

Praktická úloha č. 1

Téma: Vývin, ekológia a evolúcia prhlivcov (Cnidaria)

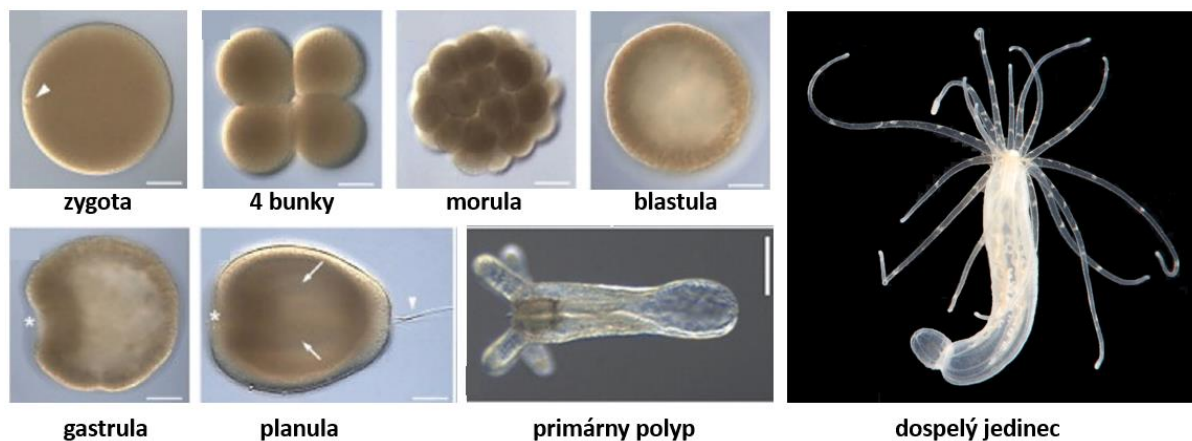
Prhlivce sú rôznorodá skupina pomerne jednoduchých, prevažne morských živočíchov. Ako sesterská skupina všetkých dvojstranne súmerných živočíchov (Bilateria) sa výborne hodia na štúdium evolučne starobylých princípov stavby a fungovania tel spoločných všetkým epitelovcom (Eumetazoa), čo je skupina zahŕňajúca väčšinu mnohobunkových živočíchov. Samotné prhlivce sa delia na dve skupiny – koralovce (Anthozoa) a medúzovníky (Medusozoa).

Medúzovníky majú vo svojom životnom cykle štádium polypu, ako aj štádium medúzy. Nie je to však pravidlom, napr. zástupcovia rodu nezmar (*Hydra*) medúzové štádium nemajú. Naproti tomu koralovce, ku ktorým okrem koralov patria aj sasanky (Actinaria), majú výhradne polypové štádiá.

1. časť – Životné cykly koralovcov

Pomôcky: Mikroskop, preparát označený “Nematostella”

Vzhľadom na zvyšovanie teploty morí a jeho možný vplyv na koralové útesy sa štúdiu životných cyklov koralovcov v poslednej dobe venuje zvýšená pozornosť. V tejto úlohe sa zameriate na zistenie vplyvu teploty na rýchlosť embryonálneho vývinu sasanky *Nematostella vectensis*, ktorá je jedným z najčastejšie používaných modelových organizmov medzi koralovcami. Na obrázku nižšie vidíte mikrofotografie niektorých štádií z jej životného cyklu.



Po oplodnení sa zygota rýchlo delí (prvé dve delenia spravidla prebehnú rýchlo a vzniká hned' štvorbunkové štádium) a po niekoľkých deleniach vzniká tzv. morula – mnohobunkový útvar bez dutiny, ktorá sa v priebehu ďalších delení zmení na dutú blastulu. Neskôr vznikne na jednom z jej pólov vliachenina a dôjde ku gastrulácii – bunky z tejto časti steny blastuly vytvoria v jej vnútri druhú vrstvu (endoderm). Následne sa z gastruly stane obrvená larva (planula), ktorá je charakteristická hruškovitým tvarom a prítomnosťou tzv. apikálneho orgánu na užšom póle tela. Apikálny orgán je rozpoznateľný podľa niekoľkých dlhých brv, ktoré z neho vyrastajú. Larvy sa vďaka brvám aktívne pohybujú, čo im umožňuje vyhľadať prostredie vhodné na ďalší vývin. Tu sa larva usadí a premení na primárny polyp s dĺžkou asi 1 mm, ktorého telesná architektúra je porovnateľná s dospelým jedincom.

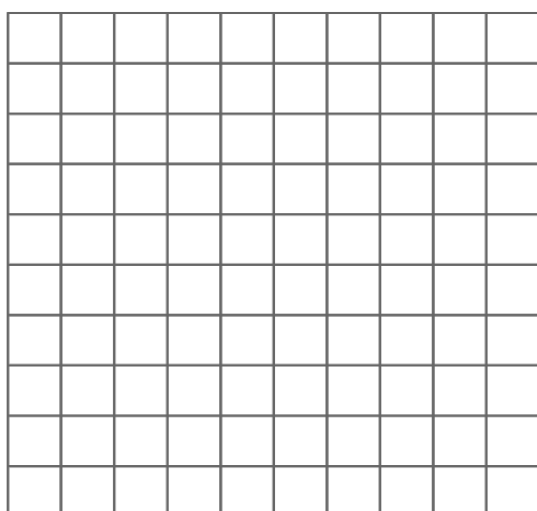
Primárne polypy začnú prijímať potravu, čo im poskytne energiu na rast a dospievanie. V priebehu nasledujúcich mesiacov pohlavne dospejú a dorastú do veľkosti cca. 10 cm.

1) Preparát, ktorý ste dostali, obsahuje dve vzorky kultúry embryí odobraté 5 hodín po oplodnení, pričom jedna z nich bola kultivovaná pri teplote 17°C a druhá 27°C. V každej vzorke je niekoľko desiatok embryí. Vašou úlohou bude spočítať zastúpenie jednotlivých vývinových štádií. Pre jednoduchosť budeme všetky štádiá, ktoré majú 16 a viac buniek, ale ešte neobsahujú dutinu, považovať za morulu. Uvedte zistené údaje do nasledujúcej tabuľky a vypočítajte percentuálne zastúpenie jednotlivých štádií vo vzorkách. Percentá zaokrúhlite na celé čísla.

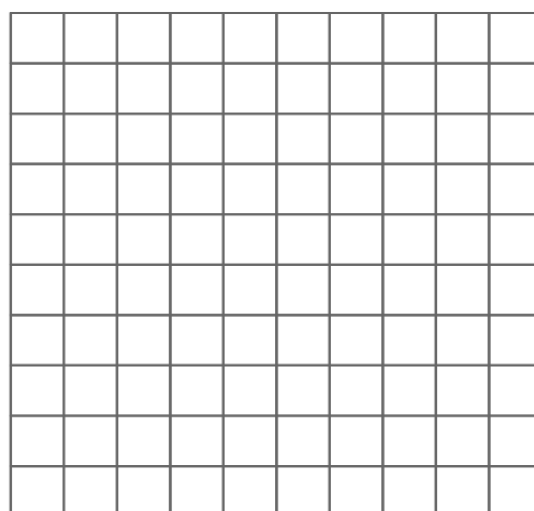
	počet embryí		% zastúpenie	
	17 °C	27 °C	17 °C	27 °C
zygota				
4 bunky				
8 buniek				
morula				
blastula				
gastrula				
SPOLU			100 %	100 %

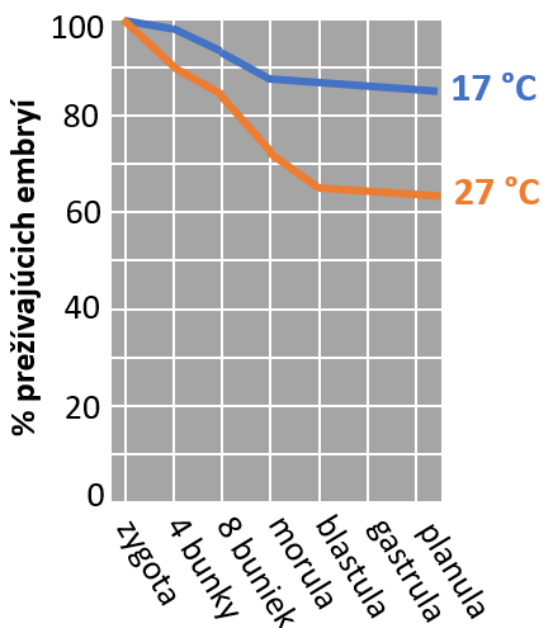
2) Do nasledujúcich štvorčekových plôch nakreslite histogramy, ktoré budú zobrazovať percentuálne zastúpenie rôznych vývinových štádií v oboch vzorkách. Nezabudnite v oboch grafoch popísať osi.

17°C



27°C

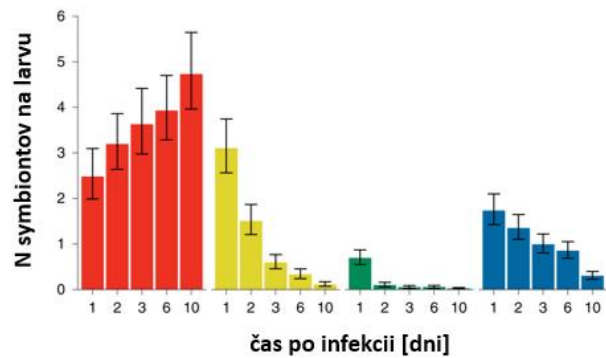
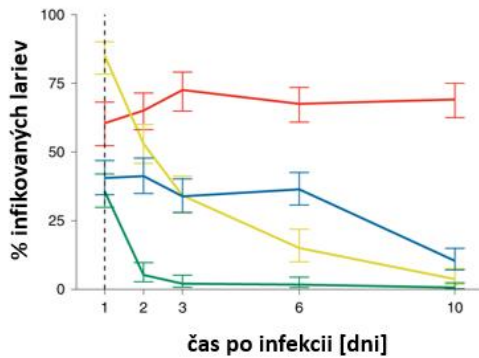
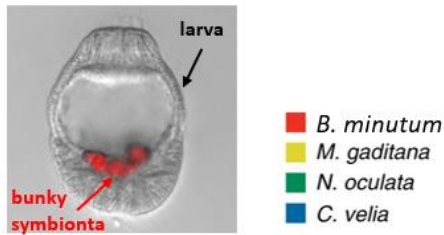




3) Spolu s pozorovaním rýchlosti vývinu embryí sme v experimente sledovali aj ich úmrtnosť. Nasledujúci graf zobrazuje získané výsledky ako percentá embryí, ktoré prežili do ďalšieho vývinového štádia. Rozhodnite, ktoré z uvedených tvrdení je možné vysloviť na základe dát o prežívaní a vami získaných dát o rýchlosti vývinu. Tieto tvrdenia označte (+) a ostatné tvrdenia označte (-). Pre jednoduchosť predpokladajte, že dáta, ktoré máte k dispozícii sú typické pre *Nematostella*, aj keď pochádzajú iba z jedného opakovania každého experimentu.

Zvýšenie teploty prostredia nemá vplyv na rýchlosť vývinu ani na prežívanie embryí.	
Zvýšenie teploty prostredia zrýchľuje vývin natoľko, že v rovnakom čase bola väčšina embryí pri teplote 27 °C už v štádiu gastruly, kým pri teplote 17 °C prevládalo 4-bunkové štádium.	
Zvýšenie teploty prostredia spomaľuje embryonálny vývin, ale nemá vplyv na úmrtnosť embryí, čo môže naznačovať, že sa jedná o mierny stres.	
Zvýšenie teploty prostredia vedie k zrýchlenému embryonálnemu vývinu, ale zároveň zvyšuje úmrtnosť embryí.	

4) Mnohé koralý (a sasanky) majú vo svojich bunkách endosymbiotické jednobunkovce, najčastejšie zo skupiny panciernatiek (Dinoflagellata). Ak sa však zvýši teplota alebo kyslosť vody, symbionty môžu začať produkovať látky toxické pre bunky koralovca, ktorý ich následne vypudí. Keďže symbionty sú u mnohých koralovcov zodpovedné za sfarbenie tela, označuje sa tento proces aj ako vybielovanie (bleaching) a v súčasnosti sa tiež intenzívne študuje ako jedno z rizík klimatických zmien. Vybielené koralý sú životaschopné, ale spravidla omnoho náchylnejšie na infekciu parazitmi, či stres spôsobený hladovaním. Keďže laboratórna kultivácia a životné cykly koralov sú značne komplikované, najčastejšie používaným modelom na štúdium symbiôzy u koralovcov je sasanka *Exaiptasia diaphana*, ktorá žije v symbiôze s panciernatkou *Breviolum minutum*. Táto symbiôza musí byť obnovená v každej generácii tak, že larvy fagocytujú bunky symbiontov. Vedcov zaujímalo, či sú larvy schopné fagocytovať a udržiavať iba bunky prirodzeného symbionta, alebo aj bunky iných druhov. Preto urobili experiment, v ktorom k larvám *Exaiptasia* pridali ďalšie druhy jednobunkovcov – *Cromera velia*, *Nannochloropsis oculata* a *Microchloropsis gaditana*. Larvy inkubovali s jednobunkovcami 24 hodín a následne sledovali percento lariev v populácii, ktoré obsahovali aspoň jednu bunku možného "symbionta" ako aj priemerný počet "symbiontov" na larvu. Výsledky pokusu vidíte na grafoch nižšie.



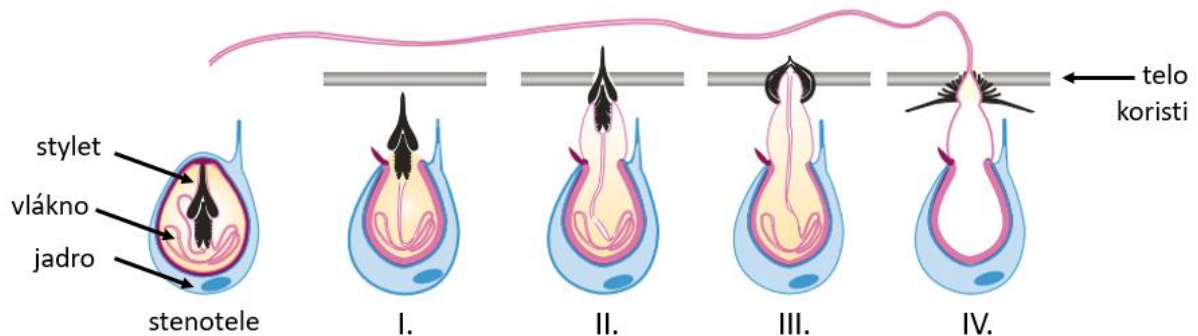
Označte (+) tie z uvedených tvrdení, ktoré neodporujú získaným dátam. Ostatné tvrdenia označte (-)

Larvy <i>Exaiptasia</i> sú schopné fagocytovať všetky druhy testovaných jednobunkovcov, aj keď nie s rovnakou úspešnosťou.	
<i>B. minutum</i> je ako prirodzený symbiont najviac fagocytovaným zo všetkých testovných druhov.	
<i>B. minutum</i> sa ako jediný z testovaných druhov dokáže vo vnútri lariev úspešne deliť.	
<i>C. velia</i> je z lariev po fagocytóze eliminovaná omnoho rýchlejšie ako <i>M. gaditana</i> .	
Larvy <i>Exaiptasia</i> sú schopné selektívne udržiavať bunky prirodzeného symbionta a eliminovať fagocytované bunky iných organizmov.	

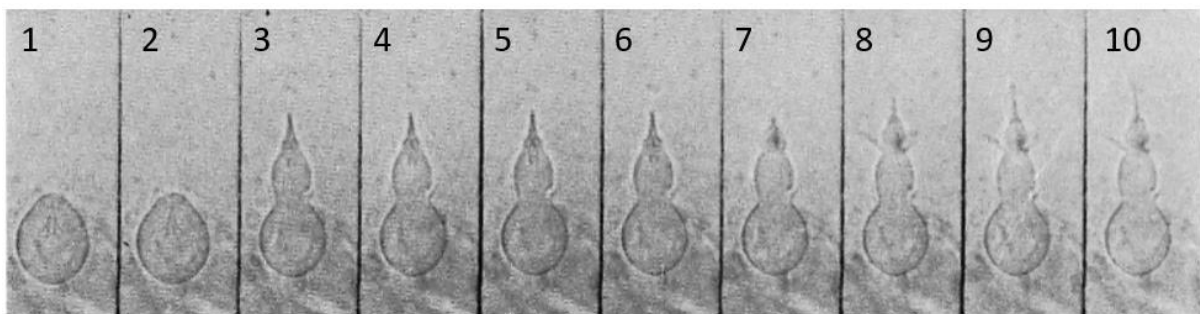
2. časť – Pŕhlivé bunky

Špecifickou adaptáciou, ktorá definuje pŕhlivce, je prítomnosť pŕhlivých buniek (nematocytov) v ich chápadlách a stene tela. Tieto bunky obsahujú zložitú organelu označovanú ako nematocysta, ktorá má v sebe stočené pŕhlivé vlákno a je pod vysokým osmotickým tlakom. Keď dôjde k mechanickému podráždeniu bunky alebo jej aktivácii pripojeným neurónom, pŕhlivé vlákno nematocytu z bunky vystrelí smerom do prostredia. Podľa architektúry nematocýst a vlákien rozoznávame viaceré typy nematocytov, ktoré sú špecializované napr. na prepichnutie tela koristi a vstreknutie paralyzujúceho jedu, obmotanie tela koristi, či prichytenie chápadla k substrátu. U niektorých druhov môžu pŕhlivé bunky dokonca slúžiť v súbojoch.

5) Jeden z najkomplikovanejších druhov nematocytov sa nazýva stenotele (pozri obrázok). Tento typ prhlivých buniek po kontakte s korisťou rýchlo vymrští tzv. stylet (fázy I a II) – ostrý bodec, ktorý prepichne telo koristi (fázy II – III), pričom cez takto vzniknutý otvor následne prenikne prhlivé vlákno, a ním sa do tela koristi dostane paralyzujúci jed (fáza IV).



Vymrštenie styletu (fázy I a II) je extrémne rýchly proces. Nasledujúce obrázky z vysokorýchlostnej kamery s rýchlosťou snímania 40000 snímok za sekundu zachytávajú experiment, pri ktorom bol nematocyt na začiatku snímania elektricky aktivovaný a pozorovalo sa vymrštenie styletu a prhlivého vlákna.



Vypočítajte časový interval od aktivácie nematocytu, v ktorom došlo k vymršteniu styletu. Výsledky uveďte ako celé čísla v mikrosekundách.

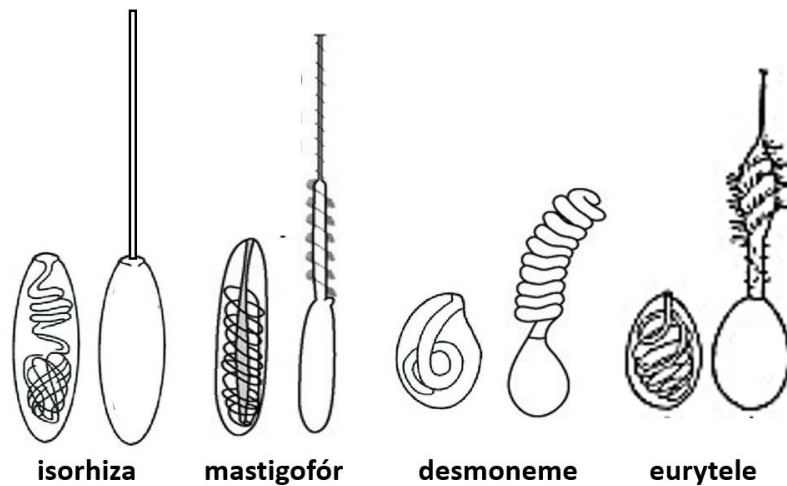
Výpočet:

Vymrštenie styletu trvalo viac ako

μ s, ale menej ako

μ s.

6) Ako už bolo spomenuté, nematocyty sa líšia svojou zložitosťou a s tým spojenou špecializáciou. Okrem toho sú dôležitým taxonomickým znakom pri určovaní prhlivcov. Evolučne pôvodnejšie koralovce disponujú aj menším repertoárom prhlivých buniek, ktoré sú zväčša podlhovasté s vláknami bez styletov. Naproti tomu medúzovníky (a v rámci nich špeciálne skupina Hydrozoa) majú široký repertoár, často aj veľkých a veľmi komplexných nematocytov, ktoré sa v ich chápadielach vyskytujú súčasne a plnia rôzne funkcie. Na obrázku nižšie vidíte nákresy niekoľkých taxonomicky dôležitých druhov nematocytov pred a po vymrštení prhlivého vlákna.



Druhou taxonomicky dôležitou charakteristikou je prítomnosť a počet priehradiek vo vnútri tela polypu, ktoré sú pozorovateľné na priečnom reze. Nižšie vidíte zjednodušený fylogenetický strom hlavných skupín prhlivcov a ich taxonomické charakteristiky (jednoduché typy nematocytov spoločné všetkým prhlivcom nie sú v tabuľke uvedené).

	Priehradky v tele polypu	eurytele	stenotele	desmoneme	
Medusozoa	Hydrozoa	chýbajú	+	+	+
	Cubozoa	chýbajú	+	+	-
	Scyphozoa	4	+	-	-
Anthozoa	násobok 6 alebo 8	-	-	-	

Vašou poslednou úlohou bude určiť taxonomickú príslušnosť neznámeho polypu.

Pomôcky: Mikroskop, preparát označený "polyp"

Na sklíčku sa nachádzajú dva preparáty – jedna vzorka celého polypu a jeden zafarbený priečny rez. Pozorne si ich prezrite a odpovedzte na otázky. V tele polypu sa sústreďte na špičky chápadiel, ktoré často obsahujú zvýšené množstvo nematocytov a všimnite si ich tvar. Jednotlivé nematocyty sú pozorovateľné aj roztrúsené v tele.

Pravdivé tvrdenia o vašej vzorke označte (+) ostatné označte (-)

Telo polypu je na priereze segmentované.	
Nematocyty sú koncentrované na špičkách chápadiel.	
Sú prítomné bunky typu eurytele.	
Sú prítomné bunky typu stenotele.	
Sú prítomné bunky typu desmoneme.	

Vyplňte tabuľku:

Ak je telo segmentované, uveďte počet segmentov (inak uveďte 0)	
Zakrúžkujte taxonomickú skupinu, do ktorej patrí neznáma vzorka	Hydrozoa – Cubozoa – Scyphozoa – Anthozoa