

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

---



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Fotosyntetická aktivita fytoplanktonu eutrofních vod**

Studijní obor: Agroekologie  
Katedra: Agroekologie  
Laboratoř aplikované ekologie

**Vypracovala**  
**Blanka Tesařová**

**Vedoucí práce**  
**doc. RNDr. Libor Pechar, CSc.**

**České Budějovice 2008**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, s použitím literárních zdrojů uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, v souladu s § 47b, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce v nezkrácené podobě ve veřejně přístupné části databáze STAG, kterou provozuje na svých webových stránkách Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.

Dne 17.dubna 2008 v Českých Budějovicích

.....  
Blanka Tesařová

Přednostně bych chtěla poděkovat vedoucímu této bakalářské práce, doc. RNDr. Liboru Pecharovi, CSc., za odbornou pomoc, cenné rady a za velkou trpělivost.

Dále chci poděkovat Mgr. Elišce Zapomělové za poskytnutí kultur sinic, které byly použité pro hodnocení v této práci, a za poskytnutí mikroskopických fotografií stejných kultur.

Také děkuji Ing. Janu Potužákovi za poskytnutí fotografické dokumentace k experimentům s přirozenými populacemi fytoplanktonu.

## Summary

Photosynthesis was measured in several natural populations and cultivated strains of cyanobacteria. In the natural fishpond phytoplankton species of the *Microcystis* genus and small  $\mu$ -cyanobacteria were dominated. *Anabaena mendotae* and *Anabaena lemmermannii*, different cultivated strains were selected for photosynthesis measurements. Photosynthesis was estimated as an oxygen evolution in Illuminova (Sweden AB) light pipetting system. During the experiment the oxygen concentration, temperature and photon flux density were detected automatically and registered in computer. Results were evaluated as Photosynthesis-Irradiance (P-I) response curves. Altogether 13 experiments were performed. In the natural cyanobacterial populations as well as in the cultivated strains the results confirmed high efficiency of photosynthesis in low irradiances. In some natural waterbloom-forming populations of *Microcystis* the results demonstrated also the high photosynthetic performance in high irradiances. It is evident that these cyanobacteria are able to avoid damage to the photosynthetic apparatus in photooxidative conditions. These findings probably reflect the mechanism by which cyanobacteria outcompete chlorococcal algae in the shallow eutrophic water bodies.

## Souhrn

U přirozených populací sinic a sinicových kmenů z kultur byla sledována fotosyntéza. Ve vzorcích přirozeného rybnického fytoplanktonu převládaly druhy rodu *Microcystis* a drobné  $\mu$ -cyanobakterie. Z kultur byly pro experimenty vybrány různé kmeny *Anabaena mendotae* a *Anabaena lemmermannii*. Fotosyntéza byla měřena jako rychlost produkce kyslíku s využitím zařízení Illuminova (Sweden AB) umožňující řídit světelný režim v experimentu. Během měření jsou kontinuálně zaznamenávána data o koncentraci kyslíku, teplotě a intenzitě světla a následně odeslána do počítače. Výsledky byly vyhodnoceny jako závislost fotosyntetické aktivity na intenzitě ozáření (P-I křivky). Celkem bylo uskutečněno 13 experimentů. U přirozených populací, stejně jako u kultivovaných kmenů sinic byla zjištěna vysoká fotosyntetická účinnost při nízkých ozářeních. V některých případech u přirozených populací sinic, které vytvářejí vodní květ, jako jsou druhy rodu *Microcystis*, výsledky ukázaly také vysokou fotosyntézu i při silných intenzitách světla. Je zřejmé, že tyto sinice jsou schopné zabránit poškození fotosyntetického aparátu i v situacích, kdy hrozí fotooxidace (fotoinhibice). Tyto závěry ukazují na možný mechanismus, který umožňuje sinicím zvítězit v konkurenci nad chlorokokálními řasami v mělkých eutrofních vodních nádržích.

# Obsah

<b>1. Úvod</b>	<b>6</b>
<b>2. Fytoplankton eutrofních vod</b>	<b>7</b>
2.1. Vývoj eutrofizace vod	7
2.2. Důsledky eutrofizace	7
2.3. Význam sinic ve vodním květu	8
2.4. Rozvoj vodního květu sinic, toxiny	8
2.5. Fotosyntéza a její význam pro vodní prostředí	9
2.6. Fotosyntéza ve vztahu k průhlednosti vody	11
2.7. Přizpůsobení sinic ke světelným podmínkám	12
2.8. Popis P-I křivky	12
2.9. Primární produkce a měření fotosyntetické aktivity	14
<b>3. Metodika</b>	<b>16</b>
3.1. Zvolená metoda pro měření fotosyntetické aktivity	16
3.2. Měřicí zařízení	16
3.3. Primární data a datové soubory	17
3.4. Prokládání P-I křivky	20
3.5. Úprava vzorků, základní suspenze	20
3.6. Odběr vzorků	22
3.7. Úprava vzorků v laboratoři	22
3.8. Kultury sinic	22
3.9. Další měřené charakteristiky	22
3.10. Fixace vzorku	23
3.11. Nepřesnost v měření	23
<b>4. Výsledky a diskuze</b>	<b>24</b>
4.1. Měřené vzorky	24
4.2. rozdělení vzorků	25
4.3. Parametry fotosyntetické aktivity	26
4.4. Srovnání fotosyntetické aktivity	27
4.5. Fotosyntetická aktivita jednotlivých skupin	29
4.6. Přizpůsobení fytoplanktonu světelným podmínkám	34
<b>5. Závěry</b>	<b>38</b>
<b>6. Seznam použité literatury</b>	<b>39</b>
<b>7. Přílohy 1 až 4</b>	

# 1. Úvod

Zvyšující se trofie povrchových vod má za následek zhoršení funkcí ekosystému v důsledku nízké kvality vody. Kvalitu vody a využívání povrchových a podzemních vod proto řeší legislativa České republiky. S plánovaným vstupem do Evropské unie vznikl nový vodní zákon (zákon 254/2001 Sb., o vodách a změně některých zákonů). Tento zákon již vychází z rámcové směrnice vydané roku 2000 (Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/EC ustavující rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky). Rámcová směrnice byla pro Českou republiku implementována v roce 2004 a v platnosti bude do roku 2027. Za tuto dobu by se v několika krocích měla výrazně zvýšit kvalita vody v celém Evropském společenství. Jedním z cílů Rámcové směrnice o vodách je dosáhnout dobrého chemického a ekologického stavu vodních útvarů. Rybníky, ať už v soustavách, nebo jako samostatné vodní útvary (s rozlohou na 50 ha) představují významné prvky v hydrologickém systému naší republiky. Dobrý chemický a ekologický stav rybníků lze jen obtížně odvozovat od referenčních lokalit, jako jsou například jezera. Specifické funkce (rybářské hospodaření) i místní poměry jednotlivých rybníčních soustav vyžadují samostatný přístup k řešení těchto otázek.

Studium fytoplanktonu a jeho životních projevů v různých podmínkách je proto nezbytné pro porozumění mechanismů, které určují ekologický stav vodních nádrží. Světelné podmínky ve vodním prostředí jsou společně s množstvím dostupných živin, teplotou a promícháváním vodního sloupce klíčové pro rozvoj primárních producentů, hlavně fytoplanktonu. Ten svou aktivitou (fotosyntéza, respirace a primární produkce) významně ovlivňuje fyzikálně-chemické podmínky ve vodě. Fytoplankton tak určuje strukturu a velikost biomasy dalších složek planktonu a následně i populace ryb. Jednou z aktuálních otázek, jak pro ekologii vodních nádrží, tak pro vodní hospodářství, je reakce fytoplanktonu na zvyšující se eutrofizaci vod. Reakce fytoplanktonu na změny podmínek vodního prostředí lze pozorovat na úrovni přizpůsobení fotosyntetické aktivity. Fotosyntetické charakteristiky mohou vypovídat o schopnosti jednotlivých taxonomických skupin sinic a řas přizpůsobit se novým podmínkám a být ekologicky úspěšné. Zároveň znalost základních parametrů fotosyntetické aktivity, znalost možného rozsahu variability, jsou předpokladem pro účinné odhady potenciální primární produkce a celkové funkce rybníčního ekosystému.

A proto cíle této práce jsou:

1. popsat fotosyntetickou aktivitu vybraných druhů sinic, které jsou schopné vytvořit vodní květ v eutrofních vodách
2. porovnat přirozené populace sinic s kultivovanými kmeny pomocí závislosti fotosyntetické aktivity na ozáření
3. stanovit průměrné hodnoty a rozsah variability fotosyntetických parametrů

## 2. Fytoplankton eutrofních vod

### 2.1. Vývoj eutrofizace vod

Podle množství živin, které jsou ve vodě rozpuštěné, se dělí stojaté i tekoucí vody na oligotrofní, mezotrofní a eutrofní. Původně se většina povrchové vody na našem území nacházela v oligotrofním a mezotrofním stupni. S rozvojem lidské populace a rozvojem lidských sídel se začalo do vodního prostředí dostávat větší množství živin (Štěpánek et al. 1978, Eiseltová 1994, Janda, Pechar et al. 1996).

Další vliv na vzrůstající úživnost povrchových vod měl rozvoj zemědělství a zvyšující se produkce ryb, narůstající množství produkovaných odpadů z domácností, průmyslu i zemědělství.

Důsledkem zemědělské činnosti byl další nárůst živin ve vodě, protože docházelo k proplachování půdního profilu zemědělsky obhospodařovaných ploch a odnosu živin dodávaných do půdy především ve formě anorganických hnojiv. Do vody se tak dostalo vysoké množství sloučenin biogenních prvků, hlavně dusíku a fosforu. Hrbáček (1981) uvádí, že hlavním zdrojem dusíku obsaženého v povrchových vodách, je právě aplikace minerálních hnojiv.

Zvláštním případem je záměrná eutrofizace rybníků. Při zvyšování produkce ryb bylo nutné zajistit vyšší koncentraci živin ve vodě, aby docházelo k růstu biomasy fytoplanktonu, především jednobuněčných řas, které jsou potravním zdrojem pro zooplankton. Zvyšování koncentrace živin se zajišťovalo hospodářskými opatřeními jako je letnění rybníků a pastva na osetém dně, později i aplikací animálních hnojiv do vodního prostředí (Pechar et al. 2002).

Především zvyšování koncentrace fosforu, který je pro růst rostlinné biomasy limitním prvkem, je hlavní příčinou nadměrného růstu sinic, řas a submerzní makrovegetace. Nejvyšší koncentrace sloučenin fosforu, které se dostávaly do povrchových vod, byly zjištěny z vod odpadních (Hrbáček 1981). Rychlý růst biomasy fytoplanktonu se projevil negativně hned v několika důsledcích.

### 2.2. Důsledky eutrofizace

Vysoké množství fotosynteticky aktivních organismů v denních hodinách produkuje vysoké množství kyslíku. V noci a v časných ranních hodinách ale dochází k výrazným kyslíkovým deficitům. Ty mohou vést k úhynu aerobních vodních organismů. K ekonomickým ztrátám dochází především při úhynu rybí obsádky (Hartman et al. 2005).

S růstem biomasy se spotřebovávají živiny pro vznik nových buněk. Mezi ně patří i rozpuštěné formy uhlíku, které jsou využívány pro fotosyntézu. Vysoká fixace rozpuštěného oxidu uhličitého vede k posunutí hydrogenuhličitanové rovnováhy ve prospěch iontů  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{CO}_3^{2-}$  na úkor rozpuštěného  $\text{CO}_2$ . Důsledkem je zvyšování pH vody, které může překročit i hodnoty  $\text{pH}=10$  (Hejný 2000).

Se zvyšujícím se pH se snižuje poměr amonných kationtů ( $\text{NH}_4^+$ ) ve prospěch toxické molekuly čpavku ( $\text{NH}_3$ ). Negativní důsledek zvýšení koncentrace rozpuštěného amoniaku je v agresivitě vůči rostlinným pletivům a živočišným tkáním. To vede např. k

porušování jemného aparátu žaber u ryb. Postižená místa jsou pak náchylná k nekrozním onemocněním, k napadení parazity a mikroby, což vede ke snížení imunitního systému nebo až k úhynu.

Všechny tyto změny vedou k destabilizaci vodního ekosystému, ke snižování druhové diverzity a k úhynu rostlinných i živočišných organismů. S rozvojem vodního květu tvořeného sinicemi navíc dochází k uvolňování toxických látek do prostředí (Pechar et. al. 2002). Voda kontaminovaná tímto způsobem může po požití vést ke zdravotním problémům terestrických živočichů, kteří ji využívají jako zdroj pitné vody (Štěpánek et al 1978).

Vysoké koncentrace živin ve vodním prostředí způsobují ekologické problémy i v nivách řek a příbřežních částech. Dochází zde k výraznému rozvoji nitrofilní vegetace, která vytlačuje rostliny z původní druhové skladby a snižuje v těchto místech biodiverzitu rostlinných společenstev.

Odumření biomasy vede k její sedimentaci na dno vodní nádrže. Zde dochází k jejímu mikrobiálnímu rozkladu, který vede ke vzniku anaerobních podmínek u dna, k produkci methanu ( $\text{CH}_4$ ) a sulfanu ( $\text{H}_2\text{S}$ ).

### **2.3. Význam sinic ve vodním květu**

Planktonní sinice jsou během dlouhého evolučního vývoje velice dobře přizpůsobené životu ve vodě. Jejich rozšíření ve vodních nádržích je dáno vyšší konkurenční schopností než je u řas. Lepší využití podmínek umožňují vláknitým sinicím specializované buňky – akinety, heterocyty a aerotopy (Kalina, Váňa 2005).

Aerotopy jsou specializované buňky naplněné plynem. Sinice díky nim dokáží regulovat svou polohu ve vodním sloupci tak, že regulují množství aerotopů ([www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz)).

Tím, že sinice regulují svou polohu ve vodním sloupci a navazují vzdušný dusík za pomoci heterocytů, mají lepší podmínky pro masivní rozvoj než řasy. Přítomnost akinet umožňuje i rychlý rozvoj biomasy po zimním období (Hindák, 1978).

Pro sinice jsou typickými barvivy fykobiliproteiny – červené barvivo fykoerytrin a modrá barviva fykocyanin a allofykocyanin. Poměr těchto barviv v buňkách sinic není stabilní, ale mění se v závislosti na změně podmínek prostředí. Tomuto jevu se říká chromatická adaptace. Díky schopnosti chromatické adaptace se mohou sinice vyskytovat na místech, kde jsou světelné podmínky nepříznivé pro jiné skupiny fytoplanktonu (rychlá změna světelných podmínek, nedostatek nebo nadbytek záření) ([www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz)).

Pro planktonní živočichy nejsou sinice vhodnou potravou, protože tvoří velké kolonie. Ty jsou navíc obalené slizovým pouzdrem, což mnohem více znemožňuje využití sinic jako potravního zdroje.

### **2.4. Rozvoj vodního květu sinic, toxiny**

Jak již bylo uvedeno, správná funkce nádrží v důsledku eutrofizace je rozvojem biomasy fytoplanktonu a makrofyt výrazně narušena. Všechny skupiny fotosyntetizujících organismů se podílejí na značných výkyvech v cirkadiánním i sezónním měřítku. Avšak sinice jsou na rozdíl od řas i makrofyt schopné produkovat a do prostředí uvolňovat toxické látky (cyanotoxiny). Nádrže s výrazným rozvojem vodního květu sinic jsou zdravotně rizikové.



Toxické látky mohou způsobovat alergické reakce, které se projevují například vyrážkou. Nicméně jiné toxiny způsobují po proniknutí do těla významné zdravotní problémy, které vedou ke vzniku potíží trávicího traktu a k narušení činnosti jater. Ve většině případů se jedná o chronickou otravu. Cyanotoxiny ale mohou ovlivňovat funkčnost a činnost mnoha tkání a orgánů. Podle místa účinku se pak rozdělují do skupin, např. na dermatotoxiny, hepatotoxiny, neurotoxiny, toxiny působící na imunitní systém, ale i toxiny s mutagenními a teratogeními účinky.

Toxiny se ale také kumulují ve tkáních ryb a jejich účinek se pak přenáší potravním řetězcem. Jsou známy i úhyny vodního ptactva nebo hospodářských zvířat, která používala nádrž se silným rozvojem vodního květu jako zdroj pitné vody. Podle Maršálka (2002) ovlivňuje přítomnost sinic druhovou i věkovou skladbu společenstev, od fytoplanktonu přes zooplankton a bentos po ryby a obojživelníky.

Podle chemické povahy se cyanotoxiny dělí na cyklické peptidy, alkaloidy a lipopolysacharidy (Barsanti, Gualtieri 2006).

*Cyklické peptidy* jsou typické pro druhy *Microcystis*. Jsou termostabilní, odolné vůči oxidaci a hydrolýze. Často jsou příčinou poškození tkáně jater. Způsobují i problémy jako nechutenství, celková slabost, zvracení a průjemová onemocnění.

*Alkaloidy* působí na nervový systém. Dále mají nepříznivý vliv na trávicí soustavu, játra a pokožku. Neurotoxiny z této skupiny mohou vést k problémům s dýcháním, zkracování dechu a až k selhání dýchání.

Mezi *lipopolysacharidy* patří např. toxiny s negativním vlivem na buněčnou stěnu. Podobají se toxinům, které byly objeveny i u bakterií *Salmonella*, jen jsou méně jedovaté.

Problém, který představují toxiny cyanobakterií, si uvědomuje řada pracovišť, která se zabývají analýzou cyanotoxinů v povrchové vodě, pitné vodě, tkáních ryb a i vzorku biomasy sinic. V České republice se hodnocením kvality vody zabývají krajské hygienické stanice, které na základě monitoringu během sezóny vymezují lokality nevhodné pro rekreační činnost, kde probíhá koupání ([www.khscb.cz](http://www.khscb.cz)).

Vědecké pracoviště, které popularizuje problematiku ekotoxikologie sinic, je Centrum pro cyanobakterie a jejich toxiny. To zajišťuje i analýzy toxinů v biologických materiálech a v povrchových vodách ([www.sinice.cz](http://www.sinice.cz)).

Nutno podotknout, že byly objevené i cyanotoxiny, které jsou využitelné ve farmacii. Za tímto účelem se provádí izolace cyanotoxinů, které účinkují např. proti rozvoji nádorových onemocnění. V onkologii tak našel uplatnění rod sinic *Nostoc* (Maršálek 2002).

## **2.5. Fotosyntéza a její význam pro vodní prostředí**

Pro aerobní organismy je kyslík nenahraditelným dýchacím plynem. Do vodního prostředí se kyslík dostává z atmosféry, což má velký význam u tekoucích vod. U drobnějších toků s rychle tekoucí vodou je tímto způsobem zajištěno při dané teplotě 100% nasycení vody kyslíkem. U stojatých vod je zdrojem kyslíku především proces fotosyntézy (Hartman et al 1998).

Fotosyntéza je biochemický proces přeměny sluneční energie na energii vázanou v chemických vazbách. Organismy schopné fotosyntézy (zelené rostliny, řasy, sinice a některé bakterie) obsahují chloroplasty s fotosyntetickými pigmenty. Hlavní fotosynteticky aktivní pigmenty jsou chlorofyly, z nichž nejdůležitější je chlorofyl-a, který je obsažen u

všech skupin fotosyntetizujících organismů (u bakterií bakteriochlorofyl). Další chlorofyly (b, c, d) se nacházejí jen u některých skupin. Tabulka 1.

Tabulka 1: Fotosyntetické pigmenty u jednotlivých skupin fotosyntetizujících organismů.

organismus	chlorofyly				karotenoidy	fykobiliproteiny
	a	b	c	d		
mechy a kapradiny	+	+	-	-	+	-
semenné rostliny	+	+	-	-	+	-
zelené řasy	+	+	-	-	+	-
eugleny	+	+	-	-	+	-
hnědé řasy	+	-	+	-	+	-
rozsivky	+	-	+	-	+	-
obrněnky	+	-	+	-	+	-
ruduchy	+	-	-	+	+	+
sinice	+	-	-	+	+	+

Viditelné světlo (VIS) je z celého světelného spektra energeticky nejbohatší. Ačkoli je interval vlnových délek VIS velice úzký (380-710 nm), spadá do něj asi 42% celkové energie dopadající na zemský povrch. Pro proces fotosyntézy je využito energie v rozmezí 400-700 nm. Toto záření se označuje jako fotosynteticky aktivní záření, pro které se běžně používá zkratky PhAR (Barsanti, Gualtieri, 2006).

Fotosyntetické pigmenty mají funkci světlosběrnou. Chlorofyly absorbují světelnou energii hlavně v modré a červené části spektra. Karotenoidy absorbují světelné záření v modré a fialové části spektra s maximem při vlnové délce okolo 500 nm. Karotenoidy mají, ještě kromě světlosběrné a transportní funkce (přenos energie na chlorofyl, přesněji na fotosystém II) také funkci ochranou. Chrání citlivý fotosyntetický aparát před poškozením v případě, kdy na něj dopadá více energie, než kterou je fotosyntetický aparát schopný zpracovat při probíhající fotosyntéze (Čížková 2006).

Fotosyntéza probíhá ve dvou fázích. Primární fáze fotosyntézy probíhá jen za přístupu světla, sekundární fáze není přímo na světle závislá, ale závisí na procesech primární fáze.

Primární fáze fotosyntézy probíhá na thylakoidních membránách uvnitř chloroplastů. K přeměně světelné energie dochází za pomoci chlorofylu-a, který se nachází ve fotosystému I a II (PS I, PS II). Pro optimální průběh fotosyntézy je nutné, aby docházelo k neustálému toku elektronů mezi oběma fotosystémy. Cílem primární fáze fotosyntézy je získat dostatek energie ve formě ATP a  $\text{NADPH}^+ + \text{H}^+$  pro navazující sekundární fázi. (Čížková 2006).

PS I je umístěný na thylakoidních membránách, které jsou v kontaktu se stromatem chloroplastů. Absorpční maximum PS I je při vlnové délce 700 nm. Fotosystém I je součástí děje zvaného jako cyklická fotofosforylace, která je spojena s tvorbou ATP (Čížková 2006).

PS II je umístěný na thylakoidních membránách, které nemají kontakt se stromatem chloroplastů. Jedná se o tzv. granální membrány. Ve fotosystému II je absorpční maximum

při vlnové délce 680 nm. S PS II je spojen komplex pro fotolýzu vody. PS II se s PS I zapojuje do necyklické fotofosforylace. Při fotolýze vody dochází k uvolňování kyslíku, ale především k uvolňování protonů.  $H^+$  ionty vytvářejí na thylakoidní membráně protonový gradient, který poskytuje energii pro tvorbu ATP (Čížková 2006).

S primární fází fotosyntézy je spojen i proces fluorescence chlorofylu. K vyzařování fluorescenčního záření dochází poté, kdy elektrony uvolněné z chlorofylu v excitovaném stavu projdou přes enzymatický redoxní řetězec a dostávají se zpět do základního stavu. Po ozáření chlorofylu světlem o jedné vlnové délce dochází za určitých podmínek k posunu, který se projeví vyzářením fluorescenčního světla o jiné vlnové délce. Podle Prášila (2003) pochází většina variabilní fluorescence z PS II (podíl asi 95%).

Sekundární fáze fotosyntézy probíhá ve stromatu chloroplastů. Pro pochody spojené s fixací  $CO_2$  a tvorbou sacharidů je využito molekul ATP a redukčních ekvivalentů NADPH, které byly vytvořené při primární fázi fotosyntézy.

Fixace oxidu uhličitého probíhá v Calvinově cyklu. V první fázi Calvinova cyklu dochází k fixaci  $CO_2$  v reakci, která je katalyzovaná enzymem Rubisco.  $CO_2$  se váže na pětiuhlíkatý monosacharid ribulóza-1,5-bisfosfát. Ve druhé fázi tak vzniká nestálá šestiuhlíkatá sloučenina, která je hydrolyzovaná na dvě molekuly kyseliny 3-fosfoglycerové. Kyselina 3-fosfoglycerová je za spotřeby NADPH redukována na 3-P-glyceraldehyd. Tento produkt je izomerizován, vzniká tak ketonická forma dihydroxyacetonfosfát. Molekula tohoto tříuhlíkatého sacharidu opouští Calvinův cyklus. Část molekul dihydroxyacetonfosfátu zůstává v chloroplastech, kde slouží jako substrát pro další metabolické procesy, k regeneraci enzymu Rubisco a k vytvoření zásobního škrobu jako rychlé energetické rezervy. Část přechází z chloroplastů do cytoplazmy buněk, kde se účastní syntetických reakcí (tvorba hexóz, aminokyselin). Ty jsou zdrojem ATP a NADH v reakcích glykolýzy a Krebsova cyklu. Zbylých pět molekul dihydroxyacetonfosfátu se dostává do třetí fáze v Calvinově cyklu, kde dochází k regeneraci enzymu Rubisco. Tím se cyklus uzavírá a dochází k jeho opakování (Čížková 2006).

## **2.6. Fotosyntéza ve vztahu k průhlednosti vody**

Primární fáze fotosyntézy je závislá na světelné energii. Světlo limituje fotosyntetickou aktivitu jak při jeho nedostatku, tak při nadbytku. Při nízké irradianci neprobíhá fotosyntéza maximální možnou rychlostí, protože reakční centra PS II nejsou zcela aktivována. Při expozici při vysoké irradianci pak dochází k inhibici fotosyntézy. Fytoplankton, který se nachází na vodní hladině nebo v těsné blízkosti hladiny, může být vystavený nejvyšší aktuální irradianci. Proto jeho fotosyntetická aktivita může být velice často nízká v důsledku světelné inhibice. Největší fotosyntetickou aktivitu vykazuje sladkovodní fytoplankton, který se nachází v hloubce 0,3-1,5 m.

Průhlednost vody se nejčastěji zjišťuje pomocí Secchiho desky. Eufotická vrstva je pak zhruba dvojnásobkem zjištěné průhlednosti vodního sloupce. V horských jezerech, která nejsou zatížena nadměrným růstem biomasy, se průhlednost vody pohybuje řádově v metrech (Hejný et al. 2000). Podle měření na třeboňských rybnících, která prováděla Čerovská (1997), se průhlednost vody pohybovala v průměru okolo 0,5 m.

Světelné poměry ve vodním prostředí jsou ovlivněny mnoha faktory. Důležitými faktory jsou množství dopadajícího světla, úhel pod kterým světlo dopadá na vodní hladinu, který určuje, jaké množství světla se odrazí od hladiny, a množství světla, které pronikne do vodního prostředí. Ve vodě pak určuje další podmínky pro pronikání světla

koncentrace chlorofylu-a, velikost partikulí a jejich rozmístění v prostoru. Vlastnosti světla, které prochází vodou, se mění v závislosti na hloubce. Velký vliv hraje i koncentrace partikulí, které způsobují rozptyl a pohlcování světelné energie.

Čeřovská (1997) zjistila, že hloubku eufotické vrstvy výrazně ovlivňuje nahromaděná biomasa sinic na vodní hladině. Světelná intenzita se ve vodním sloupci snižuje podle exponenciálního vztahu, zpočátku klesá rychle, později už jen velice mírně. Nicméně tím se výrazně snižuje hloubka eufotické vrstvy, což umožňuje průběh fotosyntézy v menším objemu vody. Toto horizontální členění není ale na celé vodní hladině rovnoměrné. Především v letním období vytvářejí sinice na hladině shluky. To může být ovlivněno větrem, ale i přítokem a odtokem vody z nádrže (Hindák et al. 1978).

I při vyšší koncentraci stanoveného chlorofylu-a může být průhlednost vody vyšší. Takovou situaci popisuje Čeřovská (1997) při pozorování lokalit, kde sinice *Aphanizomenon flos-aquae* vytváří velké kolonie.

## **2.7. Přizpůsobení sinic ke světelným podmínkám**

Sinice jsou vývojově velice starou skupinou organismů (asi 3,5 mil. let). Za tuto dobu si vytvořily mechanismy, díky kterým se dokázaly rozšířit do všech biotopů na Zemi a obsadily tak i biotopy s velice extrémními podmínkami pro život. Rozšíření jim také umožňovala jejich jednoduchá buněčná stavba.

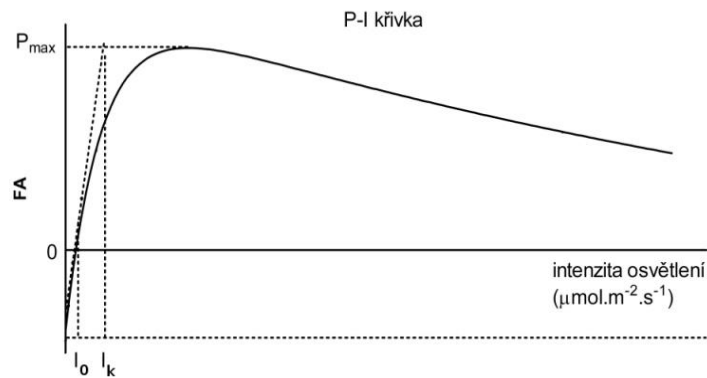
Velice zásadní je adaptace na měnící se světelné podmínky. Ohledně světelných podmínek mají sinice velice širokou ekologickou valenci. Tu jim umožňuje dříve zmíněná chromatická adaptace, velikost a tvar buněk a kolonií, ale i specializované aerotopy ([www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz)).

## **2.8. Popis P-I křivky**

Pro matematické vyjádření fotosyntetické aktivity jako produkce kyslíku se používají tzv. P - I křivky (Photosynthesis-irradiance response curves). Základní popis P-I křivky vyžaduje pro vyjádření světelného saturačního efektu matematický model pro nelineární funkci. Pro popis měnícího se průběhu P-I křivky se používají formální matematické modely odvozené od základních matematických funkcí (exponenciální, kvadratická, hyperbolická). Tyto funkce a jejich využití případně nevýhody analyzují Straškraba a Gnauck (1983). Někteří autoři používají modely odvozené z analýzy biofyzikálních procesů při fotosyntéze. Tyto tzv. funkční modely využívají jako základ pro popis závislosti fotosyntézy na světle složitější vztahy, jakým je např. hyperbolický tangens.

Grafické znázornění P-I křivky ukazuje, jak se mění fotosyntetická aktivita v závislosti na intenzitě osvětlení. Průběh P-I křivky je popsán ve třech stupních, které závisí na několika limitních faktorech. Tři oblasti P-I křivky se rozlišují na:

1. světelně limitovanou část, kde  $I_0$  je kompenzační bod a  $I_k$  je počátek světelné saturace
2. světelně saturovanou část, kde  $P_{max}$  je maximální rychlost fotosyntézy, fotosyntetická kapacita
3. světelně inhibovanou část



Obrázek 1: Obecné schema P-I křivky

### 2.8.1. Světelně limitovaná část P-I křivky

Při nízkých hodnotách irradiance je fotosyntéza přímo úměrná intenzitě světla. V této oblasti křivky je množství dostupného světla nedostačující k tomu, aby fotosyntéza probíhala maximální možnou rychlostí. Při nejnižších hodnotách irradiance převažuje buněčná respirace nad fotosyntetickou produkcí kyslíku. V tzv. kompenzačním bodě dochází k vyrovnání respirace s produkcí kyslíku. Tento bod je průnikem P-I křivky s osou x, v obrázku 1 je označený jako bod I<sub>0</sub>. To je také důvod, proč neprochází P-I křivka počátkem grafu. Pro druhy sinic v mělkých nádržích se kompenzační bod pohybuje okolo 10 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Pro druhy v hlubších nádržích jsou pak hodnoty kompenzačních bodů nižší. P-I křivka v první, světelně limitované části má lineární charakter (Barsanti, Gualtieri 2006).

### 2.8.2. Světelně saturovaná část P-I křivky

Světlem saturovaná část P-I křivky závisí především na počtu chloroplastů nebo samotných thylakoidů v buňkách a na rychlosti přenosu elektronů v reakčním centru fotosystému II. Se vzrůstající irradiancí vzrůstá i produkce molekul ATP a NADPH. Fotosyntéza vzrůstá již nelineárně až je dosažena maximální fotosyntetická aktivita (P<sub>max</sub>). Saturační bod (I<sub>k</sub>) vymezuje hranici, kdy je během primární fáze fotosyntézy vytvořeno více molekul ATP a NADPH, než se spotřebuje při reakcích během sekundární fáze (Barsanti, Gualtieri 2006).

### 2.8.3. Světelně inhibovaná část P-I křivky

Ke světelné inhibici může docházet po dalším zvýšení irradiance nad světelnou saturaci. V takovém případě dochází ke snížení rychlosti fotosyntézy v důsledku přetrvávající expozice. K fotoinhibici dochází proto, že se sníží fotochemická efektivita PSII a tedy i produkce kyslíku. Se vzrůstající irradiancí dochází k nadměrnému přísunu fotonů na fotosyntetický aparát. Vysoké množství energie, kterou fotony přenášejí, mohou vést k nevratnému poškození fotosyntetického aparátu (Barsanti, Gualtieri 2006).

K fotorespiraci dochází pouze při vystavení materiálu vysokým intenzitám osvětlení. Spotřeba kyslíku při fotorespiraci může dosáhnout dvacetinásobku spotřeby spojené s respirací ve tmě. Během procesu fotorespirace dochází k syntéze sloučenin o vyšší molekulární hmotnosti, např. polysacharidů (Straškraba, Gnauck 1983).

## 2.9. Primární produkce a měření fotosyntetické aktivity

S růstem biomasy fytoplanktonu se mění různé charakteristiky vodního prostředí. Dochází ke změnám v pH, změnám v koncentraci rozpuštěných látek, v produkci kyslíku a ve spotřebě rozpuštěného oxidu uhličitého. Přírůstek biomasy sám o sobě je těžko změřitelný. Proto se pro určení růstu biomasy využívají právě změny jiných charakteristik v čase.

Málo citlivá je metoda změny pH. Proto se pro určení růstu biomasy používá měření produkce kyslíku nebo měření spotřeby CO<sub>2</sub>. Dá se využít měření ve volné vodě nebo měření v uzavřeném objemu. Měření ve volné vodě je náročnější, protože dochází k výměně plynů mezi vodou a atmosférou (Hindák et al. 1978).

### 2.9.1. Měření fluorescence chlorofylu

Metoda variabilní fluorescence je používána při základním výzkumu fotosyntézy. Umožňuje sledovat změny ve fotosyntetické aktivitě a to jak u drobných fytoplanktonních buněčných struktur, tak u celých ekosystémů terestrických rostlin.

Světelná energie, kterou zachytí molekuly chlorofylu-a je využita pro fotosyntézu nebo je přeměněna v tepelnou energii nebo je vyzářena jako fluorescence. Mezi těmito způsoby nakládání s energií není ustálená rovnováha, ale mění se podle podmínek prostředí. Účinnost fluorescence je poměrně malá, dosahuje asi 1-5% z energie pohlcené chlorofylem-a (Prášil 2003).

Chlorofyl-a vyzařuje světlo pouze v červené oblasti spektra, kde již nedochází k absorpci světla jinými chlorofyly ani dalšími pigmenty. Principiálně je tedy měření variabilní fluorescence poměrně jednoduché. Variabilní fluorescence je zdrojem informací o procesech, které probíhají na PS II. Tímto způsobem se dá zjistit, v jaké míře je využita světelná energie v PS II nebo v jakém funkčním stavu se PS II nachází (Prášil 2003).

### 2.9.2. Měření produkce kyslíku

Další vhodnou metodou pro zjišťování rychlosti fotosyntézy je produkce kyslíku. Ta se nejčastěji zjišťuje elektrochemickými metodami. Nejvíce jsou využívána čidla Clarkova typu, často označovaná i jako kyslíkové elektrody. Čidla jsou tvořena dvěma elektrodami, které jsou ve společném elektrolytu. Elektrody jsou od roztoku oddělené membránou, která je propustná jen pro plyny, nikoli pro molekuly vody či ionty v ní rozpuštěné (Dykyjová et al. 1989). Měření kyslíku rozpuštěného ve vodě může být jednorázové nebo může být zaznamenáváno kontinuálně.

### 2.9.3. Metoda příjmu značeného uhlíku

Vytvoření metodiky pro přesné stanovování radioaktivních izotopů umožnilo využívání metody inkorporace uhlíku <sup>14</sup>C při měření produkčních procesů. Výhodou je dlouhý poločas rozpadu tohoto izotopu, který činí zhruba 5 700 let. Pro jeho zjištění je však třeba citlivé techniky, protože emitované β-částice mají nízkou energii. K experimentům se pak využívá směs izotopů <sup>12</sup>C a <sup>14</sup>C. Zjištěním množství fixovaného <sup>14</sup>C a znalostí poměru mezi oběma izotopy ve směsi se dá vypočítat celkové množství uhlíku, které bylo přijato za určitý čas na určitou hmotnost vzorku (Dykyjová et al. 1989).

#### 2.9.4. Měření změn v koncentraci oxidu uhličitého

Pro měření rychlosti fotosyntézy se používají změny v koncentraci oxidu uhličitého. Ačkoli je v atmosféře mnohem větší koncentrace kyslíku (21 obj. %) než oxidu uhličitého (0,03 obj. %) tyto hodnoty neodpovídají plynům rozpuštěným ve vodě. Ve vodě, která je nasycená vzduchem, mohou hodnoty rozpuštěného CO<sub>2</sub> dosahovat koncentrace několika miligramů (Hejný 2000).

Nicméně ve vodním prostředí mohou pro fotosyntézu makrofyta i fytoplankton využívat i ionty HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a proto tato metoda není pro měření primární produkce vhodná. V terestrickém prostředí je ale jedinou využitelnou formou uhlíku právě CO<sub>2</sub>, proto se zde tato metoda uplatňuje (Dykyjová et al. 1989).

## 3. Metodika

### 3.1. Zvolená metoda pro měření fotosyntetické aktivity

Z možných metod, které jsou používány pro měření fotosyntetické aktivity sinic, byla pro účely této práce zvolena metoda produkce kyslíku.

### 3.2. Měřicí zařízení

Měření zajišťovalo zařízení zvané *Illuminova (Illuminova's Light Dispensation System)* – počítačem řízený simulátor fotosynteticky aktivní radiace (PhAR). Umožňuje měření fotosyntetických charakteristik spojených s primární a sekundární fází fotosyntézy u metabolizujících buněk fytoplanktonu, stélek vláknitých řas nebo tkání makrofytní vegetace.

*Illuminova* se skládá ze tří částí – kontrolní jednotka, jednotka s termostatovanou měřicí komůrkou a jednotka se světelným zdrojem. Kontrolní jednotka je propojena s počítačem a světelným zdrojem (*Illuminova's Photosynthetic Light Dispenser*). Samotná měřicí komůrka je napojena na chladicí zařízení (příloha 1), které udržuje stabilní teplotu měřicí komůrky a tedy i měřeného vzorku.

#### 3.2.1. Kontrolní jednotka MK 2

Kontrolní jednotka je propojovací článek mezi čidly v měřicí komůrce a mezi počítačem. Přepínačem lze zajistit, zda bude intenzita světla (PFD1) dopadající na komůrku kontrolována počítačem nebo jestli bude změna intenzity řízená manuálně. Dále zajišťuje kalibraci kyslíkové elektrody na nulové a 100% nasycení kyslíkem.

#### 3.2.2. Jednotka s měřicí komůrkou

Tělo jednotky, na které je umístěná měřicí komůrka, je vyrobené z eloxovaného hliníku. Důvodem je udržení stálé teploty v průběhu experimentu a zabránění korodování materiálu.

Stabilní teplotu zajišťuje chladicí zařízení s rezervoárem na vodu. Tento rezervoár zároveň funguje jako ponorné chlazení pro vzorky a destilovanou vodu nebo jako zdroj vody o stabilní teplotě pro cirkulaci mezi chladicím zařízením a jednotkou s měřicí komůrkou.

Měřicí komůrka je speciálně vytvořená válcovitá kyveta o objemu cca 5 cm<sup>3</sup>. Na obvodové stěně kyvety se nachází malý otvor, který slouží k plnění kyvety vzorkem pomocí injekční stříkačky s úzkou hadičkou.

Na jednotce jsou umístěna dvě čidla pro zaznamenávání intenzity světla (PFD 2 z vnější kyvety, PFD 3 v měřicím prostoru) a jedno čidlo pro kontrolu teploty. Dále se zde nachází vstup pro kyslíkovou elektrodu a další vstup pro elektrodu měřící změny pH. Ve středu je otvor pro umístění míchadélka.



### 3.2.3. Kyslíková elektroda

Ke zjišťování koncentrace kyslíku se používá elektroda MI-730 vyráběná firmou Microelectrodes, Inc., USA, která je se zařízením Illuminova kompatibilní. Jedná se o stříbrnou elektrodu s teflonovou membránou, která je uzavřená v kovovém pouzdře.

### 3.2.4. Software CAMP

Pro potřeby zaznamenávání informací o naměřených hodnotách je k *Illuminově* používán software CAMP (*Computer-Assisted Monitoring of Photosynthesis*). Při každém experimentu je vždy naměřeno 600 hodnot. Vzhledem k tomu, že délku expozice určujeme volbou programu a že počet zaznamenaných hodnot je konstantní, dochází k prodlužování nebo zkracování intervalu mezi záznamem jednotlivých naměřených hodnot.

Pro naše experimenty byla zvolena hodinová expozice, tudíž záznam měřených hodnot probíhal v intervalu šesti sekund.

### 3.2.5. Světelný zdroj

Světelným zdrojem Illuminovy je část zařízení označená *Light pipette PLD-1*. Zdrojem světla je halogenová lampa umístěná v koncové části světelné pipety. Jelikož halogenová lampa vydává velké množství tepelné energie, existuje uvnitř světelné pipety účinný systém odvádění tepla, aby nedocházelo k zahřívání měřeného vzorku. Původní teplota svítící lampy (322 °C) je v místě kontaktu světla s měřicí komůrkou snížena na pouhých 24 °C. Pomocí optických filtrů je spektrální složení světla korigováno tak, aby se blížilo spektrálnímu složení slunečního PhAR.

Světelný zdroj je kosinově korigovaný, a proto na celou plochu kyvety dopadají světelné paprsky kolmo a tedy vytvářejí stejné světelné podmínky pro celou komůrku.

Změnu intenzity osvětlení zajišťuje rastr, perforovaný kotouč umístěný v dráze světelného paprsku uvnitř světelné pipety. Štěrbiny po celé ploše kotouče mají různou hustotu. Otáčením kotouče dochází ke změně intenzity osvětlení v intervalu 0-2000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Hodnota 2000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zhruba odpovídá maximálnímu množství energie, která dopadá na zemský povrch ve slunných letních dnech. Otáčení kotouče zajišťuje potenciometr, který je řízený manuálně (kontrolní jednotka) nebo počítačem.

## 3.3. Primární data, datové soubory

Informace získané měřením kyslíkovou elektrodou jsou přenášeny přes kontrolní jednotku do počítače. Zde se ukládají do adresáře CAMP 2A1 seřazené postupně podle názvu a data. Každému výsledkovému souboru se automaticky přiřazuje název ve tvaru campxx.run, kde xx představují čísla od 0 do 99. Taková data se dají otevřít v textových editorech jako je PSPad nebo Kate. V takové podobě ale nejsou použitelná pro další zpracování. Proto se data z formátu .run exportují do formátu .xls a dále se s nimi pracuje v tabulkovém procesoru Microsoft Excel. Obrázek 2.

Hlavička výsledkového souboru obsahuje základní informace o použitém programu (délka expozice) a přesné určení času, kdy bylo samotné měření započaté. Datum je ve formátu mm - dd - rrrr. V jednotlivých sloupcích výsledkového souboru jsou zaznamenané měřené charakteristiky. Tabulka 2.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	CAMP2.1 50-MINUTE PROGRAMMED PFD CONTROL											
2	Acquired Analog Input Data											
3	Date: 7-10-2007											
4	Initial Time: 13:20:36.79											
5	Run Time	PFD Ctrl	PFD1	PFD2	PFD3	PFD Abs	Agt	Temp	[O2]	d(O2)/dt	pH	d(pH)/dt
6	Seconds	Volts	$\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	$\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	$\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	$\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	%	Deg Cels	%	%/s	pH Units	Units/s
7	0	0	3,5	-0,7	-0,7	4,2	17	19,43	85,16	14,22	12	2
8	6	0	3,5	-0,4	-0,5	4	17	19,43	85,13	7,11	12	1
9	12	0	3,5	-0,5	-0,4	3,9	17	19,43	85,1	4,74	12	0,67
10	18	0	3,5	-0,3	-0,5	4	17	19,43	85,11	3,55	12	0,5
11	24	0	3,5	-0,4	-0,3	3,8	17	19,43	85,12	2,84	12	0,4
12	30	0	3,5	-0,3	-0,5	4	17	19,43	85,09	0	12	0
13	36	0	3,5	-0,3	-0,6	4,1	17	19,43	85,09	0	12	0
14	42	0	3,5	-0,2	-0,5	4	17	19,43	85,09	0	12	0
15	48	0	3,5	-0,3	-0,5	4	17	19,43	85,07	0	12	0
16	54	0	3,5	-0,4	-0,5	4	17	19,43	85,06	0	12	0
17	60	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	85,09	0	12	0
18	66	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	85,09	0	12	0
19	72	0	3,5	-0,3	-0,6	4,1	17	19,43	85,05	0	12	0
20	78	0	3,5	-0,3	-0,7	4,2	17	19,43	85,04	0	12	0
21	84	0	3,5	-0,4	-0,6	4,1	17	19,43	85,02	0	12	0
22	90	0	3,5	-0,6	-0,6	4,1	17	19,43	85	0	12	0
23	96	0	3,5	-0,2	-0,6	4,1	17	19,43	84,96	0	12	0
24	102	0	3,5	-0,4	-0,6	4,1	17	19,43	85	0	12	0
25	108	0	3,5	-0,3	-0,6	4,1	17	19,43	85,01	0	12	0
26	114	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	85	0	12	0
27	120	0	3,5	-0,4	-0,6	4,1	17	19,43	85,02	0	12	0
28	126	0	3,5	-0,5	-0,6	4,1	17	19,43	85,03	0	12	0
29	132	0	3,5	-0,4	-0,5	4	17	19,43	85,03	0	12	0
30	138	0	3,5	-0,4	-0,4	3,9	17	19,43	85	0	12	0
31	144	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	85	0	12	0
32	150	0	3,5	-0,3	-0,6	4,1	17	19,43	85,02	0	12	0
33	156	0	3,5	-0,3	-0,5	4	17	19,43	84,96	0	12	0
34	162	0	3,5	-0,4	-0,6	4,1	17	19,43	84,97	0	12	0
35	168	0	3,5	-0,3	-0,6	4,1	17	19,43	85	0	12	0
36	174	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	84,98	0	12	0
37	180	0	3,5	-0,4	-0,7	4,2	17	19,43	84,96	0	12	0
38	186	0	3,5	-0,3	-0,4	3,9	17	19,43	84,98	0	12	0
39	192	0	3,5	-0,4	-0,5	4	17	19,43	84,97	0	12	0
40	198	0	3,5	-0,2	-0,6	4,1	17	19,43	84,96	0	12	0

Obrázek 2: Primární data vyexportovaná z formátu .run do .xls.

Tabulka 2: Popis souboru s primárními daty - k obrázku 2.

slopec	charakteristika	poznámka
A	časový průběh [s]	v intervalu po 6 sekundách
B	PFD Ctrl [Volt]	
C	PFD1 [ $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]	hodnoty podle tabulky 3
D	PFD2 [ $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]	
E	PFD3 [ $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]	
F	PFD Abs [ $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]	
G	rychlost míchání [%]	v rozmezí mezi 17-20%
H	teplota [°C]	konstantní po celou dobu měření
I	rozpuštěný kyslík [%]	celková koncentrace rozpuštěného O <sub>2</sub>
J	změna koncentrace kyslíku oproti předchozí měřené hodnotě [%/s]	relativní změna
K	pH	hodnoty pH nebyly měřené
L	změna pH oproti předchozí měřené hodnotě	relativní změna pH nebyla měřena

Pro základní zpracování jsou data zkopírována do předem připraveného excelovského souboru, který provádí automaticky potřebné výpočty. Obrázek 3.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Děje: 7-10	2007			Základní výpočty							
2	Lokalita:	Děrnář										
3	Material:	VK Microcyste										
4	Experiment:	FA07_01										
5												
6	Saturace 100% v mgO <sub>2</sub> /l:			8,64	Chlorofyl-a mg/l:	0,85	Drift elektrody %/hod:					-5
7	Teplota Deg Cels:			20			Drift increment %/s:					0
8	Run time	Run time	PFD1	PFD3	PFD Abs	Temp	[O <sub>2</sub> ]	[O <sub>2</sub> ]	[O <sub>2</sub> ]	P (FA)	P(FA)P-exp	P(FA)P-exp
9	Seconds	min	μE/m <sup>2</sup> /s	μE/m <sup>2</sup> /s	μE/m <sup>2</sup> /s	Deg Cels	%	mg/l	mg/l	mgO <sub>2</sub> /mgchl/hod		
10	0	0	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,16	14,22	7,36	4424,40	5205,18	
11	6	0,1	3,5	-0,5	4	19,43	85,14	7,11	7,36	2211,95	2602,29	
12	12	0,2	3,5	-0,4	3,9	19,43	85,12	4,74	7,36	1474,05	1734,18	
13	18	0,3	3,5	-0,5	4	19,43	85,14	3,56	7,36	1106,04	1301,22	
14	24	0,4	3,5	-0,3	3,8	19,43	85,15	2,84	7,36	884,85	1041,00	
15	30	0,5	3,5	-0,5	4	19,43	85,14	0	7,36	-0,19	-0,22	
16	36	0,6	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,14	0	7,36	-0,19	-0,22	
17	42	0,7	3,5	-0,5	4	19,43	85,15	0	7,36	0,43	0,51	
18	48	0,8	3,5	-0,5	4	19,43	85,15	0	7,36	-0,19	-0,22	
19	54	0,9	3,5	-0,5	4	19,43	85,15	0	7,36	-0,19	-0,22	
20	60	1	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,18	0	7,36	0,43	0,51	
21	66	1,1	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,18	0	7,36	0,43	0,51	
22	72	1,2	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,15	0	7,36	0,12	0,14	
23	78	1,3	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,15	0	7,36	0,12	0,14	over 5
24	84	1,4	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,14	0	7,36	-0,19	-0,22	over 10
25	90	1,5	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,12	0	7,36	-0,50	-0,59	-0,37
26	96	1,6	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,1	0	7,35	-0,81	-0,96	-0,37
27	102	1,7	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,14	0	7,36	-0,19	-0,22	-0,30
28	108	1,8	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,16	0	7,36	0,12	0,14	0,00
29	114	1,9	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,16	0	7,36	0,12	0,14	0,44
30	120	2	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,19	0	7,36	0,74	0,87	0,65
31	126	2,1	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,21	0	7,36	1,05	1,24	0,79
32	132	2,2	3,5	-0,5	4	19,43	85,21	0	7,36	0,74	0,87	0,80
33	138	2,3	3,5	-0,4	3,9	19,43	85,19	0	7,36	0,43	0,51	0,79
34	144	2,4	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,2	0	7,36	0,43	0,51	0,44
35	150	2,5	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,23	0	7,36	0,43	0,51	0,22
36	156	2,6	3,5	-0,5	4	19,43	85,2	0	7,36	-0,19	-0,22	0,22
37	162	2,7	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,2	0	7,36	-0,19	-0,22	0,14
38	168	2,8	3,5	-0,6	4,1	19,43	85,23	0	7,37	0,43	0,51	0,00
39	174	2,9	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,22	0	7,36	0,12	0,14	0,14
40	180	3	3,5	-0,7	4,2	19,43	85,21	0	7,36	-0,19	-0,22	0,29
41	186	3,1	3,5	-0,4	3,9	19,43	85,24	0	7,37	0,43	0,51	0,22

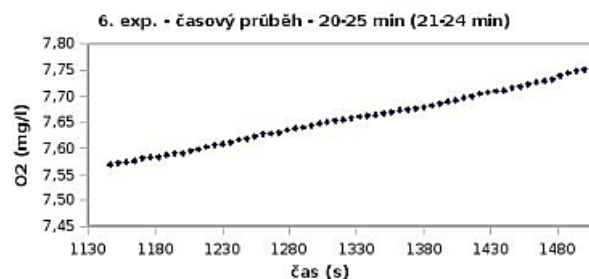
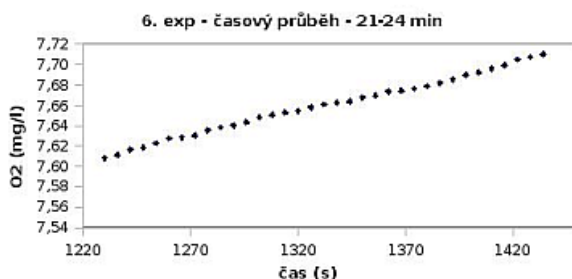
Obrázek 3: Soubor se základními výpočty.

V hlavičce souboru se základními výpočty se nachází informace o vzorku, který byl měřen. Jsou to: datum měření, označení experimentu, lokalita a druh sinic. V horní části tabulky se nachází informace o teplotě, při jaké experiment probíhal, o 100% saturaci kyslíkem při teplotě 20°C (8,64 mg O<sub>2</sub> .l<sup>-1</sup>). Také se zde zaznamenává hodnota koncentrace chlorofylu-a a případně i drift elektrody.

Výsledková tabulka se základními výpočty obsahuje: časový průběh v sekundách a minutách, hodnoty PFD1, PFD3, PFD Abs (μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>), teplotu (°C), koncentraci kyslíku (%; mg.l<sup>-1</sup>), relativní změnu v koncentraci kyslíku (%.s<sup>-1</sup>; mg.l<sup>-1</sup>.hod<sup>-1</sup>), rychlost fotosyntetické aktivity (mgO<sub>2</sub>.mgchl<sup>-1</sup>.hod<sup>-1</sup>) a hodnoty klouzavého průměru rychlosti fotosyntetické aktivity přes 5 a 10 hodnot.

Pro další výpočty a grafické znázornění se pracovalo s každým intervalem pro intenzitu osvětlení zvlášť. Ze čtyřminutové expozice, při každé intenzitě osvětlení, se pro výpočet nebraly v úvahu hodnoty během prvních 30 vteřin expozice (5 hodnot), protože tyto hodnoty nebyly ustálené a negativně by ovlivnily výsledek. Pro první a poslední interval (PFD1 = 0 μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) byly brány v úvahu pouze hodnoty v koncovém časovém úseku 2,5 minuty. Intervaly hodnot, se kterými se dále pracovalo jsou barevně odlišené.

Pro každý časový úsek byly vytvořené grafy, zaznamenávající závislost koncentrace rozpuštěného kyslíku na čase. První graf ukazuje pouze hodnoty spadající do intervalu expozice. Druhý graf zahrnuje minutový přesah na obě strany. Obrázek 4.



Obrázek 4: Průběh produkce kyslíku během čtyřminutové expozice. Na druhém obrázku s minutovým přesahem na obě strany.

### 3.4. Prokládání P-I křivky

Pro účely této práce byl k vyhodnocení fotosyntetické aktivity fytoplanktonu použit nelineární model pro P-I křivku podle Platt et al. (1980),

$$P = P_m T \cdot \left(1 - e^{-\frac{s \cdot I}{P_m T}}\right) \cdot \left(e^{-\frac{b \cdot I}{P_m T}}\right) - R$$

kde  $P$  je fotosyntetická aktivita,  $P_m T$  je maximální teoretická hodnota fotosyntetické aktivity,  $s$  je slope ( $\alpha$  – úhel, který svírá křivka s osou  $x$ ),  $I$  je irradiance,  $b$  je fotoinhibiční člen a  $R$  je respirace.

Pro proložení bodů křivkou byl použit statistický program GraphPad Prism 4.

### 3.5. Úprava vzorků, základní suspenze

Upravený vzorek (základní suspenze) je po řádném promíchání umístěn do měřicí komůrky o objemu cca 5 ml. Komůrka je termostatovaná, pro účely měření fotosyntetické aktivity byla v komůrce udržovaná stálá teplota 20°C.

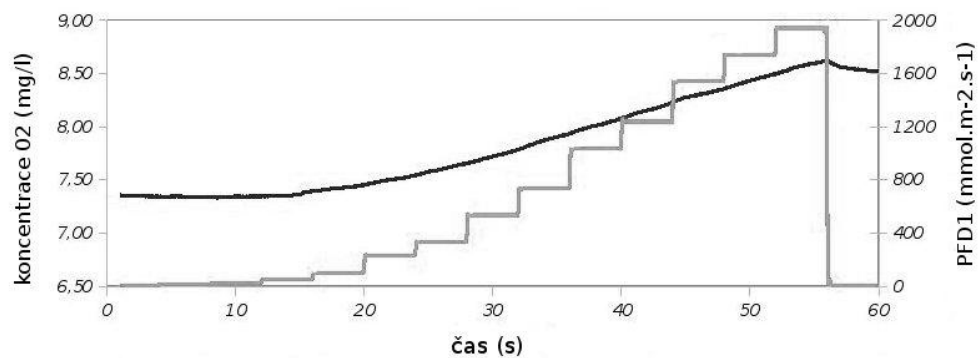
Před každým měřením byla kyslíková elektroda polarizována v destilované vodě po dobu cca 1 hodiny. Následovalo půlhodinové měření koncentrace rozpuštěného kyslíku v destilované vodě, která byla kyslíkem 100% nasycená.

Měření produkce kyslíku probíhalo podle zvoleného programu, jehož průběh byl řízený počítačem. Během hodinového měření docházelo ve čtyřminutových intervalech k postupnému navyšování hustoty proudu fotonů. Navyšování PFD (photon flux density) probíhalo podle tabulky 3. Grafické vyjádření průběhu měření je patrné z obrázku 5.

Tabulka 3: Časový průběh měření produkce kyslíku.

interval (min)	PFD ( $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )
1-4	0
5-8	10
9-12	20
13-16	50
17-20	100
21-24	230
25-28	330
29-32	530
33-36	730
37-40	1030
41-44	1230
45-48	1530
49-52	1740
53-56	1940
57-60	0

Změna koncentrace kyslíku při měnící se intenzitě osvětlení během hodinové expozice



Obrázek 5: Průběh PFD v čase. Černá křivka představuje koncentraci kyslíku a šedá křivka měnící se intenzitu ozáření (PFD).

### **3.6. Odběr vzorků**

Vzorky z rybníků byly odebírány v ranních hodinách do plastových lahví o objemu 2 litry z hladiny nádrže. Poté byly co nejrychleji převezeny k laboratornímu zpracování.

### **3.7. Úprava vzorků v laboratoři**

Pro měření fotosyntetické aktivity fytoplanktonu kyslíkovou elektrodou je „surový“ materiál získaný odběrem z lokality nevhodný z několika důvodů. Vzorek obsahuje organické nečistoty (detrit) a zooplankton. Jejich přítomnost je při měření nežádoucí, protože by docházelo ke zkreslování výsledků v důsledku respirace. Takový vzorek navíc obsahuje sinice v malých koncentracích. Produkce kyslíku je pod hranicí citlivosti elektrody.

Vzorky získané na eutrofních rybnících byly umístěny do plastové nálevky s kohoutkem. Nežádoucí detrit sedimentoval nebo se vznášel ve vodním sloupci, stejně jako drobný zooplankton. Životaschopné sinice vystoupily na hladinu, kde vytvořily kolonii. Po odpuštění spodní vrstvy z nálevky jsem získala zahuštěný vzorek sinic pro další použití. Takto upravený vzorek jsem přelila přes sítko z uhelonu (průměr ok v mřížce 325  $\mu\text{m}$ ). Tímto postupem byly odstraněny další složky zooplanktonu, např. perloočky (*Cladocera*) a větší agregáty sinic, které by způsobovaly nehomogenitu suspenze a měnily by světelné podmínky.

### **3.8. Kultury sinic**

Sbírkky kultur sinic jsou uchovávány na Hydrobiologickém ústavu AV ČR. Všechny kmeny, které jsou zde uchovávány jsou klonální. V klimatizované kultivační místnosti, která je sterilní, je udržována stálá teplota 22°C. Světelný režim zde simuluje podmínky letních dnů cyklem 16L/8D. Osvětlení je udržováno na hodnotě 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Jako živná média se používají dva typy – médium WC a médium BG11. Obvyklý objem kultury v Erlenmayerově baňce je asi 50-75 ml.

Pro účely této práce byly používány kultury pěstované na živném médiu WC. Objem kultury byl 150-170 ml (Barsanti, Gualtieri 2006).

### **3.9. Další měřené charakteristiky**

Pro každý vzorek byla z připravené základní suspenze měřena koncentrace chlorofylu-a, hmotnost sušiny, absorpční spektrum a absorbance při vlnové délce 664 nm.

Pro určování hmotnosti sušiny a koncentrace chlorofylu-a byla prováděná filtrace přes skleněné filtry GF/C. U každého vzorku byla provedena dvě měření (chl-a i sušina).

Koncentrace chlorofylu-a byla zjišťována metodou podle Pechara (1987, 1992a). Extrakčním činidlem byl směsný roztok methanolu a acetonu v poměru 1:5. Filtrační papír s buněčnými strukturami byl zamražen na cca 30 minut. Po přidání 7,2 cm<sup>3</sup> extrakčního činidla byla zkumavka ponořena na 2 minuty do kádinky s vodou o teplotě 65°C, při které došlo k varu extrakčního činidla. Následovalo rychlé zchlazení zkumavky pod tekoucí vodou. Odstředování probíhalo při teplotě 15°C, otáčkách 2700 ot./min po dobu 10 minut.

Absorbce byla zjišťována na spektrofotometru Helios-alfa, který ukládá měřená data do textového souboru v připojeném počítači. Spektrum bylo proměřené v rozsahu vlnových délek 400-740 nm. Měření absorbance při vlnové délce 664 nm bylo prováděno

jednou s extraktem bez okyselení (hodnoty  $A_0$ ) a jednou po okyselení roztokem 10% kyseliny chlorovodíkové (hodnoty  $A_A$ ). Z hodnot  $A_0$  a  $A_A$  pak byla vypočítána koncentrace chlorofylu v jednotkách  $\mu\text{g.l}^{-1}$  a poměr chlorofylu-a v živých fotosyntetizujících buňkách oproti degradačním produktům chlorofylu-a, které jsou neaktivní v důsledku rozpadu tetrapyrrolového jádra. Okyselením dochází k převedení veškerého chlorofylu-a na feofytin a feofobid (Dykyjová et al. 1989).

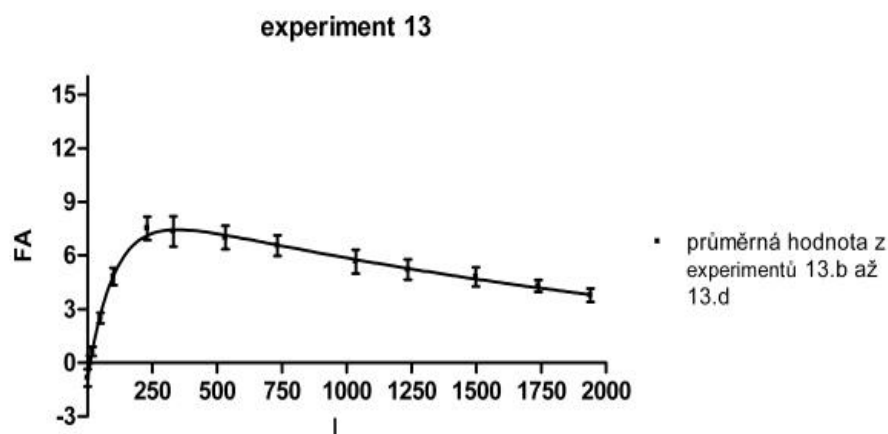
Část vzorku o známém objemu byla filtrována přes předem zvážený GF/C filtr. Sušení probíhalo po dobu 60 minut při teplotě  $60^\circ\text{C}$  (Pechar, 1992). V literatuře je pro stanovení hmotnosti sušiny uváděná teplota  $105^\circ\text{C}$  (Dykyjová a kol., 1989), ale při takto vysoké teplotě by u drobných buněčných struktur sinic došlo k porušení buněčné stěny a tedy i ke snížení hmotnosti v důsledku spálení protoplazmy. Při takto nízkých hmotnostech vzorků by to znamenalo vysoké ztráty.

### 3.10. Fixace vzorku

Pro pozdější určení druhů zastoupených ve vzorku z nádrže či rybníka byla část vzorku fixována Lugolovým roztokem.

### 3.11. Nepřesnost v měření

U experimentu 13 bylo provedeno opakované měření. Ze čtyř měření byla vybrána pro tři, která vykazovala podobnou fotosyntetickou aktivitu. Z průměrných fotosyntetické aktivity při dané ozáření byla vytvořena P-I křivka. Obrázek 6. Rozsah hodnot u jednotlivých bodů představuje směrodatnou odchylku.



Obrázek 6: Rozptyl hodnot fotosyntetické aktivity u experimentu 13, při opakovaném měření.

## 4. Výsledky a diskuze

### 4.1. Měřené vzorky

Fotosyntetická aktivita fytoplanktonu eutrofních vod byla měřena u dvou typů vzorků.

První skupinou byly vzorky přirozeného fytoplanktonu, odebírané na třech rybnících a na jedné nádrži. Ve všech případech lze rozvoj fytoplanktonu označit jako vodní květ sinic. Jednalo se o rybníky Dehtář (Žabovřesky), Ruda (Třeboň), návesní rybník (Srubec) a nádrž Orlík. Na těchto čtyřech lokalitách bylo provedeno celkem šest odběrů. Opakovaný odběr proběhl na rybnících Srubec a Ruda. Tabulka 4. Fotografická dokumentace druhového zastoupení fytoplanktonu na rybnících Ruda a Dehtář je uvedena v příloze 3.

Tabulka 4: Soupis lokalit a zastoupení skupin fytoplanktonu (rok 2007).

experiment	datum	taxon	lokalita
1	10.7.	<i>Microcystis</i> sp., <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> var. <i>klebahnii</i>	Dehtář
2	20.7.	<i>Microcystis</i> sp.	Srubec
3	26.7.	<i>Microcystis wesenbergii</i> , <i>Aphanizomenon</i> sp.	Orlík
4	3.8.	<i>Microcystis</i> sp.	Srubec
5	17.8.	$\mu$ -cyanobacteria, planktoní <i>Bacillariophyceae</i> , <i>Chlorococcales</i>	Ruda
6	22.8.	$\mu$ -cyanobacteria, planktoní <i>Bacillariophyceae</i> , <i>Chlorococcales</i>	Ruda

Druhou skupinou byly kultury sinic ze sbírky Hydrobiologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích. S kulturami bylo provedeno celkem 10 měření. Vzorky pochází z let 2004 a 2005, kdy byly odebírány na nádržích Lipno a Orlík a na rybníce Svět. Jednalo se o druhy *Anabaena mendote* a *A. lemmermannii* ve dvou varietách s odlišnou šířkou vláken (označení silná a tenká jsou pouze pracovní názvy). Odlišnost vláken obou variet je zachycena na snímcích v příloze 4. S posledním vzorkem (*A. lemmermannii* – tenká; Lipno 2005) bylo provedeno opakované měření. Tabulka 5.



Tabulka 5: Kultury sinic (měření 2007).

experiment	datum	druh	kultura		
			specifikace		
			typ	lokalita	rok izolace
7	23.8.	Anabaena lemmermannii	tenké	Lipno	2005
8	24.8.	Anabaena lemmermannii	silná	Lipno	2005
9	24.8.	Anabaena mendote	-	Svět	2004
10	6.11.	Anabaena lemmermannii	tenká	Svět	2004
11	6.11.	Anabaena lemmermannii	silná	Lipno	2005
12	8.11.	Anabaena lemmermannii	tenká	Orlík	2004
13.a	11.12.	Anabaena lemmermannii	tenká	Lipno	2005
13.b	11.12.	Anabaena lemmermannii	tenká	Lipno	2005
13.c	11.12.	Anabaena lemmermannii	tenká	Lipno	2005
13.d	11.12.	Anabaena lemmermannii	tenká	Lipno	2005

#### 4.2. Rozdělení vzorků

Vyhodnocení fotosyntetických charakteristik nabízí rozdělení skupiny přirozeného fytoplanktonu na dva typy vzorků – vodní květ s převahou sinice rodu *Microcystis* a fytoplankton s dominancí nanoplanktonních sinic ( $\mu$ -cyanobacteria). U kultur sinic lze odlišit podle morfologie vláken a fotosyntetické aktivity typ *A. lemmermannii* (tenká vlákna) spolu s *A. mendote*, a typ *A. lemmermannii* (silná vlákna). Tabulka 6.

Tabulka 6: Rozdělení experimentů do skupin podle fotosyntetické aktivity.

skupina	taxon / kultura	experimenty
1	přirozené populace s převahou <i>Microcystis</i>	1, 2, 3, 4
2	přirozené populace s převahou $\mu$ -cyanobacterií	5,6
3	kultury <i>A. lemmermannii</i> (tenká) a <i>A. mendote</i>	7, 9, 10, 13.a – 13.d
4	kultury <i>A. lemmermannii</i> (silná)	8, 11

Se vzorkem kultury *Anabaena lemmermannii* (tenká, Lipno 2005) bylo provedeno v jednom dni opakované měření, které proběhlo 4x (experimenty 13.a až 13.d). Pro vyhodnocení fotosyntetické aktivity pak byly použité průměrné hodnoty z experimentů 13.b až 13.d. V dalším textu bude experiment 13 označovat aritmetický průměr z hodnot jednotlivých charakteristik u experimentů 13.b až 13.d. Do výpočtu průměrné hodnoty nebyly zahrnuty výsledky z experimentu 13.a, protože P-I křivka měla zcela odlišný charakter od ostatních měření.

### 4.3. Parametry fotosyntetické aktivity

Rozdělení experimentů do skupin je patrné z tabulky 7, kde jsou uvedeny parametry fotosyntetické aktivity charakterizující tvar P-I křivky, spolu s obsahem chlorofylu-a v sušině a poměrem absorbance pigmentového extraktu při vlnových délkách 480 a 664 nm.

Tabulka 7: Základní charakteristiky fotosyntetické aktivity. Přehled veličin a jejich jednotek je uveden v příloze 2.

skupina	experiment	Chla/DW	A480/664	$P_{max}$	$\alpha$ LR	$I_k$ LR	$I_{opt}$	$I_0$ LR	R LR	R měřená
1	1	9,30	4,78	2,5	0,023	111	858	13	0,29	0,23
1	2	7,82	1,27	15,1	0,053	287	697	0	0,01	0,27
1	3	7,67	5,21	11,3	0,069	163	476	11	0,73	0,64
1	4	6,89	1,25	9,0	0,044	202	528	12	0,51	0,80
<b>1</b>	<b>avg</b>	<b>7,92</b>	<b>3,13</b>	<b>9,5</b>	<b>0,047</b>	<b>191</b>	<b>640</b>	<b>9</b>	<b>0,39</b>	<b>0,49</b>
2	5	1,54	1,47	10,6	0,064	164	447	3	0,21	0,31
2	6	1,14	1,54	13,7	0,097	141	556	8	0,82	0,47
<b>2</b>	<b>avg</b>	<b>1,34</b>	<b>1,51</b>	<b>12,1</b>	<b>0,081</b>	<b>153</b>	<b>502</b>	<b>6</b>	<b>0,51</b>	<b>0,39</b>
3	7	13,46	1,15	4,5	0,030	151	424	72	2,14	2,93
3	10	14,81	1,54	4,7	0,031	149	503	9	0,29	0,27
3	12	12,40	0,97	12,2	0,082	150	345	2	0,20	0,02
3	13	11,63	1,37	7,4	0,064	116	349	10	0,66	0,84
3	9	14,79	1,21	4,9	0,068	73	368	30	2,01	2,21
<b>3</b>	<b>avg</b>	<b>13,42</b>	<b>1,25</b>	<b>6,7</b>	<b>0,055</b>	<b>128</b>	<b>398</b>	<b>25</b>	<b>1,06</b>	<b>1,25</b>
4	8	6,96	1,45	2,3	0,160	14	466	12	1,84	1,86
4	11	4,49	1,54	11,2	0,108	104	310	5	0,51	0,37

#### 4.3.1. Koncentrace chlorofylu-a

U měřených vzorků vykazují nejvyšší koncentraci chlorofylu-a v sušině kultury sinic ze třetí skupiny (*Anabaena lemmermannii* – tenká, *A. mendote*). Průměrná hodnota chlorofylu-a v sušině této skupiny činí  $13,42 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ . Variabilita není velká, protože maximální zjištěná hodnota byla  $14,81 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  a minimální  $11,63 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ . Vysoký obsah chlorofylu v buňkách sinic a řas ukazuje většinou na přizpůsobení k nižším intenzitám světla (Reynolds 2006). Nejnižší koncentraci chlorofylu-a v sušině vykazují přirozené populace ze druhé skupiny (Ruda), průměrná hodnota chlorofylu-a v sušině je  $1,34 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ , hodnoty u obou experimentů se výrazně neliší. Za takto nízkou hodnotu je zodpovědná patrně přítomnost velkého množství detritu ve vzorku rybniční vody. Proto je poměr chlorofyl/sušina sestonu výrazně nižší než u sinicových kultur nebo u vzorků, kde je obsažena pouze čistá biomasa fytoplanktonu. V přirozených populacích první skupiny (*Microcystis*) dosahuje průměrná hodnota chlorofylu-a v sušině  $7,92 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ , přičemž nejvyšší hodnota je  $9,30 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  a nejnižší je  $6,89 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ . Ve čtvrté skupině (*A. lemmermannii* – silná) je průměrná hodnota chlorofylu-a v sušině rovna  $5,72 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ .

### 4.3.2. Poměr absorbance 480/664 nm

Pro průběh fotosyntézy je důležitým faktorem koncentrace chlorofylu-a, koncentrace karotenoidů a jejich vzájemný poměr. Poměr mezi absorbancí celkového spektra pigmentů při vlnových délkách 480 nm a 664 nm odráží poměrné zastoupení těchto pigmentů, které absorbují záření v modré části spektra (chlorofyly a karotenoidy) a v části červené (chlorofyly). Karotenoidy mají významnou úlohu při ochraně fotosyntetického aparátu, pokud je vystaven vysokým intenzitám světla. V takovém případě hodnota poměru 480/664 nm stoupá (Pechar 1992).

Nejvyšší průměrná hodnota poměru absorbance je u první skupiny (vodní květ, *Microcystis*). Průměrná hodnota absorbance je rovna 3,13. Experimenty 1 a 3 (Dehtář a Orlík) však výrazně tento průměr zvyšují. Hodnoty poměrů 4,78 (Dehtář) a 5,21 (Orlík) ukazují na velmi vysoké zastoupení karotenoidů v buňkách. U experimentů 2 a 4 jsou hodnoty absorbance téměř shodné, jednalo se o vzorky ze stejné lokality (Srubec).

U skupin 2 a 4 se hodnoty pro poměr absorbancí téměř shodují. Pro skupinu 2 (Ruda) je tato hodnota rovna 1,51 a pro skupinu 4 (*A. lemmermannii* - silná) je hodnota rovna 1,49. Nejnižší průměrnou hodnotu pro poměr A480/664 vykazuje skupina 3 (*A. lemmermannii* - tenká), která činí 1,25. Absorpčním pigmentem je v zde především chlorofyl-a.

## 4.4. Srovnání fotosyntetické aktivity

Pro vyhodnocení fotosyntetické aktivity fytoplanktonu byly použité P-I křivky podle modelu Platt (1980). Základní informace o významných bodech na P-I křivkách u sledovaných vzorků jsou shrnuty v tabulce 7.

### 4.4.1. Maximální fotosyntetická aktivita ( $P_{max}$ )

Maximální fotosyntetická aktivita je dosaženo při nasycení fotosyntetického aparátu při optimální intenzitě osvětlení. Aktuální rychlost produkce kyslíku je vyjadřována jako množství kyslíku vyprodukované jedním miligramem chlorofylu-a za hodinu ( $mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ ) (Barsanti, Gualtieri 2006).

Nejvyšší průměrná hodnota fotosyntetické aktivity  $12,1 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$  byla zjištěna u skupiny 2 (Ruda). U skupin 3 a 4 se průměrné hodnoty  $P_{max}$  téměř shodují. Pro skupinu 3 (*A. lemmermannii* - tenká) je průměr  $P_{max}$  roven  $6,7 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ . Minimální zjištěná hodnota  $P_{max}$  ve třetí skupině je u experimentu 7 a činí  $4,5 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ . Této hodnotě se ale přibližují zjištěné hodnoty  $P_{max}$  u experimentů 9 a 10. Maximální hodnota  $P_{max}$  ve skupině 3 byla zjištěna u experimentu 12, kde dosáhla  $12,2 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ . Ve skupině 4 je průměr  $P_{max}$  roven  $6,8 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ , ale vzhledem k velkému rozdílu obou hodnot nemá jejich průměr význam. I ve skupině 1 jsou hodnoty  $P_{max}$  značně rozdílné. Maximum bylo zjištěno u experimentu 2, kde  $P_{max}$  dosáhlo  $15,1 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$  a minimum u experimentu 1 s hodnotou  $2,5 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ . Průměr u skupiny 1 je  $9,5 mgO_2 \cdot mgChla \cdot h^{-1}$ . Hodnota  $P_{max}$  je velmi citlivá na aktuální fyziologický stav a relativně velké rozdíly v rámci jednoho druhu nebo i kmenu jsou běžným jevem (Masojídek et al. 2001a,b)

### 4.4.2. Fotosyntetická účinnost (slope ( $\alpha$ ))

Počáteční rychlost fotosyntézy (fotosyntetická účinnost) je vyjádřena sklonem lineární části křivky (světelně limitovaná oblast). Tato hodnota je označována jako slope ( $\alpha$ ) a

udává se v jednotkách  $(\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ . Pro výpočet  $\alpha$  bylo použito lineární regrese. V tabulce 3 jsou hodnoty slope označené jako  $\alpha$  LR. Sklon P-I křivky (slope) je velmi dobrým ukazatelem aktuální adaptace fotosyntetického aparátu k intenzitě světla (Reynolds 2006).

Nejrychlejší počáteční rychlost fotosyntézy byla pozorována u sinice *Anabaena lemmermannii* – silná ze čtvrté skupiny. Průměrná hodnota  $\alpha$  byla rovna  $0,134 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ . Nejnižší slope byl zjištěn u skupiny 1 (vodní květ, *Microcystis*), kde průměr odpovídal hodnotě  $0,047 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ , přičemž minimum bylo  $0,023 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$  a maximum  $0,069 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ . Ve skupině 2 (Ruda) je průměr hodnot  $\alpha$  LR roven  $0,081 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ . Pro skupinu 3 (*A. lemmermannii* - tenká) je slope roven  $0,055 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$  s maximem  $0,082 (\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$  u experimentu 12 a minimem  $0,030$  u experimentu 7.

#### 4.4.3. Saturační bod ( $I_k$ )

Saturační bod  $I_k$  vymezuje počátek světelné saturace. Je vyjádřen irradiancí při, které došlo ke světelné saturaci. Udává se v jednotkách  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Hodnoty saturačního bodu v tabulce 3 vycházejí z lineární regrese ( $I_k$  LR). Tento bod je ovlivněn jak počátečním sklonem křivky, tak fotosyntetickou kapacitou ( $P_{\text{max}}$ ) (Barsanti, Gualtieri 2006).

Pouze ve dvou experimentech byla fotosyntéza saturována při hodnotách nižších než  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . U experimentu 8 (*A. lemmermannii* - silná) bylo světelné saturace dosaženo při pouhých  $14 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Z průměrných hodnot  $I_k$  vyplývá, že fotosyntéza byla nejrychleji saturována právě ve skupině 4 (*A. lemmermannii* - silná) při  $59 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

Nejvyššího saturačního bodu bylo dosaženo v experimentu 2 ze skupiny 1 (vodní květ, *Microcystis*), kde dosahuje hodnoty  $287 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Průměrná hodnota  $I_k$  ve skupině činí  $191 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

Ve skupině 2 (Ruda) je průměr saturačních bodů roven  $153 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , ve skupině 3 (*A. lemmermannii* - tenká) pak  $128 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  s maximální hodnotou  $151 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  a minimální hodnotou  $73 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

#### 4.4.4. Optimální irradiance ( $I_{\text{opt}}$ )

Nejrychleji probíhá fotosyntéza při optimální irradianci, kdy je dosaženo maximální fotosyntézy ( $P_{\text{max}}$ ) otevřením všech reakčních center. Optimální irradiance se udává v jednotkách  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (Barsanti, Gualtieri 2006).

Z výsledkové tabulky je zřejmé, že nejrychleji bylo dosaženo maximální fotosyntetické aktivity v experimentu 11 ze skupiny 4 ( $I_{\text{opt}} = 310 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Nejnižší průměrná hodnota je zaznamenána právě u skupiny 4 (*A. lemmermannii* - silná), kde je  $I_{\text{opt}}$  rovno  $388 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Ve skupině 1 (vodní květ, *Microcystis*) je variabilita optimální irradiance vysoká, průměrná hodnota pro  $I_{\text{opt}}$  činí  $640 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , kdy je maximum ( $858 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) pozorováno u experimentu 1 a minimum ( $476 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) pozorováno u experimentu 3. Skupina 2 dosáhla průměrné  $I_{\text{opt}}$  při  $502 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Ve skupině 3 (*A. lemmermannii* - tenká) je průměr optimální irradiance roven  $398 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , s maximální hodnotou  $503 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  a minimální  $I_{\text{opt}}$  je  $345 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

#### 4.4.5. Kompenzační bod ( $I_0$ )

Moment, kdy se při určité irradianci vyrovnávají procesy respirace a fotosyntézy, je označován jako kompenzační bod ( $I_0$ ). Kompenzační bod je průnikem P-I křivky s osou  $x$  a je udáván v jednotkách  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Tato hodnota úzce souvisí s respirací a aktuální světelnou historií populací (Reynolds 2006).

Nejnižšího kompenzačního bodu dosahovaly přirozené populace sinic ze druhé skupiny (Ruda), u které byl průměr  $I_0$  roven  $6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Nejvyšší průměrná hodnota kompenzačního bodu byla zjištěna u skupiny 3 (*A. lemmermannii* - tenká), kde jsou hodnoty ale značně nevyrovnané. Průměrná hodnota kompenzačního bodu je  $25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , maxima je zde dosaženo při  $72 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  u experimentu 7 a minima při  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  u experimentu 12. Pro skupinu 1 (vodní květ, *Microcystis*) je průměr hodnot  $I_0$  roven  $9 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  s minimem v  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a s maximem ve  $13 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Ve čtvrté skupině (*A. lemmermannii* - silná) je průměr kompenzačních bodů  $8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

#### 4.4.6. Respirace (R)

Hodnoty pro respiraci jsou ve výsledkové tabulce uvedeny jednak jako hodnoty přímo změřené před světelnou expozicí (R měřená) a jednak jako hodnoty zjištěné odhadem z lineární regrese. Respirace je udávána jako aktuální rychlost spotřeby kyslíku na jednotku chlorofylu-a za hodinu ( $\text{mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ ).

Nejvyšší průměrná hodnota měřené respirace  $1,25 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  byla zjištěna u skupiny 3 (*A. lemmermannii* - tenká). Hodnoty pro respiraci jsou v této skupině značně variabilní, protože maximální měřená respirace je  $2,93 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 7 a minimální je  $0,02 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 12, což jsou zároveň nejextrémnější hodnoty měřené respirace v celém souboru experimentů. Respirace odhadnutá z lineární regrese je ve skupině 3 nižší než respirace měřená. Její průměrná hodnota je  $1,06 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ , kde maximum dosahuje hodnoty  $2,14 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 7 a minimum  $0,20 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 12.

Minimální průměrnou hodnotu měřené respirace vykazuje skupina 2 (Ruda), která činí  $0,39 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ . U respirace, která je odhadnutá z lineární regrese je průměrná hodnota vyšší a to  $0,51 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ . Rozpětí hodnot u obou experimentů z druhé skupiny je v případě R LR vyšší než v případě R měřená.

U skupiny 1 (*Microcystis*) je průměr hodnot respirace získaných měřeními roven  $0,49 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ , s minimem v  $0,23 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 1 a maximem v  $0,80 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 4. V případě respirace z lineární regrese je průměrná hodnota  $0,39 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ , což je zároveň nejnižší průměr ze všech skupin. Minimální zjištěná hodnota R LR je  $0,01 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 2 a maximální  $0,73 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  u experimentu 3.

Ve skupině 4 je průměr hodnot měřené respirace roven  $1,11 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ , ale obě hodnoty jsou rozdílné. Průměrná hodnota pro respiraci zjištěnou z lineární regrese je  $1,17 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$  a je to zároveň nejvyšší průměr R LR ze všech skupin.

### 4.5. Fotosyntetická aktivita jednotlivých skupin

Srovnání fotosyntetické aktivity jednotlivých skupin je patrné z P-I křivek na obrázcích 7, 8, 9 a 10.

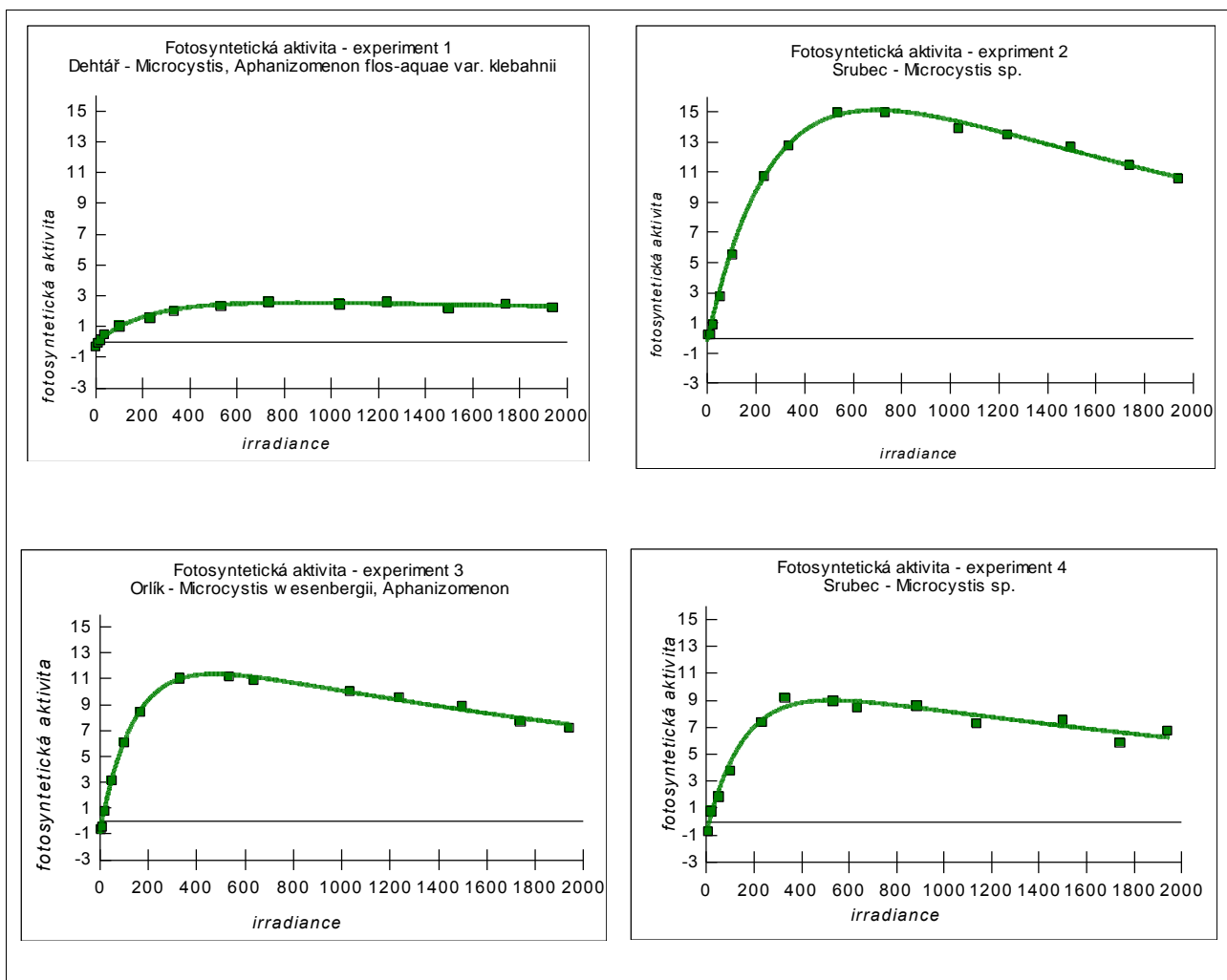
#### 4.5.1. Skupina 1

Tuto skupiny tvořily populace přirozených sinic s převahou rodu *Microcystis*. Ve skupině byly provedené dva odběry na stejné lokalitě (návesní rybník Srubec) v rozmezí 14 dní (experimenty 2 a 4). Jediné měření bylo provedeno u vzorků z lokalit Dehtář (experiment 1) a Orlík (experiment 3). Srovnání fotosyntetické aktivity vzorků ze skupiny 1 je uvedeno na obrázku 7.

Nejnižší fotosyntetickou aktivitu vykazovala populace sinic z rybníka Dehtář, kde byla zjištěna hodnota  $P_{\max}$  pouhých  $2,5 \text{ mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}$ . Saturačního bodu bylo dosaženo při  $111 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , ale maximální rychlostí probíhala fotosyntéza až při  $858 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Ve vzorku byla zjištěna přítomnost sinice *Aphanizomenon flos-aquae* var. *klebahnii*. Tento druh je podle Pechara (1987) typický výskytem v zastíněném prostředí s nízkou průhledností vody. Ve vzorku je vysoký podíl chlorofylu-a, ale i vysoké zastoupení karotenoidů.

Ve vzorcích z lokality Srubec byly zaznamenány rozdíly. Experiment 2 (20.7.) vykazoval vyšší hodnoty ve všech charakteristikách P-I křivky než experiment 4 (3.8.). Došlo k mírnému poklesu chlorofylu-a v sušině při zachování absorpčního poměru při vlnových délkách 480 a 664 nm. V rybniční vodě došlo nespíš k navýšení koncentrace detritu, který způsobil horší světelné podmínky a vedl ke snížení fotosyntetické aktivity.

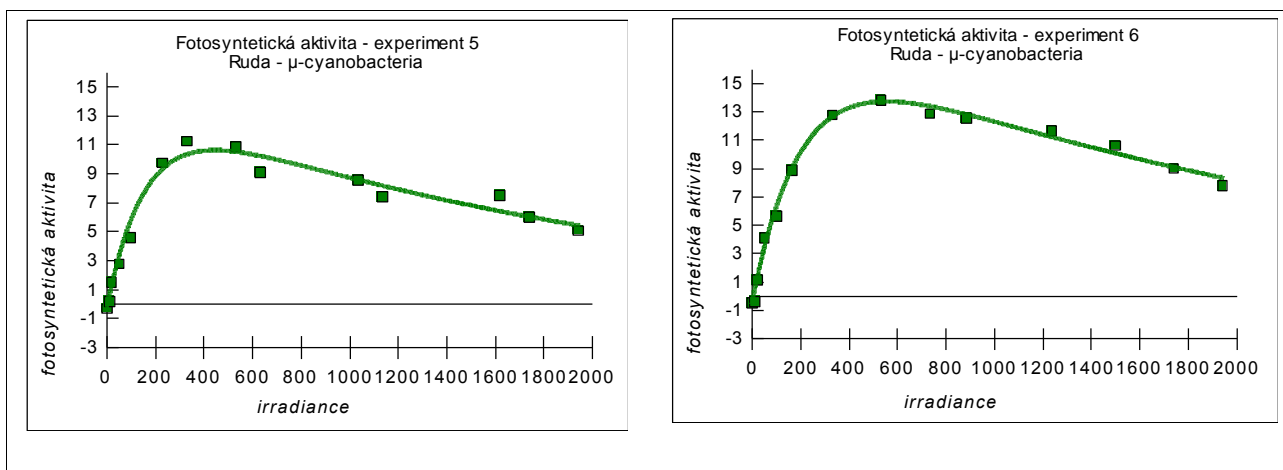
Vzorek odebraný z nádrže Orlík obsahuje  $7,76 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$  chlorofylu-a v sušině. Podle poměru A480/664 je ve vzorku vysoké zastoupení karotenoidů. Maximální fotosyntetické aktivity ( $11,3 \text{ mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}$ ) dosáhl při irradianci  $528 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .



Obrázek 7: Vyjádření fotosyntetické aktivity P-I křivkami u vzorků z první skupiny (vodní květ, *Microcystis*). Irradiance je vyjádřena v  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a fotosyntetická aktivita v  $\text{mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ .

#### 4.5.2. Skupina 2

Opakovaně byly odebrány vzorky z lokality Ruda (experiment 5 a 6) v intervalu 7 dnů. Převažovala zde skupina  $\mu$ -cyanobacterií. U experimentu 6 byla zaznamenána vyšší fotosyntetická aktivita  $13,7 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ , které bylo dosaženo při vyšší irradianci. Fotosyntéza byla i rychleji satureována. Nebyly zaznamenány výraznější rozdíly v zastoupení fotosyntetických pigmentů. Srovnání P-I křivek z lokality Ruda je na obrázku 8.



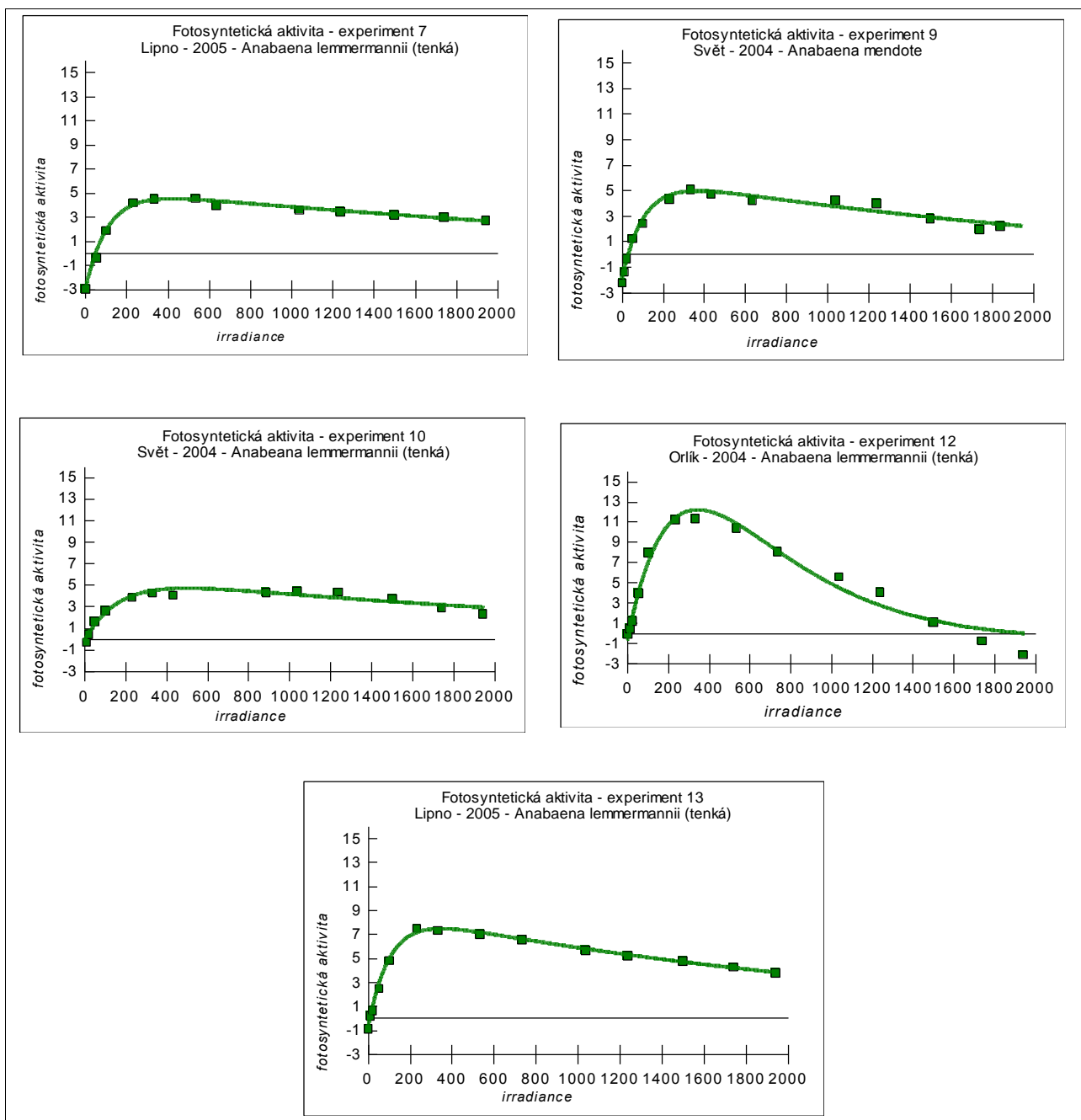
Obrázek 8: Vyjádření fotosyntetické aktivity P-I křivkami u vzorků ze druhé skupiny (eutrofní Ruda,  $\mu$ -cyanobacteria, *Chlorococcales*, planktoní *Bacillariophyceae*). Irradiance je vyjádřena v  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a fotosyntetická aktivita v  $\text{mgO}_2.\text{mgChla.h}^{-1}$ .

### 4.5.3. Skupina 3

Skupinu 3 tvořily kultury kmenů *Anabaena lemmermannii* – tenká (experimenty 7, 10, 12, 13) a *Anabaena mendote* (experiment 9). Všechny vzorky ze skupiny obsahovaly vysoké množství chlorofylu-a v sušině. Tento výsledek, stejně jako u skupiny 4, nebyl ovlivněn přítomností jiných částic (seston), který by poměr mohl snížit, jako tomu pravděpodobně bylo ve skupinách přirozených populací (především u skupiny 2). Fotosyntetická aktivita skupiny byla nižší, průměrná  $P_{\text{max}}$  byla  $6,7 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Tuto hodnotu ale zvýšila hodnota  $P_{\text{max}}$  u experimentu 12 (*A. lemmermannii* – Svět 2004). Zbylá čtyři měření byla vyrovnanější, průměrná hodnota  $P_{\text{max}}$  u experimentů 7, 9, 10, 13 je  $5,3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . U experimentu 13, kde proběhlo opakované měření, je hodnota  $P_{\text{max}}$  rovna  $7,4 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Vzhledem k tomu, že tato hodnota je již průměrem (experimenty 13.b až 13.d) z opakovaného měření, lze vyšší hodnotu fotosyntetické aktivity přičíst k delšímu časovému úseku vystavení vzorků odlišným podmínkám, než za kterých probíhala kultivace.

Optimální irradiance bylo ve srovnání s přirozenými populacemi dosaženo rychleji, stejně jako saturačního bodu. U experimentů 7 a 9 byly zaznamenány výrazně vyšší respirace před začátkem světelné expozice, což vedlo i k pozdějšímu dosažení kompenzačního bodu. Srovnání průběhu fotosyntézy kultur ze skupiny 3 je na obrázku 9.

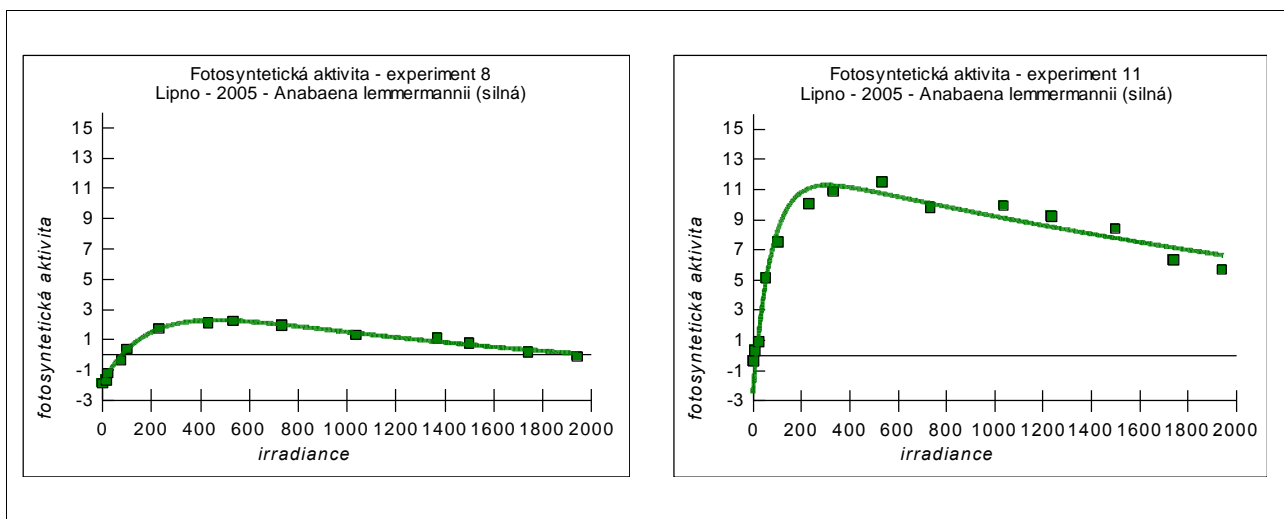




Obrázek 9: Vyjádření fotosyntetické aktivity P-I křivkami u vzorků ze třetí skupiny (*Anabaena lemmermannii* – tenká, *Anabaena mendote*). Irradiance je vyjádřena v  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a fotosyntetická aktivita v  $\text{mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ .

#### 4.5.4. Skupina 4

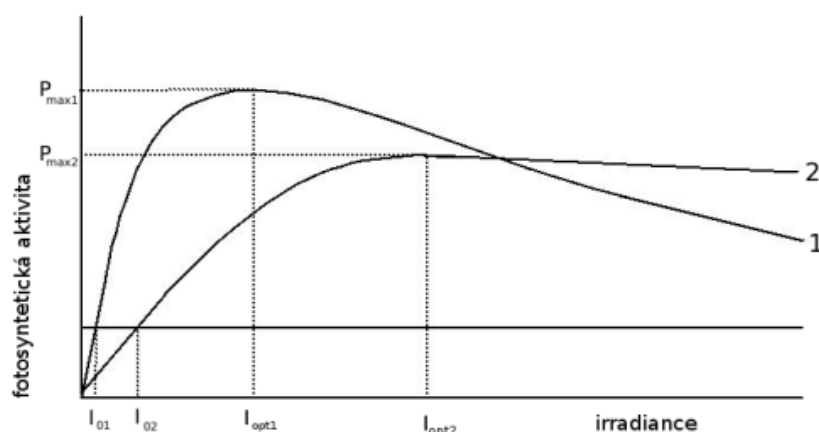
Měřené vzorky ze skupiny 4 se ve fotosyntetické aktivitě výrazně lišily, ačkoli se jednalo o stejný kmen sinic (*Anabaena lemmermannii* – silná), který pocházel ze stejné lokality (Lipno) a u kterého proběhl odběr ve stejném roce (2005). U experimentu 8 byla zjištěna vyšší koncentrace chlorofylu-a v sušině  $6,96 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ , nicméně fotosyntetická aktivita byla výrazně nižší.  $P_{\text{max}}$  bylo dosaženo  $2,3 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ . U experimentu 11, kde byla koncentrace chlorofylu-a  $4,49 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ , se  $P_{\text{max}}$  dostalo až na hodnotu  $11,2 \text{ mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ . Odlišnost tvaru P-I křivek pro experimenty 8 a 11 je partná z obrázku 10.



Obrázek 10: Vyjádření fotosyntetické aktivity P-I křivkami u vzorků ze čtvrté skupiny (*Anabaena lemmermannii* – silná). Irradiance je vyjádřena v  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a fotosyntetická aktivita v  $\text{mgO}_2\cdot\text{mgChla}\cdot\text{h}^{-1}$ .

#### 4.6. Přizpůsobení fytoplanktonu světelným podmínkám

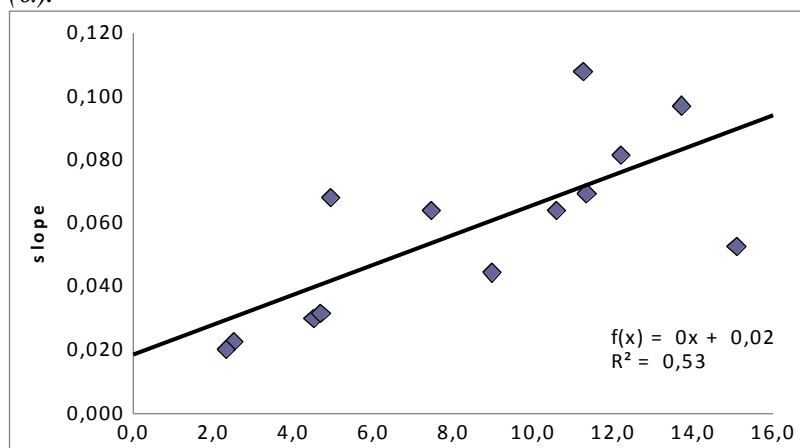
Světlo je limitujícím faktorem pro průběh fotosyntézy jak v nedostatku, tak v nadbytku. Ale pro každý druh, kmen nebo populaci se rozsah využitelnosti světla pro fotosyntetickou aktivitu liší. Jak jsou světelným poměrům populace sinic přizpůsobené se odráží v parametrech specifikujících tvar závislosti fotosyntetické aktivity na irradianci. V eutrofizovaných vodách jsou díky vysoké biomase fytoplanktonu zhoršené světelné poměry, což vede k nízké průměrné ozáření ve vodním sloupci. V eutrofních vodách jsou ve fytoplanktonu dominantní skupinou sinice, které jsou považované za organismy přizpůsobené nízkým intenzitám osvětlení (Reynolds 2006).



Obrázek 12: obecná P-I křivka pro druhy přizpůsobené nízkým intenzitám ozáření (křivka A) a vysokým intenzitám ozáření (křivka B). (upraveno podle Henley 1993)

Druhy, které jsou přizpůsobené stinnějšímu prostředí vykazují podobnost ve fotosyntetické aktivitě. Sklon lineární části křivky ( $\alpha$ ) je vysoký. Vysoké jsou i hodnoty pro maximální fotosyntetickou aktivitu ( $P_{max}$ ). Obecný charakter P-I křivky pro druhy přizpůsobené stinnému prostředí je vyjádřen na obrázku 12. Souvislost mezi vysokou fotosyntetickou účinností (slope) a fotosyntetickou kapacitou ( $P_{max}$ ) potvrzuje jejich vzájemná korelace. Obrázek 13.

Obrázek 13: Korelace mezi charakteristikami  $P_{max}$  a slope ( $\alpha$ ).



Podobnou závislost fotosyntetické aktivity pro různé populace *Aphanizomenon flos-aquae* zjistil Pechar (1992b).

Z hodnot v tabulce 7 a z P-I křivek na obrázcích 7, 8, 9, a 10 vyplývá, že popsanému modelu pro druhy dobře adaptované k nízkým intenzitám světla odpovídají experiment 6 ze skupiny 2, experiment 11 ze skupiny 4 a experiment 12 ze skupiny 3. Fotoinhibice, která často nastává u populací adaptovaných na nižší ozáření, byla v případě těchto experimentů výrazná, zejména u experimentu 12.

U dalších experimentů byly hodnoty pro optimální rychlost fotosyntézy také vysoké, ale fotoinhibice nebyla tak výrazná. Představují tak přechodný typ mezi populacemi přizpůsobeným vysokým a nízkým intenzitám osvětlení.

Přizpůsobení sinic na vysoké intenzity světla udává i poměr pigmentů absorbujících světelné záření. Vysoký poměr mezi absorbancí při 480 a 664 nm je ukazatelem vysokého podílu karotenoidů, které mají i ochrannou funkci proti poškození fotosyntetického aparátu před nadměrným ozářením. Velmi vysoké hodnoty pro poměr A480/664 byly zjištěny u experimentů 1 a 3 ze skupiny 1 (přirozené populace *Microcystis*). U experimentu 1 byla hodnota  $P_{max}$  velice nízká a fotoinhibice, ke které docházelo jen při vysokých intenzitách irradiance, byla nepatrná. Populace z rybníka Dehtář byla tedy podle parametrů  $P_{max}$  a A480/664 přizpůsobená vysoké irradianci. Tomu ale neodpovídala hodnota slope. U experimentu 3 byla hodnota  $P_{max}$  vyšší než u experimentu 1, vysoká byla i hodnota slope. K fotoinhibici docházelo jen pozvolna. Podobné chování pozorovali u planktonních sinic Masojídek et al. (2001b). Jejich sledování sinic, které vyplouvají k hladině, potvrzují schopnost zachovat vysokou fotosyntetickou účinnost při nízkých intenzitách světla a

zároveň odolnost vůči expozici velmi silným ozářenostem.

Na jednu stranu jsou sinice přizpůsobené světelným podmínkám s nižší intenzitou světla, na druhou stranu si i tyto podmínky svým intenzivním rozvojem vytvářejí. Měření provedená na třeboňských rybnících v letech 1994-1998 potvrdila, že platí exponenciální vztah mezi průhledností vody a koncentrací chlorofylu-a. Největší rozptyl koncentrací chlorofylu-a z měřených rybníků byl zaznamenán v rozmezí 50-200  $\mu\text{g.l}^{-1}$  s průhledností vodního sloupce do 70 cm. Variabilita způsobená odlišnými koncentracemi chlorofylu-a a průhledností vodního sloupce je dána velikostí částic poměrem zastoupení fotosyntetických pigmentů.

Ačkoli se jedná o organismy s přizpůsobením k menší iradianci, mají sinice vytvořené mechanismy, které je chrání před vystavením vysokým intenzitám ozáření, ale i před rychle se měnícími světelnými podmínkami. Druhy, které jsou přizpůsobené k vysoké iradianci, vykazují vysokou fotosyntetickou aktivitu při vysokých intenzitách osvětlení, kdy nedochází k fotoinhibici. V případě, že se vyskytnou v prostředí, je jejich fotosyntetická aktivita nízká. U druhů s adaptací na nízké intenzity světla je již při nízké iradianci dosaženo maximální rychlosti fotosyntézy, ale se zvyšujícím se ozářením dochází k fotoinhibici, která může vést až k převažující respiraci nad fotosyntetickou aktivitou. Takový případ nastal i u experimentu 12 (*Anabaena lemmermannii* – tenká – Svět 2004). Obrázek 9.

V případě, že je druh s přizpůsobením na nižší intenzity osvětlení, vystaven vyšší iradianci, může dojít k poškození fotosyntetického aparátu.

Pechar (1987) ve své práci srovnával dvě variety druhu *Aphanizomenon flos-aque* a to *A. flos-aque* var. *flos-aque* a *A. flos-aque* var. *klebahnii*. *A. flos-aque* var. *klebahnii*, pro kterou je typická tvorba krátkých kolonií jehličkovitého tvaru, byla nalezena na lokalitách s průhledností vody okolo 0,5 m. Průhlednost vody byla snížena v důsledku rozvoje nanoplanktonu. *A. flos-aque* var. *flos-aque*, tvořící vločkovité kolonie, se nacházela na lokalitách, kde byla zjištěna průhlednost vody 1,5 m a více. Ze srovnání P-I křivek vyplývá, že se obě variety liší v ekologických nárocích na světelné podmínky. Pro *A. flos-aque* var. *klebahnii*, která je přizpůsobená stinnějšímu prostředí, byl typický strmější slope ( $\alpha$ ) a k fotoinhibici došlo při nízké iradianci (mezi 250-400  $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Pro *A. flos-aque* var. *flos-aque* byla typická nižší hodnota pro slope, fotoinhibice nebyla pozorována v žádném z měření do hodnoty irradiance 450  $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Vyšší průhlednost vody, ve které se nachází *A. flos-aque* var. *flos-aque* přičítá přítomnosti velkých dafnií, které využívají jako potravní zdroj nanoplankton. Většina buněk této variety je pak chráněná před vysokou iradiací právě tím, že vytváří větší kolonie. Účinnost fotosyntézy u *A. flos-aque* var. *klebahnii* je vyšší v případě, že hodnoty irradiance dosahují nižších hodnot. Tyto výsledky opět ukazují na velký adaptační rozsah, který lze zaznamenat u velmi blízkých taxonů.

Vytváření kolonií je představuje ochranou strategií, která zabraňuje poškození fotosyntetického aparátu. Tato strategie umožňuje i přizpůsobení měnícím se světelným podmínkám, ke kterým dochází díky promíchávání vody a pasivním pohybem fytoplanktonu ve vodním sloupci. Vytváření agregátů bylo pozorováno v závislosti na zvyšující se intenzitě osvětlení u kmene *Synechococcus elongatus* (Koblížek, 2000).

Schopnost sinic přizpůsobit se velkému rozsahu vnějších podmínek a extrémním situacím souvisí s jejich velmi dlouhým fylogenetickým vývojem (Kalina, Váňa 2005).

V eutrofních vodách, tj. v nadbytku živin se světlo stává klíčovým faktorem pro rozvoj a druhové složení fytoplanktonu. S rozvojem fytoplanktonu se snižuje průhlednost a ve vodním sloupci se ustavuje velmi strmý gradient světla. Ozářenosti na hladině dosahují

v poledních hodinách více  $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , zatímco v hloubce 0,5 m klesají hodnoty pod  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , tj. na hranici kompenzačního bodu (Čeřovská, 1997, Pechar 2006).

Změnu složení fytoplanktonu od bičíkovců, přes chlorokokální řasy k sinicím se stoupající eutrofizací je v rybnících dobře dokumentována (Janda, Pechar et al. 1996) a odpovídá obecnému trendu, který je uváděn v literatuře (Reynolds 2006).

Celkově lze konstatovat, že zjištěné parametry fotosyntetické aktivity a její závislosti na světle (P-I křivky) dobře odpovídají údajům, které jsou pro fytoplankton i kultury publikované v literatuře (Henley 1993). Zároveň poskytují informaci o možném rozsahu adaptací na světelné podmínky v eutrofních vodách jako jsou rybníky. Tato schopnost adaptace je předpokladem pro ekologickou úspěšnost sinic a pro dosažení velmi vysoké úrovně primární produkce v rybnících (Pechar 2006).

Ve stojatých vodách je fytoplankton důležitý z hlediska primární produkce. Svou přítomností pak ovlivňuje další vývoj stojatých vod. V eutrofizovaných vodách ale dochází ke vzniku extrémních podmínek, k nimž nejsou ostatní organismy adaptované. Fyzikálně-chemické vlastnosti vodního ekosystému se navíc mění v průběhu dne, což zvyšuje riziko vymizení druhů vázaných na původně stabilní prostředí. Na změny ve vodním prostředí mají samozřejmě vliv i toxické látky, které jsou nebezpečné nejen pro organismy vázané přímo na život ve vodě, ale i na organismy terestrické. Z těchto důvodů je nutné studovat podmínky, které souvisí s růstem populací fytoplanktonu a s ekologickými nároky druhů.

## 5. Závěry

1. Fotosyntetická aktivita fytoplanktonu byla zjišťována u přirozených populací sinic a u laboratorních kultur sinic. Přirozené populace byly tvořené především sinicemi rodu *Microcystis* a  $\mu$ -cyanobakteriemi. Z laboratorních kultur byly použity kmeny *Anabaena mendote* a *Anabaena lemmermannii*, kmeny tvořící vlákna tenká a silná.
2. K měření fotosyntetické aktivity byla použita metoda produkce kyslíku. Měření bylo provedeno na přístroji Illuminova (AB Sweden) – počítačem řízený simulátor sluneční radiace s měřicí termostatovanou komůrkou pro expozici vzorku a kontinuální měření koncentrace rozpuštěného kyslíku. Celkem bylo provedeno 13 experimentů, během nichž byly vzorky vystaveny zvyšující se intenzitě osvětlení během hodinové expozice. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí „Photosynthesis-irradiance response curves“ (P-I křivky) jako závislost fotosyntetické aktivity na intenzitě ozáření.
3. Výsledky měření potvrdily, že sledované druhy sinic mohou být velice účinné při nízkém ozáření. Některá měření však ukázala, že některé druhy sinic jsou adaptované i na vysoké intenzity osvětlení. Tato široká valence ve využívání světla pro primární produkci dává sinicím výhodné postavení v konkurenci s eukaryotními řasami v eutrofních vodách.
4. Výsledky měření byly značně variabilní, což ukazuje na vysokou schopnost adaptace vůči měnícím se světelným podmínkám. Rychlost fotosyntézy je také závislá na aktuálním fyziologickém stavu populace.
5. U kultivovaných kmenů sinic byla pozorována adaptace k nižší ozáření. Tento fakt může být způsoben změnou podmínek při měření od podmínek, kterým byly kultury vystavovány během kultivace.
6. Schopnosti sinic přizpůsobit se změně světelných podmínek, využívat efektivněji dostupné zdroje pro primární produkci a schopnost rychlého rozmnožení populace, zajišťuje sinicím velkou konkurenční výhodu. Dostatek živin v eutrofizovaných stojatých vodách je pro masový rozvoj sinic důležitým faktorem. Vytvoření velké biomasy vede ke snížení průhlednosti vodního sloupce a ke změně fyzikálně-chemických poměrů v nádrži, což představuje významný ekologický problém pro celý ekosystém.

## 6 Seznam použité literatury

Barsanti, L., Gualtieri, P. (2006): *Algae, Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, CRC Press, Taylor & Francis Group, 301 pp.

Čeřovská, K. (1997): *Eutrofizace a světelné podmínky intenzivně hospodářsky využívaných rybníků Třeboňska*, Diplomová práce, ZF JU v ČB

Čížková, H. (2006): *Nepublikované teze pro přednášky předmětu Fyziologie rostlin*, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta

Dykyjová, D. a kol., 1989: *Metody studia ekosystémů*, Praha, Academia, 692 pp.

Eiseltová, M. (1994): *Restoration of lake ecosystems – a holistic approach*. IWRB Publ. 32. 182 pp.

Hartman, P., Přikryl, I., Štědrónský E. (2005): *Hydrobiologie*, Informatorium, Praha, 3. vydání, 359 pp.

Hejný, S. a kol., 2000: *Rostliny vod a pobřeží*, East West Publishing Company ve spolupráci s East West Publishing Praha, 118 pp.

Henley, W.J. (1993): *Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes*. – *J. Phycol.* 29: 729–745.

Hindák, F. a kol., 1978: *Sladkovodné riasy*, Bratislava, SPN, 728 pp.

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

Janda, J. Pechar, L. et al. (1996): *Trvale udržitelné využívání rybníků v Chráněné krajinné oblasti a biosférické rezervaci Třeboňsko. Význam rybníků pro krajinu střední Evropy.*- Pecharová, E., Plesník J. (eds.); *České koordinační středisko IUCN - Světového svazu ochrany přírody Praha a IUCN Gland, Švýcarsko a Cambridge, Velká Británie*, 189 pp.

Kalina, T., Váňa, J. (2005): *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. - Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 60-76 pp.

Koblížek, M., Komenda, J., Masojídek, J. and Pechar, L. (2000): *Cell aggregation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*: Role of electron transport chain.*- *J. Phycol.* 36: 662-668.

Maršálek, B., 2002: *Sinice jako producenti biologicky aktivních látek*, *Živa*, 198-200

Masojídek J., Grobbelaar J. U., Pechar L., Koblížek M. (2001a): *Photosystem II electron transport rate and oxygen production in natural waterblooms of freshwater cyanobacteria during a diel cycle*. – *J. Plankton Res.* 23: 57-66.

Masojídek, J., Pechar, L., Koblížek, M., Adamec, L., Komenda, J. (2001b): Affinity of surface phytoplankton populations to high irradiance in hypertrophic fish ponds: implications of the competition between chlorococcal algae and cyanobacteria. - *Nova Hedwigia* 123: 255-273.

Pechar, L. (1987): Photosynthesis of natural population *Aphanizomenon flos-aquae*: some ecological implications. - *Int.Revue ges.Hydrobiol.* 72: 599 - 606.

Pechar, L. (1987): Use of the acetone-methanol mixture for extraction and spectrophotometric determination of chlorophyll a in phytoplankton. - *Arch.Hydrobiol. Suppl.* 78 (Algological Studies 46): 99 - 117.

Pechar, L. (1992a): Význam stanovení chlorofylu-a pro vodohospodářskou praxi.- *Vodohospodářsky spravodajca* 35(4): 122 -127.

Pechar, L. (1992b): Water bloom of *Aphanizomenon flos-aquae* - an ecological study of fishpond populations.- *Archiv für Hydrobiologie - Monographische Beiträge*, Stuttgart, 90: 339 - 418.

Pechar, L., Příkryl, I., Faina, R. (2002): Hydrobiological evaluation of Třeboň fishponds since the end of 19th century. In: Květ J., Jeník J. & Soukupová L. (eds.): *Freshwater Wetlands and Their Sustainable Future: A Case Study of the Třeboň Basin Biosphere Reserve, Czech Republic. Man and the Biosphere Series 28*, UNESCO & The Parthenon Paris, 31-62 pp.

Pechar, L. (2006): Procesy eutrofizace mělkých vod – studie rybníčních ekosystémů. – Habilitační práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 42 pp.

Platt, T., Gallegos, C.L. and Harrison, W.G. (1980): Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J.Mar.Res.*, 39,687-701.

Prášil, O. (2003): Fluorescence chlorofylu jako metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu – *Živa*, 6: 249 – 252.

Reynolds, C. (2006): *Ecology of Phytoplankton*. - Cambridge Univerzity Press, 535 pp.

Straškraba, M., Gnauck, A. H. (1983): *Freshwater Ecosystem, Modelling and Simulation* – Jena, Gustav Fisher Verlag, 302 pp.

Štěpánek, M. et al. (1979): *Hygienický význam životních dějů ve vodách*. - Praha, Avicenum, 580 pp.

[Sinice a řasy - http://www.sinicearasy.cz/](http://www.sinicearasy.cz/)

Centrum pro cyanobacterie a jejich toxiny - <http://www.sinice.cz/cz/aktuality.htm>

Krajská hygienická stanice v Českých Budějovicích – <http://khs.cb.cz>

Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění



pozdějších předpisů

Směrnice 2000/60/ES Evropského parlamentu a rady ustavující rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky

## 7. Přílohy

### Příloha 1

Zařízení Illuminova používané k měření fotosyntetické aktivity fytoplanktonu.



*Zařízení Illuminova. Počítačem řízený simulátor sloužící k měření fotosyntetické aktivity.*



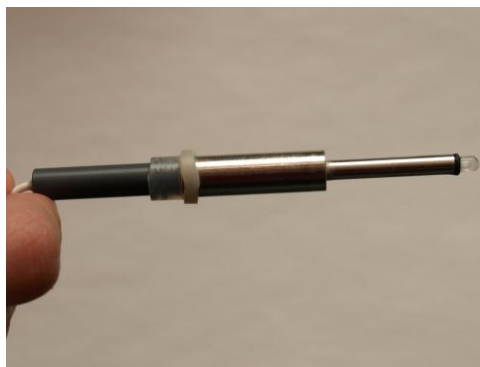
*Světelná pipeta jako zdroj světelného záření. Kyveta je uložena do nástavce světelné pipety.*



*Kontrolní jednotka.*



*Chladicí zařízení. Rezervoár pro vodu, ze kterého voda proudí do pláště měřicí kyvety.*



*Kyslíková elektroda.*

## Příloha 2

Parametry určující charakter P-I křivky (viz tabulka 7). Popis charakteristiky a jí příslušné jednotky.

charakteristika	popis charakteristiky	jednotka
Chla/DW	poměr hmotnosti chlorofylu-a ku hmotnosti sušiny	$\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$
A480/664	poměr absorbcí při vlnových délkách 480 a 664 v extrahovaném ve směsi aceton / methanol	
$P_{\max}$	maximální rychlost fotosyntézy	$\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}$
$\alpha$ LR	sklon části křivky závislé na irradianci	$(\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}) \cdot (\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$
$I_k$ LR	saturační bod (počátek světelné saturace)	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
$I_{\text{opt}}$	optimální irradiance, dosaženo $P_{\max}$	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
$I_0$ LR	komenzační bod	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
R LR	odhad respirace	$\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}$
R měřená	respirace měřená před světelnou expozicí	$\text{mgO}_2 \cdot \text{mgChla} \cdot \text{h}^{-1}$

Pozn.: hodnoty LR jsou získané odhadem z lineární regrese.

## Příloha 3

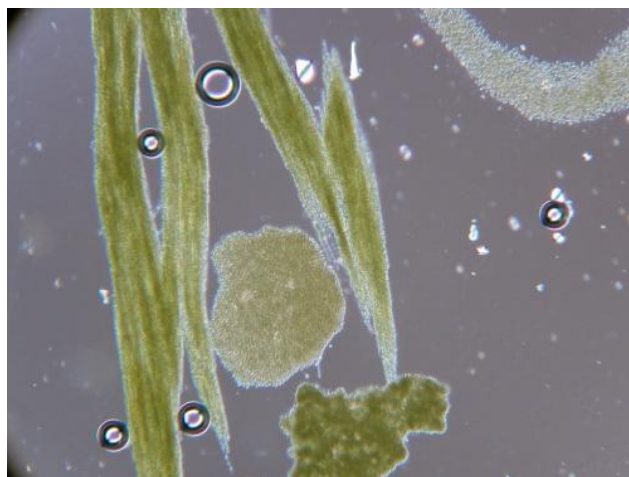
Přirozené populace sinic.

Druhy sinic z nádrže Orlick (2007).



*Microcystis* spp.

©Jan Potužák



*Aphanizomenon flos-aquae* – klebahni

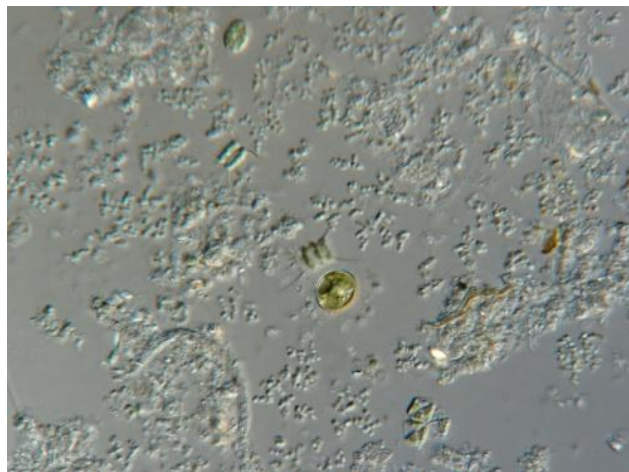
©Jan Potužák

Druhy z rybníka Ruda (2007).



Převažující skupinou ve vzoru tvořily  $\mu$ -cyanobacterie.

©Jan Potužák



Převažující skupinou ve vzoru tvořily  $\mu$ -cyanobacterie.

©Jan Potužák

#### **Příloha 4**

Fotodokumentace. Kultury sinic *Anabaena lemmermannii* tvořící tenká a silná vlákna.



*Anabaena lemmermannii* – silná (Svět 2004)

©Eliška Zapomělová



*Anabaena lemmermannii* – tenká (Svět 2004)

©Eliška Zapomělová