

**LP Pozorování krásnoočka zeleného (*Euglena viridis*).**

**Úkol**: Pozorovat zpomalený pohybu krásnoočka zeleného a naučit se přípravu očkování jeho kultury.

**Pomůcky**: živá kultura krásnoočka zeleného (*Euglena viridis*), pepton, octan sodný, potřeby pro mikroskopování, vata, zkumavky, kahan, Erlenmayerova baňka.

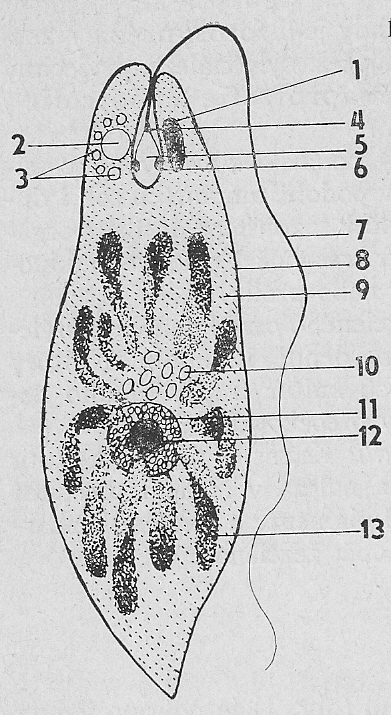
**Teorie**: Krásnoočko zelené (*Euglena viridis*) patří k nejhojnějším zástupcům svého rodu. Ve volné přírodě ho můžeme najít v kalužích, v příkopech, ve vodách znečistěných močůvkou, v návesních rybníčcích poblíž hnojišť, kde se může vyskytovat v takovém množství, že voda bývá zelenavě zbarvená. V současném pojetí systému patří krásnoočka do skupiny („říše“) Excavata. Tato eukaryotní skupina („říše“) zahrnuje organismy jednobuněčné anebo s jedním a více bičíky. Přítomna jsou buněčná ústa a bázi bičíků a „postranní rýha. Rozděluje se na dvě skupiny Metamonády, zahrnující rody *Lamblia*, *Chilomastix*, *Trichomonas*, *Mixotricha* a skupinu Discicristáty zahrnující dvě skupiny: Euglenozoa a Percolozoa. Do skupiny Euglenozoa náleží krásnoočka (*Euglena*) s rody *Leishmania* a *Trypanosoma*. Krásnoočka pohltili - „sežrali“ zelenou řasu a jejich chloroplasty mají trojitou membránu a obsahují chlorofyl a+ b.

**Stavba těla**: Vřetenovité tělo krásnoočka zeleného je pokryto jemně šroubovitě rýhovanou **pelikulou**, která je pružná a umožňuje měnit tvar těla a vykonávat tzv. **metabolické pohyby**. Zadní konec těla je zašpičatělý. Z předního konce vyčnívá ze zúžené části tzv. **ampuly** (nádržky, reservoir), jediný dlouhý a jemný **bičík** (flagellum), který je rozdělený na spodním konci ve dvě větve, opatřené **bazálními (základními) tělísky**, která zakotvují obě větve bičíku v cytoplazmě. Toto rozdělení bičíku je jen zdánlivé, protože jeden z kořenů je samostatný, ale redukovaný vlečný bičík. Nezbarvený bičík není zpravidla v mikroskopu vidět, neboť se u živého krásnoočka neustále pohybuje. Ampula je rezervoárem **stažitelné vakuoly**. Nad bazálními tělísky bičíku, poblíž ampuly, se nachází tzv. **oční skvrna** (stigma), která je tvořena karotenoidy hustě uloženými v bezbarvé hmotě. Tato oční skvrna je spolu se zduřeninou světločivné plazmy nad základem bičíku světločivným orgánem - fotoreceptorem. Stigma se při dělení krásnoočka taktéž dělí, nevzniká nově. Stigma vlastně zastiňuje zduřeninu světločivné plazmy (fotoreceptor) z jedné strany a umožňuje tak prostorovou orientaci krásnoočka vzhledem ke zdroji světla. Vlnovité pohyby bičíku umožňují pohyb. Při pohybu vpřed vykonává krásnoočko současně rotační pohyb kolem podélné osy těla. Veslovitý pohyb bičíku pohání krásnoočko dopředu, kmitavý pohyb přímo nataženého bičíku pohání tělo dozadu. Při bičíku vpravo drženém se pohybuje krásnoočko vlevo a naopak. Otáčivé pohyby krásnoočka jsou vyvolávány kruhovitými pohyby konce bičíku. Poblíž rozšířené části ampuly je **pulzující vakuola**, věnčitě obklopená tzv. **vakuomem**, tj. soustavou drobných rozptýlených vakuol, které svůj obsah přelévají do pulsující vakuoly a ta do spodní části rozšířené části ampuly, které se proto označuje jako nádržka - rezervoár (reservoir). Vakuom lze nejlépe pozorovat po obarvení neutrální červení. Uprostřed těla krásnoočka zeleného leží velké okrouhlé jádro, které je dosti špatně viditelné. Od plazmy je odlišíme obarvením slabým roztokem methylové zeleně (0,1 g MZ rozpustíme ve 200 ml destilované vody a 2 ml kyseliny octové). Jádro má jedno **jadérko** (centrální endosom) barvitelné chromatinovými barvivy. U jiných druhů je v jádře i více jadérek. Chromatin je uložen v prostoru mezi jadérkem (centrální endosom) a membránou jádra. Od jádra se paprsčitě rozbíhají protáhlé zelené chloroplasty, které u krásnoočka tvoří velkou hvězdu. Chloroplasty obsahují, jak již bylo uvedeno **chlorofyl a, chlorofyl b, beta - karoten** a některé **xantofyly**. Asimilačním barvivem krásnoočka je **paramylon**, chemicky podobný škrobu, ale s jódem nedávající typickou reakci. Paramylon vzniká v pyrenoidu, ale je volně rozptýlen mezi jednotlivými chloroplasty. Tvar paramylonových zrn a jejich výskyt je charakteristický pro jednotlivé druhy krásnooček. Mají tvar kulovitý, destičkovitý, podkovovitý aj. U některých jiných druhů krásnooček (například krásnoočko krvavé *Euglena sanguinea*) jsou přítomna červenavá tělíska až půl mikrometru velká, obsahující tzv. **hematochrom**, který při hromadném výskytu těchto druhů krásnooček způsobuje červenavé zbarvení vodních nádrží, rašelinných tůněk, rybníků a kaluží. Při zastínění tohoto prostředí a po západu slunce se hematochrom přemísťuje do nitra buněk a je zakrývám chloroplasty. Hematochrom je tvořen karotenoidy a jeho funkcí je, že tvoří ochranný filtr proti silnému světelnému ozařování. U krásnooček nebylo pozorováno pohlavní rozmnožování. Krásnoočka se množí nepohlavně podélným dělením v nepohyblivém stádiu. Jeho tělo se nejprve zvětší, dohodí bičík, zaoblí se a vyloučí slizový obal, ve kterém se podélně rozdělí pomocí mitózy. Při vysýchání prostředí se krásnoočko zelené kulovitě stáhne, vyloučí okolo sebe rosolovitý obal, který ztuhne a vznikne tak pevná schránka neboli cysta, která je schopna se šířit větrem. V této cystě přetrvává nepříznivé podmínky prostředí.

**Postup práce**: Z připravené živé bezbakteriální kultury krásnoočka kapátkem dáme na podložní sklíčko kapku kultury a velmi malý chomáček vaty a přikryjte krycím sklíčkem. Z jeho boku poté opatrně odsajte filtračním papírem vodu z preparátu a pozorujte. Pohyb krásnooček můžete zpomalit také vlákny řas nebo zahustit pomocí želatiny (1 g želatiny rozpusťte ve 100 gramech teplé vody a nechte mírně ochladit, kapku tekutého želatinového koloidu přidejte e kapce s krásnoočky a opatrně promíchejte.

Při pozorování bičíku je vhodné přidat ze strany krycího sklíčka trochu tuše, kterou vsáknete pomocí filtračního papíru. Přidáte-li ke kapce vody s krásnoočky i malou kapku Lugolova roztoku, tak se bičíky zbarví hnědě až černě. Krásnoočka zahynou a bičíky jsou dobře vidět, jen když nepřiléhají k buňce. Jádro krásnoočka obarvěte pomocí methylenové zeleně (0,1 g MZ rozpustíme ve 200 ml destilované vody a 2 ml kyseliny octové).

Kulturu s krásnoočky nepipetujeme do nové čisté kultury - živného roztoku peptonu (5 g peptonu pro bacto) a octanu sodného (2 g) a 1000 ml destilované vody. Poté roztok uzavřeme zátkou z vaty a sterilizujeme hodinu vařením. Do takto připraveného živného roztoku očkujeme krásnoočka. Kultury je nutné circa po třech týdnech znovu přeočkovat. Uchováváme na světle.



Obr. 1 Krásnoočko zelené (*Euglena viridis*): 1 - stigma, 2 stažitelná vakuola, 3 - vakuom, 4 - fotoreceptor, 5 rezervoár stažitelné vakuoly, 6 - základní tělísko bičíku, 7 - bičík, 8 - pelikula, 9 - spirálovitě rýhovaná pelikula, 10 - zrna paramylonu, 11 - jádro, 12 - jadérko, 13 - chloroplasty. (podle Altmanna a Liškové 1979)

Nákres:

Závěr:

Literatura:

Altmann, A. – Lišková, E. (1979): Praktikum ze zoologie. SPN, 336 str. Praha.

Altmann, M – Kubíková, M. (1972): Biologický náčrtník / zoologie. – 16 str. 159 Tab. SPN. Praha.

Boháč, D. – Ošmera, S. – Papáček, M. (1984): Cvičení z biologie pro II. ročník gymnázia (nepovinný předmět). SPN, 110 str. Praha.

Kunst, M. a kol. (1954): Zoologické praktikum – Nakladatelství ČAV, 376 str. Praha.