

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra botaniky



Bakalářská práce

**Taxonomie, morfologická plasticita,
geometrická morfometrika a ekologie druhu
Pinnularia ferrophila KRAMMER**

David Šubrt

školitel:
RNDr. Jiří Neustupa, Ph.D.

2007

Poděkování

Za vedení práce, cenné rady a připomínky děkuji svému školiteli Dr. Jiřímu Neustupovi. Dále bych chtěl velice poděkovat svému kolegovi Ladislavu Hodačovi za zasvěcení do terénní algologické práce, za velmi podněcující diskuse týkající se této bakalářské práce a v neposlední řadě za pomoc při morfometrických analýzách. A dále můj dík patří všem kolegům z algologického pracoviště PŘF UK, kteří byli vždy ochotni pomoci s určitým problémem a poskytnout radu.

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Úvod	6
1. Rozsivky (<i>Bacillariophyceae</i>), rod <i>Pinnularia</i> Ehr.	8
1.1. Rozsivky	8
1.2. Rod <i>Pinnularia</i>	9
1.3. <i>Pinnularia ferrophila</i>	11
1.4. <i>Pinnularia ferroindulgentissima</i>	13
2. Slavkovský les, minerální prameny a studované lokality	15
2.1. CHKO Slavkovský les	15
2.2. Minerální vody a prameny	16
2.3. Studované lokality	18
3. Experimentální práce a výsledky	21
3.1. Metodika	21
3.1.1. Metodika průzkumu nalezišť a laboratorního zkoumání vzorků	21
3.1.2. Geometrická morfometrika a její metodika	22
3.1.2.1. Digitalizace landmarků	23
3.1.2.2. Symetrizace dat	23
3.1.2.3. Analýza relativních warpů	23
3.1.2.4. Analýza kanonických variát (CVA)	24
3.2. Výsledky	24
3.2.1. Parametry nalezišť a řasová flóra	24
3.2.2. Tvarová variabilita	25
4. Závěr	28
5. Seznam literatury	29

Abstrakt

Pinnularia ferrophila KRAMMER je druh bentické penátní rozsivky s raphe. Popsán byl teprve nedávno, v roce 2000 německým algologem K. Krammerem. Je to velmi unikátní druh z hlediska autekologie a výskytu. *P. ferrophila* je striktně vázán svým výskytem na stanoviště s poměrně vysokými koncentracemi železa, prakticky na lokality vývěřů železitých minerálních vod, kde rozsivka tvoří zelenkavé nárosty na rezavém bahně při dně tůní s vývěrem (KRAMMER 2000). Další z unikátních vlastností tohoto druhu je jeho pravděpodobný endemismus. Lokality v nichž byl druh dosud nalezen, jsou situovány pouze v oblasti kolem Mariánských Lázní (CHKO Slavkovský les) a Chebu. Je to lokalita Farská kyselka, lokalita Číhanské prameniště a lokalita Kyselecký hamr. Jinde na světě nebyl zatím druh zjištěn. Informací o tomto druhu je velice málo, prakticky jsou omezeny jen na KRAMMER (2000), v níž nový druh popisuje. V této práci jsem si uložil za cíl vytvořit rešerši poznatků, které by lépe představily tuto velmi pozoruhodnou rozsivku. Také jsem se pokusil o první vstupní experiment týkající se morfologické vnitrodruhové variability této rozsivky pomocí metod geometrické morfometrie. Ukázalo se, že tato variabilita není nevýznamná a je větší mezi lokalitami než v rámci jedné lokality.

Klíčová slova: *Pinnularia ferrophila*, železité minerální vody, CHKO Slavkovský les, geometrická morfometrie

Abstract

Pinnularia ferrophila KRAMMER is a benthic pennate raphid diatom. It was described in 2000 by German algologist K. Krammer. This species is very rare and has a very special autecology. *P. ferrophila* lives in places with high iron content, especially in microhabitats of iron mineral water springs. In these places, this species produces green algal mats on ferruginous mud of a pool's bottom (KRAMMER 2000). So far, *P. ferrophila* is considered an endemic species with highly restricted distribution. It occurs in an area around Mariánské Lázně (Protected landscape area Slavkovský les) and in the Cheb region (West Bohemia, Czech Republic). In the course of my investigation, I have found three localities of *P. ferrophila* (Farská kyselka, Čihanské prameniště, Kyselečský hamr). Knowledge on this species is still very poor. In fact, it is based on KRAMMER (2000) and this study. My bachelor thesis concentrates on the literary research, that would better introduce this extraordinary species and some similar diatoms. In addition, I introduce the Slavkovský les region and methodology of geometric morphometrics. My own results rely on the investigation of infraspecific phenotypic plasticity of individual populations from three known localities of *P. ferrophila* using methods of landmark-based geometric morphometrics.

Keywords: *Pinnularia ferrophila*, iron mineral water, Protected landscape area Slavkovský les, geometric morphometrics

Úvod

Tato bakalářská práce je koncipována jako souhrn poznatků o velice zajímavém druhu penátní rozsivky s názvem *Pinnularia ferrophila* (KRAMMER 2000). Dále jsem provedl základní experimentální práci týkající se tohoto druhu. Ta zahrnovala jak terénní průzkum vytipovaných lokalit, které měli takové vlastnosti aby nejlépe vyhovovaly biotopu *P. ferrophila* popisovaného K. Krammerem, tj. přírodní prameniště železitých kyselek, tak laboratorní práci se vzorky z oněch lokalit. To znamená prozkoumání vzorků za pomoci světelného mikroskopu, přípravu trvalých preparátů pro studium rozsivek, pořizování fotografií mikroskopických objektů v nich obsažených a nakonec zpracování obrazů (mikrofotografií) základními technikami geometrické morfometriky.

Nyní popíšu genezi celé problematiky zmíněného druhu a důsledky, které z toho vyplývají. V roce 1917 zhotovil neznámý badatel rozsivkový preparát pro mikroskopické pozorování se strohým názvem lokality „Kaiserwald near Franzensbad, Bohemia, ferric-oxide mud in a mineral spring“. Přeloženo do češtiny to znamená Císařský les u Františkových Lázní, Čechy, bahno s oxidy železa v minerálních pramenech. Císařský les je dřívější název pro dnešní oblast Slavkovského lesa. Název tedy nenese žádnou bližší informaci o poloze lokality, z níž preparát pochází. Neznámý badatel tehdy odebral nejspíše někde u nějakého vývěru železité minerální vody vzorek jemného epipelonu („povrchového bahínka“). Z tohoto „bahínka“ poté zhotovil trvalý preparát. Možná se můžeme domnívat, že to byl jakýsi algolog amatér a preparát zhotovil jen pro potěchu z následného mikroskopického pozorování objektů uvnitř (většinou právě rozsivek) a že tedy nešlo o nějaké serióznější vědecké zkoumání. Soudím tak ze skutečnosti, že nebyla prozatím nalezena žádná práce, která by rozsivky z tohoto preparátu nějak popisovala anebo se je pokoušela taxonomicky zařadit. Po mnoha letech se preparát dostal do sbírek německého algologa (převážně diatomologa) Dr. Kurta Krammera. Ten při jeho důkladném zkoumání v roce 2000 popsal pro vědu nový druh penátní rozsivky a pojmenoval ji *Pinnularia ferrophila*. Svůj objev uveřejnil v knize *Diatoms of Europe, Vol 1, The genus Pinnularia* (2000). Je samozřejmě možné, že krom výše dvou uvedených pánů pozoroval tuto řasu také někdo jiný, avšak nezanechal o tom žádné záznamy. Nebo alespoň nebyly do dnešní doby objeveny a na základě těchto důvodů vznikla domněnka, že *P. ferrophila* by mohl být endemický druh vázaný na region západních Čech. V nedávné době byl mým kolegům z algologického pracoviště PřF UK zadán správou CHKO Slavkovský les floristický průzkum Kladských rašelin a okolí (HODAČ & VESELÁ 2006). Během tohoto

průzkumu byl u pramene Farská kyselka nedaleko Mariánských Lázní objeven znovu nejspíše po mnoha letech druh *P. ferrophila*. Objev to byl tedy překvapující. Následně jsem se začal problematikou tohoto druhu zabývat já. Z výše uvedených příčin nebyl prozatím *P. ferrophila* objektem žádného vědeckého zkoumání, snad jen s výjimkou velmi krátkého popisu morfologie a autekologie Krammerem. To znamená, že tedy neexistují žádné rozsáhlejší práce či články zabývající se tímto druhem. V bakalářské práci chci tedy spíše v základu postihnout fakta o rodu *Pinnularia* EHRENBERG 1843 jako takovém, přiblížit biotopy v nichž *P. ferrophila* žije a nastínit poznatky o řasách velmi ekologicky podobných tomuto druhu. Nejprve jsem hledal další lokality výskytu druhu, abych mohl lépe popsat jeho biotop a mohl provést základní vnitrodruhové tvarové srovnání jedinců z různých nalezišť. Je fakt, že studiu řas a zvláště pak rozsivek v tak ekologicky unikátních biotopech jako jsou vývěry minerálních vod a tůňky různé velikosti, které je obklopují se v celosvětovém měřítku věnuje překvapivě málo lidí. Výběr literatury pro rešerši byl tedy velice omezený.

Shrnutí cílů bakalářské práce

- Podat literární rešerši o rozsivce rodu *Pinnularia*, o druhu *P. ferrophila* a řasách podobně ekologicky definovaných.
- Prozkoumat lokality, kde by se potenciálně mohl druh *P. ferrophila* vyskytovat a popsat je.
- Teoreticky (rešerše metodických příruček a publikací) i prakticky zvládnout standardní metody geometrické morfometriky.
- Elementárně prozkoumat tvarovou vnitrodruhovou variabilitu *P. ferrophila*.

1. Rozsivky, rod *Pinnularia* Ehr

1.1. Rozsivky

Rozsivky (Bacillariophyceae) (syn. Diatomae, Diatomophyceae) jsou jednobuněčné řasy žijící samostatně nebo v koloniích (KALINA et al. 2005). Podle současného náhledu na taxonomii vystupují jako třída, jež spadá do oddělení Heterokontophyta. Toto oddělení podle nových studií spadá do velké skupiny (můžeme možná říkat říše) *Chromalveolata* (SIMPSON & ROGER 2004). Oddělení je charakterizováno přítomností dvou heterokontních bičíků u zástupců s monadoidní stélkou, tj. bičíky jsou různě velké a mají každý jinou strukturu vlášení jejich povrchu, a dále tím že zástupci získaly chloroplasty sekundární endosymbiózou od ruduch.

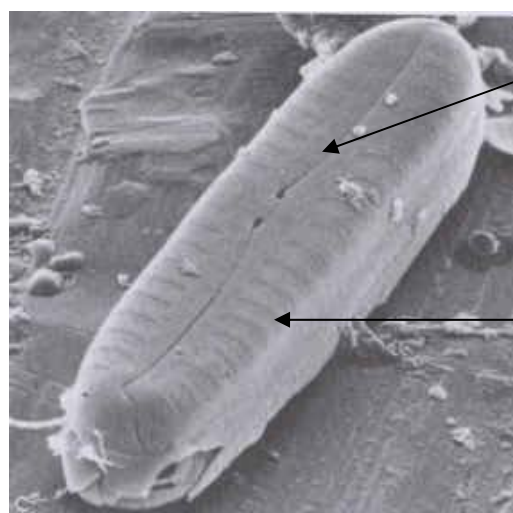
Rozsivky mají na svém povrchu pevnou buněčnou stěnu tvořenou polymery oxidu křemičitého, podobných minerálu opálu (KALINA et al. 2005) Tato buněčná stěna se nazývá frustula. Je tvořena dvěma do sebe zapadajícími částmi (tékami) asi jako dno a víko krabice. Rozsivky můžeme rozdělit do dvou skupin podle symetrie těchto frustul. Rozsivky s radiální symetrií frustuly se nazývají centrické, rozsivky s bilaterální symetrií frustuly jsou penátní (KALINA et al. 2005). Frustuly jsou velmi pozoruhodné útvary a na jejich tvaru a struktuře byla založena klasická taxonomie celé třídy rozsivek. Na povrchu frustul jsou různé objekty, které mohou komunikovat s prostředím protoplastu buněk a zajišťovat tak např. jejich pohyb po substrátu jako je tomu u struktury zvané raphe [čti rafé]. Raphe je jednoduše jakási štěrbiná probíhající od jednoho konce valvy k druhému. Valva se nazývá horní i dolní miska frustuly. Čili horní a dolní část frustuly mimo boční část. Klasická taxonomie dělí penátní rozsivky na dvě skupiny právě podle přítomnosti raphe. A podle ROUND et al. (1990) vypadá takto: centrické rozsivky se řadí do skupiny *Coscinodiscophyceae* a penátní rozsivky se dělí na skupinu *Fragilariophyceae*, kde jsou zástupci bez raphe a na skupinu *Bacillariophyceae*, kam náleží zástupci s raphe na frustule. Jednotlivé skupiny někteří autoři označují jako podtřídy jiní zase jako třídy. Tato základní klasifikace však neodpovídá výsledkům molekulární fylogenetiky. MEDLIN & KACZMARSKA (2004) navrhli alternativní taxonomii založenou na molekulárních datech. Tato klasifikace dělí rozsivky na dvě skupiny. První, která je nazývána *Coscinodiscophytina* zahrnuje centrické rozsivky se striktní radiální symetrií. Druhá skupina se nazývá *Bacillariophytina* a obsahuje centrické bi- nebo multipolární rozsivky (jsou to takové centrické rozsivky, jejichž valva vykazuje tvarovou

polaritu s více než dvěma osami symetrie) a penátní rozsivky. Vznik rozsivek proběhl pravděpodobně někdy v mezozoiku (druhohorách) (SIMS et al. 2006) První nálezy fosilií rozsivek jsou z období jury. Větší druhová rozmanitost fosilních rozsivek je až ze spodní křídy. První vzniklé druhy byly centrické a žily v moři. Penátní zástupci se objevují až v pozdním období svrchní křídy. Pravděpodobně se vyvinuly z centrických, ovšem je problematická otázka z kterých rodů to bylo. Ukazuje se, že to byly nejspíše bipolární centrické rody (SIMS et al. 2006). Trochu napovídají výsledky molekulárních analýz, kde se ukázalo že rod *Skeletonema* GREVILLE je v příbuznosti se skupinou penátních rozsivek s vysokým bootstrapem jako bazální linie, čili ho můžeme považovat za jejich předka (SIMS et al. 2006). První penátní rozsivky neměly raphe. Rozsivky s raphe se vyvinuly z těchto až někdy v období paleocénu (patří již do kenozoika) (SIMS et al. 2006). Výsledky výzkumů potvrzují, že obecný model molekulární evoluce dodnes žijících rodů rozsivek přiměřeně souhlasí s výsledky studia fosilních záznamů rozsivek.

1.2. Rod *Pinnularia*

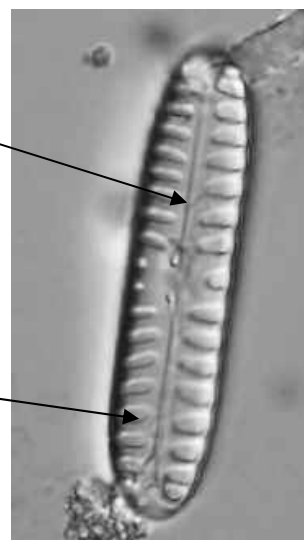
Rod *Pinnularia* (EHRENBERG 1843) Ber. Bekanntm Verh. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1843: 45 (nom. cons.). je rodem spadající do skupiny penátních rozsivek s raphe. Čili do skupiny *Bacillariophyceae*, podle členění KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986) do čeledi *Naviculaceae*. Buňky tohoto rodu žijí většinou samostatně, jen velmi vzácně tvoří kolonie páskovitěho tvaru. Obývají většinou sladké vody kde tvoří nárosty na bahně (je to epipelický rod) a zřídka moře (ROUND et al. 1990). Preferují spíše vody s nízkým obsahem elektrolytů (kontrast s biotopem *P. ferrophila*). Buňky mají navikuloidní tvar, tj. jsou přibližně podobné rozsivce rodu *Navicula* BORY, tj. podlouhlý tvar. Jsou většinou symetrické jak podle podélné (apikální) osy tak podle příčné (transapikální) osy (KRAMMER 2000) U některých druhů se tvar přibližuje kopinatému nebo eliptickému, okraje valv jsou někdy zvlňené (jako je tomu např. u *P. ferrophila*), někdy jsou póly valv rozšířeny v hlavičky nebo rostra. Raphe je umístěno na spodní i vrchní valvě (biraphidní rod) a je štěrbinového typu. To znamená, že má na příčném průřezu tvar ležatého písmene „V“ a komunikuje přímo s vnitřním prostředím buňky (ROUND et al. 1990). Raphe probíhá od jednoho konce valvy k druhému v poloze apikální osy. Ve středu valvy (tzv. centrální area) je přerušeno centrálním nodulem (ztlustlinou valvy), zde se raphe rozšiřuje na větší vždy stejným směrem zahnuté štěrbinu. Na koncích valvy tvoří raphe dlouhý záhyb. Další strukturou na povrchu

valvy jsou strie. Jsou to útvary viditelné při malém zvětšení mikroskopu jako jakési čárky při obou stranách valvy směřující více méně kolmo k apikální ose. Jsou tvořeny mnoha póry (tzv. areoly), které jsou vidět jen v elektronovém mikroskopu (CRATICULA.NCL.AC.UK 2007) Všechny tyto struktury na valvách jsou důležité determinační znaky, pro určování druhů a jsou také dobré pro využití v morfometrických analýzách. Buněčná stěna je u některých druhů zdvojená (KRAMMER 2000) Buňka obsahuje nejčastěji dva talířovité chloroplasty, které jsou umístěny po stranách protoplastu. Někdy jsou spojeny úzkým isthmem, probíhajícím pod horní valvou (ROUND et al. 1990). U mnohých druhů rodu *Pinnularia* chybí pyrenoid. Zde přišel velmi zajímavý objev. V chloroplastu druhu *Pinnularia* cf. *nobilis* byla nalezena symbiotická bakterie (SCHMID 2003). Tato bakterie v něm vytváří systém dutinek a kanálků a také perforuje membrány chloroplastu. Později byla nalezena bakterie také u jiných druhů rodu *Pinnularia*. Zatím není žádný spolehlivý poznatek, objasňující funkci tohoto prokaryotického organismu v rozsivce. Existuje však hypotéza, která říká, že bakterie tvoří s chloroplastem jakousi funkční jednotku a nahrazuje chybějící pyrenoid při temnostní fázi fotosyntézy (KOWALLIK 2003).



raphe

strie



Obr. 1: rozsivka rodu *Pinnularia*

Obr. 2: rozsivka rodu *Pinnularia*

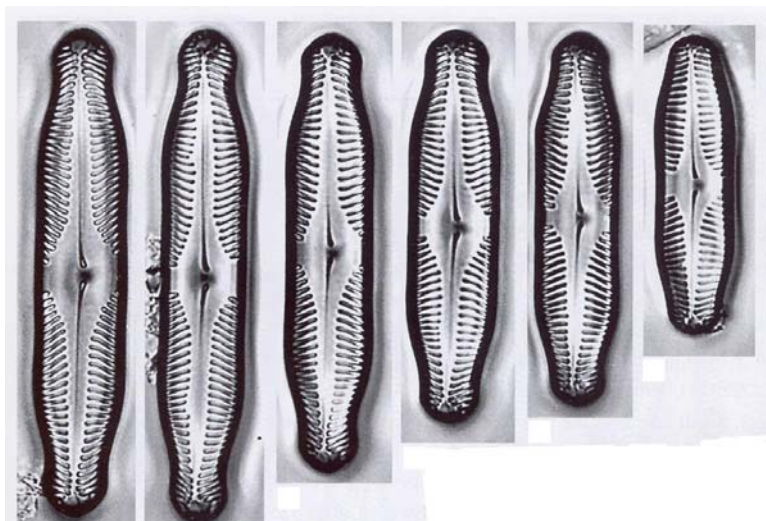
(oba převzaty z Krammer K. et Lange-Bertalot H. 2000)

CLEVE (1895) rozdělil rod *Pinnularia* do devíti skupin na základě morfologických znaků. Ale jednotlivé skupiny nebyly od sebe dosti ostře odděleny. Objevy nových sladkovodních druhů, však ukázaly, že toto dělení již není schopno je klasifikovat. S postupem doby, kdy se objevovalo stále více nových druhů, se ukázalo, že toto dělení není

moc dobré. KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986) a KRAMMER (1992a, 1992b) poté vytvořili nové umělé skupiny, které nejlépe odpovídaly tehdejšímu znalostem o diverzitě rozsivkových druhů. Například KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986) uvádí v určovacím klíči navikuloidních rozsivek (edice Süßwasserflora von Mitteleuropa) těchto šest skupin: skupina okolo *P. borealis* (*Distantes*), skupina okolo *P. brevistriata* (*Brevistriateae*), skupina okolo *P. acoricola*, skupina okolo *P. divergentissima*, skupina kolem *P. microstauron* a skupina okolo *P. viridis*. Avšak i zde bylo mnoho rozsivek, které ten čistě morfologický systém nemohl postihnout, tyto byly tedy popsány jako morfotypy. Po pozdějších výzkumech byly některé z nich buď formálně nově druhově nazvány anebo byly přeřazeny do již existujících taxonů. V průběhu doby se od rodu *Pinnularia* oddělily nové rody jako třeba *Pulchella*, *Hygropetra* nebo *Alveovallum*, všechny většinou popsané Krammerem nebo Lange-Bertalotem. KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986) tvrdili, že existuje přibližně 50 druhů rodu *Pinnularia*. Avšak po detailních studiích evropských druhů se začalo odhadovat, že druhů existuje celosvětově asi 1500 (z toho jen asi 10 je mořských). Při pozorování v elektronovém mikroskopu bylo zjištěno, že struktury na valvě rodu *Pinnularia* jsou velice podobné rodu *Caloneis* CLEVE. Vzešla tedy otázka jak jsou si oba rody příbuzné. Je to ovšem velice složité, neboť oba rody jsou jistě polyfyletické. Podle definice (MAYER 1969, 1975) je rod taxonomická kategorie s jednotnými druhy nebo monofyletická skupina druhů oddělených od ostatních druhů jiného rodu zřetelnými rozdíly. Oba rody by se tedy musely rozpadnout na mnoho monofyletických jednotek.

1.3. *Pinnularia ferrophila*

Pinnularia ferrophila, spadající do skupiny *Capitatae*, je druh popsáný v roce 2000 německým algologem Kurtem Krammerem z typového preparátu z roku 1917, který nese název: „Kaiserwald near Franzensbad, Bohemia, ferric-oxide mud in a mineral spring“. Přeloženo do češtiny je to: Císařský les blízko Františkových Lázní, Čechy, bahno s oxidy železa v minerálním pramenu. Císařský les je starší název pro dnešní oblast Slavkovského lesa. O původu preparátu nevíme nic. Dosud také nebyly nalezeny žádné prameny zmiňující se o nějakém dosti frekventovaném druhu rozsivky v epipelonu vývěrů železitých minerálních vod na celém světě.



Obr. 3: *Pinnularia ferrophila* (převzato z Krammer K. et Lange-Bertalot H. 2000)

Druh je tedy známý pouze z této blíže neurčené lokality kdesi u Františkových Lázní. Vznikla tedy domněnka, že bude nejspíše endemit západních Čech. Myslím, že to je nejožehavější otázka okolo tohoto druhu. Geneze celé problematiky je popsána v úvodu této práce.

Nyní popíšu morfologii druhu dle KRAMMER (2000). Obrys valvy lineární, okraje valv u mnoha jedinců mírně triundulátní u nepatrné skupiny biundulátní s konkávním tvarem. Konce valv jsou u většiny široce rozšířeny v hlavičku u některých jsou jen nevýrazně zaoblené. Délka buňky je 30–62 μm , šířka 8,8–10 μm . Středové štěrbin na raphe jsou poměrně velké, mají kapkovitý tvar a jsou zahnuté proti směru zahnutí terminálních štěrbin. Axiální area (oblast kolem celého raphe) se plynule rozšiřuje z konců valvy do středu, kde má rhomboidní (kosočtverečný) tvar a zaujímá největší šířku zhruba 1/5 až 1/4 šířky valvy. Strie jsou velmi robustní, chybí ve středové oblasti. Jejich počet je 9–10 na 10 μm . Druhy morfologicky podobné druhu *P. ferrophila* jsou např. *P. biceps* (Gregory 1856), která se však liší konci valv, axiální i centrální areou a robustnějšími striemi. *P. mayeri* (*P. braunii* var. *amphicephala*) KRAMMER, je spíše delší a užší, *P. amabilis* KRAMMER, jež má jinak uspořádané strie okolo středové oblasti valvy nebo *P. bicapitata* CLEVE. Velice ekologicky podobný druh je *P. ferroindulgentissima* CZARNECKI & CAWLEY. Tímto druhem se budu zabývat podrobněji dále. Jak již bylo řečeno druh *P. ferrophila* je znám pouze z typové lokality. Je to tůň, napájená vodou z minerálního pramenu, voda je hydrogenuhličítá s vysokým obsahem minerálů železa. Dle mých odhadů na základě hydrogeologických

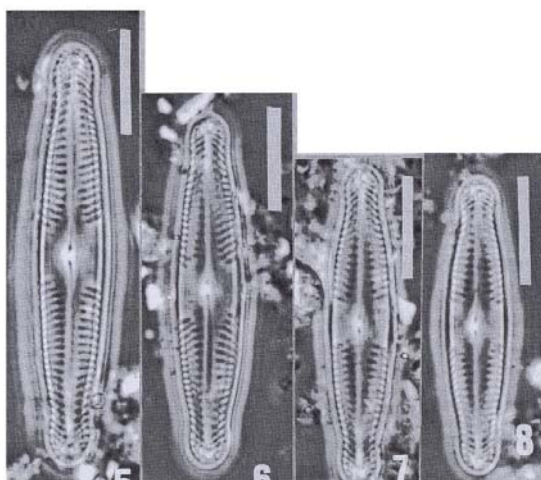
průzkumů lokalit (PĚČEK 1992) je to asi 20-50 mg/l. Rozsivka tvoří nárosty na bahně u dna těchto tůní. Tento popis biotopu odpovídá i mým pozorováním na třech nalezištích.

1.4. *Pinnularia ferroindulgentissima*

Jak již bylo zmíněno, druh *P. ferroindulgentissima* je velmi ekologicky i morfologicky podobný druhu *P. ferrophila*, prakticky jediný takto podobný druh svou vázaností na železo v prostředí. Spadá opět do skupiny *Capitatae*. Jde též o velice pozoruhodný organismus a možná také endemitní. Jelikož místo jeho naleziště, ze kterého byl popsán je zatím jediné na světě.

Iowa (jeden ze států USA) má bohatá ložiska černého uhlí. To se zde také po dobu mnoha desítek let těžilo metodami povrchové těžby. V sedimentech se spolu s uhlím nalézají také dosti různých kyselivotvorných minerálů jako např. pyrit (FeS_2) a jiných minerálů železa. Těžba ustala ke konci 60. let minulého století. V 70. letech začal probíhat výzkum kvůli možné revitalizaci krajiny. Zkoumali se těžební jámy zaplavené vodou, která díky výše zmiňovaným nerostům vykazovala kyselou reakci (pH okolo 3) a vysokou koncentraci železa (88-120 mg/l). Při průzkumu planktonu (CZARNECKI & CAWLEY 1997) se narazilo na druh rozsivky z rodu *Pinnularia*, která zde byla poměrně četná. Jedinci však neodpovídali žádnému ze známých druhů. Rozsivka byla tedy popsána jako nový druh s názvem *Pinnularia ferroindulgentissima*.

CZARNECKI & CAWLEY (1997) ji charakterizují následovně: Valvy mají čistě lineární až kopinatý tvar. Okraje jsou hladké a konvexní. Konce vybíhají v hlavičky. Délka buněk je 23-44,5 μm , šířka 5,75-7,25 μm . Počet strií na 10 μm kolísá mezi 14-16.



Obr. 4: *Pinnularia ferroindulgentissima* (převzato z Czarnecki D.B., Cawley E.T 1997)

	délka buňky [μm]	šířka buňky [μm]	poměr délka/šířka	počet strií na 10 μm	celkové železo v prostředí [mg/l]	pH prostředí	konduktivita prostředí [μS/cm]
<i>Pinnularia ferrophila</i>	30-62	8,8- 10	3,3-5,4	9-10	20-50	5,7-6	1050-2637
<i>Pinnularia ferroindulgentissima</i>	23- 44,5	5,75- 7,5	4-6	14- 16	88-120	2,7-3,2	1200-4590

Tab. 1: Srovnání morfologických a ekologických parametrů druhů *P. ferrophila* a *P. ferroindulgentissima*

Proč je železo pro tyto rozsivky tak důležité? Touto otázkou se zatím nikdo důkladněji nezabýval. Víme jen to, že například růst fytoplanktonu v mořích limituje právě železo (KOBÍŽEK & PRÁŠIL 2003). Rozsivky tvoří značnou část mořského fytoplanktonu a zajišťují téměř polovinu celkové fixace uhlíku. V redukční atmosféře Země se v raných dobách jejího geologického vývoje nacházela značná část železa v mořích. Za nepřítomnosti kyslíku se zde železo vyskytovalo ve formě dobře rozpustných železnatých iontů. Po rozvoji oxygenní fotosyntézy a vzniku kyslíkové atmosféry oxidovaly železnaté ionty na ionty železité. Ty jsou v mořské vodě téměř nerozpustné, což vedlo k jejich masivnímu vysrážení a vzniku mocných geologických usazenin. V současné době je patrně jediným zdrojem železa v mořích prach přivátý z pevnin (KOBÍŽEK & PRÁŠIL 2003). Experimenty ukázaly, že obsah železa má značný vliv na intenzitu fotosyntézy. Čím je ho více tím je intenzivnější. Není divu, neboť železo je součástí mnoha přenašečů elektronů ve fotosyntetickém řetězci, jako např. cytochromy, flavoproteiny nebo ferredoxin (KINCL & KRPEŠ 1994). CO₂ je jedním z hlavních „skleníkových“ plynů. Paleoklimatologické záznamy ukazují korelaci mezi množstvím prachu (který obsahuje železo), koncentrací CO₂ a teplotou za poslední čtyři glaciály. Na základě toho vznikla hypotéza, že v průběhu glaciálů, kdy bylo klima celkově sušší a větrnější, byl výraznější přísun železa do oceánů. Vedlo to ke zvyšování fixace CO₂ a tím i dalšímu poklesu globální teploty (KOBÍŽEK & PRÁŠIL 2003).

2. Slavkovský les, minerální prameny a studované lokality

Typový preparát a nález kolegů z algologického pracoviště shodně naznačují, že oblast výskytu druhu *P. ferrophila* je kolem Františkových Lázní a Mariánských Lázní. V této oblasti ale i jinde jsem podnikl několik průzkumů vytipovaných lokalit. Podařilo se mi mezi nimi objevit další dvě naleziště druhu. Celkem jsou tedy tři. Jsou to pramen Farská kyselka v CHKO Slavkovský les, Čihanské prameniště také v CHKO Slavkovský les a pramen Kyselecký hamr, který již neleží v CHKO Slavkovský les ale poblíž Chebu jižním směrem.

2.1. CHKO Slavkovský les

CHKO Slavkovský les (dále jen Slavkovský les) je nevysoké pohoří, rozkládající se mezi jihozápadní částí Krušných Hor, Smrčinami a Českým lesem. Má rozlohu 640 km². Geomorfologicky je součástí Krušnohorské soustavy a podsoustavy Karlovarská vrchovina, z níž největší část zaujímá Slavkovský les, menší část na jihovýchodě pak Tepelská vrchovina (WIKIPEDIA 2007). Průměrná nadmořská výška oblasti je zhruba 600 m n. m. Nejvyšším vrcholem je Lesný (983 m n. m.) (RUBÍN 2003). Převážná část oblasti má vrchovinný charakter s rozlehlými lesními komplexy a planinami extenzivně obhospodařovaného bezlesí. Na území jsou také četná rašeliniště, rozprostírající se v lesích a rašelinných lukách. Největší je v oblasti Kladské severně od Mariánských Lázní. Ve Slavkovském lese byly registrovány asi tak dvě stovky minerálních pramenů. Jde o místa ovlivněná postvulkanickou činností, kde vyvěrají teplé i chladné kyselky (RUBÍN 2003). Postvulkanická činnost se také projevuje výrony samotných juvenilních plynů (tj. takových plynů, které jsou původem z litosféry (KUMPERA et al. 1988)). Tyto výrony se nazývají mofety. Jedním z míst, kde se nalézají je PR Smrad'och (velmi blízko pramene Farská kyselka). Současná podoba Slavkovského lesa je výsledkem dlouhého a složitého vývoje. Ke konci druhohor došlo k alpínskému vrásnění, které zdeformovalo do té doby převážně rovinnou oblast (CHKO SLAVKOVSKÝ LES 2007). Ve třetihorách zde byla silná sopečná činnost, která také poznamenala reliéf dalšími geologickými jevy, mezi něž patří také vypreparované výlevy čedičů a znělců (RUBÍN 2003). Prochází tudy také tzv. litoměřický zlom, oddělující krušnohorskou a středoečskou oblast. Území Slavkovského lesa je tvořena převážně žulovými horninami. Zhruba jde o dva typy granitoidů: jednak starší žuly tzv.

horského typu, druhý typ je mladší tzv. krušnohorský typ (MARIÁNSKÉ LÁZNĚ 2007). Za pozornost stojí také pruh hadců, táhnoucí se od Mariánských Lázní k Nové Vsi. Poskytuje ojedinělé podmínky pro růst mnoha vzácných rostlin. Jako je tomu např. v NPP Křížky, kde se vyskytuje endemité druh *Cerastium alsinifolium* (rožec kuřičkolistý) (RUBÍN 2003). Charakter rostlinných společenstev je rozmanitý. Rozsáhlým lesním porostům dominuje smrk. Najdeme ale i jiná společenství jako jsou lužní lesy s dominantním druhem *Alnus glutinosa* (olše lepkavá), které tvoří např. území lokality Číhaňské prameniště. Dále lesy suťové, doubravy, bučiny a bory. Bezlesí tvoří louky, opět rozmanité ve skladbě druhů. Velmi ceněné jsou mokřadní louky s upolínou (např. *Trollius altissimus*), vstavači a kosatci. Bezlesí je dále tvořeno mnoha rašeliništi převážně vrchovištního typu (CHKO SLAVKOVSKÝ LES 2007).

Prameny minerálních vod se staly velkým atributem tohoto kraje, který se tak dostal do povědomí mnoha lidí. Vzniklo zde několik světově známých lázeňských měst jako jsou Karlovy Vary, Mariánské Lázně a Františkovy Lázně. Na minerálních vodách je nejspíše závislý i výskyt *P. ferrophila* proto o nich teď pohovořím.

2.2. Minerální vody a prameny

Minerální vody jsou podzemní vody, které obsahují rozpuštěné tuhé látky nebo plyny, které se nevyskytují v prostých podzemních vodách, nebo nejsou v nich obsaženy v tak velkém množství, nebo se liší od prostých podzemních vod podstatně zvýšenou teplotou (HYNIE 1963). Rozpuštěné tuhé látky můžeme rozdělit do 3 skupin (HYNIE 1963). První skupinou jsou látky, které se vyskytují ve velkém množství. Z kationů to jsou alkalické kovy Na^+ , K^+ a kovy alkalických zemin Ca^{2+} , Mg^{2+} , z anionů HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- . Druhou skupinu tvoří řádově menší obsahy vzácných látek. Z kationů to jsou zejména Li^+ , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} , z anionů Br^- , I^- , F^- , AsO_4^{3-} , z neelektrolytů HBO_2 . Třetí skupinou jsou obsahy stopových prvků těžkých kovů Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} aj., opět řádově menší než obsahy vzácných látek. Obdobné poměry jsou u rozpuštěných plynů. Velkými obsahy je zastoupen v minerálních vodách CO_2 a dále N_2 . Řádově menší jsou obsahy H_2S . Jistou obdobou stopových prvků je obsah kovového radia (Ra) a plynného radonu (Rn). Vlastní jev více méně soustředěného výstupu minerální vody na povrch nazýváme vývěr (HYNIE 1963). Pojem pramen, minerální pramen se vžil pro vývěr v určité spojitosti s cestami nebo s akumulací minerální vody bezprostředně nebo mělko pod povrchovým vývěrem. Nesoustředěný, plošně více méně

rozptýlený přírodní pramen nazýváme prameništěm. Od přírodních pramenů rozeznáváme jímané prameny. Pojem zřídlo, minerální zřídlo, se používá jako nejširší pojem pro komplexní jev výskytu minerální vody, určité geneze, s eventuálním souborem pramenů, ve spojitosti s hlubšími přívodními cestami minerální vody, nejčastěji v souvislosti s celým jejím hloubkovým režimem. Podle trvalosti se prameny dělí na permanentní (trvalé), občasné a periodické.

Podzemní vody mají svůj původ buď v infiltraci srážek do půdy, kde dále sestupuje puklinami a póry v hornině (tzv. vadózní voda) nebo v kondenzaci par unikajících při magmatizmu a metamorfizmu z hloubek do povrchových částí zemské kůry (tzv. juvenilní voda) (KUMPERA et al. 1988). Minerální vody pocházejí většinou z vod vadózních. Při pronikání vod do větších hloubek se voda současně ohřívá na teplotu okolních hornin, která směrem do hloubky stoupá. Podzemní vody rozpouští některé látky v horninách a tak se mineralizují. Pokud se tato voda dostane až k patě svahu nebo k místu, kde má snadnou cestu na povrch, pramení jako pramen prosté vody. Oxid uhličitý, který je magmatického původu jako poslední zbytek třetihorního vulkanismu; vystupuje k zemskému povrchu po puklinách z velkých (kilometrových) hloubek podél zlomových linií. Setká-li se proud podzemní vody s vystupujícím plynem, dochází ke vzniku kyselky (minerální voda s obsahem více než 1g volného CO₂ v 1 kg vody). Oxid uhličitý se ve vodě rozpouští. Současně se silně zvyšuje schopnost rozpouštění minerálních látek z okolních hornin, neboť roztok oxidu uhličitého ve vodě vytváří slabou kyselinu. Rozpouštění je také intenzivnější čím je voda teplejší. Okolní voda, ve které se plyn nerozpustil, pokračuje dále ve své původní cestě a s kyselkou se - vzhledem k rozdílům v hustotě - prakticky nemísí. Stoupající proud kyselky si pak najde nejkratší a nejpohodlnější cestu k povrchu nezávisle na směru a sklonu toku původní podzemní vody. Při výstupu kyselky k povrchu dochází vlivem snížení okolního tlaku k uvolňování plynu, který svým tlakem ještě rychlost výstupu urychluje (MARIÁNSKÉ LÁZNĚ 2007). Minerální prameny jsou často vázány na tektonické linie (zlomy a skupiny zlomů). V oblasti Slavkovského lesa je to především litoměřický zlom a s ním rovnoběžné další zlomy anebo mariánskolázeňský zlom. Z těchto zlomů často uniká postvulkanický CO₂ a migrují v něm nahoru horniny z hlubších vrstev. Ty v sobě nesou různé látky, jež se poté rozpustí do minerální vody (MARIÁNSKÉ LÁZNĚ 2007).

Široká mariánskolázeňská zřidelní oblast je nejbohatší kyselkovou oblastí v Českém masivu (HYNIE 1963). Je zde okolo 200 pramenů a z toho asi 50 na území Mariánských Lázní. Minerální vody z těchto pramenů jsou většinou studené o průměrné teplotě 8-10°C,

většinou málo mineralizované (jen málokdy překročí obsah pevných látek 1g v 1l). Vznikají převážně v malých hloubkách, 30-100 m pod povrchem země. Velké odlišnosti však panují v jejich chemickém složení. Na poměrně malém území těsného okolí Mariánských Lázní najdeme totiž 6 různých chemických druhů vod. Tato zvláštnost je dána právě složitou geologickou stavbou území, kde najdeme horniny od kyselých žul či rul po basické amfibolity a ultrabazické serpentinity. Podle toho, kde minerálka vzniká, tedy kterými horninami voda protéká, se rozpouští různé chemické látky. Tak u pramenů původem z oblasti žulových hornin nacházíme vody převážně sodno-síranochloridového typu, často silně mineralizované prameny z oblasti amfibolitů jsou nejčastěji vápenato-hořečnatohydrogenkarbonátového typu. Z oblasti hadců pak pochází prameny hořečnatohydrogenkarbonátové. Kromě těchto tří základních typů zde najdeme i různé typy přechodné, vzniklé buď mísením různých pramenů v oblasti vývěru nebo tím, že voda postupuje postupně více druhy hornin (v tomto případě se na složení rozpuštěných látek podílí nejen prosté vyluhování horniny, ale i schopnost výměny některých iontů s okolím). Tyto typy pramenů jsou v oblasti nejčastější (MARIÁNSKÉ LÁZNĚ 2007).

2.3. Studované lokality

Detailněji zde popíšu tři lokality, v nichž jsem našel druh *P. ferrophila*. O lokalitách, které jsem také zkoumal, ale neprokázal jsem zde výskyt druhu, se jen zmíním.

Studované lokality s druhem *P. ferrophila*

- **Farská kyselka** (CHKO Slavkovský les)
- **Čihanské prameniště** (CHKO Slavkovský les)
- **Kyselecký hamr**



Obr. 5: Mapa s vyznačením polohy lokalit

Farská kyselka

Lokalita Farská kyselka se nalézá asi 5 km severně od Mariánských Lázní. Je zde vývěř studené železité kyselky, který je obestavěn dřevěným altánem. Samotný vývěř je taktéž jímán dřevěnou jímkou. Kyselka je z vývěru svedena úzkou stroužkou do tůně hned vedle altánu. Z této tůně ale i ze samotného vývěru jsem odebíral vzorky. Parametry byly měřeny v tůni. Tůň je od usazených sedimentů železa zbarvená rezavohnědou barvou, voda má na povrchu jakýsi zákal.. To vše obklopuje smrkový les. V blízkosti se nalézají mofety (NPR Smrad'och). Rozsivku jsem našel v epipelonu při dně tůně, v samotném vývěru nikoli a ani ve spojovací stroužce.

Číhanské prameniště

Lokalita Číhanské prameniště (také jen Číhaná) leží zhruba 7 km severovýchodně od Mariánských Lázní u obce Číhaná. Jedná se o udolní nivu Lučního potoka. Jsou zde společenstva lužního lesa. To znamená pomáčené olšiny, břízy a vrby. Vyskytuje se zde také relativně vzácná rostlina *Menyanthes trifoliata* (vachta trojlistá). Na tomto území leží poměrně rozlehlé přírodní prameniště. Tj. je zde mnoho vývěřů studených železitých kyselek

různé intenzity. Okolo těchto pramenů se vytvořily tůně různé velikosti, které jsou neustále napájeny minerální vodou z pramenů. Na dně je opět rezavohnědý železitý sediment. Jsou zde patrné i nárosty železitých bakterií. Obsah železa v těchto kyselkách je okolo 20 mg/l (PĚČEK 1992). Na lokalitě jsem vytipoval jednu tůň větší tůň, ze které jsem sbíral vzorky též z epipelonu. Tuto tůň jsem rozdělil na dva body podle charakteru mikrobiotopu, který poskytují. První bod (**bod A**) leží skoro u velmi intenzivního vývěru, byl nezastíněný a bez organického opadu (jako listí apod.). Druhý bod (**bod B**) leží ve větší vzdálenosti od intenzivního vývěru, je zastíněný stromy a je zde také organický opad. Studovaná rozsivka se vyskytuje na obou bodech, početnost buněk je zde na tomto nalezišti zdaleka nejvyšší.

Kyselecký hamr

Lokalita Kyselecký hamr, leží jižně od Chebu blízko NPP Železná hůrka. Je zde též vývěr, nalézající se opět v dřevěném altánu a jímaný dřevěnou jímkou. Kyselka je opět studená a železitá (obsah železa je kolem 30 mg/l (PĚČEK 1994)), odtéká z vývěru úzkou stružkou do většího potoka poblíž. Vegetaci biotopu dominují porosty olše společně s břízami obklopenými mladším smrkovým lesem. Rozsivka se vyskytuje v epipelonu těsně vedle dřevěné jímkou vývěru a ve stružce poblíž altánu. Zajímavým zjištěním byla pro mne skutečnost, že se *P. ferrophila* nalézá pouze na těchto konkrétních místech a nikoli v okolních mokřadech, tvořených vodou již s ne tak vysokým obsahem železa. tady je velice názorně vidět, že početnost druhu ve směru ubývání koncentrace železa nápadně ubývá. Parametry byly měřeny u dřevěné jímkou vývěru.

Další lokality, které jsem prozkoumal, avšak neprokázal výskyt druhu *P. ferrophila* byly NPR Soos, kde jsem odebral vzorky z mnoha biotopů (typicky „ferrofiloidních“) a dále vývěr železité kyselky u Nového města pod smrkem v Jizerských horách. Tato zjištění stále podporují domněnku možného endemizmu studované rozsivky.

3. Experimentální práce a výsledky

Provedené studie

- průzkum nalezišť druhu *P. ferrophila*, změřit zde základní abiotické parametry (pH, teplota, konduktivita), popsat početnost studovaného druhu a elementárně postihnout ostatní druhy algoflóry
- základní srovnání vnitrodruhové tvarové variability druhu *P. ferrophila*.

3.1. Metodika

3.1.1. Metodika průzkumu nalezišť a laboratorního zkoumání vzorků

Při průzkumu vytipovaných nalezišť, jsem pro orientační zjištění algoflóry používal kapesní mikroskop Peak (75 a 100 krát zvětšující). Dále jsem pro měření veličin pH, teplota, konduktivita používal multiměřicí přístroj Hanna instruments (Combo). Odebíral jsem vždy vzorky jemného železitého epipelonu ze dna mělký tůň většinou tam, kde jsem pozoroval nějaké nárosty organismů.

Data odběrů

19.5.2006	Farská kyselka, Číhanské prameniště (jen bod A)
16.8.2006	Kyselecký hamr
2.10.2006	Číhanské prameniště (bod A a B)

V laboratoři jsem vzorky uchovával v prosklené lednici s osvětlením. Studoval jsem je pomocí světelného mikroskopu Olympus CX31 v nativním stavu a dále z nich připravoval trvalé preparáty pro studium rozsivek (KALINA 1994). Trvalé preparáty dají vyniknout strukturám rozsivkových frustul, neboť živý protoplast buňky se zahubí. Tyto preparáty jsem připravoval vyžiháním vzorku nad plamenem. Nejdříve jsem nanesl nepatrné množství vzorku na krycí sklíčko, rozetřel ho po něm a na azbestové síťce nad hořícím kahanem jsem po určité době (2 až 3 minuty) vzorek žíhal. Organické látky zprvu zuhelnatí a dalším

žiháním oxidují na CO₂. Dále jsem nanesl na podložní sklíčko pár kapek nafraxu (pryskyřice, která zlepšuje pozorování preparátu v mikroskopu díky tomu že má dobrý index lomu) a krycí sklíčko s vyžiháním preparátem na něj přilepil a ponechal to celé asi den schnout. Dále byla mým cílem příprava fotografií rozsivek v trvalém preparátu. Ty jsem pořizoval za pomoci mikroskopu Olympus BX51, opatřeném digitálním fotoaparátem Olympus Z5060.

3.1.2. Geometrická morfometrika a její metodika

K analýze tvarové variability jsem použil základních metod landmarkové geometrické morfometrie. Geometrická morfometrie (dále jen GM) je dynamicky rozvíjející se obor, zkoumající morfologii a tvar organismů pomocí exaktních metod vybudovaných na základě různých matematických disciplín jako jsou například geometrie a statistika. GM tak znovu oživuje zaniklou slávu morfologických disciplín v současné době značně překrývaných metodami čistě genetickými nebo molekulárně biologickými. Tvarová analýza se totiž stává více a více důležitá v mnoha biologických studiích, neboť velká diverzita biologických procesů má za následek také obrovskou tvarovou diverzitu mezi jedinci téhož druhu nebo jejich částmi například jako následek nemoci nebo zranění, ontogenetického vývoje, adaptace na lokální geografické podmínky nebo následek prosté evoluce druhu. Je toho celá řada. A tak se tvarová analýza uplatňuje jako nepostradatelný pomocník v medicíně, v biologickém výzkumu i jinde.

Pro provedení tvarové studie jsem použil několik počítačových programů umožňujících GM techniky. Tyto programy jsou volně stažitelné z internetové stránky <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Byly to tyto programy: tpsDig, Version 1.40 (ROHLF F. J. 2004), tpsUtil, Version 1.26 (ROHLF F. J. 2003), tpsRelw, Version 1.39 (ROHLF F. J. 2004), PAST, Version 1.40 (HAMMER O. & HARPER D.A.T. 2006) a CVAGen6j (SHEETS H.D. 2003), CoordGen6f (SHEETS H.D. 2001), jež je součástí statistického balíku IMP.

Do tvarové studie jsem zahrnul vzorky ze všech výše zmiňovaných odběrů. Z každého odebraného vzorku jsem po vytvoření trvalého preparátu vyfotil skupinu 29 digitálních mikrofotografií druhu *P. ferrophila* (ve formátu JPG) na zvětšení mikroskopu 1000-krát. Následnou prací bylo zpracování těchto fotografií v počítačových programech.

3.1.2.1 Digitalizace landmarků

Na druhu studované rozsivky jsem zvolil 30 tzv. homologních bodů neboli landmarků. Ty jsou vybírány tak, aby byly dobře rozlišitelné na každém jedinci a byly mezi nimi homologické. Zde u rozsivek se právě hodí pro tyto body struktury na povrchu valvy. Body však nejsou jednotného typu ve smyslu Booksteinem navržené typologie (BOOKSTEIN 1991). Já jsem užil 2 typy, první tzv. pevné landmarky jsou umístěny na bodech, které vymezují extremity a jsou v rámci populace striktně homologické, tyto jsem umístil na vnitřní okraje posledních strií v centrální oblasti valvy a na vnitřní stěrbiny raphe. Celkem tedy 6. Druhé jsou tzv. semilandmarky, jejich lokalizace není přesně definována, mezi zkoumanými jedinci v populaci může kolísat. Semilandmarky se v superimpozičních technikách mohou pohybovat po přímce a vystihnout tak nejlépe např. obrys. Použil jsem tedy celkem 24 semilandmarků k zachycení celého obrysu rozsivky. Každý landmark představuje dvojici souřadnic (x, y) v rovině. Program, ve kterém se landmarky přiřazují fotografii je tpsDig, Version 1.40 (ROHLF F. J. 2004)

3.1.2.2. Symetrizace dat

Již bylo řečeno, že studovaný druh má dvě roviny symetrie, apikální a transapikální. Symetrie objektu však může být rušena tzv. flukтуаční asymetrií, projevující se v podobě drobných odchylek od perfektní symetrie rovnoměrně rozložených na obou symetrických polovinách, jejichž součet je (v rámci např. populace jednoho druhu) roven nule. Z tohoto důvodu jsem provedl tzv. symetrizaci objektu, která jí má odstranit (KLINGENBERG et al. 2002). Jako osa symetrie vystupovala transapikální osa. Zjednodušeně řečeno, landmarky z jedné poloviny objektu se dle osy symetrie přesunou na zrcadlově protilehlou polovinu a v této poloze se zprůměrují se svými protějšky. Vráť se zpět na svou polovinu a totéž se děje s landmarky z druhé poloviny. Vzniklé „průměrné“ landmarky představují tedy objekt symetrizovaný. K symetrizaci jsem použil programy PAST, Version 1.40 (HAMMER O & HARPER D.A.T 2006), tpsRelw, Version 1.39 (ROHLF F. J. 2004), Microsoft Excel a Word Pad.

3.1.2.3. Analýza relativních warpů

Analýza relativních warpů (RWA) je základní exploratorní technikou, běžně užívanou v landmárkové geometrické morfometrice. Metoda je založena na analýze hlavních

komponent (PCA) matice deformační energie (ZELDITCH et al. 2004). Jejím účelem je prozkoumat základní strukturu dat. Jejím výstupem je série vektorů (relativních warpů) směřujících ordinačním prostorem ve směrech nejvyšší tvarové variability datového souboru. To znamená, že podél jednotlivých os můžeme sledovat konkrétní tvarové změny na objektech. Podobně jako v PCA i v RWA můžeme proporci zachycené variability zachytit určitou procentuální hodnotou. Každý z objektů nabývá v ordinačním prostoru definovaným relativními warpy hodnoty tzv. skóre. Tyto skóre považujeme za morfometrické proměnné a můžeme je dále použít v technikách pracujících již s testováním statistických hypotéz (např. diskriminační analýza). Ke spočtení analýzy relativních warpů jsem použil program tpsRelw, Version 1.39 (ROHLF F. J. 2004) Tentýž program též umožňuje tvarové změny na objektech ilustrativně vizualizovat.

3.1.2.4. Analýza kanonických variát (CVA)

Techniku CVA používáme k testování hypotézy o statistické odlišnosti skupin na základě zvoleného kritéria. V podstatě se jedná o diskriminační analýzu pro více než dvě skupiny. Na rozdíl od RWA zde hledáme maximální rozdíly ne mezi jedinci ale mezi skupinami (ZELDITCH et al. 2004). Zde jsem pracoval s programem CVA Gen6j (SHEETS H.D. 2003) z řady statistických programů IMP. Výsledné skóre objektů na extrahovaných osách (kanonických variátách) lze uložit jako hodnoty v textovém formátu pro další užití.

3.2. Výsledky

3.2.1. Parametry nalezišť a řasová flóra

Ukázalo se, že diverzita řasové flóry (obecně všech eukaryot) lokalit je velmi chudá, snad pro tak extrémní podmínky, které zde panují. V každém vzorku jsem objevil přeci jen několik jiných druhů než *P. ferrophila*. Pro pokryvnost vzorku druhem jsem subjektivně zvolil třístupňovou škálu. Od hodnoty 1, která znamená nejmenší pokryvnost po hodnotu 3, znamenající pokryvnost největší. Veškeré výsledky shrnuje následující tabulka.

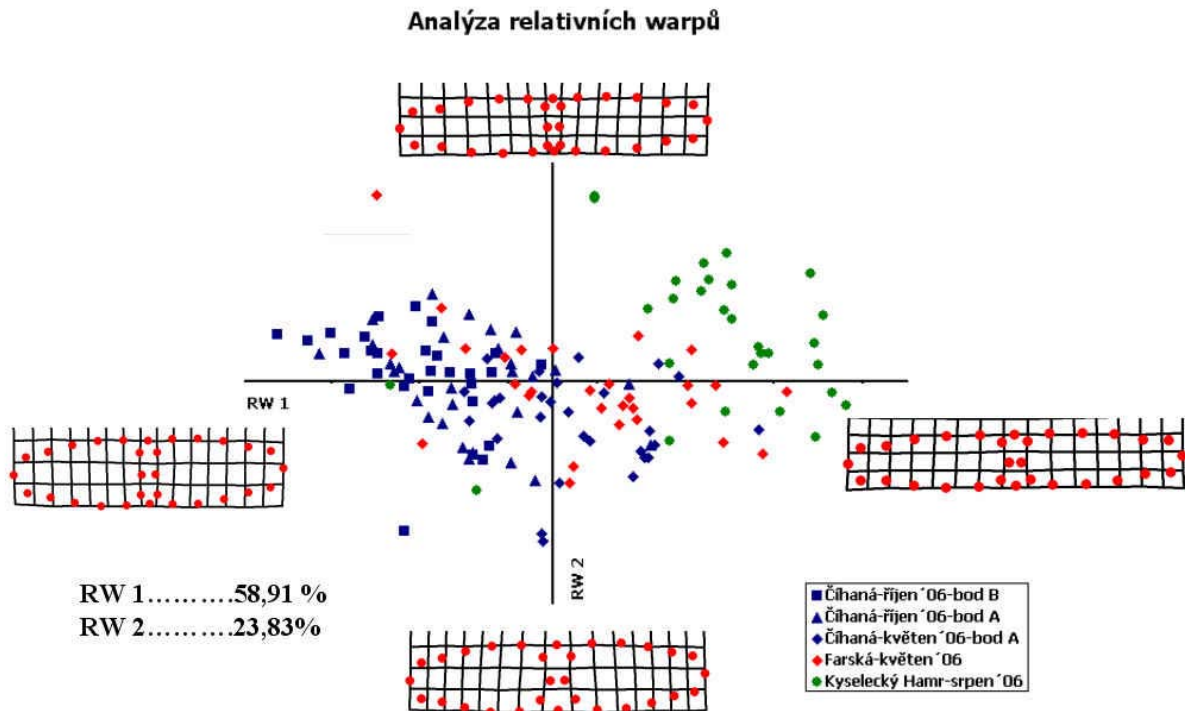
	pH	Konduktivita [μ S/cm]	Teplota [°C]	Pokryvnost <i>P. ferrophila</i>	Jiné druhy a jejich pokryvnosti
Farská kyselka (květen 06)	5,8	394	12,2	1	<i>Pinnularia viridis</i> (1) <i>Achnanthes lanceolata</i> (1) <i>Chlamydomonas</i> sp. (1)
Kyselecký hamr (srpen 06)	6	2637	10,1	2	<i>Navicula</i> sp. (2) <i>Chlamydomonas</i> sp. (1)
Číhaná B. A (květen 06)	5,7	1050	9,9	3	<i>Chlamydomonas</i> sp. (1-2)
Číhaná B. A (říjen 06)	5,7	1450	9,1	2-3	<i>Chlamydomonas</i> sp. (1)
Číhaná B. B (říjen 06)	6	1300	11,8	3	<i>Oscillatoria</i> sp. (1) <i>Anabaena</i> sp. (< 1)

Tab. 2: Abiotické parametry nalezišť *P. ferrophila* a jejich řasová flóra
(**B. A:** bod A na Číhané; **B. B:** bod B na Číhané)

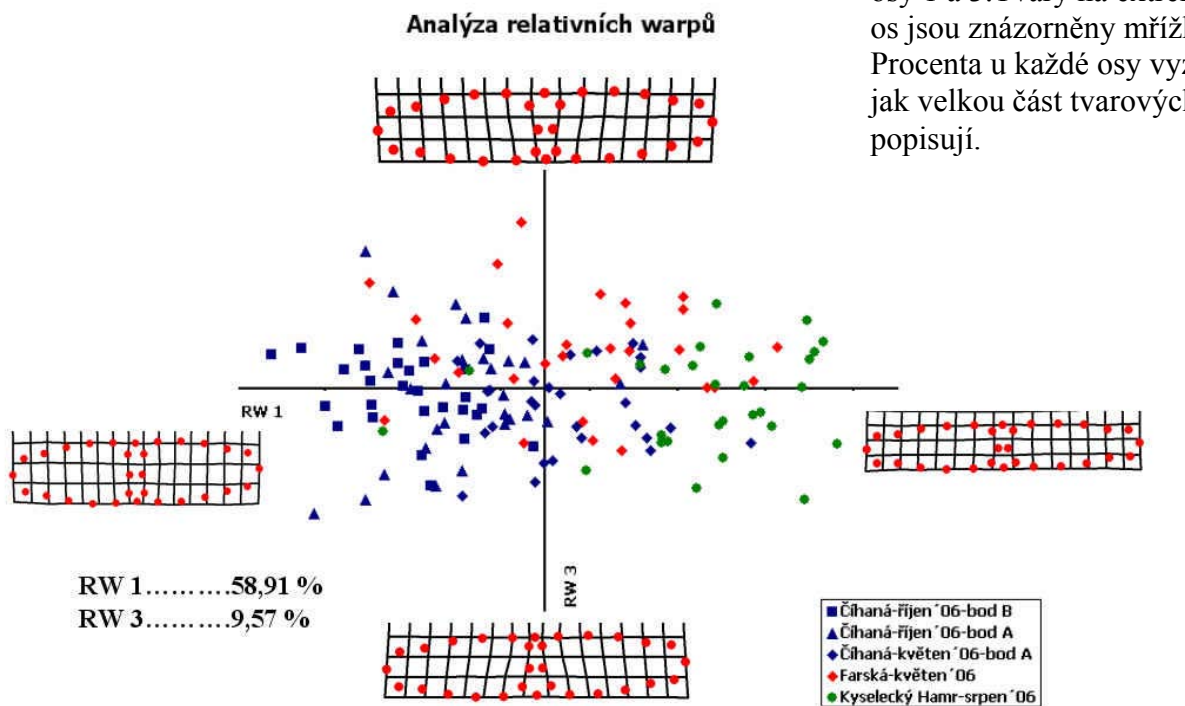
3.2.2. Tvarová variabilita

Studie prokázala významnou tvarovou variabilitu druhu. V analýze relativních warpů (též analýze hlavních komponent) RWA jsem prokázal na 1. RW ose vysokou variabilitu ve směru transapikálním. Tato osa popisuje téměř 60 % tvarových změn. Rozsivka je na jednom extrémě osy úzká a na druhém široká. Jak je vidět na RWA grafu, popisujícího 1. a 2. RW osu, populace z lokality Číhané je tvořena jedinci s poměrně širokou frustulou. Naopak u jedinců z Kyseleckého hamru je frustula úzká. Zhruba mezi těmito tvary leží jedinci z Farské kyselky. Druhá osa popisuje skoro 24 % tvarové variability studovaných populací, kdy se tvar opět mění v šířce frustuly ale jsou zde i jiná postavení konců středových strií a štěrbin

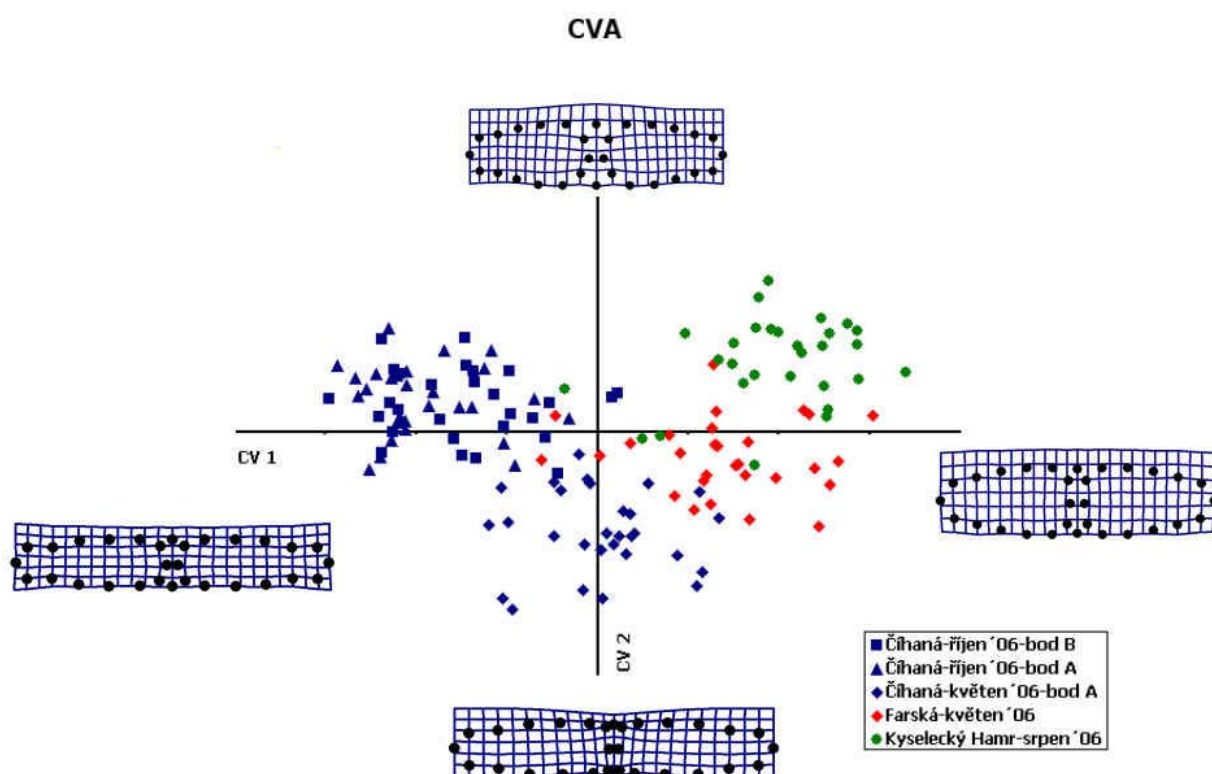
raphe v centrální části.

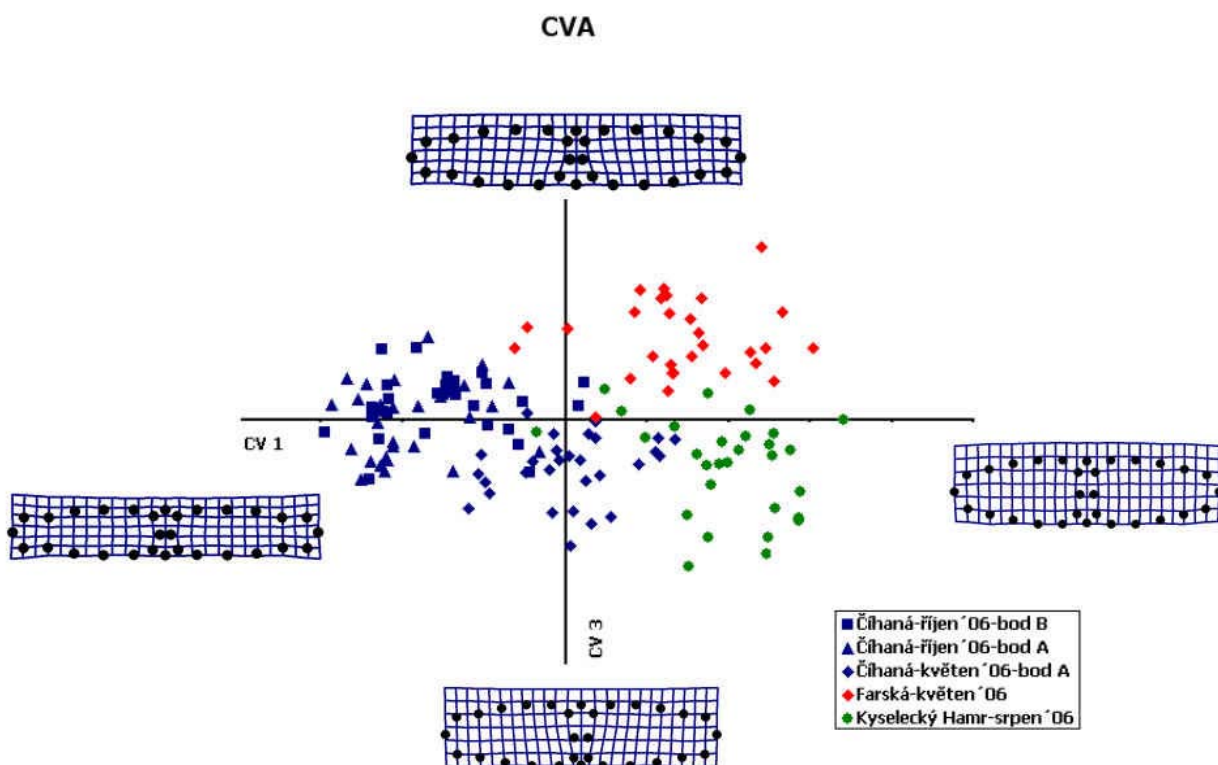


Obr. 6, 7: *Grafy RWA analýzy;* první popisuje osy 1 a 2 a druhý osy 1 a 3. Tvary na extremitách os jsou znázorněny mřížkou. Procenta u každé osy vyznačují jak velkou část tvarových změn popisují.



Zdali jsou tedy jedinci z různých lokalit průkazně odlišní odpověděla analýza CVA. Ta přinesla statisticky signifikantní tvarové rozdíly mezi skupinami. Testoval jsem na zvolené hladině významnosti 0,05. Hodnoty p vyšly u prvních čtyřech os menší než 0,05. Znamená to průkaznou tvarovou odlišnost mezi jednotlivými populacemi z různých nalezišť.





4. Závěr

Závěrem bych řekl, že druh *P. ferrophila* nadále zůstává endemickým a vykazuje signifikantní tvarovou různorodost.

Ukazuje se jak je druhová diverzita rozsivek obrovská. A to díky hlavně tvaru buněčné stěny. Ale nejen to, druh *P. ferrophila* naznačuje i patrně obrovskou ekologickou různorodost rozsivek. Myslím, že v budoucnosti budou objevovány další a další ekologičtí specialisté těchto organismů. Jejich taxonomický systém tak bude stále přetvářen a to i díky stále většímu objemu molekulárních dat. Prokázaná tvarová variabilita může být začátkem pro mnoho dalších experimentů. Například studia závislosti tvaru na koncentraci železa v prostředí nebo porovnávat tvary populací *P. ferrophila* s populacemi *P. ferroindulgentissima*. Jistě velice pozoruhodný by byl případný objev, že ve skutečnosti jsou oba druhy jen formou jednoho druhu a jedna v druhou přechází vlivem koncentrace železa.

5. Seznam literatury

CRATICULA.NCL.AC.UK (2007): Common Freshwater Diatoms of Britain and Ireland,
<http://craticula.ncl.ac.uk/EADiatomKey/html/index.html>

CZARNECKI D.B., CAWLEY E.T (1997): A new species of *Pinnularia* (Pinnulariaceae) from iron rich, highly acidic strip-mined coal pit of south-central Iowa. – In: Proceedings of the Academy of natural science of Philadelphia 147 – pp. 111-117

BOOKSTEIN F.L. (1991): Morphometric tools for landmark data: geometry and biology, Cambridge University Press, Cambridge

FRANKO O., KOLÁŘOVÁ M. (1983): Mapa minerálních vôd ČSSR
[kartografický dokument] : mierka 1:500 000, Geol. ústav D. Štúra, Bratislava

HAMER O. & HARPER D.A.T. (2006): PAST, Version 1.40. Program for Paleontological Statistics, <http://folk.uio.no/ohammer/past/doc1.html>

HINDÁK F. (eds.) (1978): Sľadkovodné riasy, SNP Bratislava

HODAČ L. (2005): Morfológie a fenotypická plasticita druhu *Pediastrum duplex* (Chlorophyceae), Bakalárska seminárna práca, PĚF UK v Praze

HODAČ L. & VESELÁ J. (2006): Řasy rašelinišť Slavkovského lesa II. – In: Arnika (Přirodou a historií Karlovarského kraje) 1/06 – pp. 11-18.

HYNIE O. (1963): Hydrogeologie ČSSR II, Minerální vody, nakl. ČSAV Praha

CHKO SLAVKOVSKÝ LES (2007): CHKO Slavkovský les
<http://www.slavkovskyles.ochranaprirody.cz/>

KALINA T. (1994) Sinice a řasy. – In: Křisa B., Prášil K. (eds.). Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu, PĚF UK v Praze

KALINA T. & VÁŇA J. (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii, nakl. Karolinum Praha

KINCL M. & KRPEŠ V. (1994): Fyziologie rostlin, Ostravská univerzita Ostrava

KLINGENBERG C. P., BARLUENGA M., MEYER A. (2002): Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. – *Evolution* 56: 1909-1920

KOBLÍŽEK M. & PRÁŠIL O. (2003): Jak zúrodnit oceánské pouště. – In: *Vesmír* 82 – pp. 136-138

KOWALLIK K. V. (2003): Diatoms: A complex evolutionary history becomes even more complex. – In: *Journal of phycology* 39 – pp. 1-3.

KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H. (1986): Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae – In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, G. Fischer Verlag. Jena

KRAMMER K. (2000): The genus *Pinnularia* – In: Lange-Bertalot H. (ed.). *Diatoms of Europe*, Vol. 1, A.R.G. Gantner Verlag K.G. Ruggell.

KUMPERA O., FOLDYNA J., ZORKOVSKÝ V. (1988): *Všeobecná geologie*, SNTL Bratislava, Alfa

KUSBER W.H. & JAHN R. (2002): Annotated list of diatom names by Horst Lange-Bertalot and co-workers, Version 1, http://www.algaterra.org/Names_Version1_0.pdf

MARIÁNSKÉ LÁZNĚ (2007): Mariánské Lázně, oficiální prezentace města, <http://www.marianskelazne.cz/cs/>

DEPARTMENT OF ECOLOGY AND EVOLUTION, STATE UNIVERSITY OF NEW YORK (2007): Morphometrics at Suny Stony Brook, <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>

PĚČEK J. (1992): Zpráva o hydrogeologickém průzkumu na lokalitě Číhaná u Mariánských Lázní, Aquatest a.s.

PĚČEK J. (1994): Hydrogeologický průzkum studených přírodních kyselých v lokalitě Kyselecký hamr, I. etapa, Aquatest a.s.

Protist information server (2007): Protist information server, <http://protist.i.hosei.ac.jp/>

ROHLF J. F. (2003): tpsUtil, Version 1.26, Utility program

(2004): tpsDig, Version 1.40, Digitalization of landmarks

(2004): tpsRelw, Version 1.39, Relative warps analysis

ROUND F.E., CRAWFORD R.M., MANN D.G. (1990): The diatoms, biology & morphology of the genera, Cambridge University Press, Cambridge

RUBÍN J. et al., (2003): Národní parky a chráněné krajinné oblasti, Olympia a.s.

SCHMID A.M. (2003): Endobacteria in the diatom *Pinnularia* (Bacillariophyceae). I „scattered ct-Nucleoid“ explained: dapi-DNA complexes stem from exoplastidial bacteria boring into the chloroplasts. – In: *Journal of phycology* 39 – pp. 122-138

SIMS P.A., MANN D.G., MEDLIN L.K. (2006): Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. – In: *Phycologia* Vol 45 – pp.361-402.

WIKIPEDIA (2007):Wikipedia, <http://cs.wikipedia.org>

ZELDITCH M. L., SWIDERSKI D. L., SHEETS H. D., FINK W. L. (2004): Geometric morphometrics for biologists: A primer, Elsevier Academic Press

Přílohy



Obr. 1: Farská kyselka (tůň vedle altánu s vývěrem)



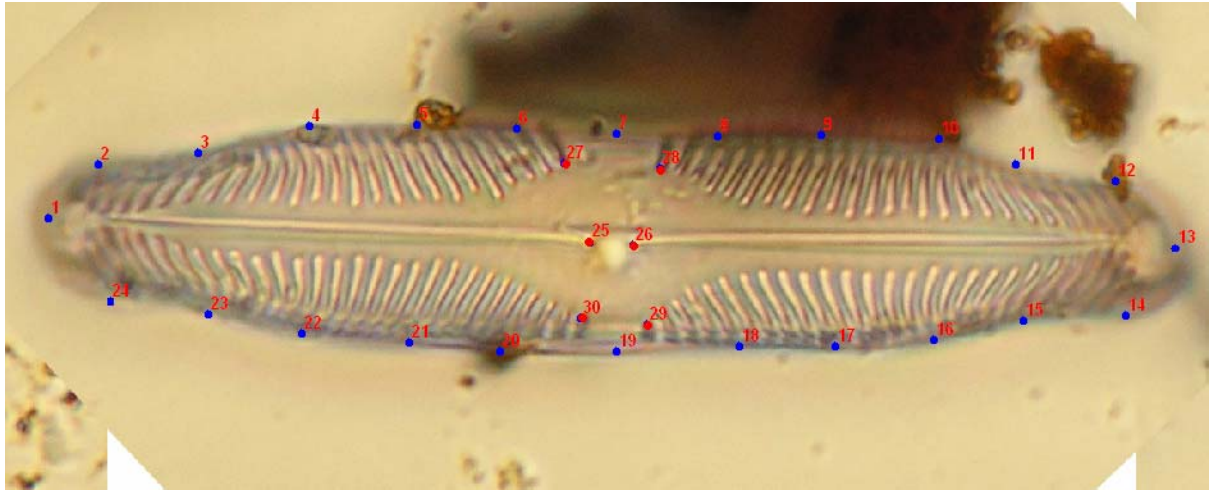
Obr. 2: Čihanské prameniště (hlavní tůň pro odběry)



Obr. 3: Vývěr v tůňi na Číhané



Obr. 4: Epipelon tůňě na Číhané se zelenými nárosty rozsivky *P. ferrophila*



Obr. 5: Poloha landmarků na valvě rozsivky, modře jsou označeny semilandmarky a červeně pevné landmarky



Obr. 6: *Pinnularia ferrophila*