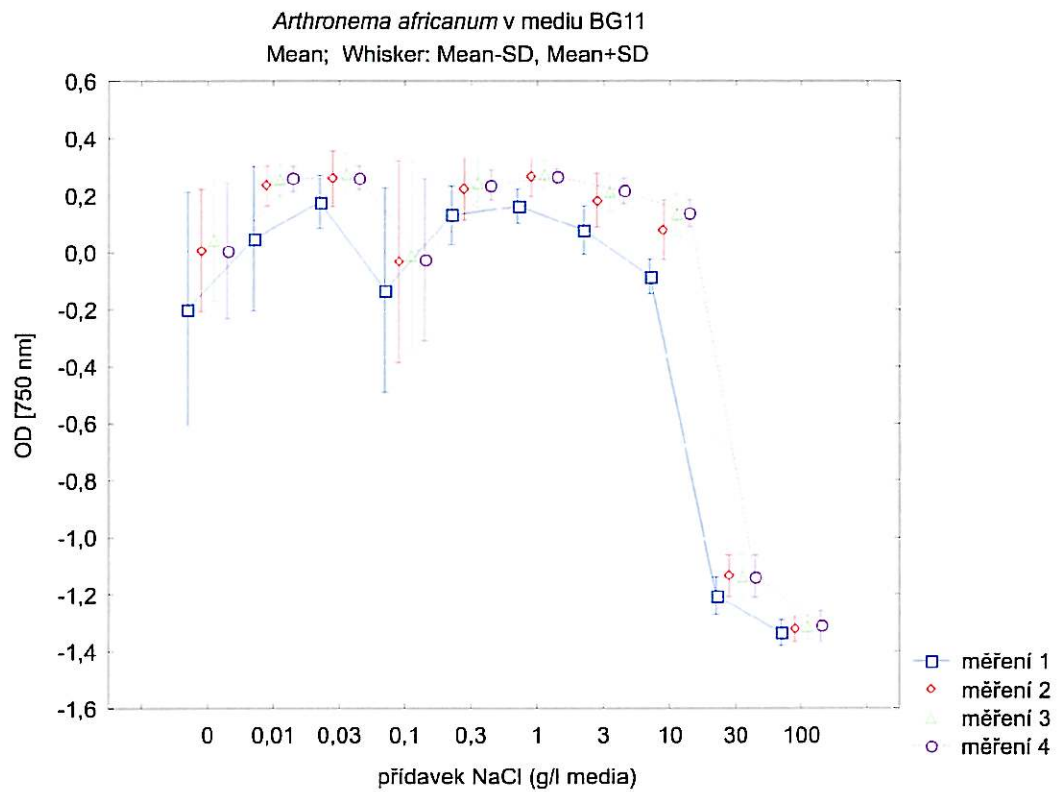
- OREN, A. (2002a): Halophilic Microorganisms and their Environments, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- OREN, A. (2002b): Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 28: 56-63.
- OREN, A. & SECKBACH, J. (2001): Oxygenic photosynthetic microorganisms in extreme environments, pp.13-31. In: Elster, J., Seckbach J., Vincent, W. F., Lhotský, O. (Eds), *Nova Hedwigia - Algae and extreme environments*, Beiheft 123, Gebr. Borntraeger, Berlin.
- PADHI, H., RATH, B. & ADHIKARY, S. P. (1997): Tolerance of nitrogen-fixing cyanobacteria to NaCl. *Biologia Plantarum* 40: 261-268.
- PANDEY, U. & CHATTERJEE, C. (1999): Response of two strains of *Nostoc muscorum* to metal stress and salinity. *Annals of Applied Biology* 134: 259-263.
- PELÍŠEK, J. (1948): Solné půdy Jižní Moravy. Sborník vysoké školy zemědělské, Brno.
- PORTWICH, A. & GARCIA-PICHEL, F. (1999): Ultraviolet and osmotic stresses induce and regulate the synthesis of mycosporines in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *Archives of Microbiology* 172: 187-192.
- POTTS, M. (2000): *Nostoc*, pp. 465-504 In: Whitton, B., A. & Potts, M. (Eds), *The Ecology of Cyanobacteria - Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- PŘIKRYL, I. (1999): Chemismus vod ovlivněných těžbou Sokolovské uhelné a.s. Unpublished
- QUESADA, A., SÁNCHEZ-CONTRERAS, M. & FERNÁNDEZ-VALIENTE, E. (2001): Tolerance of Antarctic cyanobacterial mats to natural UV radiation, pp. 275-290 In: Elster, J., Seckbach J., Vincent, W. F., Lhotský, O. (Eds), *Nova Hedwigia - Algae and extreme environments*, Beiheft 123. Gebr. Borntraeger, Berlin.
- ROESLER, C. S., CULBERTSON, C. V., ETHERIDGE, S. M., GOERICKE, R., KIENE, R. P., MILLER, L.G. & OREMLAND, R. S. (2002): Distribution, production and ecophysiology of *Picocystis* strain ML in Mono Lake, California. *Limnology and Oceanography* 47: 440-452.
- ROUND, F. E. (1985): *The ecology of algae*, Cambridge University Press, Cambridge.
- RUSSELL, N. J. (1989): Adaptive modifications in membranes of halotolerant and halophilic microorganisms. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 21: 93-113.
- RUSSELL, N. J. & KOGUT, M. (1984): Haloadaptation: salt sensing and cell-envelope changes. *Microbiological Sciences* 2: 345-350.
- SINHA, R. P., AMBASHT, N. K., SINHA, J. P. & HADER, D. P. (2003): Wavelength-dependent induction of mycosporine-like amino acids in a rice-field cyanobacterium *Nostoc commune*: role of inhibitors and salt stress. *Photochemical and Photobiological Sciences* 2: 171-176.
- SLÁDEK, J. (1988): Současný stav slanobytné vegetace na Mostecku. Sborník Okresního muzea v Mostě, Řada přírodovědná 10: 43-58.
- WHITTON, B. A. (2000): Soils and rice-fields, pp. 233-255 In: Whitton, B., A. & Potts, M. (Eds), *The Ecology of Cyanobacteria - Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

# Příloha I: grafy závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

## *Arthronema africanum* (kmen LUKAVSKÝ 1980/1)

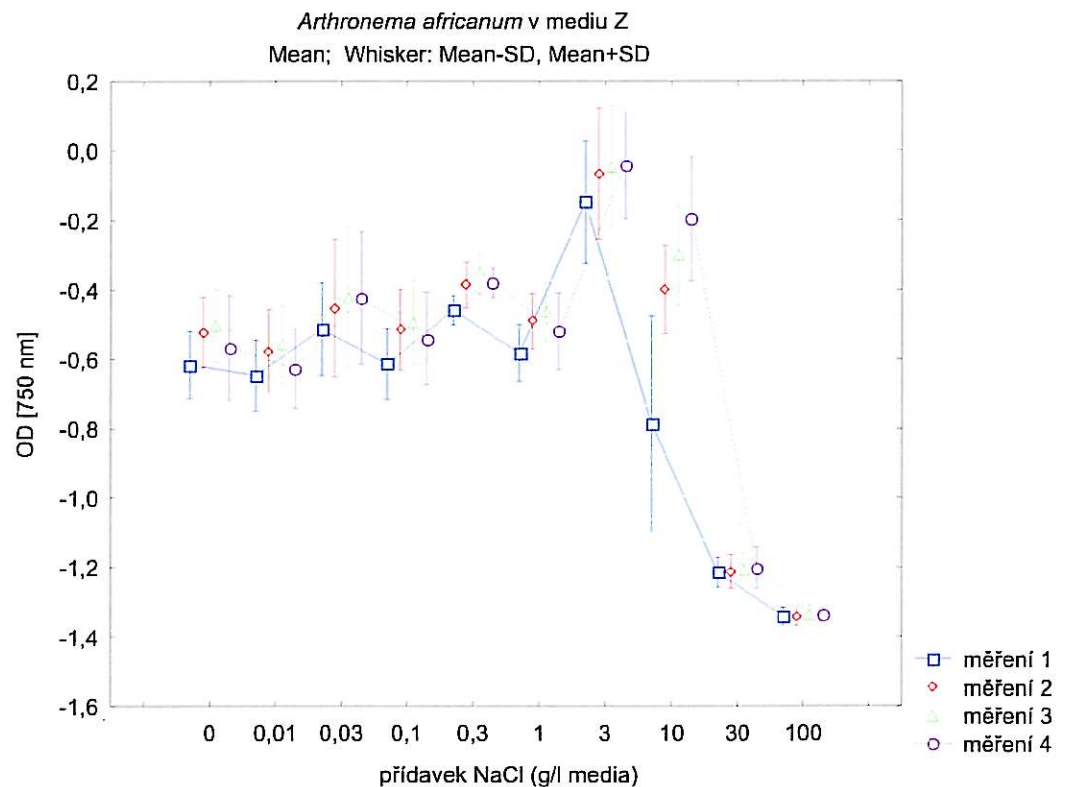
### Obr. 1:

*A. africanum*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po třech až šesti dnech.



### Obr. 2:

*A. africanum*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po třech až šesti dnech.

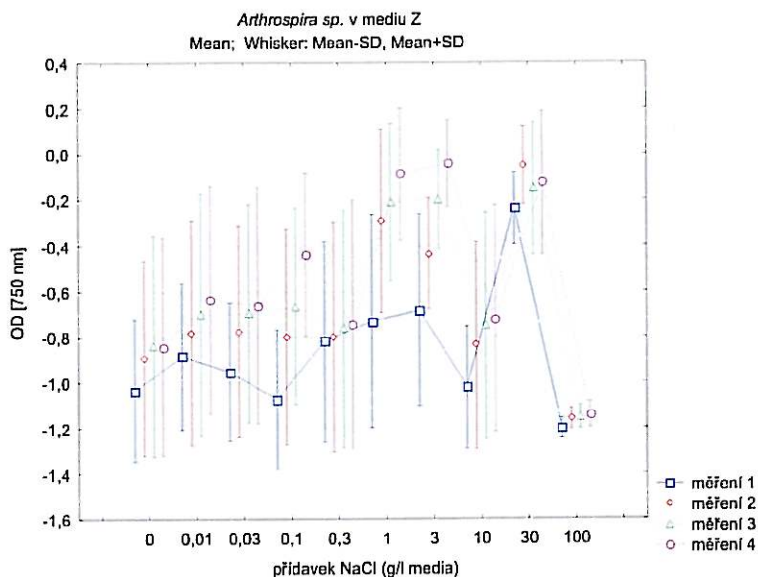
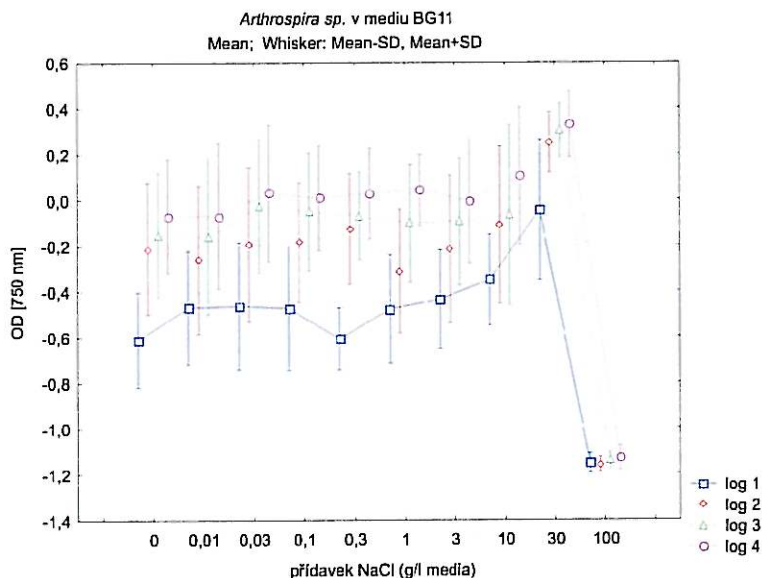


# Příloha I: grafy závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

*Arthrospira* sp. (kmen COMPÉRE 1968/3786)

**Obr. 3:**

*Arthrospira* sp., graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

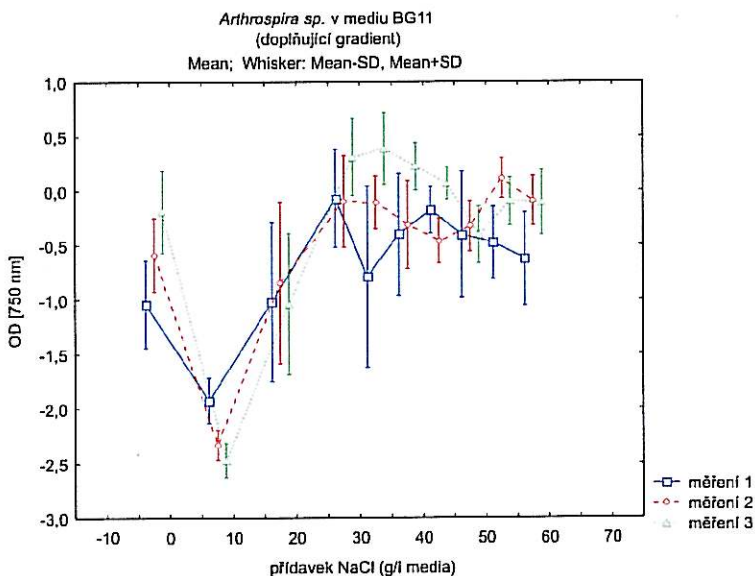


**Obr. 4:**

*Arthrospira* sp., graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

**Obr. 5:**

*Arthrospira* sp., graf měřených hodnot optické density v závislosti na doplňujícím gradientu NaCl v mediu BG 11, vytvořeném pro účely morfologických pokusů. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až pěti dnech.

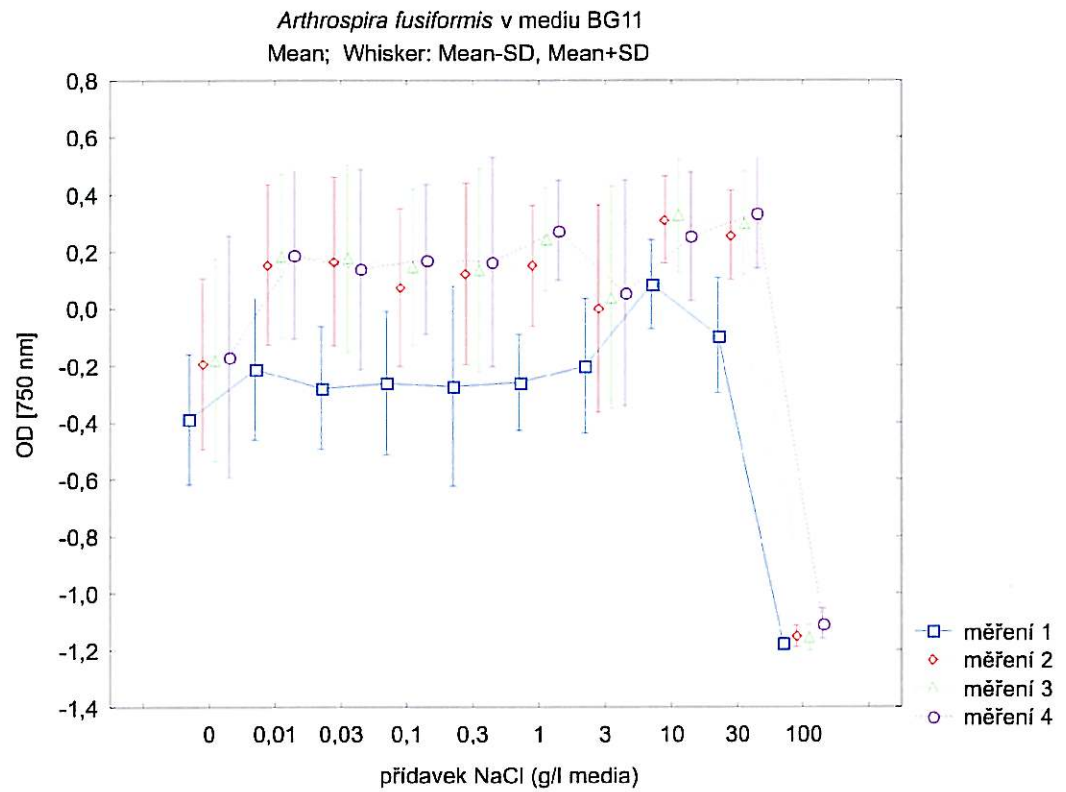


# Příloha I: grafy závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

*Arthrospira fusiformis* (kmen HEGEWALD 1976/83)

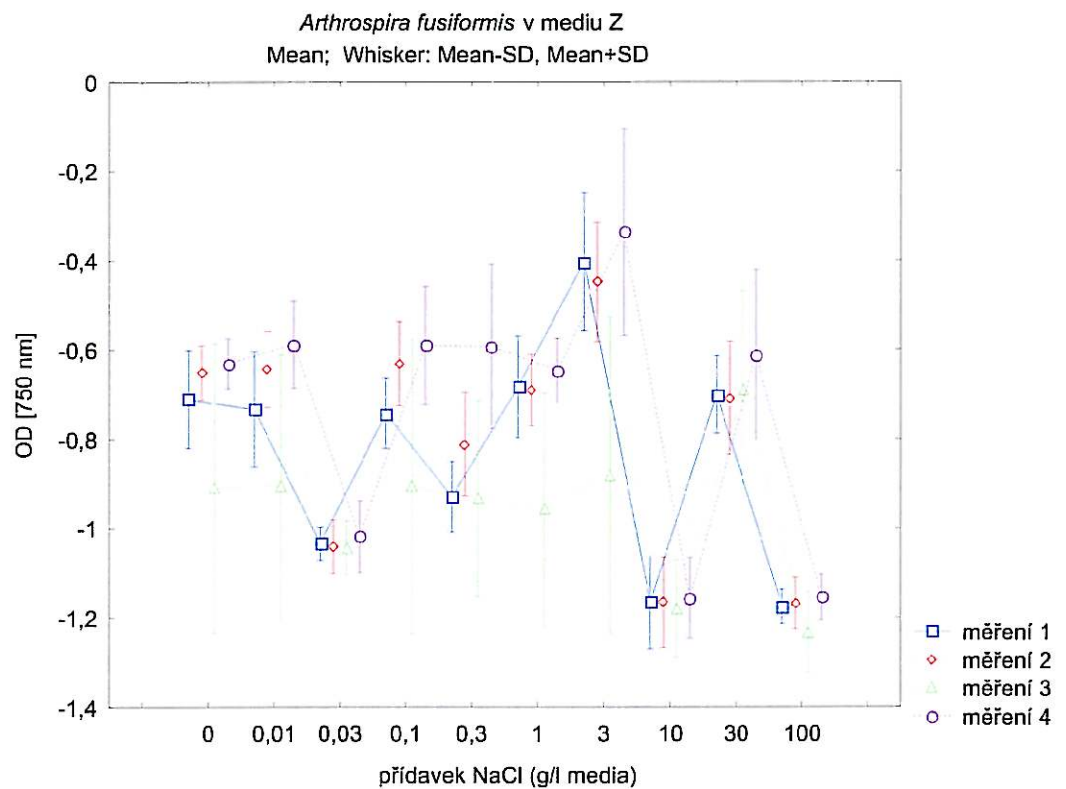
**Obr. 6:**

*A. fusiformis*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



**Obr. 7:**

*A. fusiformis*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



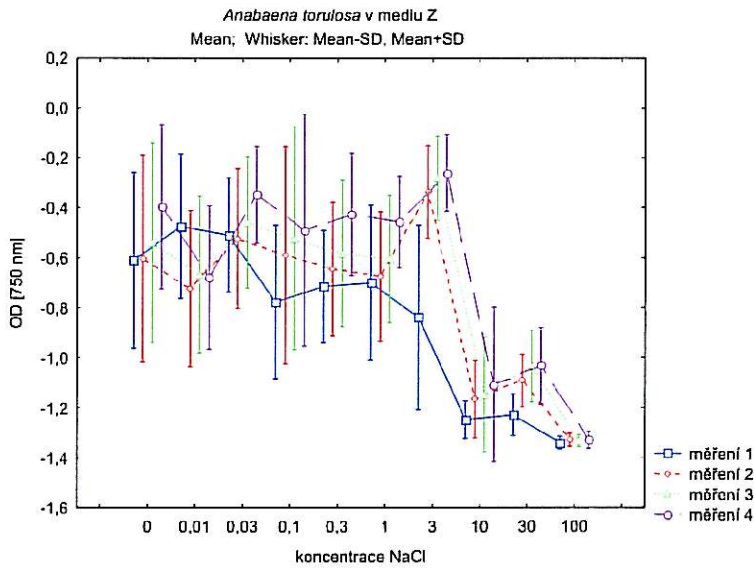
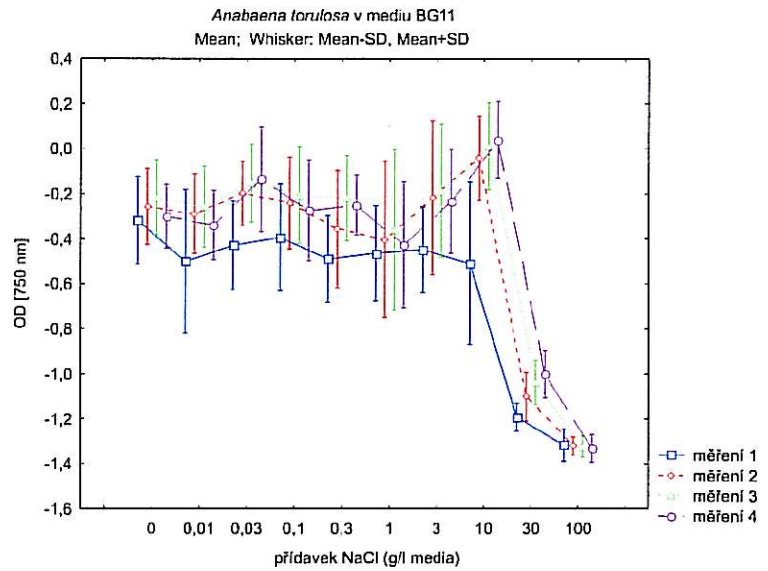


# Příloha I: grafy závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

*Anabaena torulosa* (kmen JAHNKE/1c)

**Obr. 8:**

*A. torulosa*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

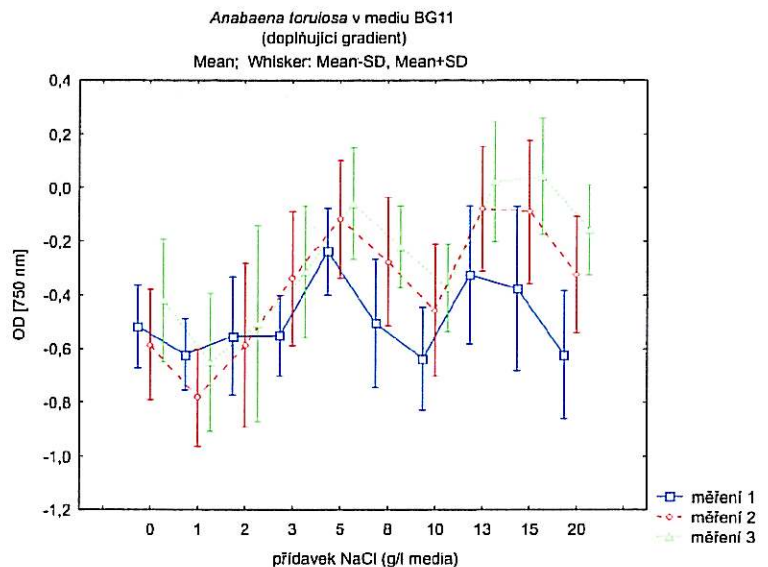


**Obr. 9:**

*A. torulosa*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

**Obr. 10:**

*A. torulosa*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na doplňujícím gradientu NaCl v mediu BG 11, vytvořeném pro účely morfologických pokusů. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až pěti dnech.

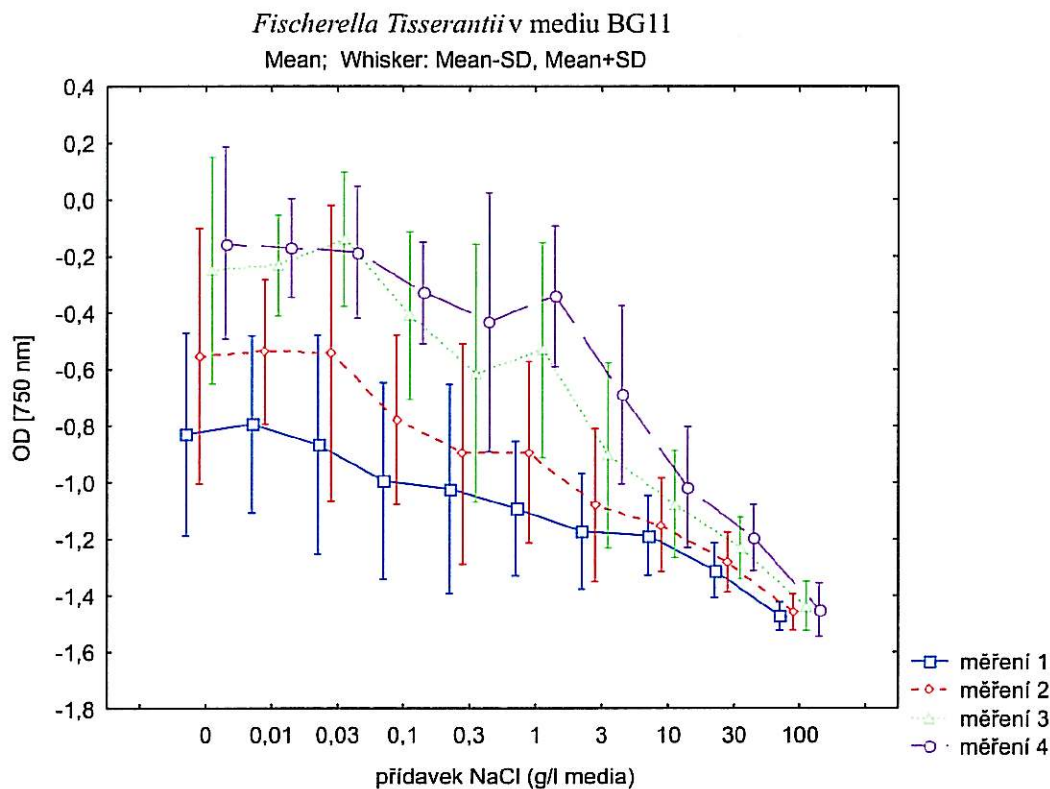


# Příloha I: závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

*Fischerella tisserantii* (kmen KOMÁREK 1964/47)

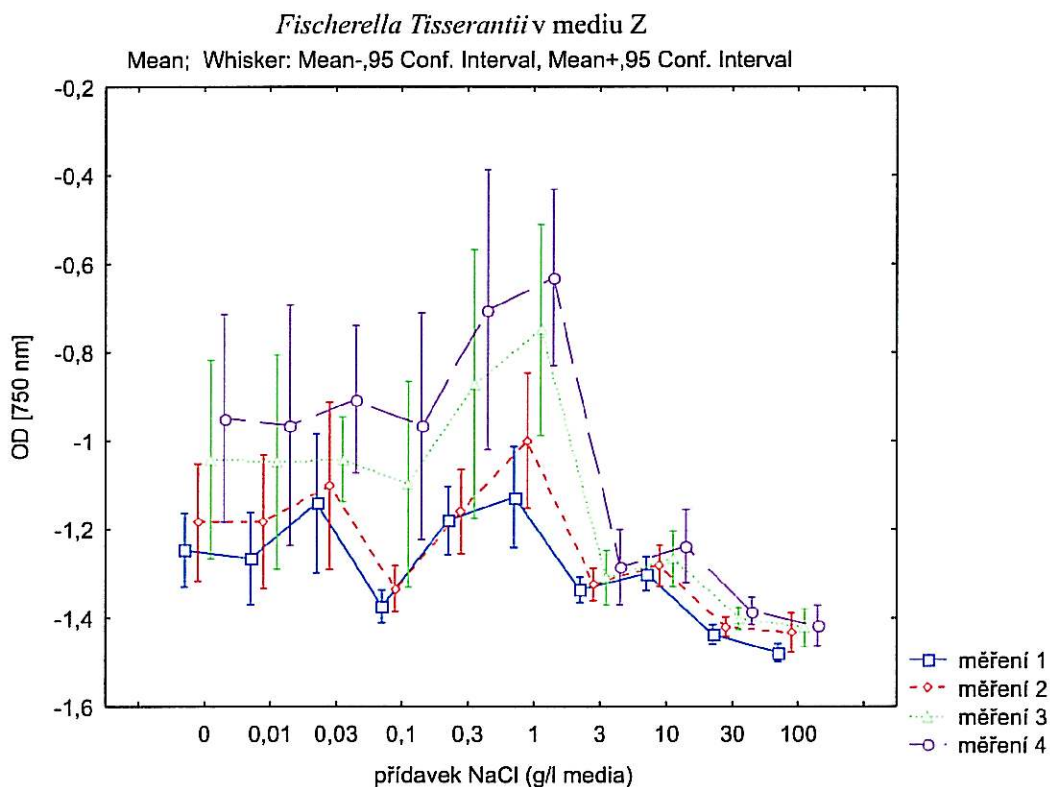
**Obr. 11:**

*F. tisserantii*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



**Obr. 12:**

*F. tisserantii*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 9 dní po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

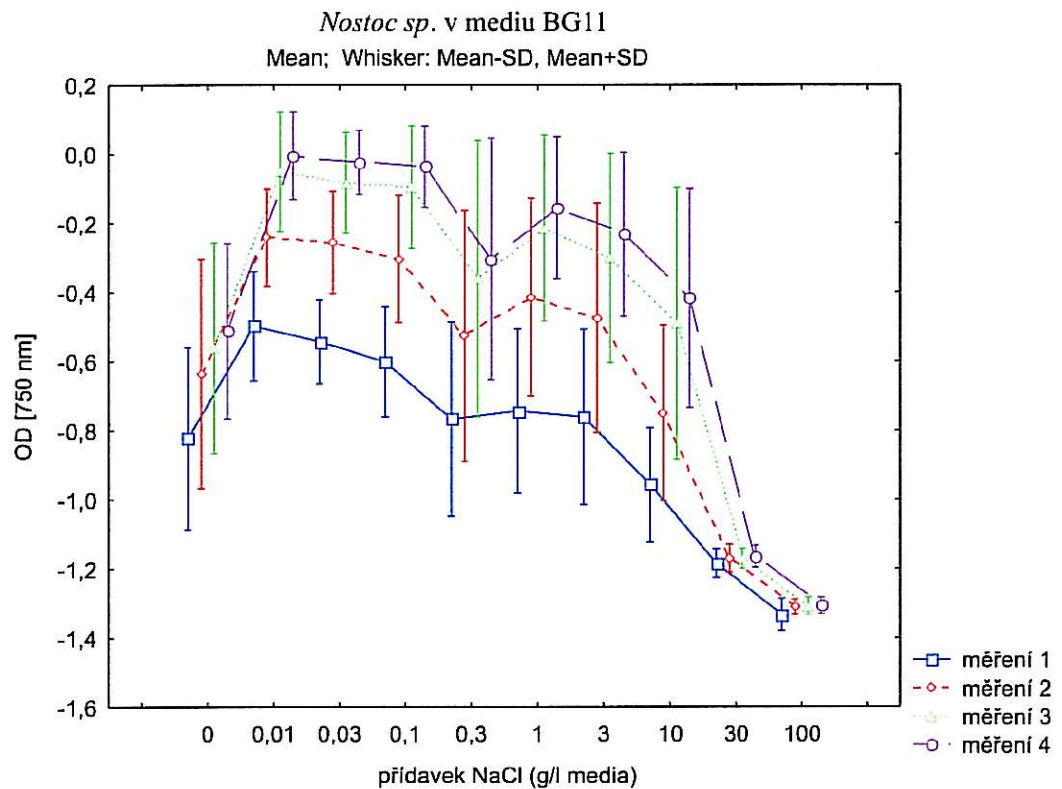


# Příloha I: závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

*Nostoc sp.* (kmen V. FLECHNER/JT2-VF2)

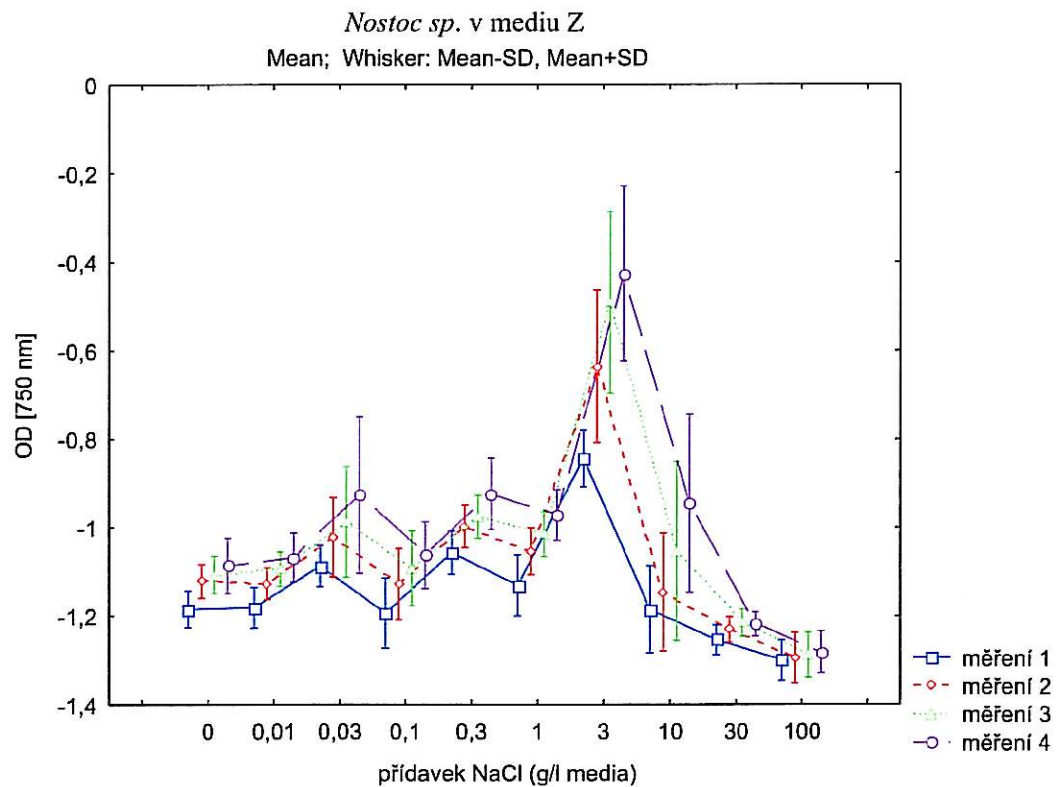
**Obr. 13:**

*Nostoc sp.*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



**Obr. 14:**

*Nostoc sp.*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 9 dní po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

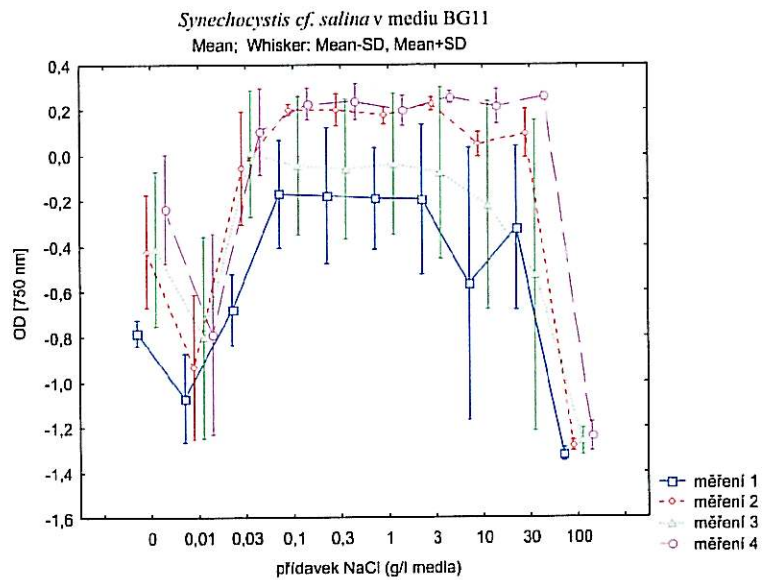


# Příloha I: závislosti OD 750 nm na přidavku NaCl v mediu

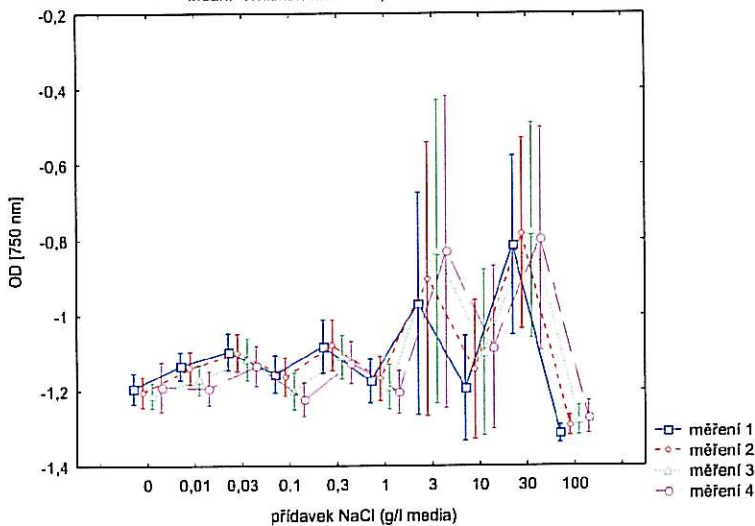
*Synechocystis cf. salina* (kmen MARKLE/1430-3)

**Obr. 15:**

*S. cf. salina*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



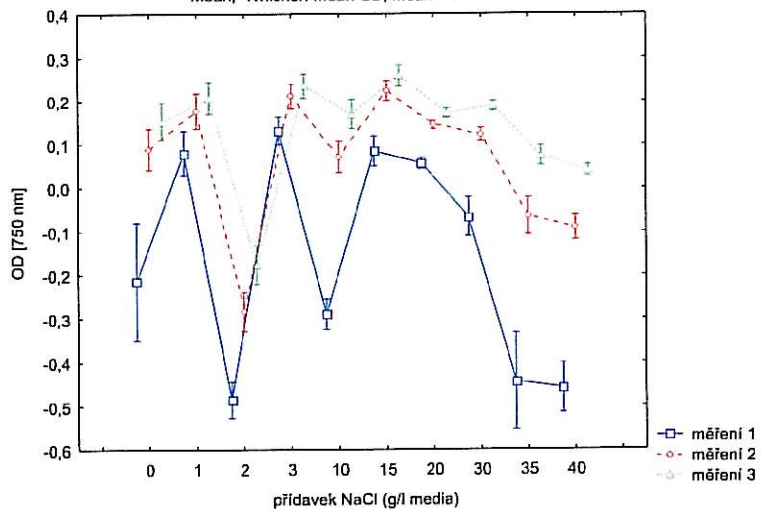
*Synechocystis cf. salina* v mediu Z  
Mean; Whisker: Mean-SD, Mean+SD



**Obr. 16:**

*S. cf. salina*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 9 dní po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.

*Synechocystis cf. salina* v mediu BG11  
(doplňující gradient)  
Mean; Whisker: Mean-SD, Mean+SD



**Obr. 17:**

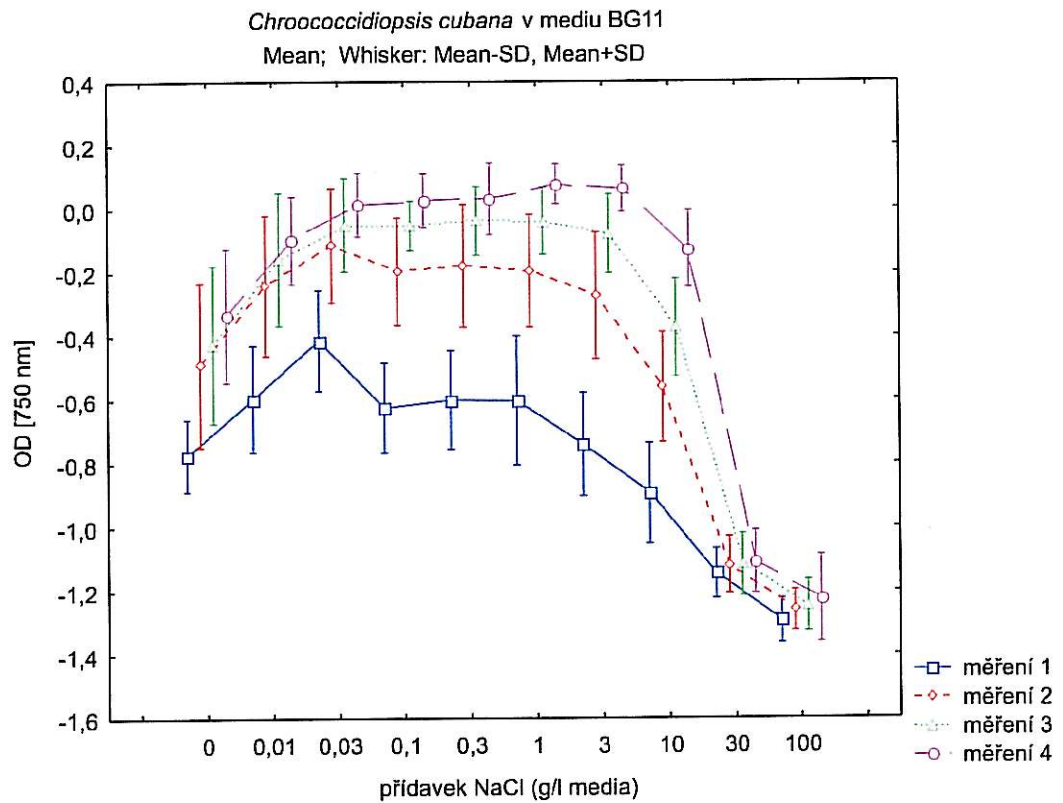
*S. cf. salina*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na doplňujícím gradientu NaCl v mediu BG 11, vytvořeném pro účely morfologických pokusů. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až pěti dnech.

Příloha I: závislosti OD 750 nm na přídatku NaCl v mediu

*Chroococcidiopsis cubana* (kmen HINDÁK 1964/48)

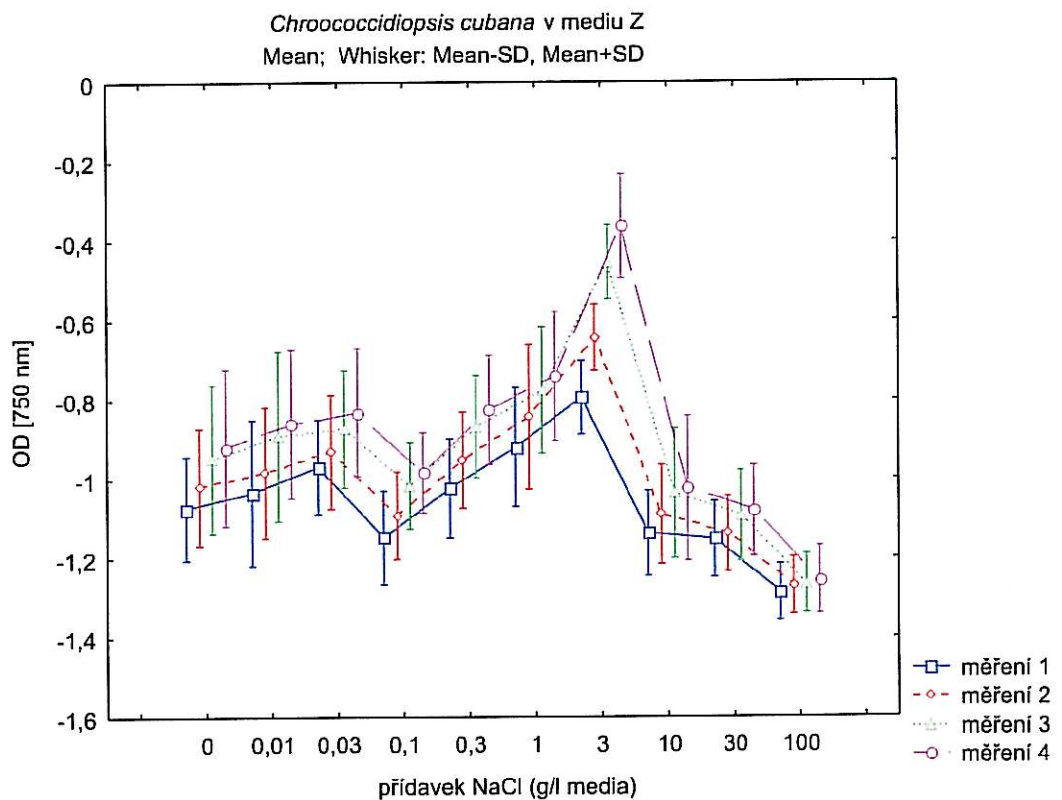
**Obr. 18:**

*C. cubana*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu BG 11. Měření 1 bylo provedeno 1 týden po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



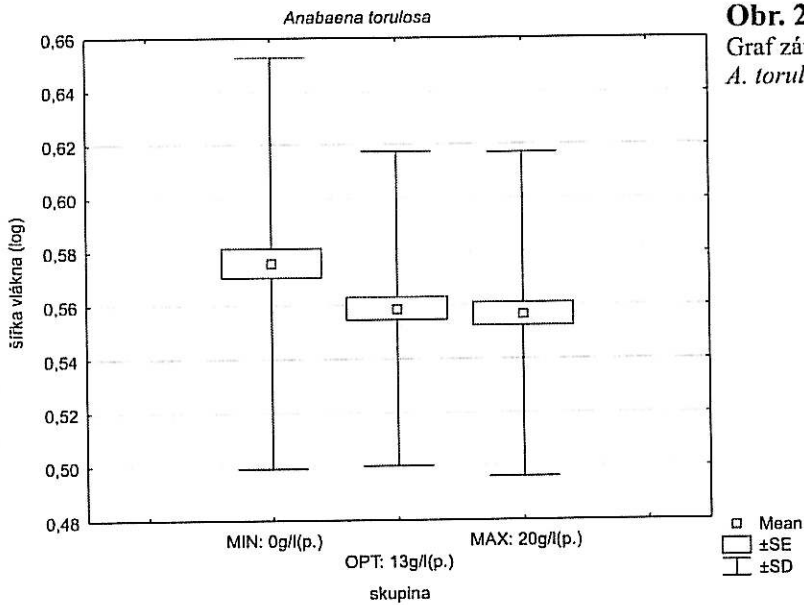
**Obr. 19:**

*C. cubana*, graf měřených hodnot optické density v závislosti na gradientu NaCl v mediu Z. Měření 1 bylo provedeno 9 dní po inokulaci, další měření následovala vždy po čtyřech až šesti dnech.



Příloha II: grafy závislosti morfologických parametrů na přidavku NaCl v mediu BG 11

*Anabaena torulosa* (kmen JAHNKE/1c)



**Obr. 20:**

Graf závislosti šířky vlákna *A. torulosa* na přidavku NaCl v mediu BG 11

šířka vlákna (log)	MIN	OPT	MAX
MIN		<b>0,025655</b>	<b>0,009378</b>
OPT	<b>0,025655</b>		0,938434
MAX	<b>0,009378</b>	0,938434	

**Tab. 1:**

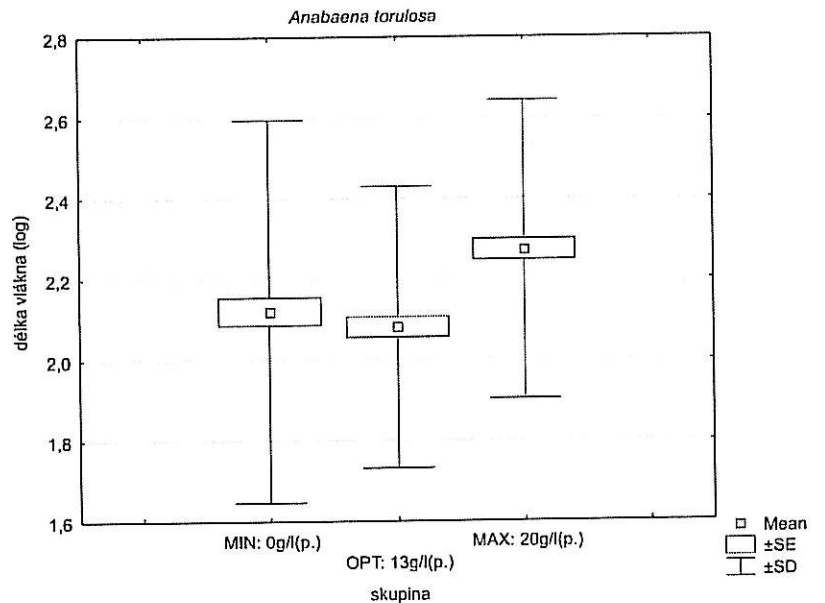
Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v šířce vlákna. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.

**Obr. 21:**  
Graf závislosti délky vláken *A. torulosa* na přidavku NaCl v mediu BG 11

délka vlákna (log)	MIN	OPT	MAX
MIN		0,589511	<b>0,000452</b>
OPT	0,589511		<b>0,000027</b>
MAX	<b>0,000452</b>	<b>0,000027</b>	

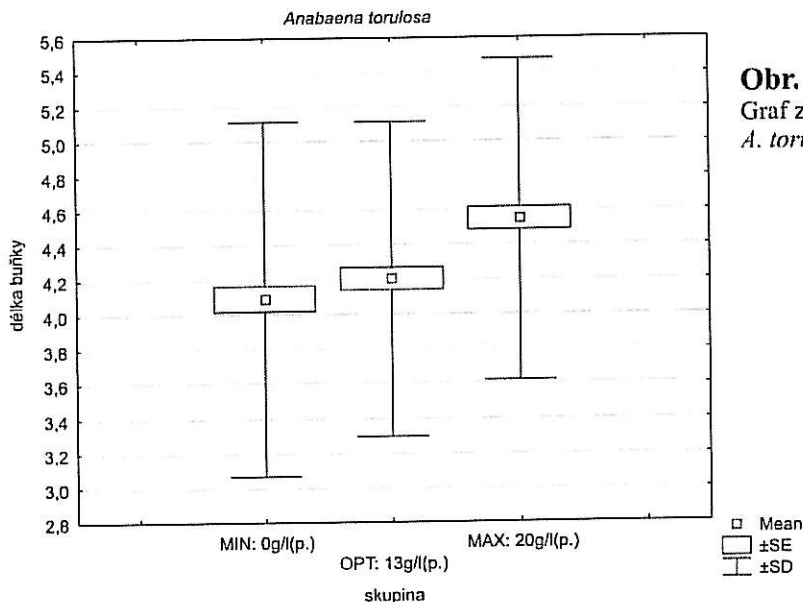
**Tab. 2:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v délce vláken. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.



**Obr. 22:**

Graf závislosti délky buněk *A. torulosa* na přidavku NaCl v mediu BG 11



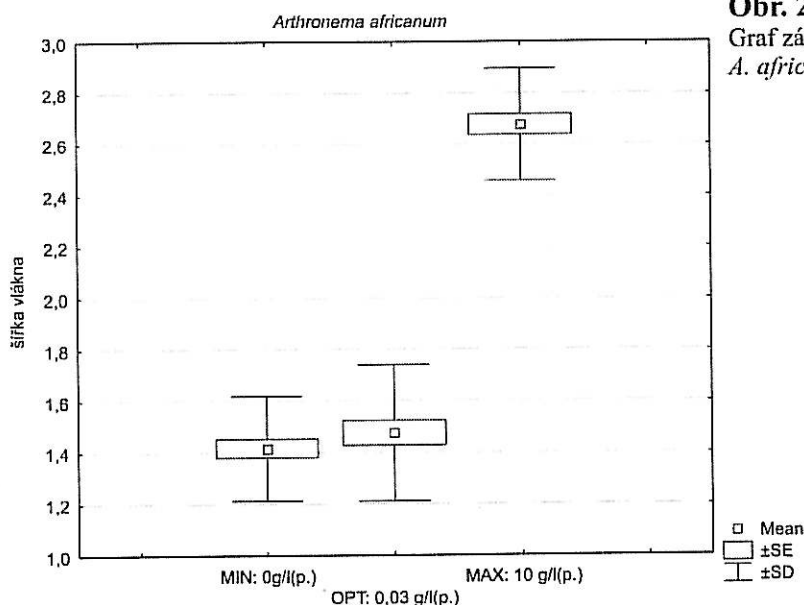
délka buňky	MIN	OPT	MAX
MIN		0,456851	<b>0,000026</b>
OPT	0,456851		<b>0,000989</b>
MAX	<b>0,000026</b>	<b>0,000989</b>	

**Tab. 3:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v délce buněk. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.

Příloha II: grafy závislosti morfologických parametrů na přidavku NaCl v mediu BG 11

*Arthronema africanum* (kmen LUKAVSKÝ 1980/1)



**Obr. 23:**

Graf závislosti šířky vlákna *A. africanum* na přidavku NaCl v mediu BG 11

šířka vlákna	MIN	OPT	MAX
MIN		0,579104	<b>0,000107</b>
OPT	0,579104		<b>0,000107</b>
MAX	<b>0,000107</b>	<b>0,000107</b>	

**Tab. 4:**

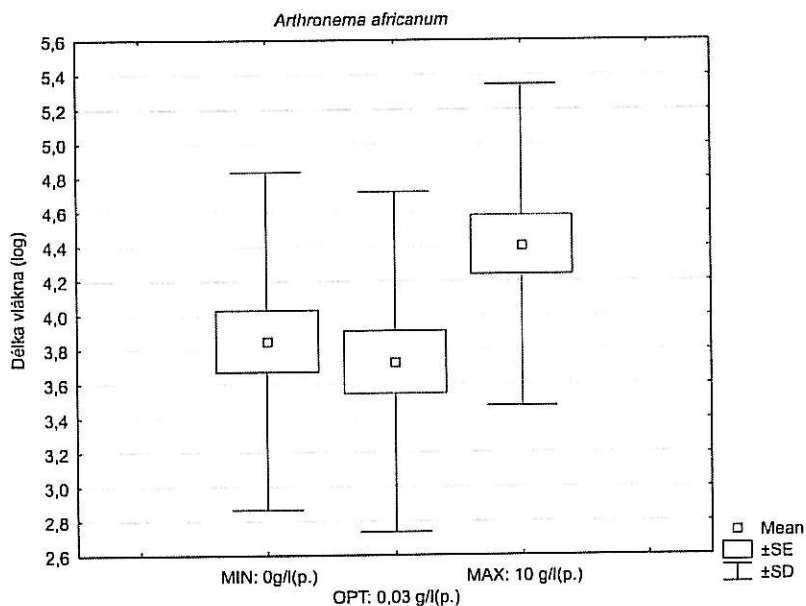
Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v šířce vlákna. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.

**Obr. 24:**  
Graf závislosti délky vláken *A. africanum* na přidavku NaCl v mediu BG 11

délka vlákna (log)	MIN	OPT	MAX
MIN		0,877522	0,072083
OPT	0,877522		<b>0,021626</b>
MAX	0,072083	<b>0,021626</b>	

**Tab. 5:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v délce vláken. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.



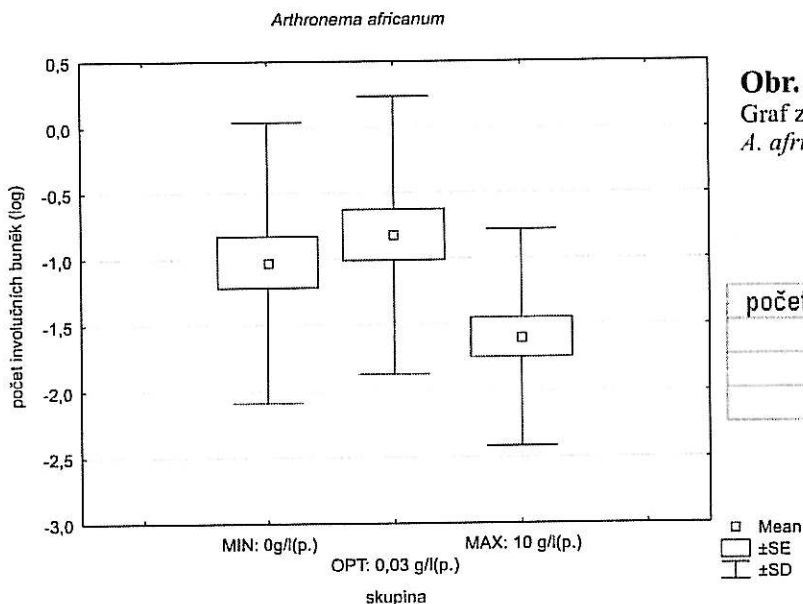
**Obr. 25:**

Graf závislosti počtu involučních buněk *A. africanum* na přidavku NaCl v mediu BG 11

počet involučních buněk(log)	MIN	OPT	MAX
MIN		0,697690	0,067657
OPT	0,697690		<b>0,008136</b>
MAX	0,067657	<b>0,008136</b>	

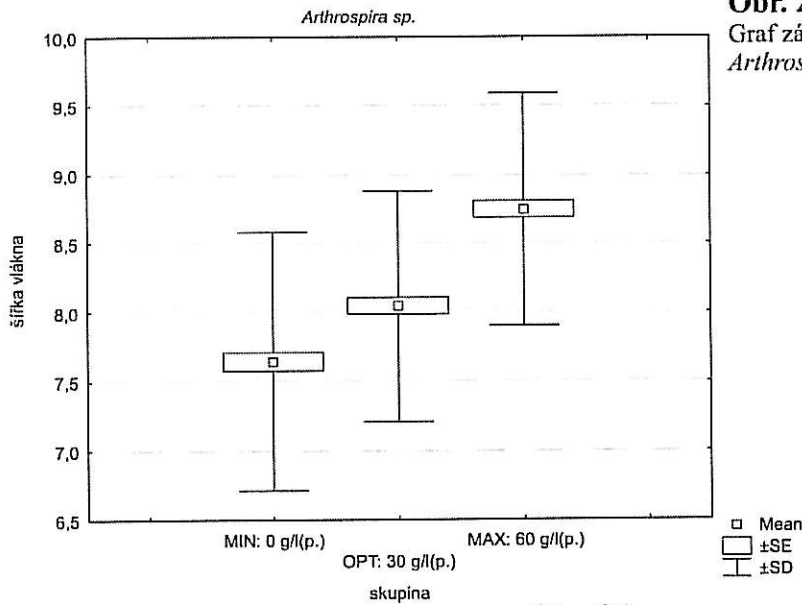
**Tab. 6:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v počtu involučních buněk. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.



Příloha II: grafy závislosti morfologických parametrů na přidavku NaCl v mediu BG 11

*Arthrospira* sp. (kmen COMPÈRE 1968/3786)



**Obr. 26:**  
Graf závislosti šířky vlákna  
*Arthrospira* sp. na přidavku NaCl v mediu BG 11

šířka vlákna	MIN	OPT	MAX
MIN		<b>0,000035</b>	<b>0,000022</b>
OPT	<b>0,000035</b>		<b>0,000022</b>
MAX	<b>0,000022</b>	<b>0,000022</b>	

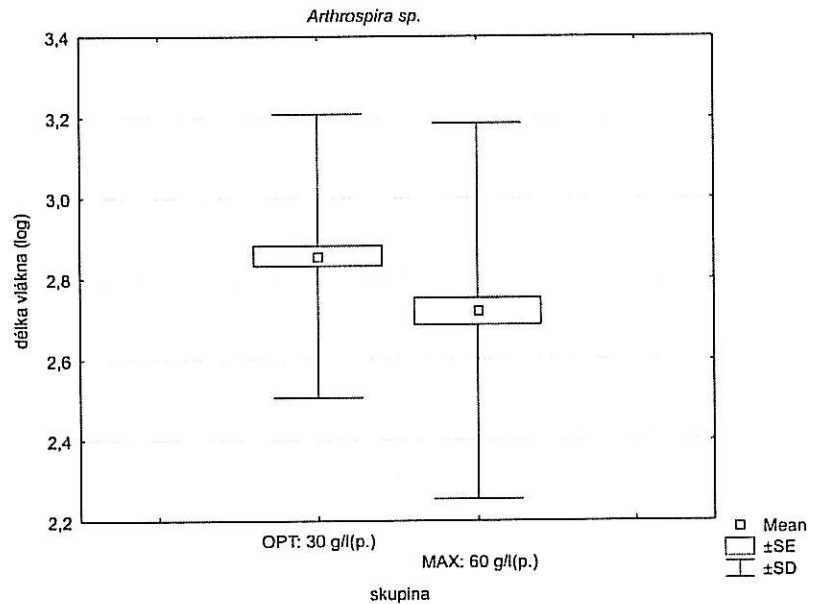
**Tab. 7:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v šířce vlákn. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.

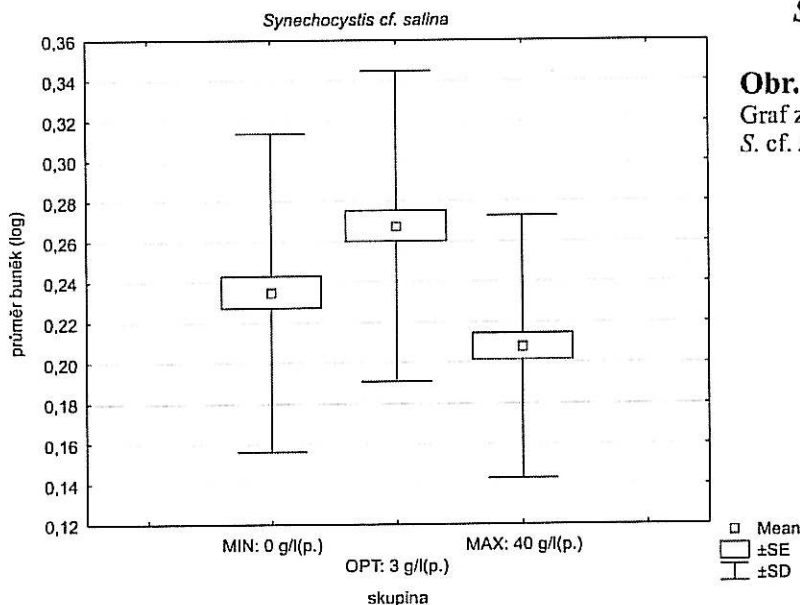
**Obr. 27:**  
Graf závislosti délky vláken  
*Arthrospira* sp. na přidavku NaCl v mediu BG 11

délka vlákn (log)	OPT	MAX
OPT		<b>0,000896</b>
MAX	<b>0,000896</b>	

**Tab. 8:**  
Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v délce vlákn. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.



*Synechocystis* cf. *salina* (kmen MARKLE/1430-3)



**Obr. 28:**  
Graf závislosti průměrů buněk  
*S. cf. salina* na přidavku NaCl v mediu BG 11

průměr buněk (log)	MIN	OPT	MAX
MIN		<b>0,004787</b>	<b>0,025707</b>
OPT	<b>0,004787</b>		<b>0,000022</b>
MAX	<b>0,025707</b>	<b>0,000022</b>	

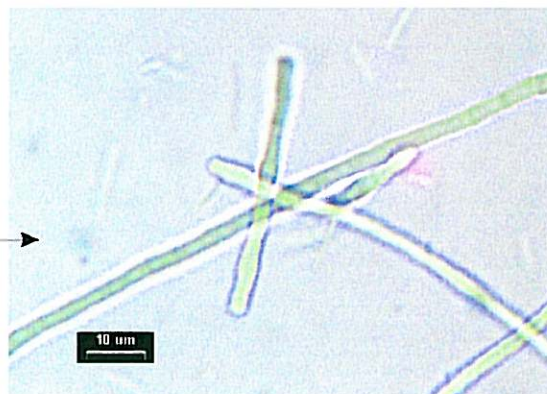
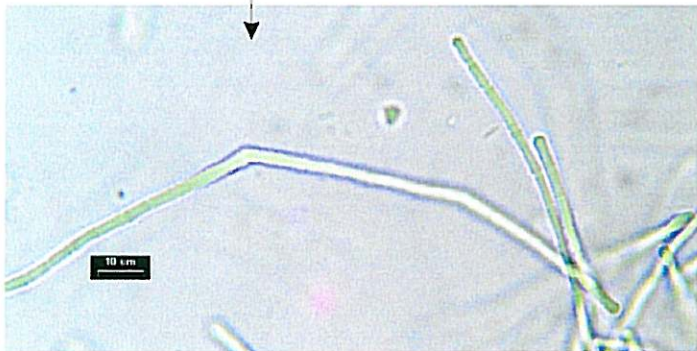
**Tab. 9:**

Výstup Tukey testu ukazuje pravděpodobnosti, s jakými se skupiny mezi sebou liší v průměru buněk. Tučně jsou označeny případy, kdy se skupiny průkazně odlišují.

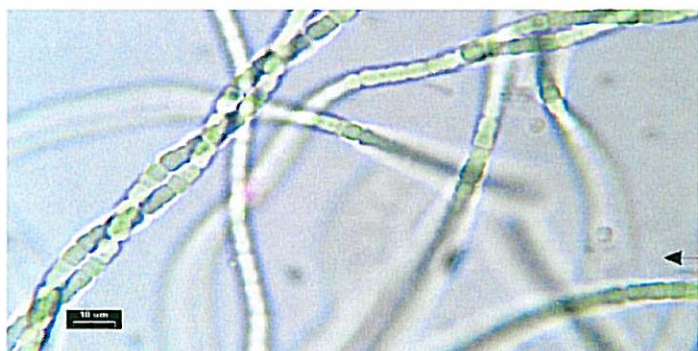


Příloha III: Fotografie-část A: kmeny, u nichž byla hodnocena morfologie

*Arthronema africanum* (kmen LUKAVSKÝ 1980/1) v přidavku 0 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 1000x

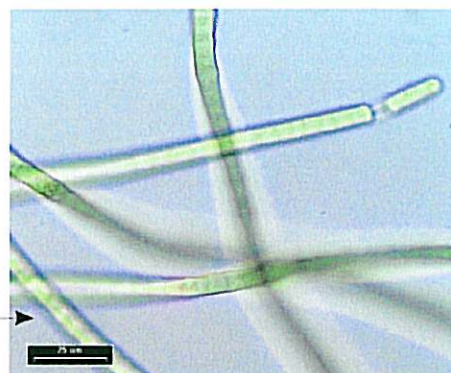
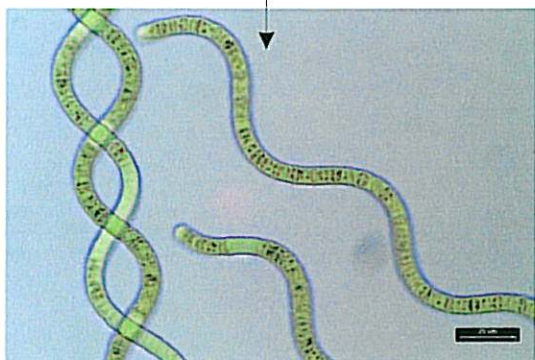


*A. africanum* v přidavku 0,03 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 1000x

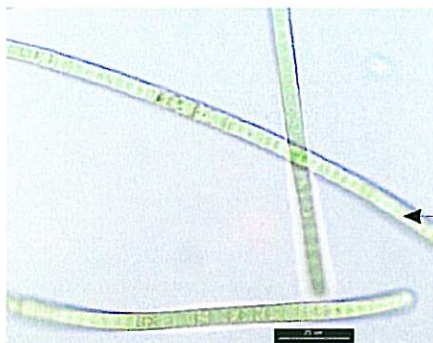


*A. africanum* v přidavku 10 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 1000x  
některá vlákna se v této koncentraci spirálně stáčíjí

*Arthrospira* sp. (kmen COMPÉRE 1968/3786) v přidavku 0 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 400x



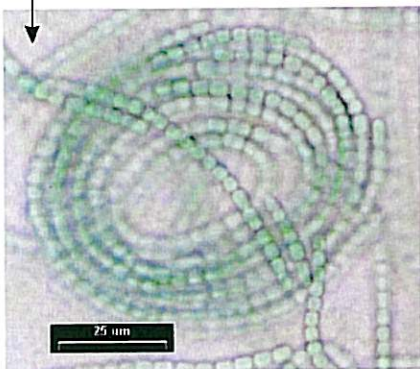
*Arthrospira* sp.  
V přidavku 30 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 400x



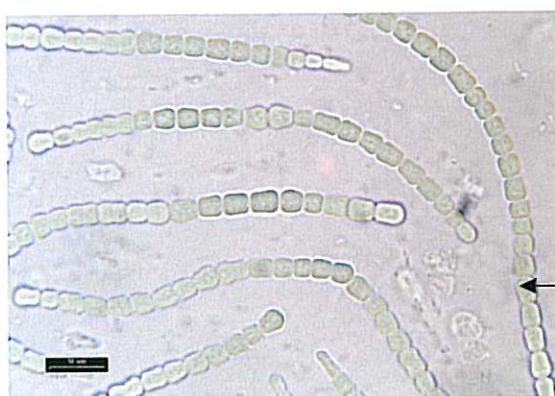
*Arthrospira* sp.  
V přidavku 60 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 400x

Příloha III: Fotografie-část A: kmeny, u nichž byla hodnocena morfologie

*Anabaena torulosa* (kmen JAHNKE/1c) v přidavku 0 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 400x

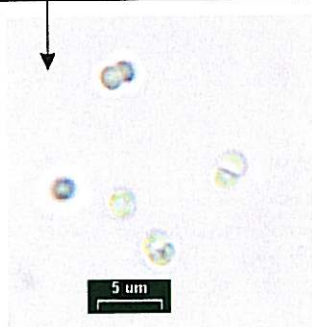


*A. torulosa* v přidavku 20 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 400x

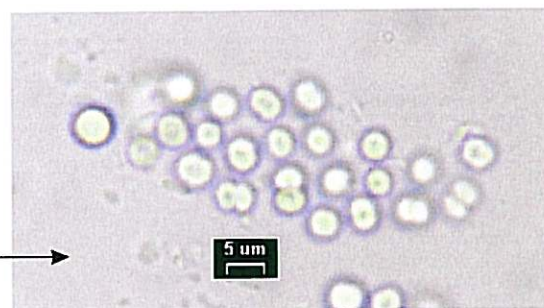


*A. torulosa* v přidavku 13 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 400x

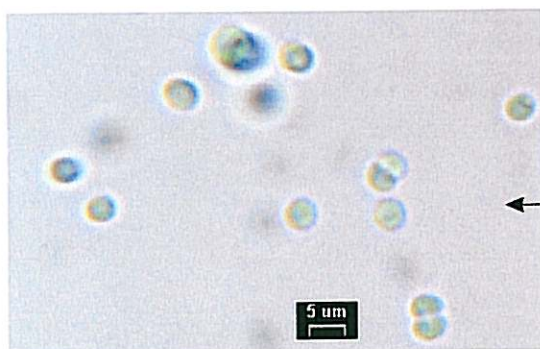
*Synechocystis cf. salina* (kmen MARKLE/1430-3) v přidavku 0 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 1000x



*Synechocystis cf. salina* v přidavku 3 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 1000x

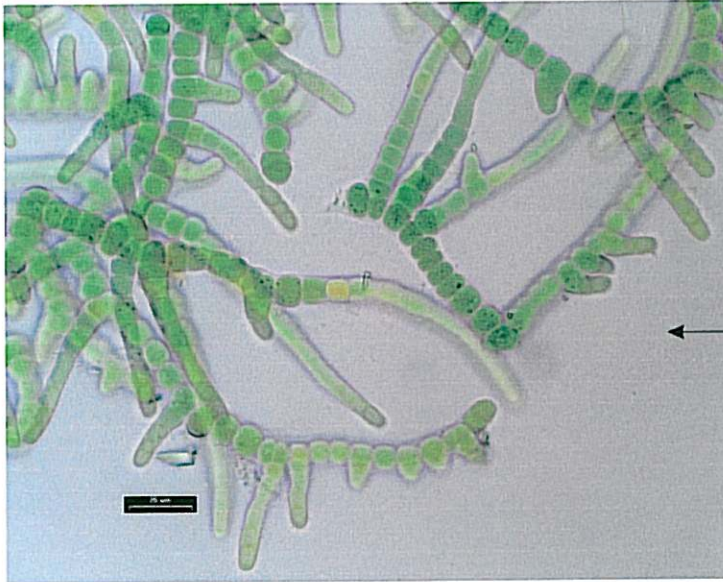
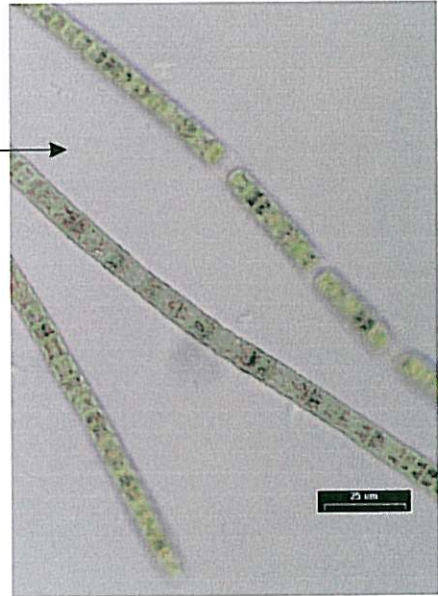


*Synechocystis cf. salina* v přidavku 40 g NaCl/l media BG 11; zvětšeno 1000x



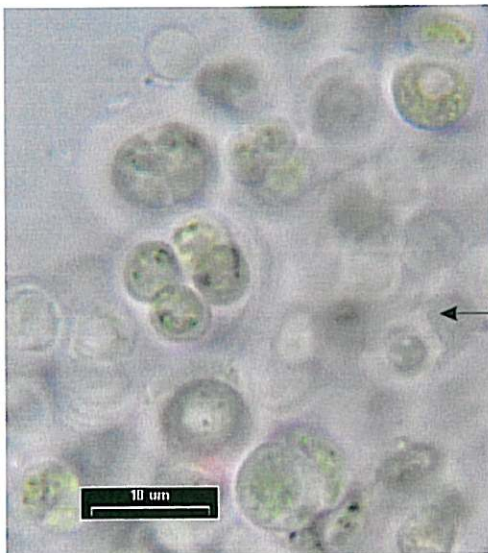
Příloha III: Fotografie-část B: ostatní kmeny

*Arthrospira fusiformis* (kmen HEGEWALD 1976/83)  
v přidavku 30 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 400x



*Fischerella tisserantii* (kmen KOMÁREK 1964/47)  
v přidavku 3 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 400x

*Nostoc* sp. (kmen V. FLECHNER/JT2-VF2)  
v přidavku 0,1 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 1000x



*Chroococidiopsis cubana* (kmen HINDÁK 1964/48)  
v přidavku 0,3 g NaCl/l media BG 11;  
zvětšeno 1000x

**Příloha IV: Tabulky, shrnutí - část A: hodnocení optimální koncentrace**

**Tab. 10:** Přehledné shrnutí výsledků hodnocení optimální koncentrace (OK)

kmen/medium	OK g/l(p.)		maximální extrém g/l(p.)		poznámky
	Z	BG	Z	BG	
I	3	N	(10-30)	(10-30)	Medium Z: 10g/l(p.) možná aklimatizace
II	(1-)30	30 (-40)	(30-100)	(30-100) (60-100)	
III	3	N	(30-100)	(30-100)	Medium BG: 0 g/l(p.) o něco nižší OD než v dalších koncentracích Medium Z: nejednoznačné výsledky
IV	3	10 (13-15)	10-30	(20-)30	Medium BG: 10g/l(p.) možná aklimatizace
V	0,3-1	0	3	10-30	
VII	3	N	10	(10-30)	Medium BG: 0 g/l(p.) nižší OD než v dalších koncentracích
VIII	(3-)30	N	(30-100)	(40-100)	Medium BG: 0 a 0,01 g/l(p.) nižší OD než v dalších koncentracích; 35 a 40 g/l(p.) možná aklimatizace
IX	3	N	10-30	10-30	Medium BG: 0 a 0,01 g/l(p.) nižší OD než v dalších koncentracích

Vysvětlivky: N- nelze přesně určit; (x)- hodnoty vyplývající z doplňujících gradientů; (x)-  
hodnota, která je pravděpodobná, ale ne zcela jistá; (x-y)- hodnoty, mezi nimiž se nachází  
hodnota maximálního extrému

**Příloha IV: Tabulky, shrnutí - část B: studium morfologie**

**Tab. 11:** shrnutí morfologických parametrů *Arthronema africanum* kmen LUKAVSKÝ 1980/1

<i>Arthronema africanum</i>	Délka vlákna (μm)		Šířka vlákna (μm)		Počet involučních buněk/50 μm vlákna		Shrnutí	poznámky
	průměr (mean)	SD	průměr (mean)	SD	průměr (mean)	SD		
MIN 0 g/l(p.)	<b>75,45</b>	82,89	<b>1,42</b>	0,2	0,6 => <b>1</b>	0.72	Vlákna kratší a užší	
OPT 0,03 g/l(p.)	<b>65,11</b>	62,87	<b>1,48</b>	0,27	0,73 => <b>1</b>	0.78	Vlákna podobná MIN	
MAX 10 g/l(p.)	<b>119,45</b>	103,86	<b>2,68</b>	0,22	0.2 => <b>0</b>	0.41	Vlákna delší a širší s malým počtem involučních buněk	Buňky deformované, někdy vlákna spirálně stočená

**Tab. 12:** shrnutí morfologických parametrů *Arthrospira* sp. kmen COMPERE 1968/3786

<i>Arthrospira</i> sp.	Délka vlákna	Šířka vlákna (μm)		Počet závitů/vlákno		Shrnutí	poznámky
		průměr (mean)	SD	průměr (mean)	SD		
MIN 0 g/l(p.)	-	<b>7,65</b>	0,93	5,07 => <b>5</b>	2,62	Vlákna užší, se závitů	
OPT 30 g/l(p.)	<b>84%</b> delší než 1000 μm	<b>8,05</b>	0,83	<b>0</b>		Vlákna delší, méně rozpadavá	
MAX 60 g/l(p.)	<b>67%</b> delší než 1000 μm	<b>8,75</b>	0,84	<b>0</b>		Vlákna kratší a o něco širší, rozpadavější	

**Příloha IV: Tabulky-část B: studium morfologie**

**Tab. 13:** shrnutí morfologických parametrů *Anabaena torulosa* kmen JAHNKE/1c

<i>Anabaena torulosa</i>	Délka vlákna ( $\mu\text{m}$ )		Šířka vlákna ( $\mu\text{m}$ )		Délka buňky ( $\mu\text{m}$ )		Shrnutí	poznámky
	průměr (mean)	SD	průměr (mean)	SD	průměr (mean)	SD		
MIN 0 g/l(p.)	<b>226,94</b>	238,54	<b>3,82</b>	0,65	<b>4,09</b>	1,02	Vlákna středně dlouhá o něco širší s nejkratšími buňkami, rozpadává	disperzní sliz
OPT 13 g/l(p.)	<b>163,2</b>	127,82	<b>3,65</b>	0,49	<b>4,21</b>	0,91	Vlákna krátká, ale méně rozpadává se středně dlouhými buňkami	Disperzní sliz, některé buňky mírně deformované
MAX 20 g/l(p.)	<b>264,28</b>	233,02	<b>3,63</b>	0,52	<b>4,54</b>	0,93	Vlákna nejdelší, ale rozpadává s nejdelšími buňkami	Kompaktní sliz, mnoho deformovaných buněk, hromadění inkluzí

**Tab. 14:** shrnutí morfologických parametrů *Synechocystis cf. salina* kmen MARKLE/1430-3

<i>Synechocystis cf. salina</i>	Průměr buňky ( $\mu\text{m}$ )		Počet dělicích se buněk (%)	Shrnutí	poznámky
	průměr (mean)	SD			
MIN 0 g/l(p.)	<b>1,74</b>	0,3	27,5	Buňky středně velké, nejméně se dělí	
OPT 3 g/l(p.)	<b>1,88</b>	0,31	31,5	Buňky největší, dělí se o něco více než v MIN	
MAX 40 g/l(p.)	<b>1,63</b>	0,24	45,5	Buňky nejmenší, nejvíce se dělí.	