

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

Studijní program: Biologie



Bakalářská práce

Význam křemičitých struktur pro chromistní mikroorganismy
The significance of silica structures in chromist microorganisms

Dora Nováková

Praha, 2013

Vedoucí bakalářské práce:
Mgr. Pavel Škaloud, PhD.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 5. 2013

Podpis

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda vyjádřila díky svému školiteli Pavlu Škaloudovi, za neskonalou ochotu, trpělivost a především nadšení. Je a bude pro mne vždy velkou inspirací.

Další velké poděkování patří mému příteli Martinu Hanzlovi, který je pro mne oporou života.

Chci také poděkovat všem kamarádům z algologické laboratoře za vytvoření přátelského pracovního prostředí.

Abstrakt

Křemík je jedním z nejčastějších prvků zemské kůry. V důsledku eroze se uvolňuje v rozpustné formě do prostředí, odkud jej organismy získávají a zabudovávají do svých těl procesem zvaným biosilicifikace. Organismy s touto schopností jsou velmi rozšířené a to jak svou pozicí ve fylogenetickém stromu eukaryot, tak svou početností v přirozených ekosystémech. Celý globální biogeochemický cyklus křemíku je právě také řízen biosilicifikujícími organismy. U mikroorganismů v rámci linie Chromista se křemík ukládá do membránou obalených kompartmentů zvaných silikon-depozitní váčky, ve kterých se následně prostřednictvím důmyslně řízených buněčných procesů tvoří výsledné křemičité struktury. Rozdíly v procesu depozice křemíku mezi zástupci různých linií naznačují, že se tato schopnost vyvinula v rámci linie Chromista nezávisle opakovaně. Mezi nejčastější křemičité struktury patří šupiny, ostny, schránky, kostry a cysty. Analogické struktury nezdávka vznikají i u zástupců nepříbuzných skupin prostřednictvím konvergentního vývoje. V rámci některých linií skupiny Chromista došlo naopak k druhotnému potlačení schopnosti biosilicifikace. Je proto pravděpodobné, že křemičité struktury mají funkční význam a jednotlivé linie čelily v evoluci „trade-off“ mezi energetickou náročností na jejich udržování a selekčními tlaky prostředí, které obývají. Celá řada hypotéz byla formulována s cílem vysvětlit evoluční význam křemičitých struktur, některé z nich byly i experimentálně testovány. Nejčastěji zmiňovanou rolí je ochrana před predátory či patogeny. Křemičité útvary by se však rovněž mohly uplatňovat v metabolismu buňky, redistribuci dopadajícího světelného záření, příjmu živin nebo regulaci pohybu vodním sloupcem.

Klíčová slova: křemík, biosilicifikace, šupiny, ostny, frustula, cysty, evoluční význam

Abstract

The silica is one of the most common elements in the Earth's crust. During erosion it is released in soluble form to the environment, where some organisms can accumulate the silica and incorporate it to their bodies by biosilicification process. The organisms possessing this ability are widespread either when considering their position in eukaryotic tree of life, or their abundance in natural ecosystems. As a result, the whole global biogeochemical cycle of silica is controlled by biosilicified organisms. In Chromista microorganisms, the silica is loaded to so-called „silica deposition vesicles“ – membrane surrounded compartments, in which the silica is polymerated and formed into the final shape of silica structures during an ingeniously controlled *in vivo* process. Apparent differences in the process of silica deposition among Chromista microorganisms imply that this ability has developed independently and repeatedly within the group. The most common silica structures are scales, bristles, cases, skeletons and cysts. The analogical structures often originated independently in unrelated lines of Chromista by means of convergent evolution. On the contrary, in some lineages of Chromista, the ability of biosilicification was suppressed. It is therefore very likely that the silica structures should have some functional significance, and the particular phylogenetic lineages have to confront a trade-off between the energy cost of their maintainance and selective pressures of the environment they inhabit. A series of hypotheses have been formulated to explain the evolutionary significance of silica structures, some of them were even tested experimentally. The most often mentioned role of silica structures is the protection against predators and pathogens. The another alternatives involve the use of silica structures in a cell metabolism, during a redistribution of incident light, in a nutrition uptake or in regulating a sinking rate of an organism.

Key words: silica, biosilicification, scales, bristles, frustule, cysts, evolutionary significance

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Křemík.....	2
2.1. Křemík jako prvek.....	2
2.2. Globální biogeochemický cyklus křemíku.....	2
2.3. Biosilicifikace.....	4
2.4. Vznik biosilicifikace v evoluci.....	5
2.5. Křemík jako limitující faktor.....	7
3. Diverzita křemičitých struktur v rámci linie Chromista.....	9
3.1. Křemičité šupiny, pláty a osténky.....	9
3.1.1. Šupiny u Chrysophyceae.....	9
3.1.2. Šupiny ostatních skupin v rámci linie Chromista.....	13
3.2. Křemičité buněčné stěny.....	17
3.2.1. Schránky rozsivek.....	17
3.2.2. Křemičité cysty a spory.....	18
3.2.2.1. Cysty u Chrysophyceae.....	18
3.2.2.2. Cysty ostatních skupin v rámci linie Chromista.....	19
3.2.3. Křemičité kostry.....	20
3.3. Loriky.....	21
3.4. Křemičitá granula.....	22
4. Význam křemičitých struktur.....	23
4.1. Křemičitá struktura jako ochrana proti predaci či parazitaci.....	23
4.2. Křemičité polymery jako materiál chránící cysty.....	24
4.3. Křemík jako součást metabolismu buňky.....	25
4.4. Křemičité struktury a světelné záření.....	25
4.5. Křemičité pokrvy jako odpadní produkt metabolismu.....	26
4.6. Křemičité povrchy v difuzi a příjmu živin.....	27
4.7. Význam křemičité struktury pro klesání ve vodním sloupci.....	27
5. Závěr.....	29
6. Literatura.....	30

1. Úvod

Celá řada organismů, i evolučně velmi vzdálených, využívá běžného výskytu křemíku a zabudovává si jej do svých těl. Od prvoků, přes mořské houby až k cévnatým rostlinám a živočichům jsou známy organismy stavící si vnitřní i vnější křemičité kostry, šupiny, schránky či stěny (Bovee 1981). Zejména u mikroorganismů jsou silicifikované struktury nejrůznějšího tvaru široce rozšířené. Mikroorganismy mohou jako materiál využívat kromě křemíku také vápník, mangan, nebo železo. Křemík je však nejčastěji používaným prvkem pro stavbu takovýchto struktur. Někteří Chromista křemík zabudovávají dokonce celou škálou různých způsobů (Mayama & Kuriyama 2002).

I některé suchozemské rostliny ukládají křemík do svých pletiv. Vytvářejí tak křemičité útvary zvané fytolity. Křemík zde může být uložen v trichomech, u trav ve specializovaných buňkách, nebo ve stoncích, kořenech či reprodukčních orgánech. Křemík u rostlin slouží pro zvýšení pevnosti buněčných stěn a pletiv. Jeho začlenění je totiž energeticky výhodnější než syntéza ligninu (Raven 1983). Křemík však není pro rostliny nezbytný k dokončení životního cyklu, výjimku z toho však tvoří přesličky. Křemík se může v rostlinách vyskytovat i ve značných koncentracích převyšujících 10 % hmotnosti sušiny, obvykle je však zastoupen přibližně jedním procentem (Epstein 1994).

I mořské houby ze skupiny Hexactinellida využívají křemík pro tvorbu křemičitých jehlic, které vytváří obdobným procesem jako choanoflagellata své loriky (Mayama & Kuriyama 2002).

U obratlovců dochází k hromadění křemíku do kostí. V těchto případech se však nejedná o pokryvy buněk (Mayama & Kuriyama 2002). U obratlovců se zdá být křemík nezbytný pro omezení stárnutí buněk. Dále indukuje přirozený vznik pojivových tkání, snižuje toxický efekt kovů a brání houbovým nákazám. Pokud jsou savčí buňky kultivovány na bioaktivních površích skla, mohou být po delší dobu uchovány v latentním stavu (Seitz 1982). V savčí pojivové tkáni se snižuje množství křemíku s věkem. Proto jsou stoupající hodnoty křemíku spojeny se zpožděním onemocnění, která s věkem stoupají, jako je arteroskleróza a revmatický zánět. V savčích buňkách byla nejvyšší koncentrace křemíku nalezena uvnitř endoplazmatického retikula (Medlin 2002)

Cílem předkládané rešerše je shrnout dosavadní vědění o příčinách biosilicifikace u chromistních mikroorganismů. Jedná se spíše o okrajovou problematiku, které nebyla doposud věnována dostatečná pozornost. V práci se podrobněji zmiňuji o skupině Chrysophyceae, jelikož bude předmětem mé diplomové práce.

2. Křemík

2.1. Křemík jako prvek

Křemík (Si, lat. *Silicium*) je jedním z nejčastějších prvků zemské kůry a tvoří téměř 28 % její hmotnosti (Ehrlich 1990). Ve formě oxidu křemičitého je dokonce druhou nejčastější sloučeninou (Mayama & Kuriyama 2002). V přírodě se křemík přirozeně vyskytuje ve třech hlavních formách. Patrně nejvýznamnější z nich je oxid křemičitý (SiO_2), známý jako křemen. Tento minerál je běžnou součástí mnoha hornin, zejména vyvřelin. Další formou jsou soli kyseliny křemičité neboli křemičitany. Čtyřstěny křemičitanů $[\text{SiO}_4]^{4-}$ jsou základními stavebními jednotkami celého spektra nerostů, jako jsou například olivíny, granáty, slídy nebo živce. Třetí podobou křemíku v přírodě je amorfní hydratovaný polymer oxidu křemičitého, tj. sklo nebo opál. Vzhledem k tomu, že sklo nemá krystalickou strukturu, je na něj někdy pohlíženo jako na velmi viskózní tekutinu, která skutečně, byť velmi pomalu, teče (Ehrlich 1990).

Křemičité horniny a minerály mají kromě významu stavebních složek litosféry i značný dopad na živou složku planety a v dávných dobách se nejspíše účastnily procesu vzniku života. Hydroxylované povrchy křemene byly totiž nejběžnějším substrátem umožňujícím shlukování a polymeraci organických sloučenin. K tomuto procesu docházelo především v obdobích rozsáhlé sopečné činnosti. Organické molekuly, jako jsou například aminokyseliny, mohly být selektivně adsorbovány na hydroxylovaném povrchu křemene a mohlo tak docházet k jejich srážení do molekul proteinů (Medlin 2002).

2.2. Globální biogeochemický cyklus křemíku

Přestože je křemík jednou z hlavních složek zemské kůry, pouze jeho malá část je mobilní a účastní se biogeochemického cyklu. Největším světovým rezervoárem křemíku jsou minerály a horniny, z nichž se křemík uvolňuje jejich postupným zvětráváním. Křemík je pak rozpuštěn ve vodě ve formě hydroxidu křemičitého, $\text{Si}(\text{OH})_4$, a transportován na značné vzdálenosti. Ještě v terestrické části koloběhu může být rozpuštěný křemík inkorporován do těl cévnatých rostlin v podobě fytolitů. Po rozkladu odumřelé rostlinné biomasy dochází k uvolnění těchto fytolitů. Fytolity jsou přítomny ve většině půd a jejich rozpouštěním se může křemík opět dostat do vody. Podle některých autorů může rozpouštění fytolitů přispívat dvakrát vyšším množstvím volného křemíku do řek, než jaké vzniká zvětráváním křemičitých hornin (Alexandre et al. 1997). Celkový přísun křemíku do povrchových vod oceánů je odhadován na $1,7 \times 10^8$ t čistého křemíku ročně. Hlavním přispěvatelem jsou povodí jednotlivých řek ($1,4 \times 10^8$ t čistého křemíku), méně pak přenos prachu z pevniny větrem. V oceánu se pak předpokládá rovnováha mezi přísunem křemíku a jeho sedimentací na dno (Tréguer et al. 1995). V oceánských hloubkách dochází k jeho sedimentaci a následné přeměně do amorfní podoby, čímž vzniká opál. Za působení jiných sedimentárních hornin vznikají kryptokrystalické formy oxidu křemičitého, rohovce, mezi něž patří například pazourek. Sediment mořského dna může v některých

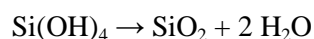
případech působit i jako rezervoár křemíku, pokud vlivem hydrotermální či vulkanické činnosti dojde k uvolnění vázaného křemíku ze sedimentu do rozpustné podoby. Naprostá většina křemíku v oceánské vodě je fixována ve schránkách organismů, které mají schopnost biosilicifikace, především rozsivek (Conley 2002). V odhadu se jedná o $67,4 \times 10^8$ t čistého křemíku fixovaného ročně, což je o dva řády vyšší množství, než se do moře dostává, nebo sedimentuje (Tréguer et al. 1995). To je umožněno jen díky efektivnímu využívání křemíku organismy v povrchových vrstvách oceánu. Křemičité schránky rozsivek jsou významným rezervoárem křemíku v oceánech a rozsivky tak do značné míry cyklus křemíku řídí. Conley (2002) však poukazuje na skutečnost, že významným rezervoárem křemíku jsou i rostlinná společenstva na souši, jejichž produkce, odhadovaná na $16,9 \times 10^8$ t – $56,2 \times 10^8$ t čistého křemíku ročně, se blíží produkci rozsivek v oceánu. I v terestrické části cyklu je křemík vegetací efektivně recyklován a do řek je vymýván jen zlomek z celkového množství. Akumulace křemíku v rostlinách tak působí jako jakési „zdržení“ v jeho biogeochemickém cyklu. Celý cyklus je završen přeměnou křemičitých sedimentů působením vysokých teplot a tlaků v subdukčních zónách kontinentálních desek a jejich vynesením na povrch vulkanickou činností (Raven & Giordano 2009).

Před vznikem organismů ukládajících křemík byly oceánické koncentrace kyseliny křemičité mnohonásobně vyšší než dnes. Primárně byly koncentrace křemíku řízeny anorganickými procesy a srážením minerálů (Malviva et al. 1990). Tato situace se změnila během tzv. kambrijské exploze na počátku prvohor se vznikem křemičitých hub (Hexactinellida). Tyto organismy byly schopny přijímat křemík z prostředí a zabudovávat jej do svých schránek, čímž snižovaly koncentraci volného křemíku v povrchových vodách oceánu. K dalšímu poklesu dostupnosti křemíku došlo v ordoviku důsledkem rozvoje mřížovců (Radiolaria; Malviva et al. 1989). Podstatně razantněji se však projevil až rozmach rozsivkových společenstev na přelomu druhohor a třetihor, který byl spjat s drastickým poklesem oceánické koncentrace křemíku (Siever 1991). Rozsivky (Bacillariophyceae) se díky své četnosti a / nebo vyšší efektivitě získávání volného křemíku staly konkurenceschopnější než zástupci zbylých dvou mořských biosilicifikujících skupin. Jejich radiace byla proto spojena s vytlačení křemičitých hub z mělčin do hlubších moří (z eufotické zóny) a snížením míry silicifikace u mřížovců (Malviva et al. 1989). S nedostatkem křemíku se však možná začaly potýkat i samotné rozsivky, protože z fosilního záznamu je od konce křídý patrné nápadné ztenčování stěn jejich schránek, zřejmě v důsledku úspory křemíku (Finkel & Kotrc 2010). Tento trend by však mohl být vysvětlen i optimalizací vlastností schránek v evoluci rozsivek, bez ohledu na dostupnost křemíku v prostředí.

Dnes je koncentrace rozpuštěného hydroxidu křemičitého na volném moři zpravidla velmi nízká (menší než $1 \mu\text{M}$; Siever 1991).

2.3. Biosilicifikace

Biosilicifikací je nazýván proces ukládání křemíku živými organismy. Lze jej shrnout jednoduchou chemickou rovnicí:



Rozsivkám k akumulaci křemíku slouží množství transportérů hydroxidu křemičitého. Možným vysvětlením existence více typů transportérů by mohlo být to, že rozsivky používají různé transportéry pro různé koncentrace kyseliny křemičité (Thamatrakoln & Hildebrand 2008). Nicméně skupiny centrických a penátních rozsivek sdílí určitý typ transportérů v rámci své skupiny (centrické a penátní lze tak odlišit; Thamatrakoln et al. 2006). Transportéry u mořských druhů transportují hydroxid křemičitý symportem se sodnými ionty, u druhů sladkovodních společně se sodíkem a draslíkem.

U většiny mikroorganismů se křemík ukládá do membránou obalených kompartmentů, tzv. silikon-depozitních váčků (angl. silicon deposition vesicle, SDV) s nízkým pH. Membrána těchto váčků, pod kterou se odehrávají silicifikační procesy, je nazývána silikalema (angl. silicalemma; Volcani 1981). Vzhledem k tomu, že v evoluci vznikla schopnost ukládat křemík nezávisle u různých skupin, formace SDV váčků a zrání křemičitých struktur probíhá několika navzájem odlišnými způsoby. SDV váček může být pravděpodobně vytvořen splynutím váčků endoplazmatického retikula (u rozsivek; Schmid 1994) či splynutím váčků Golgiho aparátu (u skupiny Synurales či Ciliophora; Preisig 1994a, Foissner et al. 2009). U mnoha skupin je však původ SDV váčku zcela neznámý (Paraphysomonadaceae či Haptophyceae; Preisig 1994a, Yoshida et al. 2006). K uspořádání křemíku na molekulární úrovni nedochází samoorganizací, nýbrž je ukládán záměrně buňkou (Patterson & Dürschmidt 1988). Postupným hromaděním rozpuštěného křemíku je možné dosažení takové koncentrace, při které je termodynamicky umožněna jeho polymerace do amorfni podoby (Raven & Giordano 2009). Jsou známy i některé proteiny účastníci se procesu silicifikace, především silafiny (angl. silaffins) a pleuraliny (angl. pleuralins), a sekvence jejich genů. Kladně nabitě fosfoproteiny silafiny pravděpodobně přímo řídí vlastní polymeraci a ukládání křemíku. Pokud k roztoku kyseliny křemičité experimentálně přidáme silafiny, vznikají prakticky ihned drobné křemičité kuličky o průměru několika nanometrů (Kröger et al. 2000). U rozsivek je velikost křemičité sraženiny později kontrolována dalšími polyaminy (Kröger et al. 2000). Silafiny, spolu se strukturálními proteiny pleuraliny a cytoskeletem, pak napomáhají ukládání křemičitých sraženin do podoby vysoce organizované schránky rozsivek (Kröger & Wetherbee 2000). Z křemičitých ostnů mořských hub byly izolovány proteiny zvané silikateiny, které se pravděpodobně účastní ukládání křemíku u této skupiny (Shimizu et al. 1998).

Mnoho vzniklých struktur má charakteristické znaky a ornamentaci a mohou být značně různorodé či složité. Ve výsledné podobě křemík nemusí zůstat uvnitř buněk, ale může být vystaven na jejich povrchu (Mayama & Kuriyama 2002). Přítomnost křemičitých struktur na povrchu buněk však nemusí být vždy dokladem schopnosti biosilicifikace. Některé jednobuněčné organismy, např.

kryténky, si totiž své schránky mohou skládat z materiálu vyskytujícího se v jejich okolí. Takovými stavebními prvky jsou třeba zrnka písku či schránky rozsivek (Douglas & Smol 2001). Podobným příkladem může být druh *Bicosoeca accreta* ze skupiny Bigyra, který si svou loriku skládá z částic obsahujících především křemík (Preisig 1994, Riisberg et al. 2009). Podmínkou biosilicifikace je však schopnost příjmu rozpuštěného křemíku a jeho *in vivo* polymerace.

2.4. Vznik biosilicifikace v evoluci

Organismy se schopností biosilicifikace se vyskytují v různých liniích eukaryotického stromu života. Patří mezi ně Opisthokonta (křemičité houby), Archaeplastida (Prasinophyceae, cévnaté rostliny) a Chromista (mřížovci, rozsivky, zlativky, nálevníci atd.). Hlavním dokladem nezávislého vývoje silicifikace je, že geny pro transportéry hydroxidu křemičitého postrádají jakoukoliv sekvenční podobnost mezi zástupci těchto skupin (Raven & Giordano 2009). Předpokládá se však, že povaha biosilicifikace na nižších taxonomických úrovních, jako jsou třídy, je shodná (Yoshida et al. 2006). Mnoho chromistních mikroorganismů produkujících křemičité struktury patří do skupiny Stramenopiles. Fylogenetické studie založené na sekvencích jaderných i chloroplastových genů však neprokázaly, že by zástupci s křemičitými strukturami tvořily v rámci Stramenopiles monofyletickou linii (Riisberg et al. 2009, Yang et al. 2012). Skupiny, které využívají křemík jako stavební materiál (např. Chrysophyceae, Dictyochophyceae a Bacillariophyceae), jsou tak rozmístěny ve Stramenopiles mozaikovitě spolu se skupinami bez schopnosti biosilicifikace (Phaeophyceae, Eustigmatophyceae či Pedinellophyceae).

Přestože se biomineralizace v evoluci eukaryot objevuje opakovaně a patrně i nezávisle, zdá se, že v rámci některých skupin převládá jeden konkrétní způsob (např. silicifikace, kalcifikace). V rámci Stramenopiles se tak předpokládá, že druhy se schopností biomineralizace jsou omezeny pouze na silicifikaci, zatímco u dírkonošců (Foraminifera) či Haptophyta se za jedinou možnost biomineralizace považuje kalcifikace (Preisig 1994).

Nový pohled na tuto problematiku umožnila případová studie druhu *Hyalolithus neolepis* patřícího do skupiny Haptophyta (Yoshida et al. 2006). V rámci Haptophyta jsou tvorbou mineralizovaných pokryvů známé především kokolity (Coccolithophorida). Tvoří totiž šupiny z uhlíčitánu vápenatého, tzv. kokolity. K jejich největšímu rozkvětu došlo v období křídý, kdy se jejich činností ukládaly ohromné masy vápence, jako např. křídové útesy v Doveru. Haptophyta se tímto výrazně zapojila do formování litosféry a zároveň i figurovala jako úložiště oxidu uhličitého (Witty 2011). U všech zástupců skupiny Haptophyta se zakládá také vrstva organických šupin. *Prymnesium polylepis* (dříve *Chrysochromulina polylepis*) má dokonce sedm různých typů organických šupin (Yoshida et al. 2006). Avšak u skupiny Haptophyta byly kromě vápenatých a organických šupin nedávno objeveny i šupiny křemičité, a to u řasy *Hyalolithus neolepis* (Yoshida et al. 2006). Kromě křemičitých šupin lze v rámci Haptophyta nalézt cesty s vrstvou křemíku, vytvářené zástupci rodu *Prymnesium* (Pienaar 1980a). Yoshida et al. (2006) na základě molekulárních analýz

zjistili, že *Hyalolithus neolepis* patří do skupiny Prymnesiales, kam patří i zmíněný rod *Prymnesium*. Přesto je však silicifikace u Haptophyta stále považována za velmi vzácný proces. Doposud se zdá, že se vyskytuje pouze u fylogenetické větve zahrnující *Hyalolithus neolepis* a rod *Prymnesium* (Yoshida et al. 2006). Křemičité struktury by se tedy mohly vyskytovat i u jejich společných předků. Na druhou stranu nemůžeme vyloučit, že by potenciálně mohla být schopnost silicifikace u Haptophyt častější.

Hyalolithus neolepis se také zdá být příbuzný druhu *Petasaria heterolepis*, který je dalším taxonem s křemičitými šupinami, dosud se však vedou spory o jeho zařazení. Při průzkumu šupin *Petasaria heterolepis* rentgenovým zářením byly mezi stavebními složkami této šupiny objeveny kromě křemíku i molekuly vápníku. Pokud by se nejednalo o kontaminaci, byl by *Petasaria heterolepis* jediným doposud známým druhem, u kterého by byl v šupině přítomný jak křemičitý, tak vápenatý materiál (Yoshida et al. 2006).

Je velmi pravděpodobné, že u některých linií v rámci říše Chromista schopnost ukládat křemík úplně chybí. V minulosti byli mezi takové skupiny řazeni i nálevníci (Ciliophora; Bovee 1981). Nedávno byl však odhalen nálevník tvořící si v buňce křemičitá granula (Foissner et al 2009). Je tedy možné, že schopnost ukládat v buňkách křemík je více rozšířena a řady biosilicifikujících organismů budou v budoucnu ještě rozšířeny.

Kromě vzniku výskytu biosilicifikace jsou však zaznamenány i ztráty této schopnosti. Molekulární analýzy sekvence SSU rDNA podpořily scénář, že u centrohelidních slunivek (Centrohelida) je původním znakem přítomnost dvou typů křemičitých šupin na buňce. Během evoluce této skupiny však docházelo k opakovaným zjednodušením stavby křemičitého pokryvu. U skupiny Raphidophryidae došlo k redukci jednoho z typů šupin. Nicméně alespoň ve třech skupinách došlo k úplné ztrátě křemičitého pokryvu a u rodu *Marophrys* se pak nezávisle vyvinuly jehlovité organické šupiny (Cavalier-Smith & von den Heyden 2007). Autoři na základě tvarové obdoby těchto organických šupin s křemičitými šupinami jiných zástupců slunivek dokonce spekulují, že by k jejich vzniku mohlo docházet potlačením procesu silicifikace a zachováním pouhé organické předlohy, která se biosilicifikace jinak účastní.

V případech, kdy se v rámci jedné taxonomické skupiny vyskytuje více zástupců disponujících schopností biosilicifikace, můžeme rozlišit tři alternativní scénáře, jak tento evoluční trend vysvětlit:

První možností je, že všichni zástupci s křemičitém buněčným pokryvem získali tuto schopnost na sobě nezávisle, často v různých dobách.

Druhý scénář představuje možnost, že existoval společný předek se schopností křemičité pokryvy vytvářet, a jeho potomci schopnost biosilicifikace zdědili. Lze předpokládat, že tato možnost by mohla být pravděpodobná na nižších taxonomických úrovních, jako jsou třídy. Například u zlativek (Chrysophyceae) i rozsivek (Bacillariophyceae) se zřejmě schopnost biosilicifikace vyvinula pouze jednou (Raven & Giordano 2009). Mann & Marchant (1989) se domnívají, že rozsivky mohly vzniknout z předka, v jehož životním cyklu se střídalo haploidní pohyblivé stádium s diploidním stádiem chráněným křemičitou schránkou, a to převládáním této diploidní fáze.

Jako třetí alternativa se jeví získání schopnosti tvořit křemičité povrchy prostřednictvím horizontálního genového přenosu (Boto 2010). Anderson (1992) navrhl, že by tímto způsobem mohlo dojít k přenosu schopnosti biosilicifikace ze skupiny Polycystinea (Radiolaria) do Stramenopiles. Zástupci Chrysophyceae jsou totiž častými endosymbionty skupiny Polycystinea, která touto schopností disponuje. Přestože byla zdokumentována celá řada případů přenosu genů ze symbionta do jádra hostitele, nelze vyloučit, že by mohlo docházet i k přenosu genetické informace opačným směrem (Anderson 1992). Možnost horizontálního genového transferu však bývá standardně využívána k vysvětlení nesouladů ve fylogenetických datech, a tudíž v mnoha případech neoprávněně (Dacks et al. 2008).

I přes jasné vymezení výše uvedených scénářů mohla být situace ještě složitější. Vzhledem k tomu, že se v rámci autotrofních Stramenopiles vyskytuje schopnost biosilicifikace u skupin, které nejsou bezprostředně příbuzné / sesterské (Yang et al. 2012), lze uvážit, že tuto schopnost mohl mít společný předek všech Stramenopiles a předat ji svým potomkům. Takovou možnost podporuje i zařazení skupin se schopností biosilicifikace (například Bacillariophyceae, Chrysophyceae) na bázi autotrofních Stramenopiles v některých fylogenetických analýzách (Riisberg et al. 2009). U určitých skupin by následně došlo vlivem mutací k druhotné ztrátě této schopnosti. Nicméně prostřednictvím vhodných mutací by se funkčnost všech kroků biosilicifikace mohla v evoluci Stramenopiles opět navracet. Takový scénář je pak pravděpodobnější, než vznik biosilicifikace *de novo*. Celou situaci ale komplikuje mechanismus ukládání křemíku, který se alespoň v některých krocích liší mezi jednotlivými liniemi Stramenopiles (např. původem SDV váčku, tvarováním SDV a napouštěním křemíkem; viz kap. 3). Proces ukládání křemíku je však pravděpodobně složen z několika na sebe navazujících fází a je možné, že některé z prvků celého systému mohly být zděděny po společném předkovi, zatímco jiné se mohly vyvinout nezávisle.

2.5. Křemík jako limitující faktor

V prekambriu byla koncentrace rozpuštěného křemíku v oceánech natolik vysoká, že jeho příjem organismy byl pravděpodobně možný i po koncentračním spádu. Jeho využití se tak mohlo jevit velmi lákavým. Po vzniku a rozvoji schopnosti biosilicifikace mezi organismy však došlo k razantnímu poklesu jeho dostupnosti (Siever 1991). To si vyžádalo potřebu aktivního transportu křemíku do nitra buněk pomocí specifických membránových transportérů. V souvislosti s již zmíněným rozvojem rozsivek poklesla oceánická koncentrace křemíku na tak nízkou úroveň, že bylo pro organismy nezbytné zvýšit afinitu svých transportérů, nebo se přizpůsobit jeho nízkému příjmu (Raven & Giordano 2009). U rozsivek i mřížovců jsou ve fosilním záznamu od tohoto období do současnosti patrné tendence k tvorbě méně silicifikovaných a lehčích schránek a koster (Finkel & Kotrc 2010, Lazarus et al. 2009). Rozsivky však dospěly do stavu, kdy jsou na přítomnosti křemíku životně závislé. Bez jeho přísunu totiž nedojde k jejich dělení (výjimku představuje druh *Phaeodactylum tricornutum*; Brzezinski et al. 1990). V kulturách rozsivek je v buňkách také zastavena

proteosyntéza do čtyř hodin poté, co se křemík vyčerpá (Coombs 1967). Z toho je zjevné, že u rozsivek je křemík úzce spjat s mnoha metabolickými procesy. Po poklesu koncentrace kyseliny křemičité pod 2 μM již většina rozsivek není schopna růstu, přičemž dostupnost křemíku v povrchových vodách oceánů se této hodnotě blíží (Yool & Tyrrell 2003). Z toho lze odvodit, že početnost populací rozsivek bude kontrolována silným zpětnovazebným mechanismem. Když se přemnoží, dojde k silné vnitrodruhové kompetici o limitující křemík.

Na rozdíl od rozsivek, u šupinatých zástupců třídy Chrysophyceae se vyčerpání křemíku v médiu projevuje pouhým poklesem růstové rychlosti (Klaveness & Guillard 1975). Většina druhů Chrysophyceae dokáže osidlovat i prostředí s velmi nízkou koncentrací křemíku a přitom se aktivně množit. Indikátorem takových abiotických podmínek jsou populace tvořené jedinci takřka nebo zcela bez křemičitých šupin (Sandgren, Barlow 1989). Populace Chrysophyceae jsou dokonce schopny křemík dostupný v médiu naprosto vyčerpávat (Klaveness & Guillard 1975), čímž se stávají velmi zdatnými kompetitory rozsivek.

3. Diverzita křemičitých struktur v rámci linie Chromista

3.1. Křemičité šupiny, pláty a osténky

Šupina je tenká plochá struktura nejrůznějších tvarů a velikostí, která bývá asociovaná s povrchem buňky. Může být celistvá či proděravělá, obvykle ornamentovaná nejrůznějšími vzory (sítky, mřížování) nebo s trojrozměrnými strukturami tvaru košíčku, člunu, korunky, věže či osténku (Preisig 1994b). Šupiny jsou produkovány endomembránovým systémem buňky. V Golgiho aparátu dochází k posttranslačním modifikacím proteinů a strukturnímu zpracování šupin, které jsou následně exocytovány na povrch buňky (Melkonian et al. 1991). Na buněčném povrchu mohou být šupiny umísťovány buď jednotlivě, nebo jsou uspořádávány po několika do charakteristického vzoru tvořícího schránku okolo buňky. Pokud se mateřská buňka rozdělí, každá z dceřiných buněk získá polovinu šupin a zbylé si dotvoří (Leadbeater & Barker 1995). Ostny a pláty jsou někdy označovány za speciální druhy šupin (Preisig 1994b).

3.1.1. Šupiny u Chrysophyceae

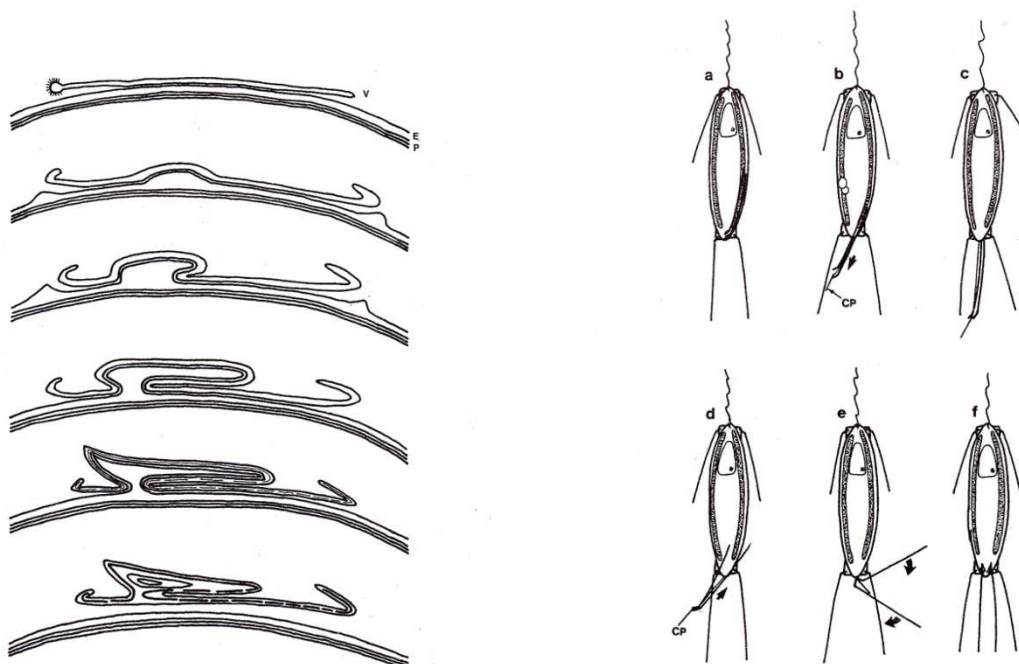
Většina druhů třídy Chrysophyceae má buňku ohraničenou pouze plazmatickou membránou (Pienaar 1980b), některé skupiny jsou však tvorbou šupin dobře známé. U Synurales tvoří křemičitou schránku ze spirálovitě se překrývajících šupin (angl. scale-case) všichni zástupci (Asmund & Kristiansen 1986). Zatímco u rodů *Mallomonas*, *Synura* a *Chrysodidymus* šupiny obklopují jednotlivé buňky, u rodu *Tessellaria* šupiny obklopují celou kolonii buněk (Preisig 1994, Škaloud et al. 2013). Křemičité šupiny jsou také přítomny u skupiny Paraphysomonadaceae s rody *Paraphysomonas*, *Polylepidomonas* a *Spiniferomonas* (Preisig & Hibberd 1983), a u jim nepříbuzného rodu *Chrysosphaerella* (Škaloud et al. 2013). Je velmi pravděpodobné, že se u skupin Synurophyceae, Paraphysomonadaceae i u rodu *Chrysosphaerella* vyvinuly křemičité šupiny nezávisle (Škaloud et al. 2013).

Šupiny se vytváří v silikon-depozitních váčcích (SDV), které u Chrysophyceae pravděpodobně vznikají splýváním váček Golgiho aparátu v přední části buňky (Preisig 1994a). Váčky jsou poté přemístěny do bezprostřední blízkosti obalové membrány chloroplastu, tzv. periplastidiálního endoplazmatického retikula (PER), a mezi oběma strukturami zřejmě dochází k řadě interakcí (Lavau & Wetherbee 1994). SDV váčky zlativek (Chrysophyceae) a rozsivek (Bacillariophyceae) jsou analogické, u zlativek je však váček stlačen a formován do tvaru budoucí šupiny ještě před uložením křemíku (Siver 1991). Na tvarování SDV se patrně podílí mikrotubuly a aktinová filamenta (Leadbeater & Barker 1995), podle některých autorů dokonce i mitochondrie (Andersen 1989). Vznik nejjemnější ornamentace šupin nebyl dosud zcela objasněn. Během ukládání křemíku SDV váček putuje podél chloroplastového endoplazmatického retikula do zadní části buňky (Siver 1991). Když jsou šupiny vytvořeny, dojde k jejich vyloučení na povrch buňky, kde se stanou součástí křemičité

schránky (Preisig 1994a). Šupiny schránky jsou vzájemně stmeleny pomocí glykoproteinů o vysoké molekulární hmotnosti (Ludwig 1996).

Přestože jsou ostny (angl. bristles) součástí šupin, tvoří se ve vlastních SDV váčcích. Jejich vznik se vysvětluje svinutím ploché šupiny (Wujek & Kristiansen 1978). Osten je připevněn k šupině až dodatečně, a to vně buňky. Ještě před vlastním připojením musí navíc dojít k jeho otočení (viz obr. 2; Wetherbee et al. 1995).

I osténky rodu *Synura* (angl. spine) vznikají v SDV váčku, avšak v tomto případě spolu se šupinou. Vytvořený ostének je dutý a v místě svého připojení zanechává na spodní straně šupiny otvor (Wee 1997).

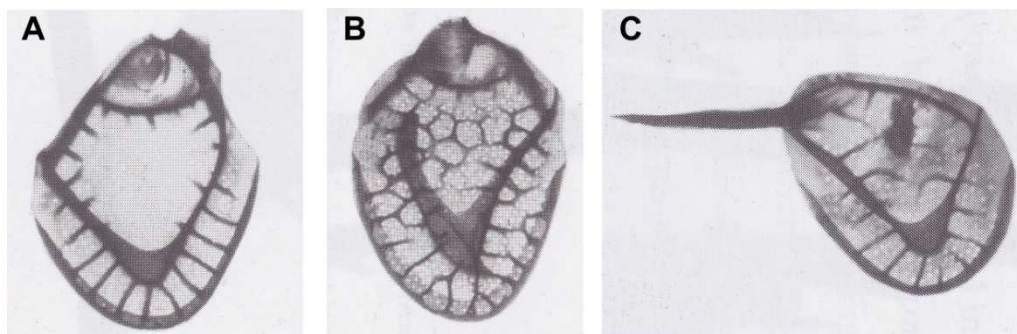


Obr. 1. Morfogeneze šupiny u *Synura petersenii* (Schnepf & Deichgräber 1969)

Obr. 2. Vysunutí a umístění posteriorních ostnů u *Mallomonas splendens* (Beech et al. 1990)

U nejvýznamnějších rodů *Mallomonas* a *Synura* jsou šupiny velmi variabilní co do velikosti (délka šupiny u *Mallomonas dickii* může dosahovat pouhého 1 μm , zatímco u *Mallomonas pseudocoronata* až 10 μm), ale také co do tvaru a jejich počtu (Preisig 1994a). Ornamentace šupin bývá sice druhově specifická, avšak existují i problematické skupiny, ve kterých ornamentace jednotlivých druhů splývá. Mezi takové případy bude nejspíše patřit i *Synura petersenii*, která pravděpodobně skrývá více kryptických druhů (Škaloud et al. 2012). Také jsou zástupci s velkou diverzitou tvarů na šupině, kteří však přísluší jedinému druhu. U některých druhů rodu *Mallomonas* lze odlišit apikální, tělové a posteriorní šupiny (angl. apical, body, caudal scales; viz obr. 3), přičemž apikální šupiny lze nalézt v blízkosti bičíku, tělové šupiny pokrývají většinu buňky a posteriorní

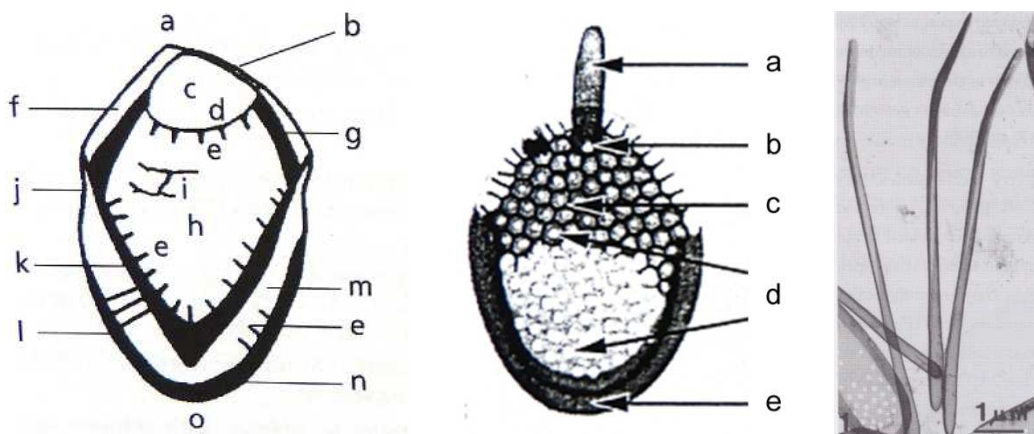
šupiny jsou nejrůzněji připojeny na konec buňky (Siver 1991). Někdy je navíc báze bičíku obklopena zvláštním typem apikálních šupin, tzv. límečkovitými šupinami (angl. collar scales). U *Synura spinosa* pak nalezneme tři až čtyři typy šupin na jediné buňce. Avšak i když se na buňce vyskytuje pouze jediný typ šupin, lze pozorovat rozdíly v ornamentaci a tvaru mezi šupinami na předním a zadním konci buňky (Kristiansen 1986).



Obr. 3. (a) Apikální, (b) tělová a (c) posteriorní šupina u *Mallomonas crassisquama* (Kristiansen 2005)

U šupin rodu *Mallomonas* je často přítomné výrazné V-žebro a šupiny zároveň bývají nezdědká opatřeny ostny. Ty se napojují na vyvýšenou přední část šupiny zvanou dóm (angl. dome) a svým zduřeným koncem vytváří jakési kloubní spojení (Beech et al. 1990). Ostny mohou být roztroušeny po celém buněčném povrchu, nebo omezeny na přední či zadní pól buňky (Preisig 1994a). Ostny se také pasivně pohybují, avšak při vlastním pohybu jedince bývají přitisknuté k povrchu buňky (Bourrely 1957).

Šupiny rodu *Synura* jsou o něco jednodušší, avšak často s válcovitými osténky (angl. spines). Druhy ze skupiny Petersenianae jsou charakteristické svým kuželovitým kylem (angl. keel) umístěným ve středu šupiny, ze kterého proti sobě vybíhají dvě řady žeber (angl. struts; Zeeb & Smol 2001). U některých zástupců rodu *Synura* se také vyskytují typicky protažené tubulární šupiny (viz obr. 6; Kristiansen & Vigna 1994). Autoři se domnívají, že k jejich vzniku došlo srolováním ploché šupiny, tj. stejným způsobem, jakým dochází ke vzniku ostnů u rodu *Mallomonas*.



Obr. 4. Základní struktury na šupině rodu *Mallomonas*: **a.** distální konec, **b.** ret, **c.** dóm, **d.** posteriorní okrajové žebro dómu, **e.** trámce, **f.** anteriorní okraj, **g.** anteriorní submarginální žebro, **h.** štít, **i.** žebra, **j.** laterální zakřivení, **k.** V-žebro, **l.** kápě, **m.** posteriorní okraj, **n.** přehnutý okraj, **o.** proximální konec, převzato z Asmund & Kristiansen (1986), české názvosloví převzato z Němcová (2000)

Obr. 5. Základní struktury na šupině *Synura curtispina*: **a.** ostének, **b.** otvor v bazální desce, **c.** šestiúhelníková sekundární struktura, **d.** póry bazální desky, **e.** přehnutý okraj, převzato z Wee (1997), české názvosloví převzato z práce Němcová (2000)

Obr. 6. Apikální tubulární šupina u *Synura spinosa*, převzato z Kristiansen & Vigna (1994)

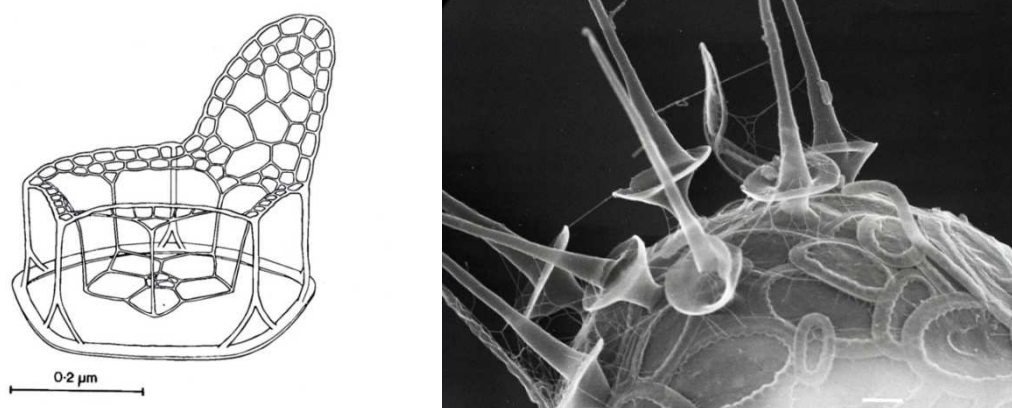
Kolonie rodu *Tessellaria* jsou pokryty několika vrstvami navzájem slepených šupin (Pipes & Leedale 1992). Přítomny jsou plátovité a osténkaté šupiny, zdá se však, že vznikají odděleně v různých buňkách kolonie. Vzniku SDV váčků se pravděpodobně neúčastní chloroplastové endoplazmatické retikulum, jako je tomu u rodů *Synura* a *Mallomonas*. SDV váčky jsou rozptýlené po celé buňce a na jejich tvarování se podílí těsně přiléhající cisterny endoplazmatického retikula i cytoskeletární jednotky mikrotubulů a aktinových filament (Pipes & Leedale 1992).

U skupiny Paraphysomonadaceae mají šupiny často paprscitou či bilaterální symetrii, v některých případech mohou být na průřezu zvlněné či s prodlouženými centrálními výstupky, vytvářejícími osténky nebo trojrozměrné vyvýšeniny síťovitého tvaru (Preisig & Hibberd 1983). Na jedné buňce se mohou vyskytovat až tři různé typy šupin, avšak ty nejsou vázané na konkrétní oblasti buňky, jako je tomu u Synurales, nýbrž jsou rovnoměrně rozmístěny po celém povrchu. Šupiny jsou na buňce řidčeji a chaotičtěji uspořádané, což je další aspekt, ve kterém se Paraphysomonadaceae liší od precizního poskládání šupin na buňkách zástupců Synurales (Preisig 1994a).

Na buňkách Paraphysomonadaceae se mohou vyskytovat také zvláštní šupiny, například korunkové šupiny (viz obr. 7; angl. crown scales) s velmi složitou strukturou (u rodu *Paraphysomonas*), či ostnové šupiny (angl. spine scales; Preisig & Hibberd 1982).

U SDV váčků této skupiny dosud nebylo prokázáno, že by byly v kontaktu s chloroplastem. Váčky vznikají v blízkosti Golgiho aparátu, ale jejich propojení s touto organelou nebylo doposud pozorováno a tak je jejich původ nejasný (Preisig 1994a). Cisterna endoplazmatického retikula je vždy v těsném kontaktu s SDV, toto spojení zůstává zachováno při pozdějším putování váčků do periferní cytoplazmy a je pravděpodobné, že se cisterna podílí i na jeho tvarování (Lee 1978). Poté se v předem vytvarovaném váčku začne ukládat křemík a cisterna endoplazmatického retikula se postupně zmenšuje, až úplně zmizí. U žádného zástupce Paraphysomonadaceae nebyly pozorovány mikrotubuly či aktinová filamenta v blízkosti SDV, proto je možné, že se neúčastní procesu tvorby šupiny (Preisig 1994a).

U rodu *Chrysosphaerella* lze nalézt kromě základních šupin i šupiny ostnové s charakteristicky pohárovitě stočeným bazálním diskem (viz obr. 8). U rodu *Spiniferomonas* jsou ostnové šupiny také přítomné, avšak jejich bazální disk je jednodušší (Nicholls 1980).



Obr. 7. Korunková šupina u *Paraphysomonas morchella*, převzato z Němcová (2000)

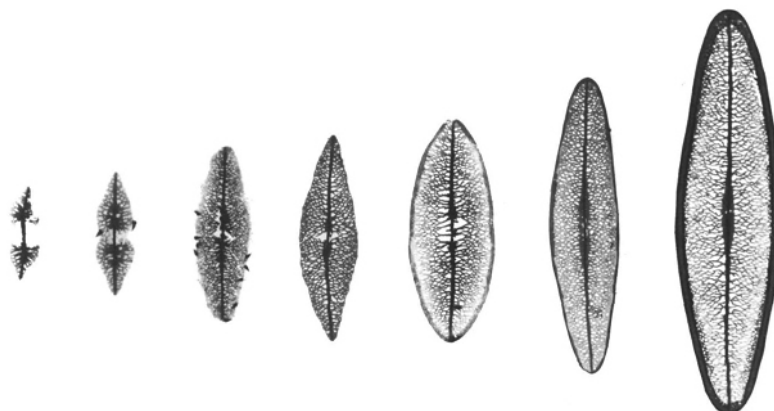
Obr. 8. Ostnová šupina s pohárovitě stočeným bazálním diskem rodu *Chrysosphaerella*, převzato z Nicholls (1981)

3.1.2. Šupiny ostatních skupin v rámci linie Chromista

Ancestrálním znakem centrohelidních slunivek (Centrohelida) je dvouvrstevný buněčný povrch z křemičitých šupin (Cavalier-Smith & von den Heyden 2007). Spodní vrstva je tvořena plátovitými šupinami (angl. plate scales), které bývají oválného tvaru, někdy mírně zúžené na jednom nebo obou koncích, a jejich středem se často táhne podélný kýl (angl. sternum). Plátovité šupiny některých zástupců skupiny Choanocystidae jsou dvoulaločné. U skupiny Raphidiophryidae jsou plátovité šupiny na okraji podvinuty do podoby lemu (angl. rim). Svrchní vrstva křemičitých šupin je tvořena dvoudílnými protáhlými radiálními šupinami se značně variabilní morfologií mezi jednotlivými skupinami slunivek. U skupiny Pterocystidae například svrchní šupiny připomínají čepel listu s výrazným středním žebrem (angl. axial rib) a rozšířenými postranními křídly (angl. lateral wings), a

jsou zakončeny zakulacenou nebo zkosenou bazální částí. Svrchní šupiny zástupců Choanocystidae se skládají z vertikálního bodce (angl. stalk), ten je někdy ohnutý či větvený, a z plochého horizontálního disku na jeho bázi. U Acanthocystidae jsou vnější šupiny nálevkovitého tvaru, někdy jsou mezi nimi přimíšeny i radiální jehlovité šupiny s příležitostně větvenou horní částí a štítovitým bazálním diskem. U Raphidiophryidae není vnější vrstva šupin vyvinuta (Patterson & Dürrschmidt 1988, Cavalier-Smith & von den Heyden 2007).

Vznik plátovitých šupin byl detailně popsán u druhu *Raphidiophrys ambigua* (viz obr. 9; Patterson & Dürrschmidt 1988). Původ SDV váčků není doposud znám a v průběhu ukládání křemíku jsou tyto orgány asociovány s plazmatickou membránou. Základem budoucí šupiny jsou dva vstříčné kýly (angl. sternum), které vymezují její podélnou osu. Silicifikace pokračuje rozšiřováním šupiny od kýlů směrem vně tvorbou pravidelně rozestoupených postranních žebér. Jednotlivá žebra se dále větví a splývají spolu do podoby jemné křemičité žilnatiny. Když dosáhne šupina své konečné velikosti, po celé délce jejího okraje se dalším ukládáním vrstev křemíku utvoří podvinutý okrajový lem (angl. rim).



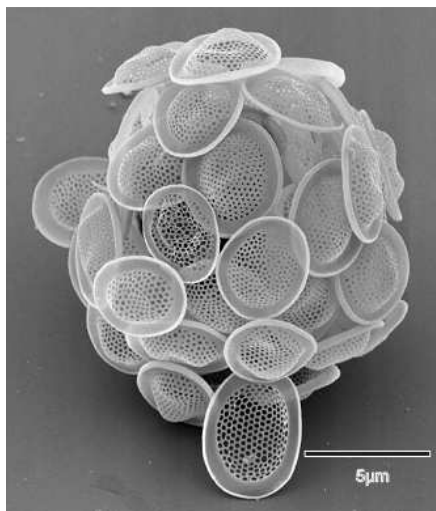
Obr. 9. Vývoj šupiny u *Raphidiophrys ambigua*, převzato z Patterson & Dürrschmidt (1988)

V rámci skupiny Haptophyta se vyskytují křemičité šupiny pouze u jediného doposud objeveného druhu (Yoshida et al. 2006). *Hyalolithus neolepis* nese nápadné křemičité šupiny kloboukovitého tvaru, které jsou na povrchu buněk uloženy v několika vrstvách (viz obr. 10). Pod nimi se ještě nachází vrstva organických šupin, typických pro celou skupinu Haptophyta. Šupiny mají ve vypouklé centrální části mnoho pórů, okraj šupiny je pak nazpět ohnutý a celistvý. Na buňce jsou poskládané tak, že směřují vypouklou částí vně buňky. Přesto že se šupiny překrývají, nejsou vzájemně spojené.

K tvorbě šupin nejspíše dochází v SDV váčcích v zadní části buněk. U Haptophyta vznikají v Golgiho aparátu jak organické šupiny, tak vápenaté kokolity, avšak na tvorbě křemičitých šupin se zjevně nepodílí. SDV by mohly případně vznikat z vakuol, které se nachází v jejich blízkosti. Jejich původ však zůstává doposud neobjasněný. Počátečním stádiem tvarování šupin jsou velmi tenké

křemičité prekurzory, později jsou šupiny nasměrovány vydutou stranou do středu buňky (Yoshida et al. 2006).

Křemičité šupiny lze nalézt pouze u nepohyblivých buněk tohoto druhu, přestože jsou i u nich ukryty v křemičité schránce dva krátké bičíky (Yoshida et al. 2006).

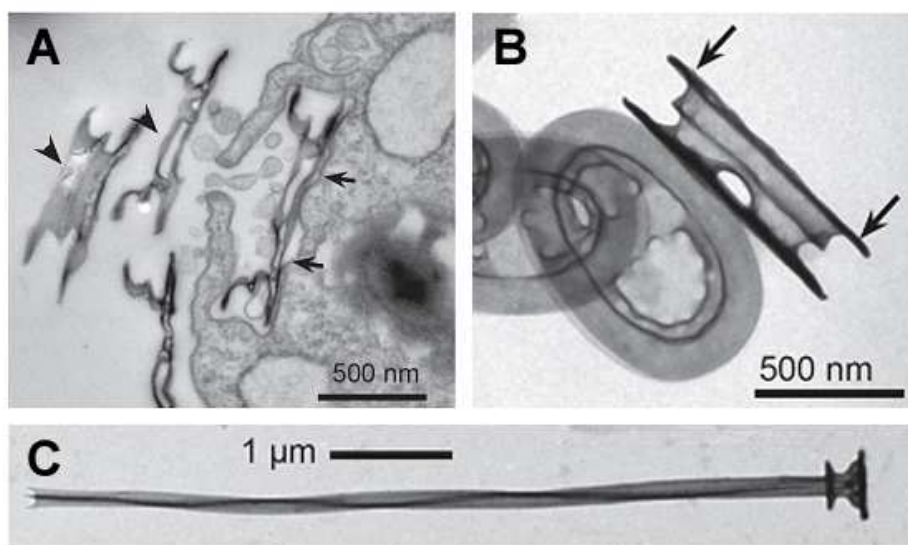


Obr. 10. Klobouk připomínající šupiny druhu *Hyalolithus neolepis*, převzato z Yoshida et al. (2006)

Tvorba křemičitých šupin je charakteristickým znakem zástupců třídy Imbricatea (Cercozoa), do které patří skupiny Euglyphida a Thaumatomonadida (Cavalier-Smith & Chao 2003). Buňky u Thaumatomonadida jsou rovnoměrně pokryty dvěma základními typy křemičitých šupin. Střechovitě se překrývající plátovité šupiny (angl. plate scales) jsou oválného tvaru s neustáleným počtem drobných otvorů na ploše, které dosahují průměrných rozměrů $0,9 \times 1,3 \mu\text{m}$. Při bočním pohledu je patrné, že jsou plátovité šupiny tvořeny spojením dvou identických částí talířovitého tvaru s výrazným lemem. Druhým typem tělních šupin jsou ostny (angl. spine scales), s protáhlým tvarem a značně variabilní délkou (viz obr. 11). Na bázi ostnů jsou umístěny dva disky s kuželovitými náběhy, které svým tvarem připomínají přesýpací hodiny, na opačném konci pak osten vybílá ve tři drobné hroty. U některých zástupců je přední bičík pokryt drobnými oválnými křemičitými šupinami s protáhlou prohlubní uprostřed.

Během vzniku šupin jsou SDV váčky nápadně asociovány s mitochondriemi, což je unikátní znak doposud zaznamenaný jen u zástupců skupiny Thaumatomonadida. V SDV váčcích interagujících s mitochondriemi vznikají oba základní typy šupin. Plátovité šupiny jsou skládány ze dvou talířovitých částí, které jsou však v SDV váčcích tvořeny jednotlivě. Když je proces formování šupiny dokončen, SDV váček je transportován k plasmatické membráně a šupina je vyloučena na povrch buňky (Ota et al. 2012).

Mezi nejvýznamnější rody patří *Thaumatomonas* a *Thaumatomastix*, které se od sebe liší přítomností křemičitých šupin na bičíku (Ota et al. 2012).



Obr. 11. *Thaumatomastix salina* (a) Transport šupin na povrch buňky, (b) pohled ze shora a z boku na šupinu, (c) Ostnovitá šupina, převzato z Ota et al. (2012)

S pohlavním procesem rozsivek (Bacillariophyceae) je spojena tvorba tzv. auxospor. Povrch organických stěn auxospor je u většiny zástupců pokryt drobnými křemičitými šupinami, jsou však známy i rody, ve kterých se šupiny netvoří (např. *Stephanodiscus*). U polycentrických a penátních rozsivek se na povrchu auxospor vyskytují kromě šupin i křemičité pásy, které omezují zvětšování vyvíjející se auxospory do určitých směrů a podílejí se tak na polarizaci jejího růstu (Medlin & Kaczmarek 2004). V průběhu dalšího vývoje auxospor jsou křemičité šupiny i pásy nahrazeny křemičitou schránkou (viz kap. 3.2.1), která obklopuje dospělá stadia rozsivek.

U příbuzné skupiny rozsivek, Parmales, ze třídy Bolidophyceae, lze nalézt buněčný povrch z křemičitých plátů, které mohou nést výrůstky podobné osténku (Kosman et al. 1993, Guillou 2011). Pláty jsou symetricky uspořádané a velice se podobají křemičitém šupinám z povrchu auxospor rozsivek (Mann & Marchant 1989).

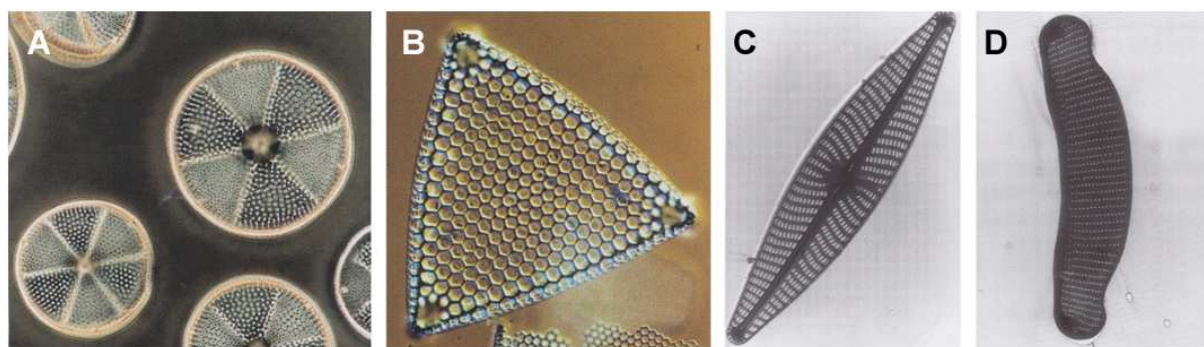
Příkladem řasy kryté stočenými křemičitými osténky může být *Meringosphaera mediterranea*. Dnes řazena do skupiny Xanthophyceae (Yoshida et al. 2006), její taxonomické zařazení je však značně nejisté.

3.2. Křemičité buněčné stěny

3.2.1. Schránky rozsivek

Křemičitá schránka rozsivek se nazývá frustula, a jedná se vlastně o silicifikovanou buněčnou stěnu obklopující plazmatickou membránu. Frustula se skládá ze dvou ték (angl. valve), které do sebe přesně zapadají. Každá z nich je tvořena plochou částí misky (angl. valve face) a prstencovitým pláštěm misky (angl. valve mantle). Obě téky jsou pak spojené překrývajícím se křemičítým páskem, tzv. bočním pásem téky (angl. girdle band). Frustuly nabývají nejrůznějších tvarů a jsou jemně ornamentované (Medlin & Kaczmarska 2004, Kalina & Váňa 2005). Symetrie plochých částí misky se stala znakem, na jehož základě lze schránky rozsivek rozdělit do tří hlavních skupin: centrické, polycentrické a penátní. U většiny penátních rozsivek se téměř po celé délce ploché části misky táhne příčná rýha zvaná raphe, některé penátní rozsivky jej však netvoří (Finkel & Kotrc 2010). Stěna frustuly se obvykle skládá z jedné nebo dvou křemičitých vrstev, které bývají proděravělé drobnými póry (angl. areolae). Uspořádání pórů je zpravidla druhově specifické, jejich seskupením se mohou utvářet i řady (angl. stria). Na vnitřní straně stěny frustuly jsou póry často uzavřeny sítí křemičitých vláken s drobnými štěrbinami (angl. sieve plate / velum).

Vzhledem k přítomnosti pevných schránek dochází u rozsivek k buněčnému dělení uvnitř křemičité frustuly rodičovské buňky, což se většinou po několika generacích nepohlavního množení projeví mnohonásobným zmenšením velikosti dceřiných buněk. Původní velikost buněk může být obnovena pouze pohlavní reprodukcí (Round et al. 1990). Pokud ale u jedinců určité kritické velikosti k pohlavnímu rozmnožení nedojde, může rozsivka permanentně ztratit schopnost se dělit (Mann et al. 2003).



Obr. 12. Rozsivky rodu (a) *Actinocyclus*, (b) *Triceratium*, (c) *Navicula* a (d) *Eunotia*, převzato z Kalina & Váňa (2005)

U rozsivek se nové téky začínají tvořit krátce po cytokinezi. Křemík je ukládán do SDV váčků, které nejspíše vznikají splýváním váčků odštěpených z endoplazmatického retikula (Schmid 1994). Zpočátku je SDV malým váčkem, který leží těsně pod plazmatickou membránou (Schmid &

Schulz 1979). Postupně se však zvětšuje a rozpíná do šířky, následně dochází k ukládání křemíku. Místo, kde u mnoha rozsivek začíná proces tvorby téky, se nazývá centrum vzorů (angl. pattern centers / sternum; Round et al. 1990). Do procesu silicifikace se zapojují, stejně jako u křemičitých šupin skupiny Synurales, cytoskeletární komponenty (Leadbeater 1986). Parkinson et al. (1999) demonstrovali, že by se mikrotubuly mohly podílet na řízeném ukládání křemičitého materiálu. Fyzikální faktory, jako je mobilita povrchu, povrchové napětí a teplota mohou rovněž ovlivnit přirůstání křemičitého útvaru (Parkinson et al. 1999). Tvarování jemných struktur by mohlo být řízeno i změnami pH uvnitř SDV váčků (Geddes & Brich, 2000), nebo samoorganizací založené na zákonech mechaniky kapalin obdobně jako je tomu v Bělousovově-Žabotinského reakci (Medlin 2002). Avšak ani dnes není formace téky zcela objasněná.

Vývojově nejpůvodnějším typem jsou centrické rozsivky, známé již ze společenstev spodní křídy. Během svrchní křídy až počátku třetihor došlo k rozvoji polycentrických rozsivek a zároveň se objevily první penátní rozsivky (Finkel & Kotrc 2010).

Neobvyklou rozsivkou je *Phaeodactylum tricornutum*, která tvoří v závislosti na konkrétním morfotypu buď jedinou křemičitou téku, nebo křemičité pásy upevněné v buněčné stěně. Zdá se také, že na rozdíl od ostatních rozsivek není *Phaeodactylum tricornutum* životně závislá na dostupnosti křemíku v prostředí. Křemičité transportéry tohoto druhu jsou charakteristické svou nízkou afinitou a účinností, strukturně se však příliš neliší od transportérů jiných rozsivek (Brzezinski et al. 1990, Thamtrakoln et al. 2006).

3.2.2. Křemičité cysty a spory

Cysta je odolným klidovým stádiem v životním cyklu mnoha protist, které umožňuje překonání nepříznivých podmínek. Během encystace organismus přechází do stádia metabolického klidu, jehož znakem bývá dehydratace a ztráta schopnosti aktivního pohybu. Cysty mají obvykle kulovitý tvar, jejich povrch může být hladký či do různé míry ornamentovaný a někdy bývají vybaveny vystouplým pórem. Cysty u různých skupin pravděpodobně nevznikají homologním způsobem. O procesech, které encystaci i excystaci řídí, není dodnes příliš známo (Preisig 1994b). Ve skupině Chromista jsou tvorbou cyst známí především zástupci Chrysophyceae.

Spory pak, na rozdíl od cyst, vznikají jako výsledek pohlavního procesu.

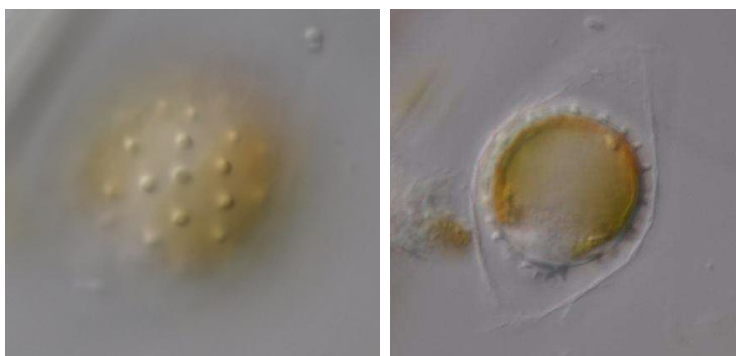
3.2.2.1. Cysty u Chrysophyceae

U Chrysophyceae jsou cysty označovány jako stomatocysty (popř. statospory či statocysty) a pravděpodobně jsou produkovány všemi druhy. Tvoří je dokonce i zástupci, u kterých nejsou přítomny křemičité šupiny. Stomatocysta je produkována jako součást jejich životního cyklu a to nejspíše jak pohlavní, tak nepohlavní cestou, přičemž oběma způsoby vznikají tvarově identické cysty (Sandgren 1991). Morfologie stomatocyst je často druhově specifická, i v rámci jednoho rodu se mohou tvořit cysty s ojedinělými znaky (Cornberg 1986). Pouze 10-15 % morfotypů cyst však bylo

přiřazeno ke konkrétním druhům, neboť je velmi obtížné zastihnout buňku během encystace či excystace (Zeeb & Smol 2001). Tato situace byla dokonce důvodem k vytvoření umělého systému stomatocyst, nezávislého na druzích (Adam & Madhood 1981).

Cysty obvykle dosahují průměru 2-30 μm , vždy je na nich umístěn okrouhlý pór utěsněný organickou zátkou, která obsahuje křemík jen v omezeném množství nebo vůbec (Preisig 1994a). Pór může být lemován křemičitým valem, vnitřní průměr póru je v některých případech zmenšen tenkým křemičitým prstencem (angl. pseudoannulus) a někdy může být dokonce celý pór zakryt křemičitým víčkem (angl. cap; Zeeb & Smol 2001).

Stomatocysta se zakládá endogenně, v rané fázi encystace je Golgiho aparát velmi aktivní a produkuje množství váčků. Tyto váčky spolu fúzí a vytváří velký kulovitý SDV váček. Budoucí pór je utvářen z otvoru v SDV váčku, nebo vzniká jeho protržením v rané fázi tvorby stomatocysty. Je možné rozlišit dvě fáze silicifikace cyst. Během primární silicifikace se v SDV váčku vytvoří primární stěna cysty. Tento proces probíhá rychle, ze silicifikačního místa na zádi postupuje směrem k přední části buňky. Sekundární silicifikace následně vede k ztlustění primární stěny, vymodelování valu kolem póru a rozvoji povrchové ornamentace. Sekundární fáze probíhá pozvolněji, je více regulovaná a nápadně připomíná vývoj komplexní ornamentace frustul u rozsivek. Stupeň povrchové ornamentace stomatocyst může být dokonce i ovlivněn fyziologickým stavem jedince během encystace (Sandgren 1983). Když se cysty vytvoří, klesnou vodním sloupcem ke dnu a často se tak stávají součástí sedimentu (Preisig 1994a).



Obr. 15. Cysta druhu *Mallomonas caudata* při různém zaostření (s laskavým svolením P. Škalouda)

3.2.2.2. Cysty ostatních skupin v rámci linie Chromista

Tvorby křemičitých cyst jsou schopné i některé obrněnky (Dinophyta). U rodu *Ceratium* byla objevena křemičitá zrna ve stěnách cyst zygot (Chapman 1982). Křemičité cysty byly nalezeny také u několika fosilních rodů (např. *Peridinites*), přestože v těchto případech není zcela jasné, zda došlo k silicifikaci před, během, nebo až po fosilizaci (Tappan 1980). U rodu *Achradina* je vyvinuta křemičitá blanka, o které se usuzuje, že je homologií křemičité stěny cyst (Taylor 1987).

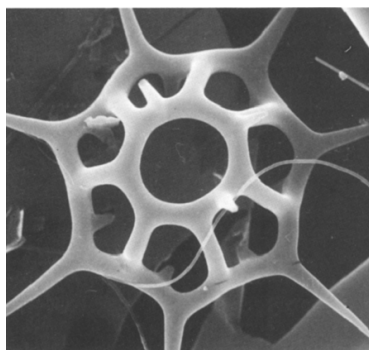
Také jediný doposud objevený silicifikující nálevník – *Maryna umbrellata* – během svého životního cyklu vstupuje do dormance a vylučuje nahromaděná křemičitá granula na povrch kulovité odpočívající cysty (Foissner et al. 2009). Spolu se skelnými granuli o průměru 0,5-2 μm excytuje i lepkavý materiál, který je stmeluje dohromady a vytváří tak stěnu cysty. Hustota uložených granul se snižuje směrem od povrchu buňky. Časem dochází k ulámaní vnějších granul a na základě průměru cyst lze tedy odhadovat jejich stáří (Foissner et al. 2009).

Různobrvky (Xanthophyceae) mohou vytvářet dvoudílné cysty s křemičitou stěnou uvnitř svých buněk, což bylo pozorováno například u rodů *Chloromeson* a *Heterochloris* (Preisig 1994a). Křemičité cysty dále tvoří některé druhy čeledi *Raphidophyceae* (Mayama & Kuriama 2002). U Haptophyceae tvoří křemičité cysty pouze rod *Prymnesium* (Pienaar 1980a).

3.2.3. Křemičité kostry

Jedná se o pevné struktury s ochrannou nebo podpůrnou funkcí. Kostry mohou být vnitřní nebo vnější v závislosti na svém umístění v buňce. Vnitřní kostry jsou částečně nebo úplně uzavřeny v cytoplazmě, vnější kostry naopak leží na jejím povrchu, přestože bývají k cytoplazmě připojeny (Preisig 1994b).

Téměř všichni zástupci skupiny Dictyochophyceae (s výjimkou Pedinellales) tvoří zvláště tvarovanou vnější křemičitou kostru (Preisig 1994a). Jejich kostra má podobu košíku složeného z dutých trubiček, které spolu vzájemně splývají a tvoří tak síť. Z kostry vybíhají ostny nejrůznějších velikostí, špice těchto ostnů bývají navíc ornamentovány trnitými límečky kuželovitého tvaru. Vlastní buňka pak spočívá ve válcovité dutině kostry, kterou navíc obklopuje rosolovitá kapalina (Mayama & Kuriama 2002). U fosilních zástupců byly identifikovány i struktury podobné stěnám (Preisig 1994a). Tvorba křemičité kostry probíhá uvnitř buněk, k její silicifikaci dochází postupně a až později je vytlačena na povrch buňky (Preisig 1994a). Většina druhů je známa pouze z fosilního záznamu z období křídý a třetihor (Tappan 1980), mezi ty současné patří rod *Dictyocha* (Preisig 1994a).



Obr. 16. Vnější kostra druhu *Dictyocha speculum*, převzato z Preisig (1994a)

Mezi mřížovce (*Radiolaria*) byly tradičně řazeny tři skupiny protist, zástupci dvou z nich (*Polycystinea*, *Phaeodarea*) jsou známí tvorbou křemičitých koster. Na základě výsledků současných fylogenomických analýz se však ukázalo, že vývoj biosilicifikace v obou těchto skupinách byl patrně nezávislý (Sierra et al. 2013). Zástupci známější skupiny *Polycystinea* tvoří vnitřní křemičité kostry kulovitěho, diskovitěho nebo kuželovitěho tvaru. Základními stavebními prvky koster jsou tyčinky, mříže a pláty s četnými póry. Struktura koster může být i velmi komplikovaná, s jemnou povrchovou ornamentací tvořenou póry, drobnými výrůstky, ostny a jemným mřížováním. Tvar koster je zpravidla druhově specifický a využívá se k rozlišování druhů v taxonomii (Anderson 2001).

Naprostou většinu mřížovců doposud není možné laboratorně kultivovat, proto jsou naše znalosti o průběhu tvorby křemičitých koster u této skupiny omezené (Ogane 2010). Je možné rozlišit dvě fáze růstu: primární a sekundární (Anderson 2001, Ogane et al. 2010). Během primární fáze dojde k uložení hlavních komponent budoucí kostry. Základ křemičité kostry se vytváří v cisternách, které vznikají splýváním SDV váčků. Membrána těchto buněčných kompartmentů je někdy označovaná jako cytokalyma (angl. cytokalymma). Cisterny jsou velmi dynamickými útvary. S pomocí sítě cytoplasmických provazců se amorfní křemík ukládá nejprve do podoby tyčinek, které vzájemným splýváním následně tvoří mříže a rozšiřováním těchto mříží nakonec vznikají křemičité pláty s póry. V případě komplikovaných koster s několika koncentrickými patry dochází k jejich postupné silicifikaci směrem od středu vně. Během sekundárního růstu dojde k rozvoji povrchové ornamentace, například vyvinutím ostnů, ostének a závoj připomínajících mřížek. Ogane et al. (2010) s pomocí fluorescenčního značení sledovali postupné rozšiřování koster (angl. skeletal thickening growth) polymerací křemíku v SDV váčcích.

Někteří zástupci ze skupiny *Cercozoa* si staví vnitřní křemičitou kostru košíkovitého tvaru, týká se to například rodů *Ebria* či *Hermesium*. Jejich kostra se skládá z pevné konstrukce křemičitých tyčinek (Preisig 1994a).

Vnitřní křemičité kostry jsou známy i u několika druhů obrněnek (*Dinophyta*). Mezi známé zástupce patří *Actiniscus pentasterias*, který má buňku vyztuženou dvěma až pěti vnitřními kosterními segmenty. Tyto segmenty vytvářejí jakési víčko nad jádrem buňky, míra silicifikace je ale u různých jedinců tohoto druhu značně proměnlivá (Preisig 1994a).

3.3. Loriky

Buňky některých protist jsou chráněny volně připojenou strukturou zvanou lorika. Jeden z konců loriky je obvykle vybaven širokým otvorem, méně často jsou otvory přítomny na obou pólech. Jedním ze svých konců bývá také lorika připevněna k podkladu. Loriky jsou utvářeny svými majiteli, u koloniálních druhů umožňuje tvarování loriky uskupení jedinců v kolonii. Když se buňka s lorikou nepohlavně rozdělí, jedna z dceřiných buněk si svou vlastní loriku vytvoří, zatímco druhé zůstane lorika po mateřské buňce (Preisig 1994b).

Silicifikované loriky však nejsou příliš časté, tvoří je někteří zástupci skupiny Chrysophyceae, například rod *Chrysococcus* (Preisig 1994a).

3.4. Křemičitá granula

U nedávno objeveného nálevníka *Maryna umbrellata* (Ciliophora) byla za pomoci tří nezávislých metodických přístupů odhalena granula amorfního křemíku v cytoplasmě buněk (Foissner et al. 2009). Tvorba granul a jejich sekrece na povrch buněk je součástí procesu encystace (viz kap. 3.2.2.2). Granula si však nálevníci tvoří a hromadí v přední části buňky i za příznivých podmínek. Nelze tak vyloučit, že v buňce zastávají i jiné role, nesouvisející se vznikem cyst.

Granula se pravděpodobně tvoří v elipsoidních SDV váčcích odvozených od Golgiho aparátu. V SDV váčcích se nejprve poblíž silikalemy hromadí drobné křemičité kuličky o průměru 20-40 nm, následně dochází k jejich polymeraci do porózní houbovité struktury a přeměně na amorfni křemičitou hmotu, která SDV váček postupně zaplňuje. Vzniklá granula amorfního křemíku dosahují průměrné velikosti $0,8 \times 0,6 \mu\text{m}$ (Foissner et al. 2009).

4. Význam křemičitých struktur

Jak již bylo v předchozích kapitolách nastíněno, koncentrace rozpuštěného křemíku v prostředí je natolik nízká, že musí být do buňky aktivně transportován a poté složitě metabolizován za velké spotřeby energie. Tato energetická náročnost se může projevit i delší generační dobou biosilicifikovaných buněk (Brzezinski 1992), či jejich nižší rychlostí růstu (Henriksen et al. 1993). Přesto je křemík hojně využíván jako stavební součást těl mnoha skupin chromistních mikroorganismů. Z toho lze vyvodit, že křemičité struktury musí přinášet i odpovídající výhody, které nemusí být na první pohled patrné. K dispozici je však jen velmi málo dat svědčících o konkrétních funkcích křemičitých struktur, některé významy lze navíc jen velmi obtížně testovat a jsou tak rozebírány pouze na teoretické úrovni.

4.1. Křemičitá struktura jako ochrana proti predaci či parazitaci

Buňky vlastnící jakékoli křemičité struktury jsou vždy do jisté míry chráněny před predátory. Princip této ochrany spočívá v několika mechanismech: ve snížení dostupnosti kořisti, v její mechanické odolnosti, ve zvětšení kořisti jako potravní částičky nebo v poranění predátora. Způsoby ochrany jsou spolu více či méně provázané a výsledná obrana organismů je často realizována jejich kombinací.

Především křemičité schránky a loriky, vytvářející celistvý obal okolo buňky, snižují přístupnost protoplastu pro predátora. Zároveň dochází k mechanickému zpevnění. Například křemičité schránky rozsivek jsou dokonce díky své odolnosti studovány v inženýrství (Schröder et al. 2008). Pevnosti frustuly není docíleno jen tloušťkou křemičité stěny, zásadní je i architektura schránky, tedy přítomnost výztuh a její tvar (Finkel & Kotrc 2010). Vliv na odolnost mají i póry. Znemožňují, aby při vyvinutém tlaku vznikla dlouhá prasklina. Případná trhлина ve frustule je vždy krátká, jelikož končí v blízkém póru (Vogel 2003). Hamm et al. (2003) zkoumali odolnost křemičitých schránek rozsivek vůči mechanickému tlaku případných predátorů, zde buchánek. Podle autorů je frustula natolik mechanicky odolná, že je pro predátora nemožné schránku rozlomit. Avšak podle Austin et al. (2005) frustula může být rozlomena predátory ze skupiny dírkonošců (Foraminifera). I když dojde k pozření predátorem, díky odolné schránce buňka často prochází trávicím trakem neporušena, dokonce se spekuluje, že by buňka mohla využít na živiny bohatého prostředí a za dobu pobytu se zde přiživit (Fowler & Fisher 1983). Neustále však hrozí poškození buňky enzymy či patogeny. Proti tomu jsou jen málo odolní zástupci skupiny Silicoflagellates, naopak rozsivky jsou v přežívání za takových podmínek mnohem úspěšnější (Tol et al. 2012).

Ochrana proti predaci spočívá i ve zvětšení velikosti, čehož může jedinec dosáhnout tvorbou schránek, šupin nebo lorik. Spolu s dalšími buňkami se mohou také uspořádávat do kolonií či řetězků, což způsobí další zvětšení jejich velikosti. Mnoho druhů tento efekt ještě zvyšuje tvorbou ostnů a ostének (rod *Chrysophaerella*, mnoho druhů rodu *Mallomonas*, skupina Thaumatomonadida). Predátor pak posuzuje celkovou velikost kořisti jako potravinové částičky (Sandgren & Walton 1995).

Kromě zvětšení velikosti mohou ostny a osténky způsobit i poranění predátora, a to jak povrchové, tak poranění ústního zařízení či zažívacího traktu pozřením. Kořist s ostny navíc může i prodlužovat dobu potřebnou ke svému zpracování (angl. handling time) a tak nemusí být aktivně lovicím predátorem upřednostňována (Hamm & Smetacek 2007).

I když se obrana proti predaci zdá být hlavním stimulem k tvorbě křemičitých struktur, ekologické experimenty její funkčnost ne vždy potvrzují. Sandgren a Walton (1995) provedli dvě studie cílené na predaci fytoplanktonu s důrazem na skupinu Chrysophyceae s křemičítým pokryvem. První studie se zabývala tím, jak často jsou různé druhy fytoplanktonu pohlcovány filtrátory různých velikostí. Zjistilo se, že i přes přítomnost křemičitých šupin a ostnů se oba rody skupiny Chrysophyceae s křemičitou schránkou stávají potravou filtrátorů stejně často nebo dokonce i častěji, než jiní zástupci fytoplanktonu bez křemičitého pokryvu. Do dalšího experimentu již autoři zahrnuli pouze druhy ze skupiny Synurales, a to dva druhy rodu *Mallomonas* (*M. caudata*, *M. pseudocoronata*) a jeden druh rodu *Synura* (*S. petersenii*). Jako filtrátory byly do studie zahrnuty tři velikostní kategorie rodu *Daphnia*, nosatička rodu *Eubosmina* a vznášivka rodu *Diaptomus*. Od každého druhu kořisti byla populace kultivována kromě standardního média i v médiu s extrémně nízkou koncentrací křemíku, čímž bylo dosaženo vytvoření nahých buněk. Šupinatá i nahá kořist pak byla předkládána zmíněným pěti různým predátorům. V souladu s očekáváními preferovali filtrátory rodu *Eubosmina* a *Diaptomus* nejvíce buňky kořisti bez křemičitého pokryvu. Je možné, že formy s šupinami a ostny byly pro predátory příliš velké na pozření. Zajímavé však bylo chování všech velikostních kategorií filtrátorů rodu *Daphnia*, kteří upřednostňovali naopak formy kořisti s křemičítým pokryvem. Sami autoři tento výsledek dále nekomentují, výsledný scénář by však mohl být způsoben přítomností filtračních hřebínků u rodu *Daphnia*, na kterých se může kořist snadno zachytit, zvláště nese-li křemičité výrůstky. Obě srovnávané formy kořisti se však kromě přítomnosti křemičitých struktur mírně lišily i svou velikostí, což mohlo rovněž ovlivnit výsledek experimentu.

Buňky se pomocí křemičitého pokryvu mohou bránit i proti průniku parazitů, parazitoidů či virů do protoplastu. Frustuly rozsivek jsou například pokryty pouze póry omezeného průměru, které by mohly sloužit k ochraně buňky před konkrétními druhy parazitoidů, nebo virů (Finkel & Kotrc 2010). Bylo navrženo, že i samotné zvýšení hustoty buněk silicifikací může být spojeno s vyhnutím se parazitoidům a virům (Raven & Giordano 2009).

4.2. Křemičité polymery jako materiál chránící cysty

Stejně jako u schránek či lorik, i u cyst křemík velmi efektivně působí jejich zpevnění. Silicifikovaná stěna cysty je však schopná více než jen odolávat mechanickému tlaku a chránit tak v cystě uzavřený protoplast. Zároveň je taková cysta odolná vůči rozpouštění (Preisig 1994b). Křemík je pro stavbu cyst výhodným materiálem, jelikož je trvalejší v porovnání s relativně nestálou organickou hmotou (Foissner et al. 2009). Autoři se dále domnívají, že by křemičitá stěna cysty mohla bránit i vysušování protoplastu.

4.3. Křemík jako součást metabolismu buňky

Jednou z možností, jak vysvětlit neobvyklou existenční závislost rozsivek na dostupnosti křemíku by mohlo být, že se křemík účastní významných metabolických procesů buňky. Uvnitř stěny frustuly byly odhaleny proteiny složené z mnoha neobvyklých aminokyselin, o kterých se spekuluje, že by se mohly podílet na polymeraci křemíku (Kröger & Sumper 1998). Tyto proteiny by mohly vznikat netradičním způsobem, bez účasti ribozomů, avšak za přispění křemíku. U některých rozsivek (např. rod *Pseudonitzschia*) byly identifikovány proteiny zvané polyketidy, u kterých nedochází k syntéze na ribozomech (Neilan et al. 1999). Nelze tak vyloučit, že by tento způsob vzniku proteinů mohl být u rozsivek častější (Medlin 2002). Lze spekulovat, že netradičně syntetizované proteiny vznikající v reakcích katalyzovaných křemíkem se mohly v průběhu evoluce rozsivek kromě biosilicifikace zapojit i do důležitých buněčných procesů a posléze se stát esenciálními.

Další hypotéza zahrnuje potřebu křemíku ke katalýze některých reakcí. Je totiž známo, že frustula rozsivek slouží jako katalyzátor asimilace uhlíku. Za obvyklého pH je v povrchových vodách oceánů mnohem více limitující koncentrace CO_2 , než efektivita RuBisCO (Giordano et al. 2005). Křemík na povrchu buněk by však mohl zvyšovat aktivitu extracelulárních anhydráz kyseliny uhličitě, což jsou enzymy schopné efektivně zvyšovat dostupnost uhlíku (Milligan & Morel 2002). Anhydráza kyseliny uhličitě totiž katalyzuje přeměnu uhličitanových aniontů (HCO_3^-) na CO_2 . Tím se docílí zvýšení rozpuštěného CO_2 okolo jedince, který tak díky svému křemičitému pokryvu získá více uhlíku pro fotosyntézu (Giordano et al. 2005). Práci, která byla na tuto problematiku provedena lze však vytknout, že křemičité schránky rozsivek použité v experimentu byly ošetřeny kyselinou, zatímco frustulu obsahující živou buňku, pokrývá organická vrstva diatopinu (Kalina & Váňa 2005), která může značně ovlivnit její katalytické možnosti. Také ne všechny chromistní organismy s křemičítým pokryvem anhydrázy kyseliny křemičité využívají (Finkel & Kotrc 2010). U rozsivek by však díky své pufrační kapacitě mohla frustula katalyzovat celou řadu dalších reakcí (Milligan & Morel 2002). Podobně by tomu mohlo být i u ostatních skupin nesoucích křemičité pokryvy. Podle Medlin (2002) také křemík uvnitř buněk zpomaluje jejich stárnutí (například snížením toxického efektu kovů).

4.4. Křemičité struktury a světelné záření

U určitých křemičitých struktur je známo, že ovlivňují dopadající světelné spektrum, jak odstínováním ultrafialového UV-B záření, tak soustředěním fotonů do určitého místa (Finkel & Kotrc 2010).

Frustula rozsivek se na koncentraci dopadajícího světla podílí svým důmyslným tvarováním. Studie prováděné na rozptyl a absorpci světla u rozdílných křemičitých struktur mikroorganismů jsou spíše ojedinělé. Podle de Stefano (2007) hrají klíčovou roli v soustředění světla perforace ve frustule (areolae). Tato hypotéza však nebyla experimentálně ověřena. Pokud by ale specifické mikrostruktury

frustul rozsivek, jako jsou počet křemičitých vrstev, jejich orientace, velikost či tvar otvorů ve stěně přispívaly k regulaci dopadajícího světla na buňku, mohly být procesy tvarování frustuly řízeny prostřednictvím přirozeného výběru.

Podle teoretického modelu Kitchen & Zaneveld (1992) je však u křemičité frustuly větší odraz světla a omezení spektra vlnových délek dopadajícího světla. Autoři dokonce tvrdí, že frustula může mít i vyšší míru absorpce v oblasti UV. Davidson et al. (1994) provedli studii, ve které srovnávali rozsivky s odlišnou morfologií frustuly, a tedy i teoreticky odlišnou schopností propouštět UV-B záření. Po vystavení silnému UV záření se však neobjevily žádné rozdíly v úspěšnosti přežívání mezi jednotlivými formami. Přestože studie na detailní mikrostruktury frustul jsou hojné a dosáhly značného poznání, jen minimum autorů se zabývá jejich možným vlivem na světelné podmínky buňky. Pokud již od autorů vzešly práce na toto téma, zoufale chybí experimenty, které by danou teorii otestovaly.

Kromě toho úspěšnost absorpce světla závisí na velikosti a tvaru buňky. Menší fytoplankton pohlcuje světlo efektivněji, než velké buňky se stejnou koncentrací fotosyntetického pigmentu a jeho typem. Také dlouhé, tenké buňky jsou mnohem úspěšnější v absorpci světla, než kulovité stejného objemu (Finkel 2001).

V přední části buňky nálevníka *Maryna umbrellata* byla odhalena křemičitá granula. Vzhledem k jejich umístění by podle Foissner et al. (2009) mohla sloužit k vnímání světla prvokem. Autoři provedli experiment, kdy byl druh kultivován v miskách z poloviny zakrytých papírem, a doložili, že se jedinci vyskytovali přednostně v osvětlených částech. *Maryna umbrellata* je tak skutečně pozitivně fototaktický.

4.5. Křemičité pokrivy jako odpadní produkt metabolismu

Podle Medlin (2002) mohlo v dobách počátků biosilicifikace, kdy byla koncentrace křemíku v oceánských vodách značně vysoká, docházet k jeho zvýšenému hromadění uvnitř buněk. V takovém případě mohla následovat i jeho samovolná polymerace. V polymerovaném stavu však již nebyl přístupný chemickým reakcím, a stal se tak odpadem buňky. Pokud však buňky využily odpadní křemík jako stavební materiál buněčných stěn, nemusely již do této struktury investovat cenné produkty fotosyntézy. Lze tedy spekulovat, že zástupci skupiny Synurales takto nemusí tvořit celulózní buněčnou stěnu díky přítomnému křemičitému pokryvu. Podle Medlin (2002) mohly zprvu frustuly rozsivek sloužit jako odpadní uložisko křemíku a teprve později zaujmout ochrannou funkci buněk.

4.6. Křemičité povrchy v difuzi a příjmu živin

Zvětšení povrchu buněk vede ke zvětšení plochy, na které dochází k difuzi (Pahlow 1997). Pokud je povrch buněk navýšen o přítomný křemičitý povrch, podle některých autorů dochází ke zvýšení příjmu difuzí. Například schránka rozsivek zvyšuje jejich průměr o 1-3 μm (Finkel & Kotrc 2010). Tento efekt může být dále zvýšen změnami ve tvaru a ornamentaci křemičité struktury (Grover 1989). Podle jiných autorů (Pahlow 1997) mají však útvary jako póry, žebra nebo osténky pouze zanedbatelný vliv na efektivitu příjmu živin. Podle Hale & Mitchell (2001) může ornamentace v mikro- a nanoměřítku na povrchu schránky rozsivek měnit difúzi a tok částic kolem frustuly bez ohledu na celkový povrch buňky. Autoři pozorovali interakce drobných kuliček s frustulou pomocí vysokorychlostní mikrofotografie a domnívají se, že tato jemná ornamentace povrchu schránek mění směr pohybu částic pohybujících se Brownovým pohybem. Mikrostruktura povrchu studovaných frustul soustředila částice na okrajích pórů, přestože to bylo ovlivněno konkrétním druhem, ze kterého schránka pocházela a na velikosti pohybující se částice. Hale & Mitchell (2001) navrhli, že by povrch frustul mohl zvyšovat příjem živin tím, jak by zvyšoval čas, po který se koloidní částice zdržují při povrchu schránky. Autoři zároveň přišli s hypotézou, že by nejjemnější ornamentace frustuly mohla dokonce umožňovat velikostní třídění částic na jejím povrchu a tím přednostně shromažďovat částice konkrétních živin a zároveň nevyčítávat částice jiné jako jsou viry či bakterie a to jen na základě jejich velikosti. Pokud by tak tomu bylo, třídění částic by mohlo být jednou z nejdůležitějších funkcí frustuly a mohlo by tak předurčovat charakter a uspořádání pórů a jiných drobných prvků ornamentace jejího povrchu (Hale & Mitchell 2001). Tato hypotéza by však měla být testována prostřednictvím pokusů zahrnujících druhy s výrazně odlišnou ornamentací, u kterých by se sledovalo, zda mají i výrazně odlišný příjem živin. Přestože tato hypotéza umožňuje vysvětlit funkční význam tvaru vnějšího povrchu ték, zanechává tvarovou variabilitu mnoha dalších částí frustuly nevysvětlenou. Pokud schránka rozsivek opravdu primárně slouží k ovlivnění příjmu živin, stále by nebylo jasné, jaký je účel sítí křemičitých vláken s drobnými šterbinami (angl. velum) na vnitřní straně frustuly u mnoha druhů rozsivek (Finkel & Kotrc 2010). Otázkou rovněž zůstává, zda je příjem živin vyšší u buněk uzavřených ve frustule ve srovnání s buňkami nahými.

4.7. Význam křemičité struktury pro klesání ve vodním sloupci

Hustota amorfního křemíku je více než dvojnásobně vyšší než hustota vody, proto má značně silicifikovaný fytoplankton větší tendenci klesat ve vodním sloupci (Reynolds 1984). Při poklesu z eufotické zóny dochází k vysoké úmrtnosti jedinců, která může způsobit změny v druhovém složení planktonních společenstev (Smetacek 1985). Tento mechanismus by totiž mohl určovat míru silicifikace frustuly, a její zvýšení by se u určitého druhu mohlo stát důvodem jeho vyhynutí. Při formování frustuly tedy působí mechanismus „trade-off“ vyšší silicifikace a tím vyšší ochrany jedince před predátory, avšak zároveň rychlejší pokles ve vodním sloupci vs. méně silicifikované frustuly, tvořené i při nízké koncentraci oxidu křemičitého ve vodě. Kromě méně silicifikovaných schránek

klesají pomaleji buňky s výrazně protáhlými frustulami, rozsivky spojené do dlouhých řetězců, nebo buňky s dlouhými ostny či výběžky (jak křemičitého, tak organického původu). Avšak u buněk, u kterých jsou přítomny jen malé výrůstky se nepředpokládá, že by rychlost poklesu byla výrazně ovlivněna (Pasisak et al. 2003). Klesání ve vodním sloupci však nemusí vždy znamenat jen nevýhodu. Většina mikroorganismů je ve vodním sloupci přítomna v jeho svrchních vrstvách díky množství světla, ale panuje zde zároveň nedostatek živin, proto je pro buňku leckdy výhodné dostávat se do hlubších vrstev. Malé rozsivky nejsou schopny pokles regulovat, klesají však pomalu. Velké rozsivky klesají rychleji, ale zároveň mají v těle přítomnou velkou vakuolu, u níž mohou regulovat její obsah. Pokud z vakuoly vyloučí látky o větší hmotnosti a zanechají zde jen lehké ionty, mohou průměrnou hustotu buňky snížit natolik, že začnou ve vodním sloupci opět stoupat. Díky přítomnosti robustní schránky mohou rozsivky snadno klesat a zároveň díky přítomnosti vakuoly, vyrovnávající zátěž křemičité struktury, opět stoupat. Jsou tak schopny přímo aktivního pohybu (Raven & Waite 2004). Autoři spekulují, že se jedná o velmi výhodný mechanismus i z hlediska infekcí viry či eukaryotickými parazity. Pro aktivní pohyb je potřebná energie, pomocí které se udržuje určitá koncentrace látek ve vakuole. Parazitace však narušuje základní buněčné funkce a napadený jedinec pak není schopen regulace vakuoly. Z tohoto důvodu pak klesá z vyšších vrstev eufotické zóny do nižších a díky tomu není umožněna nákaza zdravých jedinců v populaci napadenou buňkou (Raven & Waite 2004).

5. Závěr

Křemík se ve své vázané podobě stal jedním z nejčastějších prvků na Zemi. Je proto zabudováván do těl nejen řady mikroorganismů, ale i mnoha rostlin, mořských hub či obratlovců. U chromistních mikroorganismů však biosilicifikace zašla mnohdy ještě dále, a stala se nedílnou součástí jejich života. Dokonce i samotný biogeochemický cyklus křemíku je řízen živými organismy se schopností biosilicifikace. Všudpřítomnost těchto organismů nezřídka způsobí jeho vyčerpání z prostředí, proto je křemík v rozpustné podobě v mnoha vodních ekosystémech naopak prvkem limitujícím.

Rozpuštěný křemík je do nitra buněk aktivně přenášen specifickými membránovými transportéry a následně ukládán do specifických membránou ohraničených silikon-depozitních váčků. V těchto organelách probíhá řízená polymerace křemíku do podoby výsledné křemičité struktury. Dokonalé řízení tohoto procesu umožňuje tvarování detailní povrchové ornamentace i její bezchybnou reprodukci u potomstva následných generací. Přestože některé mechanismy tohoto procesu doposud nebyly plně objasněny, zdá se, že se jeho průběh liší mezi jednotlivými skupinami studovaných organismů. To naznačuje, že se schopnost biosilicifikace v evoluci vyvinula několikrát nezávisle.

Touto dovedností disponují zástupci nepříbuzných skupin organismů z různých domén eukaryotického stromu života. I u linie Chromista se však schopnost ukládání křemíku vyvinula opakovaně. Dokonce i v mnohem menších skupinách (Radiolaria) se jednotlivé linie mohou povahou biosilicifikace vzájemně lišit. V některých liniích byla tato vlastnost naopak druhotně potlačena. Přihlédnutím k nápadné dynamice, s jakou se tato schopnost v evoluci chromistních organismů objevuje a mizí, se lze domnívat, že konkrétní stav bude záviset na „trade-off“ mezi energetickou náročností a selekčními tlaky prostředí, které dané skupiny obývají.

Hlavními typy křemičitých struktur v rámci linie Chromista jsou šupiny, ostny, schránky, kostry a cysty. Analogické struktury nezřídka vznikají u nepříbuzných skupin prostřednictvím konvergentního vývoje, což dále podporuje možnost jejich evolučního významu. Byla formulována celá řada hypotéz s cílem funkci křemičitých struktur odhalit, avšak jen některé z nich byly experimentálně testovány. Největší role bývá tradičně připisována ochraně před predátory a parazity, další uplatnění je však možné hledat v souvislosti s odolností, buněčným metabolismem, interakcemi se světelným zářením, příjmem živin nebo pohybem ve vodním sloupci. Případy, kdy se v evoluci vytvořily struktury analogického tvaru a zřejmě tak i funkce z různých materiálů (křemík, vápník, organická hmota) svědčí o tom, že některé ze zmíněných významů se jistě nevztahují jen na křemičité struktury a že selekční tlaky vedoucí k tvorbě těchto struktur mohou být podstatně významnější než jejich samotný materiál. Naproti tomu v jiných případech je tím nejpodstatnějším pro funkci struktur samotný křemík díky svým unikátním vlastnostem.

6. Literatura

- Adam DP, Mahood AD. 1981.** Chrysophyte cysts as potential environmental indicators. *Geological Society of America Bulletin*, **92**: 839-844.
- Alexandre A, Meunier JD, Colin F, Koud JM. 1997.** Plant impact on the biogeochemical cycle of silicon and related weathering processes. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, **61**: 677-682.
- Andersen RA. 1989.** The Synurophyceae and their relationship to other golden algae. *Nova Hedwigia Beihefte*, **95**: 1-26.
- Andersen RA, Van de Peer Y, Potter D, Sexton JP, Kawachi M, LaJeunesse T. 1999.** Phylogenetic analysis of the SSU rRNA from members of the Chrysophyceae. *Protist*, **150**: 71-84.
- Anderson OR. 1992.** Radiolarian algal symbioses. In: Reisser W. ed. *Algae and symbioses*. Bristol: Biopress, 92-109.
- Anderson RO. 2001.** Protozoa. Radiolarians. In: *Marine Ecological Processes: A derivative of the Encyclopedia of Ocean Sciences*. 2nd ed. London: Academic Press.
- Asmund B, Kristiansen J. 1986.** The genus *Mallomonas* (Chrysophyceae). *Opera Botanica* **85**: 5-128.
- Beech PL, Wetherbee R, Pickettheaps JD. 1990.** Secretion and deployment of bristles in *Mallomonas splendens* (Synurophyceae). *Journal of Phycology*, **26**: 112-122.
- Boto L. 2010.** Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges. *Proceedings of the Royal Society. B*, **277**: 819-827.
- Bovee EC. 1981.** Distribution and forms of siliceous structures among Protozoa. In: Simpson TL, Volcani BE. eds. *Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems*. New York: Springer, 233-279.
- Brzezinski MA. 1992.** Cell-cycle effects on the kinetics of silicic-acid uptake and resource competition among diatoms. *Journal of Plankton Research*, **14**: 1511-1539.
- Brzezinski MA, Olson RJ, Chisholm SW. 1990.** Silicon availability and cell-cycle progression in marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series*, **67**: 83-96.
- Cavalier-Smith T, Chao EEY. 2003.** Phylogeny and classification of phylum Cercozoa (Protozoa). *Protist*, **154**: 341-358.
- Cavalier-Smith T, von der Heyden S. 2007.** Molecular phylogeny, scale evolution and taxonomy of centrohelid heliozoa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**: 1186-1203.
- Chapman DV, Dodge JD, Heaney SI. 1982.** Cyst formation in the fresh-water dinoflagellate *Ceratium hirundinella* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, **18**: 121-129.
- Conley DJ. 2002.** Terrestrial ecosystems and the global biogeochemical silica cycle. *Global Biogeochemical Cycles*, **16**.
- Coombs J, Darley WM, Holm-Hansen O, Volcani BE. 1967.** Studies on the biochemistry and fine structure of silica shell formation in diatoms. Chemical composition of *Navicula pelliculosa* during silicon-starvation synchrony. *Plant Physiology*, **42**: 1601-1606.
- Cronberg G. 1986.** Chrysophycean cysts and scales in lake sediments: a review. In: Kristiansen J, Andersen RA. eds. *Chrysophytes: aspects and problems*. Cambridge: Cambridge University Press, 281-315.
- Dacks JB, Walker G, Field MC. 2008.** Implications of the new eukaryotic systematics for parasitologists. *Parasitology International*, **57**: 97-104.

- De Stefano L, Rea I, Rendina I, De Stefano M, Moretti L. 2007.** Lensless light focusing with the centric marine diatom *Coscinodiscus walesii*. *Optics Express*, **15**: 18082-18088.
- Douglas MSV, Smol JP. 2001.** Siliceous Protozoan Plates and Scales. In: Smol JP, Birks HJB, Last WM. eds. *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 265-279.
- Ehrlich HL. 1990.** *Geomicrobiology*. 2nd ed. New York: Dekker.
- Epstein E. 1994.** The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**: 11-17.
- Finkel ZV. 2001.** Light absorption and size scaling of light-limited metabolism in marine diatoms. *Limnology and Oceanography*, **46**: 86-94.
- Finkel ZV, Kotrc B. 2010.** Silica Use Through Time: Macroevolutionary Change in the Morphology of the Diatom *Fustule*. *Geomicrobiology Journal*, **27**: 596-608.
- Foissner W, Weissenbacher B, Krautgartner WD, Lutz-Meindl U. 2009.** A Cover of Glass: First Report of Biomineralized Silicon in a Ciliate, *Maryna umbrellata* (Ciliophora: Colpodea). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **56**: 519-530.
- Fowler SW, Fisher NS. 1983.** Viability of marine phytoplankton in zooplankton fecal pellets. *Deep-Sea Research Part a-Oceanographic Research Papers*, **30**: 963-969.
- Geddes CD, Birch DJS. 2000.** Nanometre resolution of silica hydrogel formation using time-resolved fluorescence anisotropy. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **270**: 191-204.
- Giordano M, Beardall J, Raven JA. 2005.** CO₂ concentrating mechanisms in algae: Mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology*, **56**: 99-131.
- Graham LE, Wilcox LW. 2002.** *Algae*. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Grover JP. 1989.** Influence of cell shape and size on algal competitive ability. *Journal of Phycology*, **25**: 402-405.
- Guillou L. 2011.** Characterization of the Parmales: Much more than the resolution of a taxonomic enigma. *Journal of Phycology*, **47**: 2-4.
- Hamm CE, Smetacek V. 2007.** Armor: why, when, and, how. In: Falkowski PG, Knoll AH. eds. *Evolution of primary producers in the sea*. Amsterdam: Elsevier, 311-332.
- Henriksen P, Knipschildt F, Moestrup O, Thomsen HA. 1993.** Autecology, life-history and toxicology of the silicoflagellate *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyophyceae). *Phycologia*, **32**: 29-39.
- Kalina T, Váňa J. 2005.** *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Karolinum.
- Kitchen JC, Zaneveld JRV. 1992.** A 3-layered sphere model of the optical properties of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, **37**: 1680-1690.
- Klaveness D, Guillard RRL. 1975.** Requirement for silicon in *Synura petersenii* (Chrysophyceae). *Journal of Phycology*, **11**: 349-355.
- Kosman CA, Thomsen HA, Ostergaard JB. 1993.** Parmales (Chrysophyceae) from Mexican, Californian, Baltic, Arctic and Antarctic waters with the description of a new subspecies and several new forms. *Phycologia*, **32**: 116-128.
- Kristiansen J, Vigna MS. 1994.** Tubular scales in *Synura* and the possible origin of bristles in *Mallomonas* (Synurophyceae). *Phycologia*, **33**: 67-70.
- Kristiansen J. 2005.** *Golden algae: A biology of chrysophyta*. Dehradun: Bishen Singh Mahendra Pal

Singh

- Kroger N, Deutzmann R, Bergsdorf C, Sumper M. 2000.** Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**: 14133-14138.
- Kroger N, Sumper M. 1998.** Diatom cell wall proteins and the cell biology of silica biomineralization. *Protist*, **149**: 213-219.
- Kroger N, Wetherbee R. 2000.** Pleuralins are involved in theca differentiation in the diatom *Cylindrotheca fusiformis*. *Protist*, **151**: 263-273.
- Lavau S, Wetherbee R. 1994.** Structure and development of the scale case of *Mallomonas adamas* (Synurophyceae). *Protoplasma*, **181**: 259-268.
- Lazarus DB, Kotrc B, Wulf G, Schmidt DN. 2009.** Radiolarians decreased silicification as an evolutionary response to reduced Cenozoic ocean silica availability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**: 9333-9338.
- Leadbeater BSC. 1984.** Silicification of cell walls of certain protistan flagellates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **304**: 529-536.
- Leadbeater BSC. 1986.** Scale Case Construction in *Synura petersenii* Korsch (Chrysophyceae). In: Kristiansen J, Andersen RA. eds. *Chrysophytes: Aspects and Problems*. Cambridge: Cambridge University Press, 121-131.
- Leadbeater BSC, Barker DAN. 1995.** Biomineralization and scale production in the Chrysophyta. In: Sandren CD, Smol JP, Kristiansen J. eds. *Chrysophyte algae*. Cambridge: Cambridge University Press, 141-164.
- Lopez-Garcia P, Rodriguez-Valera F, Moreira D. 2002.** Toward the monophyly of Haeckel's Radiolaria: 18S rRNA environmental data support the sisterhood of Polycystinea and Acantharea. *Molecular Biology and Evolution*, **19**: 118-121.
- Ludwig M, Lind JL, Miller EA, Wetherbee R. 1996.** High molecular mass glycoproteins associated with the siliceous scales and bristles of *Mallomonas splendens* (Synurophyceae) may be involved in cell surface development and maintenance. *Planta*, **199**: 219-228.
- Malviva RG, Knoll AH, Siever R. 1990.** Secular change in chert distribution: A reflection of evolving biological participation in the silica cycle. *Palaios*, **4**: 519-532.
- Mann DG, Chepurnov VA, Idei M. 2003.** Mating system, sexual reproduction, and auxosporulation in the anomalous raphid diatom *Eunotia* (Bacillariophyta). *Journal of Phycology*, **39**: 1067-1084.
- Mann DG, Marchant HJ. 1989.** The origins of the diatom and its life-cycle. *Chromophyte Algae: Problems and Perspectives*, **38**: 307-323.
- Mayama S, Kuriyama A. 2002.** Diversity of mineral cell coverings and their formation processes: a review focused on the siliceous cell coverings. *Journal of Plant Research*, **115**: 289-295.
- Medlin LK. 2002.** Why silica or better yet why not silica? Speculations as to why the diatoms utilise silica as their cell wall material. *Diatom Research*, **17**: 453-459.
- Medlin LK, Kaczmarska I. 2004.** Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision. *Phycologia*, **43**: 245-270.
- Melkonian M, Becker B, Becker D. 1991.** Scale formation in algae. *Journal of Electron Microscopy Technique*, **17**: 165-178.
- Milligan AJ, Morel FMM. 2002.** A proton buffering role for silica in diatoms. *Science*, **297**: 1848-1850.

- Neilan BA, Dittmann E, Rouhiainen L, Bass RA, Schaub V, Sivonen K, Borner T. 1999.** Nonribosomal peptide synthesis and toxigenicity of cyanobacteria. *Journal of Bacteriology*, **181**: 4089-4097.
- Němcová Y. 2000.** *Ultrastruktura a taxonomie vybraných skupin řas*. Disertační práce. Depon. in: Knižovna katedry botaniky PřF UK, Praha.
- Nicholls KH. 1980.** A reassessment of *Chrysosphaerella longispina* and *Chrysosphaerella multispina*, and a revised key to related genera in the Synuraceae (Chrysophyceae). *Plant Systematics and Evolution*, **135**: 95-106.
- Nicholls MP. 1981.** Observation on Chrysophyceae from a Norwegian mountain lake. *British Phycological Journal*, **16**: 373-378.
- Ogane K, Tuji A, Suzuki N, Matsuoka A, Kurihara T, Hori RS. 2010.** Direct observation of the skeletal growth patterns of polycystine radiolarians using a fluorescent marker. *Marine Micropaleontology*, **77**: 137-144.
- Ota S, Eikrem W, Edvardsen B. 2012.** Ultrastructure and Molecular Phylogeny of Thaumatomonads (Cercozoa) with Emphasis on *Thaumatomastix salina* from Oslofjorden, Norway. *Protist*, **163**: 560-573.
- Padisak J, Soroczki-Pinter E, Rezner Z. 2003.** Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton - an experimental study. *Hydrobiologia*, **500**: 243-257.
- Pahlow M, Riebesell U, Wolf-Gladrow DA. 1997.** Impact of cell shape and chain formation on nutrient acquisition by marine diatoms. *Limnology and Oceanography*, **42**: 1660-1672.
- Parkinson J, Brechet Y, Gordon R. 1999.** Centric diatom morphogenesis: a model based on a DLA algorithm investigating the potential role of microtubules. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, **1452**: 89-102.
- Patterson DJ, Durrschmidt M. 1988.** The formation of siliceous scales by *Raphidophrys ambigua* (Protista, Centroheliozoa). *Journal of Cell Science*, **91**: 33-39.
- Pienarr RN. 1980a.** Observations on the structure and composition of the cyst of *Prymnesium* (Prymnesiophyceae). *Proceedings of the Electron Microscopy Society of South Africa*, **10**: 73-74.
- Pienarr RN. 1980b.** Chrysophytes. In: Cox ER. ed. *Phytoflagellates*. New York: Elsevier, 213-242.
- Preisig HR, Hibberd DJ. 1983.** Ultrastructure and taxonomy of *Paraphysomonas* (Chrysophyceae) and related genera 3. *Nordic Journal of Botany*, **3**: 695-723.
- Preisig HR. 1994.** Siliceous structures and silicification in flagellated protists. *Protoplasma*, **181**: 29-42.
- Preisig HR, Anderson OR, Corliss JO, Moestrup O, Powell MJ, Roberson RW, Wetherbee R. 1994.** Terminology and nomenclature of protist cell-surface structures. *Protoplasma*, **181**: 1-28.
- Raven JA. 1983.** The transport and function of silicon in plants. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **58**: 179-207.
- Raven JA, Giordano M. 2009.** Biomineralization by photosynthetic organisms: Evidence of coevolution of the organisms and their environment? *Geobiology*, **7**: 140-154.
- Raven JA, Waite AM. 2004.** The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist*, **162**: 45-61.
- Reynolds CS. 1984.** *The ecology of freshwater plankton*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Round FE, Crawford RM, Mann DG. 1990.** *The diatoms: biology and morphology of the genera.* Cambridge: Cambridge University Press.
- Sandgren CD. 1983.** Morphological variability in populations of Chrysophycean resting cysts. 1. Genetic (interclonal) and encystment temperature effects on morphology. *Journal of Phycology*, **19**: 64-70.
- Sandgren CD, Barlow SB. 1989.** Siliceous scale production in chrysophyte algae. II. SEM observations regarding the effects of metabolic inhibitors on scale regeneration in laboratory population of scale-free *Synura petersenii* cells. *Nova Hedwigia Beihefte*, **95**: 27-44.
- Sandgren CD. 1991.** Chrysophyte reproduction and resting cysts: a paleolimnologist's primer. *Journal of Paleolimnology*, **5**: 1-9.
- Sandgren CD, Walton WE. 1995.** The influence of zooplankton herbivory on the biogeography of chrysophyte algae. In: Sandgren CD, Smol JP, Kristiansen J. eds. *Chrysophyte algae: Ecology, phylogeny and development.* Melbourne: Cambridge University Press, 269-302
- Saunders GW, Potter D, Andersen RA. 1997.** Phylogenetic affinities of the Sarcinochrysidales and Chrysochromales (Heterokonta) based on analyses of molecular and combined data. *Journal of Phycology*, **33**: 310-318.
- Schmid AMM. 1994.** Aspects of morphogenesis and function of diatom cell-walls with implications for taxonomy. *Protoplasma*, **181**: 43-60.
- Schmid AMM, Schulz D. 1979.** Wall morphogenesis in diatoms – deposition of silica by cytoplasmic vesicles. *Protoplasma*, **100**: 267-288.
- Schnepf E, Deichgra.G. 1969.** Fine structure of *Synura petersenii* with special reference to morphogenesis of silicified scales. *Protoplasma*, **68**: 85-106.
- Schroder HC, Wang XH, Tremel W, Ushijima H, Muller WEG. 2008.** Biofabrication of biosilica-glass by living organisms. *Natural Product Reports*, **25**: 455-474.
- Seitz TL, Noonan KD, Hench LL, Noonan NE. 1982.** Effect of fibronectin on the adhesion of an established cell-line to a surface reactive biomaterial. *Journal of Biomedical Materials Research*, **16**: 195-207.
- Shimizu K, Cha J, Stucky GD, Morse DE. 1998.** Silicatein alpha: Cathepsin L-like protein in sponge biosilica. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**: 6234-6238.
- Sierra R, Matz MV, Aglyamova G, Pillet L, Decelle J, Not F, de Vargas C, Pawlowski J. 2013.** Deep relationships of Rhizaria revealed by phylogenomics: A farewell to Haeckel's Radiolaria. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **67**: 53-59.
- Siever R. 1991.** Silica in the oceans: Biological-Geochemical interplay. In: Schneider SH, Boston PJ. eds. *Scientists on Gaia.* Cambridge: MIT Press, 287-295.
- Siver PA. 1991.** *The Biology of Mallomonas: Morphology, Taxonomy and Ecology.* Dordrecht: Kluwer Academic Publisher.
- Smetacek VS. 1985.** Role of sinking in diatom life-history cycles. Ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology*, **84**: 239-251.
- Škaloud P, Kynčlová A, Benada O, Kofroňová O, Škaloudová M. 2012.** Toward a revision of the genus *Synura*, section *Petersenianae* (Synurophyceae, Heterokontophyta): morphological characterization of six pseudo-cryptic species. *Phycologia*, **51**: 303-329.
- Škaloud P, Kristiansen J, Škaloudová M. 2013.** Developments in the taxonomy of silica-scaled chrysophytes – from morphological and ultrastructural to molecular approaches. *Nordic Journal of Botany* [v tisku].

- Tappan H. 1980.** *The paleobiology of plant protists*. San Francisco: Freeman.
- Taylor FJR. ed. 1987.** *The biology of dinoflagellates*. Oxford: Blackwell.
- Thamatrakoln K, Alverson AJ, Hildebrand M. 2006.** Comparative sequence analysis of diatom silicon transporters: Towards a molecular model of silicon transport. *Journal of Phycology*, **42**: 10-10.
- Thamatrakoln K, Hildebrand M. 2008.** Silicon uptake in diatoms revisited: A model for saturable and nonsaturable uptake kinetics and the role of silicon transporters. *Plant Physiology*, **146**: 1397-1407.
- Treguer P, Nelson DM, Vanbennekorn AJ, Demaster DJ, Leynaert A, Queguiner B. 1995.** The silica balance in the world ocean. A reestimate. *Science*, **268**: 375-379.
- Vogel S. 2003.** *Comparative biomechanics: life's physical world*. Princeton: Princeton University Press.
- Volcani BE. 1981.** Cell wall Formation in Diatoms: Morphogenesis and Biochemistry. In: Simpson TL, Volcani BE. eds. *Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems*. New York: Springer-Verlag, 157-200.
- Wee JL. 1997.** Scale biogenesis in synurophycean protists: Phylogenetic implications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **16**: 497-534.
- Wetherbee R, Ludwig M, Koutoulis A. 1995.** Immunological and ultrastructural studies of scale development in *Mallomonas* and *Apendinella*. In: Sandgren CD, Smol JP, Kristiansen J. eds. *Chrysophyte algae*. Cambridge: Cambridge University Press, 165-178.
- Witty M. 2011.** The White cliffs of Dover are an Example of Natural Carbon Sequestration. *Ecologia* **1**, **1**: 23-30.
- Wujek DE, Kristiansen J. 1978.** Observations on bristle-production and scale-production in *Mallomonas caudata* (Chrysophyceae). *Archiv Fur Protistenkunde*, **120**: 213-221.
- Yang EC, Boo GH, Kim HJ, Cho SM, Boo SM, Andersen RA, Yoon HS. 2012.** Supermatrix Data Highlight the Phylogenetic Relationships of Photosynthetic Stramenopiles. *Protist*, **163**: 217-231.
- Yool A, Tyrrell T. 2003.** Role of diatoms in regulating the ocean's silicon cycle. *Global Biogeochemical Cycles*, **17**.
- Yoshida M, Noel MH, Nakayama T, Naganuma T, Inouye I. 2006.** A haptophyte bearing siliceous scales: Ultrastructure and phylogenetic position of *Hyalolithus neolepis* gen. et sp. nov (Prymnesiophyceae, Haptophyta). *Protist*, **157**: 213-234.
- Zeeb BA, Smol JP. 2001.** Chrysophyte scales and cysts. In: Smol JP, Birks HJB, Last WM. eds. *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 204-222.
- Zettler LA, Sogin ML, Caron DA. 1997.** Phylogenetic relationships between the Acantharea, and the Polycystinea: A molecular perspective on Haeckel's Radiolaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**: 11411-11416.