

# Krásnoočko štíhlé – tvárná buňka s tvárným metabolismem

## Koncept aktivity:

Krásnoočko štíhlé (*Euglena gracilis*) je díky svému neesenčnímu plastidu a fakultativně anaerobní mitochondrii schopné žít autotrofně (fotosynteticky) i heterotrofně, aerobně i anaerobně. Tuto jeho metabolickou plasticitu si mohou studenti demonstrovat kultivací krásnoočka za různých podmínek a následným mikroskopickým pozorováním takto pěstovaných buněk.

## Pomůcky:

- axenická (tj. čistá, bakterie neobsahující) kultura *Eugleny gracilis* – jde o velmi obvyklý modelový organismus, který by měla mít v držení a bez problému poskytnout nejbližší přírodovědecká fakulta či botanický ústav
- sterilní kultivační médium obsahující zdroj uhlíku (např. pepton) – neměl by být problém si jej vyžádat spolu s kulturou
- vzduchotěsně uzavíratelné plastové zkumavky
- alespoň dva stojany na tyto zkumavky či např. kádinky, do nichž lze zkumavky umístit tak, aby byly ve svislé pozici
- sterilní Pasteurovy pipety pro očkování kultur a odebírání vzorků pro mikroskopii
- mikroskop a mikroskopovací potřeby – podložní a krycí skla

## Zadání:

Naočkujte do čtyř zkumavek čerstvého média po cca 1 ml narostlé kultury krásnoočka *Euglena gracilis* a jednotlivé zkumavky následně po dobu jednoho až dvou týdnů kultivujte za čtyř kombinací odlišných podmínek popsaných v tabulce:

	<b>světlo</b>  Zkumavku umístěte na okno či k umělému zdroji světla s automatickým spínačem nastaveným tak, aby zhruba kopíroval den a noc (např. 12 hodin světla a 12 hodin tmy).	<b>tma</b>  Zkumavku umístěte mimo dosah denního i umělého světla, např. do skříně, nebo je obalte neprůhledným materiálem, např. alobalem.
<b>aerobní podmínky</b>  Šroubovací víčko plastové zkumavky nechte povolené, aby měly buňky přístup ke vzduchu	<b>VZOREK 1</b>  = na světle a na vzduchu	<b>VZOREK 2</b>  = ve tmě a na vzduchu
<b>anaerobní podmínky</b>  Zkumavku naplňte médiem s buňkami až téměř po okraj, aby v ní nebylo mnoho prostoru pro vzduch. Šroubovací víčko utáhněte.	<b>VZOREK 3</b>  = na světle a bez vzduchu	<b>VZOREK 4</b>  = ve tmě a bez vzduchu

*Pokus lze provést společně nebo po skupinách: buď dvou či více, z nichž každá připraví jeden replikát celého pokusu, tj. vyzkouší všechny čtyři kultivační metody, nebo po čtyřech, z nichž každá provede jednu z kultivačních metod.*

Po jednom až dvou týdnech zkontrolujte stav jednotlivých vzorků: pouhým okem si všimněte barvy kultury, pod mikroskopem zkontrolujte, zda jsou buňky naživu, kolik jich je (v porovnání se stavem po naočkování a v porovnání s ostatními vzorky) a jak vypadají (všimněte si jejich plastidů a škrobových zrn). Co s buňkami udělaly různé metody kultivace? Které podmínky buňky zvládly? Ve kterých se jim daří lépe a ve kterých hůře? Co to znamená?

## Řešení:

*Euglena gracilis* je schopná žít a prospívat ve všech čtyřech kultivačních podmínkách.

**Její plastid není esenciální.** Fotosyntéza je pro ni sice standardním způsobem obživy, ale pokud je to nezbytné nebo výhodnější, dokáže žít i heterotrofně. Plastid přitom neztrácí, ale přestane vytvářet pigmenty a proteiny potřebné pro jeho fotosyntetickou funkci – dojde tedy k *vybělení plastidu* a buňky ztratí svou zelenou barvu. Heterotrofní kultury někdy rostou dokonce rychleji než kultury fotosyntetické. Za přístupu vzduchu buňky produkují *paramylon*, látku podobnou škrobu, jejíž oválná zrna jsou pod mikroskopem dobře patrná a která jim slouží jako zásobní látka.

**Její mitochondrie je fakultativně anaerobní.** Pokud se buňka ocitne v prostředí bez kyslíku, umí přepnout svůj jinak normální mitochondriální metabolismus na alternativní verzi, při níž dochází k produkci kyseliny mléčné a ukládání energie do vosků.

Následující tabulka shrnuje pozorovatelné změny a děje, které v různě kultivovaných vzorcích probíhají:

	světlo	tma
aerobní podmínky	<p style="text-align: center;"><b>VZOREK 1</b></p> <p>Buňky žijí autotrofně, provádějí fotosyntézu: ze světla získávají energii a ze vzduchu uhlík pro výrobu organických látek a produkují škrobu podobný paramylon.</p> <p><i>Kultura je zelená a v buňkách jsou patrné plastidy. V buňkách lze vidět oválná zrna paramylonu.</i></p>	<p style="text-align: center;"><b>VZOREK 2</b></p> <p>Buňky žijí heterotrofně: živí se organickými látkami v médiu, zpracovávají je klasickým metabolismem mitochondrií a produkují škrobu podobný paramylon.</p> <p><i>Kultura je bezbarvá a v buňkách nejsou patrné plastidy – stále tam jsou, ale neobsahují chlorofyl a další látky a struktury potřebné k fotosyntéze. V buňkách lze vidět oválná zrna paramylonu.</i></p>
anaerobní podmínky	<p style="text-align: center;"><b>VZOREK 3</b></p> <p>Buňky po čase přestanou provádět fotosyntézu a žijí heterotrofně: živí se organickými látkami v médiu, zpracovávají je alternativním metabolismem mitochondrie a produkují vosky.</p> <p><i>Kultura po čase ztratí barvu, neboť přestane vyrábět chlorofyl a další látky potřebné k fotosyntéze, plastidy jsou částečně či zcela vybělené a patrné jen málo, pokud vůbec. Zrn paramylonu je málo nebo zcela chybí.</i></p>	<p style="text-align: center;"><b>VZOREK 4</b></p> <p>Buňky žijí heterotrofně: živí se organickými látkami v médiu, zpracovávají je alternativním metabolismem mitochondrie a produkují vosky.</p> <p><i>Kultura je bezbarvá a v buňkách nejsou patrné plastidy – stále tam jsou, ale neobsahují chlorofyl a další látky a struktury potřebné k fotosyntéze.</i></p>