

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kateřina Trumhová

Diverzita, rozšíření, fylogeneze a ekologie rodu

***Micrasterias* (Desmidiales)**

Diversity, distribution, phylogeny and ecology of the genus *Micrasterias* (Desmidiales)

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Jan Šťastný, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

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

V Praze, 14. 5. 2014

.....

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat mému školiteli Honzovi Šťastnému za jeho rady, velkou pomoc a všechny odpovědi na mnoho mých dotazů. Dále pak všem na algologickém pracovišti za vytvoření přátelské atmosféry.

Velké díky patří mé rodině za neustálou mnohostrannou podporu, stejně tak mému příteli Tomášovi za jeho velkou trpělivost.

Abstrakt

Zástupci rodu *Micrasterias* patří k jedněm z nejkrásnějších organismů. Díky svému mimořádně zajímavému tvaru přitahuje pozornost odborníků i amatérských přírodovědců již skoro 200 let. Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o těchto organismech. V první části se zabývá jejich morfologií a životním cyklem. Stejně jako jiní zástupci třídy Zygnematophyceae mají unikátní způsob rozmnožování; konjugaci. V další části se zabývá fylogenezí tohoto rodu. Díky využití molekulárních metod byly odhaleny druhy náležící k rodu *Micrasterias*, které se od jiných zástupců morfologicky odlišují tak, že byly dříve považovány za jiné rody. Vyhodnocení třech druhových komplexů v rámci tohoto rodu demonstrovalo velkou skrytou diverzitu těchto organismů. Tento fenomén, stejně tak i zrychlená morfologická evoluce mají zásadní vliv na rozvoj poznání diverzity a biogeografie, o čemž pojednávají poslední dvě kapitoly.

Klíčová slova: *Micrasterias*, diverzita, biogeografie, fylogeneze, tvarová diferenciacie, modelový organismus, morfogeneze

Abstract

The genus *Micrasterias* comprises one of the most beautiful organisms. It attracts, due to its spectacularly shaped cells, the attention of scientist and amateur biologist almost for almost 200 years. This thesis summarizes the current knowledge about these extraordinary organisms. The first part deals with the morphology and the life cycle of these algae. They share a unique type of reproduction (conjugation) with the other representatives of the class Zygnematophyceae. The second part concerns phylogeny of this genus. Several morphologically distinct species have been revealed with the aid of molecular phylogenetic methods to belong to the genus *Micrasterias*. A polyphasic evaluation of three species complexes within this genus also revealed an extensive hidden diversity. The last chapters summarize the knowledge about the influence of hidden diversity and accelerated morphological evolution on our understanding of diversity and biogeography of these organisms.

Key words: *Micrasterias*, diversity, biogeography, phylogeny, shape differentiation, model organism, morphogenesis

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. MORFOLOGIE A ROZMNOŽOVÁNÍ.....	2
2.1. Tvar.....	2
2.2. Vnitřní organizace buňky.....	3
2.3. Rozmnožování.....	5
2.3.1. Nepohlavní rozmnožování.....	5
2.3.2. Pohlavní rozmnožování.....	5
3. FYLOGENEZE.....	7
3.1. Třída Zygnematophyceae.....	7
3.2. Řád Desmidiáles a čeleď Desmidiaceae.....	9
3.3. Rod <i>Micrasterias</i>	9
3.4. Morfologická diference.....	12
3.4.1. Velikost buněk a stupeň větvení laloků.....	12
3.4.2. Zrychlená morfologická evoluce.....	14
4. DIVERZITA.....	16
4.1. Tradiční taxonomie.....	16
4.2. Skrytá diverzita.....	16
4.2.1. Problémy tradiční taxonomie.....	16
4.2.2. Metody pro odhalení skryté diverzity.....	17
4.2.3. Druhové komplexy.....	18
5. EKOLOGIE A BIOGEOGRAFIE.....	22
5.1. Ekologie a bioindikace.....	22
5.2. Biogeografie.....	23
6. ZÁVĚR.....	26
7. LITERATURA.....	27

1. ÚVOD

Zástupci rodu *Micrasterias* patří k opravdu pozoruhodným organismům. Na rozdíl od mnoha jiných zelených řas se jedná o blízké příbuzné cévnatých rostlin, ačkoliv jsou pouze jednobuněční. Stejně jako oni patří do oddělení Streptophyta. To se od druhé skupiny říše Viridiplantae, Chlorophyta, liší uspořádáním mikrotubulů při buněčném dělení (Lewis & McCourt, 2004). Krásivky (řád Desmidiales), patřící do třídy Zygnematophyceae, mají unikátní způsob rozmnožování; konjugaci. V jejich životním cyklu také chybí jakéhokoliv bičíkaté stádium (Brook, 1981).

Micrasterias představuje vrchol tvarové evoluce v rámci krásivek. První zmínka o něm pochází z 19. století. Popsal jej švédský botanik Carl Adolf Agardh, a to ze vzorku, který pocházel z Karlových Varů, ale chybně jej zařadil do skupiny Ulvaceae (Agardh, 1827). První detailní popis morfologie a taxonomie rodu *Micrasterias* přinesla kniha *The British Desmidiae* od Johna Ralfse. Šlo také o počátek krásivkové nomenklatury (Ralfs, 1848). Ačkoliv se jeho fylogenezí zabývají vědci již několik let, stále zůstává mnoho otázek nezodpovězených. Obzvláště významný je pak problém druhových komplexů v rámci tohoto rodu, protože reálná diverzita je patrně mnohem větší, než se na první pohled může zdát (Neustupa et al., 2010).

Krásivky jsou též významnými bioindikátory. Na základě jejich přítomnosti a druhového složení byl vypracován systém hodnocení kvality lokality (Coesel, 2001). Některé druhy *Micrasterias* jsou vlajkové druhy zachovalých, ekologicky stabilních lokalit (Coesel, 2003). Vyskytují se v mezotrofních až oligotrofních vodách, které jsou kyselé. Najdeme je v rašelinných tůňkách, (tycho)planktonu jezer, vzácně i v efemerních tůňkách (Coesel & Meesters, 2007).

Pro jejich komplexitu a velikost se staly oblíbeným modelovým organismem. Významný je především výzkum morfogeneze (Pickett-Heaps, 1975; Schmid & Meindl, 1992; Meindl, 1993; Vannerum et al., 2011), ale slouží například i pro odhalení vlivu těžkých kovů na fotosyntézu (Andosch et al., 2012), nebo vlivu UV záření (Pihakaski & Kallio, 1978).

Tato bakalářská práce je rešerší shrnující dosavadní poznatky o fylogenezi rodu a diverzitě, rozšíření a ekologii jeho zástupců. Ve své diplomové práci se plánuji věnovat skryté diverzitě a biogeografii v rámci jednoho z problematických druhových komplexů uvnitř tohoto rodu.

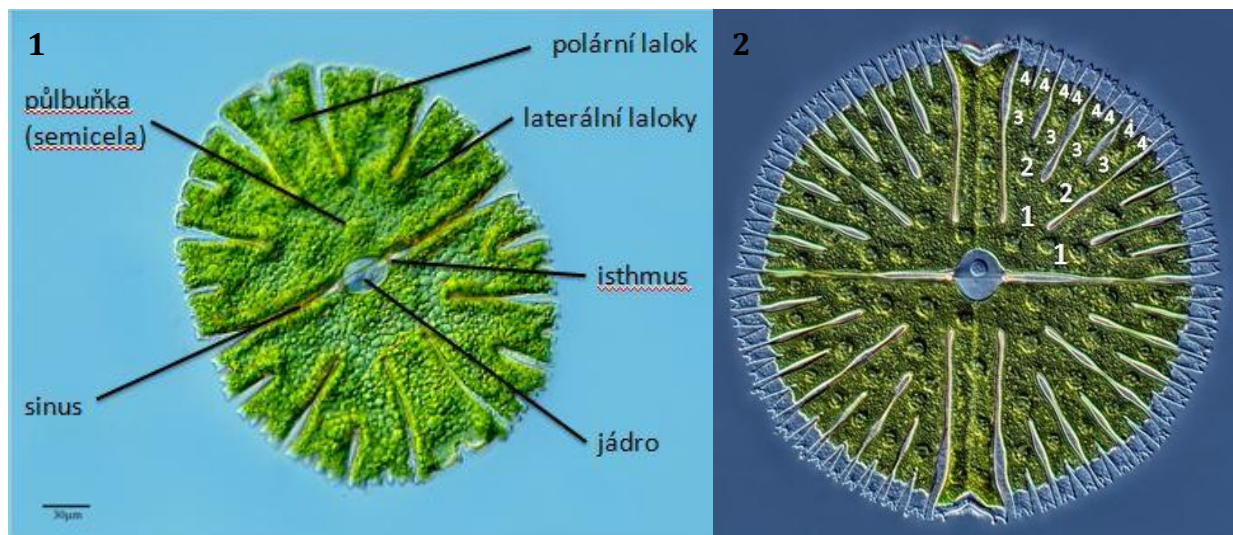
2. MORFOLOGIE A ROZMNOŽOVÁNÍ

Rod *Micrasterias*, jehož jméno je odvozeno od řeckého výrazu „malá hvězda“, zahrnuje jedny z nejkrásnějších a nejpůsobivějších organismů v rámci protist. Pozornost vědců přitahuje již téměř 200 let, od chvíle, kdy jej popsal švédský vědec Carl Adolf Agardh (Agardh, 1827).

Jeho zástupci jsou převážně jednobuněční, popřípadě mohou tvořit řetízkaté kolonie (*Micrasterias foliacea*). Jsou výjimeční svým uspořádáním buňky i členěním buněčné stěny na laloky (Ralfs, 1848).

2.1. Tvar

Buňky *Micrasterias* jsou oproti jiným krásivkám velmi velké a zploštělé. Mohou být široké až 400 μm (Růžička 1981). Každá buňka je rozdělena na dvě půlbuňky; semicely, které jsou téměř dokonalým zrcadlovým obrazem a jsou rozdílného stáří. Odděluje je zúžení, které nazýváme sinus. Semicely jsou spojeny plasmatickým můstkem (isthmus), uprostřed kterého se nachází jádro (Obr. 1). Povrch buňky může být hladký, ale často bývá pokrytý výrůstky, trny, nebo dolíky, které na povrchu vytváří ornamenty. (Brook, 1981).

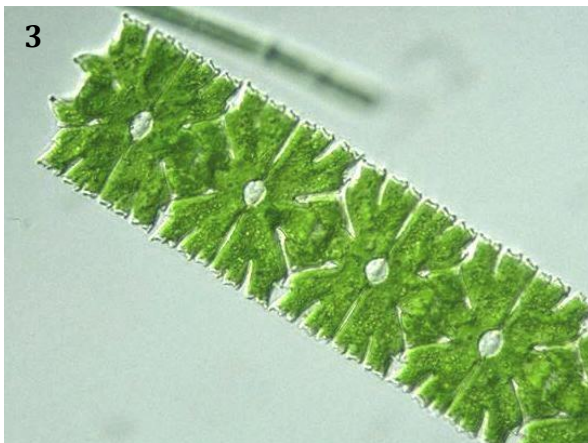


Obr. 1: Popis buňky *Micrasterias denticulata*. Upraveno podle Brook (1981). Foto: A. M. Ron

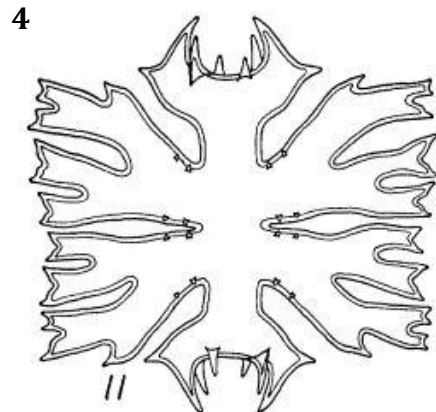
Obr. 2: Členění laterálního laloku u *Micrasterias sol*. Upraveno podle Krieger (1939). Foto: R. M. Gil

Podle tradičního pojetí bylo charakteristickým znakem *Micrasterias* členění semicel na laloky (Ralfs, 1848). To je sice udržováno i v současných monografiích (Coesel & Meesters, 2007), ačkoliv fylogenetické studie ukazují, že situace je komplikovanější (viz kapitola Fylogeneze). Prohlubně a zářezy rozdělují každou semicelu na jeden polární (vrchní) a jeden až dva laterální (boční) laloky (Brook, 1981). Laterální laloky se dále mohou dělit na laloky nižších řádů (Obr. 2). Větvení do laloků 4. řádu lze pozorovat např. u *Micrasterias radiosa*, do 3. řádu např. u *Micrasterias swainei*, do 2. řádu např. u *Micrasterias furcata*, nebo mohou být laloky nedělené, jako je tomu např. u *Micrasterias laticeps*.

Micrasterias foliacea je výjimečný svojí schopností tvořit řetízkaté kolonie, které mohou mít až stovky buněk (Obr. 3). Spojení je zajištěno velkými trny na laterálních lalocích, které drží sousední buňky pohromadě (Johnson, 1894) (Obr. 4). Ty se vytváří již v průběhu dělení buněk (Lorch & Engels, 1979).



Obr. 3: *Micrasterias foliacea*. Foto: Y. Tsukii



Obr. 4: *Micrasterias foliacea*. Detail jedné buňky. Upraveno podle Prescott & Scott (1952)

2.2. Vnitřní organizace buňky

Buněčná stěna je dvoudílná a oba její díly se překrývají v místě styku semicel. Tvoří ji tři vrstvy; primární buněčná stěna, sekundární buněčná stěna a slizový obal. Každá z vrstev má odlišné chemické složení a strukturu (Brook, 1981; Kalina & Váňa, 2005).

Primární buněčná stěna, která dává buňce tvar, je složena z celulózy a pektinu, které tvoří neuspořádanou síť mikrofibril (Brook, 1981). Je formována fúzí váčků Golgiho komplexu, které přináší materiál a exocytují ho (Schmid & Meindl, 1992).

Sekundární buněčná stěna se začíná ukládat až po vytvoření stěny primární. Formuje se na vnitřní straně primární stěny a je čistě celulózní. Skládá se z dlouhých svazků paralelně uspořádaných mikrofibril (3-20 na svazek), které leží v několika vrstvách nad sebou a svírají mezi sebou různé úhly (Brook, 1981; Kim et al. 1996). Celulóza je transportována přes plasmatickou membránu rozetovými komplexy, které jsou zodpovědné za tvar svazků mikrofibril a zajišťují jejich orientaci (Giddings et al. 1980).

Sekundární buněčná stěna rodu *Micrasterias* obsahuje póry. Mají velikost přibližně 200 nm a slouží buňce k vyloučení slizu na její povrch. To začíná až po dokončení formování sekundární buněčné stěny. Slizový obal u rodu *Micrasterias* tvoří hustá síť tenkých polysacharidových vláken, která se po vyloučení z buňky ukládá na jejím vnějším povrchu (Brook, 1981). Podle studie od Oertel et al. (2004) může být slizový obal u buněk *Micrasterias* sekretován dvěma nezávislými způsoby. Prvním je vylučování vrstvy slizu po celém povrchu, které chrání buňku během mitózy a vytváří kolem ní vhodné mikroklima zajišťující další vývoj. Druhým způsobem je orientovaný a aktivní pohyb buňky za světlem, popřípadě klouzání po povrchu substrátu.

Jádro nerostoucí buňky *Micrasterias* je velké a zaplňuje téměř celý isthmus, kde jej obklopuje mnoho mitochondrií a Golgiho aparát (Meindl, 1993). Jader může být různý počet, jedno nebo více, a mohou být různě velká. Existují tři možné varianty uspořádání. Jednou možností je přítomnost jednoho nebo více kulovitých jader. Další případ je, že jádro má jiný než kulovitý tvar. V případě třetí varianty najdeme v buňce několik malých kulovitých jader spojených dohromady spojkami (Brook, 1981).

Vegetativní buňky jsou haploidní. Počet chromosomů v jádře může být různý, největší má v haploidním stavu *Micrasterias rotata*, a to 200 (Kallio, 1953). Jde o holocentrické (holokinetické) chromozomy, které mají kinetochory rozprostřené podél celého chromozomu. To je také dělá náchylné k symploidii a agmatoploidii, tedy fúzí a štěpením chromozomů (Poulíčková et al., 2014). Velikost chromozomů je také charakteristická pro jednotlivé druhy, kolísá mezi 1 až 7,5 μm (Brook, 1981). Obsah DNA je také variabilní, pohybuje se v závislosti na druhu mezi 1 až 32,4 pg (pikogramů) v haploidním stavu. Krásivky mají největší genomy mezi rostlinami. Množství DNA může být různé i v rámci jedinců stejného druhu, například u *Micrasterias truncata* 8,7 – 15,3 pg a u *M. rotata* 16,0 – 32,4 pg (Poulíčková et al., 2014).

Chloroplasty jsou v každé dospělé buňce rodu *Micrasterias* dva. Mají deskovitý tvar a zasahují až do jednotlivých laloků buněčné stěny (Kalina & Váňa, 2005). Jejich tvar patří mezi krásivkami k nejpokročilejším. Obsahují velké množství pyrenoidů; celkově až sto (Brook, 1981).

2.3. Rozmnožování

U rodu *Micrasterias* je známo pohlavní i nepohlavní rozmnožování. Pohlavní rozmnožování je ale velmi vzácné a bylo zaznamenáno jen u některých druhů (Krieger, 1939; Coesel & Meesters, 2007). V případě nepohlavního rozmnožování se buňka rozdělí v místě plasmatického můstku na dvě půlbuňky, kterým jejich druhá polovina postupně doroste. Pohlavní rozmnožování u krásivek nazýváme konjugace. Jde o naprosto unikátní způsob rozmnožování, který u jiných protist nenajdeme (Brook, 1981).

2.3.1. Nepohlavní rozmnožování

Nepohlavní rozmnožování u rodu *Micrasterias* je v mnoha ohledech fascinující proces. Při každém dělení, které trvá několik hodin, vznikají dvě nové půlbuňky, které jsou kopií mateřských semicel (Brook, 1981).

Celý proces začíná rozdělením jádra a formováním septa, které odděluje semicely v místě isthmu. V dalším kroku se začíná formovat primární buněčná stěna nových půlbuněk. Ty se postupně zvětšují a diferencují. Chloroplast se přesune do nově vznikající semicely. Poté je zahájena tvorba sekundární buněčné stěny (Brook, 1981) (Obr. 5).



Obr. 5: Nepohlavní rozmnožování u *Micrasterias rotata*.
Foto: H. Schulp

2.3.2. Pohlavní rozmnožování

Micrasterias se stejně jako jiné krásivky rozmnožuje konjugací. Jedná se o anizogamii, tedy splývání dvou morfologicky odlišných gamet. Ta může probíhat pouze

Obr. 6: Konjugační struktura u *M. thomasiana* var. *notata*. c. c. – konjugační kanál. Upraveno podle Blackburn & Tyler (1981)

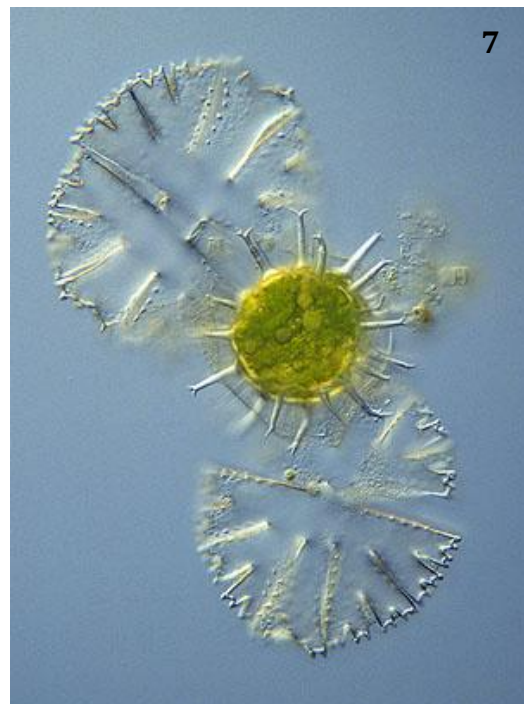
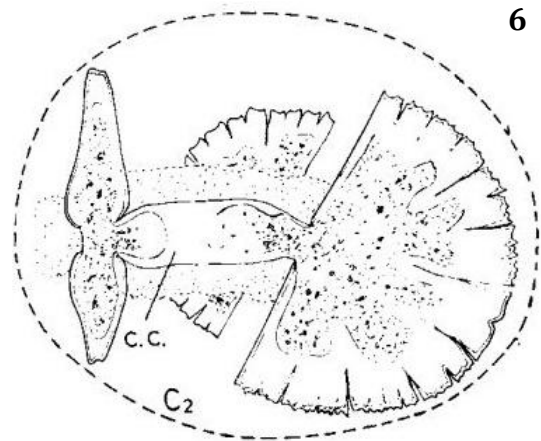
mezi heterotalickými kmeny. V těch se vyskytují odlišné + a – buňky, které spolu konjugují. Málokdy se oba tyto typy buněk nachází na jedné lokalitě (Blackburn & Tyler, 1980). U homotalických kmenů nebyla zaznamenána (Blackburn & Tyler, 1981).

Na začátku celého procesu vytvoří buňky páry. U některých druhů poté dochází k vegetativnímu dělení buněk, například *M. thomasiana* var. *notata*. Tato čtveřice pak vytvoří páry mezi sebou, popřípadě s buňkami z okolních skupin (Blackburn & Tyler, 1981). U některých druhů se buňky před konjugací vegetativně nedělí, jako například u *M. mahabulesharensis* (Blackburn & Tyler, 1980). Dvojice konjugujících buněk kolem sebe vytvoří slizový obal (Oertel et al., 2004). Mezi oběma buňkami dochází postupně k formování papil, které se zvětšují. U jedné z buněk se ale papila zvětšuje mnohem rychleji a má kulovitý tvar. Po spojení papil dochází k postupnému splývání protoplastů améboidním pohybem a vytvoření kulovitého váčku, popřípadě jiného konjugačního aparátu, jako kanálu, nebo cylindru (Obr. 6).

Ten se po splnutí smrští a dále se vyvíjí v zygosporu. Po konjugaci zůstávají z původních buněk pouze buněčné stěny, protoplasty splynuly (Blackburn & Tyler, 1981).

Vznikne tlustostěnná zygospora, která má tři vrstvy. Vnitřní tenká endospora, střední tlustá mezospora a vnější exospora. Exospora je voděodolná a ornamentovaná (Brook, 1981). Zygospora dokáže přežít i několik měsíců trvající vyschnutí (Blackburn & Tyler, 1981).

Obr. 7: Zygospora u druhu *Micrasterias papillifera*. Foto: W. van Egmond



6

7

V dalším kroku probíhá v zygospoře meióza. Ze čtyř vzniklých jader se ale zachovává pouze jedno. Prasklinou v mezospoře a exospoře se ze zygospory uvolní endospora. V té dochází k postupnému formování nové buňky, rozdělení chloroplastu a vytvoření istmu. Nově vzniklá buňka se ihned vegetativně rozdělí (Blackburn & Tyler, 1980; 1981).

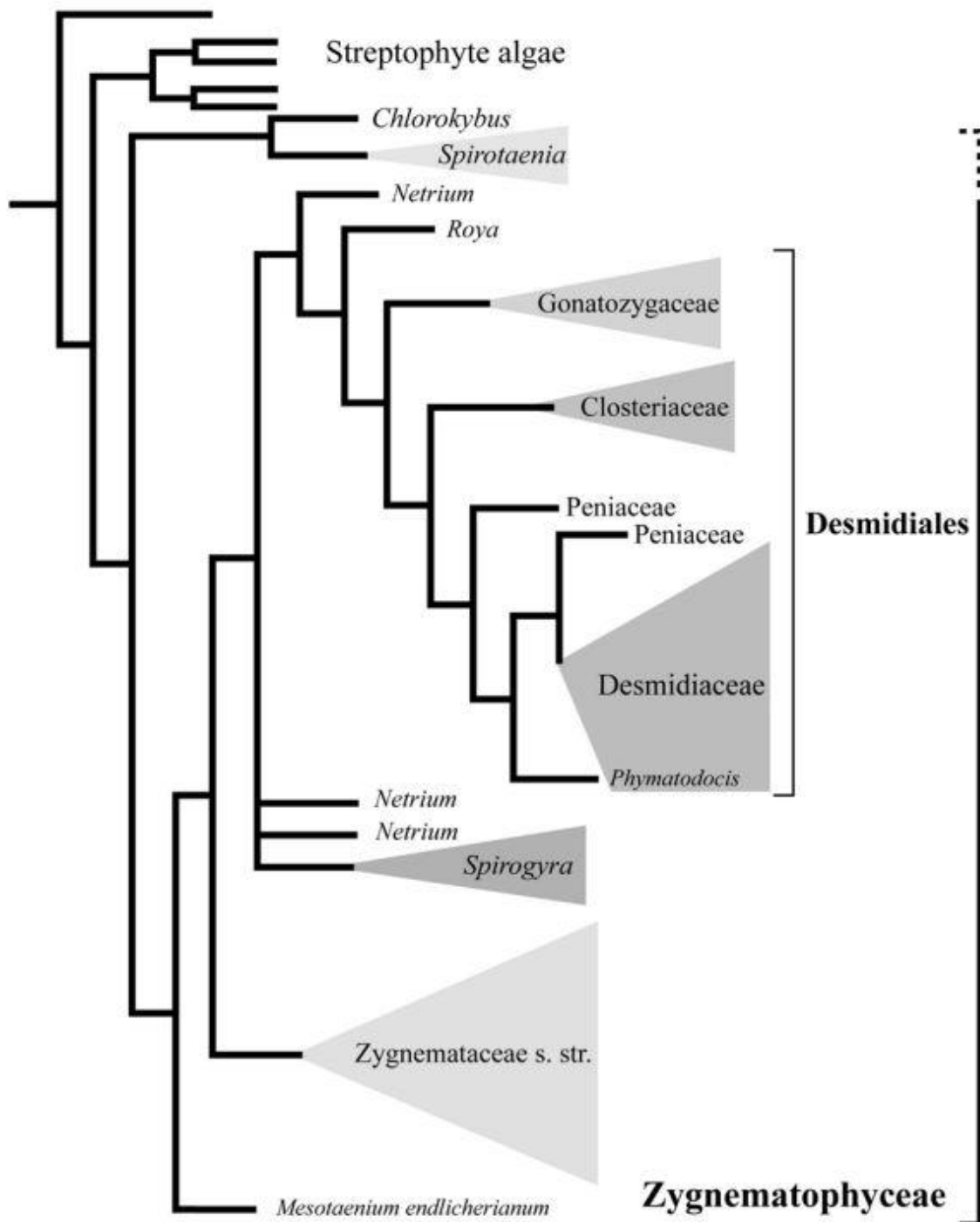
3. FYLOGENEZE

Oddělení Streptophyta a Chlorophyta společně tvoří skupinu zelených rostlin Viridiplantae (Cavalier-Smith, 1981). Oddělení Streptophyta zahrnuje všechny rostliny ze skupiny Embryophyta a dále charofytní sladkovodní zelené řasy. Tato velká skupina se na základě morfologie a molekulárních dat rozděluje na třídy Charophyceae, Coleochaetophyceae, Klebsormidiophyceae, Mesostigmatophyceae, Chlorokybophyceae a Zygnematophyceae (Lewis & McCourt, 2004; McCourt et al., 2004; Becker & Marin, 2009; Leliaert et al., 2012).

3.1. Třída Zygnematophyceae

Charakteristika a odlišnosti třídy Zygnematophyceae jsou známé již dlouhou dobu a její tradiční klasifikace byla založená na morfologii, především pak ultrastruktuře buněčné stěny a uspořádání chloroplastu. Vyznačuje se absencí centriol, bičíkatých stádií v životním cyklu a konjugací, coby způsobem rozmnožování (Brook, 1981; Lewis & McCourt, 2004). Fylogenetická studie založená na sekvencích genů pro 18S rRNA, chloroplastové *rbcL* a mitochondriální *nad5* ukázala, že třída Zygnematophyceae se oddělila po vzniku tříd Chlorokybophyceae a Klebsormidiophyceae, ale ještě před Coleochaetophyceae a Charophyceae. To by znamenalo, že nejbližší příbuzná skupina suchozemským rostlinám je třída Charophyceae (Lewis & McCourt, 2004; McCourt et al., 2004). Práce skupiny Wodniok et al. (2011), ale přišla s jiným výsledkem. Místo rRNA nebo sekvencí organelového původu použili k rekonstrukci fylogeneze velkou skupinu v jádře kódovaných proteinů. Jejich závěrem bylo, že třída Zygnematophyceae je spolu s Coleochaetophyceae bližší vyšším rostlinám než třída Charophyceae. K tomuto závěru došli i Zhong et al. (2014). Monofyletismus třídy Zygnematophyceae byl potvrzený mnoha výzkumy, založenými na jaderné SSU rRNA a chloroplastovém genu *rbcL*. Tyto

8



Obř. 8: Fylogenetický strom řřidy Zygnematophyceae. Podle Gontcharov (2008)

dva markery se staly hlavním zdrojem informací o této řřidě (Bhattacharya et al. 1994; Besendahl et al. 1999; Gontcharov et al. 2003; 2004).

3.2. Řád Desmidiales a čeleď Desmidiaceae

Třída Zygnematophyceae zahrnuje dva řády, Desmidiales a Zygnematales. Řád Desmidiales se dělí na čtyři čeledi; Closteriaceae, Gonatozygaceae, Peniaceae a Desmidiaceae. Toto rozdělení vychází z jejich morfologie (Brook, 1981) a bylo potvrzeno molekulárně fylogenetickými studiemi (McCourt et al., 2000; Hall et al., 2008).

Molekulární analýzy založené na sekvenci SSU rDNA, chloroplastových genech *rbcL* a *psaA* a mitochondriální *coxIII*, popřípadě jejich kombinaci prokázaly, že řád Desmidiales je monofyletická skupina (Bhattacharya et al., 1994; Besendahl et al., 1999; McCourt et al., 2000; Gontcharov et al., 2003; Hall et al., 2008). U jeho čeledí Closteriaceae, Gonatozygaceae a Desmidiaceae jsou pozice v systému i monofyletismus potvrzené. V případě třídy Peniaceae není pozice úplně jasná, s největší pravděpodobností je polyfyletická (Hall et al., 2008). Desmidiaceae je nejpokročilejší čeleď řádu Desmidiales (McCourt et al., 2000; Gontcharov et al., 2003; Hall et al., 2008). Druhý řád třídy Zygnematophyceae, Zygnematales, se naproti tomu ukázal být parafyletický (McCourt et al., 2000; Gontcharov et al., 2003).

3.3. Rod *Micrasterias*

Rod *Micrasterias* představuje vrchol tvarové evoluce krásivek a vzhledem k jeho složitému tvaru není pravděpodobné, že by se v evoluci vyvinul vícekrát (Škaloud et al. 2011).

Několik molekulárních studií (Gontcharov et al., 2003; Hall et al., 2008; Gontcharov & Melkonian, 2011) poukázalo na to, že mezi rod *Micrasterias* náleží i druhy, které jsou morfologicky velmi odlišné. SSU rDNA sekvence druhu *Staurodemus dickiei* se ukázala být velmi podobná sekvenci *Micrasterias crux-melitensis*. Lišily se pouze v patnácti nukleotidech. Tento výsledek byl nečekaný vzhledem k jejich velké morfologické odlišnosti. *Staurodemus dickei* má nezploštělé triradiální buňky s jednoduchými výběžky na buněčné stěně, zatímco *M. crux-melitensis* má zploštělé buňky komplikovaně členěné na laloky. Autoři se domnívali, že by *S. dickei* mohl být zástupcem rodu *Micrasterias*, u kterého ale došlo k morfologickému zjednodušení. Rod *Micrasterias* tedy nemohl být považován za monofyletický (Gontcharov et al., 2003). Podobný problém byl objeven i u krásivky *Triploceras gracile*. Tento druh má prodloužené polární laloky, zatímco laterální jsou redukovány a pokrývají je výběžky. Ve

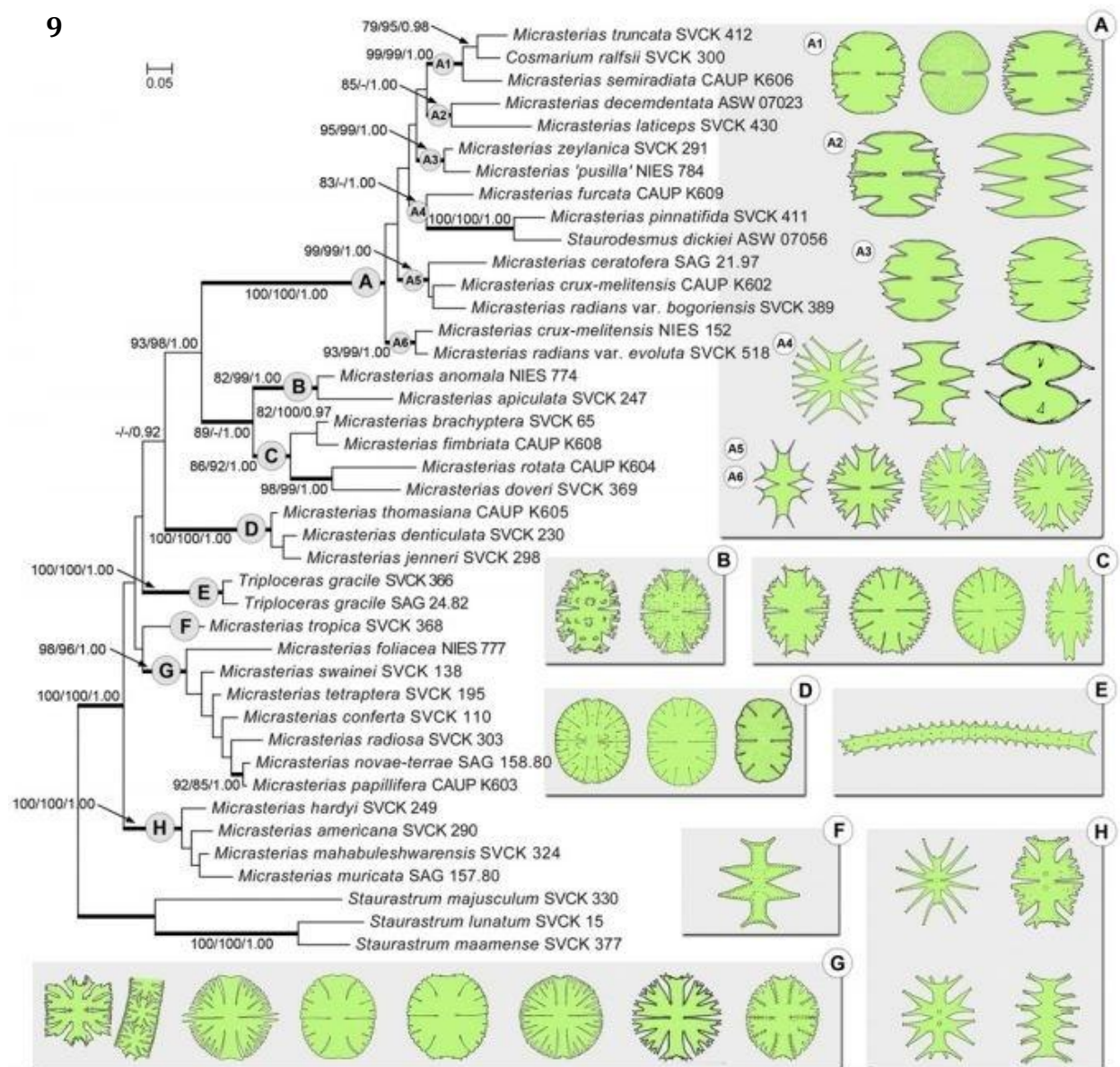
vytvořeném fylogenetickém stromě je zakořeněný mezi druhy rodu *Micrasterias* (Hall et al., 2008). Dalším druhem, který podle fylogenetické analýzy patří do rodu *Micrasterias*, je *Cosmarium ralfsii* (Gontcharov & Melkonian, 2011).

Fylogenetická studie, kterou vypracovali Škaloud et al. (2011), vyhodnotila vztahy mezi 34 druhy rodu *Micrasterias* na základě sekvencí SSU DNA, *psaA* a *coxIII*. Rozdělila rod *Micrasterias* do osmi linií A – H (Obr. 9). Každá z nich je charakterizovatelná pomocí morfologie.

Linie A zahrnuje nejvíce druhů zařazených do studie a v rámci ní lze rozlišit další morfologicky odlišné skupiny. Podskupiny A1-A3 mají středně velké buňky s širokými polárními laloky a jednotlivé laloky nižších řádů jsou rozděleny mělkými zářezy. Podskupiny A5 a A6 jsou naproti tomu morfologicky odlišné. Obsahují velké druhy, jejichž laloky jsou rozděleny hlubokými zářezy a mají úzké polární laloky. Do této linie také patří dva druhy, u kterých se podle dříve zpracovaných studií ukázalo, že patří k rodu *Micrasterias*, a to *Cosmarium ralfsii* a *Staurodesmus dickiei*. *C. ralfsii* náleží do linie A1 a je příbuzné druhům *M. truncata* a *M. semiradiata*. Od tradičních druhů rodu *Micrasterias* se liší absencí rozdělení semicel na laloky. *Staurodesmus dickiei* patří do podskupiny A4, společně s druhy *M. pinnatifida* a *M. furcata*. Linie B je charakterizována přítomností 3-7 silných ostnů v blízkosti isthmu. Náleží do ní druhy *M. anomala* a *M. apiculata*. Druhy v linii C mají nerovnoměrně větvené laterální laloky, horní jsou v rámci jedné půlbuňky dělené na více řádů než spodní laloky. V linii D jsou druhy s oválnými nebo podlouhlými buňkami a úzkými zářezy mezi laloky, a to *M. thomasiana*, *M. denticulata* a *M. jenneri*. Linii E tvoří pouze druh *Triploceras gracile*, podobně i linie F obsahuje pouze *M. tropica*. Tento druh má nedělené laterální laloky a dlouhé výběžky na laterálních lalocích. Naproti tomu linii G tvoří druhy s hlubokými zářezy mezi laloky, které jsou rozděleny do vyšších řádů. I u nich, stejně jako u linie C, je větvení laloků nerovnoměrné a v horní části půlbuňky jsou větvené více. Jediný vláknitý druh, *M. foliacea*, obsadil bazální pozici v této linii. Charakteristické znaky linie H jsou hluboké a otevřené zářezy mezi laloky, spolu s širokým polárním lalokem se dvěma krátkými výběžky. Zatímco stupeň větvení laloků dobře koreluje s fylogenezí, komplexita buněk nikoliv (Škaloud et al., 2011).

Tato studie (Škaloud et al., 2011) potvrzuje monofyletismus rodu *Micrasterias*, navzdory několika předchozím fylogenetickým analýzám, podle kterých vycházel jako polyfyletický nebo parafyletický (Gontcharov et al., 2003; Gontcharov & Melkonian,

2008). Druhy *Staurodesmus dickiei* a *Cosmarium ralfsii* byly přejmenovány na *Micrasterias dickiei* a *Micrasterias ralfsii*. *Triploceras gracile* se v evoluci oddělil od rodu *Micrasterias* mnohem dříve než předchozí dva druhy. Je sice pravděpodobné, že předek *T. gracile* náležel k rodu *Micrasterias*, ale vzhledem k tomu, že ve fylogenetickém stromě obsadil bazální pozici, není jasné, zda evoluce tohoto rodu neproběhla z předka, který vypadal jako *Triploceras*. Původní Ralfsův (Ralfs, 1848) popis rodu *Micrasterias* byl na základě této práce emendován, tedy doplněn a upřesněn (Škaloud et al., 2011).



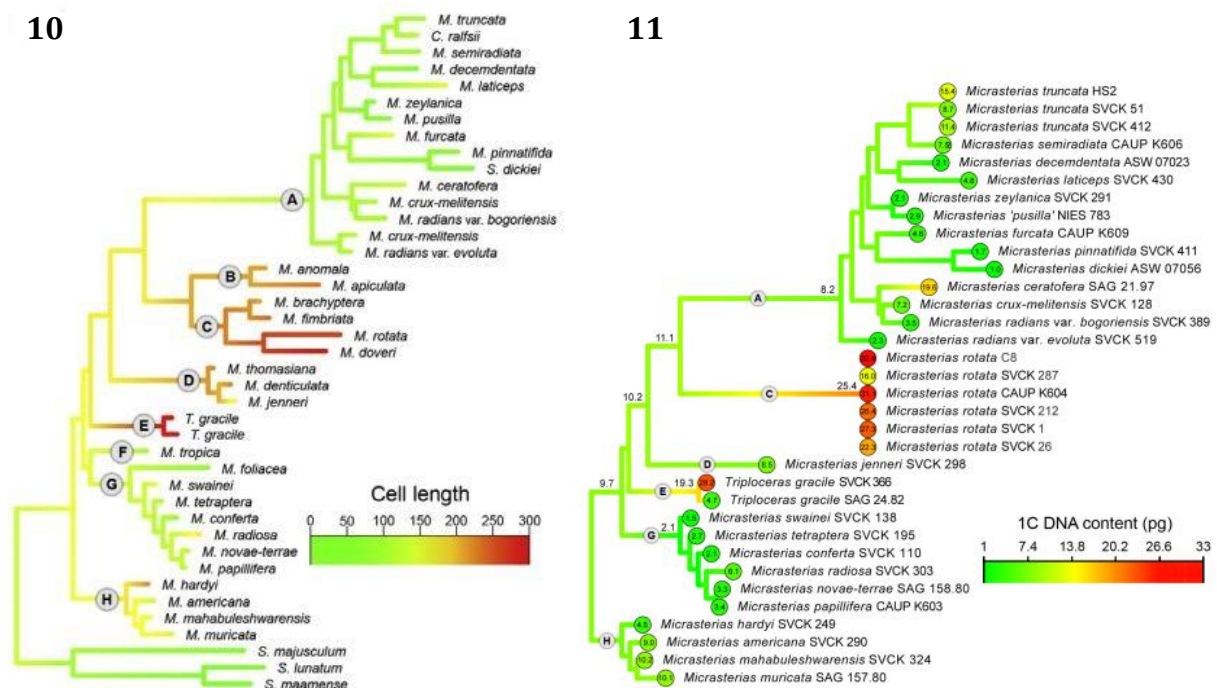
Obr. 9: Fylogenetický strom rodu *Micrasterias* s osmi dobře podpořenými liniemi (A – H). Podle Škaloud et al. (2011)

3.4. Morfologická diference

Faktorů, které mohou ovlivnit morfologii buněk, je mnoho. Častým podnětem těchto změn jsou stresové podmínky, jako UV záření nebo vysoká teplota. To, že reakce buněk rodu *Micrasterias* na takový podnět může být výrazná, dokázalo mnoho studií zaměřených na morfogenezi (Pihakaski & Kallio, 1978; Meindl, 1990; Neustupa et al. 2008). Tyto situace mohou nastat i v přírodním prostředí a stát se příčinou změn, vedoucích až ke vzniku nových druhů (Škaloud et al., 2011; Pouličková et al., 2014).

3.4.1. Velikost buněk a stupeň větvení laloků

Studie od skupiny Škaloud et al. (2011) rozdělila druhy rodu *Micrasterias* do osmi dobře podpořených linií (viz podkapitola Rod *Micrasterias*). Každá z nich je morfologicky charakterizovatelná. Jedním z důležitých znaků je velikost buněk. Linie A a G zahrnují menší druhy s délkou maximálně 175 μm . Naproti tomu druhy z linií B, C a E jsou větší, mají více než 200 μm (Obr. 10). Ukázalo se, že tento znak koreluje s obsahem DNA (Pouličková et al., 2014).

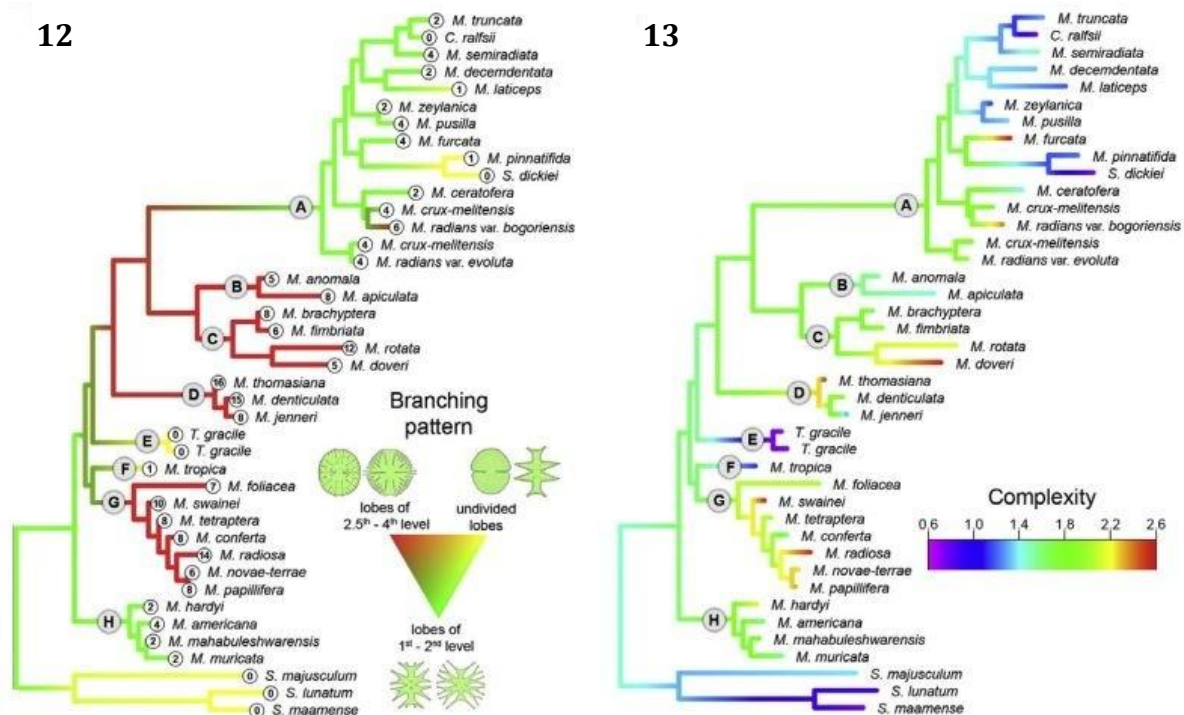


Obr. 10: Evoluce délky buněk mapovaná na fylogenetickém stromě rodu *Micrasterias*. Měřítka je v μm . Podle Škaloud et al. (2011)

Obr. 11: Evoluce obsahu DNA mapovaná na fylogenetickém stromě rodu *Micrasterias*. Písmena A-H značí jednotlivé linie. Odhadovaný obsah DNA je vyznačený na bazální pozici každé linie. Podle Pouličková et al. (2014)

Dokonce i jednotlivé linie se mezi sebou liší jeho obsahem (Obr. 11). Velikost genomu vysvětluje 42,3% velikostní variability rodu *Micrasterias*. Například *M. rotata* v linii C má jedny z největších buněk a zároveň největší obsah DNA (Poulíčková et al., 2014). Buňky rodu *Micrasterias* jsou náchylné k polyploidizaci. Polyploidní buňky se podařilo vyprodukovat v laboratorních podmínkách a jsou zpravidla větší než buňky haploidní (Kallio, 1951). Na druhou stranu u třech druhů (*Micrasterias rotata*, *M. truncata* a *Triploceras gracile*) byl obsah DNA různý u blízké příbuzných kmenů. To indikuje pravděpodobnou rychlou evoluční dynamiku ve velikosti genomu. Například u *T. gracile* byl rozdíl mezi dvěma kmeny až pětinasobný (Poulíčková et al., 2014). U *M. rotata* nemá evidentně změna v obsahu DNA žádný taxonomický důsledek (Neustupa et al., 2011).

Druhým důležitým znakem buněk rodu *Micrasterias* je stupeň větvení laterálních laloků. Tento znak také koreluje s evolucí tohoto rodu. Druhy z linií A a H mají laloky dělené málo, popřípadě nedělené. Naproti tomu v liniích B – D a G jsou druhy s laloky dělenými do minimálně do 3. řádu (Obr. 12) (Škaloud et al., 2011).



Obr. 12: Evoluce stupně větvení mapovaná na fylogenetickém stromě rodu *Micrasterias*. Podle Škaloud et al. (2011)

Obr. 13: Evoluce komplexity buněk mapovaná na fylogenetickém stromě rodu *Micrasterias*. Podle Škaloud et al. (2011)

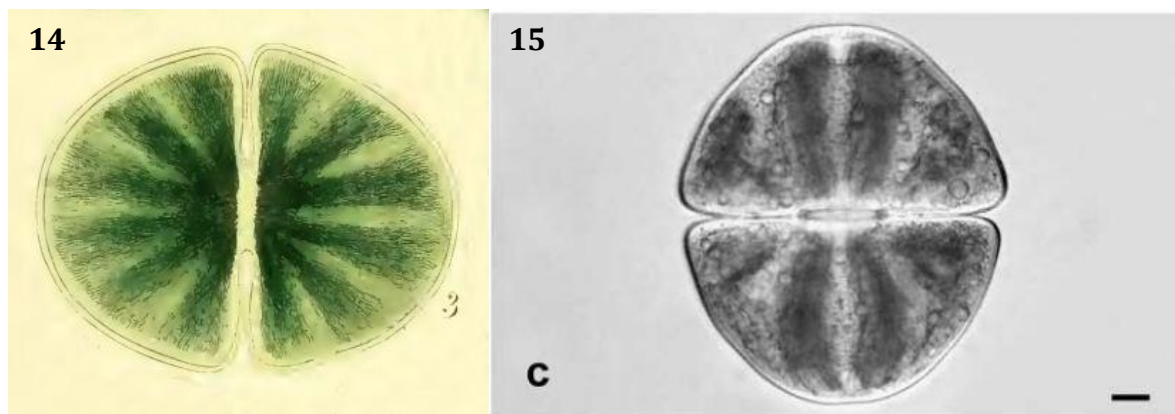
Výjimku tvoří pouze *Micrasterias radians* var. *bogoriensis*, který ačkoliv patří do linie A, má laloky dělené do 3. řádu (Škaloud et al., 2011). Zajímavý je fakt, že stupeň větvení laloků je také ovlivnitelný polyploidizací, jak poukázal Kallio (1953).

Na rozdíl od znaků, jako jsou stupeň větvení a délka buněk, komplexita buněk rodu *Micrasterias* nijak nekoresponduje s fylogenezí (Obr. 13) (Škaloud et al., 2011). V tomto případě se může jednat o morfologickou odpověď buněk na změny podmínek prostředí, jako je pH (Černá & Neustupa, 2009) nebo teplota (Neustupa et al., 2008).

3.4.2. Zrychlená morfologická evoluce

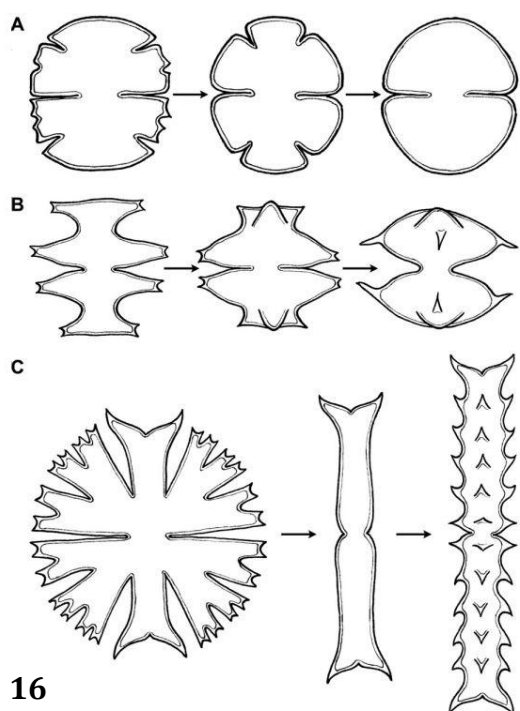
Může se zdát zvláštní, že mezi rod *Micrasterias* patří i druhy, které jsou morfologicky velmi odlišné. Jejich vznik zapříčinila období zrychlené morfologické evoluce během diverzifikace tohoto rodu (Škaloud et al., 2011). Díky mnoha pracím o morfogenezi a plasticitě tohoto rodu ale víme, že změny na buňkách mohou být výrazné (Bicudo & Sormus, 1972; Sormus & Bicudo, 1974; Bicudo & Senna, 1975; Vyverman & Viane, 1995; Holloway & Harrison, 1999). Ty vedly ke vzniku třech druhů, které neodpovídají tradičnímu popisu rodu podle Ralfse (1848).

Prvním z nich je *Micrasterias ralfsii* (dříve *Cosmarium ralfsii*). Pokud porovnáme jeho tvar s tvarem druhů, které jsou mu blíže příbuzné, jako *M. truncata* a *M. semiradiata*, můžeme si udělat určitou představu o vývoji tohoto druhu. Ten zahrnoval vyhlazení jednotlivých zářezů mezi laloky (Obr. 16). I velikost tohoto druhu je přibližně stejná, jako u jeho příbuzných (Škaloud et al., 2011). Jeho buňky jsou větší než u ostatních druhů rodu *Cosmarium* a jejich chloroplast je podobný spíše chloroplastům



Obr. 14: *Micrasterias ralfsii*. Podle Ralfs (1848)

Obr. 15: *Micrasterias ralfsii*. Měřítko = 10 μ m. Podle Šťastný (2009)

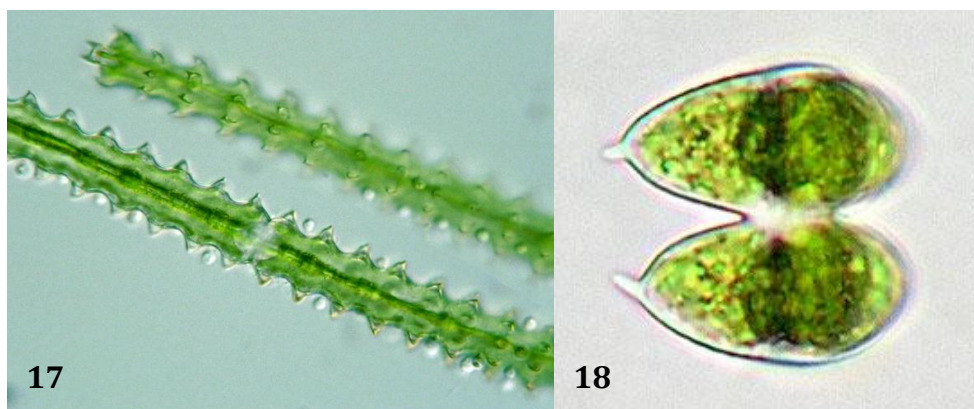


16

Obr. 16: Hypotetický průběh morfologické transformace, který mohl vést k evoluci tří morfologicky odlišných druhů. A – speciace druhu *M. ralfsii*, B – Speciace druhu *M. dickiei*, C – speciace druhu *Triploceras gracile*. Podle Škaloud et al. (2011)

ostatních zástupců rodu *Micrasterias*, je laločnatý i přes to, že je tvar buňky oválný (Ralfs, 1848; Šťastný, 2009) (Obr. 14, 15). *Micrasterias dickiei* (dříve *Staurodesmus dickiei*) se od svých příbuzných odlišuje mnohem více, než předchozí druh. Jeho buňky jsou totiž triradiální (Obr. 16, 18). I když se tato proměna může zdát zvláštní, triradiální formy jiných druhů *Micrasterias* jsou známé z přírodních vzorků (West & West, 1905) a jejich vznik lze indukovat i ozářením a nucenou diploidizací (Kallio, 1951; 1953). *M. dickiei* má ale nejmenší genom ze všech druhů *Micrasterias* (Pouličková et al., 2014).

Třetím morfologicky odlišným druhem je *Triploceras gracile*. V jeho případě není úplně jasné, zda se jedná o předka rodu *Micrasterias*, nebo formu, do které se vyvinul redukcí laterálních laloků, prodloužením buňky a vytvořením trnů na svém povrchu (Škaloud et al., 2011) (Obr. 16, 17). Takové změny na buňkách byly pozorovány jak v přírodních vzorcích, tak v laboratorních podmínkách po vystavení buněk stresu (Pickett-Heaps, 1975).



17

18

Obr. 17: *Triploceras gracile*. Foto: A. van Geest

Obr. 18: *Micrasterias dickiei*. Foto: A. van Geest

4. DIVERZITA

4.1. Tradiční taxonomie

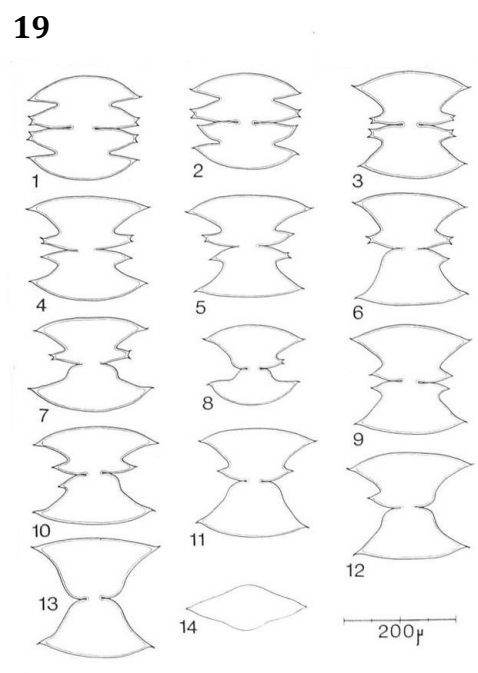
Tradiční taxonomie rodu *Micrasterias* je založená na morfologii buněk, tedy velikosti, stupni větvení laloků a jejich počtu a tvaru (Brook, 1981). V minulosti bylo popsáno mnoho druhů a postupně jich přibývalo. Tradičně rod *Micrasterias* zahrnuje přibližně 60 druhů a několik stovek variet (Ralfs, 1848; Krieger, 1939), celkem je to kolem 900 taxonů (Guiry & Guiry, 2014). V České republice najdeme přibližně 14 druhů (Šťastný, 2010). Problém klasifikace druhů se řešil různými způsoby. Na jedné straně popisovali mnoho variet a forem (Prescott et al., 1977), nebo vytvořili systém několika skupin, které mohou zahrnovat pouze několik málo druhů (Krieger, 1939). Fylogenetická studie od Škaloud et al. (2011) podpořila klasifikaci podle Kriegera (1939).

4.2. Skrytá diverzita

4.2.1. Problémy tradiční taxonomie

Současné studie zabývající se problematikou druhových komplexů, využívají kombinaci více metod, tedy multidisciplinární přístup, protože každá z nich sama o sobě má své nevýhody a nestačí na definování druhu v rámci rodu *Micrasterias* (Kouwets, 2008). První z nich je klasifikace podle tradičních morfologických znaků, jako jsou délka buňky a úhly popisující její tvar. K usnadnění těchto měření navrhnul Tyler (1971) mikroskopickou techniku. Tento přístup byl využit například ke klasifikaci dvanácti forem druhu *Micrasterias laticeps*, z nichž byly některé dokonce dříve popsány jako jiný rod *Cosmarium* (Obr. 19).

Obr. 19: *Micrasterias laticeps*. 1 – 13: rozdílné morfologické varianty nalezené v jenom vzorku. 14: apikální pohled. 13: forma dříve považovaná za *Cosmarium arthrodesmiforme*. Podle Bicudo & Sormus (1972).

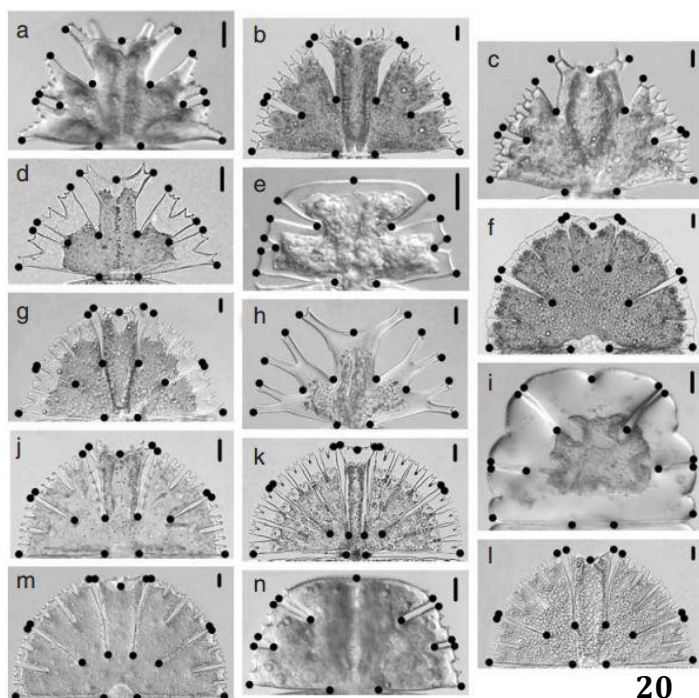


Autoři zároveň upozornili na to, že je téměř nemožné definovat druh nebo varietu bez důkladného prozkoumání variability buněk v rámci jedné populace (Bicudo & Sormus, 1972). K podobným závěrům došli i další autoři v pozdějších letech (Sormus & Bicudo, 1974; Bicudo & Senna, 1975; Vyverman & Viane, 1995). Blackburn & Tyler (1987) na svých křížících experimentech dokázali, že ani biologický koncept druhu není dobře použitelný.

4.2.2. Metody pro odhalení skryté diverzity

Výše zmíněný multidisciplinární přístup byl několikrát použit pro odhalení skryté diverzity v rámci druhových komplexů rodu *Micrasterias* (Neustupa et al., 2010; Nemjová et al., 2011; Neustupa et al., 2011). Jde o kombinaci vyhodnocení morfometrických, molekulárních, ultrastrukturních a ekologických dat. Místo tradičních morfometrických metod byla využita geometrická morfometrika. Ta hodnotí dynamiku tvaru jako celku (Neustupa & Šťastný, 2006). Statisticky podložená vhodnost využití metod geometrické morfometrie při odhalování diverzity byla již dříve demonstrována několikrát (Jensen et al. 2002; Beszteri et al., 2005). Tato metoda je velmi vhodná pro rod *Micrasterias*, protože díky jeho komplikovanému tvaru je možné dobře odhalit morfologické rozdíly mezi jednotlivými druhy. Spočívá v umístění značek (tzv. landmarků) na stejné pozici na každé půlbuňce (jako například na výběžky jednotlivých laloků, nebo do zářezů mezi laloky) a jejich následnému porovnání mezi sebou (obr. 20)

(Neustupa & Šťastný, 2006).

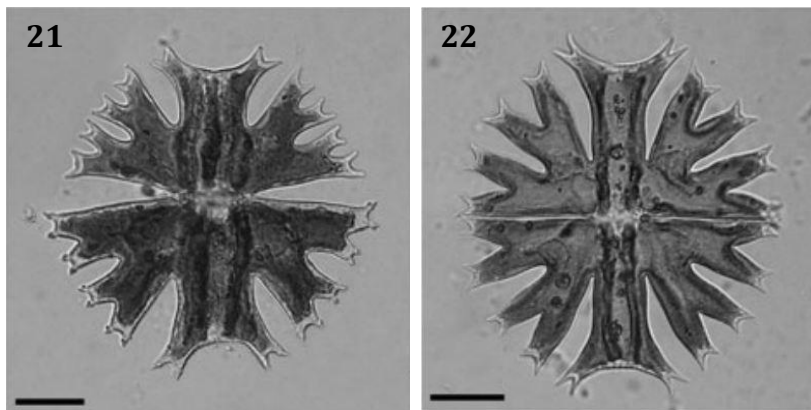


Obr. 20: Semicely druhů zahrnutých do studie s polohami landmarků. a – *Micrasterias americana*, b – *M. apiculata*, c – *M. brachyptera*, d – *M. crux-melitensis*, e – *M. decemdentata*, f – *M. denticulata* var. *angulosa*, g – *M. fimbriata*, h – *M. furcata*, i – *M. jenneri*, j – *M. papillifera*, k – *M. radiosa*, l – *M. rotata*, m – *M. thomasiana* var. *notata*, n – *M. truncata*. Měřítko = 10 μm . Podle Neustupa & Šťastný (2006).

20

4.2.3. Druhové komplexy

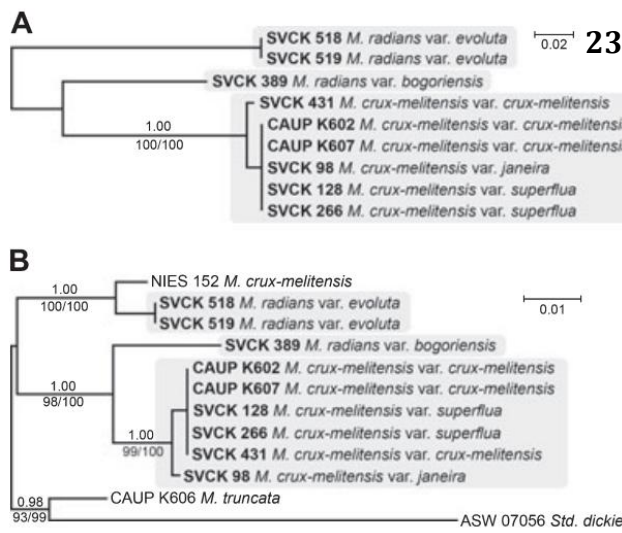
V rámci rodu *Micrasterias* byly doposud s využitím polyfázického přístupu hodnoceny tři druhové komplexy (Neustupa et al. 2010; Nemjová et al., 2011; Neustupa et al., 2011). Prvním z nich je komplex *Micrasterias crux-melitensis*/*M. radians*. O tom, že jsou tyto dva druhy blízce příbuzné, se vědělo již dlouho (Krieger, 1939). Podle studie od Vyverman & Viane (1995) jsou mezi nimi morfologické rozdíly v délce buněk a tvaru apikálního laloku. Tento lalok je užší u *M. radians*, zatímco u *M. crux-melitensis* je otevřenější a širší. Autoři ale došli k závěru, že tyto rozdíly mezi oběma druhy by mohly být spíše následkem měnící se intenzity ozáření se stoupající nadmořskou výškou a že se ve skutečnosti jedná o jeden druh. Neustupa et al. (2010) vyhodnotili fylogenetickou pozici devíti kmenů *M. crux-melitensis* (Obr. 21) a *M. radians*, aby otestovali monofyletismus a fylogenetickou diferenciaci v rámci tohoto druhového komplexu.



Obr. 21: *Micrasterias crux-melitensis* var. *crux-melitensis*. Měřítko = 20 μ m. Podle Neustupa et al. (2010)

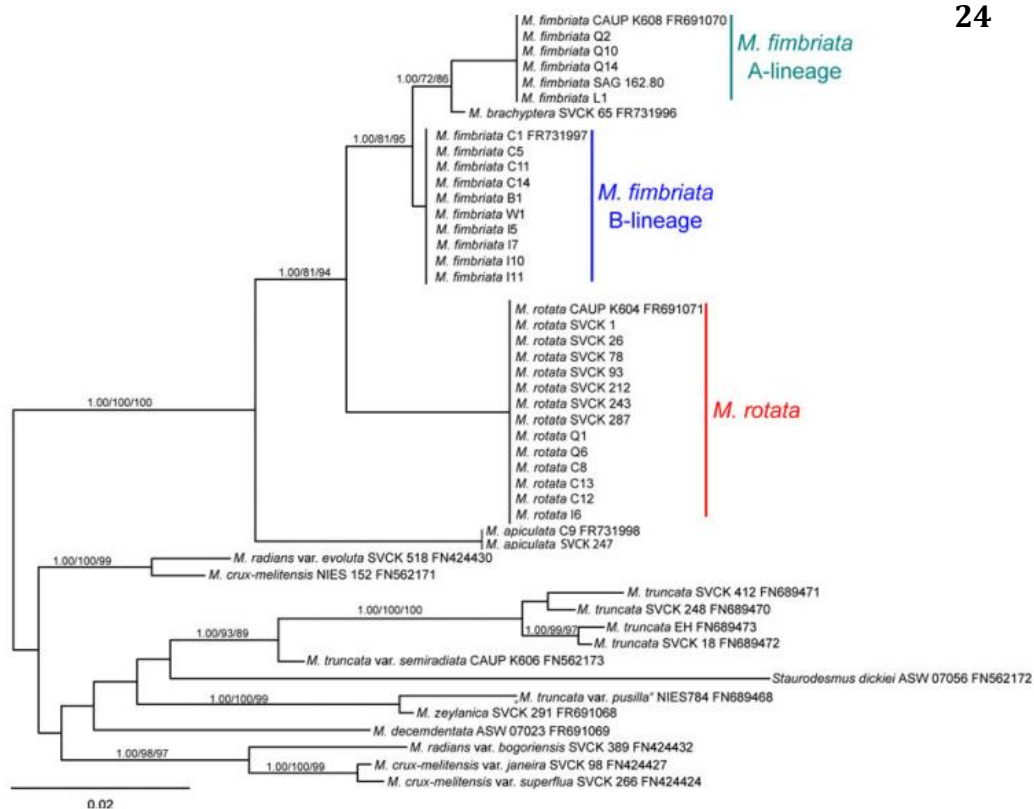
Obr. 22: *Micrasterias radians* var. *bogoriensis*. Měřítko = 20 μ m. Podle Neustupa et al. (2010)

Kmeny vytvořily tři oddělené linie na základě molekulárních dat (Obr. 23). První velká linie byla tvořena všemi evropskými a jedním severoamerickým kmenem *M. crux-melitensis*. Druhou linii tvořil pouze jediný kmen *M. radians* z JV Asie a třetí linii tvořily dva kmeny *M. radians* pocházející z Afriky. Jediný rozdíl ve výsledku fylogenetické analýzy sekvencí jaderné ITS2 a chloroplastového intronu *trnG^{uuc}* byl v genetické identitě evropských kmenů. Celý druhový komplex je monofyletický, což se ale nedá říct o jednotlivých druzích. V rámci druhu *M. radians* je evidentní pseudokryptická diverzita. O té hovoříme, pokud lze mezi druhy najít morfologický rozdíl. Dvě africké linie tohoto druhu (*M. radians* var. *evoluta*) jsou oddělené od asijské linie [(*M. radians* var. *bogoriensis* (Obr 22.)).



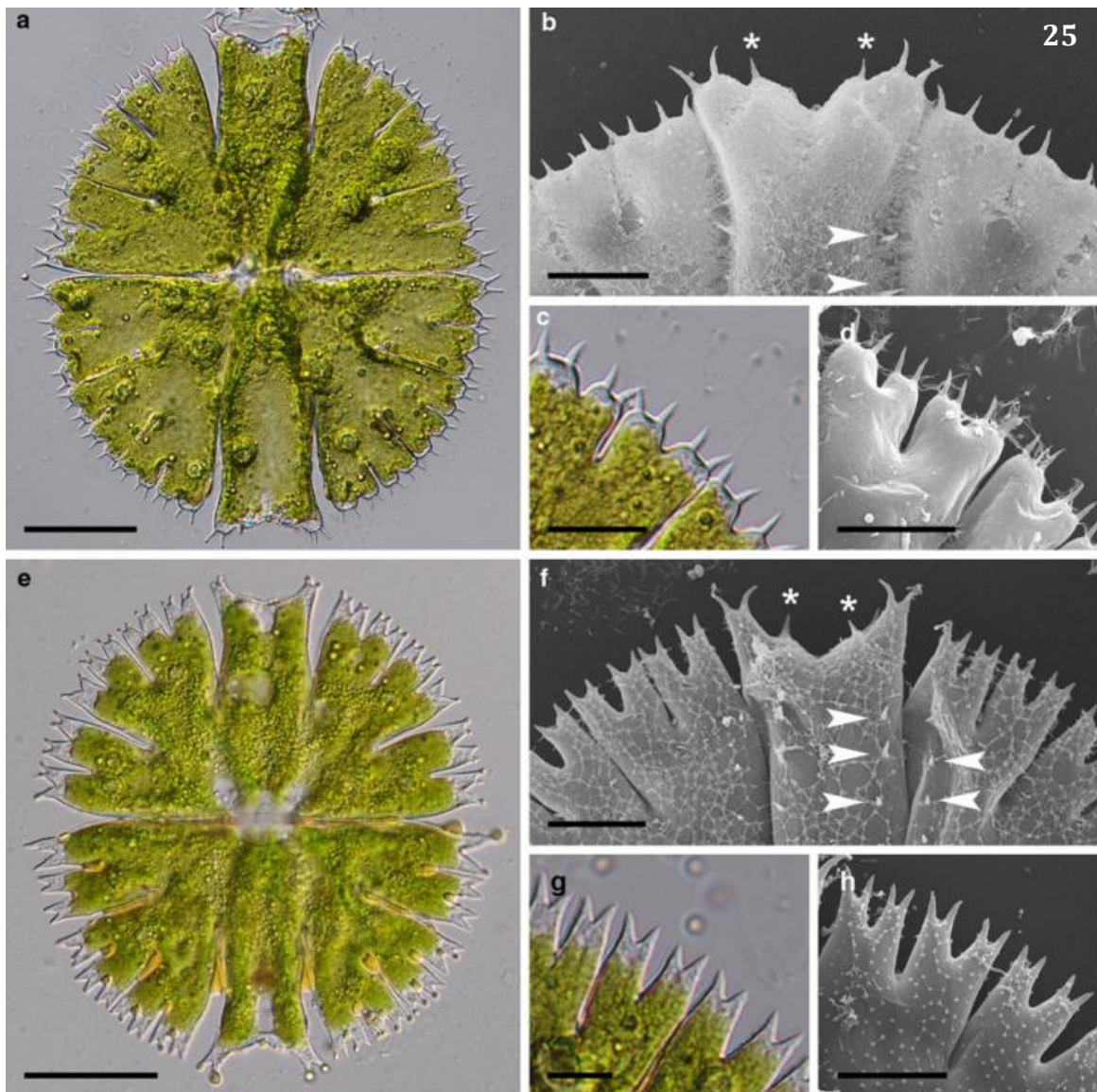
Obr. 23: Phylogenetická analýza založená na:
 A: ITS2 DNA, B: intronu *trnG^{uuc}*. Tři rozpoznané linie jsou zvýrazněny šedě. Podle Neustupa et al. (2010)

Na základě tohoto zjištění můžeme zamítnout hypotézu od Vyverman & Viane (1995), podle které je tento druhový komplex jediný morfologicky variabilní druh. Zmíněné dvě variety *M. radians* jsou s největší pravděpodobností dva samostatné druhy, ačkoliv morfologicky jsou skoro stejné. Naproti tomu kmeny druhu *M. crux-melitensis*, které jsou morfologicky velmi variabilní, tvořily jedinou linii. Jeho dvě variety *janeira* a *superflua* jsou dokonce pouze ekomorfy postrádající jakýkoliv taxonomický význam.



Obr. 24: Phylogenetický strom *trnG^{uuc}* sekvenace. Podle Neustupa et al. (2011)

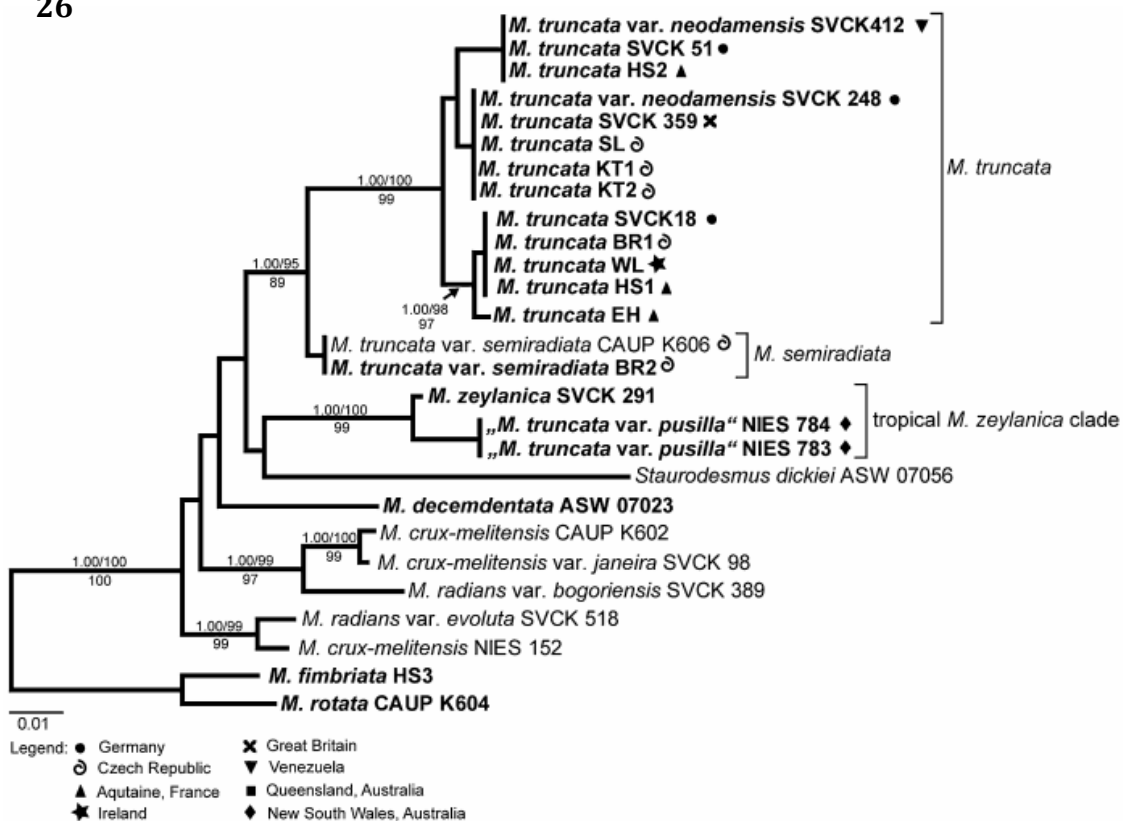
Dalším problematickým druhovým komplexem je *Micrasterias fimbriata*/*M. rotata*. Oba druhy jsou dobře známé a mají velký areál výskytu. Jejich vztah zkoumali Neustupa & Škaloud (2007) již dříve na základě analýzy sekvence pro 18S rDNA, ale jejich monofyletismus zůstal nepotvrzený. Ukázalo se, že zatímco *M. rotata* je fylogeneticky homogenní, druh *M. fimbriata* je složený ze dvou dobře vymezených linií (Obr. 24), které jsou odlišné jak fylogeneticky, tak i morfologicky, na základě morfometrických, ekologických i tradičních morfologických znaků (Obr. 25) (Neustupa et al., 2011).



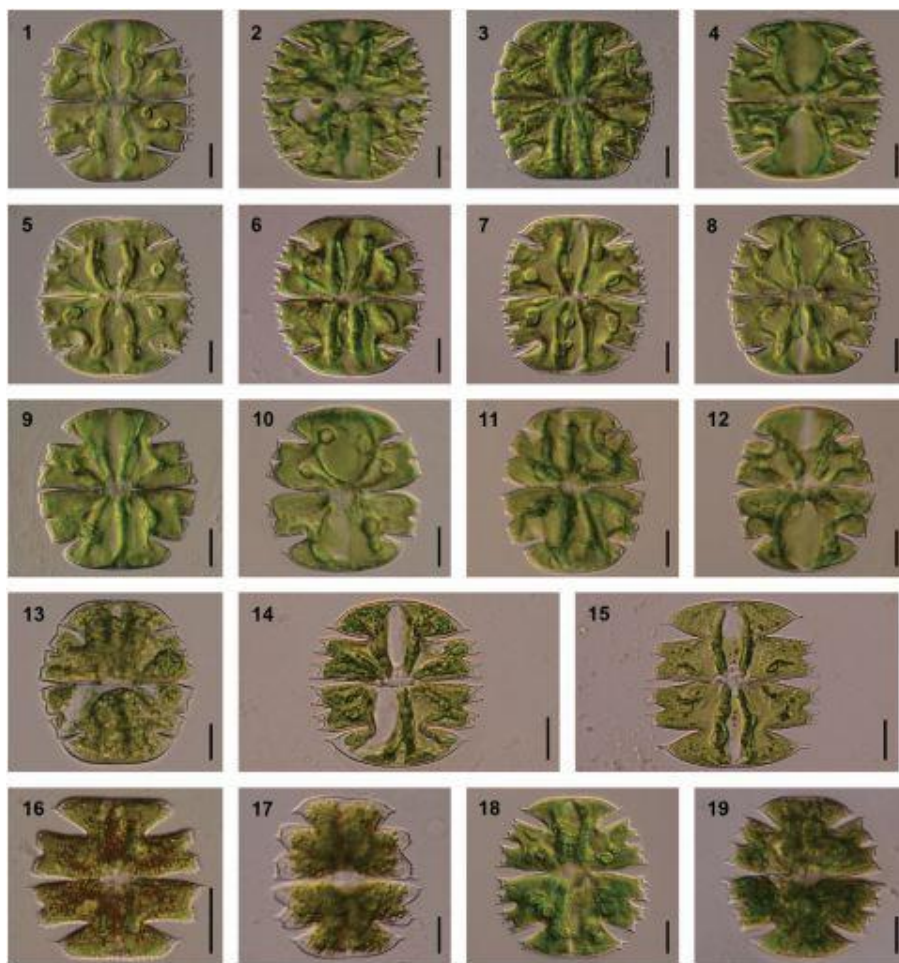
Obr. 25: *Micrasterias fimbriata*. Fotografie ze světelného mikroskopu a SEM. Linie B: a - celkový pohled, b - apikální část buňky, c, d - detail zaoblených laterálních laloků s ostny. Linie A: e - celkový pohled, f - apikální část buňky, g, h - detail laterálních laloků zakončených ostny. Měřítko: 20 µm (a, e), 50 µm (b - d, f - h). Podle Neustupa et al. (2011).

V případě druhu *Microsterias truncata* se ukázalo, že dvě jeho linie jedné variety tvoří pravděpodobně samostatný druh (Nemjová et al., 2011). Tato varieta, *M. truncata* var. *pusilla* (Obr. 27), se od ostatních odlišuje morfologicky a tvoří i samostatnou větev ve fylogenetickém stromě (Obr. 26). Jejich buňky jsou menší než buňky v ostatních liniích tohoto druhu. Mají stlačené laterální laloky a široce eliptický polární lalok. Jsou podobné spíše dvěma jiným druhům, *M. decemdentata* a *M. zeylanica*, se kterými jsou i blízce příbuzné. Kmeny patřící druhu *M. truncata* vytvořily tři samostatné linie, které od sebe ale nelze rozlišit morfologicky, morfometricky ani geograficky. Jedná se tedy o případ kryptické diverzity v rámci tohoto druhu. *M. truncata* var. *semiradiata* (Obr. 27) je evidentně samostatný druh a autoři navrhují druh přejmenovat zpět na *M. semiradiata*. Jako *M. semiradiata* ho již dříve popsal Kützing (1849). Naopak varieta *neodamensis* nemá žádnou taxonomickou hodnotu, jedná se pouze o ekomorfu.

26



Obr. 26: Fylogenetický strom sekvence intronu *trnG^{uuc}* druhu *M. truncata*. Podle Nemjová et al. (2011)



Obr. 27: Druhy a variety *Micrasterias* zahrnuté to studie. 1–8. *M. truncata* var. *truncata*. 9–13. *M. truncata* var. *neodamensis*. 14, 15. '*M. truncata* var. *pusilla*'. 16. *M. decemdentata*, 17. *M. zeylanica* 18, 19. *M. truncata* var. *semiradiata*. Scale bar = 20mm. Podle Nemjová et al. (2011).

5. EKOLOGIE A BIOGEOGRAFIE

5.1. Ekologie a bioindikace

Zástupci rodu *Micrasterias* se vyskytují ve stojatých mezotrofních až oligotrofních vodách. Většina druhů se vyskytuje v kyselých habitatech, pouze několik druhů je známo z neutrálních nebo alkalických vod (Coesel & Meesters, 2007). Najdeme je v rašelinných tůňkách, (tycho)planktonu jezer, vzácně i v efemérních tůňkách (Šťastný, 2008). Společně s dalšími druhy krásivek tvoří dominantu fyto-bentosu (Coesel & Meesters, 2007). Podle Růžičky (1981) jsou některé druhy přizpůsobivé a mají široký areál výskytu, ale v těchto případech jde s největší pravděpodobností o druhové komplexy. Jednotlivé druhy mívají

užší areál výskytu a vyhraněné ekologické nároky (Neustupa et al., 2010; Nemjová et al., 2011).

Krásivky jsou díky jejich ekologické náročnosti využívány jako indikátory kvality vody, především pak eutrofizace a acidifikace (Coesel, 1982). Coesel (2001) vypracoval na základě jejich přítomnosti a diverzity systém hodnocení vzácnosti a hodnoty lokalit. Tato metoda je založena třech kritériích; diverzitě, výskytu vzácných druhů a ekologicky citlivých druhů. Každý druh má jiné ekologické nároky, díky čemuž lze hodnotit stabilitu a zachovalost ekosystému. Některé druhy rodu *Micrasterias* jsou považovány za vlajkové druhy obzvláště dobře zachovalých lokalit (Coesel, 1998; 2003).

5.2. Biogeografie

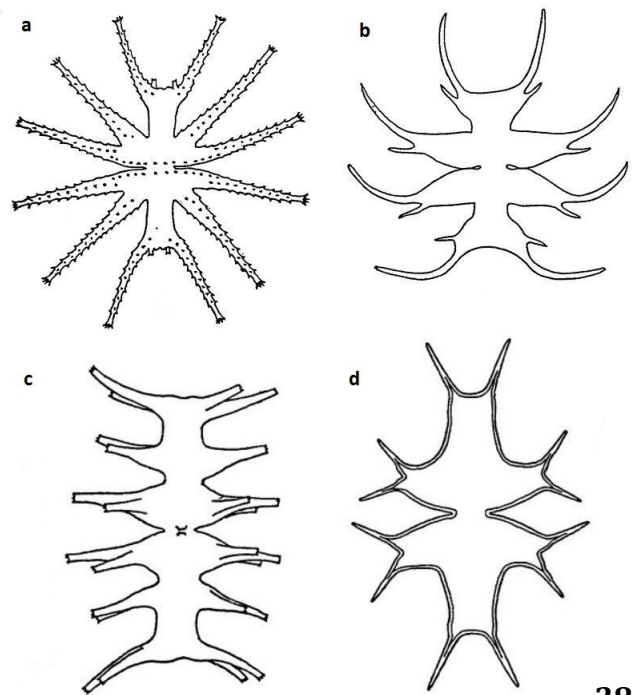
Z biogeografického hlediska jsou krásivky jednou z neprostudovanějších skupin v rámci zelených řas (Coesel & Krienitz, 2008). Krieger (1939) rozlišil sedm biogeografických regionů definovatelných na základě výskytu charakteristických druhů. Coesel (1996) poté toto dělení rozšířil na deset regionů. Jsou jimi: Temperátní Eurasie, Polární regiony, Východní Asie, Indo-Malajsie/Severní Austrálie, Nový Zéland/Jižní Austrálie, Jižní Afrika, Rovníková Afrika, Severní Amerika, Tropická Amerika a netropická část Jižní Ameriky.

Navzdory tomu, že většina druhů má kosmopolitní rozšíření (Krieger, 1939), je známo mnoho endemitů. Druhově nejbohatší region je Severní Amerika. Vyskytuje se zde několik endemitů, jako například *Micrasterias swainei* (Mix, 1965), *M. novae-terrae* a *M. muricata* (Obr. 28) (Krieger, 1939). Endemiti Indo-Malajsijského regionu jsou *M. radians* var. *bogoriensis* (Krieger, 1939) a *M. ceratofera* (Obr. 28) (Vyverman, 1996). Tento region je druhově druhý nejbohatší. Za zmínku stojí také dva africké endemické druhy; *Micrasterias sudanensis* (Obr. 28) (Bicudo, 1976) a *M. anomala* (Krieger, 1939), stejně tak australský druh *M. hardyi* (Obr. 28) (Krieger, 1939). Naopak polární regiony jsou druhově velmi chudé. Eurasie je region chudý na endemické druhy. Jde pravděpodobně o důsledek střídání dob ledových a meziledových v pleistocénu (Coesel, 1996). Za původní areál výskytu rodu *Micrasterias* byly považovány tropy (Coesel, 1996). Tento fakt podporovaly i experimenty dokazující, že krásivky mají vysoká teplotní optima pro růst (Coesel & Wardenaar, 1990). Severoamerické endemické druhy ale obsadily ve fylogenetickém stromě od Škaloud et al. (2011) bazální pozici (Obr. 29).

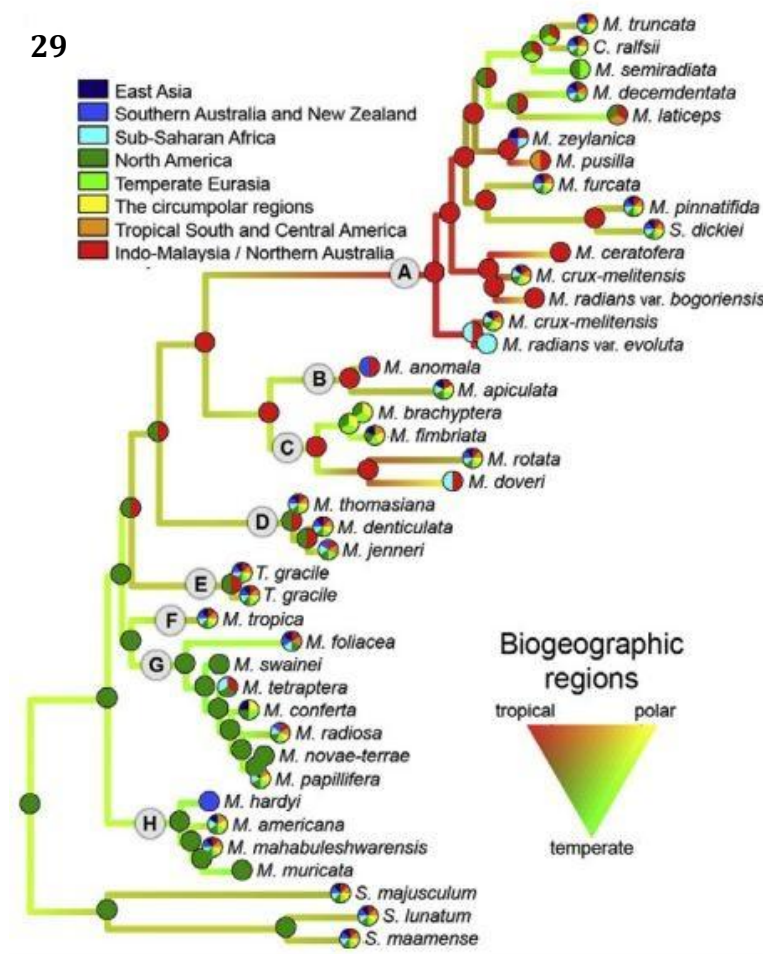
Obr. 28: Endemické druhy: a – *Micrasterias hardyi*, b – *M. sudanensis*, c – *M. muricata*, d – *M. ceratofera*. Upraveno podle Coesel & Krienitz (2008).

To ukazuje, že původ rodu *Micrasterias* je s největší pravděpodobností v Severní Americe (Škaloud et al., 2011).

Omezené rozšíření rodu *Micrasterias* je důsledkem jeho ekologické náročnosti. Navíc ho komplikuje i skutečnost, že jeho buňky jsou ploché a tím pádem náchylné k vyschnutí při transportu, který zajišťuje hmyz a vodní ptactvo (Brook, 1981).

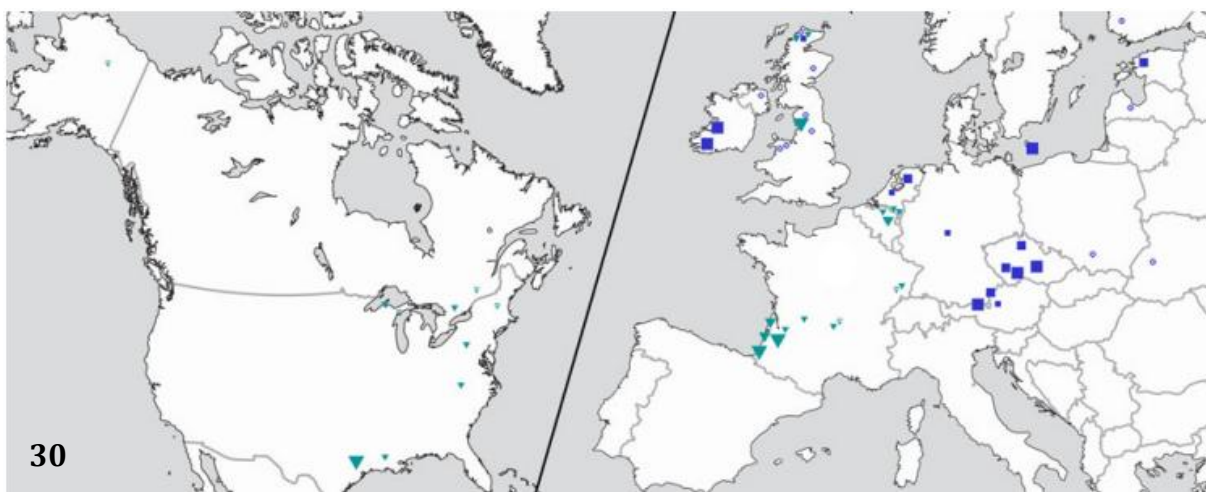


28



Obr. 29: Rozšíření jednotlivých druhů rodu *Micrasterias* mapované na fylogenetickém stromě. Podle Škaloud et al. (2011)

Již Brook (1981) poznamenal, že v poznání biogeografie nebude dosaženo dalšího pokroku, dokud nepoznáme morfologickou variabilitu a diverzitu. Tento názor potvrdily recentní studie druhových komplexů, které jasně ukázaly, že některé druhy mají omezený areál výskytu (Neustupa et al. 2010; Nemjová et al., 2011; Neustupa et al., 2011). Při zhodnocení druhového komplexu *Micrasterias crux-melitensis/M. radians* se ukázalo, že dvě variety *M. radians* tvoří samostatné větve ve fylogenetickém stromě a navíc jsou i geograficky izolované. Varieta *evoluta* je z Afriky a varieta *bogoriensis* z JV Asie. Autoři předpokládají, že půjde o dva různé druhy (Neustupa et al., 2010). Podobný výsledek přineslo i zhodnocení druhového komplexu *M. truncata*. Jedna australská varieta; *M. truncata* var. *pusilla* je blíže příbuzná s australským druhem *M. zeylanica* (Nemjová et al., 2011). Druh *M. fimbriata* vytvořil ve fylogenetickém stromě dvě linie, které se lišili jak svým rozšířením, tak ekologickými nároky. Linie A se vyskytuje v Severní Americe a v západní Evropě v oligotrofních habitatech s nízkým pH. Kmeny náležící do linie B byly naopak nalezeny ve střední a východní Evropě a preferují mezotrofní a mírně kyselé mokřady (Obr. 30) (Neustupa et al., 2011). Geografická izolace tedy s největší pravděpodobností hraje roli ve speciaci rodu *Micrasterias*.



Obr. 30: Mapa znázorňující rozšíření dvou linií druhu *M. fimbriata* v Evropě a Severní Americe. Linie A – modrá. Linie B – zelená. Velké symboly znázorňují lokality s klonální populací, středně velké symboly znázorňují přírodní populace, které byly použity ve studii a malé symboly jsou ostatní publikované záznamy. Přeškrtnuté symboly znázorňují záznamy starší než 50 let. Podle Neustupa et al. (2011).

6. ZÁVĚR

Zástupci rodu *Micrasterias* patří mezi nejkrásnější organismy. Jejich tvar je mezi krásivkami nejpokročilejší. Není proto divu, že jejich výzkumem a taxonomií se zabývalo mnoho odborníků. Přitáhli pozornost i mnoha amatérských přírodovědců, obzvláště pak z řad fotografů.

Cílem této práce bylo shrnout znalosti o biologii těchto výjimečných organismů, především pak o současných postupech v odhalování skryté diverzity, jejich fylogenezi a biogeografii.

Ukázalo se ale, že k tradičním zástupcům patří i dva další druhy, *Micrasterias ralfsii* a *M. dickiei*, které byly dříve zařazeny k jiným rodům a blízce příbuzný *Triploceras gracile*. Tyto tři příklady zrychlené morfologické evoluce demonstrují možnou plasticitu buněk. Ta je ovlivnitelná různými faktory, jako jsou teplota nebo pH. Ale je to polyploidizace, která má na tvar buňky zásadní vliv. Ovlivňuje i velikost a stupeň větvení laterálních laloků. Pravděpodobně byla i příčinou speciace druhu *Micrasterias dickiei*. Na druhou stranu ale nemusí mít žádné taxonomické důsledky, jako v případě druhu *M. rotata*.

Ačkoliv jsou pozice v systému i monofyletismus této skupiny odhalené, stále chybí mnoho informací o jejich diverzitě. Zhodnocení několika druhových komplexů odhalilo velkou skrytou diverzitu. Byly nalezeny jak pseudokryptické, tak kryptické druhy. Z těchto studií vyplývá, že reálný počet taxonů je mnohem větší, než se předpokládalo a v této oblasti je mnoho prostoru pro další výzkum. Na druhou stranu ale některé variety nemají žádný taxonomický význam, jde pouze o ekomorfy.

Díky tomuto odhalování skryté diverzity je jasné, že jednotlivé druhy rodu *Micrasterias* mají omezené geografické rozšíření a počet endemitů může být i větší, než se původně předpokládalo. Šíření těmto organismům komplikuje i náchylnost k vyschnutí během transportu. Pro další pokrok v poznání biogeografie je proto nezbytně nutné věnovat větší pozornost určení jednotlivých druhů.

7. LITERATURA

Agardh, C. A. (1827). Neue Gattungen und Arten von Algen. *Flora*, 41, 641 – 646.

Andosch, A., Affenzeller, M. J., Lütz, C., & Lütz-Meindl, U. (2012). A freshwater green alga under cadmium stress: ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias*. *Journal of Plant Physiology*, 169(15), 1489–1500.

Becker, B., & Marin, B. (2009). Streptophyte algae and the origin of embryophytes. *Annals of Botany*, 103(7), 999–1004.

Besendahl, A., Bhattacharya, D., Bary, M. De, Ku, J. E. S., & Reverse, Z. (1999). Evolutionary analyses of small-subunit rDNA coding regions and the 1506 Group I Introns of the Zygnematales (Charophyceae, Streptophyta). *Journal of Phycology*, 569(1), 560–569.

Beszteri, B., Ács, É., & Medlin, L. (2005). Conventional and geometric morphometric studies of valve ultrastructural variation in two closely related *Cyclotella* species (Bacillariophyta). *European Journal of Phycology*, 40(1), 89–103.

Bhattacharya, D., Surek, B., Rüsing, M., Damberger, S., & Melkonian, M. (1994). Group I introns are inherited through common ancestry in the nuclear-encoded rRNA of Zygnematales (Charophyceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(21), 9916–20.

Bicudo, C. E. de M., & Sormus, L. (1972). Polymorphism in the desmid *Micrasterias laticeps* and its taxonomical implications. *Journal of Phycology*, 8, 237–242.

Bicudo, C. E. M. (1976). *Prescotella*, a new genus of asymmetrical desmids (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 12, 22–24.

Bicudo, C. E. M., & Senna, P. A. C. (1975). Use of measurements for differentiation of infraspecific taxa in *Micrasterias laticeps*. *British Phycological Journal*, 10(1), 43–47.

- Blackburn, S. I., & Tyler, P. A. (1980). Conjugation, germination and meiosis in *Micrasterias mahabuleshwariensis* Hobson (Desmidiaceae). *British Phycological Journal*, 15, 83–93.
- Blackburn, S. I., & Tyler, P. A. (1981). Sexual reproduction in desmids with special reference to *Micrasterias thomasi* var. *notata* (Nordst.) Grönblad. *British Phycological Journal*, 16, 217–229.
- Blackburn, S. I., & Tyler, P. A. (1987). On the nature of eclectic species—a tiered approach to genetic compatibility in the desmid *Micrasterias thomasi*. *British Phycological Journal*, 22(3), 277–298.
- Brook, A. J. (1981). *The Biology of Desmids*. University of California Press.
- Cavalier-Smith, T. (1981). Eukaryote kingdoms: Seven or nine? *Biosystems*, 14(3-4), 461–481.
- Coesel, P. F. M. (1982). Structural characteristics and adaptations of desmid communities. *The Journal of Ecology*, 70(1), 163–177.
- Coesel, P. F. M. (1996). 5. Biogeography of desmids. *Hydrobiologia*, 336(1-3), 41–53.
- Coesel, P. F. M. (1998). *Sieralgen en natuurwaarden (in Dutch, with an extensive summary in English)*. Uitgeverij Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging, Utrecht.
- Coesel, P. F. M. (2001). A method for quantifying conservation value in lentic freshwater habitats using desmids as indicator organisms. *Biodiversity & Conservation*, 10, 177–187.
- Coesel, P. F. M. (2003). Desmid flora data as a tool in conservation management of Dutch freshwater wetlands. *Biologia*, 58(4), 717–722.
- Coesel, P. F. M., & Krienitz, L. (2008). Diversity and geographic distribution of desmids and other coccoid green algae. *Biodiversity and Conservation*, 17(2), 381–392.

- Coesel, P. F. M., & Meesters, K. (2007). *Desmids of the Lowlands: Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands*. KNNV Publishing, The Netherlands.
- Coesel, P. F. M., & Wardenaar, K. (1990). Growth responses of planktonic desmid species in a temperature-light gradient. *Freshwater Biology*, 23(3), 551–560.
- Černá, K., & Neustupa, J. (2009). The pH-related morphological variations of two acidophilic species of Desmidiaceae (Viridiplantae) isolated from a lowland peat bog, Czech Republic. *Aquatic Ecology*, 44(2), 409–419.
- Giddings, T. H., Brower, D. L., & Staehelin, A. L. (1980). Visualisation of particle complexes in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* associated with the formation of cellulose fibrils in primary and secondary cell walls. *Cell Biology*, 84, 327–339.
- Gontcharov, A. A. (2008). Review Phylogeny and classification of Zygnematophyceae (Streptophyta): current state of affairs. *Fottea*, 8(2), 87–104.
- Gontcharov, A., Marin, B., & Melkonian, M. (2003). Molecular phylogeny of conjugating green algae (Zygnemophyceae, Streptophyta) inferred from SSU rDNA sequence comparisons. *Journal of Molecular Evolution*, 56(1), 89–104.
- Gontcharov, A., Marin, B., & Melkonian, M. (2004). Are combined analyses better than single gene phylogenies? A case study using SSU rDNA and rbcL sequence comparisons in the Zygnematophyceae (Streptophyta). *Molecular Biology and Evolution*, 21(3), 612–24.
- Gontcharov, A., & Melkonian, M. (2008). In search of monophyletic taxa in the family Desmidiaceae (Zygnematophyceae, Viridiplantae): the genus *Cosmarium*. *American Journal of Botany*, 95(9), 1079–95.
- Gontcharov, A., & Melkonian, M. (2011). A study of conflict between molecular phylogeny and taxonomy in the Desmidiaceae (Streptophyta, Viridiplantae): analyses of 291 rbcL sequences. *Protist*, 162(2), 253–267.

- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2014). AlgaeBase. National University of Ireland, Galway. Retrieved from <http://www.algaebase.org>
- Hall, J. D., Karol, K. G., McCourt, R. M., & Delwiche, C. F. (2008). Phylogeny of the conjugating green algae based on chloroplast and mitochondrial nucleotide sequence data. *Journal of Phycology*, 44(2), 467–477.
- Holloway, D. M., & Harrison, L. G. (1999). Algal morphogenesis : modelling interspecific variation in *Micrasterias* with reaction-diffusion patterned catalysis of cell surface growth. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 354, 417–433.
- Jensen, R., Ciofani, K., & Miramontes, L. (2002). Lines, outlines, and landmarks: morphometric analyses of leaves of *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* (Aceraceae) and their hybrid. *Taxon*, 51(3), 475–492.
- Johnson, L. N. (1894). On some species of *Micrasterias*. *Botanical Gazzete*, 19(2), 56–60.
- Kalina, T., & Váňa, J. (2005). *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum.
- Kallio, P. (1951). *The significance of nuclear quantity in the genus Micrasterias*. Societas zoologica botanica Fennia Vanamo.
- Kallio, P. (1953). On the morphogenetics of the desmids. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 80(4), 247–263.
- Kim, N., Herth, W., Vuong, R., & Chanzy, H. (1996). The cellulose system in the cell wall of *Micrasterias*. *Journal of Structural Biology*, 117(3), 195–203.
- Kouwets, F. a. C. (2008). The species concept in desmids: the problem of variability, infraspecific taxa and the monothetic species definition. *Biologia*, 63(6), 881–887.
- Krieger, W. (1939). *Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten. Band 13. Abteilung 1, Teil 2, Lieferung 1 of Dr. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland. Österreich und der Schweiz*. Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H., Leipzig.

- Kützing, F. T. (1849). *Species algarum*. F. A. Brockhaus, Leipzig.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *31*(1), 1–46.
- Lewis, L. a, & McCourt, R. M. (2004). Green algae and the origin of land plants. *American Journal of Botany*, *91*(10), 1535–1556.
- Lorch, D., & Engels, M. (1979). Observations on filament formation in *Micrasterias foliacea* (Desmidiaceae, Chlorophyta). *Journal of Phycology*, *15*, 322–325.
- McCourt, R. M., Delwiche, C. F., & Karol, K. G. (2004). Charophyte algae and land plant origins. *Trends in Ecology & Evolution*, *19*(12), 661–6.
- McCourt, R. M., Karol, K. G., Bell, J., Helm-Bychowski, K. M., Grajewska, A., Wojciechowski, M. F., & Hoshaw, R. W. (2000). Phylogeny of the conjugating green algae (Zygnematomyceae) based on rbcL sequences. *Journal of Phycology*, *758*, 747–758.
- Meindl, U. (1990). Effects of temperature on cytomorphogenesis and ultrastructure of *Micrasterias denticulata* Bréb. *Protoplasma*, *157*, 3–18.
- Meindl, U. (1993). *Micrasterias* cells as a model system for research on morphogenesis. *Microbiological Reviews*, *57*(2), 415–433.
- Mix, M. (1965). Zur Variationsbreite von *Micrasterias swainii* Hastings und *Staurastrum leptocladum* Nordst. sowie über die Bedeutung von Kulturversuchen für die Taxonomic der Desmidiaceen. *Archiv Für Mikrobiologie*, *51*(2), 168–178.
- Nemjová, K., Neustupa, J., Št'astný, J., Škaloud, P., & Veselá, J. (2011). Species concept and morphological differentiation of strains traditionally assigned to *Micrasterias truncata*. *Phycological Research*, *59*(3), 208–220.
- Neustupa, J., & Škaloud, P. (2007). Geometric morphometrics and qualitative patterns in the morphological variation of five species of *Micrasterias* (Zygnemophyceae, Viridiplantae). *Preslia*, *79*, 401–417.

- Neustupa, J., Škaloud, P., & Štastný, J. (2010). The molecular phylogenetic and geometric morphometric evaluation of *Micrasterias crux-melitensis*/*M. radians* species complex. *Journal of Phycology*, 46(4), 703–714.
- Neustupa, J., Štastný, J., Nemjová, K., Mazalová, P., Goodyer, E., Poulíčková, A., & Škaloud, P. (2011). A novel, combined approach to assessing species delimitation and biogeography within the well-known desmid species *Micrasterias fimbriata* and *M. rotata* (Desmidiales, Streptophyta). *Hydrobiologia*, 667(1), 223–239.
- Neustupa, J., & Štastný, J. (2006). The geometric morphometric study of Central European species of the genus *Micrasterias* (Zygnematophyceae, Viridiplantae). *Preslia*, 78, 253–263.
- Neustupa, J., Štastný, J., & Hodač, L. (2008). Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga *Micrasterias rotata*. *Aquatic Microbial Ecology*, 51, 77–86.
- Oertel, A., Aichinger, N., Hochreiter, R., Thalhamer, J., & Lütz-Meindl, U. (2004). Analysis of mucilage secretion and excretion in *Micrasterias* (Chlorophyta) by means of immunoelectron microscopy and digital time lapse video microscopy. *Journal of Phycology*, 40(4), 711–720.
- Pickett-Heaps, J. D. (1975). *Green algae: structure, reproduction and evolution in selected genera*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Pihakaski, K., & Kallio, P. (1978). Effect of denucleation and UV-irradiation on the subcellular morphology in *Micrasterias*. *Protoplasma*, 55, 37–55.
- Poulíčková, A., Mazalová, P., Vašut, R. J., Šarhanová, P., Neustupa, J., & Škaloud, P. (2014). DNA content variation and its significance in the evolution of the genus *Micrasterias* (Desmidiales, Streptophyta). *PLoS One*, 9(1), e86247.
- Prescott, G., & Scott, A. (1952). The algal flora of Southeastern United States. V. Additions to our knowledge of the desmid genus *Micrasterias*. 2. *Transactions of the American Microscopical Society*, 71(3), 229–252.

- Prescott, G. W., Croasdale, H. T., & Vinyard, W. C. (1977). *A Synopsis of North American Desmids, Part II. Desmidiaceae: Placodermae*. University of Nebraska Press, Lincoln.
- Ralfs, J. (1848). *British Desmidiaceae*. Reeve, Benham, and Reeve.
- Rohlf, F. J. (2000). Statistical power comparisons among alternative morphometric methods. *American Journal of Physical Anthropology*, 111(4), 463–78.
- Růžička J. (1981). *Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1(2)*. Lieferung. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Schmid, V. H. R., & Meindl, U. (1992). Microtubules do not control orientation of secondary cell wall microfibril deposition in *Micrasterias*. *Protoplasma*, 169(3-4), 148–154.
- Sormus, L., & Mattos Bicudo, C. E. (1974). Polymorphism in the desmid *Micrasterias pinnatifida* and its taxonomical implications. *Journal of Phycology*, 10(3), 274–279.
- Škaloud, P., Nemjová, K., Veselá, J., Černá, K., & Neustupa, J. (2011). A multilocus phylogeny of the desmid genus *Micrasterias* (Streptophyta): evidence for the accelerated rate of morphological evolution in protists. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(3), 933–943.
- Šťastný, J. (2008). Desmids from ephemeral pools and aerophytic habitats from the Czech Republic. *Biologia*, 63(6), 888–894.
- Šťastný, J. (2009). Desmids of the Swamp Nature Reserve (North Bohemia, Czech Republic) and a small neighbouring bog: species composition and ecological condition of both. *Fottea*, 9(1), 135–148.
- Šťastný, J. (2010). Desmids (Conjugatophyceae, Viridiplantae) from the Czech Republic; new and rare taxa, distribution, ecology. *Fottea*, 10(1), 1–74.
- Tyler, P. A. (1971). A simple and rapid technique for surveying size and shape variation in desmids and diatoms. *British Phycological Journal*, 6(2), 231–233.

- Vannerum, K., Huysman, M. J. J., De Rycke, R., Vuylsteke, M., Leliaert, F., Pollier, J., Lütz-Meindl, U., Gillard, J., De Veylder, L., Goossens, A., Inzé, D., & Vyverman, W. (2011). Transcriptional analysis of cell growth and morphogenesis in the unicellular green alga *Micrasterias* (Streptophyta), with emphasis on the role of expansin. *BMC Plant Biology*, 11(1), 128.
- Vyverman, W. (1996). 11. The Indo-Malaysian/North-Australian phycogeographical region revised. *Hydrobiologia*, 336(1-3), 107–120.
- Vyverman, W., & Viane, R. (1995). Morphological variation along an altitudinal gradient in the *Micrasterias crux-melitensis* – *M. radians* complex (Algae, Zygnemaphyceae, Desmidiaceae) from Papua–New Guinea. *Nova Hedwigia*, 60(1-2), 187–197.
- West, W., & West, G. S. (1905). *A Monograph of the British Desmidiaceae, vol. 2*. Ray Society, London.
- Wodniok, S., Brinkmann, H., Glöckner, G., Heidel, A. J., Philippe, H., Melkonian, M., & Becker, B. (2011). Origin of land plants: do conjugating green algae hold the key? *BMC Evolutionary Biology*, 11, 104.
- Zhong, B., Xi, Z., Goremykin, V. V., Fong, R., McLenachan, P. A., Novis, P. M., Davis, C. C., & Penny, D. (2014). Streptophyte algae and the origin of land plants revisited using heterogeneous models with three new algal chloroplast genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 31(1), 177–83.

INTERNETOVÉ ZDROJE K OBRÁZKŮM

Obr. 1: <https://www.flickr.com/photos/microagua/3502082570/>

Obr. 2: http://i.dailymail.co.uk/i/pix/2012/12/18/article-2250006-169063F9000005DC-573_634x607.jpg

Obr. 3:

<http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/Images/Chlorophyta/Micrasterias/foiaceae/foiaceae.jpg>

Obr. 5:

http://www.desmids.nl/info/reproductie/asexual_reproduct/Slideshow/micrasterias_rotata/web-slideshow-page5.html

Obr. 7: http://www.desmids.nl/maand/images/mic_papillifera_zygo.jpg

Obr. 17: http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/Images/Chlorophyta/Triploceras/sp_02b.jpg

Obr. 18: http://www.digicodes.info/fig/2011019025F1C0667_05.jpg