

**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Botanika



Bc. Jana Kreidlová

Synura echinulata (Synurales) –
tvarová variabilita křemičitých šupin přírodních
populací závislá na faktorech prostředí;
doprovodné druhy křemičitých chrysomonád

Synura echinulata (Synurales) - silica scale plasticity in natural
populations influenced by environmental factors;
accompanying scaled chrysophytes

Diplomová práce

Školitelka: RNDr. Yvonne Němcová, Ph.D.

Praha 2012

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, dne 20. 6. 2012

.....

Bc. Jana Kreidlová

Poděkování

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala všem, kteří mi jakkoli pomohli při zpracování této práce.

Hlavní dík za konzultace, cenné rady, ale hlavně za ochotu patří RNDr. Yvonne Němcové, Ph.D., která moji práci vedla. Dále bych chtěla poděkovat všem členům algologického pracoviště za vytvoření příjemného pracovního prostředí a Martinovi Pusztaiovi za skvělý typ na lokality. Mimořádný dík patří celé mé rodině a Josefovi Arnoštovi za všestrannou podporu během celé doby studia a Michaele Pokorné za duševní oporu.

Práce byla financována granty GAČR 206/08/P281 a MŠMT 0021620828.

OBSAH

1. Úvod.....	7
1.1 Obecná charakteristika křemičitých chrysomonád.....	8
1.2 Charakteristika modelového organismu <i>Synura echinulata</i>	12
1.3 Morfologická plasticita křemičitých šupin.....	14
1.4 Charakteristika lokalit.....	17
1.4.1 Česká republika.....	17
1.4.2 Francie, Akvitánie.....	20
2. Materiál a metody.....	21
2.1 Odběrová místa.....	21
2.2 Odběry vzorků.....	21
2.3 Příprava vzorků pro transmisní a skenovací elektronovou mikroskopii.....	22
2.4 Výběr tělových šupin pro geometrickou morfometriku.....	23
2.5 Geometrická morfometrika (GM).....	24
2.5.1 Symetrizace.....	26
2.6 Statistické analýzy.....	27
2.6.1 Partial least squares analysis (PLS).....	27
2.6.2 Mnohorozměrná regrese.....	28
2.6.3 Permutační MANOVA.....	28
2.6.4 Mantelův test.....	29
2.7 Míra tvarové variability (morfologická disparita).....	29
3. Výsledky a diskuse.....	30
3.1 Výsledky geometrické morfometriky.....	30
3.1.1 Celková tvarová variabilita.....	30
3.1.2 Partial least squares analysis (PLS).....	31
3.1.3 Regrese tvaru na pH a nadmořskou výšku.....	32
3.1.4 Rozklad tvarové variability mezi studované proměnné.....	33
3.1.5 Výsledky Mantelova testu.....	36
3.1.6 Míra tvarové variability (morfologická disparita).....	36
3.2 Diskuse geometrické morfometriky.....	38
3.2.1 Celková variabilita.....	38
3.2.2 Vliv proměnných prostředí na tvar šupin - srovnání jednotlivých analýz... ..	38
3.2.3 Tvarová variabilita šupin závislá na pH v přírodních a v laboratorních podmínkách.....	40
3.2.4 Morfologické trendy spojené s pH.....	42
3.2.5 Míra tvarové variability (morfologická disparita).....	43
3.3 Výsledky a diskuse floristické části.....	45
3.3.1 Česká republika.....	45
3.3.2 Francie, Akvitánie.....	48
3.3.3 Charakteristika vybraných zástupců křemičitých chrysomonád.....	48
3.3.4 Popis nového druhu <i>Mallomonas decora</i> sp. nov.....	56
4. Závěr.....	59
5. Seznam literatury.....	61

1. Úvod

Výzkum chrysomonád a jejich křemičitých šupin se ve větší míře začal rozvíjet po nástupu transmisního elektronového mikroskopu v 60. letech minulého století. Na základě morfologie šupin bylo snadné zařadit daný organismus do určitého druhu. S postupem doby se neustále vyvíjejí další metody, které vědcům pomáhají zodpovídat otázky, které se týkají taxonomie i ekologie těchto organismů. Tvar a jeho změnu v závislosti na podmínkách prostředí lze sledovat u šupin a buněk pomocí metod geometrické morfometrie, která v posledních letech pomáhá rozluštit otázky týkající se změny tvaru vybraných struktur křemičitých chrysomonád.

Pro svou studii jsem si vybrala druh *Synura echinulata* (Korshikov 1929). Zkoumání tvarové variability křemičitých šupin tohoto druhu bylo prováděno doposud pouze v laboratorních podmínkách (Němcová et al. 2010, Němcová & Pichrtová 2012). Cílem této diplomové práce bylo zjistit, jaká je celková variabilita šupin v přírodě a jaké environmentální parametry ovlivňují tvar těchto šupin v přírodních populacích. Také jsem chtěla zjistit, zda se liší tvarová variabilita závislá na pH v přírodních a v experimentálních podmínkách. Tvarovou variabilitu šupin v přírodních podmínkách a závislost změny tvaru šupin na environmentálních faktorech jsem zkoumala pomocí landmarkových metod geometrické morfometrie.

Morfologická variabilita roste v podmínkách, které jsou pro organismus stresové (Gavrilova et al. 2005). V přírodních podmínkách může působit mnoho stresových faktorů, byla proto také sledována morfologická disparita tvaru šupin.

Díky hledání živých populací druhu *Synura echinulata* jsem objevila v ČR lokality s velice bohatou diverzitou zlativek. Cílem této práce se proto stal rovněž průzkum diverzity křemičitých chrysomonád. Vzorky jsem odebírala na lokalitách, kde výzkum křemičitých chrysomonád v minulosti již proběhl (např. Němcová et al. 2000, 2003a, Kalina et al. 2000, Janatková & Němcová 2009), ale i na lokalitách, kde se křemičité chrysomonády dosud nezkoumaly. V České republice má výzkum křemičitých chrysomonád dlouholetou tradici. Již v roce 1955 byly publikovány výsledky práce Fotta (Fott 1955), který se zabýval křemičitými chrysomonádami, v roce 2003 byly shrnuty výsledky zkoumání těchto organismů z let 1998-2001 (Němcová et al. 2003b). Lze říci, že ČR patří k relativně dobře prozkoumaným územím ve střední Evropě (Kalina et al. 2000, Němcová et al. 2001, 2003a, Neustupa et al. 2001,

Nováková et al. 2004, Pichrtová et al. 2007, Pichrtová & Veselá 2009, Janatková & Němcová 2009, Němcová 2010). Stále jsou objevovány druhy nové pro Českou republiku (např. Němcová et al. 2000, Neustupa et al. 2000, Řezáčová et al. 2004, Němcová & Pichrtová 2009, Němcová 2010). Řezáčová (2006) popsala z rašelinné tůně v severních Čechách nový druh *Mallomonas kalinae*.

Cíle práce lze tedy shrnout do několika bodů:

- zjistit, jaká je celková tvarová variabilita šupin *Synura echinulata* v přírodě
- zjistit, jaké podmínky nejvíce ovlivňují variabilitu šupin *S. echinulata* v přírodním prostředí
- porovnat tvarovou variabilitu šupin závislou na pH v přírodních a v experimentálních populacích *S. echinulata*
- porovnat disparitu (míru variability) ve tvaru šupin v přírodních populacích z různých lokalit
- charakterizovat vzácné a zajímavé druhy chrysofyt doprovázející *S. echinulata*
- upozornit na lokality v České republice s bohatým výskytem křemičitých chrysomonád („hotspots“)

1.1 Obecná charakteristika křemičitých chrysomonád

Andersen (1987) rozdělil chrysomonády na základě biochemických a ultrastrukturálních znaků na dvě samostatné třídy skupiny Heterokontophyta, na Chrysophyceae a Synurophyceae. Pozdější molekulární analýzy nepřinesly jednoznačné výsledky a rozdělení těchto organismů na 2 třídy nepodpořily (Andersen et al. 1999, Andersen 2007). Cavalier-Smith (1993) snížil třídu Synurophyceae na pozici podtřídy v rámci Chrysophyceae. Cavalier-Smith & Chao (2006) charakterizují řády Synurales a Paraphysomonadales jako odlišné linie v rámci třídy Chrysophyceae.

Synurales

Do této skupiny patří jednobuněčné nebo koloniální organismy s dvěma nestejně dlouhými bičíky, delší pokrývají tripartitní mastigonemy, kratší je hladký. Vyskytují se téměř výhradně ve sladkých vodách. Chloroplasty obsahují chlorofyly $a + c_1$

a xantofyly (nejvýznamnější je fukoxantin, který způsobuje typicky zlatavě hnědou barvu, od toho vznikl český název zlativky). Hlavní zásobní látkou je chrysolaminaran.

Charakteristické jsou pro Synurales křemičité struktury na povrchu buňky (tvořené z polymeru SiO₂, podobný opálu), které zahrnují šupiny a u rodu *Mallomonas* i ostny. Tvoří se endogenně v SDV (silikon-depozitních) váčcích, které jsou připojené k periplastidiálnímu endoplasmatickému retikulu. Stále není jednoznačné vysvětlení, jak jsou šupiny umístěovány na povrch buňky. Existují dvě hypotézy, které se snaží vysvětlit tvorbu zapojené schránky. První teorie udává, že jsou hotové šupiny ještě uvnitř buňky nasměrovány na přesné místo a následně vyloučeny na povrch. Druhá teorie tvrdí, že se šupiny nejprve dostávají na povrch, po kterém následně kloužou na své určité místo (Siver & Glew 1990). Na povrchu buňky jsou šupiny uspořádány do speciálního vzoru, vzájemně se překrývají ve spirálních řadách (Siver & Glew 1990, Leadbeater & Barker 1995).

Šupiny a ostny jsou rozhodující pro determinaci jednotlivých druhů. Pro jejich určování se v současnosti používá transmisní nebo skenovací elektronový mikroskop. V minulosti se používal k popisu druhů světelný mikroskop (Korshikov 1927, 1929). Popis byl založen hlavně na tvaru buněk, délce a počtu viditelných bičíků. Pro pozorování šupin bylo nutné vysušit kolonie na krycím sklíčku a po rozpadu protoplastu následně sledovat jednotlivé šupiny. Počátek éry transmisního elektronového mikroskopu (TEM) spadá do 60. let, kdy vznikaly první fotografie křemičitých šupin (př. Asmund 1955, 1956, Fott 1955, Harris 1958, Harris & Bradley 1957, 1958, 1960). Před nástupem skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) se využívaly pro zkoumání křemičitých struktur tzv. carbon replicas. Podrobný popis této metodiky zkoumání křemičitých struktur uvádí např. Harris & Bradley (1957). Povrch síťky se vzorkem byl pokryt vrstvou uhlíku, který se ve vakuu odpařil a zkondenzoval na snímek. Vznikla tak replika exponovaného povrchu šupin. Později se začal využívat ke studiu povrchu šupin a celých buněk skenovací elektronový mikroskop (SEM) (Kristiansen 1971, Cronberg 1972). Od té doby bylo publikováno nespočetné množství článků z různých koutů světa, které se zabývají ultrastrukturou, biogeografií či ekologií těchto organismů. Některé druhy se vyskytují pouze v úzkých ekologických podmínkách, lze je tedy využívat jako bioindikátory (Siver 1995). Jelikož se křemičité struktury a cysty, které se tvoří v nepříznivých podmínkách či jsou výsledkem pohlavního rozmnožování, zachovávají v sedimentech jezer, bylo publikováno také množství paleolimnologických studií (př. Munch 1980, Siver 1995, Smol 1995,

Kodama et al. 1997). Křemičité šupiny jsou však lépe rozlišitelné než stomatocysty, většinou se dají jednoduše a spolehlivě určit do druhu, u kterého jsou známe ekologické parametry. Proto jsou pro paleolimnologické rekonstrukce vhodnější (Kristiansen 2005). Cysty se však lépe zachovávají v sedimentech, určují se do tzv. morfotypu, který je označený číslem (Duff et al. 1995, Wilkinson et al. 2001) a pro paleoekologické rekonstrukce se používají častěji než šupiny.

Na základě četných studií je rozšíření této skupiny relativně dobře známé. Zhruba polovina druhů je kosmopolitních a široce rozšířených. Chrysomonády dále zahrnují druhy, které mají hlavní rozšíření v temperátní oblasti severní polokoule nebo bipolární či tropické rozšíření. Některé druhy se vyskytují pouze zřídka nebo jsou endemické (Kristiansen 2001). Podle Kristiansena (2008) je zhruba jedna třetina endemických, např. u rodu *Mallomonas* 69 ze 172 taxonů. Některé druhy byly nalezeny v rámci jednoho kontinentu nebo menší geografické jednotky, některé druhy byly dosud nalezeny pouze na typové lokalitě nebo v jejím okolí. Kristiansen & Lind (2005) se ve své studii o endemicitě chrysomonád zaměřili na rod *Mallomonas*. Podle popisu na základě identifikace šupin v elektronovém mikroskopu vytvořili chronologický soupis dosud popsanych druhů tohoto rodu. Jsou zde zaznamenané údaje, jak dlouho zůstal určitý druh endemický, dokud nebyl nalezen na jiném místě (jiném kontinentu), dále jsou zde uvedené záznamy o druzích, které jsou stále za endemické považované. Díky šíření těchto organismů a díky stále dalším studiím, které se zabývají průzkumem nových lokalit, některé druhy svůj status endemita již ztratily (př. Němcová et al. 2012).

Ubikvitní teorie rozšíření mikroorganismů tvrdí, že „všechno je všude, limitující je pouze prostředí“ (Finlay & Clarke 1999, Finlay 2002). Tato teorie vysvětluje náhodné rozšiřování díky velikosti organismů, které jsou menší než 1 mm a díky velké absolutní velikosti populace. Zároveň musí být pro aktivní populaci splněné vhodné podmínky pro růst a rozmnožování (limitace prostředím). Podle této teorie by měly být křemičité chrysomonády globálně rozšířené a postrádat tudíž určitý biogeografický pattern. Siver & Lott (2012) ve své studii našli signifikantní rozdíly ve složení křemičitých chrysomonád podél východního pobřeží Severní Ameriky. Rozdíly byly i na lokalitách situovaných v různých regionech, kde byly naměřeny podobné chemicko-fyzikální parametry vody. Distribuce křemičitých chrysomonád na zkoumaném území nebyla homogenní a vykazovala biogeografický pattern navzdory mechanismům, které zapřičiňují šíření organismů. Počáteční hypotéza, že křemičité chrysomonády budou na lokalitách homogenní a budou postrádat biogeografii, tedy nebyla podpořena. Siver &

Lott (2012) diskutují, proč i přes tyto výsledky nezavrhují ubikvitní teorii. Jeden z důvodů je například velice vzácný výskyt druhu na dané lokalitě, a tudíž není během odběru a při následném zpracování vzorků zaznamenaný.

Je známo jen málo informací o šíření chrysomonád (Kristiansen 2001), problémem šíření těchto organismů z jedné lokality do druhé je nedostatečná tolerance k vysychání. Přemístění z jedné lokality na druhou obnáší změny prostředí, a proto je schopnost vyhnout se vyschnutí během transportu pro tyto organismy rozhodující. Šíření je také limitováno křehkou konstrukcí buněk (Kristiansen 2008). Wee et al. (2005), kteří se zabývali ve své studii palmelovými stádii Synurales, usuzují, že by mohly k šíření druhů na nové lokality sloužit právě tato palmelová stádia.

Z druhů, které jsem na vybraných lokalitách našla, patří do Synurales rody *Mallomonas*, *Synura* a *Chrysodidymus*.

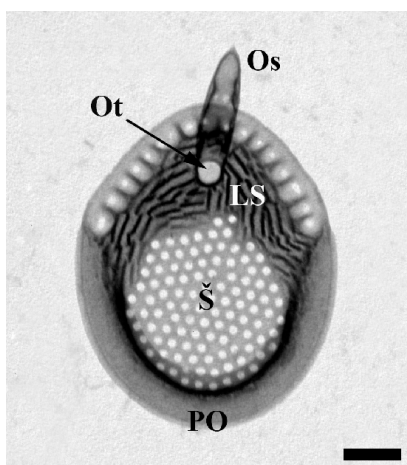
Paraphysomonadales

Patří sem jednotlivě žijící nebo koloniální bičíkovci, vyskytují se hlavně ve sladkých vodách, ale často jsou přítomny i v brakických vodách a v mořích. Buňky této skupiny jsou pokryty křemičitými šupinami tvořícími se v SDV váčcích, které na rozdíl od Synurales nejsou připojeny k periplastidiálnímu endoplasmatickému retikulu. Šupiny se rozdělují na několik typů: bazální, ostnové a korunkové. Buňky mohou být pokryty jedním nebo několika typy výše uvedených šupin. V minulosti byly nesrovnalosti se zařazením do rodu *Chrysosphaerella* a *Spiniferomonas*. Nicholls (1984b) navrhl, aby byly solitérní druhy přiřazovány k rodu *Spiniferomonas*, zatímco koloniální bičíkovci k rodu *Chrysosphaerella*. Za vyšší taxonomický stupeň je však uznávána stavba ostnové šupiny (Kristiansen & Tong 1989). Ačkoli je tedy např. *Chrysosphaerella coronacircumspina* jednobuněčný organismus, je přiřazen do tohoto rodu. Na rozdíl od rodu *Spiniferomonas*, který má jednoduchou bázi ostnové šupiny, vlastní rod *Chrysosphaerella* ostnové šupiny s dvojitým bazálním diskem.

Mezi druhy, které jsem na lokalitách determinovala, patří do této skupiny rody *Chrysosphaerella*, *Paraphysomonas* a *Spiniferomonas*.

1.2 Charakteristika modelového organismu *Synura echinulata*

Synura echinulata byla popsána Korshikovem na základě pozorování ve světelném mikroskopu (Korshikov 1929). Kolonie mají v průměru 50 μm a skládají se obvykle z 10-25 buněk, které jsou uprostřed kolonie srostlé (Příloha 3, obr. 80). Buňky obsahují dva chloroplasty, které jsou oddělené jádrem (Kristiansen & Preisig 2007). Křemičité šupiny, které vytvářejí schránku na povrchu buňky, mají různý tvar v závislosti na umístění na buňce. Rozlišují se tělové, kaudální a apikální šupiny. Tělové šupiny jsou kulaté až oválné, jejich bazální deska je perforovaná. V proximální části šupiny se nachází přehnutý okraj, který je na buňce překryt další šupinou (Příloha 3, obr. 81, 83). Distální část šupiny je zpevněna sekundární vrstvou, tzv. labyrintózní strukturou. Tenký okraj v distální části šupiny má žebra, která jsou oddělena jednotlivými póry. Popis morfologie tělové šupiny je uveden na obr. 1.1. Kaudální šupiny vyskytující se na protáhlém konci buňky, kde je bičíkovec připojen k ostatním členům kolonie, jsou prodloužené a užší. Nejzadnější extrémně kaudální šupiny jsou velice malé, bez ornamentace se širokým přehnutým okrajem. Osténky nacházející se v distální části šupiny jsou lehce zakřivené, na konci náhle zúžené. U anteriorních šupin v blízkosti bičíků dosahují velikosti do 2,5 μm , zatímco posteriorní šupiny mají velice malý ostének připomínající hrot. Extrémně kaudální šupiny mohou ostének úplně postrádat (Siver 1987). Byly také pozorovány tubulární šupiny, které jsou připojené k apikálním šupinám blízko bičíků a představují zřejmě homologní útvary k ostnům malomonád (Kristiansen & Preisig 2007).



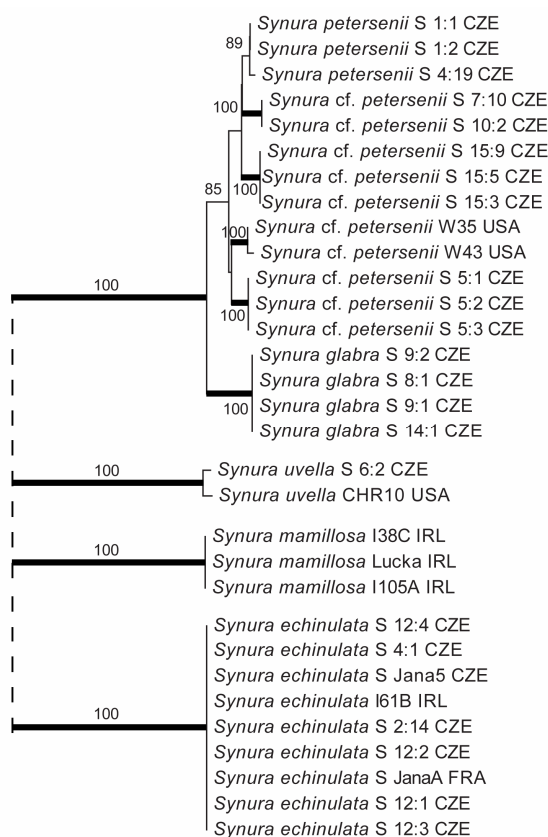
Obr. 1.1: Tělová šupina *Synura echinulata* s vyznačenými základními morfologickými strukturami. PO: přehnutý okraj, Š: štít, LS: labyrintózní struktura, Ot: otvor v bazální desce, Os: ostének. Měřítko 0,5 μm .

Tento koloniální bičíkovec je jeden z nejčastěji se vyskytujících druhů (Siver 1987, Siver 1988a, Ikävalko 1994, Hansen 1996, Siver & Lott 2010, Pichrtová et al. 2011). Jedná se o monofyletický druh (obr 1.2, Škaloud et al. nepublikováno), proto byl vybrán pro tuto morfometrickou studii.

Synura echinulata má širokou ekologickou valenci ve vztahu k pH. Např. Kristiansen (1975) zaznamenal výskyt druhu v rozmezí pH 4 – 9. Nejčastěji je však tento druh nacházen v kyselých vodách (Smol et al. 1984, Roijackers & Kessels 1986, Siver 1988a, Hartmann & Steinberg 1989, Siver & Hamer 1989, Hartmann-Zahn 1991, Siver & Smol 1993). Podle Sivera (1989) byl nejčastější výskyt zaznamenán z acidických habitatů s průměrným pH 6; 5,9 a 5,7, byl tedy zařazen mezi acidofilní/acidobiontní druhy. *S. echinulata* je nalézána v oligotrofních vodách, ale může se vyskytovat i v mezotrofních aluviálních tůních nebo v eutrofních rybnících (Kristiansen 1975, Němcová et al. 2003).

Na základě pětiletého sledování sezónní distribuce chrysomonád v malém oligotrofním dimiktickém rybníku zařadili Siver & Hammer (1992) 51 druhů do pěti kategorií. V první kategorii se vyskytují druhy, které začínají růst na jaře, jejich maximum je v létě a na podzim mizí. Pro druhou kategorii je charakteristický začátek růstu na pozdní podzim, perzistence přes zimu a následné zmizení krátce po roztátí ledu na jaře. Do třetí skupiny patří druhy, které začínají růst v létě, přetrvávají přes podzim a v zimě zmizí. Ve čtvrté kategorii lze nalézt druhy, jejichž růst začíná podobně jako u třetí kategorie v pozdním létě. Přežijí však zimu a zmizí po roztátí sněhu na jaře. Pátá kategorie je charakteristická výskytem druhů během celého roku, často však pouze sporadicky. *Synura echinulata* spadá podle této studie do čtvrté kategorie.

Výskyt v chladnějších vodách uvádí např. Roijackers & Kessels (1986), Siver & Hamer (1989). Podle Kristiansena (1986) *S. echinulata* nemá žádné jasné teplotní preference.



Obr. 1.2: Neighbor-joining tree based on ITS sequences (Škaloud et al. nepublikováno)

1.3 Morfologická plasticita křemičitých šupin

Křemičité struktury jsou anorganické struktury, které se po exocytóze na povrch buňky již tvarově nemění. Změna tvaru je tedy míněna ve smyslu biomineralizace v odlišných podmínkách prostředí (např. různé hodnoty pH apod.). Za těchto různých podmínek vznikají šupiny, které mají průměrně jiný tvar.

Morfologii křemičitých šupin lze studovat odlišnými metodami. V minulosti někteří autoři používali kvalitativní hodnocení, zkoumali pouze přítomnost či nepřítomnost určitých znaků na křemičitých strukturách (shrnutí v Pichrtová 2007). Tradiční morfometrika, která se zabývá měřením kvantitativních proměnných (např. lineární vzdálenosti – délka, šířka) apod., má řadu nevýhod. Například různé naměřené vzdálenosti nejsou často navzájem nezávislé a proto se stávají měření nadbytečná. Velikost objektů je vždy dominantní složkou vysvětlené variability, je potřeba proto

vždy vliv velikosti odfiltrovat (Zelditch et al. 2004). Tradiční morfometriku používali ve svých studiích např. Martin-Wagenmann & Gutowski (1995), Gutowski (1996), Gavrilova et al. (2005). Geometrická morfometrika se zabývá celkovou geometrií morfologických struktur. Pomocí jejích metod se zachovává kompletní informace o relativním prostorovém rozložení dat (Adams et al. 2004). Podrobnější informace o této metodě jsou v kapitole 2.5.

Šupiny mají různý tvar podle umístění na buňce. Tvarovou plasticitu v závislosti na pozici na buňce studovali u druhu *Mallomonas kalinae* Neustupa et al. (2010). Pomocí metod geometrické morfometrie zjistili, že hlavní tvarový trend je spojen s pozicí šupin na buňce a s jejich velikostí. Nebyl prokázán žádný signifikantní lineární vztah mezi velikostí a polohou. Větší šupiny se vyskytovaly v centrální části buňky, zatímco menší šupiny na apikální a kaudální části.

V přírodě působí na tvar křemičitých struktur velké množství různých environmentálních faktorů. Z různých studií vyplývá, že k nejvýznamnějším faktorům, které ovlivňují výskyt a abundanci chrysomád, patří teplota, pH a konduktivita (Siver 1991, 1995, Kim et al. 2008). Vliv teploty na tvar šupin zkoumali v minulosti např. Siver & Skogstad (1988), Martin-Wagenmann & Gutowski (1995), Gutowski (1996), Řezáčová et al. (2010) či Pichrtová & Němcová (2011).

Siver & Skogstad (1988) našli během roku v různé časové době populace buněk *M. crassisquama* s různými typy ostnů. Na základě lineárního měření křemičitých struktur zjistili, že kratší serátní ostny se objevovaly v chladné vodě (teplota menší než 12°C), zatímco delší helmiovité ostny byly nalezeny pouze, když teplota vody přesáhla 15°C. Buňky s oběma typy ostnů se vyskytovaly v teplotě 9-20°C. Možným vysvětlením produkce delších helmiovitých ostnů během teplých měsíců je přizpůsobení buněk k menší viskozitě vody. Delší helmiovité ostny snižovaly v teplejší vodě rychlost klesání buněk ke dnu (Siver & Skogstad 1988).

Gutowski (1996) zjistila na základě měření různých kvantitativních proměnných na šupinách *M. tonsurata*, že se zvyšující se teplotou dochází k redukci velikosti šupin. Nicméně, pouze jednomu ze tří studovaných kmenů *Synura petersenii* se velikost šupin při vyšší teplotě zmenšila (Martin-Wagenmann & Gutowski 1995).

Řezáčová et al. (2010) studovali v laboratorních podmínkách vliv teploty na změnu tvaru šupin *Mallomonas kalinae* a *Synura curtispina* pomocí metod geometrické morfometrie. Tyto dva druhy pěstovali v různých teplotách (5, 10, 15, 20, 25 a 30°C). V závislosti na teplotě byly nalezeny určité tvarové trendy, značná tvarová variabilita

však byla spojena s pozicí šupin na buňce. *S. curtispina* měla za nízkých teplot šupiny nejširší a ve vyšších teplotách užší, zatímco šupiny *M. kalinae* byly nejužší v prostřední pokusné teplotě 20°C.

Pichrtová & Němcová (2011) sledovaly změnu tvaru šupin *Mallomonas tonsurata* a *Synura petersenii* kultivovaných v pěti různých úrovních teploty (5, 10, 15, 20 a 25°C). Tvar šupin byl kultivační teplotou signifikantně ovlivněn, s jejím vzrůstem se tvar šupin měnil od zakulacených po oválné až protažené. Jedná se tedy zřejmě o obecnější trend v rámci chrysomonád, který může být považovaný za důsledek zvyšující se teploty (Pichrtová & Němcová 2011).

Řada studií se v minulosti zabývala v laboratorních podmínkách vlivem pH na růstovou rychlost chrysomonád (Wee et al. 1991, Saxby-Rouen et al. 1998, Gavrilova et al. 2005, Lee et al. 2007, Lee & Kim 2007, Kim et al. 2008). Vlivem pH na velikost křemičitých šupin dvou kmenů *Synura petersenii* se zabývali Gavrilova et al. (2005). Při pěstování kmenů v různém pH docházelo ke změně morfologie šupin, která byla kmenově specifická. V kulturách se objevily také teratogenní šupiny, morfogeneze těchto šupin byla zřejmě narušena extrémně kyselým a zásaditým prostředím. Poškození šupin se projevovalo slabou silifikací, různými nepravidelnostmi, kým byl zmnožený nebo jinak deformovaný.

Tvarovou variabilitu křemičitých šupin dvou druhů chrysomonád v závislosti na pH sledovaly Němcová & Pichrtová (2012). Druhy byly kultivované na gradientu pH (*Mallomonas striata*- pH 4,5; 5,5; 6,5; 7,5; 8,3; 8,7; *Synura echinulata*- pH 3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7,5). Autoři ve studii diskutují, do jaké míry je tvar ovlivněn vysokým pH a do jaké míry nedostupností křemíku v tomto vysokém pH. Šupiny druhu *M. striata* byly v rozmezí pH 4,5-7,5 širší, s dobře vyvinutým V-žebrem, zatímco šupiny pěstované ve vyšším pH 8,3 a 8,7 byly užší se značně redukovaným V-žebrem. Druh *S. echinulata* měl v nízkém pH oválné šupiny s redukovaným štítem a rozšířenou labyrintózní strukturou. Se vzrůstajícím pH byly šupiny zaoblenější, v nejvyšším pH 7,5 širší s rozvinutým štítem a redukovanou sekundární labyrintózní strukturou. Přehnutý okraj byl v tomto pH také značně redukovaný.

Vliv environmentálních parametrů (křemík, fosfor a dusík) na tvarovou variabilitu křemičitých šupin *M. tonsurata* zkoumali Hahn et al. (1996). Živiny vyskytující se v médiu výrazně ovlivňovaly tvar křemičitých struktur.

Změna tvaru šupiny je omezena konstrukčním uspořádáním na buňce. Může se tedy měnit pouze do té míry, aby z těchto šupin mohla být utvořena funkční schránka.

Zároveň si musí šupina také udržet svou pevnost (Němcová et al. 2010). Při laboratorních pokusech na zkříženém gradientu světla/tepla zaznamenali Němcová et al. (2010) redukci labyrintózní struktury u druhu *Synura echinulata* (tma/zima), redukce byla vykompenzována rozšířením přehnutého okraje. Posteriovní část šupiny, která je překrytá vždy sousedními šupinami se jeví méně variabilní než anteriorní část. Autoři se domnívají, že díky překryvu šupin v této oblasti je posteriovní část šupiny tvarově více stabilní.

1.4 Charakteristika lokalit

1.4.1 Česká republika

Borkovická blata (3 vzorky)

Přírodní rezervace rašeliniště Borkovická blata se nachází cca 5 km jihozápadně od Soběslavi nedaleko obce Borkovice. Rašelinné ložisko se zde začalo vytvářet před více než 10 000 lety (<http://www.jiznicechy.org/cz/index.php?path=prir/bblata.htm>). Od 50. do 70. let 20. století zde probíhala velkoplošná průmyslová těžba. Nejzachovalejší část blat, která má rozlohu zhruba 55 ha, byla v roce 1980 vyhlášena chráněným územím. Tři vzorky jsem odebrala v jezírkách, která vznikla při předchozí těžbě rašeliny (Příloha 2, obr. a)

Brdy (6 vzorků)

Padrt'ské rybníky je souhrnné označení pro dvojici rybníků, Hořejší padrt'ský a Dolejší padrt'ský rybník. Leží v kotlině dlouhé přes 10 km, která je součástí vojenského újezdu Brdy. Brdská vrchovina slouží k vojenským účelům již od roku 1927. Rybníky byly založeny v 16. století jako vodní rezervoár pro plavení dřeva pro hutě, rozložené na Padrt'ském potoce. V současnosti je hlavním využitím rybníků chov ryb. Hořejší padrt'ský rybník má výměru 115 ha, je napájen řadou drobných lesních přítoků a obklopen převážně smrkovými porosty. Dolejší padrt'ský rybník (Příloha 2, obr. j) má rozlohu 65 ha, je napájen výtokem z Hořejšího rybníku. V jeho okolí se nachází převážně louky a bezleší. Vzorky planktonu jsem odebrala z obou Padrt'ských rybníků.

Dále jsem odebrala vzorek ze soustavy mělkých tůňek zastíněných smrky nacházejících se západně od Dolejšího padrťského potoka. Hloubka odebírané tůňky byla cca 30 cm. Dalším odběrovým místem nacházejícím se v Brdech byl malý rybník severovýchodně od Dolejšího padrťského rybníka, bez žádné litorální makrovegetace s nově upraveným břehem (Příloha 2, obr. h). Plankton jsem také odebrala z malé zarostlé tůně u cesty severně od Padrťských rybníků.

Pilská nádrž, kde jsem provedla další odběr, se nachází cca 2,6 km severozápadně od obce Bohutín. Byla vybudována na Pilském potoce v Brdech v letech 1849 – 1853 původně jako zásobárna vody potřebné pro příbramské doly a hutě, v současnosti představuje největší rezervoár pitné vody pro Příbramsko. Voda v nádrži je typická svou vysokou kyselostí. Zatopená plocha je 20,79 ha.

Podrobná mapa odebíraných lokalit v Brdech je v Příloze 1.

Černé jezero

Rozloha činí 18,4 ha, jedná se o největší karové ledovcové jezero na Šumavě (Příloha 2, obr. i). Vzniklo v poslední době ledové. Od roku 1933 je společně s Čertovým jezerem součástí Národní přírodní rezervace o rozloze 174,86 ha.

Hřensko

Bezejmenný rybník nacházející se severovýchodně od Hřenska v lese na potoce Suchá Bělá (Příloha 2, obr. d). V okolí se nacházejí jehličnaté stromy.

Krušné hory

Podlouhlá louže vzniklá pravděpodobně po průjezdu těžké techniky hluboká cca 1 m. Nachází se na louce západně od kopce Nejdecký Špičák v Krušných horách.

Liberecko (8 vzorků)

V jihovýchodní části města Liberec se vyskytuje hojné množství vodních ploch. Plankton jsem odebrala z Pekelských (3) a Kunratických (3) rybníků, z malé tůňky vyskytující se pod nádrží u kravína, který se nachází mezi těmito dvěma soustavami rybníků a z mokřadu vyskytujícího se na přítoku jednoho z Pekelských rybníků. Odběrová místa jsou detailně vyznačena na mapě v Příloze 1.

Mechové jezírko, Krkonoše

Mechové jezírko se nachází v moréně údolí Kotelského potoka v Krkonošském národním parku (Příloha 2, obr. j). Je to jediné ledovcové jezero na české straně Krkonoš, leží 1 km severozápadně od osady Dolní Mísečky. Jezírko má rozlohu zhruba 464 m² a dosahuje hloubky přibližně 0,8 až 1,2 m (Engel et al. 2003). Leží v nadmořské výšce 935 m n. m. Na dně i na hladině jezírka se hojně vyskytuje rašeliník Dusénův (*Sphagnum dusenii*).

Rybníčky u Podbořánek

Přírodní rezervace Rybníčky u Podbořánek nacházející se 1,2 km jihozápadně od Podbořánek byla vyhlášena roku 1990. Zahrnuje dva rybníky na Mladotickém potoce (Horní rybník a Dolní rybník) a přilehlé podmáčené pozemky. Vzorek planktonu jsem odebrala z Horního rybníka (Příloha 2, obr. b), na jehož hladině se vyskytují vysazené lekníny (*Nymphaea* spp.), rdest vzplývavý (*Potamogeton natans*), bublinatka jižní (*Utricularia australis*), šejdračka bahenní (*Zannichellia palustris*), dále zde roste d'áblík bahenní (*Calla palustris*), vachta trojlistá (*Menyanthes trifoliata*) nebo šípka vodní (*Sagittaria sagittifolia*) (Ložek et al. 2005).

Swamp

Rašeliniště Swamp se nachází na jihovýchodním břehu Máchova jezera přibližně 2,8 km severně od Doks (Příloha 2, obr. c). Výskyt vody v rašeliništi se odvíjí od vodní hladiny Máchova jezera, se kterým je rašeliniště spojené písčitém propustným podložím. Rašeliniště se skládá ze dvou částí, vzorek planktonu jsem odebrala z místa nacházejícím se v severní části Swampu, která zahrnuje 1,45 ha. Tato část se stala Národní přírodní památkou v roce 1972. Od jezera je oddělena úzkou hrází, která byla ve 2. polovině 20. století zpevněna, aby nedocházelo k naplavování vody z jezera do rašeliniště a nedocházelo tak k eutrofizaci (Svátková 2007).

Vizír

Rybník Vizír je součástí Národní přírodní památky Vizír, která byla vyhlášena v roce 1987 na ploše 10,22 ha. Leží 3 km západně od Chlumu u Třeboně.

Na Plachtě (9 vzorků)

Přírodní památka Na Plachtě se rozkládá na jihovýchodním okraji města Hradec Králové. Skládá se ze dvou zvláště chráněných území. Přírodní památka „Na Plachtě 1“ byla zřízena roku 1998 a činí 10 ha. Přírodní památka „Na Plachtě 2“ byla zřízena na pozemcích sloužících obraně státu roku 1998. Tato část má výměru 29 ha.

Na obnažených plochách v centrální části Na Plachtě 2 jsou terénní deprese vzniklé těžbou stavebního materiálu. Vzorky jsem odebrala z některých těchto prohlubní, které jsou zaplněné vodou (Příloha 2, obr. f). Na mapě v Příloze 1 je vyznačeno 9 odběrových míst.

1.4.2 Francie, Akvitánie

Akvitánie se nachází v jihozápadní části Francie (mapa, Příloha 1). Vzorky jsem odebírala v západní části tohoto regionu, který přiléhá k Atlantskému oceánu. Vyskytuje se zde mírné klima, zasahují sem subtropické mediteránní cévnaté rostliny jako např. *Arbutus unedo*, *Quercus suber*, *Ruscus aculeatus*, *Smilax aspera* nebo *Viburnum tinus*. Průměrná lednová teplota zde obvykle překračuje 5°C, v jižní části regionu dosahuje až 7,5°C. V zimě zde téměř nemrzne, lokality proto nejsou vystaveny dlouhodobému zmrznutí (Němcová et al. 2012). Vzorky jsem získala z malých tůní a mokřadů (lokality 34-37, Příloha 2, obr. k, l) a z Étang de Hardy, který slouží k lovu ryb.

2. Materiál a metody

2.1 Odběrová místa

Vzorky jsem odebrala v České republice a v Akvitánii (jihozápad Francie) během let 2010 a 2011. V České republice jsem odebrala vzorky ze 33 míst. Pro analýzu tvaru šupin pomocí geometrické morfometriky jsem využila 24 vzorků, ve kterých se živé kolonie *Synura echinulata* vyskytovaly v dostatečném množství pro nafocení šupin. Na devíti odběrových místech nacházejících se na jihovýchodním okraji u Hradce Králové v přírodní památce Na Plachtě jsem studovala pouze diverzitu křemičitých chrysomonád. Jelikož se zde šupiny druhu *Synura echinulata* vyskytovaly pouze ve velmi malém počtu, nezahrnula jsem je do morfometrických analýz. Pro analýzu šupin z Akvitánie jsem odebrala 4 vzorky z lokalit, kde se *Synura echinulata* vyskytovala v planktonu v dostatečné abundanci pro focení šupin. Vzorek z mokřadu severně od Hostens byl odebrán dvakrát, v únoru a v květnu 2010.

Mapa lokalit je znázorněna v Příloze 1, jednotlivé lokality jsou popsány v tabulce v Příloze 5.

2.2 Odběry vzorků

Vzorky planktonu jsem odebírala planktonní sítí s rozměry ok 20 μm . Na některých místech jsem odebrala pomocí injekční stříkačky povrchový sediment pro studium diverzity křemičitých chrysomonád (Příloha 4). Při každém odběru jsem měřila na lokalitě hodnoty pH, konduktivity a teploty pomocí kombinovaného pH-konduktometru WTW 340. Odebrala jsem také větší objem (0,5 l) čisté vody pro měření dalších parametrů vody (celkový dusík, celkový fosfor, amoniak). Hodnoty jsem měřila v laboratoři za využití spektrofotometru DR/890 Colorimetr (Hach). Na meteorologickém serveru <http://www.wunderground.com/> jsem pak zjistila na nejbližší stanici vyskytující se u lokality průměrnou měsíční teplotu před daným odběrem. Teploty vody, které jsem naměřila na lokalitách, jsem do analýz nepoužila kvůli jejich velkým výkyvům v závislosti na počasí a intenzitě slunečního záření.

Všechny naměřené hodnoty, nadmořská výška lokalit a GPS souřadnice jsou uvedené v tabulce v Příloze 5.

2.3 Příprava vzorků pro transmisní a skenovací elektronovou mikroskopii

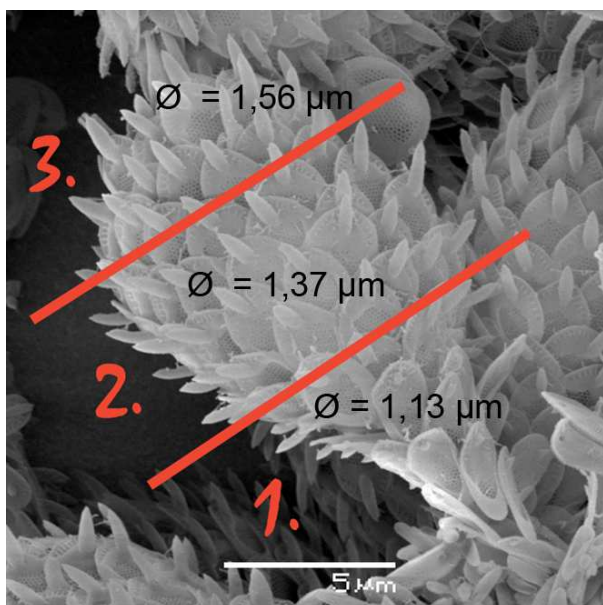
Vzorky jsem v laboratoři prohlédla pomocí světelného mikroskopu a v případě výskytu živých zástupců rodu *Synura* jsem je nakapala na předem připravené měděné síťky potažené formvarovou blankou. Po zaschnutí jsem síťky promyla v 5 kapkách destilované vody na parafilmovém pásku, aby se vzorek zbavil nečistot, které vznikly vysrážením solí. Pro determinaci *Synura echinulata* jsem použila transmisní elektronové mikroskopy (TEM) Philips 300 a JOEL 1011. Pokud se tato zlativka ve vzorcích vyskytovala, nakapala jsem další formvarové síťky (5-8) pro použití na TEM. Vzorky planktonu jsem fixovala Lugolovým roztokem a uschovala je ve tmě pro případnou potřebu dalších šupin *Synura echinulata*.

Pro pozorování buněk ve skenovacím elektronovém mikroskopu (SEM) jsem vypěstovala několik monoklonálních kultur. Z přírodního vzorku jsem skleněnou mikropipetou vyizolovala vždy jednu kolonii, kterou jsem promyla v sérii kapek sterilního živného média a nechala jsem ji cca 14 dní růst v komůrce serologické destičky. Poté jsem kultury přemístila do Erlenmeyerových baněk (objem 50 ml) s modifikovaným médiem DY IV s pufrem MES ($C_6H_{13}NO_4S$) (Řezáčová 2003). Pro pozorování v SEM jsem připravila dva vzorky, první jsem nafixovala 2% glutaraldehydem a nechala fixovat přes noc, druhý vzorek jsem ponechala bez fixace. Na krycí sklíčka (průměr 12 mm), která jsem umístila na varnou desku zahřátou na 60°C, jsem kápala třikrát roztok poly-L-lysinu (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, USA, poměr 1:10 s destilovanou vodou) a nechala zaschnout. Vzniklý film zajišťuje lepší přilnavost buněk. Na vystydlá sklíčka jsem kápala fixovaný a čerstvý vzorek. Nechala jsem buňky sedimentovat, než kapka na třívrstevném povlaku poly-L-lysinu téměř vyschla. Následně jsem vzorky odvodnila v acetonové řadě (30, 50, 70, 90, 95% po 10 min., 99, 100% po 20 min.). Sklíčka jsem poté nalepila oboustrannou lepící vodivou páskou na bločky, které pak byly pokryty vrstvou 3 nm zlata (Bal-Tec SCD 050). Vzorky jsem pozorovala pomocí skenovacího elektronového mikroskopu

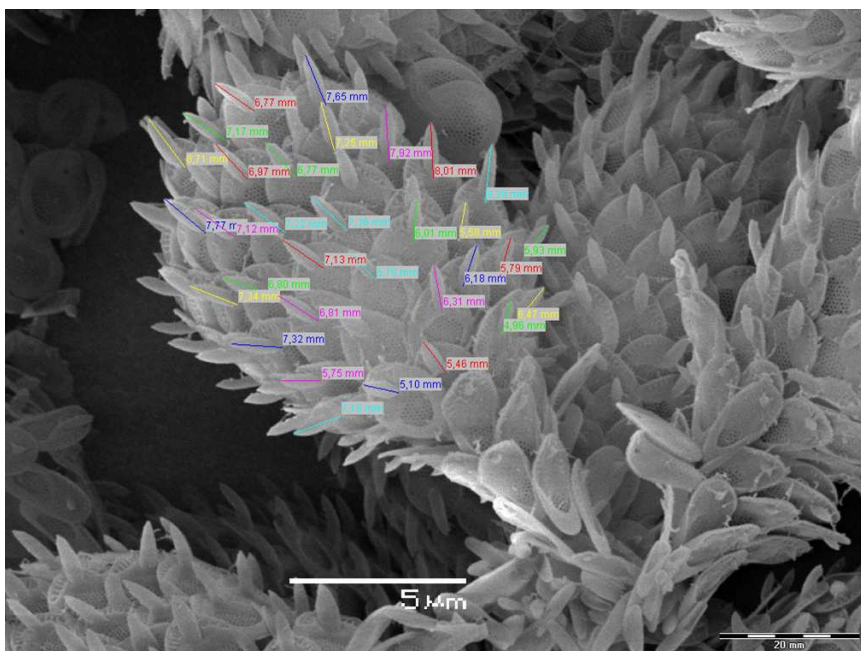
JOEL 6380 LV. Buňky fixované glutaraldehydem se držely více v koloniích než buňky z nakapaného vzorku bez fixace.

2.4 Výběr tělových šupin pro geometrickou morfometriku

Šupiny nacházející se na anteriorním konci buňky mají nejdelší osténky, směrem k posteriornímu konci buňky se velikost ostének zmenšuje (Siver 1999). Změnu délky ostének v závislosti na pozici na buňce jsem využila pro spolehlivé určení tělových šupin, které jsem pro studium tvarové variability potřebovala. Nafotila jsem několik desítek buněk na SEM a rozdělila je na 3 části (obr 2.1). Na šupinách jsem téměř po celé délce buňky změřila osténky, osténky u kaudálních šupin jsem do analýzy nezahrnula (obr 2.2). V každé části buňky jsem v programu AnalySIS 3.2 (Soft Imaging System ®) náhodně změřila 100 šupin, celkem bylo tedy proměřeno 300 ostének. Na základě párového t-testu (PAST, ver. 2.14; Hammer et al. 2001) jsem následně naměřené hodnoty statisticky vyhodnotila. Všechny tři skupiny se od sebe na 5% hladině spolehlivosti ($\alpha=0,05$) signifikantně lišily (1. a 2. skupina: $p= 1,184E^{-18}$, 2. a 3. skupina: $p= 1,755E^{-22}$, 1. a 3. skupina: $p=5,629E^{-42}$). Průměrná délka ostének u 1. skupiny byla 1,13 μm , u 2. skupiny 1,37 μm a u 3. skupiny 1,56 μm .



Obr. 2.1: Rozdělení buňky na 3 skupiny. 1. sk. kaudální část s posteriorními šupinami, 2. sk. prostřední část s tělovými šupinami, 3. sk. apikální část s anteriorními šupinami. U každé skupiny je zaznamenána průměrná velikost ostének.



Obr. 2.2: Měření ostének na buňce *S. echinulata*.

Na TEM jsem následně fotila 45 náhodně vybraných šupin při stejném zvětšení 20 000 krát. Při pořizování fotografií jsem v programu iTEM 5.1 (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH) ihned osténky měřila. Jelikož jsou pro morfometrické analýzy potřebné pouze tělové šupiny daného druhu, zaznamenala jsem v programu Microsoft Office Excel 2003 údaje o měření a vybrala jsem prostřední skupinu šupin s určitým intervalem rozměrů osténku. Poté jsem fotografovala potřebné množství šupin, jejichž osténky spadaly do daného intervalu, aby byl výsledný počet tělových šupin 30.

Jelikož se na některých místech vyskytovaly velice zajímavé druhy křemičitých chrysomonád, začala jsem studovat i diverzitu této skupiny na jednotlivých lokalitách. Při mikroskopování jsem fotografovala kromě šupin *Synura echinulata* i šupiny ostatních zástupců křemičitých chrysomonád vyskytujících se na sítkách.

2.5 Geometrická morfometrika (GM)

GM se zabývá popisem a statistickou analýzou tvaru a jeho proměnlivosti za využití landmarkových metod. V současné době téměř všechny morfometrické studie založené na landmarkových metodách analyzují tvar s postupy založenými na

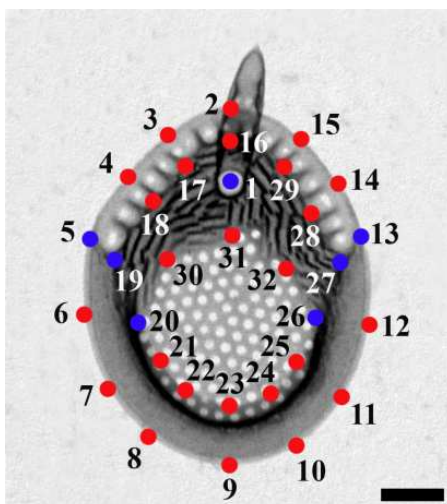
Kendalově tvaroprostoru a Prokrustovské vzdálenosti nebo na jejich aproximaci tangenciálním prostorem (Adams et al. 2004). Tvarové změny lze pak na původních objektech zrekonstruovat a biologicky interpretovat. Metody GM jsou pevně zakotvené ve statistické teorii o tom, jak je definován tvar. Kendall (1977) ho definuje jako veškerou geometrickou informaci, která zůstává v uspořádání landmarků po odstranění vlivů, které se týkají pozice, velikosti a rotace objektu.

Důležitou součástí analýz GM je Prokrustovská superimpozice, při které dochází k přeložení jednotlivých objektů přes sebe tak, aby se vyloučila variabilita, která je způsobená rotací a velikostí a zůstaly tak pouze rozdíly týkající se pouze tvaru (Zelditch et al. 2004). Superimpozici jsem provedla za pomoci programu tpsRelw 1.45 (Rohlf 2007b), který dále spočítá z matice deformační energie hlavní warpy, na které je každý objekt poté projektován. Tím se pak získají parciální warpy (Rohlf 2007b).

Po superimpozici lze tvarové změny popsat pomocí metody ohebných pásků (tzv. thin-plate spline). Dokáže vizualizovat změny, ke kterým dochází v oblastech mezi landmarky (Zelditch et al. 2004).

V této práci jsem zvolila stejně jako Pichrtová (2009) landmarkové metody, které jsou založené na definování homologických bodů na význačných místech studovaných struktur.

Fotografie šupin jsem pomocí programu tpsUtil 1.38 (Rohlf 2006a) převedla do formátu tps, následně jsem v programu tpsDig 2.12 (Rohlf 2008) umístila landmarky. Jejich poloha na šupině je znázorněna na obr. 2.3. Celkově je na tělové šupině umístěno 32 homologických bodů, z toho je 7 pevně daných landmarků a 25 semilandmarků, jejichž umístění není pevné. Poloha semilandmarků je dána dvěma sousedními body, mezi nimiž „kloužou“ v průběhu superimpozice (Bookstein 1997).



Obr. 2.3: Umístění pevných landmarků (modře) a semilandmarků (červeně) na šupině.

V minulosti byla použita geometrická morfometrika např. k analyzování tvarové variability v závislosti na různých environmentálních parametrech (př. Neustupa & Hodač 2005, Neustupa et al. 2008). Pomocí metod geometrické morfometriky se podařilo McManus et al. (2011) odlišit jednu linii *Pediastrum duplex* od ostatních dvou skupin. Na základě molekulární fylogenetické analýzy a SEM se rozděluje *Pediastrum duplex* na tři fylogenetické linie. Autoři se snažili docílit toho, aby se jednotlivé linie rozlišily na základě morfologie. Studium tvaru potvrdilo molekulární fylogenetická data a oddělilo skupinu, která obsahovala izoláty s *Pediastrum duplex* var. *gracillimum*, jako samostatnou taxonomickou jednotku.

Morfologií křemičitých šupin za pomoci GM se v minulosti zabývali například Řezáčová & Škaloud (2005), Neustupa & Němcová (2007), Pichrtová & Němcová (2008), Neustupa et al. (2010), Němcová et al. (2010), Řezáčová-Škaloudová et al. (2010) či Pichrtová & Němcová (2011).

2.5.1 Symetrizace

Při pozorování šupin v SEM lze snadno zjistit, kde je levá a pravá strana šupiny, jelikož strana šupiny přiléhající k plazmatické membráně je hladká (Příloha 3, obr. 82). V TEM, kde je šupina prozářena, ale nebylo možné odhadnout, kde se nachází levá a pravá strana, i když jsou šupiny v důsledku fluktuální asymetrie mírně nesouměrné (Pichrtová 2009). Provedla jsem proto symetrizaci šupin podle Klingenberga et al. (2002). Zkopírovala jsem souřadnice všech landmarků a v novém datovém souboru jsem jejich x-ové souřadnice vynásobila (-1). Pak jsem v programu PAST ver. 2.14 (Hammer et al. 2001) přeznačila čísla landmarků tak, aby si navzájem odpovídaly jako dvojice podle symetrie na podélné ose šupiny. Poté byla provedena Prokrustovská superimpozice původních a nových objektů a následně jsem ze získaných Prokrustovských souřadnic vypočetla průměr odpovídající bilaterálně symetrickým šupinám (Klingenberg et al. 2002). Kromě programu PAST ver. 2.14 jsem využila u tohoto postupu ještě WordPad a Microsoft Office Excel 2003.

2.6 Statistické analýzy

2.6.1 Partial least squares analysis (PLS)

Jedná se o relativně novou statistickou metodu GM, která se používá ke studování kovariance mezi dvěma bloky dat, kdy oba bloky mohou zahrnovat tvar nebo se analyzuje vztah mezi tvarem a jinou proměnnou (př. morfometrické proměnné) nebo vztah mezi tvarem a měřením biomechanických či ekologických faktorů (Zelditch et al. 2004, Rohlf & Corti 2000, Rüber & Adams 2001). Výsledkem analýzy je soubor vektorů, které jsou lineární kombinací dat. Vektory jsou párovány tak, že první vektor proměnné je párován s vektorem prvního parciálního warpu, druhý s druhým atd. Zatímco párované vektory spolu korelují, ostatní korelované nejsou. Lineární kombinace jsou tvořené tak, aby nové proměnné maximalizovaly kovarianci mezi dvěma původními soubory dat (Tabachnick & Bookstein 1990). I když je počítaná korelace mezi vektory poměrně vysoká, musí se zkontrolovat, kolik procent kovariance je párovým vektorem vysvětleno. Vysoká korelace totiž nemusí být důležitá, pokud vysvětluje nízké procento kovariance (Rohlf 2006b).

Tato metoda byla v minulosti použita v několika studiích, kdy autoři zjišťovali kovarianci mezi tvarem a trofickými proměnnými (Adams & Rohlf 2000), mezi tvarem a proměnnými prostředí (Corti et al. 1996, Viscosi et al. 2009) nebo mezi dvěma bloky které zahrnovaly tvar (Rohlf a Corti, 2000; Arnqvist a Rowe 2002, Navarro et al. 2004). PLS analýza je známá nejen v oblasti biologie, ale je rozsáhle využívána např. v sociálních nebo klinických studiích (Zelditch et al. 2004).

V případě této práce jsem využila PLS analýzu pro studium kovariance, kdy jeden blok zahrnuje tvar (vstupní data pro analýzu jsou skóry na parciálních warpech) a druhý data o prostředí. Nicméně, přírodní podmínky reprezentují multifaktoriální prostředí, kde působí na organismy velké množství různých proměnných. Změřit všechny faktory je nereálné, vybrala jsem pro tuto práci proměnné, jejichž měření pro mě bylo dostupné, a u kterých lze předpokládat, že budou nejvíce ovlivňovat tvar šupin. Naměřené hodnoty environmentálních proměnných (pH, konduktivita, průměrná měsíční teplota, celkový dusík TN, celkový fosfor TP, amoniak NH_3) a nadmořská výška s GPS koordinátami jsou uvedeny v tabulce v Příloze 5. Pro analýzu jsem proměnné standardizovala podle vzorce $Z=(x-\mu)/\sigma$, kde x reprezentují původní surová

data, μ je průměr ze skupiny a σ směrodatná odchylka. Pro zhodnocení dat jsem využila program tpsPLS 1.18 (Rohlf 2006b).

2.6.2 Mnohorozměrná regrese

Touto analýzou jsem testovala vztah mezi tvarem šupin a parametry prostředí, které vysvětlovaly nejvíce variability (regrese tvaru na pH a nadmořskou výšku). Jako závislé proměnné jsem použila Prokrustovské souřadnice. Mnohorozměrnou regresi jsem provedla v programu tpsRegr 1.34 (Rohlf 2007a). Výsledkem této analýzy je procento variability vysvětlené daným regresním modelem. Pomocí permutačních testů (1000 permutací) na hodnotách statistik Wilksovo λ a Goodalovo F byla testovaná signifikance těchto modelů.

2.6.3 Permutační MANOVA

Tato neparametrická forma mnohorozměrné analýzy variance (implementovaná funkcí adonis) umožňuje rozklad variability dat, v tomto případě rozklad tvarové variability mezi studované proměnné. Je součástí statistického balíku vegan, R- project (R Development Core Team 2011, Oksanen et al. 2011).

Do analýzy vstupovaly 2 soubory dat. První datový soubor obsahoval tvarové proměnné (RW skóry na prvních 15 osách), druhý soubor představoval proměnné prostředí (pH, vodivost, průměrná teplota, TN, TP, NH₃, nadmořská výška).

Provedla jsem čtyři analýzy dat: i) první soubor obsahoval tvarové proměnné pro všechny studované šupiny (celkem 870 šupin z 29 lokalit), ve druhém souboru představovala každá šupina jeden řádek, šupiny ze stejné lokality měly stejné environmentální proměnné, každá z 29 lokalit byla kódována odlišným písmenem. ii) soubory dat podobné jako i), jen lokality byly kódovány na základě jejich GPS koordinát. Vznikla tak prostorová proměnná spatial, díky níž lze zjistit, jaký vliv mají vzdálenosti lokalit na tvar šupin. iii) první soubor obsahoval průměrné tvary pro jednotlivé lokality (tj. 29 průměrných tvarů), ve druhém souboru představoval každý průměrný tvar dané lokality jeden řádek s jedinečnými proměnnými prostředí, lokality byly kódovány na základě jejich GPS koordinát. iv) viz iii) lokality jsem zde kódovala pouze do dvou skupin – české „a“ a akvitánské „b“.

2.6.4 Mantelův test

Mantelovým testem (Mantel 1967) jsem testovala, zda jsou si šupiny z bližších lokalit tvarově podobnější. Tento test umožňuje zjistit, jestli existuje korelace mezi dvěma určitými maticemi dat. První matice zahrnovala euklidovské vzdálenosti mezi skóry na RW osách, druhá matice představovala geografické vzdálenosti jednotlivých lokalit. Mantelův test jsem provedla v programu PAST (Hammer et al. 2001). Signifikance byla posouzena na základě permutačního testu (5 000 permutací).

2.7 Míra tvarové variability (morfologická disparita)

Pro kvantifikování rozdílů ve tvarové variabilitě křemičitých šupin mezi jednotlivými lokalitami jsem použila vzorec pro výpočet morfologické disparity (Zelditch et al. 2004):

$$M = \frac{\sum_{i=1}^N (D_i^2)}{(N-1)}$$

kde D_i je Prokrustovská vzdálenost mezi jednotlivými objekty (šupiny) a průměrným (konsenzuálním) tvarem celé skupiny. N je počet objektů.

Pro kvantifikování přínosu každé jednotlivé šupiny k celkové morfologické disparitě souboru se počítá částečná morfologická disparita:

$$PM = \frac{D_i^2}{N-1}$$

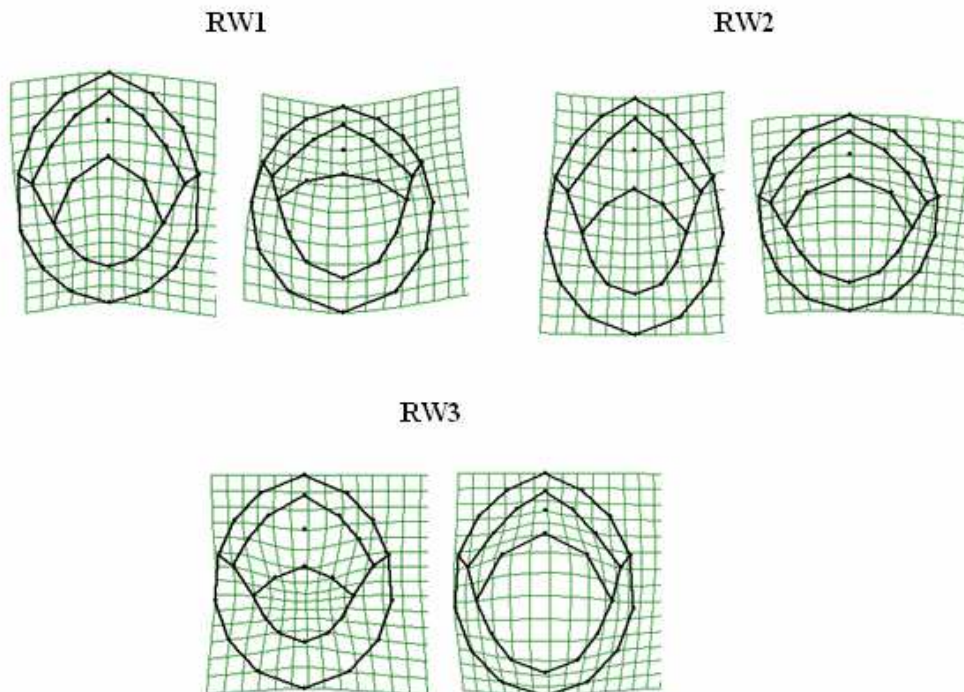
Prokrustovské vzdálenosti jsem spočítala pomocí programů tpsSmall 1.20 (Rohlf 2003) a Microsoft Office Excel 2003.

3. Výsledky a diskuse

3.1 Výsledky geometrické morfometriky

3.1.1. Celková tvarová variabilita

Celkovou tvarovou variabilitu jsem popsala pomocí analýzy relativních warpů. Analýza ukázala základní trendy v morfologické variabilitě celého souboru 870 šupin z 29 lokalit. První tři osy vysvětlily 74,2 % celkové variability. První relativní warp (RW1) popisuje 37,45 % celkové variability, druhý RW2 21,72 % a třetí RW3 15,03 % variability. Deformační mřížky zobrazují příslušné trendy v extrémních hodnotách jednotlivých os (obr. 3.1). Podél první a druhé osy dochází ke změně tvaru od prodlouženého po zakulacený. Mění se také rozložení sekundární labyrintózní struktury. Dochází též ke zvětšování štítu. Třetí relativní warp je spojený s velikostí štítu a šířkou přehnutého okraje.

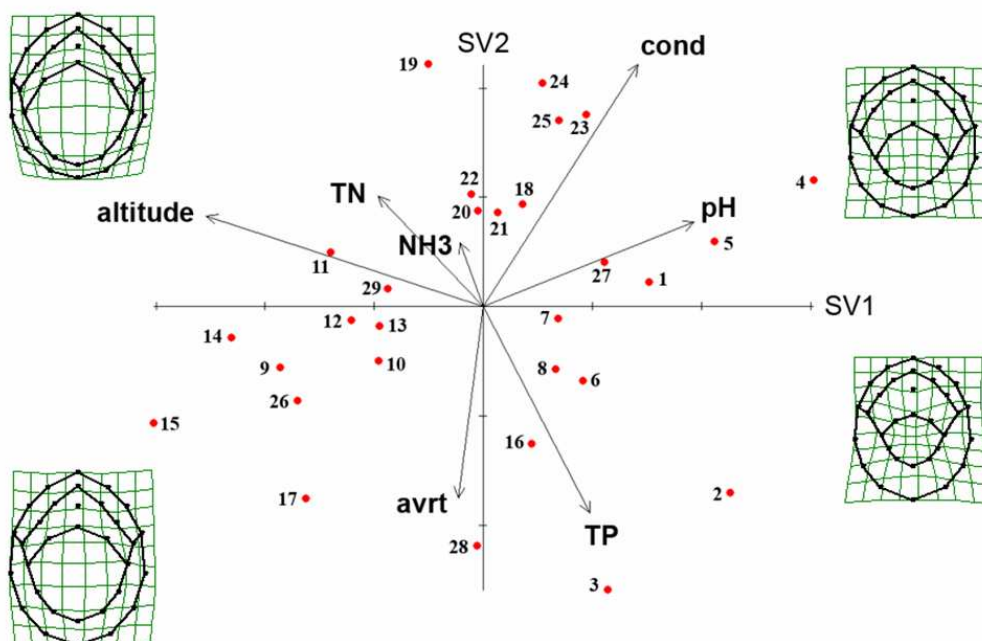


Obr. 3.1: Deformační mřížky znázorňující trendy morfologické variability přírodních populací *S. echinulata* na 29 lokalitách v extrémních hodnotách prvních třech RW os.

3.1.2 Partial least squares analysis (PLS)

Dvoublokovou metodou PLS jsem zjišťovala kovarianci mezi tvarem šupin a environmentálními proměnnými. Byly zvoleny čtyři dimenze, první osa vysvětlila 49,9 % kovariance, druhá osa vysvětlila 39,1 % kovariance. Korelace byly u první osy 0,532, u druhé osy 0,449. S první osou korelují pH a nadmořská výška, lze tedy vyvodit, že v přírodních podmínkách mají největší vliv na tvar křemičitých šupin právě tyto dva parametry.

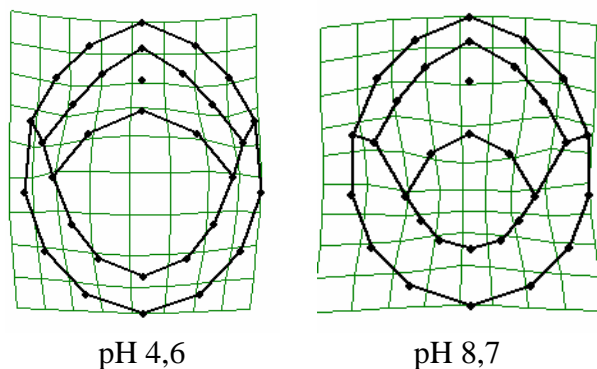
Výsledkem této analýzy je ordinační diagram s vektory jednotlivých proměnných (obr. 3.2). Na deformačních mřížkách jsou znázorněny tvarové trendy přírodních populací *S. echinulata* v závislosti na pH a nadmořské výšce. Z obr. 3.2 lze vyvodit celkový trend morfologické změny. Se zvyšujícím se pH se zesiluje přehnutý okraj, rozšiřuje se labyrintózní sekundární struktura a dochází k redukci štítu šupiny. Trend změny tvaru v závislosti na rostoucí nadmořské výšce ukazuje na zmenšování labyrintózní sekundární struktury, expanzi štítu šupiny a tendenci mít užší přehnutý okraj.



Obr. 3.2: Ordinační diagram PLS analýzy. Lokality jsou označené čísly, jejich název je v tabulce v Příloze 6. Pro větší názornost je míra deformace na mřížkách zvýrazněna dvakrát oproti skutečnosti.

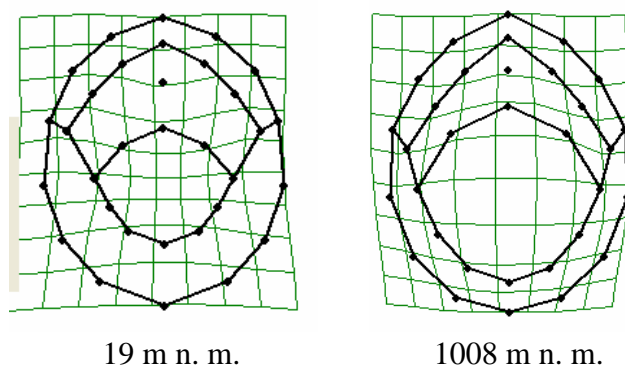
3.1.3 Regrese tvaru na pH a nadmořskou výšku

Regresní model závislosti tvaru šupin na pH v přírodních podmínkách vysvětlil 3,4 % variability (Wilksovo $\lambda = 0,45$, permutační $p = 0,001$; Goodalovo $F = 30,33$, permutační $p = 0,001$). Celkový trend morfologické změny se zvyšujícím se pH ukazuje na zesílení přehnutého okraje, rozšiřování labyrintózní sekundární struktury a redukcii štítu šupiny (obr. 3.3).



Obr. 3.3: Deformační mřížky znázorňující trendy morfologické změny se zvyšujícím se pH. Pro větší názornost je míra deformace zvýrazněna třikrát oproti skutečnosti.

Regresní model závislosti tvaru na nadmořské výšce vysvětlil 5,8 % variability ve tvaru (Wilksovo $\lambda = 0,30$, permutační $p = 0,001$; Goodalovo $F = 53,13$, permutační $p = 0,001$). Celkový trend morfologické změny s rostoucí nadmořskou výškou ukazuje na zmenšování labyrintózní sekundární struktury a expanzi štítu šupiny (obr. 3.4). Ve vyšších nadmořských výškách mají šupiny tendenci mít užší přehnutý okraj.



Obr. 3.4: Deformační mřížky znázorňující trendy morfologické změny s rostoucí nadmořskou výškou. Pro větší názornost je míra deformace zvýrazněna třikrát oproti skutečnosti.

3.1.4 Rozklad tvarové variability mezi studované proměnné

Na rozklad tvarové variability mezi studované proměnné jsem použila analýzu permutační MANOVA (implementovanou funkcí adonis - package vegan, R-project (R Development Core Team 2011, Oksanen et al. 2011). V tabulkách 3.1 – 3.6 je znázorněn celkový vliv daných proměnných, resp. kolik procent variability vysvětlují. Čistý efekt udává čistě daný vliv proměnné po odečtení vlivu všech ostatních faktorů.

Nejvíce variability ve tvaru šupin (u celkového souboru 870 šupin) vysvětlila překvapivě lokalita (10,77 %), i čistý vliv této proměnné (7,26 %) vyšel signifikantně ($p < 0,001$). Z environmentálních proměnných nejvíce variability vysvětlily pH, průměrná teplota a nadmořská výška (hodnoty jsou ale pouze necelá procenta – viz tab. 3.1). Všechny sledované proměnné z tab. 3.1 vysvětlily celkem 11,57 % variability.

Díky prostorové proměnné spatial, která zohledňuje lokality na základě GPS koordinát (tab. 3.2), lze zjistit, jakou část variability ve tvaru šupin lze vysvětlit vzájemnou vzdáleností lokalit. Čistý vliv této proměnné vysvětlil 4,7 % tvarové variability ($p < 0,001$). Proměnné z tab. 3.2 vysvětlily celkem 9,03 % variability.

proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
pH	0,9	0,001 ***	0,17	0,065 .
cond	0,74	0,001 ***	0,07	0,782
avrt	0,88	0,001 ***	0,11	0,377
TN	0,71	0,001 ***	0,11	0,402
TP	0,76	0,001 ***	0,09	0,672
NH ₃	0,27	0,001 ***	0,08	0,678
altitu	0,77	0,001 ***	0,18	0,051 .
lok	10,77	0,001 ***	7,26	0,001 ***

Tab. 3.1: Výsledky analýzy adonis na celkovém souboru 870 šupin. avrt = průměrná teplota, TN = totální dusík, TP = totální fosfor, NH₃ = amoniak, altitu = nadmořská výška, lok = lokality kódovány pomocí písmen. Každá lokalita je jedinečná. Každá od každé se liší stejnou měrou.

(znázorněná hladina signifikance: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1)

proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
pH	0,9	0,001 ***	0,26	0,002 **
cond	0,74	0,001 ***	0,26	0,002 **
avrt	0,88	0,001 ***	0,33	0,001 ***
TN	0,71	0,001 ***	0,35	0,001 ***
TP	0,76	0,001 ***	0,6	0,001 ***
NH ₃	0,27	0,001 ***	0,43	0,001 ***
altitu	0,77	0,001 ***	0,44	0,001 ***
spatial	6,1	0,001 ***	4,7	0,001 ***

Tab. 3.2: Výsledky analýzy adonis na celkovém souboru 870 šupin. avrt = průměrná teplota, TN = totální dusík, TP = totální fosfor, NH₃ = amoniak, altitu = nadmořská výška, spatial = lokality na základě GPS koordinát. Lokality se liší na základě vzájemné geografické vzdálenosti.

(znázorněná hladina signifikance: 0 '****' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1)

Proměnné z tab. 3.3, kdy byly do „envir“ zahrnuty všechny měřené environmentální proměnné, vysvětlily celkem 8,7 % variability. Čistý efekt u každé proměnné vyšel signifikantně ($p < 0,001$).

proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
envir	2,99	0,001 ***	2,08	0,001 ***
altitu	0,77	0,001 ***	0,44	0,001 ***
spatial	6,08	0,001 ***	5,09	0,001 ***

Tab. 3.3: Výsledky analýzy adonis na celkovém souboru 870 šupin. envir = pH + cond + TN + TP + NH₃, altitu = nadmořská výška, spatial = lokality na základě GPS koordinát.

(znázorněná hladina signifikance: 0 '****' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1)

Nejvíce variability ve tvaru šupin (u průměrných tvarů pro jednotlivé lokality) vysvětlila konduktivita (14,5 %, $p = 0,004$). Čistý efekt této proměnné ale nevyšel signifikantně. Z dalších environmentálních proměnných nejvíce variability vysvětlily nadmořská výška (12,6 %, $p = 0,006$) a pH (10,8 %, $p = 0,012$). Lokalita vysvětlila

10,4 % variability ($p = 0,013$). Proměnné z tab. 3.4 vysvětlily celkem 44,8 % variability, u žádné z nich však čisté efekty nevyšly signifikantně.

Nejvíce variability ve tvaru šupin vysvětlila překvapivě proměnná spatial (65,2 %, $p = 0,046$). Celkem vysvětlily proměnné z tab. 3.5 86,8 % variability, čistý vliv u žádné proměnné však také nevyšel signifikantně.

Proměnné z tab. 3.6 vysvětlily celkem 85,5 % variability, čistý efekt u žádné proměnné nevyšel signifikantně. Procenta vysvětlené variability rozdělené do tří parametrů lze znázornit pomocí Vennova diagramu (obr. 3.5).

proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
pH	10,8	0,012 *	4,1	0,218
cond	14,5	0,004 **	5,2	0,15
avrt	6,6	0,066 .	1,7	0,635
TN	4,4	0,191	1,2	0,760
TP	7,5	0,047 *	2,1	0,513
NH ₃	2,1	0,516	2,2	0,466
altitu	12,6	0,006 **	4,8	0,173
lok	10,4	0,013 *	2	0,543

Tab. 3.4: Výsledky analýzy adonis na průměrném tvaru šupin. avrt = průměrná teplota, TN = totální dusík, TP = totální fosfor, NH₃ = amoniak, altitu = nadmořská výška, lok = lokality kódovány „a“ české, „b“ akvitánské.

(znázorněná hladina signifikance: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1)

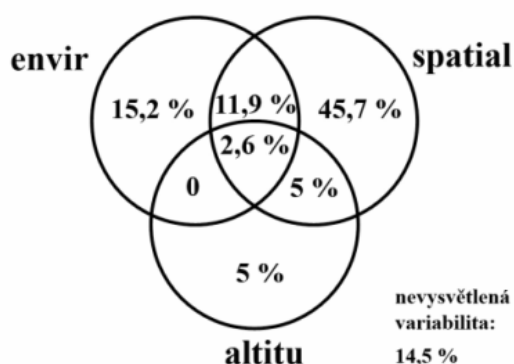
proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
pH	10,8	0,016 *	1,4	0,605
cond	14,5	0,002 **	3	0,286
avrt	6,6	0,054 .	1,2	0,682
TN	4,4	0,144	0,4	0,977
TP	7,5	0,031 *	1,3	0,663
NH ₃	2,1	0,451	2,3	0,407
altitu	12,6	0,003 **	5,1	0,115
spatial	65,2	0,046 *	44	0,245

Tab. 3.5: Výsledky analýzy adonis na průměrném tvaru šupin. avrt = průměrná teplota, TN = totální dusík, TP = totální fosfor, NH₃ = amoniak, altitu = nadmořská výška, spatial = lokality na základě GPS koordinát.

(znázorněná hladina signifikance: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1)

proměnná	celkový vliv		čistý efekt	
	%	p	%	p
envir	29,7	0,008 **	15,2	0,2
altitu	12,6	0,001 ***	5	0,097 .
spatial	65,2	0,025 *	45,7	0,142

Tab. 3.6: Výsledky analýzy adonis na průměrném tvaru šupin. envir = pH + cond + TN + TP + NH₃), altitu = nadmořská výška, spatial = lokality na základě GPS koordinát. (znázorněná hladina signifikance: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 '.' 1)



Obr. 3.5: Vennův diagram ukazující procenta vysvětlené variability rozdělené do tří parametrů: envir (pH + cond + TN + TP + NH₃), altitu = nadmořská výška, spatial = lokality.

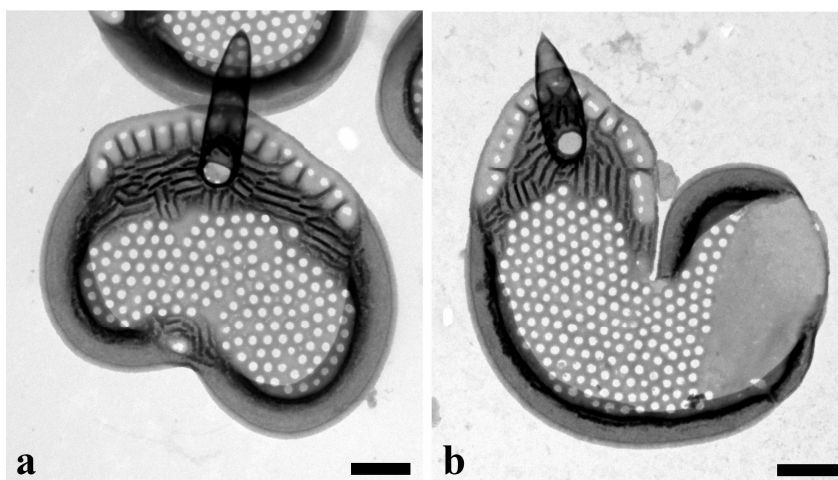
3.1.5 Výsledky Mantelova testu

Mantelovým testem jsem zjišťovala, zda mají bližší lokality tvarově podobnější šupiny. Byla prokázána signifikantní korelace (p hodnota = 0), avšak změna tvaru šupin v závislosti na vzdálenosti lokalit byla pouze nepatrná ($r = 0,08161$).

3.1.6 Míra tvarové variability (morfologická disparita)

Největší variabilitu ve tvaru jsem zaznamenala na lokalitě 9 v Brdech ($6,30E^{-3}$, Příloha 7). Vysoké hodnoty se vyskytovaly i na lokalitách 3 (Marais du Cla; $4,32E^{-3}$), 13 (Brdy, mělká tůň; $4,80E^{-3}$) a 28 (Swamp; $4,72E^{-3}$). Na lokalitě v Brdech s největší morfologickou disparitou jsem zaznamenala výskyt teratogenních šupin. Malformace

jsou vidět na obr. 3.6 - vznik částečné labyrintózní struktury s otvorem v bazální desce na proximální části šupiny (a) či různé částečné zdvojení šupin (b).



Obr. 3.6: Teratogenní šupiny *Synura echinulata* nalezené v Brdech (lok. 9).
Měřítko = 0,5 μm .

3.2 Diskuse geometrické morfometriky

Analyzování šupin přírodních populací *Synura echinulata* pomocí metod geometrické morfometriky umožňuje nahlédnout do vztahů mezi tvarem šupin a proměnnými prostředí. Jelikož křemičité šupiny patří mezi důležité mikrofosilie, výsledky této práce by mohly pomoci hodnotit tvar šupin v paleoekologických rekonstrukcích. Pokud by měly totiž šupiny v určitých podmínkách prostředí určitý charakteristický tvar, daly by se z průměrného tvaru šupin odhadovat podmínky již zaniklých prostředí (př. teplota, pH, obsah živin). Nicméně, ukázalo se, že změny ve tvaru šupin u druhu *S. echinulata* závisí převážně na příslušnosti populace k dané lokalitě. Čím byly lokality vzdálenější, tím si byly šupiny *S. echinulata* méně podobné. To by mohlo poukazovat na geneticky podmíněnou variabilitu v rámci populací *S. echinulata* a stále tedy zůstává otázkou, jaké morfologické trendy jsou v přírodě spjaté s vlivem environmentálních podmínek na biogenezi šupin.

3.2.1 Celková variabilita

Hlavní morfologické trendy u křemičitých chrysomonád mohou být spojovány s polohou šupin na buňce (Neustupa & Němcová 2007, Neustupa et al. 2010). Pichrtová (2009) eliminovala variabilitu na buňce *Mallomonas tonsurata* výběrem šupin s dómem, které se vyskytují pouze v apikální části buňky. Při hodnocení tvaru šupin se v této studii podařilo eliminovat šupiny z jiných částí buňky na základě metodiky popsané v kapitole 2.4. Pro analýzy jsem vybírala pouze tělové šupiny s určitou délkou osténku. Tento postup by mohl mít za důsledek například snížení morfologické disparity v porovnání se šupinami, které byly zkoumané v laboratorních podmínkách.

3.2.2 Vliv proměnných prostředí na tvar šupin - srovnání jednotlivých analýz

Analýzou PLS bylo zjištěno, že v přírodě ovlivňuje tvar šupin *Synura echinulata* nejvíce pH a nadmořská výška. Nejvíce variability ve tvaru při jejím rozkladu mezi studované proměnné vysvětlila lokalita, která do analýzy PLS nebyla zahrnuta.

Metoda PLS umožňuje vizualizovat korelaci změny tvaru a změny proměnných prostředí. S první osou, která vysvětlila 49,9 % kovariance, byly korelovány parametry pH a nadmořské výšky. Z deformačních mřížek, které jsou výsledkem dvoublokové metody PLS, lze vyvodit celkový trend morfologické změny v závislosti na těchto dvou parametrech. Se zvyšujícím se pH se zesiluje přehnutý okraj, rozšiřuje se labyrintózní sekundární struktura a dochází k redukci štítu šupiny. Se zvyšující se nadmořskou výškou dochází k opačnému morfologickému trendu – zužuje se přehnutý okraj, zmenšuje se labyrintózní sekundární struktura a zvětšuje se část štítu. Regresní model závislosti tvaru šupin na pH a nadmořské výšce ukazuje na stejné morfologické změny jako analýza PLS.

Při rozkladu variability mezi studované proměnné jsem zjistila, jaký je celkový vliv daných proměnných. Při analýze všech 870 šupin nejvíce variability ve tvaru vysvětlila překvapivě lokalita (téměř 11 %). Z environmentálních proměnných nejvíce variability vysvětlily pH, průměrná teplota a nadmořská výška (hodnoty vyšly signifikantně, variabilita vysvětluje ale pouze necelá procenta). Míra vysvětlené tvarové variability je v tomto souboru dat nižší, protože změny tvaru u jednotlivých šupin jsou menší než změny tvaru u průměrů skupin.

Tyto výsledky se dají vysvětlit buď tím, že jsem neměřila nějaký významný environmentální faktor, nebo tím, že populace na jednotlivých lokalitách jsou geneticky variabilní (zřejmě se u druhu vyskytuje určitá vnitropopulační variabilita, která není bezvýznamná). Jelikož podle mnohých předešlých pokusů představují pH, konduktivita, teplota a živiny nejvýznamnější faktory prostředí, je více pravděpodobná genetická vnitropopulační variabilita. V jednotlivých lokalitách zřejmě existují tvarově odlišené populace *Synura echinulata*. Čím jsou od sebe lokality vzdálenější, tím méně podobné jsou si šupiny *S. echinulata* svým tvarem (viz výsledky Mantelova testu).

Při analýze průměrů šupin z jednotlivých lokalit vysvětlila lokalita 65,2 %, hladina signifikance ale nebyla tak vysoká ($p = 0,0417$). Z environmentálních proměnných nejvíce variability vysvětlily pH (10,8 %, $p = 0,0095$), konduktivita (14,5 %, $p = 0,002$) a nadmořská výška (12,6 %, $p = 0,0031$). Oproti analýze všech 870 šupin však čisté vlivy variability nebyly signifikantní, přesto se ale domnívám, že použití průměrného tvaru šupin v analýze lépe vystihuje realitu. Každému průměrnému tvaru odpovídá jedinečná série proměnných prostředí, zatímco při použití tvaru jednotlivých šupin sdílejí šupiny ze stejné lokality (celkem 30) stejné proměnné prostředí.

Původně jsme očekávali výrazný vliv teploty na tvar šupin *Synura echinulata*. Teplota prokazatelně ovlivnila morfologii křemičitých struktur u druhu *Mallomonas crassisquama* (Siver & Skogstad 1988). Byl také zjištěn vliv teploty na šupiny *Mallomonas tonsurata*, kdy se vzrůstající teplotou docházelo ke zkracování šupin, zatímco šířka se nezměnila, zároveň docházelo ke zvětšení plochy dómu (Gutowski 1996). Při studování tvarové variability *Synura echinulata* byl tento druh kultivován na zkříženém gradientu osvětlení a teploty (Němcová et al. 2010). Pomocí metod geometrické morfometriky byly od sebe čtyři studované skupiny signifikantně odlišeny. Skupina kultivovaná při dlouhodobém působení chladu a nízké světelné intenzity byla tvarově nejodlišnější, došlo k redukci labyrintózní struktury, která byla vykompenzována rozšířením přehnutého okraje.

Pomocí metod geometrické morfometriky studovali v laboratorních podmínkách vliv teploty na změnu tvaru šupin *Mallomonas kalinae* a *Synura curtispina* také Řezáčová-Škaloudová et al. (2010). V závislosti na teplotě byly nalezeny určité tvarové trendy, značná tvarová variabilita však byla spojena s pozicí šupin na buňce.

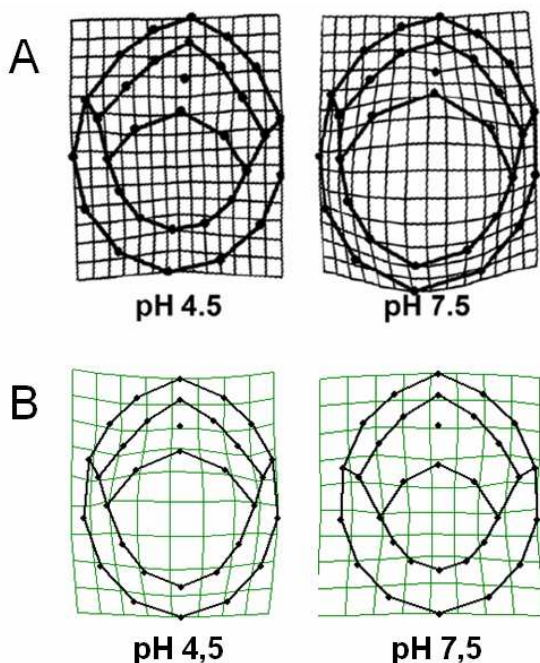
Pichrtová & Němcová (2011) zjistily obecný trend změny tvaru experimentálních populací *Synura petersenii* a *Mallomonas tonsurata* v závislosti na teplotě. Se zvyšující se teplotou došlo ke změně tvaru z okrouhlého na protáhlý.

Zajímavým zjištěním tedy je neprokázaný vliv průměrné měsíční teploty na morfologii šupin *Synura echinulata* v přírodních podmínkách. Otázkou ale je, do jaké míry se liší vliv průměrné měsíční teploty a teploty v experimentálních podmínkách.

3.2.3 Tvarová variabilita šupin závislá na pH v přírodních a v laboratorních podmínkách

Němcová & Pichrtová (2012) ve své studii sledovaly tvarovou variabilitu šupin *S. echinulata* na gradientu pH (3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7,5), v krajních hodnotách pH (3,5; 7,5) byl zaznamenán redukovaný růst. Byl zjištěn signifikantní vliv pH na tvar šupin (Wilksovo $\lambda = 0,013$, permutační $p = 0,001$; Goodalovo $F = 30,0$, permutační $p = 0,001$), regresní model vysvětlil 8,0 % variability. V této studii přírodních populací vysvětlil regresní model závislosti tvaru šupin na pH pouze 3,4 % variability (Wilksovo $\lambda = 0,45$, permutační $p = 0,001$; Goodalovo $F = 30,33$, permutační $p = 0,001$). Krajní

hodnoty pH zde byly 4,6 a 8,7. V laboratorní studii měl druh *S. echinulata* v nízkém pH (3,5) oválné šupiny s redukováným štítem a rozšířenou labyrintózní strukturou. Šupiny kultivované v pH 4,5; 5,5 a 6,5 měly relativně stejný tvar, se vzrůstajícím pH byly zaoblenější. V nejvyšším pH 7,5 se šupiny odlišovaly od ostatních skupin svou větší šířkou, měly rozvinutý štít a redukovanou sekundární labyrintózní strukturu. Z deformačních mřížek regresního modelu závislosti tvaru šupin na pH v přírodních podmínkách lze vyvodit celkový trend morfologické změny – se zvyšujícím se pH se zesiluje přehnutý okraj, rozšiřuje se labyrintózní sekundární struktura a dochází k redukci štítu šupiny. Srovnání deformačních mřížek z regresního modelu závislosti tvaru šupin na pH v laboratorních a přírodních podmínkách je vidět na obr. 3.6. V pH 4,5 je tvar šupin podobný, v přírodních podmínkách je však štít více rozvinutý. Morfologické trendy změny tvaru šupin v závislosti na pH se se vzrůstajícím pH v laboratorních a přírodních podmínkách liší – v laboratorních podmínkách (na rozdíl od přírodních) dochází k redukci přehnutého okraje, redukci labyrintózní sekundární struktury a rozvinutí štítu. Mírně se lišící morfologické trendy v laboratorních podmínkách by mohly být zapříčiněny např. odstíněním vlivu jiných faktorů, které na šupiny v přírodních podmínkách působí.



Obr. 3.6: Srovnání deformačních mřížek z laboratorních (A) a přírodních (B) podmínek (A - převzato z Němcová & Pichrtová 2012). Pro větší názornost je míra deformace zvýrazněna třikrát oproti skutečnosti.

3.2.4 Morfologické trendy spojené s pH

Různé hodnoty pH ovlivňují morfologii organismů. Např. Neustupa & Hodač (2005) zjistili, že v zásaditějším médiu mají laloky okrajových buněk řasy *Pediastrum duplex* užší báze a svírají ostřejší úhel. U řasy *Mougeotia* byla v experimentálních podmínkách také prokázána rozdílná morfologie při jejím pěstování v odlišném pH (Arancibia-Avila et al. 2000).

Hodnota pH je také jedním ze základních faktorů, které ovlivňují distribuci chrysomonád (Siver 1991, Siver 1995). Wee et al. (1991) studovali v laboratorních podmínkách vliv pH na růstovou rychlost u druhu *Synura petersenii*. Odlišné kmeny kultivovali v pH 5,5 – 8,5, všechny kmeny vykazovaly pozitivní růst, nejvyšší růstová rychlost byla u každého kmenu dosažena v jiném pH. Navíc se u zkoumaných šupin objevovaly zjevné morfologické rozdíly, které byly prokazatelné při kultivování v různých experimentálních podmínkách (Wee et al. 1991).

Vlivem pH na velikost křemičitých šupin dvou kmenů *Synura petersenii* se zabývali Gavrilova et al. (2005) na základě metod tradiční morfometriky. Při pěstování kmenů v různém pH se měnila morfologie šupin, která byla kmenově specifická. U kmenu 960/3c došlo při kultivování v nízkém pH ke zmenšování šupin, zatímco u kmenu 960/1c se zmenšila velikost šupin v zásaditém médiu. Nelze tedy zobecnit, jakými změnami šupina prochází v závislosti na pH, jelikož změny závisí spíše na příslušnosti ke kmenu. Kynčlová et al. (2010) zkoumali kryptické linie *Synura petersenii* a zjistili, že se jedná o komplex druhů, který je odlišitelný molekulárně a současně i na základě unikátních kombinací morfologických znaků šupin. Lze tedy předpokládat, že řada ekofyziologických studií ve skutečnosti patřila geneticky odlišným populacím a je třeba brát na tyto výsledky při různých interpretacích ohled (Pichrtová 2009). Na rozdíl od druhového komplexu *S. petersenii* je však *S. echinulata* monofyletická, všechny dosud sekvenované populace přísluší k témuž druhu.

Pichrtová (2009) se ve své diplomové práci mimo jiné zabývala pěstováním dvou různých druhů chrysomonád (*S. petersenii* a *M. tonsurata*) v různém pH. Jeho vliv na tvar šupin při kultivaci *S. petersenii* ve 4 různých médiích (pH 5,5; 6,5; 7,5 a 8,5) nebyl tak výrazný (nebyly pozorovány žádné výrazné tvarové trendy). V nejvyšších hodnotách pH došlo ke zkrácení distální části šupiny a k posunutí póru zleva doprostřed

kýlu. U *M. tonsurata* (pěstovaný navíc v pH 4,5) se projevila míra deformace nejvíce v pH 8,5 – kápě se v tomto pH již v podstatě nevytvářela a celé V-žebro bylo velice tenké. S rostoucím pH se šupiny rozšiřovaly, ramena V-žebra svíraly tudíž větší úhel.

U křemičitých chrysonád se v laboratorních podmínkách zdá být jako jeden z klíčových faktorů ovlivňujících tvar šupin pH, avšak nenalezla jsem žádný výrazný obecný morfologický trend, který by měly křemičité chrysonády pěstované v experimentálních podmínkách v závislosti na pH s přírodními populacemi chrysonád společný.

3.2.5 Míra tvarové variability (morfologická disparita)

Větší morfologická disparita bývá pozorována u šupin chrysonád ve stresových podmínkách (Pichrtová 2009, Němcová et al. 2010). Ve své práci zaznamenala Pichrtová (2009) při kultivaci chrysonád v laboratorních podmínkách vzrůst tvarové variability ve vysoké teplotě u šupin *M. tonsurata*, *S. sphagnicola* a *S. petersenii*. U šupin *S. echinulata* se projevil vzrůst disparity při nízkých i vysokých teplotách. V suboptimálních podmínkách pH byl také zaznamenán nárůst tvarové variability. Ve studii Němcové et al. 2010 se projevil nárůst morfologické disparity šupin *S. echinulata*, které byly pěstovány při stresových podmínkách při nízké intenzitě světla a chladu. Větší morfologická plasticita ve stresových podmínkách je pravděpodobně neadaptivním důsledkem narušení důležitých buněčných funkcí, které stojí za komplexním procesem biogeneze šupin (Pichrtová 2009).

V této studii se vysoké hodnoty morfologické disparity vyskytovaly na lokalitách 3 (Marais du Cla), 13 (Brdy, mělká tůň) a 28 (Swamp). Zvýšenou morfologickou plasticitu zde mohou způsobovat např. nízké pH (Swamp), vysychavost lokality (Marais du Cla) či jiné stresové faktory vyskytující se v přírodních podmínkách.

Největší variabilitu ve tvaru jsem zaznamenala na lokalitě 9 v Brdech, kde jsem našla i různě deformované šupiny. Gavrilova et al. (2005) zaznamenali teratogenní šupiny při kultivování *S. petersenii* v médiích s extrémními hodnotami pH. Abnormality mohou být výsledkem spojení několika templátů během procesu formování šupiny. Morfologické změny na šupinách odrážely reakci na stres, který byl způsobený extrémní kyselostí a zásaditostí média. Podobné teratogenní šupiny *S. petersenii* byly nalezeny na antropogenně znečištěných lokalitách (Gutowski 1989).

Na lokalitě v Brdech jsem nezaznamenala z naměřených environmentálních faktorů žádné stresové podmínky, které by nasvědčovaly vysoké morfologické disparitě a vytváření abnormálních šupin. Nicméně, přírodní podmínky jsou multifaktoriální prostředí, proto jsem stresové faktory, které na šupiny na této lokalitě působí, nemusela při měření postihnout. Brdy slouží jako vojenský prostor, kde využívají vojáci při svých cvičeních těžkou techniku. Navíc, lokalita 9 se vyskytuje v těsné blízkosti cesty, je tedy pravděpodobné, že přítomnost teratogenních šupin je ovlivněna antropogenním znečištěním.

Ve své studii Němcová & Pichrtová (2012) diskutují, že zvyšující se tvarová plasticita *Synurales* v podmínkách, které se přibližují pH 9, není spojena se stresem, ale se snižující se dostupností rozpuštěného reaktivního křemíku. Křemík je pro chrysomonády využitelný ve formě slabé kyseliny monokřemičité (H_4SiO_4) v podmínkách, kdy pH nepřekračuje hodnotu 9 (Reynolds 2006). Zvýšená tvarová variabilita spojená se stresovými podmínkami pH prostředí nebo redukovanou dostupností slabé kyseliny monokřemičité může snížit schopnost buněk vytvářet dokonale funkční křemičitou schránku. Buňky s nedokonalou křemičitou schránkou tak mohou být náchylnější k různým infekcím a parazitům a mohou být snadnější kořistí pro predátory (Němcová & Pichrtová 2012).

Naměřené hodnoty pH se na lokalitách v této studii pohybovaly v rozmezí 4,6-7,0. Pouze na jedné lokalitě (Étang de Hardy) bylo naměřené pH 8,7. Za těchto podmínek, kdy se pH přibližovalo hodnotě 9 pouze na jedné lokalitě, nebyla předpokládána limitace rozpuštěným reaktivním křemíkem. Proto jsem tento environmentální faktor nezahrnula mezi měřené proměnné prostředí. Navíc, morfologická disparita na lokalitě Étang de Hardy ($3,90E^{-3}$) nebyla tak vysoká, jako na některých jiných lokalitách s výrazně nižším pH. Ani vizuálně nebyla znát na šupinách *S. echinulata* z této lokality slabá silifikace, která by mohla být zapříčiněna sníženou dostupností rozpustné formy kyseliny monokřemičité ve vysokém pH (Reynolds 2006). Rozdílné výsledky pozorovala ve své práci Pichrtová (2009), kdy v laboratorních podmínkách při kultivaci v pH 8,5 docházelo u šupin *Mallomonas tonsurata* k slabé silifikaci.

3.3 Výsledky a diskuse floristické části

Vzorky byly odebrány ze 37 lokalit (33 z ČR, 4 Akvitánie, Francie), které byly primárně určené k výzkumu křemičitých šupin *Synura echinulata* (mapa lokalit vyobrazena v Příloze 1, názvy lokalit jsou shrnuty v Příloze 5). Celkem jsem určila 84 druhů, které jsou zaznamenány v tabulce v Příloze 4.

3.3.1 Česká republika

Celkem jsem determinovala 74 druhů křemičitých chrysomonád, z toho 54 *Mallomonas*, 7 *Synura*, 4 *Spiniferomonas*, 6 *Paraphysomonas*, 2 *Chrysosphaerella*, 1 *Chrysodidymus*.

Nejméně druhů jsem našla v louži v Krušných horách, vyskytovaly se zde pouze 4 druhy (*M. calceolus*, *S. echinulata*, *S. petersenii*, *Paraphysomonas vestita*). Obdobně také na Swampu jsem určila jen 4 druhy (*M. multisetigera*, *M. ouradion*, *M. papillosa*, *S. echinulata*). Malé množství chrysomonád jsem zaznamenala také z lokalit Mechové jezírko, Černé jezero, lesní rybník na potoce Suchá Bělá, Pilská nádrž, tůň v Borkovických blatech 3, Vizír a Brdy (zarostlá tůň u cesty severně od Padrt'ských rybníků). Počet druhů na těchto místech nepřesáhl deset. Malý počet zástupců byl s největší pravděpodobností způsobený také tím, že na těchto místech byl odebírána pouze plankton. Při studiu šupin ze sedimentu by byl konečný výsledek počtu druhů na lokalitách jistě vyšší. Mě ale primárně zajímaly šupiny živých populací druhu *Synura echinulata*, proto jsem na těchto místech sediment neodebírala.

Mechové jezírko v Krkonoších bylo již v minulosti zkoumáno v rámci výskytu křemičitých chrysomonád (Němcová et al. 2001). Byl zde nalezen pouze 1 druh (*S. echinulata*), naměřené pH bylo 5,4 a konduktivita měla hodnotu 35,5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Při mém odběru jsem na lokalitě determinovala 6 druhů (*M. calceolus*, *M. flora*, *M. papillosa*, *M. striata*, *S. echinulata*, *S. petersenii*). Hodnoty pH a konduktivity naměřené na lokalitě byly podobné jako v předešlé studii (pH 5,3; konduktivita 30 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

V Černém jezeru byly ve studii Němcové et al. (2003) nalezeny pouze 4 chrysomonády (*M. caudata*, *S. echinulata*, *S. uvella*, *Ch. brevispina*), při odebrání vzorku pro studium tvarové variability šupin *S. echinulata* jsem kromě tohoto zde již dříve nalezeného druhu našla pouze jiné zástupce (*M. crassisquama*, *M. matvienkoeae*,

M. papillosa, *S. echinulata*, *S. petersenii*, *S. sphagnicola*). Naměřené hodnoty v minulé studii (pH 4,6; kond. 27 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) byly téměř totožné s hodnotami, které jsem zaznamenala v rámci této studie (pH 4,6; kond. 22 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). V tomto glaciálním oligotrofním jezeře s kyselým pH je výskyt *M. crassisquama* trochu neobvyklý, jelikož při pH menším než 5 se téměř nevyskytuje (Siver & Skogstad 1988).

V minulosti byl také v rámci zkoumání křemičitých chrysomonád v Národním parku České Švýcarsko odebrán vzorek z lesního rybníku na potoce Suchá Bělá (Pichrtová & Veselá 2009). Pouze na této lokalitě bylo v minulosti nalezeno více zástupců (10) než při současné studii (7). Jelikož jsem odebírala pouze plankton na rozdíl od Pichrtové & Veselé (2009), které odebraly plankton i horní vrstvu sedimentu, mohl způsob odběru zapříčinit menší počet šupin ve vzorku. Naměřila jsem podobné hodnoty pH i konduktivity (současná studie pH 6,2; kond. 66 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, předešlá studie pH 5,8; kond. 64 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Janatková & Němcová (2009) při průzkumu chrysomonád na Borkovických blatech odebraly vzorky ze 3 míst, kde determinovaly 14 zástupců včetně vzácných druhů *M. conspersa*, *S. mollispina* a *M. retifera*. Tyto druhy jsem na Borkovických blatech také našla, navíc jsem determinovala *M. labyrinthina*, který byl dosud známý pouze ze severoamerického kontinentu (Nicholls 1984a, Wujek & Wee 2006, Wujek & Wright 2006). Tento nález je první pro ČR. Dále jsem zde určila druh *Paraphysomonas poteriophora*, který byl v ČR nalezen také poprvé.

Na Liberecku jsem odebrala vzorky celkem z 8 vodních ploch, kde jsem určila celkem 55 druhů křemičitých chrysomonád, v Kunratickém rybníku (lokalita č. 23) jsem našla celkem 41 druhů. Na Borkovických blatech jsem určila 37 druhů, Na Plachtě 33 druhů. Celkem bylo v těchto 3 oblastech na území ČR určeno 72 druhů křemičitých chrysomonád, proto se tato místa mohou přiřadit k tzv. „hotspots“, tzn. k lokalitám s mimořádně vysokým poměrem lokální ku globální diverzitě (Foissner 2006). Samozřejmě neexistují data, která by postihla celosvětovou diverzitu volně žijících sladkovodních protist, celkové druhové bohatství těchto organismů je neznámé, proto je velice těžké odhadnout poměr lokální ku globální diverzitě (Foissner 2006). V rámci chrysomonád lze ale říci, že se v České republice vyskytují místa, která reprezentují vysoké druhové bohatství těchto organismů.

Z množství vzorků odebraných v Brdech se vyskytovala *S. echinulata* v 6 z nich, proto byl výzkum diverzity chrysomonád zaměřen na těchto 6 lokalit (Příloha 1, lokality 4-9). Bylo zde nalezeno celkem 32 taxonů, jejich počet se pohyboval od 7 do 20. Z řádu

Synurales bylo nalezeno 27 druhů: 22 *Mallomonas*, 5 *Synura* a z řádu Paraphysomonadales 5 druhů: 2 *Paraphysomonas*, 2 *Spiniferomonas* a jeden druh *Chrysosphaerella*. Nejméně druhů (7) bylo určeno z Pílské přehrady (*M. calceolus*, *M. crassisquama*, *M. multisetigera*, *M. papillosa*, *S. echinulata*, *S. sphagnicola*, *Paraphysomonas vestita*). Nejvíce zde byly zastoupeny druhy *S. echinulata* a *S. sphagnicola*, které preferují kyselé pH. Bylo zde nalezeno také několik šupin *M. crassisquama*, který je považován za jednoho z nejrozšířenějších zástupců chrysomonád a má svůj nejčastější výskyt v pH 6,6-6,9 (Siver 1989). Hodnota pH naměřená na této lokalitě však byla výrazně nižší (4,9). To svědčí o široké ekologické valenci tohoto druhu ve vztahu k pH.

V Pílské přehradě převažují křemičité chrysomonády, které se řadí podle dosud publikovaných autekologických údajů mezi acidofilní až acidobiontní druhy (*S. sphagnicola*, *M. calceolus*, *M. multisetigera*).

Nejvíce druhů (20) se vyskytovalo v Horním padrtřském rybníku, který byl v minulosti již studován. Kalina et al. (2000) zde objevili celkem 5 druhů, kromě *S. uvella* jsem všech těchto 5 taxonů také znovu nalezla. Determinovala jsem však čtyřikrát větší množství šupin (20). Na lokalitě č. 4 jsem určila několik šupin *M. kalinae*, který byl popsán z malé rašelinné tůně Ostrov v národním parku České Švýcarsko (Řezáčová 2006). Oba dva odběry byly provedeny v dubnu, v časovém rozmezí jedenácti let. Velice hojné zastoupení zde měly druhy *S. petersenii* a *S. echinulata*, která v předešlé studii na lokalitě nebyla vůbec nalezena. Příčinou jejího výskytu by mohla být snížená hodnota pH. Kalina et al. (2000) zaznamenali pH 7, zatímco pH naměřené v současnosti mělo hodnotu 6,2. Údaj o konduktivitě z odběru Kaliny et al. (2000) bohužel není k dispozici.

Nejčastěji se ve vzorkách na území České republiky vyskytovaly *S. echinulata* (32 vzorků), *Synura petersenii* (30 vzorků), *M. papillosa* (27 vzorků), *Chrysosphaerella brevispina* (22 vzorků), *Mallomonas heterospina* (21 vzorků) a *Paraphysomonas vestita* (21 vzorků). Naopak k nejméně často nacházeným druhům, které jsem ve vzorkách určila pouze jednou, patří *Mallomonas clavus*, *Synura mollispina*, *Spiniferomonas cornuta*, *Paraphysomonas butcheri*, *Paraphysomonas gladiata*, *Paraphysomonas poteriophora* a *Paraphysomonas takahashii*.

Mezi druhy nalezené v České republice poprvé patří *Mallomonas cf. jejuensis*, *Mallomonas labyrinthina*, *Mallomonas madagascariensis*, *Mallomonas palaestrica*, *Chrysosphaerella coronacircumspina* a *Paraphysomonas poteriophora*. *Mallomonas cf.*

jejuensis, *Mallomonas labyrinthina* a *Mallomonas madagascariensis* tímto nálezem ztratily status asijského, severoamerického a afrického endemita.

V Pekelských rybnících v jihovýchodní části Liberce jsem objevila nový druh *Mallomonas decora* sp. nov.

Chemicko-fyzikální parametry měřené na lokalitách, nadmořská výška a GPS souřadnice lokalit jsou shrnuty v tabulce v Příloze 5. Nejnižší hodnotu pH jsem naměřila na Swampu (lokalita č. 23; 4,6), zatímco nejvyšší hodnota pH byla zaznamenaná Na Plachtě v tůni č. 9 (lokalita č. 33; 6,8). Nejnižší hodnotu konduktivity ($22 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) jsem naměřila v Černém jezeru (lokalita č. 10), nejvyšší hodnotu $420 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ v Kunratickém rybníku (lokalita č. 18).

3.3.2 Francie, Akvitánie

V Akvitánii jsem odebrala vzorky ze 4 lokalit, v mokřadu východně od Lac du Bourg jsem provedla odběr dvakrát, v únoru a v květnu 2010. Celkem jsem determinovala 44 druhů křemičitých chrysomonád (35 *Mallomonas*, 6 *Synura*, 1 *Paraphysomonas*, 1 *Chrysophaerella*, 1 *Chrysodidymus*). Počet zástupců v tůních se pohyboval v rozmezí 15-33 druhů. Druhy *M. multisetigera*, *M. papillosa*, *S. echinulata*, *S. mamillosa* a *S. uvella* jsem našla ve všech pěti odebraných vzorcích.

Naměřené chemicko-fyzikální parametry prostředí jsou zaznamenány v tabulce v Příloze 5.

3.3.3 Charakteristika vybraných zástupců křemičitých chrysomonád

Chrysodidymus synuroideus Prowse

Příloha 2, obr. 45

Kosmopolitní druh, který se skládá z dvoubuněčných kolonií, vyskytuje se pouze roztroušeně (Kristiansen & Preisig 2007). Výskytem tvarové různorodosti papil na základní desce se zabývají ve své studii Wee et al. (1993). Šupiny mohou obsahovat na svém přehnutém okraji velké díry (Siver & Lott 2000). Jedná se o acidobiontní druh, na Floridě byl nalezen na lokalitách s pH menším než 5,4 (Siver & Lott 2006).

Výskyt druhu: lokality č. 27, 30, 35

Chrysosphaerella coronacircumspina Wujek & Kristiansen Příloha 2, obr. 47-48

Šupiny tohoto druhu jsem determinovala na několika lokalitách na Liberecku. Jedná se o široce rozšířený druh, jeho výskyt byl zaznamenán na mnoha místech na Zemi (př. Nicholls 1981, Siver 1988a, Kristiansen et al. 1990, Vyverman & Cronberg 1993, Siver et al. 2005, Řezáčová & Škaloud 2005, Wujek & Bicudo 2004, Sueldo et al. 2010). V ČR byl však nalezen poprvé. Siver (1988b) zaznamenal výskyt tohoto druhu v širokém rozmezí pH (5,6 – 9,1).

Výskyt druhu: lokality č. 14, 15, 19

Mallomonas alphaphora Preisig Příloha 2, obr. 3

Několik šupin jsem determinovala ze tří vzorků z Akvitánie. Naměřené pH na lokalitách se pohybovalo v rozmezí 6,9 – 8,7, konduktivita 189 – 347 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

První nález tohoto druhu byl zaznamenán ze západní Austrálie (Preisig 1989), dále byl nalezen v jihovýchodní Austrálii (Furlotte et al. 2000). Díky nálezu z Akvitánie (Němcová et al. 2012), kde byl zaznamenán jeho častý výskyt, ztratil status australského endemita.

Výskyt druhu: lokality č. 34, 35, 38

Mallomonas conspersa Dürschmidt Příloha 2, obr. 6

M. conspersa byl popsán z lokality poblíž jezera Whapo na Novém Zélandu (Dürschmidt 1986). Tento druh byl v ČR nalezen na Borkovických blatech (Janatková & Němcová 2009), ve dvou tůních na této lokalitě jsem *M. conspersa* znovu determinovala. Dále jsem našla šupiny v Pekelských rybnících na Liberecku. Janatková & Němcová (2009) diskutují rozdíly mezi tímto druhem a *M. retifera*, jehož šupiny jsou velice podobné. Podobnost mezi druhy zmiňuje již Siver (1991).

Výskyt druhu: lokality č. 1, 2, 13, 14, 15, 16

Mallomonas crassisquama (Asmund) Fott

Patří mezi nejrozšířenější a nejčastěji nalézané druhy. Výskyt tohoto druhu v závislosti na pH se pohybuje v rozmezí 5,5 – 9,3, je proto charakterizován jako pH

indiferentní, při pH menším než 5 se téměř nevyskytuje (Siver & Skogstad 1988). Optimální pH pro výskyt tohoto druhu je 6,6 a 6,9 (Siver 1989). V experimentálních podmínkách měl *M. crassisquama* optimální růst v pH 4 – 6 (Lee et al. 2007). Ekologii *M. crassisquama* shrnuje ve své studii Siver 1991. Druh se na sledovaných lokalitách vyskytoval v rozmezí pH 4,6 – 6,9. Nejnižší pH jsem naměřila na lokalitě č. 10, nejvyšší na lokalitě č. 35. Častý výskyt tohoto druhu jsem zaznamenala v rybnících na Liberecku a na lokalitách v Brdech. Spolu s tělovými šupinami jsem našla i posteriorní šupiny s osténkem, typické pro *M. crassisquama*. Determinace tohoto druhu je však často obtížná, šupiny jsou podobné silně silifikovanému *M. acaroides*. Jedná se pravděpodobně o komplex druhů.

Výskyt druhu: lokality č. 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 35

Mallomonas eoa Takahashi in Asmund & Takahashi Příloha 2, obr. 9

Nález jsem zaznamenala ve třech vzorcích z Brd a v jednom vzorku z Akvitánie. Naměřené rozmezí pH bylo 5,6 – 6,3; hodnoty konduktivity se pohybovaly mezi 93 – 149 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Patří mezi široce rozšířené druhy, vyskytuje se v Evropě, Severní, Střední a Jižní Americe, Asii a Austrálii (Kristiansen a Preisig 2007).

Výskyt druhu: lokality č. 6, 7, 8, 36

Mallomonas guttata Wujek Příloha 2, obr. 11

Je široce rozšířený druh, nejčastěji nalézán v tropických oblastech (Cronberg 1989, Kristiansen 2002, Menezes et al. 2005, Vigna et al. 2005, Siver & Lott 2006). V Akvitánii se šupiny vyskytovaly hojně na lokalitě 35. Nálezy na dalších lokalitách z této oblasti jsou zaznamenány ve studii Němcová et al. (2012).

Výskyt druhu: lokality č. 35, 38

Mallomonas cf. jejuensis Kim & Kim Příloha 2, obr. 64-72

Tento druh byl popsán v roce 2010 ze 2 bezejmenných rybníků na Jeju Island v Jižní Korei (Kim & Kim, 2010). Do této doby byl značen jako endemický druh. V ČR jsem velice podobné šupiny *M. jejuensis* našla v hojném množství na Liberecku na

lokality 15 a 16. Několik šupin bylo určeno i z nejnižnějšího Kunratického rybníku (lokality č. 20).

Mallomonas jejuensis patří do serie *Mangoferae* (sekce *Torquatae*). Na štítu tělních šupin z lokalit na ostrově Jeju je patrná ornamentace tvořená malými papilami. Okraj štítu je lemován několika kruhovými až elongátními depresiemi (1-6). V rybnících na Liberecku je patrný rozdíl v počtu děr na štítu tělních šupin. Deprese jsou tvarově, velikostně i početně velice různorodé. Variabilitu struktur na štítu lze přisuzovat rozdílným ekologickým parametrům na dvou od sebe velice vzdálených odběrových místech. Naměřené pH v ČR bylo nižší (6,0 – 6,2) než na lokalitách ostrova Jeju (6,6 – 7,9), na rozdíl od konduktivity, která byla v rybnících na Liberecku výrazně vyšší (203 – 382 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) než na lokalitách na ostrově (37,4 – 90,6 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Límčové šupiny (collar scales) jsou totožné.

Ve studii Neustupy a Řezáčové (2007) byla nalezena šupina, která byla určena jako *M. mangofera* var. *sulcata* (obr. 6 ve zmiňované studii). Tato šupina je však shodná se šupinami, které jsem determinovala jako *Mallomonas* cf. *jejuensis* (Příloha 2, obr. 72). *M. mangofera* var. *sulcata* je charakteristický přítomností rýžek, které se táhnou podél okraje štítu šupiny (Kristiansen 2002). Je tedy možné, že se jedná o shodné druhy, které bych určila na základě morfologie ostatních šupin nalezených v ČR jako *M.* cf. *jejuensis*. Tento druh byl v ČR nalezen poprvé.

Výskyt druhu: lokality č. 15, 16, 20

Mallomonas kalinae Řezáčová

Příloha 2, obr. 15

Nalezla jsem několik šupin v tůni Borkovických blat, v zarostlé tůni u Padrťských rybníků v Brdech a v Kunratickém rybníku na Liberecku. Naměřené pH bylo v rozmezí 6,2 – 6,6; konduktivita měla široké rozpětí mezi 41 – 420 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Tento druh byl nově popsán z malé rašelinné tůně Ostrov v Národním parku České Švýcarsko (Řezáčová 2006). V minulosti byl nalezen také např. v Huťském rybníku v Novohradských horách (Janatková & Němcová 2009), v této studii byly provedeny odběry i z tůní Borkovických blat, *M. kalinae* zde však nebyl zaznamenán.

Výskyt druhu: lokality č. 2, 4, 18

Mallomonas labyrinthina Nicholls

Příloha 2, obr. 16

Poprvé byl popsán z Ontario, Kanada (Nicholls 1984a), dosud byl známý pouze ze severoamerického kontinentu (Wujek & Wee 2006, Wujek & Wright 2006).

Několik šupin jsem objevila na dvou lokalitách na Borkovických blatech, tudíž tento druh ztrácí status severoamerického endemita. Naměřené pH zde bylo 6,5 a 6,6; konduktivita 162 a 143 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Výskyt druhu: lokality č. 1, 2

Mallomonas lelymene K. Harris & D. E. Bradley

Příloha 2, obr. 17

Široce rozšířený druh s roztroušeným výskytem, je zaznamenaný z Evropy, Severní a Jižní Ameriky, východní Asie (Kristiansen & Preisig 2007). Calado & Craveiro (1995) zaznamenali výskyt druhu v eutrofních vodách bohatých na organické látky. Řezáčová (2005) uvádí ve své diplomové práci výskyt tohoto druhu nově pro ČR z tůně v okolí horního toku Lužnice (pH 6,7; vodivost 207 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Naměřené pH na lokalitách s výskytem tohoto druhu se pohybovalo v rozmezí 5,6 – 6,6.

Výskyt druhu: lokality č. 1, 2, 25, 27, 30, 31, 32, 36

Mallomonas madagascariensis Hansen & Kristiansen

Příloha 2, obr. 73-78

Poprvé byl objeven na ostrově Madagaskar (Hansen & Kristiansen, 1995). Nálezem šupin, které byly v ČR určeny poprvé, ztrácí status afrického endemita.

Tento druh jsem našla v pěti zatopených depresích na lokalitě Na Plachtě v Hradci Králové. Nejpočetnější zastoupení šupin bylo v tůni č. 27. Ve zbylých jsem determinovala pouze jednu nebo dvě šupiny. Naměřené pH v těchto tůních bylo nižší (5,6 – 6,3) než na lokalitách na Madagaskaru (6,5 – 8,3). Také konduktivita byla nižší (32 – 68 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Na madagaskarských lokalitách se pohybovala v rozmezí 60 – 280 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Výskyt druhu: lokality č. 25, 27, 28, 30, 31

Mallomonas mangofera K. Harris & D. E. Bradley

Příloha 2, obr. 19-20

Jedná se o druh s kosmopolitním rozšířením (Kristiansen & Preisig 2007). Ve studii Kima & Kima (2011) se ve vzorcích vyskytoval v jarních, letních i podzemních

odběrech. Šupiny jsem našla ve dvou vzorkách z Liberecka, kde bylo naměřeno v obou případech pH 6,2 a konduktivita 400 a 420 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Taxonomií skupiny *Mallomonas mangofera* z lokality v Chile se ve své studii zabývá Dürschmidt (1983).

Výskyt druhu: lokality č. 18, 19

Mallomonas mangofera* var. *reticulata (Cronberg) Kristiansen Příloha 2, obr. 22

Tento druh jsem našla ve dvou akvitánských tůních s naměřeným pH 5,6 a 6,9 a konduktivitou 126, 224 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Na štítu jsou papily spojeny krátkými žebry a tvoří retikulátní strukturu. Tím se odlišuje var. *reticulata* od nominální variety *Mallomonas mangofera* var. *mangofera* (Cronberg 1989). Hlavní rozšíření se nachází v tropech a subtropích (Cronberg 1989, Siver & Vigna 1997, Hansen 1996, Neustupa & Řezáčová 2007, Saha & Wujek 1990, Vigna & Escobar 1999, Couté & Franceschini 1998). První nález z temperátní oblasti z Akvitánie zaznamenali Němcová et al. (2012).

Výskyt druhu: lokality č. 35, 36

Mallomonas palaestrica Hansen, Johansen & Skovgaard Příloha 2, obr. 27-28

Jedná se o evropského endemita, nálezy jsou uvedené ze severozápadní Evropy (Kristiansen 2002). Druh poprvé nalezený v mělkém rybníku severně od Copenhagenu (Hansen et al. 1993) jsem determinovala na několika lokalitách na Liberecku. Tento zaznamenaný nález je první pro Českou republiku. Naměřené pH se zde pohybovalo v rozmezí 6,01– 6,3; konduktivita 203 – 400 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Výskyt druhu: lokality č. 13, 14, 15, 16, 18, 19

Mallomonas phasma K. Harris & D. E. Bradley Příloha 2, obr. 29

Několik šupin jsem našla v Akvitánii v mokřadu východně od Lac du Bourg. Naměřené pH zde bylo 7,0; konduktivita 189 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Jedná se o vzácného evropského endemita. První nález pochází z jihovýchodní Anglie, kde byl nalezen v mělkých rašelinných tůních (Harris & Bradley 1960), podruhé byly šupiny nalezeny po více než 50 letech z lokalit nacházejících se v Akvitánii, kde byly nalezeny a popsány posteriorní šupiny (Němcová et al. 2012, tato práce).

Výskyt druhu: lokalita č. 34

Mallomonas prora Dürrschmidt

Příloha 2, obr. 33

Šupiny tohoto druhu jsem našla na 6 lokalitách v rozmezí pH 5,6 – 6,8 a konduktivity 36 – 420 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Jedná se o druh s bipolárním rozšířením, výskyt je zaznamenán z Evropy, Severní a Jižní Ameriky a z východní Asie (Kristiansen & Preisig 2007). První záznam z České republiky pochází z aluviální tůň horní Lužnice (Řezáčová et al. 2004).

Výskyt druhu: lokality č. 13, 14, 18, 25, 27, 33

Mallomonas tubulosa Barreto

Příloha 2, obr. 39

Poprvé byl popsán z malého rybníku ze severního Maďarska (Barreto 2001). V ČR byl nalezen v malé tůni na Swampu (Němcová 2010). Tento druh jsem v ČR zaznamenala na dvou lokalitách, v Akvitánii na třech místech. Celkové rozpětí pH bylo 5,6 – 7,0 a konduktivity 66 – 358 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Němcová et al. (2012) determinovali v Akvitánii šupiny ve čtyřech vzorcích, byla nalezena dokonce celá buňka. Anteriorní a posteriorní konce buňky jsou pokryté šupinami nesoucími dóm (umístěné subapikálně) a šupinami s dómem na kterých je výrazné křídlo (umístěné apikálně). Dómové šupiny nesou osten.

Výskyt druhu: lokality č. 11, 22, 34, 35, 36

Synura echinulata Korshikov

Příloha 2, obr. 40, 79-84

Jedná se o široce rozšířený druh. Kromě lokality 33 jsem tento druh našla ve všech odběrových místech. Rozpětí pH na lokalitách s výskytem tohoto druhu bylo 4,6 – 8,7, naměřená konduktivita se pohybovala mezi 22 – 420 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Výskyt druhu: lokality č. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38

Synura mamillosa Takahashi

Příloha 2, obr. 41

Široce rozšířený druh, výskyt je znám z Evropy, Severní a jižní Ameriky, východní Asie a Austrálie (Kristiansen & Preisig 2007). Zaznamenané jsou nálezy

z tropů (př. Cronberg 1989, Menezes et al. 2005, Vigna et al. 2005), Řezáčová & Škaloud (2005) udávají častý výskyt tohoto druhu spolu se *S. sphagnicola*.

Tento druh jsem zaznamenala ve všech odebraných vzorkách z Akvitánie v širokém rozpětí pH (5,6 – 8,7) a konduktivity (126 – 347 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Výskyt druhu: lokality č. 34, 35, 36, 37, 38

Synura mollispina (J.B.Petersen et J.B.Hansen) L. S. Péterfi & Momeu

Příloha 2, obr. 42

Jedná se o široce rozšířený, ale roztroušeně se vyskytující druh, který byl již v minulosti nalezen na Borkovických blatech (Janatková & Němcová 2009). Několik šupin jsem na lokalitě č. 2 na Borkovických blatech také zaznamenala. Naměřené pH bylo 6,6; konduktivita 143 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Výskyt tohoto druhu je zaznamenán ze Severní a Jižní Ameriky a z Evropy (Kristiansen & Preisig 2007). Gretz et al. (1983) determinovali šupiny z Rogers Lake a Marshall lake (pH 8,1 a 7,5; kond. 110 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) v Arizoně, Barreto (2005) našla tento druh v malém lesním rybníku (pH 6,6; kond. 150 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) v Maďarsku.

Výskyt druhu: lokalita č. 2

Paraphysomonas poteriophora (Moestrup & Kristiansen) Vørs

Dřívější nálezy jsou zaznamenány např. z Německa (Hickel & Maaß 1989), z Anglie (Finlay & Clarke 1999). V jednom vzorku z tůně Borkovických blat jsem objevila jednu šupinu. Naměřené pH mělo hodnotu 6,6, konduktivita 143 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Jedná se o první zaznamenaný nález pro ČR.

Výskyt druhu: lokalita č. 2

3.3.4 Popis nového druhu *Mallomonas decora* sp. nov.

Mallomonas decora Kreidlová & Němcová sp. nov.

Příloha 2, obr. 53-63

series *Doignonianae*, section *Torquatae*

typová lokalita: Pekelské rybníky (50°44'21.0"N, 15°6'38.4"E), lokalita č. 15 (Příloha 2, obr. e)

etymologie: druhové jméno *decora* vyjadřuje krásný, skvělý, půvabný, zdobený a vztahuje se k výrazné ornamentaci šupiny

V Pekelských rybníkách jsem našla šupiny rodu *Mallomonas*, které jsem definovala jako nový druh. V Pekelském rybníku (lokalita č. 15) bylo nalezeno nejvíce šupin této malomonády, na EM síťce jsem pozorovala dokonce rozpadlou buňku s ostny (Příloha 3, obr. 63), kde je vidět uspořádání jednotlivých typů šupin tvořících schránku. Na lokalitách č. 14 a 16 jsem našla pouze několik šupin v sedimentu. Na typové lokalitě jsem naměřila pH 6,0 a konduktivitu 203 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Hodnoty pH na lokalitách s výskytem *M. decora* se pohybovaly v rozmezí 6,0-6,2, hodnoty konduktivity mezi 203-230 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Kromě typové lokality byl tento druh nalezen na území Portugalska (Calado & Craviero 1995) a určen jako *M. pumilio* var. *pumilio* (obr. 3.7).

Mallomonas decora sp. nov. patří do sect. *Torquatae*, pro kterou jsou charakteristické tripartitní šupiny (collar, body a rear scales). Buňky jsou malé (16 × 8,2 μm), protáhle elipsoidního tvaru. Límčové šupiny - collar scales (3,2–3,7 × 2,1–2,3 μm) jsou lichoběžníkového tvaru (Příloha 3, obr. 56-58) s dobře vyvinutým kulovitým dómem, který je zakončený silným, zašpičatělým vrcholem. Na povrchu dómu jsou patrná žebra, která vytvářejí retikulární strukturu. Vrchol dómu je ornamentován několika žebry, někdy jsou zde rozpoznatelné malé papily uspořádané do řady (Příloha 3, obr. 57). Štít je pokrytý žebry, které jsou na dorzální straně podobně jako u tělových šupin příčně orientované, směrem k centrální části se žebra větví a vytvářejí retikulární strukturu. Někdy je tato retikulární síť vyvinutá na celém štítu šupiny a vytváří komůrky, jejichž počet je velmi variabilní. Na bazální desce jsou dobře rozeznatelné póry. Na štítu šupiny v blízkosti submarginálního žebra je rozmístěno 7-16 zřetelných pórů, které nejsou na SEM fotografiích rozpoznatelné. Submarginální žebro je dobře vyvinuté na dorzální straně, na ventrální straně chybí. Přehnutý okraj je hladký,

v proximální části na ventrálním okraji přechází v sérii krátkých vzpěr. Na dorzální straně těsně pod dómem tvoří přehnutý okraj nápadný zaoblený výčnělek.

Tělové šupiny - body scales ($2,6-3,4 \times 1,0-2,2 \mu\text{m}$) jsou kosodelníkové, bez dómu, lehce asymetrické (jeden anteriorní okraj je delší než druhý). Centrální část šupin má 9-12 rovnoměrně rozmístěných příčných žeber, které mohou vytvářet jednoduše se větvcí strukturu. Bazální deska obsahuje malé póry, které jsou mezi jednotlivými žebry viditelné vždy ve dvou řadách. Na bazální desce se podél posteriorního submarginálního žebra vyskytuje 7-10 zřetelných pórů (Příloha 3, obr 54). Na anteriorním okraji šupiny se nachází 11-14 nápadných žeber, která navazují na některá žebra z centrální oblasti šupiny (štítu). Žebra anteriorního okraje šupiny jsou umístěna blíže u sebe než žebra na štítu. Posteriorní okraj šupiny je úzký a hladký.

Posteriorní šupiny - rear scales ($1,5-2,6 \times 1,1-1,6 \mu\text{m}$) jsou více asymetrické a menší než tělové šupiny, je na nich patrná stejná ornamentace (Příloha 3, obr. 59,60). Na anteriorním konci mají krátký ostének (délka vždy menší než $0,2 \mu\text{m}$).

Ostny ($3,6-3,8 \mu\text{m}$) jsou hladké, lehce zakřivené (Příloha 3, obr. 63).

Mallomonas decora se nejvíce podobá druhu *Mallomonas dickii* (Nicholls 1982). Oba dva tyto druhy mají na štítu tělových šupin patrná příčná žebra, která se mohou větvit. U *M. dickii* však dosahuje počet žeber vyšších hodnot (12-22). U *M. decora* se pohybuje v rozmezí 9-12. U obou druhů jsou na anteriorním okraji šupiny výrazná žebra. Na rozdíl od *M. dickii* se u *M. decora* mezi těmito žebry nevyskytují póry. Límčové šupiny (collar scales) *M. decora* mají na rozdíl od *M. dickii* nápadný dóm, na štítu žebra splývají v nápadnou retikulaci, zatímco u *M. dickii* jsou žebra příčně orientovaná v horní části šupiny a šikmo paralelně ve spodní části.

Tyto dva druhy se od sebe liší také velikostí, buňky i šupiny *M. decora* dosahují větších rozměrů. Podle délky ostének posteriorních šupin se řadí zástupci sekce *Torquate* do dvou skupin, osténky z první skupiny dosahují velikosti do $16 \mu\text{m}$, zatímco druhá skupina má velikost ostének kratší než $3 \mu\text{m}$ (Harris 1970, Asmund & Cronberg 1979). Osténky posteriorních šupin (rear scales) *M. decora* měří méně než $0,2 \mu\text{m}$, proto se řadí do 2. skupiny stejně jako *M. dickii* s rozměry menšími než $1 \mu\text{m}$ (Nicholls 1982).

M. decora je také podobný *M. ocalensis* (Siver 2002), oba dva druhy mají malé elipsoidní buňky. Na štítu tělových šupin se vyskytují příčná žebra, délka osténku u posteriorních šupin je v obou případech vždy menší než $0,2 \mu\text{m}$.

Tělové šupiny *M. decora* se odlišují od *M. ocalensis* hlavně tloušťkou příčných žeber. *M. decora* obsahuje příčná žebra stejné tloušťky, zatímco *M. ocalensis* obvykle vytváří strukturu, kde se silné žebro postupně ztenčuje nebo se střídají silná a tenká příčná žebra. Rozdíl je také v počtu žeber, u *M. ocalensis* je jich více (15-19). *M. ocalensis* má na rozdíl od *M. decora* dobře vyvinuté anteriorní submarginální žebro, které je ornamentováno řadami malých papil. Anteriorní okraj i žebro *M. decora* překrývají nápadné vzpěry (žebra) navazující na některá žebra z bazální desky.



Obr. 3.7: *Mallomonas decora* určený jako *M. pumilio* var. *pumilio* (převzato z Calado & Craviero 1995).

4. Závěr

Ve své diplomové práci jsem se zabývala tvarovou variabilitou křemičitých šupin *Synura echinulata* v přírodních populacích. Zkoumala jsem vliv prostředí na jejich tvar. Dále jsem se zabývala diverzitou křemičitých chrysomonád, které tvořily doprovodné druhy na lokalitách, kde byla sbírána *S. echinulata*. Závěry v návaznosti na uvedené cíle v úvodu se dají shrnout do následujících bodů:

- Celková morfologická variabilita byla zhodnocena pomocí analýzy relativních warpů. Hlavní trendy morfologické variability byly zobrazeny pomocí deformačních mřížek.
- Nejvíce variability ve tvaru šupin vysvětlila lokalita, z environmentálních proměnných nejvíce variability vysvětlily pH, konduktivita a nadmořská výška. Z výsledků lze usoudit, že v jednotlivých lokalitách zřejmě existují tvarově odlišené populace *S. echinulata* (populace na jednotlivých lokalitách jsou geneticky variabilní, zřejmě se u druhu vyskytuje určitá vnitropopulační variabilita).
- Byla porovnána tvarová variabilita šupin závislá na pH v přírodních a v experimentálních populacích *S. echinulata* pomocí regresního modelu. Změna tvaru v závislosti na pH byla znázorněna pomocí deformačních mřížek. Mírně se lišící morfologické trendy v laboratorních podmínkách by mohly být zapříčiněné např. odstíněním vlivu jiných faktorů, které na šupiny v přírodních podmínkách působí.
- Největší míra variability byla pozorována na lokalitě v Brdech, kde byly nalezeny dokonce teratogenní šupiny. Vysoká morfologická disparita byla pravděpodobně způsobená antropogenním znečištěním.
- Byly zaznamenány druhy, které byly v České republice nalezené poprvé (*Mallomonas* cf. *jejuensis*, *M. labyrinthina*, *M. madagascariensis*, *M. palaestrica*, *Chrysophaerella coronacircumspina* a *Paraphysomonas poteriophora*). Druhy *M. cf. jejuensis*, *M. labyrinthina* a *M. madagascariensis* ztratily status asijského, severoamerického a afrického endemita. V Pekelských rybnících v jihovýchodní části Liberce byl objeven a popsán nový druh *Mallomonas decora* sp. nov.

- Při hledání přírodních populací *S. echinulata* byly v České republice objeveny lokality, které byly velice pestré na druhové složení chrysomonád. Ve třech oblastech (Liberecko, Na Plachtě, Borkovická blata) bylo determinováno celkem 72 druhů křemičitých chrysomonád.

5. Seznam literary

- Adams D. C. & Rohlf F. J. (2000): Ecological character displacement in *Plethodon*: Biomechanical differences found from a geometric morphometric study. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 4106-4111.
- Adams, D. C., Rohlf, F. J. & Slice, D. E. (2004): Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the 'Revolution'. – Ital. J. Zool. 71:5-16.
- Arancibia-Avila, P., Coleman, J.R., Russin, W.A., Wilcox, L.W., Graham, J.M. & Graham, L.E (2000): Effects of pH on cell morphology and carbonic anhydrase activity and localization in bloom-forming *Mougeotia* (Chlorophyta, Charophyceae). – Can. J. Bot. 78(9): 1206-1214.
- Asmund, B. (1955): Electron microscope observation on *Mallomonas caudata* and some remarks on its occurrence in four Danish ponds. – Bot. Tidsskr. 52: 162-168.
- Asmund, B. (1956): Electron microscope observation on *Mallomonas* species and remarks on their occurrence in some Danish ponds. II. – Bot. Tidsskr. 53: 75-85.
- Asmund, B. & Cronberg, G. (1979): Two new taxa of *Mallomonas* (Chrysophyceae). – Bot. Notiser 132: 409-418.
- Barreto, S. (2001): Three new *Mallomonas* species (Synurophyceae) from a mountain area in North-Hungary. – Nord. J. Bot. 21: 437-447.
- Barreto, S. (2005): The silica-scaled chrysophyte flora of Hungary. – Beih. Nova Hedwigia 128: 11-41
- Bookstein, F.L. (1997): Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. – Medical Image Analysis 1: 225-243.
- Calado, A. J. & Craveiro, S. C. (1995): Notes on the ecology of Synurophycean algae found in Portugal. – Nord. J. Bot. 15: 641-654
- Corti M., Fadda C., Simson S. & Nevo E. (1996): Size and shape variation in the mandible of the fossorial rodent *Spalax ehrenbergi*. In: Marcus LF et al., editors. Advances in morphometrics. NATO ASI Ser 284: 303-320.
- Couté, A. & I. M. Franceschini (1998): Scale-bearing chrysophytes from acid waters of Florianópolis, Santa Catarina Island, South Brazil. – Algal. Stud/ Arch. Hydrobiol. 88: 37-66.

- Cronberg, G. (1972): Investigation of scale-bearing Chrysophyceae species by scanning electron microscopy. – *Revue. Algol.* 4: 319-324.
- Cronberg, G. (1989): Scaled chrysophytes from the tropics. – *Beih. Nova Hedwigia* 95: 191-232.
- Duff, K.E., Zeeb, B.A. & Smol, J.P. (1995): Atlas of chrysophyceaeen cysts. *Dev. Hydrobiol.* 99, Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 189 pp.
- Dürschmidt, M. (1983): A taxonomic study of the *Mallomonas mangofera* group (Mallomonadaceae, Chrysophyceae), including the description of four new taxa. – *Pl. Syst. Evol.* 143: 175-196.
- Dürschmidt, M. (1986): New species of the genus *Mallomonas* (Mallomonadaceae, Chrysophyceae) from New Zeland. – In: Kristiansen, J. & Andersen, R. A. (eds): *Chrysophytes. Aspects and Problems*, 87-106 pp., Cambridge University Press.
- Engel, Z., Šobr, M. & Křížek, M. (2003): Mechové jezírko v Krkonoších – fyzickogeografická studie. – *Opera Corcontica* 40: 201-207.
- Finlay B.J. (2002): Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. – *Science* 296: 1061–1063.
- Finlay, B. J. & Clarke, K. J. (1999): Apparent global ubiquity of species in the protist genus *Paraphysomonas*. – *Protist* 150: 419-430.
- Fott, B. (1955): Scales of *Mallomonas* observed in the electron microscope. – *Preslia* 27: 280-282.
- Furlotte, A. E., Ferguson, J. A. & J. L. Wee (2000): A floristic and biogeographic survey of the Synurophyceae from Southeastern Australia. – *Nord. J. Bot.* 20: 247-256.
- Gavrilova, O.V.; Nogina, N.V. & Voloshko, L.N. (2005): Scale structures and growth characteristics of *Synura petersenii* (Synurophyceae) under different pH conditions. – *Beih. Nova Hedwigia* 128: 249–256.
- Gretz, M. R., Wujek, D. E. & Sommerfeld, M. R. (1983): Scaled *Chrysophyceae* of Arizona: Further additions to the aquatic flora. – *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* 18: 17-21.
- Gutowski, A. (1989): Seasonal succession of scaled chrysophytes in a small lake in Berlin. – *Beih. Nova Hedwigia* 95: 159-77.

- Gutowski, A. (1996): Temperature dependent variability of scales and bristles of *Mallomonas tonsurata* TEILING emend. KRIEGER (Synurophyceae). – Beih. Nova Hedwigia 114: 125-146.
- Hahn, A., Gutowski, A. & Geissler, U. (1996): Scale and bristle morphology of *Mallomonas tonsurata* (Synurophyceae) in cultures with varied nutrient supply. – Acta Botanica 109: 239-247.
- Hammer, O., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. – Palaeontologia Electronica 4(1): 9 pp. (<http://folk.uio.no/ohammer/past>)
- Hansen, P. (1996): Silica-scaled Chrysophyceae and Synurophyceae from Madagascar. – Arch. Protistenkd. 147: 145-172.
- Hansen, P. & Kristiansen, J. (1995): *Mallomonas madagascariensis*, *M. lemuriocellata* and *M. crocodilorum* (Synurophyceae), three new species from Madagascar. – Nord. J. Bot. 15: 215-223.
- Hansen, P., Johansen, J. E., Skovgaard, A. & Kristiansen, J. (1993): *Mallomonas palaestrica* sp. nov. (Synurophyceae), a new member of sect. Torquatae from Denmark. – Nord. J. Bot. 13: 107-110.
- Harris, K. (1958): A study of *Mallomonas insignis* and *Mallomonas akrokomos*. – J. Gen. Microbiol. 19: 55-64.
- Harris, K. & D. E. Bradley (1957): An examination of the scales and bristles of *Mallomonas* in the electron microscope using carbon replicas. – J. Roy. Microsc. Soc. 76: 37-46.
- Harris, K. & D. E. Bradley (1958): Some unusual Chrysophyceae studied in the electron microscope. – J. Gen. Microbiol. 18: 71-83.
- Harris, K. & D. E. Bradley (1960): A taxonomic study of *Mallomonas*. – J. Gen. Microbiol. 22: 750-777.
- Hartmann-Zahn, H. (1991): Scaled chrysophytes as indicators of lake acidification in West Germany. – Verh. Int. Vereinigung Theor. Limnol. 24: 800-805.
- Hartmann, H. & Steinberg, C. (1989): The occurrence of silica-scaled chrysophytes in some central European lakes and their relation to pH. – Beih. Nova Hedwigia 95: 131-58.
- Hickel, B. & Maaß, I. (1989): Scaled chrysophytes, including heterotrophic nanoflagellates from the lake district in Holstein, northern Germany. – Beih. Nova Hedwigia 95: 233-257.

- Ikävalko, J. (1994): Contribution to the flora of silica-scaled flagellates in Mikkeli, central Finland. – *Nova Hedwigia* 58: 475-505.
- Janatková, K. & Němcová, Y. (2009): Silica-scaled chrysophytes of Southern Bohemian water bodies, including *Mallomonas conspersa* Dürschmidt with occurrence so far reported from Japan and New Zealand. – *Fottea* 9: 93-99.
- Kalina T., Němcová Y. & Neustupa J. (2000): Silica-scaled chrysophytes of the Czech Republic 1. District česká Lípa (Northern Bohemia) and part of the Central Bohemia. – *Archiv für Hydrobiologie/ Algological studies* 96: 29-47.
- Kim, J. H. & Kim, H. S. (2010): *Mallomonas jejuensis* sp. nov. (Synurophyceae) from Jeju Island, South Korea. – *Nord. J. Bot.* 28: 350-353.
- Kim, J. H. & Kim, H. S. (2011): Seasonal occurrence of silica-scaled chrysophytes in a small eutrophic swamp, South Korea. – *Nova Hedwigia* 93: 411-436.
- Kim, J.H., Shin, M.O., Lee, K.L. & Kim, H.S. (2008): Effect of environmental conditions on the growth of *Synura petersenii* (Synurophyceae) in vitro and two eutrophic water bodies in Korea. – *Nova Hedwigia* 86: 529-544.
- Klingenberg, C.P., Barluenga, M. & Meyer, A. (2002): Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. – *Evolution* 56(10): 1909-1920.
- Kodama, K., Lyons, J.C., Siver, P.A. & A.M. Lott. (1997): A mineral magnetic and scaled chrysophyte paleolimnological study of two northeast Pennsylvania lakes: Records of fly ash deposition, land use change, and paleo rainfall variation. – *Journal of Paleolimnology* 17: 173-189.
- Korshikov, A.A. (1927): *Skadovskiiella sphagnicola*, a new colonial chrysomonad. – *Arch. Protistenk.* 58: 450-455.
- Korshikov, A.A. (1929): Studies on the Chrysomonads. I. – *Arch. Protistenk.* 67: 253-290.
- Kristiansen, J. (1971): A *Mallomonas* bloom in a Bulgarian mountain lake. – *Nova Hedwigia* 21: 877-882.
- Kristiansen, J. (1975): On the occurrence of the species of *Synura* (Chrysophyceae). – *Verh. Int. Ver. Limnol.* 19: 2709-2715.
- Kristiansen, J. (1986): Silica-scale bearing chrysophytes as environmental indicators. – *Br. Phycol. J.* 21: 425-436.
- Kristiansen, J. (2001): Biogeography of silica-scaled chrysophytes. – *Beih. Nova Hedwigia* 122: 23-39.

- Kristiansen, J. (2002): The genus *Mallomonas* (Synurophyceae): A taxonomic survey based on the ultrastructure of silica scales and bristles. – Opera Bot. 139: 1-218.
- Kristiansen, J. (2005): Golden algae, 167 pp. A. R. G. Gantner Verlag K. G.
- Kristiansen, J. (2008): Dispersal and biogeography of silica-scaled chrysophytes. – Biodivers Conserv 17: 419-426.
- Kristiansen, J. & Lind, J. F. (2005): Endemicity in silica-scaled chrysophytes. – Beih. Nova Hedwigia 128: 65-83.
- Kristiansen, J. & H.R. Preisig (2007): Chrysophyte and Haptophyte Algae, 2nd part: Synurophyceae. - In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., H.R. Preisig & M. Schagerl (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, vol. 1/2: 1-252, Springer-Verlag, Berlin.
- Kristiansen, J., Tong, D. & Olrik, K. (1990): Silica-scales chrysophytes from Korea, a preliminary study. – Nord. J. Bot. 9: 685-691.
- Kynčlová, A., Škaloud, P. & Škaloudová, M. (2010): Unveiling hidden diversity in the *Synura petersenii* species complex (Synurophyceae, Heterokontophyta). – Beih. Nova Hedwigia 136: 283-298.
- Leadbeater, B.S.C. & Barker, D.A.N. (1995): Biomineralization and scale production in the Chrysophyta. – In: Sandgren, C.D., Smol, J.P. & Kristiansen, J. (eds): Chrysophyte algae, pp. 141-164. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lee, K.L. & Kim, H.S. (2007): Growth characteristics of three synurophytes (*Mallomonas* species) at different temperatures and pH. – Nova Hedwigia 84: 227-240.
- Lee, K.L., Yoon, H.-S., Kim, Y.J. & Kim, H.S. (2007): Growth characteristics of three *Mallomonas* species (silica-scaled chrysophytes) at different temperatures and pH. - Nordic Journal of Botany 25: 113-118.
- Ložek V., Kubíková J., Spryňar P. a kol. (2005): Střední Čechy. In: Mackovčín P. a Sedláček M. (eds.): Chráněná území ČR, svazek XIII. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a Ekocentrum Brno, Praha, 904 pp.
- Mantel, N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. – Cancer Research 27: 209– 220.
- Martin-Wagenmann, B. & Gutowski, A. (1995): Scale morphology and growth characteristics of clones of *Synura petersenii* (Synurophyceae) at different temperatures. – In: Sandgren, C.D., Smol, J.P. & Kristiansen, J. (eds): Chrysophyte algae, pp. 345-360. Cambridge University Press.

- Menezes, M., Kristiansen, J. & Bicudo, C. E. M. (2005): Silica-scaled chrysophytes from some tropical freshwater bodies, southeastern Brazil. – *Beih. Nova Hedwigia* 128: 85-100.
- Munch, S. (1980): Fossil diatoms and scales of Chrysophyceae in the recent history of Hall Lake, Washington. – *Freshw. Biol.* 10: 61-66.
- Navarro N., Zatarain X. & Montuire S. (2004): Effects of morphometric descriptor changes on statistical classification and morphospaces. – *Biol. J. Linn. Soc.* 83: 243-260.
- Neustupa, J. & Hodač, L. (2005): Changes in shape of the coenobial cells of an experimental strain of *Pediastrum duplex* var. *duplex* (Chlorophyta) reared at different pHs. – *Preslia* 77: 439-452.
- Neustupa, J. & Němcová, Y. (2007): A geometric morphometric study of the variation in scales of *Mallomonas striata* (Synurophyceae, Heterokontophyta). – *Phycologia* 46(2): 123-130.
- Neustupa, J. & Řezáčová, M. (2007): The genus *Mallomonas* (Mallomonadales, Synurophyceae) in several Southeast Asian urban water bodies - the biogeographic implications. – *Nova Hedwigia* 84: 249-259.
- Neustupa, J., Němcová, Y. & Kalina, T. (2000): *Mallomonas pumilio* var. *pumilio* - a new species in algal flora of Czech Republic. – *Novitates Botanicae Universitatis Carolinae* 14: 7-11.
- Neustupa, J., Němcová, Y. & Kalina, T. (2001): Silica-scaled Chrysophytes of Southern Bohemia and Českomoravská vrchovina (Czech-Moravian Highlands, Czech Republic). – *Archiv für Hydrobiologie/ Algological Studies* 102: 23-34.
- Neustupa, J., Řezáčová-Škaloudová, M. & Němcová, Y. (2010): Shape variation of the silica scales of *Mallomonas kalinae* (Mallomonadales, Synurophyceae) in relation to their position on the cell body. – *Beih. Nova Hedwigia* 136: 33-42.
- Neustupa, J., Šťastný, J. & Hodač, L. (2008): Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga *Micrasterias rotata*. – *Aquatic Microbial Ecology* 51: 77-86.
- Němcová, Y. (2010): Diversity and ecology of silica-scaled chrysophytes (*Synurophyceae*, *Chrysophyceae*) in the National Nature Monument Swamp and Brehynsky Pond, Czech Republic. – *Cryptogamie, Algologie* 31: 229-243.

- Němcová, Y. & Pichrtová, M. (2009): The rare species *Synura lapponica* (Synurophyceae) new to the Czech Republic, local vs. global diversity in colonial synurophytes. – *Biologia* 64: 1070-1075.
- Němcová, Y. & Pichrtová, M. (2012): Shape dynamics of silica scales (Chrysophyceae, Stramenopiles) associated with pH. – *Fottea* 12(2): 281-291.
- Němcová, Y., Kalina, T., Neustupa, J. & Nováková, S. (2000): Scale-bearing chrysophyte *Mallomonas calceolus* Bradley a new record from Czech Republic. – *Novitates Botanicae Universitatis Carolinae* 13: 7-11.
- Němcová, Y., Kalina, T., Neustupa, J. & Nováková, S. (2001): Silica-scaled chrysophytes of the Krkonoše Mountains (Czech Republic). – *Archiv für Hydrobiologie/ Algological Studies* 101: 97-108.
- Němcová, Y., Kreidlová, J., Kosová, A. & Neustupa, J. (2012): Lakes and pools of Aquitaine region (France) – a biodiversity hotspots of Synurales in Europe. – *Nova Hedwigia* 95: 1-24.
- Němcová, Y., Neustupa, J., Kalina, T. & Nováková, S. (2003a): Silica-scaled chrysophytes of the Šumava National Park and the Třeboňsko UNESCO Biosphere Reserve (Southern Bohemia, Czech Republic). *Nord. J. Bot.* 22: 375-383.
- Němcová, Y., Neustupa, J., Kvíderová, J. & Řezáčová-Škaloudová, M. (2010): Morphological plasticity of silica scales of *Synura echinulata* (Synurophyceae) in crossed gradients of light and temperature – a geometric morphometric approach. – *Beih. Nova Hedwigia* 136: 21-32.
- Němcová, Y., Neustupa, J., Nováková, S. & Kalina, T. (2003b): Silica-scaled chrysophytes of the Czech Republic. – *Acta Universitatis Carolinae - Biologica* 47: 285-346.
- Nicholls, P. (1981): Observation on Chrysophyceae from a Norwegian mountain lake. – *Br. Phycol. J.* 16: 373-378.
- Nicholls, K. H. (1984a): Four new *Mallomonas* species of the Torquatae series (Chrysophyceae). – *Can. J. Bot.* 62: 1583-1591.
- Nicholls, K. H. (1984b): *Spiniferomonas septispina* and *S. enigmata*, two new algal species confusing the distinction between *Spiniferomonas* and *Chryso-sphaerella* (Chrysophyceae). – *Pl. Syst. Evol.* 148, 103-117.

- Nováková, S., Němcová, Y., Neustupa, J., Řezáčová, M. & Šejnohová, L. (2004): Silica-scaled chrysophytes in acid peat bogs of Bohemian Switzerland (Czech Republic) and Saxonian Switzerland (Germany). – *Nova Hedwigia* 78: 507-515.
- Oksanen, J., Blanchet, G. F., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R. B. (2011): *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 1.17-8. CRANR-project.org/package=vegan.
- Pichrtová, M. (2007): Vliv faktorů prostředí na morfologickou variabilitu křemičitých struktur chrysomonád (Synurophyceae). 60 pp. Bakalářská práce.
- Pichrtová, M. (2009): Tvarová dynamika křemičitých struktur u modelových populací chrysomonád (Synurophyceae). 74 pp. Diplomová práce.
- Pichrtová, M. & Němcová, Y. (2008): Geometric morphometric analyses of silica-scale variation in four *Mallomonas* species (Synurophyceae, Stramenopiles). – *Nord. J. Bot.* 26: 77-82.
- Pichrtová, M. & Němcová, Y. (2011): Effect of temperature on size and shape of silica scales in *Synura petersenii* and *Mallomonas tonsurata* (Stramenopiles). – *Hydrobiologia* 673: 1-11.
- Pichrtová, M. & Veselá, J. (2009): The silica-scaled chrysophytes of the Elbe Sandstone Region, Czech Republic. – *Fottea* 9: 101-106.
- Pichrtová, M., Janatková, K. & Němcová, Y. (2011): Silica-scaled chrysophytes from Abisko (Swedish Lapland). – *Nord. J. Bot.* 29: 112-118.
- Pichrtová, M., Řezáčová-Škaloudová, M. & Škaloud, P. (2007): The silica-scaled chrysophytes of the Czech-Moravian Highlands. – *Fottea* 7(1): 43-48.
- Preisig, H.R. (1989): *Mallomonas alphaphora* (Chrysophyceae), a new species from Western Australia. – *Pl. Syst. Evol.* 164: 209-214.
- R Development Core Team (2011): *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Reynolds, C.S. (2006): *Ecology of phytoplankton*, 535 pp. Cambridge University Press.
- Rohlf, F.J. (2003): *tpsSmall*, Version 1.20. – Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)
- Rohlf, F.J. (2006a): *tpsUtil*, Version 1.38. – Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)
- Rohlf, F.J. (2006b): *tpsPLS*, Version 1.18. - Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)

- Rohlf, F.J. (2007a): tpsRegr, Version 1.34. – Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)
- Rohlf, F.J. (2007b): tpsRelw, Version 1.45. – Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)
- Rohlf, F.J. (2008): tpsDig, Version 2.12. – Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook, New York. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)
- Rohlf, F. J. & Corti, M. (2000): Use of two-block partial least squares to study covariation in shape. – Systematic Biology. 49:740-753.
- Roijackers, R. M. & Kessels, H. (1986): Ecological characteristics of scale-bearing Chrysophyceae from the Netherlands. – Nord. J. Bot. 6: 373-383.
- Rüber, L. & Adams, D. C. (2001): Evolutionary convergence of body shape and trophic morphology in cichlids from Lake Tanganyika. – Journal of Evolutionary Biology 14: 325-332.
- Řezáčová, M. (2003): Ekologie a rozšíření chrysomonád s křemičitými šupinami (*Chrysophyceae*, *Synurophyceae*). 59 pp. Bakalářská práce.
- Řezáčová, M. (2005): Sezónní dynamika a ekologie chrysomonád s křemitými šupinami (*Chrysophyceae*, *Synurophyceae*). 153 pp. Diplomová práce.
- Řezáčová, M. (2006): *Mallomonas kalinae* (Synurophyceae), a new species of alga from northern Bohemia, Czech Republic. – Preslia 78: 353-358.
- Řezáčová, M. & Škaloud, P. (2005): Silica-scaled chrysophytes of Ireland. With an appendix: Geographic variation of scale shape of *Mallomonas caudata*. – Beih. Nova Hedwigia 128: 101-124.
- Řezáčová-Škaloudová, M., Neustupa, J. & Němcová, Y. (2010): Effect of temperature on the variability of silicate structures in *Mallomonas kalinae* and *Synura curtispina* (Synurophyceae). – Beih. Nova Hedwigia 136: 55-70.
- Řezáčová, M., Neustupa, J. & Šejnohová, L. (2004): Five species of *Mallomonas* (Synurophyceae) new to the algal flora of the Czech Republic. Preslia 76: 175-181.
- Saha, L.C. & D.E. Wujek (1990): Scale-bearing chrysophytes from tropical Northeast India. – Nord. J. Bot. 10: 343-355.
- Saxby-Rouen, K. J., Leadbeater, B. S. C. & Reynolds, C. S. (1998): The relationship between the growth of *Synura petersenii* (Synurophyceae) and components of the dissolved inorganic carbon system. – Phycologia 37: 467-477.

- Siver, P. A. (1987): The distribution and variation of *Synura* species (Chrysophyceae) in Connecticut, USA. – Nord. J. Bot. 7: 107-116.
- Siver, P. A. (1988a): Distribution of scaled chrysophytes in 17 Adirondack (New York) lakes with special reference to pH. – Can. J. Bot. 66:1391-1403.
- Siver, P. A. (1988b): The distribution and ecology of *Spiniferomonas* (Chrysophyceae) in Connecticut (U.S.A.). – Nord. J. Bot. 8: 205-212.
- Siver, P. A. (1989): The distribution of scaled chrysophytes along a pH gradient. – Can. J. Bot. 67: 2120-2130.
- Siver, P. A. (1991): The Biology of *Mallomonas*: Morphology, Taxonomy and Ecology. – Kluwer Academic Publishers 230 pp.
- Siver, P.A. (1995): The distribution of chrysophytes along environmental gradients: their use as biological indicators. – In: Sandgren, C.D., J.P. Smol & J. Kristiansen (eds.): Chrysophyte algae: 232-268. Cambridge University Press.
- Siver, P.A. (1999): Morphological observations of Synurophycean algae from some acidic habitats, including the description of a sub-specific taxon. – Nord. J. Bot. 19: 121-127.
- Siver, P.A. (2002): Two new species of *Mallomonas* (Synurophyceae) from the Ocala National Forest, Florida, U.S.A. – Nord. J. Bot. 22: 115-121.
- Siver, P.A. & Glew, J.R. (1990): The arrangement of scales and bristles on *Mallomonas* (Chrysophyceae): a proposed mechanism for the formation of the cell covering. – Can. J. Bot. 68: 374-380.
- Siver, P. A. & Hamer, J. S. (1989): Multivariate statistical analysis of the factors controlling the distribution of scaled chrysophytes. – Limnol. Oceanogr. 34: 368-381.
- Siver, P. A. & Hamer, J. S. (1992): Seasonal periodicity of *Chrysophyceae* and *Synurophyceae* in a small New England lake: implications for paleolimnological research. – J. Phycol. 28: 186-198.
- Siver, P. A. & Lott, A. M. (2000): Preliminary investigations on the distribution of scaled chrysophytes in Vermont and New Hampshire (USA) lakes and their utility to infer lake water chemistry. – Nord. J. Bot. 20: 233-246.
- Siver, P. A. & Lott, A. M. (2006): Further observation on the scaled Chrysophycean and Synurophycean flora of the Ocala National Forest, Florida, U.S.A. – Nord. J. Bot. 24: 211-233.

- Siver, P. A. & Lott, A. M. (2010): The scaled chrysophyte flora from the Pinelands National Preserve of southern New Jersey, U.S.A. – *Beih. Nova Hedwigia* 136: 167-180.
- Siver, P. A. & Lott, A. M. (2012): Biogeographic patterns in scaled chrysophytes from the east coast of North America. – *Freshwater Biology* 57: 451-466.
- Siver, P. A. & Skogstad, A. (1988): Morphological variation and ecology of *Mallomonas crassisquama*. – *Nord. J. Bot.* 8: 99-107.
- Siver, P. A. & Smol, J. P. (1993): The use of scaled chrysophytes in long term monitoring programs for the detection of changes lakewater acidity – *Water, Air and Soil pollution* 71: 357-376.
- Siver, P. & M.S. Vigna (1997): The distribution of scaled chrysophytes in the Delta Region of Paraná River, Argentina. – *Nova Hedwigia* 64: 421-453.
- Siver, P.A., Voloshko, L.N., Gavrilova, O.V. & M.V. Getsen (2005): The scaled chrysophyte flora of the Bolshezemelskaya tundra (Russia). – *Beih. Nova Hedwigia* 128: 25-150.
- Smol, J. P., Charles, D. F. & Whitehead, D. R. (1984): Mallomonadacean (Chrysophyceae) assemblages and their relationships with limnological characteristics in 38 Adirondack (New York) lakes. – *Can. J. Bot.* 62: 911-923.
- Smol, J. P. (1995): Application of chrysophytes to problems in paleoecology. – In: Sandgren, C.D., J.P. Smol & J. Kristiansen (eds.): *Chrysophyte algae*. pp. 303-330. Cambridge University Press.
- Svátková, R. (2007): Eutrofizace a koloběh dusíku a fosforu na rašeliništích. Ekologický stav NPP Swamp. Bakalářská práce. 38 pp.
- Tabachnick R. E., Bookstein F. L. (1990): The structure of individual variation in Miocene *Globorotalia*. – *Evolution* 44: 416-434.
- Vigna, M. S. & S.D. Escobar (1999): Silica-scaled chrysophytes from the Amazonian region in Colombia. – *Nova Hedwigia* 69: 151-162.
- Vigna, M. S., Duque, S. R., Núñez-Avellaneda, M. (2005): Tropical silica scaled chrysophyte flora (Chrysophyceae and Synurophyceae) from Columbia. – *Beih. Nova Hedwigia* 128: 151-166.
- Viscosi, V., Fortini, P., Slice, D. E., Loy, A. & Blasi, C. (2009): Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae). – *Plant Biosystems* 143: 575-587.

- Vyverman, W & Cronberg, G. (1993): Scale bearing chrysophytes from Papua New Guinea. –Nord. J. Bot. 13: 111-120.
- Wee, J. L., Booth, D. J. & Bossier, M. A. (1993): Synurophyceae from Southern Atlantic Coastal Plain of North America: A preliminary survey in Louisiana, USA. – Nord. J. Bot. 13: 95-106.
- Wee, J. L., A. M. James & C. S. Hood. (2005): Exploratory investigations of palmella-stage formation in the Synurophyceae. – Beih.Nova Hedwigia 128: 257-266.
- Wee, J.L., Millie, D.F. & Walton, S.P. (1991): A statistical characterization of growth among clones of *Synura petersenii* (Synurophyceae). – J. Phycol. 27: 570-575.
- Wilkinson, A.N., Zeeb, B.A. & Smol, J.P. (2001): Atlas of chrysophycean cysts II. Dev. Hydrobiol. 157, Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 169 pp.
- Wujek, D. E. & Bicudo, C. E. M. (2004): Scale-bearing chrysophytes from the State of São Paulo, Brazil, 2: additions to the flora. – Braz. J. Biol. 64(4): 915-918.
- Wujek, D. E. & Wee, J. L. (2006): Scale-bearing chrysophytes from the southern Atlantic coastal plain in Louisiana, U.S.A. II. Extended studies on identification, ecology, and distribution. – Archiv für Hydrobiologie/ Algological Studies 119: 91-103.
- Wujek, D. E. & Wright, E. M. (2006): Silica-scaled chrysophytes from east central New York. – Journal of the Torrey Botanical Society 133(3): 482-489.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. & Fink, W. L. (2004): Geometric morphometrics for biologist: A primer, 443 pp. Elsevier Academic Press, New York.

Internetové zdroje

dostupné z:

<http://www.jiznicechy.org/cz/index.php?path=prir/bblata.htm>

<http://www.wunderground.com>