

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra botaniky

obor: Algologie a ekologie řas



Diplomová práce

**Geometrická morfometrika při studiu populační
dynamiky a ekologie rodu *Pediastrum* v eutrofních
vodních nádržích**

Ladislav Hodač

školitel:
RNDr. Jiří Neustupa, Ph.D.

Praha 2007

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracoval samostatně a s použitím citované literatury.

.....

Ladislav Hodač

Obsah

<i>Předmluva</i>	3
1 Úvod	4
1.1 Modelový organizmus – <i>Pediastrum duplex</i> MEYEN var. <i>duplex</i>	5
1.1.1 Morfologie a fenoplasticita	5
1.1.2 Ekologie a rozšíření v historii a současnosti	7
2 Materiál a metody	9
2.1 Popis lokalit	9
2.1.1 Jihočeské rybníky	9
2.1.2 Severočeské rybníky	10
2.1.3 Středočeské rybníky	12
2.2 Design sběru přírodních vzorků	13
2.3 Měření fyzikálně-chemických parametrů prostředí	14
2.4 Determinace dominantních skupin fytoplanktonu	14
2.5 Geometrická morfometrika	16
2.5.1 Přehled analyzovaného materiálu	16
2.5.2 Digitalizace landmarků a semilandmarků	17
2.5.2 Standardizace geometricko-morfometrických dat	19
2.5.2.1 Prokrustovská superimpozice	19
2.5.2.2 Symetrizace	21
2.5.3 Extrakce tvarových proměnných	22
2.5.4 Analýza relativních warpů	23
2.5.5 Analýza kanonických variát	23
2.5.6 Kovariance mezi tvarem a ekologickými proměnnými	24
2.5.6 Korelace matic morfometrických a geografických vzdáleností	25
2.5.7 Mnohorozměrné regresní modely	25
2.5.8 Párová srovnání – mnohorozměrné randomizační testy	26
2.5.9 Analýza struktury morfologické variability	26
2.5.10 Stručný slovník užití geometricko-morfometrické terminologie	27
3 Výsledky	31
3.1 Analýza tvarových proměnných	31
3.1.1 Analýza relativních warpů	31
3.1.1.1 Ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006	31
3.1.1.2 Ordinace objektů z datových souborů získaných v letech 2004-2006	36
3.1.2 Analýza kanonických variát	38
3.1.2.1 Ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006	39
3.1.2.2 Ordinace objektů vybraného datového souboru (2005)	40
3.2 Kombinovaná analýza tvarových proměnných a ekologických dat o prostředí	43
3.2.1 Ekologické parametry a zastoupení dominantních skupin planktonu	44
3.2.2 Analýza parciálních nejmenších čtverců	44
3.2.3 Mnohorozměrná regrese tvaru na vybrané ekologické parametry	46
3.3 Analýza rozsahu fenoplasticity	49
4 Diskuze	51
5 Závěr	57
<i>Literatura</i>	58
<i>Přílohy</i>	71

Summary

The aim of this thesis is to contribute to our knowledge of the real limits of phenotypic plasticity frequently demonstrated by autotrophic microorganisms in natural water biotopes. Focusing on the planktonic coccal green alga, *Pediastrum duplex* MEYEN var. *duplex* (*Hydrodictyaceae*, Sphaeropleales), as a model organism with broad phenoplastic display, and various tools of the landmark geometric morphometrics as an instrument of research, I essayed to identify all the major characteristics of infraspecific morphological variation. Furthermore, the most important ecological factors influencing shape dynamics were revealed and tested for its significance.

Předmluva

Předložená diplomová práce je na poli aplikací geometrické morfometriky v algologii jednou z prvních svého druhu. Vzhledem k nezměrné tvarové diverzitě mikroskopických autotrofních forem je takřka paradoxní, že exaktní kvantifikaci fenotypické plasticity znaků morfologicky vymezených druhů byla dosud věnována spíše minoritní pozornost. Zejména ve srovnání s ostatními nebotanickými biologickými obory, kde se užití technik geometrické morfometriky při řešení této problematiky nejen plně akceptuje, ale i zešíroka již po desetiletí aplikuje. Za následování všeobecného trendu pozvolného úpadku zájmu o znaky vázané na vnější morfologii, algologie, ačkoli vždy bývala vědou se silným přídechem tradičního konzervativizmu, dnes již do značné míry asimilovala interpretační rámce molekulárně-genetického pohledu na diverzitu prvotně pouze morfologicky vymezených druhů. Nicméně podobně jako tomu bylo v minulosti, i dnes existuje alternativa většinovému trendu; zdánlivě okrajová, avšak ve skutečnosti již plně penetrující – je jí moderní geometricko-morfometrická syntéza. Směr, skýtající zdaleka nedoceněné možnosti zasazení nezměrných kvant molekulárně-genetických znaků do kontextu znaků nejen intuitivně uchopitelnějších, ale ve svém přímém projevu zároveň i nesrovnatelně citlivějších vůči proměnlivosti celého komplexu fyzikálně-chemických i biotických faktorů vnějšího prostředí.

Geometricko-morfometrický přístup můžeme v rámci moderní biologie považovat za další v řadě pokusů, posunout tuto vědu blíž ke stále nedosaženému ideálu tzv. „tvrdé“ vědy. Netriviální problematiku komplexity charakteristik a příčinných souvislostí variability biologického tvaru je totiž geometrickou-morfometrikou možné nejen aproximovat biologicky interpretovatelnými výstupy, ale zejména také objektivně statisticky testovat.

Za všestrannou a nepřetržitou podporu během vypracování předložené práce jsem na prvním místě vděčen zejména svým rodičům, kterým bych na tomto místě rád vyjádřil upřímné poděkování. Velkým díkem jsem dále vázán RNDr. Jiřímu Neustupovi, PhD., svému školiteli, jehož konstruktivní připomínky nedílně přispěly k podstatnému zkvalitnění této diplomové práce. V neposlední řadě je mi radostí poděkovat všem svým kolegům z pražské algologické laboratoře, neboť přívětivé a přátelské prostředí jejich kolektivu a stálá ochota vzájemné pomoci tvořily nedocenitelnou pozitivní atmosféru tohoto pracoviště.

1 Úvod

Druh *Pediastrum duplex* MEYEN 1829 je typovým taxonem bývalého polyfyletického rodu coenobiálních kokálních zelených řas, který byl na základě molekulárních znaků recentně rozčleněn do několika nových taxonů na úrovni rodů (BUCHHEIM et al. 2005). Vnitřní členění tradičního rodu *Pediastrum* bylo vždy značně komplikované, neboť mnohé popsané druhy byly četnými autory považovány za velice polymorfní (MOROZOVA-VODJANICKAJA 1925; BIGEARD 1933; SULEK 1959; SULEK 1969; PARRA 1979; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001). Konzervativními morfology ještě donedávna zastávaný názor o monofyletickém původu rodu *Pediastrum* byl prvně vážně zpochybněn až ve studii MCMANUS & LEWIS (2005), s ohledem na diskrepance v nezávisle provedené morfologické determinaci a výsledném umístění některých taxonů v kladogramech sestrojených na základě sekvencí 26S a ITS-2 rDNA.

Přes dodnes ne zcela dořešenou problematiku detailních fylogenetických vztahů uvnitř stávajícího rodu *Pediastrum* (který si přes nedávné radikální taxonomické změny udržel rodové jméno díky *Pediastrum duplex*, typovému druhu rodu), jsou jeho zástupci objektem zájmu těch vědních odvětví, která se zabývají rekonstrukcí historických klimaticko-vegetačních poměrů v průběhu Holocénu v oblasti mírného pásu (CRISMAN 1978; JANKOVSKÁ & KOMÁREK 1982; CRONBERG 1982; WU 1987; NEILSEN & SØRENSEN 1992; BATTEN 1996; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001; RENSSSEN et al. 2001).

Dnes již do značné míry známe ekologické nároky *Pediastrum duplex* i všech jeho infraspecifických variet (VAN GEEL 1978; JANKOVSKÁ & KOMÁREK 2000; RENSEN et al. 2001). Ačkoli jsme si plně vědomi jeho bioindikačního významu v paleoekologii (a zároveň není pochyb o vysoké míře fenotypické plasticity postihující morfologické znaky druhu), neexistuje dosud ucelená ekologická studie, která by např. pro potřeby detailní palynologické analýzy vyhodnotila šíři a limity fenotypového projevu nejen u recentních přírodních populací, ale také ve fosilním záznamu (JANKOVSKÁ & KOMÁREK 2000; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001). Publikované práce k problematice fenoplasticity *Pediastrum duplex* se vztahují buď na elektronmikroskopicky pozorovatelné detaily skulptury buněčné stěny (NIELSEN 2000), nebo jsou založeny na studiu experimentálních monoklonálních kultur (NEUSTUPA & HODAČ 2005). Posledně zmíněná práce na bázi landmarkové geometrické morfometriky objektivně zhodnotila vliv gradientu jednoho z nejzákladnějších ekologických faktorů na dynamiku tvaroprostoru *Pediastrum duplex* (pH) *in vitro*. Ovšem otázka extrapolovatelnosti výsledků analýzy dat pořízených v laboratorním prostředí na reálnou

tvárovou dynamiku přírodních populací zůstala autory nezodpovězena.

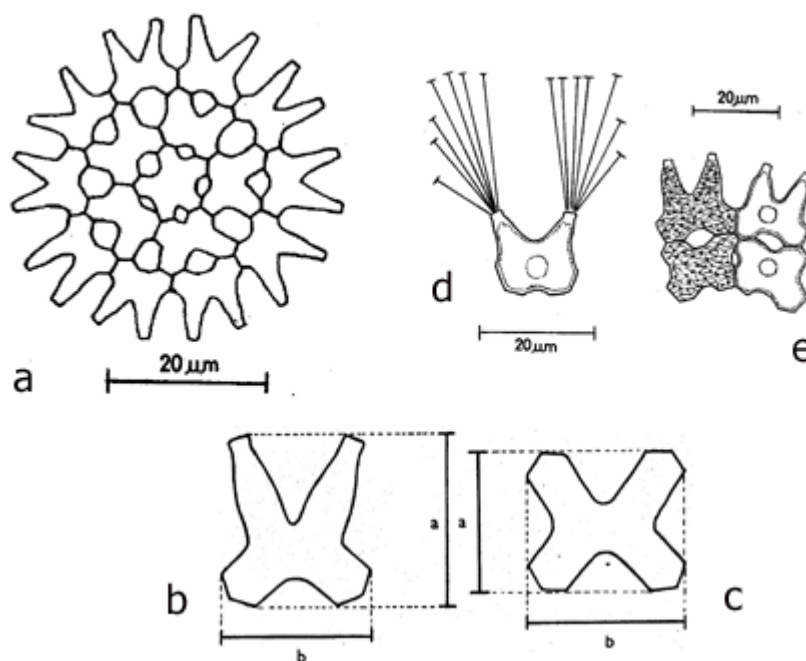
Hlavními otázkami, kterým se budu v průběhu vypracování této diplomové práce věnovat, jsou následující: (1): které environmentální faktory jsou v nejtěsnějším vztahu s dynamikou tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex*, (2): jaká je šíře morfologické fenoplasticity této variety v přírodních populacích a (3): zda fenotypově plastický projev *Pediastrum duplex* var. *duplex* zasahuje až za hranice ekologicky příbuzné, avšak fylogeneticky patrně vzdálené variety *gracillimum*.

1.1 Modelový organizmus – *Pediastrum duplex* MEYEN var. *duplex*

1.1.1 Morfologie a fenoplasticity

Kokální zelenou řasu druhu *Pediastrum duplex* (*Hydrodictyaceae*, Chlorophyta) popsal roku 1829 pruský rostlinný anatom a fyziolog Franz Julius Ferdinand Meyen. Dodnes platné diagnostické morfologické znaky uvádí např. KOMÁREK & JANKOVSKÁ (2001), SULEK (1969), či PARRA (1979). Buňky *P. duplex* sestávají ve více méně kruhová planární coenobia vždy s pravidelně rozmístěnými perforacemi mezi buňkami, které jsou v coenobiu situované koncentricky, vzácněji ve spirále nebo i zcela nepravidelně (především u coenobií s vyšším počtem buněk); počet buněk v coenobiu kolísá v rozmezí 8-64-(128) a je v typickém případě roven mocnině čísla 2 (Obr. 1(a), str. 6). Poloměr perforací coenobia je zpravidla menší než průměr buněk (zatímco u var. *gracillimum* je nápadně větší). Buňky jsou v obrysu čtvercové s výrazně konkávními bočními buněčnými stěnami. V coenobiu, kde jsou buňky spojeny pouze hranami svých rohů, rozlišujeme dva typy buněk – buňky vnitřní a okrajové (marginální) (Obr. 1(b)(c), str. 6). Marginální buňky mají vně výrazný zářez ve tvaru „V“ a mimo coenobium prominují v jeho rovině dvěma dlouhými kónickými laloky, které se ke koncům postupně zužují (pouze u var. *gracillimum* jsou téměř cylindrické, Obr. 2(a)(b), str. 7). Na vrcholcích laloků jsou velmi krátké a široké cylindrické výběžky, z nichž za určitých ekologických popř. experimentálních podmínek vyrůstají jemné plasmatické paprscité svazky polysacharidové povahy, mnohdy o mnoho delší než samotné buňky (tzv. *bristles*, Obr. 1(d), str. 6). Buněčná stěna *P. duplex* je hladká, nebo jemně až hrubě zvlňená do podoby nepravidelné síťovité skulptury (Obr. 1(e), str. 6). Horní hranice velikosti coenobií je 212 μm , okrajové buňky jsou veliké v rozmezí 6-28 μm , velikost buněk uvnitř coenobia se pohybuje v rozmezí 4-30 μm .

Vzhledem k tomu, že se *Pediastrum duplex* var. *duplex* v přírodě pravděpodobně rozmnožuje převážně asexuálně (KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001), je výsledný tvar coenobia determinován již v mateřské buňce, ze které coenobium prostřednictvím krátké fáze bičíkatých zoospor vzniká. Pozorovaný tvar coenobia tak vlastně odráží environmentální podmínky, které panovaly v období existence mateřské buňky, resp. coenobia. Po vzniku nového coenobia ze shluku zoospor vyhrzlých z mateřské buňky se tvar buněk s ohledem na rigidní buněčnou stěnu již příliš nemění; jediným znakem, kterému je mechanicky dovoleno se ještě během ontogeneze coenobia měnit, je velikost perforací uvnitř coenobia a velikost „V“-zářezu mezi externími laloky marginálních buněk (KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001).

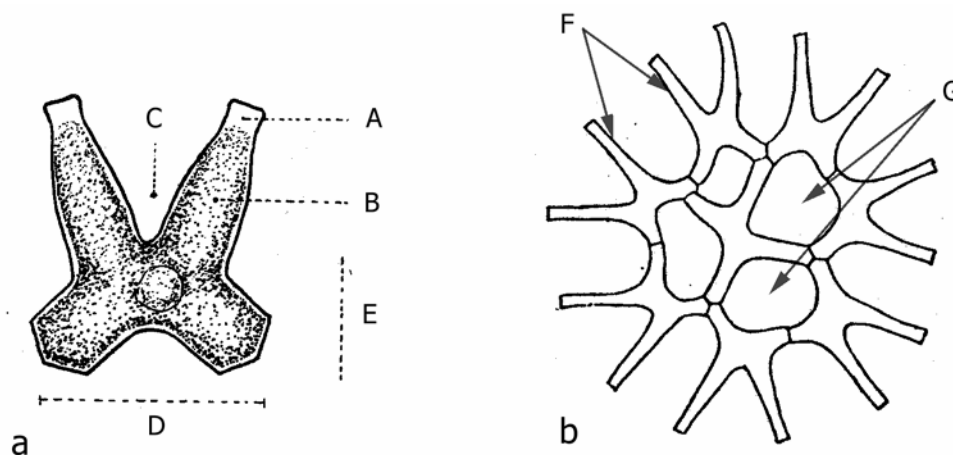


Obr. 1 – Morfologie *Pediastrum duplex* var. *duplex*. (a) coenobium; (b) marginální buňka coenobia; (c) vnitřní buňka coenobia; (d) znázornění plasmatických svazků (*bristles*) na koncích hyalinních výběžků buněk (e) znázornění skulptury buněčné stěny. Na obr. (b) a (c) znázorňují vodorovné úsečky šířku buňky a svislé úsečky délku buňky. Převzato ze SULEK (1969) a upraveno.

Druh *Pediastrum duplex* MEYEN je považován za značně fenotypicky plastický a od doby jeho popisu MEYENEM (1829) byl rozčleněn na celou řadu variet (BRAUN 1855; RACIBORSKI 1890; NITARDY 1914; SULEK 1969; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001), jejichž existence v podobě taxonomické jednotky většinou neměla příliš dlouhého trvání. V dosud nejnovější monografii rodu *Pediastrum* uvádějí členění druhu do čtyř variet. Na základě recentního studia molekulárních markerů byla polyfyletičnost rodu *Pediastrum* MEYEN

potvrzena (BUCHHEIM et al. 2006). Autory zmíněné práce byl stávající rod *Pediastrum* MEYEN rozčleněn do několika nových rodů. Soudí se však, že ani samotný rod *Pediastrum*, který taxonomické změny přežival, není vnitřně monofyletický a zejména výše jmenovaná var. *gracillimum* aspiruje na povýšení na úroveň samostatného druhu (MCMANUS & LEWIS 2005).

I jiné druhy rodu *Pediastrum* (zejména *P. boryanum*) jsou některými autory považovány za fenotypově plastické a byly podrobeny důkladným morfologickým studiím jak za použití klasické světelné mikroskopie (např. GLENK 1994), tak i moderní elektronmikroskopické techniky, která zviditelnila jemné detaily členité povrchové skulptury buněčných stěn (CHANG 1981a, 1981b; NIELSEN 2000). Morfologické znaky vázané na skulpturu povrchu buněčných stěn jsou sice i v dnešních taxonomických studiích zohledněny, avšak pro praktickou determinaci taxonů v živých vzorcích mají s ohledem na svou plasticitu a vyšší nároky na mikroskopovací techniku uplatnění spíše minoritní.



Obr. 2 – (a) Morfologie marginální buňky coenobia *Pediastrum duplex* var. *duplex*; (b) habitus coenobia *Pediastrum duplex* var. *gracillimum*. (A) hyalinní výběžek externího laloku; (B) externí lalok; (C): „V“ – zářez mezi externími laloky; (D) báze buňky tvořená vnitřními výběžky; (E) laterální strana těla buňky; (F) štíhlé cylindrické laloky typické pro var. *gracillimum*; (G) perforace coenobia. (a) převzato ze SULEK (1969) a upraveno; (b) převzato z KOMÁREK & JANKOVSKÁ (2001) a upraveno.

1.1.2 Ekologie a rozšíření

Pediastrum duplex var. *duplex* jsem si pro účely ekologické srovnávací studie vybral z několika ryze praktických důvodů. Z hlediska ekologických nároků je druh charakteristický poměrně širokou valencí; na rozdíl od jiných druhů tradičního rodu *Pediastrum* MEYEN, které jsou ekologicky zřetelně vyhraněné, např. *Pediastrum braunii*, *P. privum* (GERIŠ 2002).

Široká ekologická valence druhu v podmínkách temperátní zóny zaručuje vysokou abundanci taxonu ve fytoplanktonu vodních nádrží prakticky všech typů v průběhu celé vegetační sezóny. Druh se vyskytuje od jara do pozdního podzimu a díky své konkurenceschopnosti je schopný bez citelného poklesu populačních stavů přečkat i masový rozvoj sinicových vodních květů (vlastní pozorování). Vedle zcela obecného výskytu v naší přírodě, celém mírném pásu a dokonce i v tropech, je další předností *Pediastrum duplex* var. *duplex* jako modelového organismu také velice malá pravděpodobnost záměny za jiné taxony. Pouze v případě velice subtilních coenobií není vyloučena možnost záměny s var. *gracillimum*, která var. *duplex* ve společenstvech fytoplanktonu nezřídka doprovází, neboť se její ekologické nároky s var. *duplex* do značné míry překrývají. Záměnu lze však prakticky eliminovat vyloučením všech jedinců striktně splňujících diagnostická kritéria pro var. *gracillimum*. Ta jsou i ve světelném mikroskopu snadno viditelná (kruhové či oválné perforace coenobií mají větší průměr než těla buněk a okrajové buňky coenobií mají výlučně cylindrické vnější laloky).

Buněčné stěny zástupců rodu *Pediastrum* obsahují v hojné míře rezistentní substanci tradičně označovanou jako sporopolenin (KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001), která je rigidní a po odumření buněčného obsahu při fixaci (roztokem formaldehydu, nebo roztokem jodu v KI, KALINA 1994) setrvává tvarově neměnná. Díky tomu se někteří zástupci v recentu spíše ustupujícího rodu vyskytují hojně ve fosilních vrstvách a jsou běžnou součástí palynologických vzorků s využitím v paleoekologii (KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001; TELL 2004a, 2004b). Např. o historickém výskytu var. *duplex* existuje záznam ve fosilních sedimentech z období ranného a středního Holocénu (KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001).

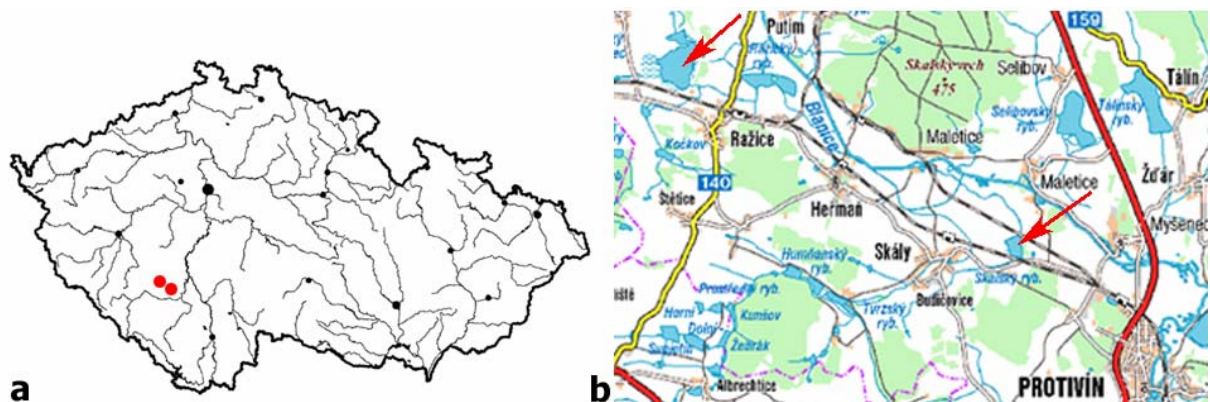
2 Materiál a metody

2.1 Popis lokalit

Pro účely této studie jsem si zvolil šest eutrofních rybníčních nádrží ve třech oblastech České kotliny – na Písecku, Mladoboleslavsku a na Liberecku. Všechny lokality jsou zasazeny do téhož typu krajiny, s jistým podílem čistě lesních i zemědělsky obhospodařovaných ploch; pouze Mlýnský rybník ve středních Čechách je situován v nepřerušném lesním porostu.

2.1.1 Jihočeské rybníky

V regionu jižních Čech jsem si vybral dvojici rybníků nedaleko Písku, rybník Řežabinec (součást NPR Řežabinec) poblíž obce Ražice a PP Skalský rybník při obci Skály.



Obr. 3 – (a) Mapa ČR se znázorněním polohy studovaných lokalit v jihočeském regionu; (b) podrobná mapka oblasti (1: 100 000) s vyznačením rybníka Řežabince (šipka vlevo) a Skalského rybníka (šipka vpravo), zdroj: <http://www.shocart.cz/cs/mapa-online.php>.

Skalský rybník (49°13'20"sš, 14°10'56"vd) se nachází v Budějovické pánvi 1,3 km JVJ od železniční stanice Skály v bezprostřední blízkosti trati mezi Ražicemi a Protivínem v nadmořské výšce 376 m n.m. Lokalita je zákonem chráněna od roku 1985 a důvodem ochrany je zejména bohatství příbřežních a břehových porostů, které slouží mj. i jako hnízdiště ohroženého ptactva. Z přítomných zástupců ohrožené flóry jmenujme bazanovec kytkokvětý

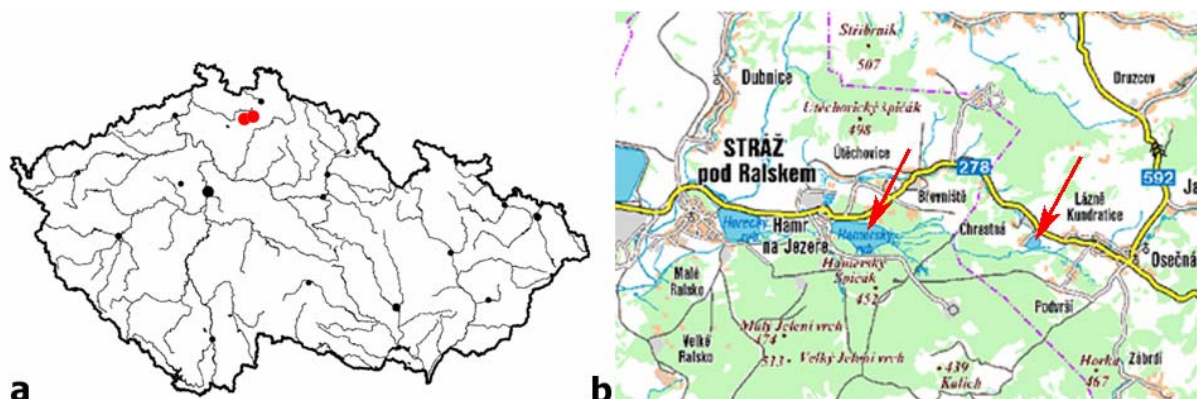
(*Lysimachia thyrsiflora* L.), prstnatec májový (*Dactylorhiza majalis* (REICHENB.) P.F.HUNT et SUMMERH.), žebratku bahenní (*Hottonia palustris* L.), či rdest tupolistý (*Potamogeton obtusifolius* L.). V letech 2000-2003 zde byl proveden bryofloristický průzkum (HORÁKOVÁ et al. 2005). Ze zde zjištěných zajímavých druhů mechorostů lze uvést např. ohrožený druh *Riccia cavernosa*. Jinak je nádrž o výměře vodní plochy cca 12,82 ha a maximální hloubce do 1,5 m hospodářsky využíván jako tzv. hlavní i plůdkový rybník. Je patrně pravidelně hnojen chlévskou mrvou či vápněm - opakovaně jsem zde začátkem léta a na podzim zaznamenával masový výskyt planktonních sinic vodního květu (zejména druh *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK).

Rybník **Řežabinec** (49°15'11.97" sš, 14°05'29.59" vd) je od roku 1949 součástí chráněného území NPR Řežabinec a Řežabinecké tůň v Budějovické pánvi. Území je situováno v nadmořské výšce 372 m v místech někdejších pískoven cca 1 km SV od obce Ražice na Písecku, do jehož katastrálního území spadá (vedle toho též do katastrálních území Lhoty u Kestřan a Putimi). Rozloha vodní plochy rybníka Řežabince činí 104,5 ha (s hloubkou do 200 cm) a spolu s ním jsou do chráněného území zahrnuty přilehlé louky, rašeliniště a tůň, hostící celou řadu vzácných druhů bezobratlých živočichů, obratlovců, cévnatých rostlin a řas. Příbřežní a břehové porosty rybníka a přilehlých tůní jsou hnízdištěm 172 druhů ptáků – tedy do té míry významným, že byla NPR Řežabinec a Řežabinecké tůň roku 2004 vyhlášena ptačí oblastí soustavy Natura 2000.

2.1.2 Severočeské rybníky

Dvojice zvolených rybníčních nádrží v Libereckém kraji na severu Čech se nachází mezi obcemi Osečná a Stráž pod Ralskem na území geomorfologického celku Ralské pahorkatiny (na pomezí podcelků Podještědské pahorkatiny a Kotelské vrchoviny).

Menší z obou nádrží, **Chrastenský rybník** (50°41'51"sš, 14°53'39.13"vd), se nachází při horním toku říčky Ploučnice v těsné blízkosti obce Chrastná (spadající do katastrálního území obce Osečná) v nadmořské výšce 351 m. Rybník o celkové výměře vodní plochy cca 7 ha slouží v první řadě jako přírodní koupaliště, na jeho jihozápadním břehu se nalézá rekreační komplex Jadran. Vedle toho se rybník intenzivně využívá také k chovu ryb. Nádrž byla v nedávné době nově odbahněna a dne 16. června 2006 napuštěna. Současná maximální hloubka rybníka po odbahnění je 240 cm.



Obr. 4 – (a) Mapa ČR se znázorněním polohy studovaných lokalit v severočeském regionu; (b) podrobná mapa oblasti (1: 100 000) s vyznačením Hamerského rybníka (šipka vlevo) a Chrastenského rybníka (šipka vpravo), zdroj: <http://www.shocart.cz/cs/mapa-online.php>.

Většina pobřežní vegetace je zdevastována vlivem provozu přilehlého rekreačního komplexu a recentními rekultivačními zásahy, nicméně přetrvávají zde nevelké plochy příbřežních rákosin, které dosud skýtají útočiště hnízdícímu ptactvu. V letech 2004–2006 (před odbahněním) jsem zde opakovaně v průběhu všech ročních dob registroval masové výskyty vláknitých planktonních sinic i zelených řas (zejména druhu *Volvox globator* (L.) EHR.). To ovšem nemění nic na skutečnosti, že tato nádrž patřila v rámci studované šestice z hlediska diverzity řas k druhově nejbohatším.

Větší z dvojice vybraných severočeských nádrží, **Hamerský rybník** (nebo též Hamerské „jezero“, 50°41'57.03"sš, 14°50'48.65"vd, 320 m n. m.), leží při obci Hamr na Jezeře (na Českolipsku), známé nejen jako rekreační destinace, ale také ještě v nedávné době fungujícími doly, kde se zejména v průběhu 70. a 80. let 20. století těžila vysoce hodnotná uranová ruda. Hamerský rybník, který podobně jako Chrastenský rybník leží v údolí říčky Ploučnice, vznikl patrně již na počátku 16. století kdy se zde těžila a zpracovávala pomocí hamrů železná ruda. Na konci 19. a počátkem 20. století zažila oblast největší rozvoj turistického ruchu. Ten byl zcela utlumen s počátkem těžby uranu v roce 1965 v nedalekých povrchových dolech a obsazením bezprostředně přilehlých rozsáhlých lesních komplexů okupační sovětskou armádou. Roku 1985 byl Hamerský rybník zcela vypuštěn z důvodu údajného nebezpečí zalití uranových dolů. Dno bylo následně zaneseno nebezpečnými chemikáliemi a to až do omezení těžby uranu roku 1993 prostor bývalého rybníka zarůstal hustým náletovými lesíkem. Po omezení těžby byl Hamerský rybník zrekultivován, dno vyčištěno a nově napuštěn vodou z jižního umělého kanálu Ploučnice – tzv. Hamerské

strouhy. Dnešní rozloha vodní plochy nádrže činí zhruba 57 ha (při maximální hloubce do 300 cm) a rybník slouží vedle chovu ryb především opět k rekreaci. Původní silně zrašelinělé břehy s porosty ostřic a suchopýru se zachovaly pouze ve fragmentech ve východní části rybníka. Při vypuštění rybníka v 80. letech byla pro záchranu okolních rašelinišť a podmáčených lesních porostů vybudována v této části menší hrázka. Větší část původní diverzity mokřadních a rašeliništních cévnatých rostlin sice postupem času nenávratně vymizela, nicméně dodnes je území botanicky velice cenné a zákonem chráněné (status přírodní památky). Obytnou zástavbou nepříliš porušené území při březích rybníka je zajímavé také algologicky, neboť při vyšších stavech hladiny zde jeho břehy přecházejí v systém mezotrofních tůní s bohatým výskytem šupinatých chrysomonád (vlastní pozorování). Samotný Hamerský rybník je eutrofní nádrž s občasným výskytem sinicových „vodních květů“. Podobně jako v nedalekém Chrastenském rybníce je i zde diverzita fytoplanktonu nápadně vysoká a prezentuje se napříč všemi u nás běžnými řasovými skupinami.

2.1.3 Středočeské rybníky

Ve středních Čechách jsem se zaměřil na přírodní park Jabkenicko, oblast v jihovýchodní části bývalého Mladoboleslavského okresu.

Menší z dvojice nádrží, **Mlýnský rybník** (50°19'10.35"sš, 15°1'17.67"vd, 244 m n.m.), je podobně jako severočeský Chrastenský rybník přírodním koupalištěm. Nachází se východně obce Jabkenice a spadá pod její katastrální území. Rybník je situován jako krajní nádrž celé kaskády rybníků Jabkenické obory. Podobně jako většinu ostatních rybníků kaskády lze i Mlýnský rybník označit za tzv. lesní rybník, protože je po celé délce svých břehů zcela zasazen do vzrostlého lesního porostu západního okraje komplexu Jabkenické obory. Břehy nesouvisle porůstá bor s vtroušenými javory a duby, nádrž je tedy po značnou část dne proměnlivě zastíněná. Zároveň je však relativně mělká (cca do 180 cm) a v průběhu celé vegetační sezóny v ní za vhodných podmínek dochází k masovému výskytu oscilatoriální sinice *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK); tato skutečnost má vliv na sníženou diverzitu fytoplanktonních společenstev na lokalitě.

Druhým ze středočeské dvojice je **Hluboký rybník** (50°18'7.16"sš, 15°0'22.65"vd, 229 m n.m.), nazývaný též Dubnický rybník, cca 1 km JV od obce Chudíř (v sousedství Jabkenic). Tento rybník je s rozlohou cca 8 ha (a maximální hloubce kolem 260 cm) podstatně větší a hlubší než Mlýnský rybník. Leží na pomezí zemědělsky využívaných

polností a pásma kulturních borů místy s věkovitými doubravami. Jako jediný ze šestice vybraných lokalit je Hluboký rybník situován mimo jakákoli obytná či zemědělská stavení a v porovnání s ostatními studovanými nádržemi působí dojmem určité nedotčenosti pobřežních biotopů. Vodní plocha je v porovnání s blízkým Mlýnským rybníkem mnohem otevřenější, byť i břehy tohoto rybníka z velké části porůstají stromořadí vzrostlých topolů a olší, které místy přecházejí v borové lesy či podmačené olšiny a rozsáhlé vysychavé rákosiny. Rybník s okolními mokřady se nalézá již mimo chráněnou oblast Jabkenické obory, nicméně jeho litorál a přibřežní i břehové porosty jsou útočištěm celé řady zajímavých druhů živočichů i cévnatých rostlin. Také Hluboký rybník je součástí menší kaskády trojice rybníků. Polohově je umístěn uprostřed a v porovnání s krajními rybníky je nesrovnatelně větší.



Obr. 5 – (a) Mapa ČR se znázorněním polohy studovaných lokalit ve středočeském regionu; (b) podrobná mapa oblasti (1: 100 000) s vyznačením Hlubokého rybníka (dolní šipka) a Mlýnského rybníka (horní šipka), zdroj: <http://www.shocart.cz/cs/mapa-online.php>.

2.2 Design sběru přírodních vzorků

Přírodní vzorky fytoplanktonu jsem systematicky sbíral na zvolených odběrových lokalitách v průběhu čtyřletého období 2003–2006. Celkem šest studovaných lokalit bylo zvoleno na základě vzájemné podobnosti v rámci jednoho regionu, a zároveň vzájemné nepodobnosti mezi regiony. Podobnost/nepodobnost je vyjádřena souborem fyzikálně-chemických ekologických parametrů běžně užívaných v algologii (pH, konduktivita, teplota vody v nádrži, rozloha nádrže, nadmořská výška). Vlastními odběrovými lokalitami byly eutrofní rybníční nádrže, buď intenzivně obhospodařované za účelem chovu ryb, nebo i podobným způsobem neprotěžované a využívané jen jako přírodní koupaliště. Do výběru se

ale dostaly také lokality zákonem chráněné jako součást národní přírodní rezervace (NPR Řežabinec), či přírodní památky (PP Skalský rybník). Zřetelné rozdíly mezi rybníky se odrážejí především v různé velikosti vodních ploch a současným stavem rybníčního hospodaření. Největší nádrží byl se 104,5 ha rybník Řežabinec, nejmenší pak mělký a stinný lesní rybník Mlýnský (kolem 3 ha).

Postup odběru přírodních vzorků byl následující. V průběhu let 2004–2006 jsem odebíral vzorky fytoplanktonu na každé z odběrových lokalit jednou v každé roční době – tj. v období jara (květen), v létě (pozdní červenec) a na podzim (první polovina října). Odběry všech šesti lokalit jsem v daném termínu uskutečnil vždy v co nejkratším možném časovém intervalu tj. optimálně během dvou následujících dnů. Data byla sebrána takto strukturovaně, aby následnými analýzami tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex* mohly být podchyceny případné meziskupinové rozdíly vázané buď lokálně, anebo na určité období vegetační sezóny roku. Analýza dat sebraných na ploše několika let by mohla být zdrojem informace o existenci/neexistenci vlivu sezóny na dynamiku tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex*.

2.3 Měření fyzikálně-chemických parametrů prostředí

Spolu s každým odběrem fytoplanktonu jsem za použití multifunkčního měřicího přístroje Combo pokaždé provedl měření základních fyzikálně–chemických ekologických parametrů prostředí, které determinují výskyt řas (pH, konduktivita, teplota). Vedle toho jsem též užitím Secchiho desky měřil momentální průhlednost ve vodním sloupci. Měření jsem prováděl za účelem jejich zahrnutí do dvoublokové analýzy parciálních nejmenších čtverců a pro mnohorozměrné regresní modely.

2.4 Determinace dominantních skupin fytoplanktonu

Vzorky fytoplanktonu jsem odebíral hydrobiologickou planktonní sítí o velikosti ok 40 μm . Část čerstvého vzorku jsem bezprostředně po odběru nafixoval roztokem jódu v KI (Lugolův roztok, viz KALINA 1994), zbytek jsem uchoval v živém stavu pro následnou fotodokumentaci a zpracování výchozích dat pro morfometrické analýzy. Živé vzorky jsem ještě týž den, kdy byl uskutečněn jejich odběr, algologicky zpracoval. Před mikroskopováním (ve světelném mikroskopu Olympus BX 40) jsem vzorky nechal centrifugovat po dobu 5

minut při 3000 ot./min. Vzorky fytoplanktonu jsem pozoroval v živém stavu, pouze v případě rozsivek jsem zhotovoval trvalé preparáty postupem biomineralizace podle návodu KALINY (1994). Zastoupení dominantních skupin zoo- a fytoplanktonu je v průběhu vegetační sezóny proměnlivé; k podchycení relativních četností zastoupených skupin byla užitá čtyřstupňová semikvantitativní škála, převzatá a upravená dle WOŁOWSKÉHO (1998):

semikvantitativní četnost	symbol
absence	0
< 2 buňky na sklíčko	1
> 2 buňky na sklíčko	2
masový výskyt (např. vodní květ)	3

Tab. 1 - Stupnice semikvantitativní četnosti zastoupení dominantních skupin fyto- a zooplanktonu.

K determinaci řas a orientačně i zooplanktonu jsem použil následující určovací klíče, atlasy a monografie: RAMANATHAN (1964); SIEMIŃSKA (1964); STARMACH (1966); SULEK (1969); STARMACH (1972, 1983, 1985); ASAUL (1975); Ettl (1978, 1983); HINDÁK (1978); KOMÁREK & FOTT (1983); KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986, 1988, 1991a, 1991b); SLÁDEČEK & SLÁDEČKOVÁ (1996a, 1996b); WOŁOWSKI (1998); KOMÁREK & ANAGNOSTIDIS (1999); KRAMMER (2000); KOMÁREK & JANKOVSKÁ (2001); LANGE-BERTALOT (2001).

Pro kombinovanou analýzu ekologických a morfometrických dat jsem si vybral tyto běžné skupiny planktonu: sinice (*Cyanobacteria*), zelené řasy (*Chlorophyta*), krásnoočka (*Euglenophyta*), obrněnky (*Dinophyta*), rozsivky (*Bacillariophyceae*), zlativky/šupinaté chryzomonády (*Chrysophyceae* + *Synurophyceae*) a heterokontní řasy z tříd *Xanthophyceae* a *Eustigmatophyceae*. Zaznamenávány byly i semikvantitativní četnosti výrazně abundantních zástupců zooplanktonu: korýšů (*Crustacea*), vířníků (*Rotatoria*) a nálevníků (*Ciliata*). Vedle uvedených skupin jsem zaznamenával i relativní četnosti nejčastějších doprovodných druhů *Pediastrum duplex* var. *duplex* z rodu *Pediastrum* s obdobnými ekologickými nároky: *Pediastrum boryanum*, *P. simplex* a *P. biradiatum*. Podobně jako měření ekologických parametrů vodního prostředí, i data o dominanci skupin jsem sbíral primárně za účelem jejich zahrnutí do studií kovariančních vztahů ekologických a tvarových proměnných.

2.5 Geometrická morfometrika

Landmarková geometrická morfometrika je metodicky komplexním souborem mnohorozměrných statistických technik, které umožňují zkoumat biologický tvar a jeho reálnou i teoretickou variabilitu. „Geometrií“ ve smyslu geometrické morfometrie míníme nejčastěji geometrii Kendallova tvaroprostoru, jehož metrikou je tzv. Prokrustovská vzdálenost (ZELDITCH et al. 2004; KLINGENBERG & MONTEIRO 2005). Z historického hlediska navazuje landmarková geometrická morfometrika společně s obrysovými metodami na tzv. tradiční morfometrii (BOOKSTEIN et al. 1982; BOOKSTEIN 1996; DRYDEN & MARDIA 1998; CANNON & MANOS 2000; BERTIN et al. 2002; HENNESSY & STRINGER 2002; UBUKATA 2003; TATSUTA et al. 2004).

Hlavním přínosem geometrické morfometrie je v porovnání s tradiční morfometrií schopnost operovat s tvarem objektu jako s vnitřně kompaktním celkem, kdy s jednotlivými konfiguracemi landmarků pracujeme jako s body v (Kendallově) tvaroprostoru; v těchto bodech lze identifikovat a navíc i zpětně rekonstruovat výchozí konfigurace landmarků v původním dvoj- či trojrozměrném prostoru (KLINGENBERG & MONTEIRO 2005). Jednotlivé tvarové proměnné, které se podílí na podobě celkového obrazu globální tvarové proměnlivosti studovaných objektů, jsou při geometricko-morfometrické analýze nahlíženy jako navzájem provázané celým spektrem prostorových závislostí (DRYDEN & MARDIA 1998; ZELDITCH et al. 2004). Tradiční morfometrika se nejen v minulosti ale také v současné praxi orientuje na zodpovězení poněkud odlišných otázek (viz např. CALLE et al. 2002; BARČIOVÁ & MACHOLÁN 2006; HENDERSON 2006).

V dnešní době již geometrická morfometrika našla aplikace i v botanických disciplínách, např. v taxonomii (JENSEN 1990; NEUSTUPA 2005; VERBRUGGEN et al. 2005a, 2005b), ekologii (NEUSTUPA & ŠŤASTNÝ 2006), nebo experimentální morfologii řas (NEUSTUPA & HODAČ 2005). Její časné aplikace však mají kořeny v humánní medicíně (HENNESSY & STRINGER 2002), která dnes také v největší míře užívá progresivních 3D technik (FUKAMI et al. 2004; HARVATI & WEAVER 2006; HENNESSY et al. 2006).

2.5.1 Přehled analyzovaného materiálu

Výchozí datový soubor pro geometricko-morfometrické analýzy sestával z celkem 44 populačních vzorků nasbíraných v letech 2003-06, kdy každý populační vzorek zahrnoval 50

jedinců. Pořadí a zkratky přiřazené jednotlivým populacím zachycuje Tab. 1 v Příloze.

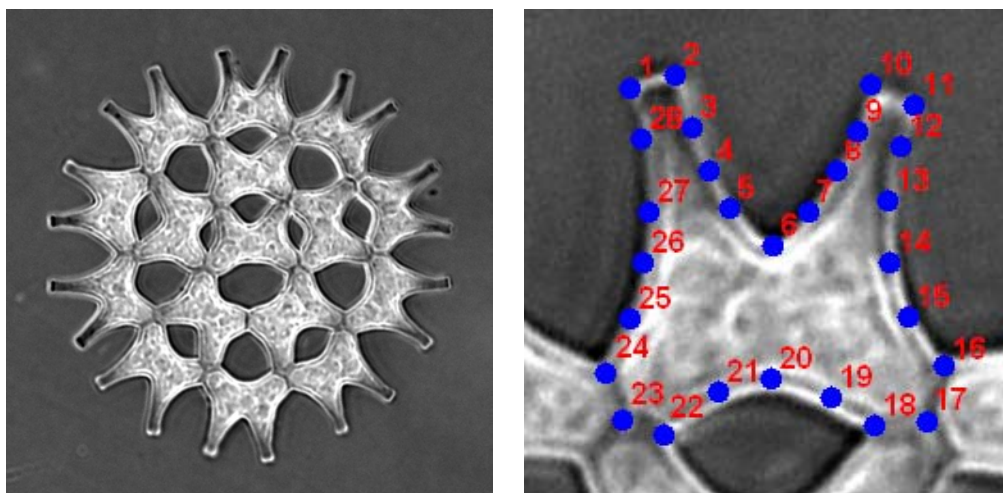
2.5.2 Digitalizace landmarků a semilandmarků

Na vnějším obrysu marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* jsem vymezil 28 tzv. význačných bodů (landmarků a semilandmarků, Obr. 6 na str. 18), na všech strukturách „homologických“ ve smyslu geometrické morfometriky. Homologickými body jsou míněny jakékoli body geometricky si odpovídající na každém z objektů v rámci studovaného výběru (MACLEOD 2001; STEGMANN & GOMEZ 2002). Celkový počet 28 význačných bodů zaručil, aby byl při téměř rovnoměrných rozestupech mezi body zachycen celistvý obrys buněk a nebyla zde opomenuta žádná potenciálně variabilní část; optimalizaci počtu a přesného rozmístění landmarků jsem provedl již v průběhu vypracování bakalářské seminární práce (HODAČ 2005). Protože vnější obrys marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* sestává nejen z úseků dobře definovaných přímými hranami a úhly, ale i z oblastí, které jsou spíše nepravidelnými křivkami, použil jsem k podchycení jeho tvaru vedle landmarků i semilandmarky. Landmarky jsou geometricky si odpovídající body lokalizované na vždy výrazně vymezených strukturách, např. na přelomu dvou hran, nebo na styku dvou symetricky shodných polovin objektu. Semilandmarky jsou obdobně v rámci výběru geometricky si odpovídající body, avšak jejich konkrétní pozici nelze striktně vymezit; sérií semilandmarků můžeme postihnout variabilitu, která se odehrává v oblastech křivek ohraničených pevnými landmarky. Přednost semilandmarků spočívá v jejich schopnosti „klouzat“ po obrysu objektu při Prokrustovské superimpozici – ve výsledku zaujímají rovnocenné rozestupy, tj. rozmístí se rovnoměrně podél křivky mezi landmarky. Landmarky schopnost „klouzání“ při Prokrustovské superimpozici nemají (RAO & SURYAWANSHI 1996; MACLEOD 2001; ROSENBERG 2002; ROSAS & BASTIR 2004; PEREZ et al. 2006).

Výchozí data pro geometricko-morfometrické analýzy byla sebrána z čerstvých živých vzorků. V mikroskopickém preparátu z každé ze zdrojových lokalit, kde to dostatečně vysoká četnost *Pediastrum duplex* var. *duplex* umožňovala, jsem pomocí digitálního fotoaparátu Olympus nainstalovaném na světelném mikroskopu Olympus BX 51 pořídil soubor 50 mikrofotografií coenobií *Pediastrum duplex* var. *duplex* při 400-násobném zvětšení. Za účelem odfiltrování nitrocoenobiální variability byly užitím grafického software Adobe Photoshop 5.0 z každého coenobia vyjmuty dvě protistojné marginální buňky. Rozhodnutí, vybrat právě tyto dvě buňky, předcházela analýza morfologické integrace marginálních buněk

coenobia. Zmíněnou analýzu jsem uskutečnil ještě dříve, než jsem přistoupil k práci s morfometrickými daty ve své bakalářské seminární práci (nepublikovaná data), a to v programu PLSMaker6g SHEETS (2002), kdy jsem pomocí výpočtů parametru míry vzájemné morfogenetické asociace (tzv. *trace correlation*) (KLINGENBERG 2002; KLINGENBERG et al. 2001, 2003, 2004; KLINGENBERG 2004, 2005) zjišťoval, které dvě z buněk na obrysu coenobia vykazují co nejmenší morfogenetickou integraci (KLINGENBERG & ZAKLAN 2000). Tyto dvě buňky jsou při své morfogenezi navzájem relativně nejnezávislejší a proto se v nich obsažená tvarová informace o to méně překrývá. Ze všech kombinací buněk na obrysu coenobia vykazují nejnižší hodnoty „*trace correlation*“ právě dvojice buněk, které jsou na obrysu coenobia situovány naproti sobě.

Geometrická informace obsažená v obrysu těchto buněk byla později po provedení Prokrustovské superimpozice a symetrizace zprůměrována – tím se každá jednotlivá buňka stala průměrnou reprezentací svého coenobia. Význačné body (landmarky a semilandmarky) na vnějším obrysu buněk byly z mikrofotografií digitalizovány v programu tpsDig ver. 1.40 ROHLF (2004). Pomocí utilizačního programu tpsUtil ver. 1.33 ROHLF (2004) jsem vytvořil soubor obsahující informaci o poloze pevných význačných bodů a semilandmarků. Aby se odstínil vliv efektu flukтуаční asymetrie, bylo nutné bilaterálně symetrické konfigurace význačných bodů symetrizovat (kap. 2.5.2.2)



Obr. 6 - Digitalizace landmarků (1, 2, 6, 10, 11, 16-18, 22-24) a semilandmarků (3-5, 7-9, 12-15, 19-21, 25-58)

2.5.2 Standardizace geometricko-morfometrických dat

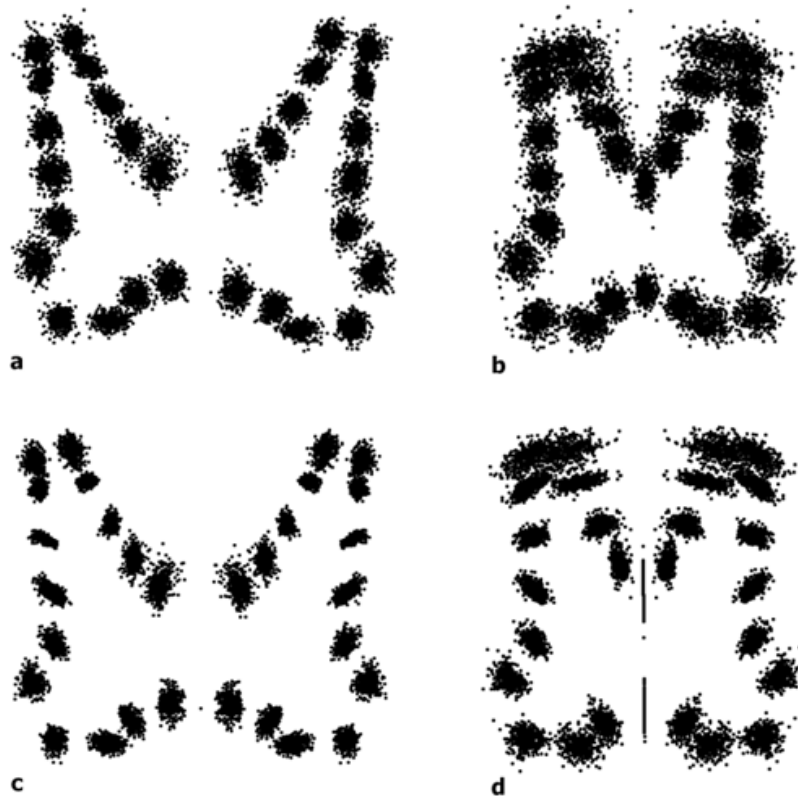
Před vstupem do první exploratorní analýzy (RWA) je zapotřebí výchozí data (digitalizované konfigurace landmarků) vhodně upravit. Nejdříve je nezbytné odstínit vliv netvarových proměnných (velikost, orientace a poloha objektu ve výchozím euklidovském prostoru).

2.5.2.1 Prokrustovská superimpozice

Geometrická morfometrika operuje výlučně s tvarovými proměnnými, které jsou reprezentací geometrické informace, již lze extrahovat z jakéhokoli souboru dvou- či trojrozměrných objektů téhož druhu. Prokrustovská superimpozice je, zjednodušeně řečeno, morfometrickou standardizací – jednou z možných cest, jak z nestandardizovaných dat nasbíraných v přírodě efektivně odstranit ty složky variability, které nejsou povahy tvarových proměnných, a tudíž mají potenciál vnášet do geometricko-morfometrických analýz „šum“. Data o biologickém tvaru i jejich celistvé soubory vykazují nepřehlednutelnou diferenciaci především v třech následně uvedených relevantních parametrech netvarové podstaty: velikosti orientaci a pozici v dvourozměrném popř. trojrozměrném prostoru, v němž byly zachyceny jako konfigurace význačných bodů. Cílem Prokrustovské superimpozice je nalezení fixní vztažné soustavy, kde se vzájemné odlišnosti geometrických objektů redukuje do podoby velikosti a směru odchýlení těchto objektů od jediné konsenzuální (referenční) konfigurace (DRYDEN & MARDIA 1998; KLINGENBERG & MCINTYRE 1998; KLINGENBERG et al. 1998; ROHLF 1999, 2000; CORTI & ROHLF 2001; KENT & MARDIA 2001; CLAUDE et al. 2002; BAYLAC et al. (2003); DAHL & NÆS 2003; ROHLF 2003; BECERRA & VALDECASAS 2004; DEBAT et al. 2006).

Výpočet konsenzuální konfigurace je při užití Prokrustovské superimpozici založen na metodě nejmenších čtverců (ROHLF & SLICE 1990). Konsenzuální konfigurace zahrnuje informaci o pozici všech geometricky korespondujících význačných bodů napříč všemi objekty vloženými do Prokrustovské analýzy. Tyto objekty však během výpočtu konsenzuální konfigurace nezůstaly neměnnými, ale byly (1) naškálovány na jednotkovou centroidovou velikost („centroid size“, viz Slovník užitě geometricko-morfometrické terminologie na str. 27) a (2) prostorově orientovány (rotovány) a posunuty do středu souřadnicové soustavy tak, aby „fit“ těchto objektů na násobnými iteracemi generované konsenzy byl maximální. Ani

jedna z výše uvedených datových manipulací neovlivňuje tvar analyzovaných objektů, ale má za úkol odfiltrvat vliv netvarových proměnných (GOODALL 1991; ZELDITCH et al. 2004). V běžné geometricko-morfometrické terminologii se pro výstup Prokrustovské analýzy užívá označení Prokrustovské reziduály.



Obr. 7 - Symetrizace datového souboru. (a) Prokrustovské superimpozici separátně podrobené levé a pravé poloviny nesymetrizovaných objektů; (b) Prokrustovská superimpozice týchž dat jako v (a), bez separace zrcadlových polovin objektu; (c) Prokrustovská superimpozice symetrizovaných dat, obě poloviny objektů byly superimponovány odděleně; (d) Prokrustovská superimpozice dat optimálně symetrizovaných dle mediální osy (y).

Obr. 7 znázorňuje výstup Prokrustovské superimpozice (=generalized orthogonal least-squares Procrustes analysis) jediného datového souboru, manipulovaného různými způsoby. Obrázek jasně poukazuje na skutečnost, že symetrizace má za následek celou řadu nezanedbatelných efektů. Na prvním místě dochází k usměrnění rozptylu jednotlivých význačných bodů kolem průměrné konsenzuální konfigurace; zatímco při Prokrustovské superimpozici nesymetrizovaných dat varírují landmarky takřka ve všech směrech napříč celým obrysem buňky.

2.5.2.2 Symetrizace

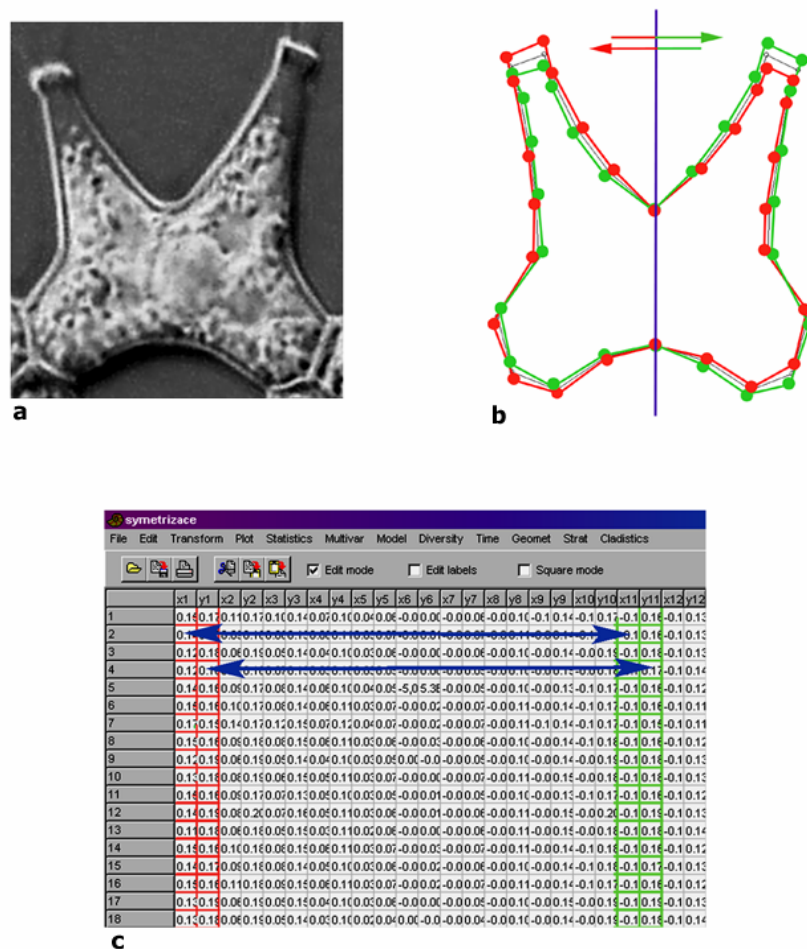
Při geometricko-morfometrických studiích bilaterálně symetrických biologických objektů se střetáváme s problematikou asymetrie obou zrcadlových polovin, která je hned trojího typu (pro stručný popis typologie viz terminologický slovník na str. 27). Vysokou vypovídací hodnotu studia asymetrické složky tvarové variability dokládá celá řada starších i recentních studií (PALMER & STROBECK 1986; PALMER 1994; SMITH et al. 1997; KLINGENBERG et al. 1998; KLINGENBERG & NIJHOUT 1998a, 1998b; KLINGENBERG 2000a, 2000b; RADWAN et al. 2003; OLEKSYK et al. 2004; LEAMY & KLINGENBERG 2005; WILLMORE et al. 2005; BREUKER et al. 2006; DEBAT et al. 2006).

Není-li však naším cílem v datech odhalovat, popisovat a statisticky testovat *pattern* tvarové variability vázané na asymetrii, nezbyvá než data symetrizovat a pracovat pouze se symetrickou složkou tvarové variability. V případech, kdy studujeme objekty typu marginálních buněk *coenobii Pediastrum duplex* var. *duplex*, je dokonce separátní analýza symetrické/asymetrické složky tvarové variability vyloučena. Zejména proto, že zde prakticky není možné spolehlivě rozhodnout, která z obou zrcadlově symetrických polovin objektu je „levá“ a která „pravá“, neboť nelze určit dorzální a ventrální stranu objektu. Což je přirozeně při srovnání pravo-levých odchylek od symetrie zásadní problém.

V této práci jsem provedl odfiltrování vlivu flukтуаční asymetrie procesem symetrizace dat podle KLINGENBERGA et al. (2002). Spočívá v transformaci všech konfigurací význačných bodů v jejich zrcadlové obrazy (za osu symetrie byla vzata podélná osa buněk a následného výpočtu aritmetického průměru z těchto obrazů a původních konfigurací. Variabilita ve význačných bodech ležících na dané ose symetrie se odehrává pouze ve směru této osy, nikoli v laterálních směrech.

Detailní postup ilustruje Obr. 8 na následující straně. Prokrustovské superimpozici jsem podrobil dvojici sloučených datových souborů, z nichž první obsahoval původní netransformované konfigurace landmarků a semilandmarků všech objektů a druhý jejich zrcadlově symetrické obrazy. Zrcadlově symetrické obrazy původních konfigurací jsem obdržel záměnou dvojic odpovídajících si význačných bodů mezi oběma symetrickými polovinami buněk. Tuto záměnu souřadnic je nejsnazší provést ve statistickém programu PAST HAMMER et al. (2001). Protože osa symetrie je totožná s mediální osou objektů (tj. „y“), dochází zmíněnou operací k přemístění pouze x-ových souřadnic (Obr. 8(c)). Proto je nutné x-ové souřadnice vynásobit minus jedničkou. Produktem Prokrustovské superimpozice sloučeného souboru původních konfigurací a jejich symetrických obrazů je soubor

standardizovaných konfigurací se společnou referenční konfigurací. Prostým aritmetickým zpřůměrováním příslušejících si dvojic standardizovaných konfigurací získáme konfigurace dokonale bilaterálně symetrické.



Obr. 8 – Symetrizace: (a) marginální buňka *Pediastrum duplex* var. *duplex* se zřetelně asymetricky stavěnými hyalinními výběžky externích laloků; (b) znázornění rotace symetrizovaného objektu kolem osy symetrie; (c) postup pro získání zrcadlového obrazu objektu užitím programu PAST.

2.5.3 Extrakce tvarových proměnných

Výše uvedeným způsobem standardizovaná data, obsahující již pouze informaci tvarové povahy, jsou výchozím souborem pro extrakci tvarových proměnných (skórů objektů na parciálních warpech) a pro následný rozklad tvarové variability na bázi analýzy hlavních komponent. Uvedené manipulace s daty jsem provedl v programu tpsRelw ver. 1.40 ROHLF (2004). Tvarové proměnné ze souboru konfigurací landmarků, standardizovaných na společný

konsenzus, extrahuje interpolační funkce *thin-plate spline* (DRYDEN & MARDIA 1998; ZELDITCH et al 2004; SLICE et al 2005; MACHOLÁN 2006). Zde geometricko-morfometrická terminologie operuje s tzv. *warpy*, jejichž typologii a význam shrnuje Slovník na str. 27.

2.5.4 Analýza relativních warpů

Pro nízkodimenzionální aproximaci hlavních trendů tvarové variability slouží v geometrické-morfometrice obecně užívaná analýza relativních warpů (AUFFRAY et al. 1996; JENSEN et al. 2002; GIRI & COLLINS 2004; ZELDITCH et al. 2004; NAVIA et al. 2006). Jedná se o klasickou exploratorní techniku na bázi analýzy hlavních komponent (PCA) matice deformační energie (*bending-energy matrix*, viz Slovník na str. 27). Podobně jako analýza hlavních komponent i analýza relativních warpů hledá minimální počet navzájem nekorelovaných vektorů, jimiž lze ilustrovat prostorové vztahy jednotlivých objektů mnohorozměrného tvaroprostoru prostřednictvím dvou- či trojrozměrně znázornitelného méněrozměrného přiblížení. Stručně řečeno, při analýze relativních warpů dochází k rotaci pomyslného pravoúhlého osního kříže (pravoúhlé soustavy souřadnic) ve směrech maximální dosažitelné variability tak, aby osy byly navzájem nekorelované a zároveň seřazené sestupně podle proporce variability, kterou popisují (ZELDITCH et al 2004). Analýzu relativních warpů jsem provedl užitím programu tpsRelw ver. 1.40 ROHLF (2004) bez separace afinního a neafinního komponentu a při nastavení hodnoty α -faktoru = 1.

2.5.5 Analýza kanonických variát

Canonical variates analysis je další v geometrické morfometrice široce používanou exploratorní i testovací statistickou technikou (ROHLF et al. 1996; DUARTE et al. 2000; CORTI & ROHLF 2001; DOUGLAS et al. 2001; RÜBER AND ADAMS 2001; DOBIGNY et al. 2002; CARDINI 2003; DEBAT et al. 2003; HARVATI 2003; KLINGENBERG et al. 2003), i když s určitými výhradami (viz např. BOOKSTEIN 1991). Jedná se o víceskupinovou diskriminační analýzu a na rozdíl od analýzy relativních warpů nehledáme kriteria maximalizující rozdíly mezi jednotlivými objekty, ale kriteria maximálních rozdílů mezi *a priori* předdefinovanými skupinami objektů. Při této analýze dochází k extrakci tzv. kanonických os, která se v mnoha ohledech shoduje s postupem při extrakci hlavních komponent při PCA; s tím podstatným rozdílem, že CVA nedemonstruje rozdíly mezi objekty, ale mezi skupinovými průměry (ZELDITCH et al 2004). Počet kanonických os je odvislý od počtu skupin vstupujících do

analýzy; v geometricko-morfometrických studiích je zpravidla počet skupin menší než počet proměnných, a v tom případě je počet kanonických os roven počtu skupin zmenšenému o jedna. Platí pravidlo, že první kanonická osa je vedena ve směru největší variability mezi skupinovými průměry, druhá je na ni kolmá a shrnuje maximum variability mezi skupinovými průměry nepostižené osou první atd. Analýzu kanonických variát provází celkový test rozdílu mezi skupinami, tj. mnohorozměrná analýza variance (MANOVA). Statistickou signifikantnost jednotlivých kanonických os testuje např. program CVAGen6j SHEETS (2003b) prostřednictvím testové statistiky Wilksovo λ . Mnohorozměrnou regresí tvarových proměnných na skóry objektů na kanonických osách jsem užitím programu tpsRegr ver. 1.24 ROHLF (2004) rekonstruoval tvarové trendy podél kanonických os. Pro utilizaci datových souborů používaných v programech statistického balíku IMP bylo dále nutné použít program CoordGen6f SHEETS (2003a).

2.5.6 Kovariance mezi tvarem a ekologickými proměnnými

Analýza parciálních nejmenších čtverců (*partial-least squares analysis, PLS*) je statistická technika, umožňující vysledovat kovarianci mezi dvěma datovými soubory (KLINGENBERG et al. 2000; KLINGENBERG & ZAKLAN 2000; ROHLF & CORTI 2000; RÜBER & ADAMS 2001; BOOKSTEIN et al. 2002; MARUGAN-LOBON & BUSCALIONI 2006). Program tpsPLS ver. 1.18 ROHLF (2006) počítá buď kovarianci mezi dvěma maticemi tvarových proměnných, nebo mezi maticí tvarových proměnných a sadou nezávislých proměnných, např. hodnotami ekologických parametrů. Z obou separátních souborů proměnných, mezi nimiž hledáme kovarianci, jsou pomocí metody *partial-least squares* extrahovány vektory (lineární kombinace) sumarizující variabilitu uvnitř každé z matic. Extrakce vektorů však v obou maticích neprobíhá nezávisle; záměrem je najít takové páry variabilitu sumarizujících vektorů, jejichž kombinací lze zároveň popsat maximální kovarianci mezi oběma datovými soubory. Výsledné párové lineární kombinace jsou známe pod označením „*singular warps*“. Mezi párovými vektory může navíc existovat korelace. Statistickou signifikantnost nenáhodnosti existence přítomných korelačních a kovariančních vztahů na dané hladině statistické významnosti testují v programu inkorporované mnohorozměrné randomizační testy.

Techniku *partial-least squares* jsem použil pro identifikaci korelací mezi tvarem a ekologickými proměnnými naměřenými v přírodě. Datový soubor obsahující informaci o

tvaru sestával z celkem 2200 marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* z desítek populací fytoplanktonu. Proměnné obsažené v matici ekologických proměnných byly kvantitativní i kategoriální povahy: pH, konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$], teplota [$^{\circ}\text{C}$], průhlednost [cm], nadmořská výška [m n.m.] a plošná velikost rybníka [ha]; faktor regionu – jihočeský, středočeský a severočeský, faktor lokality sběru – Skalský rybník, Řežabinec, Mlýnský rybník, Hluboký rybník, Chrastenský rybník, Hamerský rybník.

2.5.6 Korelace matic morfometrických a geografických vzdáleností

Korelaci mezi dvěma symetrickými maticemi vzdáleností různých typů počítá např. program Mantel CAVALCANTI (2001). Prostřednictvím Mantelova testu je vypočítán korelační koeficient „ r “, odrážející těsnost vztahu obou vzdálenostních matic (MANTEL 1967). Mantelův test již v geometrické morfometrice našel uplatnění (viz. např. SOKAL & ROHLF 1995) a v případě této studie jsem jej použil pro analýzu vztahu geografické vzdálenosti populací s jejich vzdálenostmi v (Kendallově) tvaroprostoru, jehož metrikou je Prokrustovská vzdálenost. Jednotlivé populace představovaly vzorky sebrané na různých lokalitách a za reprezentanty každé z nich v (Kendallově) tvaroprostoru jsem zvolil jejich konsenzuální konfigurace, mezi nimiž jsem v programu tpsSplin ver. 1.20 ROHLF (2003) spočítal Prokrustovské vzdálenosti. Výsledky však v kapitole 3 neuvádím, protože korelační koeficient nebyl signifikantní; mezi maticemi neexistuje lineární korelační vztah.

2.5.7 Mnohorozměrné regresní modely

Užitím programu tpsRegr ver. 1.24 ROHLF (2004) jsem zjišťoval podobu tvarových deformací v závislosti na ekologických parametrech prostředí (pH, konduktivita, teplota, průhlednost), které mají nepochybně vliv na morfogenezi buněk i celých coenobií (ORON et al. 2005; MEINDL 1993). Program jsem dále použil k vytvoření modelu pro predikci tvarových změn podél gradientu uvedených ekologických faktorů podobně jako LETCHER (2003), nebo NEUSTUPA & HODAČ (2005). Tentýž program dále umožňuje testovat, zda jsou vygenerované mnohorozměrné regresní modely statisticky signifikantní (užitím testových statistik Wilksovo λ a Goodalovo F a dále výpočtem náhodnosti frekvence výskytu jejich hodnot prostřednictvím mnohorozměrného randomizačního testu).

Mnohorozměrnou regresní analýzou vztahu proměnlivosti biologického tvaru v závislosti na fyzikálně-chemických parametrech prostředí jsem rozšířil poznatky získané v průběhu vypracování své bakalářské seminární práce (HODAČ 2005). Zde jsem tutéž techniku použil ke zjišťování vztahů tvarových trendů popsaných relativními warpy na proměnné netvarové povahy přímo asociované se samotnými analyzovanými objekty (např. velikost buněk [μm], velikost coenobií [μm], počet buněk v coenobiu).

2.5.8 Párová srovnání – mnohorozměrné randomizační testy

Program tpsRegr ver. 1.24 ROHLF (2004) jsem dále použil pro vzájemná párová porovnání jednotlivých populačních vzorků (na bázi konfigurací landmarků), s cílem zjistit, mezi kterými z nich existuje/neexistuje statisticky signifikantní rozdíl. Výsledky mnohorozměrných permutačních testů neodhalily ani jedinou dvojici, kde by se navzájem populace statisticky signifikantně nelišily. Průměrné konfigurace landmarků každého ze srovnávaných souborů jsou od ostatních statisticky průkazně odlišné.

2.5.9 Analýza struktury morfologické variability

Studie mezipopulační disparitnosti a vnitřní variability populací se dotýkají nejrůznějších biologických odvětví (MARUGÁN–LOBÓN & BUSCALIONI 2003; NEIGE 2003; ZELDITCH et al. 2005). Morfologickou disparitnost uvnitř populací, tj. exaktní kvantifikaci tvarové fenoplasticity uvnitř souboru morfometrických dat, vyjadřuje termín „*variation*“. Program DisparityBox6h SHEETS (2003c) ji počítá jako rozptyl Prokrustovských vzdáleností superponovaných objektů od společné konsenzuální konfigurace.

Zatímco *variation* je proměnná jejíž pomocí mapujeme strukturu tvaroprostoru v rámci jediné populace, disparita je mírou rozptylu více skupinových průměrů kolem globálního konsenzu. Algoritmus pro výpočet „*variation*“ jsem použil pro zmapování variability uvnitř populací lišících se nejen velikostí, ale i původem; porovnával jsem např. zda je vyšší hodnota „*variation*“ vázaná na vzorky z podzimního nebo letního období, popř. zda se v témže parametru navzájem liší jednotlivé souhrnné vzorky sebrané v různých letech. Analýzu jsem provedl v programu DisparityBox6h SHEETS (2003c) a jejím hlavním cílem

bylo získat praktickou informaci o vztahu velikosti populačního vzorku a míře vnitřní morfologické variability populací, která by mohla implikovat jisté standardizace sběru dat v budoucnu.

2.5.10 Stručný slovník užitých geometricko-morfometrické terminologie

Slovník jsem sestavil především za použití následující literatury: SLICE et al. (1998); HAMMER (2002); ZELDITCH et al. (2004) a SLICE (2005).

α -faktor (*scaling factor*) – faktor, jímž násobíme hodnoty parciálních warpů před tím, než z nich počítáme relativní warpy. α -faktor nabývá hodnot od -1 do 1 a nejčastěji jej používáme v hodnotách -1, 0 a +1. Je-li $\alpha = 0$, jsou všechny parciální warpy při výpočtu relativních warpů váženy stejnou měrou. V případě, kdy je $\alpha < 0$, jsou výše váženy parciální warpy o vyšších hodnotách deformační energie; když je $\alpha > 0$, vážíme výše parciální warpy s nižšími hodnotami deformační energie.

alometrie – jakákoli změna tvaru korelovaná se změnou velikosti. Rozlišujeme tři typy alometrie: (1) ontogenetickou alometrii – změna tvaru organismu při jeho růstu během ontogeneze, (2) statickou alometrii – v rámci jednoho vývojového stadia se vyskytují odchylky od průměrné velikosti a s nimi korelované odchylky od průměrného tvaru daného stadia, (3) evoluční alometrii – změna tvaru organismu doprovázející jeho změnu velikosti v průběhu evoluce.

bilaterální asymetrie – rozlišujeme tři typy odchylek od dokonalé bilaterální symetrie, které lze zaznamenat při analýze bilaterálně symetrických biologických objektů: (1) antisymetrie – většina objektů vykazuje odchylky od symetrie, avšak tyto odchylky postihují levou a pravou polovinu objektu ve zcela shodné míře, tj. odchylky od symetrie mají bimodální pravo-levé rozdělení; (2) usměrněná asymetrie (*directional asymmetry*) – většina objektů vykazuje odchylky od symetrie a těmito odchylkami je protížena především jedna z polovin objektu, tj. odchylky od symetrie mají normální rozdělení s nenulovou průměrnou hodnotou; (3) flukтуаční asymetrie – nejčastější případ asymetrie, kdy „standardní“ objekt analyzovaného vzorku je symetrický, avšak mezi objekty existují odchylky od symetrie, které mají normální rozdělení s nulovým průměrem (hodnota směrodatné odchylky od nulového průměru je zde považována za indikátor vývojové (ne)stability.

centroid size (CS) - v geometrické morfometrii často užívaný termín pro velikost objektů.

CS landmarkové konfigurace počítáme jako druhou odmocninu ze součtu umocněných vzdáleností všech landmarků od těžiště konfigurace.

generalized least-squares superimposition - zobecněná superpoziční technika založená na kritériu nejmenších čtverců. Jejím prostřednictvím hledáme takovou konsenzuální konfiguraci, která splňuje podmínku, aby součet umocněných vzdáleností jejích landmarků od landmarků všech ostatních objektů analyzovaného souboru byl minimální. V landmarkové geometrické morfometrii je nejužívanějším typem této superpoziční techniky tzv. *generalized least-squares Procrustes superimposition (GLS)*.

Kendallův tvaroprostor (*Kendall's shape space*) - geometrická konstrukce, umožňující zkoumat vzájemné vztahy mezi různými konfiguracemi landmarků prostřednictvím míry (ne)podobnosti založené na Prokrustovských vzdálenostech. Každý bod Kendallova neeuklidovského tvaroprostoru zastupuje jedinečnou konfiguraci landmarků bez ohledu na její velikost, polohu a orientaci ve výchozím euklidovském prostoru. Mnohorozměrná statistická analýza geometricko-morfometrických dat však tradičně probíhá v tzv. tangenciálním euklidovském prostoru tečném na povrch zakřiveného Kendallova tvaroprostoru v bodě referenční konfigurace.

konsenzuální konfigurace (*consensus configuration*) – průměrná konfigurace landmarků analyzovaného vzorku. Obvykle ji počítáme jako produkt superimpozice konfigurací.

L - základní matice pro výpočet výsledného produktu transformace jednoho objektu v druhý prostřednictvím funkce *thin-plate spline*. Rovnice této funkce má koeficienty L^{-1} a h , kde h je vektor x, y souřadnic landmarků cílového objektu (do jehož podoby provádíme transformaci jiného objektu). Umocněním inverzní matice k matici-L obdržíme hodnotu deformační energie (*bending energy*).

matice deformační energie (*bending-energy matrix*) - matice pro výpočet tzv. „*principal warps*“ a jim příslušejících deformačních energií (tj. jejich vlastních hodnot a vlastních vektorů). Matice je funkcí vzdáleností mezi landmarky v rámci referenční konfigurace.

partial warps - páry (v případě 2D objektů) popř. triplety (u 3D objektů) vektorů zvaných *principal warps*, které zachycují rozdíly mezi jednotlivým objektem datového souboru a referenční konfigurací. Skóry na těchto vektorech (*partial warp scores*) jsou skóry pro každý objekt na každé z os zv. *principal warps*. V souhrnu jsou vektory zv. *partial warps* základem pravoúhlého systému os, které definují mnohorozměrný prostor neafinních tvarových změn. *Partial warp scores* jsou tvarovými proměnnými.

principal warps - vlastní vektory (*eigenvectors*) matice deformační energie (*bending energy matrix*). Ta je submaticí L^{-1} matice, ze které počítáme koeficienty pro funkci *thin-plate spline*. L^{-1} matice obsahuje informaci o změnách tvaru v lokálním měřítku a její vlastní vektory (*eigenvectors*) jsou lineárními kombinacemi pravoúhlých posunů (*orthogonal displacements*) landmarků referenční konfigurace, které indukuje energie potřebná k deformaci hypotetického kovového plátku do podoby referenční konfigurace. Jinými slovy, první *principal warp* (spojený s nejvyšší hodnotou deformační energie – *bending energy*) reprezentuje nejlokálnější deformace referenční konfigurace. Druhý *principal warp* je spojený s maximem energie potřebné pro lokální tvarové změny kolmé k prvně jmenovaným atd. Klíčovým znakem těchto vektorů je skutečnost, že jsou funkcí pouze a jenom referenční konfigurace. Jsou spočítány bez ohledu na jakékoli jiné konfigurace landmarků, a proto nenesou o datovém souboru žádnou jinou informaci, než o příspěvku jednotlivých konfigurací význačných bodů pro výpočet konsensu. Projekcí jednotlivých konfigurací landmarků na vektory zv. *principal warps* obdržíme tzv. *partial warps*. *Principal warps* jsou vektory tangenciálního prostoru definovaného neafinními komponenty funkce thin-plate spline.

Prokrustovská super(im)pozice (*Procrustes superimposition*) - superimpozice všech objektů analyzovaného souboru, založená na minimalizaci vzájemných Prokrustovských vzdáleností v Kendallově tvaroprostoru.

Prokrustovská vzdálenost (*Procrustes distance*) – vzdálenost jakýchkoli dvou konfigurací landmarků v Kendallově tvaroprostoru. Vyjadřujeme ji jako druhou odmocninu ze součtu umocněných vzdáleností mezi geometricky korespondujícími landmarky. Platí ovšem v případě, že jsou obě konfigurace podrobeny Prokrustovské superimpozici.

referenční konfigurace (*reference configuration*) – konfigurace landmarků, se kterou jsou při geometricko-morfometrické analýze všechny ostatní konfigurace porovnávány. Pro co nejpřesnější aproximaci zakřiveného Kendallova tvaroprostoru lineárním tangenciálním prostorem je nutné, aby bod dotyku obou prostorů (= referenční konfigurace) identický s místem nevyšší hustoty výskytu objektů analyzovaného souboru – pak termín referenční konfigurace splývá s pojmem konsenzuální konfigurace.

relative warps - lineárními kombinacemi vektorů zv. *partial warps* a afinního komponentu, které mají za cíl rozložit celkovou tvarovou variabilitu datového souboru do podoby navzájem nekorelovaných proměnných – os, vedených ve směrech nejvyšší tvarové variability. Podobně jako skóry objektů na parciálních warpech, i skóry objektů na warpech

relativních jsou tvarovými proměnnými použitelnými např. při testování (ne)podobnosti skupin či jednotlivých objektů jinými statistickými technikami.

singular warps - páry vektorů (lineárních kombinací) maximalizující kovarianci mezi dvěma soubory proměnných, vztahujících se k týmž pozorovaným objektům (viz dále u analýzy parciálních nejmenších čtverců, PLS). Jeden z těchto souborů, může sestávat z tvarových proměnných a druhý může obsahovat např. hodnoty ekologických parametrů. Nebo mohou být oba datové soubory založeny na tvarových proměnných.

tangenciální prostor (*tangent space*) - euklidovský prostor, kde jsou vztahy mezi objekty lineární. Tangenciální prostor je tečný na povrch zakřiveného Kendallova tvaroprostoru v bodě referenční konfigurace. Lineární přiblížení vztahů mezi objekty je v tangenciálním prostoru s ohledem na výchozí Kendallův tvaroprostor přesné jen tehdy, není-li tvarová variabilita původních objektů příliš velká. K ověření, zda je míra variability v přírodě sebraných dat ještě únosná, používáme např. program tpsSmall version 1.20 (ROHLF 2003).

thin-plate spline - interpolační funkce, která na základě daných landmarkových konfigurací umožňuje předpovídat tvarové deformace provázející změnu jednoho tvaru v jiný – a to nejen v místech samotných význačných bodů, ale i v oblastech mezi nimi.

uniformní deformace (*uniform deformation, affine deformation*) – výhradně tvarová deformace objektu pouze na bázi uniformních komponentů. Děje se prostřednictvím tzv uniformních (či afinních) transformací – ty jsou charakteristické tím, že se uskutečňují výlučně na bázi paralelních pravoúhlých i nepravoúhlých posuvů. Afinní transformace zahrnují jak změny tvarové povahy, tak i změny, které tvar nemění.

uniformní komponent (*uniform component*) – komponent popisující uniformí deformaci. V případě dvourozměrných konfigurací popisují uniformí deformaci dva komponenty: pravoúhlá komprese/dilatace a rovnoběžné posunutí (= “nultý parciální warp”).

3 Výsledky

Třetí kapitolu jsem rozčlenil do tří navazujících částí. V první části se budu věnovat geometricko-morfometrické analýze čistě na bázi tvarových proměnných. Ve druhé části naváží kombinovanými analýzami matic tvarových a ekologických proměnných. Třetí částí kapitoly uzavřu analýzou šíře tvarové fenoplasticity.

3.1 Analýza tvarových proměnných

Pro základní exploratorní analýzu tvarové informace datového souboru jsem použil analýzu relativních warpů. Následně jsem pro testování statistických hypotéz na témže datovém souboru použil analýzu kanonických variát.

3.1.1 Analýza relativních warpů

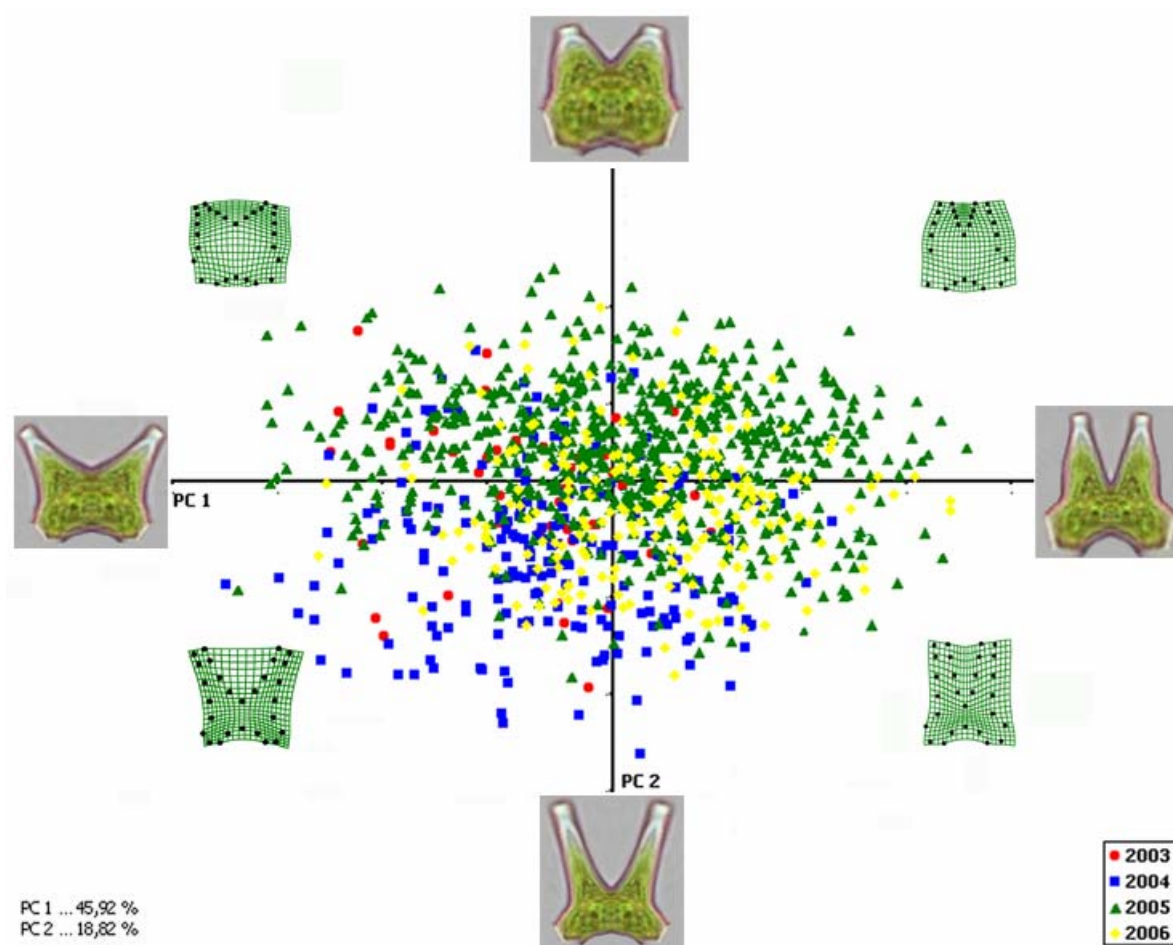
Analýze relativních warpů v programu tpsRelw ver. 1.40 ROHLF (2004) jsem podrobil celkem dva typy datových souborů. V prvním případě jsem pracoval s celkovým souborem všech dat nasbíraných v průběhu vegetačních sezón let 2003-2006. Ve druhém případě jsem též analýze podrobil separátně datové soubory z let 2004-2006.

3.1.1.1 *Ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006*

Cílem analýzy relativních warpů souhrnného datového souboru bylo zjistit, jaké jsou hlavní globální tvarové trendy obsažené ve velikém datovém souboru, zda se obdobné tendence projeví i na menší škále a konečně zda již základní exploratorní technika odhalí v datech patrnou strukturu.

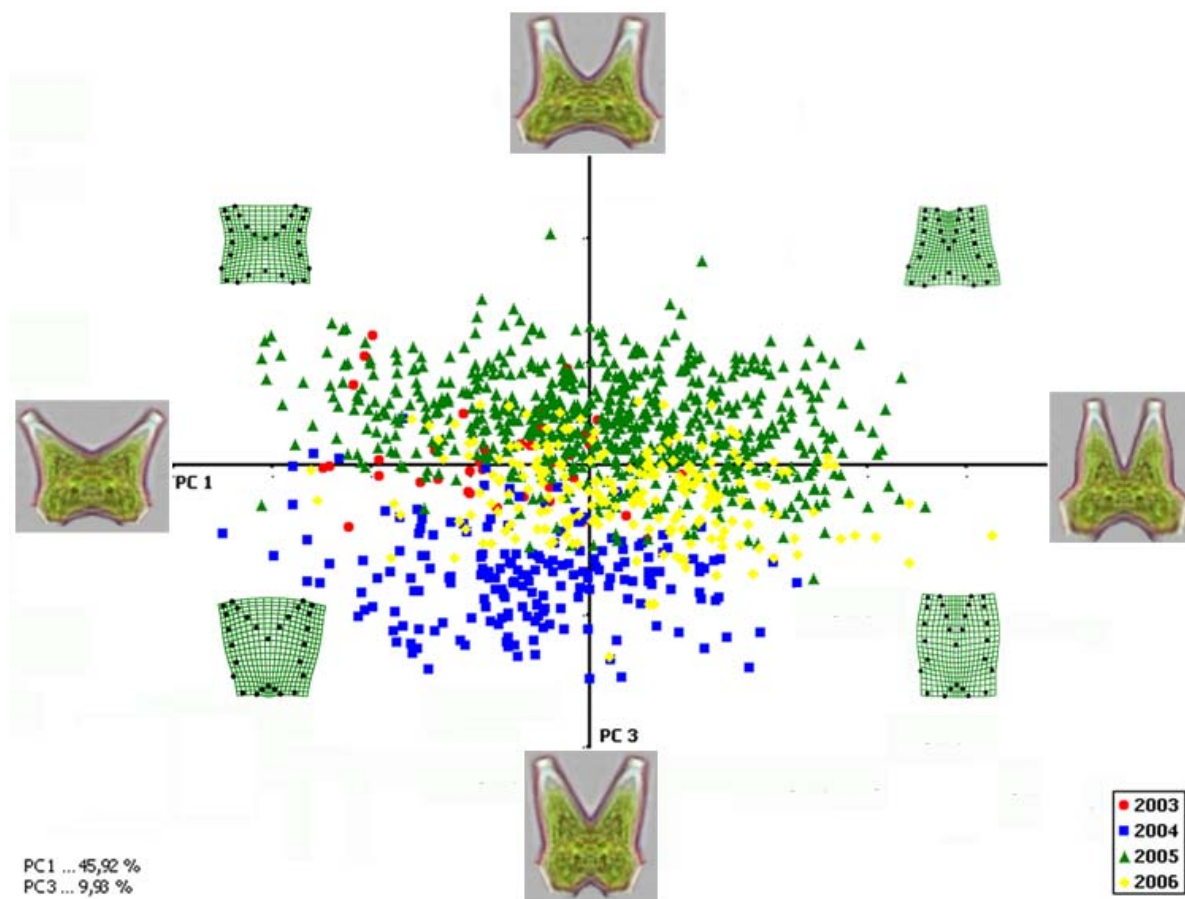
Podél první ordinační osy, která popisuje 45,92 % veškeré variability v datech, nedochází ke zřetelné separaci žádné ze skupin. Druhá ordinační osa, popisující 18,82 % variability, již zachycuje nepříliš výrazné oddělení skupin podle jednotlivých ročníků. Hlavní

tvárové trendy, sledující průběh zmíněných dvou ordinačních os, jsou popsány dále. První relativní warp („PC1“) je spojen se zřetelnými tvarovými změnami vázanými výhradně na externí laloky marginálních buněk. Laloky mají ve směru gradientu pozitivních hodnot tendenci konvergovat, a to nejen při bázích, ale také svými koncovými hyalinními výběžky. V negativních hodnotách ordinační osy laloky naopak silně divergují. Laloky přitom nemění markantně tvar. Jejich konvergence/divergence je spojena s mírnou kontrakcí a expanzí svrchní části těla buňky, tedy s oblastí bezprostředně přilehlou lalokům. Druhý relativní warp („PC2“) je kolmý na první a popisuje zcela odlišný tvarový trend. Zde se tvarové změny dotýkají téměř všech oblastí marginální buňky. Zdrojem těchto změn je velice nápadná kontrakce v centrální části těla buňky (v oblasti negativních hodnot, resp. reflexe v oblasti pozitivních hodnot). Tento trend je značně prominující, neboť ovlivňuje tvar nejen externích laloků a jejich polárních hyalinních výběžků, ale také tvar laloků směřujících dovnitř coenobia. Výsledně se tedy deformuje celkový tvar těla buňky; v pozitivních extrémech druhého relativního warpu se poměr velikosti těla buňky vůči velikosti laloků s výběžky nápadně zvětšuje, tj. tělo buňky má tendenci nabývat na velikosti a na šířce, zatímco laloky s výběžky se „zkracují“ a také rozšiřují. V pozitivních hodnotách sledujeme přímý opak, kdy se tělo buňky „zmenšuje“ ve srovnání se „zvětšujícími“ se a „zuzujícími“ se laloky. Na rozdíl od tvarového trendu zachycenému gradientem hodnot na prvním relativním warpu, druhého relativního warpu se netýkají změny v orientaci externích laloků, potažmo jejich hyalinních výběžků; tyto struktury setrvávají v navzájem fixní pozici. Obdobně laloky na bázi těla buňky jsou v míře vzájemné konvergence/divergence při jakýchkoli pozitivních i negativních hodnotách druhého relativního warpu neměnné. Jejich tvar je nicméně v souhlasu s externími laloky taktéž proměnlivý, byť v nesrovnatelně menší míře (Obr. 9).



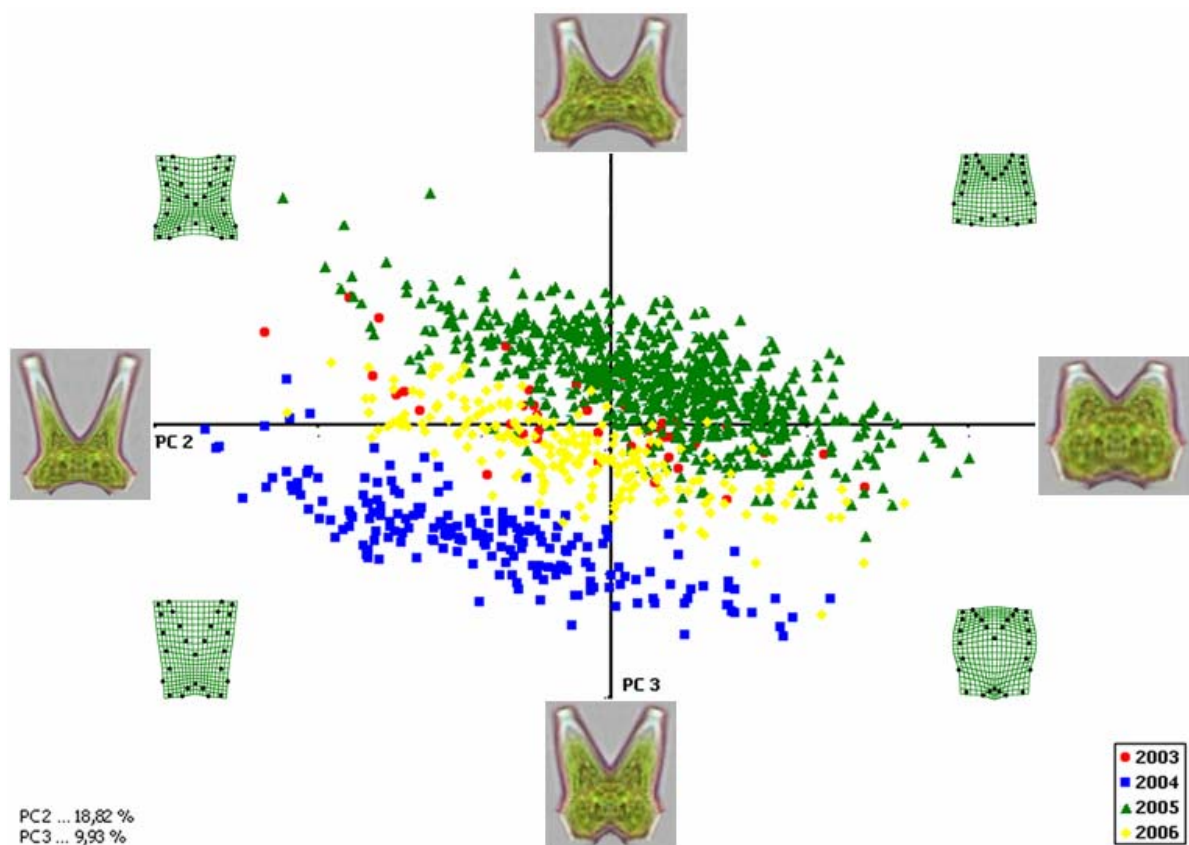
Obr. 9 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech první a druhé hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Deformační mřížky v každém ze čtyř kvadrantů odrážejí společný vliv příslušných relativních warpů. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

Rozložení objektů v ordinačním prostoru definovaném první a třetí tvarovou hlavní komponentou na již poukazuje na zřetelnější separaci populačních vzorků podle příslušnosti do jednotlivých ročníků (Obr. 10). Za rozdělení objektů do skupin dle roků je odpovědný třetí relativní warp („PC3“). Rekonstrukce tvaru marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* odpovídající extrémním hodnotám na třetím relativním warpu navíc přináší informaci o zcela novém tvarovém trendu, který zachycuje ještě 9,93% variability v datech. Zmíněný tvarový trend se v tomto případě dotýká bazální části buňky, konkrétně vnitřních výběžků, které mají zřetelnou tendenci v záporných hodnotách RW3 konvergovat a v kladných hodnotách naopak divergovat. Externích výběžků marginálních buněk se tvarové změny vázané na RW3 nedotýkají.



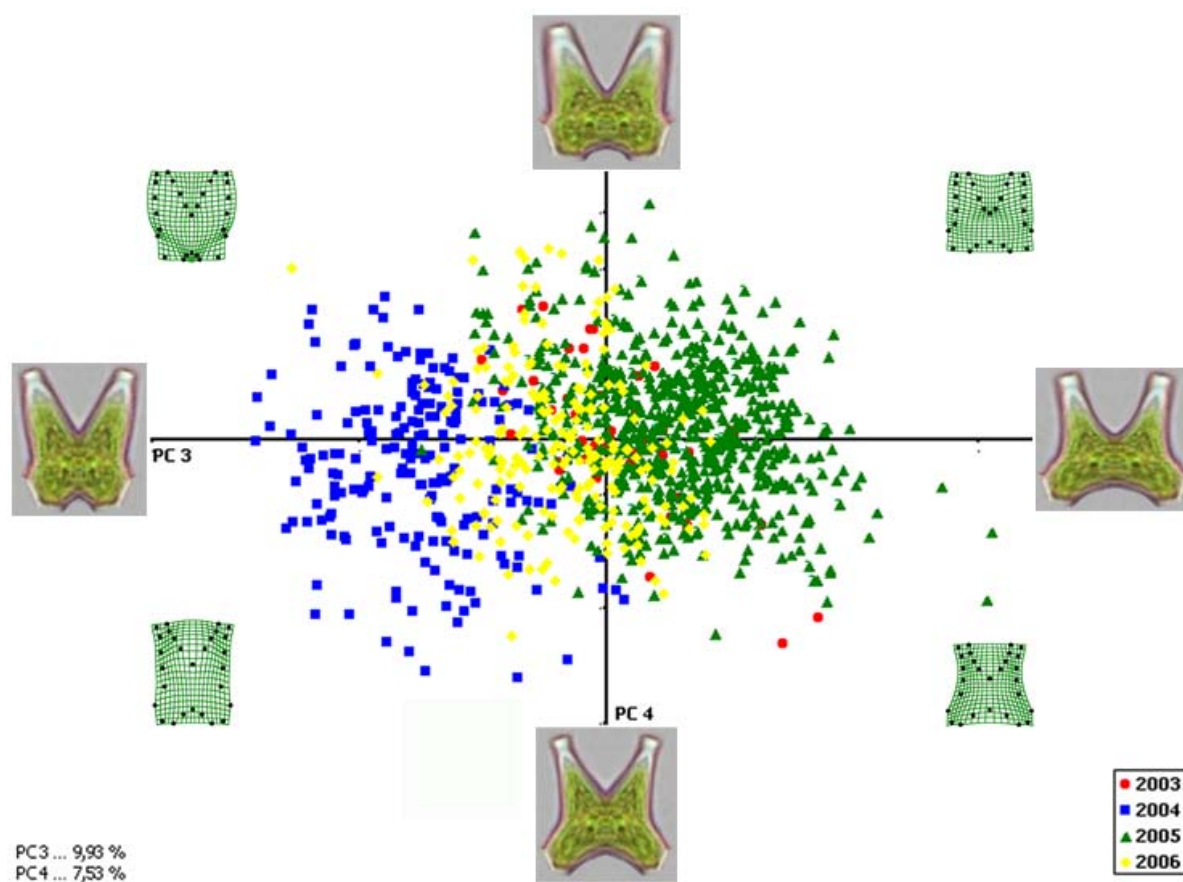
Obr. 10 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech první a třetí hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Deformační mřížky v každém ze čtyř kvadrantů odrážejí společný vliv příslušných relativních warpů. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

Ačkoli zobrazení ordinace objektů v prostoru druhé a třetí hlavní komponenty již nepřináší informaci o jakémkoli novém tvarovém trendu, akcentuje tendenci třetího relativního warpu členit v kombinaci s druhým relativním warpem datový soubor do minimálně tří velice zřetelně odlišitelných skupin sledujících původ populací pocházejících z odlišných ročníků. Co je zdrojem tak výrazné separace jedinců dle jednotlivých let, v ordinačním prostoru definovaném druhou a třetí tvarovou komponentou, slibují napovědět až výsledky analýzy kanonických variát popř. mnohorozměrná regresní analýza.



Obr. 11 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech druhé a třetí hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Deformační mřížky v každém ze čtyř kvadrantů odrážejí společný vliv příslušných relativních warpů. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

Nový tvarový trend, zachycený na Obr. 12 a postihující 7,53% variability v datech, zachycuje čtvrtý relativní warp („PC4“). Dotýká se (v porovnání s RW3) méně výrazných tvarových změn na bázi buňky; významnějším rysem RW4 se patrně týká proměnlivosti tvaru vnějších výběžků, které mají v negativních hodnotách RW4 tendenci být gracilnější, zatímco v pozitivních hodnotách viditelně zesilují. I v tomto případě je stále evidentní separace jedinců do skupin podél RW4, ačkoli zde již méně výrazná, než v kombinaci s RW1 resp. RW2.



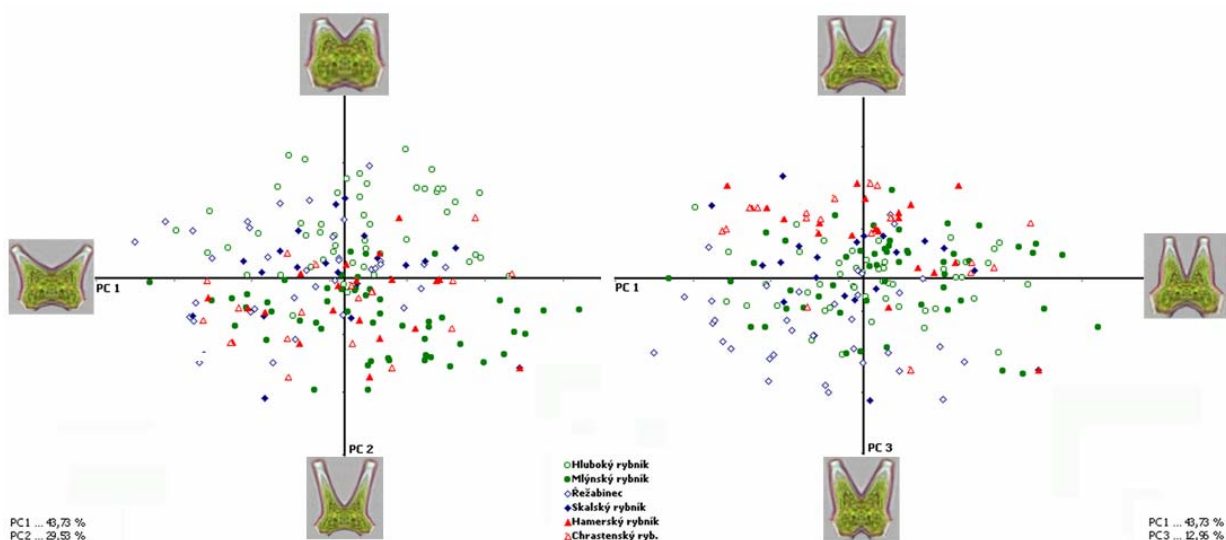
Obr. 12 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech třetí a čtvrté hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Deformační mřížky v každém ze čtyř kvadrantů odrážejí společný vliv příslušných relativních warpů. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

3.1.1.2 Ordinace objektů z datových souborů získaných v letech 2004-2006

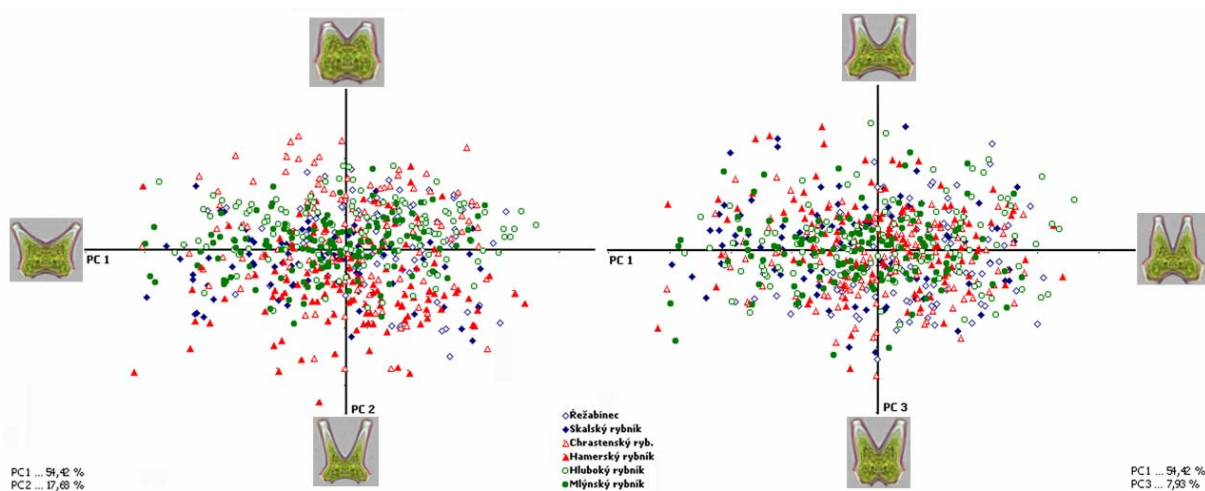
Datové soubory získané v přírodě v letech 2004-2006 jsem podrobil separátní ordinaci analýzou relativních warpů za účelem srovnání tvarových trendů na veliké a menší škále.

Hlavní tvarové trendy zůstávají napříč jakkoli velkým souborem jakéhokoli původu stále konstantní. Za příklad byly zvoleny souborné populační vzorky pocházející z různých let (2004, 2005 a 2006, Obr. 13-15). Ani v jednom případě nedošlo ani k nejmenší odchylce od hlavních trendů pozorovaných při analýze relativních warpů celkového datového souboru zahrnujícího veškeré dostupné jedince ze všech sezón. Na rozdíl od analýzy relativních warpů spočtené ze všech dat (Obr. 9 – 12), při RWA dat z jednotlivých sezón nepozorujeme žádné zřetelné rozdělení jedinců do identifikovatelných skupin, a to ani podél třetího relativního

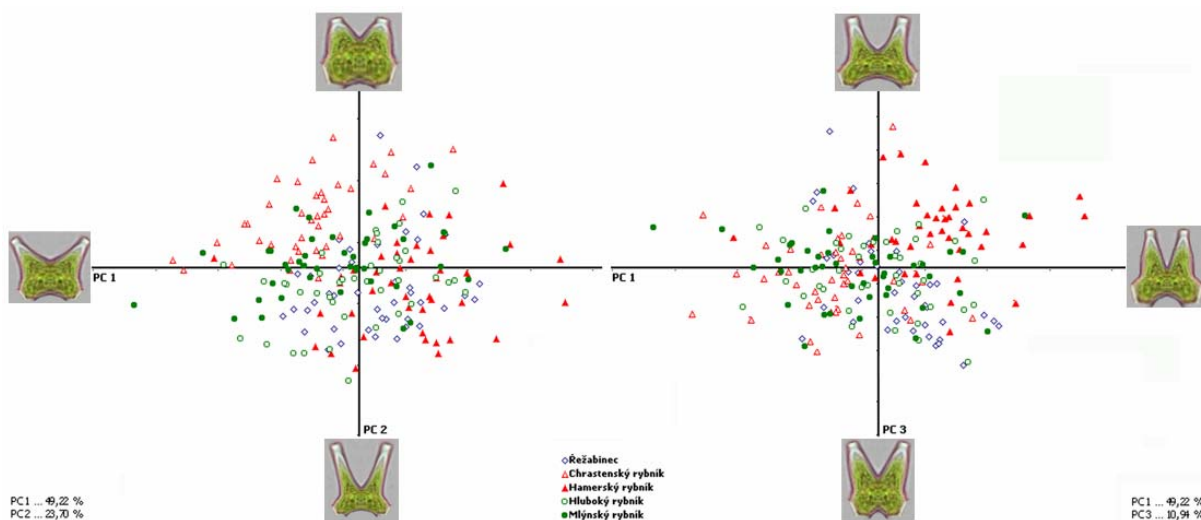
warpu. Jedinou patrná výjimka je patrná na Obr. 15, kde lze podél prvního relativního warpu pozorovat oddělení jedinců pocházejících z téhož regionu, ale z odlišných lokalit (severočeské rybníky Hamerský a Chrastenský).



Obr. 13 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z roku 2004 v prostorech první/druhé a první/třetí hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých regionech, odlišné symboly v rámci téže barvy dále korespondují s jednotlivými odběrovými lokalitami.



Obr. 14 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z roku 2005 v prostorech první/druhé a první/třetí hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých regionech, odlišné symboly v rámci téže barvy dále korespondují s jednotlivými odběrovými lokalitami.



Obr. 15 - Analýza relativních warpů: ordinace objektů celkového datového souboru z roku 2006 v prostorech první/druhé a první/třetí hlavní komponenty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých regionech, odlišné symboly v rámci téže barvy dále korespondují s jednotlivými odběrovými lokalitami.

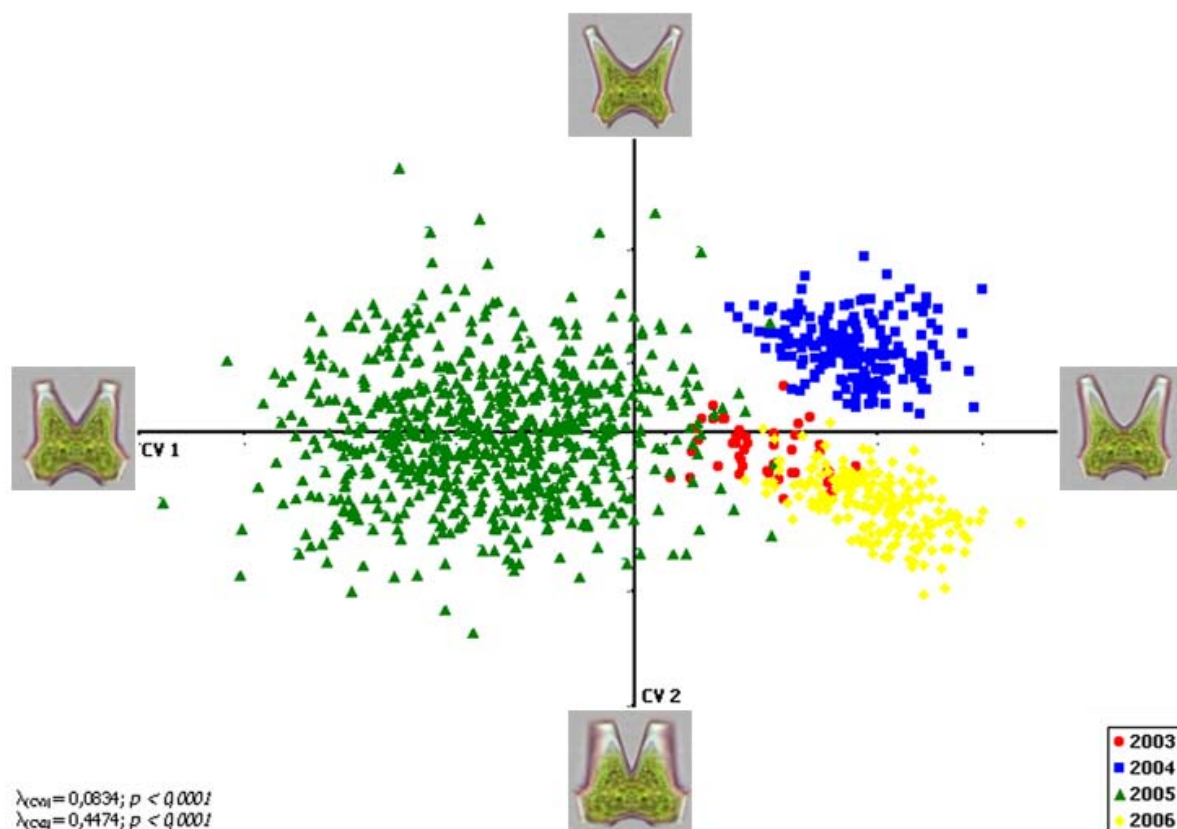
Přestože analýza relativních warpů je pouze exploratorní technikou, již jejím prostřednictvím jsem odhalil v datech velice zřetelně vystupující strukturu, sledující převážně tvarový trend spojený s průběhem třetího relativního warpu v analýze celkového datového souboru z let 2003–2006. Výsledky následně provedené analýzy kanonických variát a mnohorozměrné regrese tvaru na vybrané ekologické parametry, by měly být očekávaným zdrojem informací o dalších souvislostech naznačujících původ pozorované struktury dat.

3.1.2 Analýza kanonických variát

Údaje o struktuře dat, získané analýzou relativních warpů, jsem dále využil pro testování statistických hypotéz prostřednictvím analýzy kanonických variát v programu CVAGen6j SHEETS (2003). Opět jsem ordinaci podrobil nejprve celistvý datový soubor nasbíraný v letech 2003–2006. Dále jsem si zvolil jeden kompaktnější datový soubor původem z jediné vegetační sezóny a zde s ohledem na mezisezónní variabilitu testoval vliv faktorů separátně.

3.1.2.1 Ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006

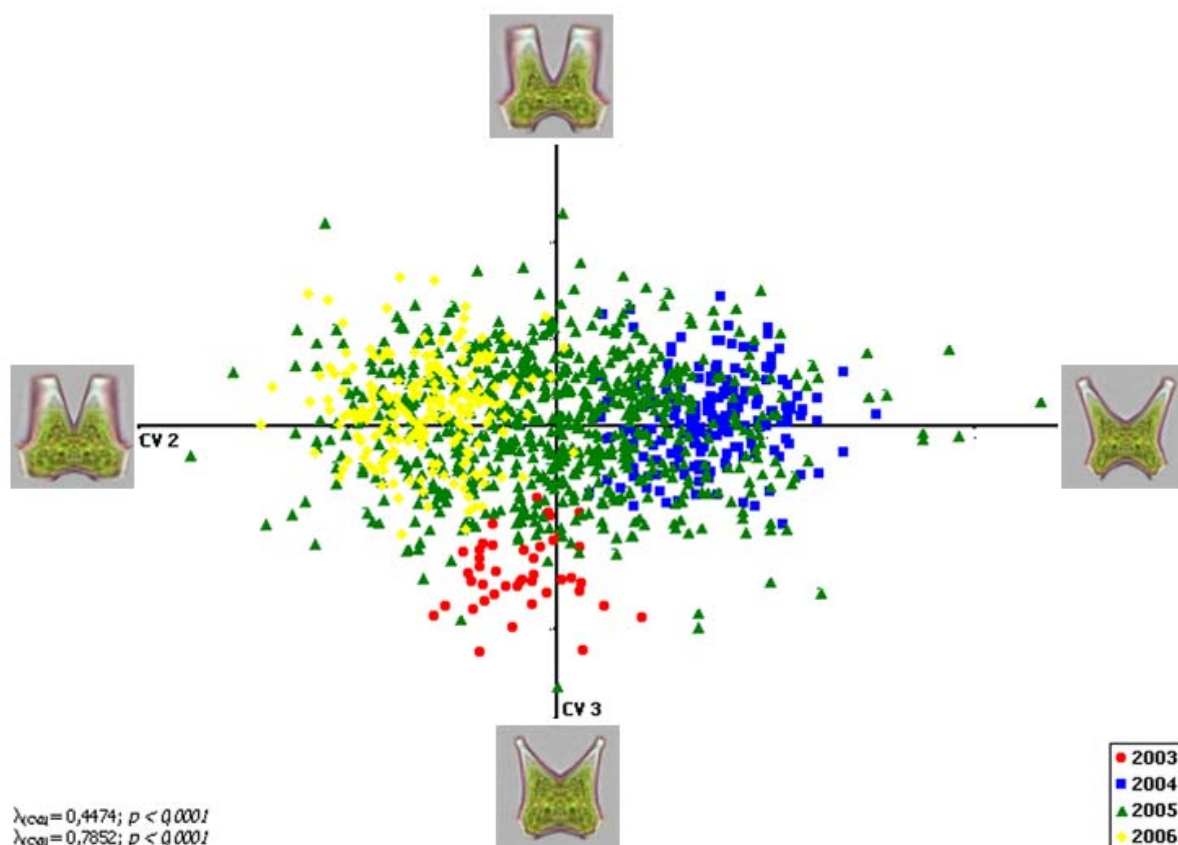
Při analýze kanonických variát celkového datového souboru z let 2003–2006 byla za předem určený diskriminující faktor zvolena příslušnost jedinců do populací sebraných v jednotlivých sezónách. Výsledek analýzy poukazuje na zřetelnou separaci populace z roku 2005 od všech ostatních skupin podél první kanonické osy (CV1; zachycuje 53% variability). Druhá kanonická osa (CV2; 21%) dále velice výrazně odděluje populační vzorky z let 2004 a 2006+2003). Třetí kanonická osa (CV3; popisuje 12% variability) již méně zřetelně separuje populační vzorky z roku 2003 od skupiny zahrnující vzorky ze všech ostatních let.



Obr. 16 – Analýza kanonických variát: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech první a druhé kanonické variáty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

Konkrétní tvarové trendy sledující analýzou extrahované kanonické osy jsou popsány dále. První kanonická osa je svázána s překvapivě velmi nevýrazným trendem mírného rozšiřování resp. zužování externích laloků marginálních buněk coenobií. Druhá kanonická osa přináší již tvarový trend o mnoho výraznější, postihující sice také externí laloky buněk,

nicméně zcela odlišným způsobem. Zde mají laloky výraznou tendenci konvergence resp. divergence, obdobně jako v případě prvního relativního warpu (např. Obr. 9 a 10). Odlišnost tvarového trendu vázaného na druhé kanonické ose oproti trendu popsaného prvním relativním warpem spočívá především v současné proměnlivosti habitu diskutovaných laloků, jež je spojena výlučně s CV2. Tvarové změny postižené třetí kanonickou osou jsou již příliš nevýrazné a není snadné je odlišit od tvarových změn charakteristických pro druhou kanonickou osu.



Obr. 17 – Analýza kanonických variát: ordinace objektů celkového datového souboru z let 2003-2006 v prostorech druhé a třetí kanonické variáty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých letech.

3.1.2.2 Ordinace objektů vybraného datového souboru (2005)

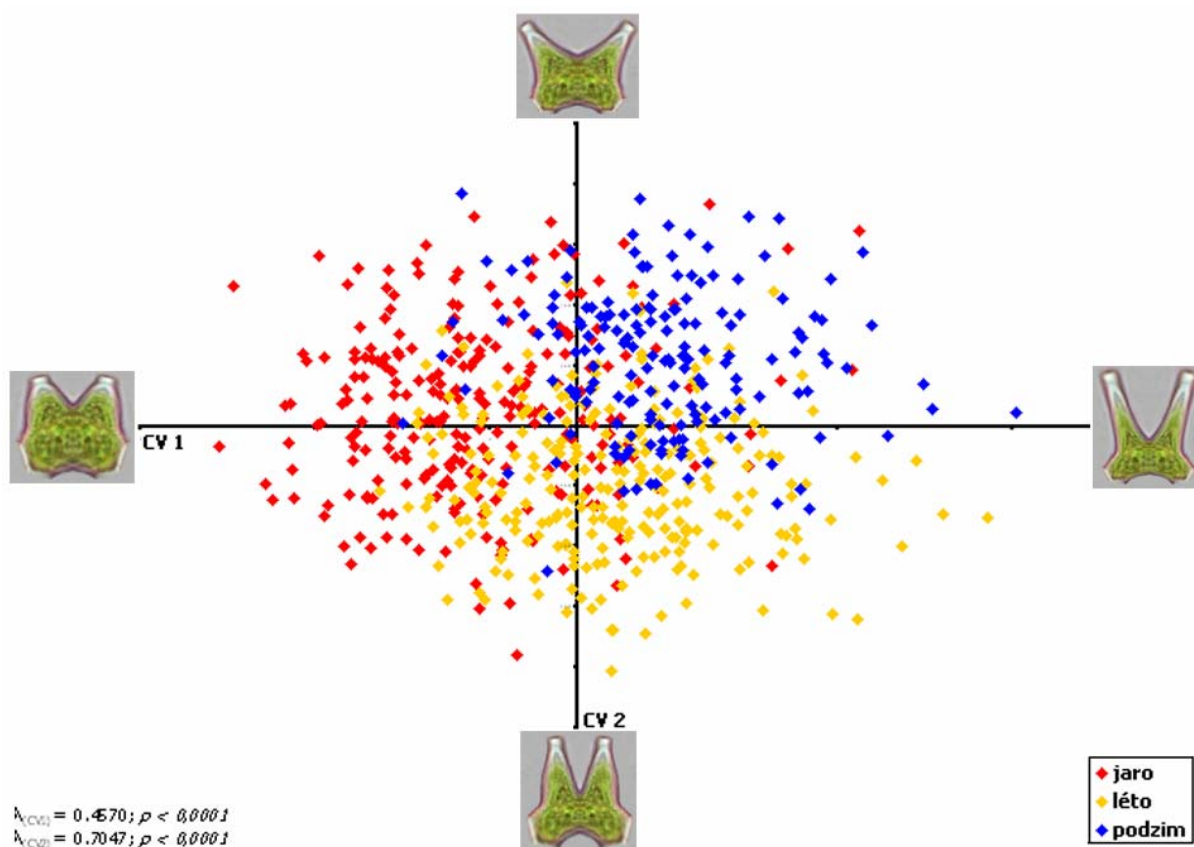
V analýze kanonických variát dílčího datového souboru z roku 2005 jsem zjišťoval, zda je příslušnost jedinců do odběrů z různých ročních dob vegetační sezóny kritériem statisticky signifikantní odlišnosti takto definovaných skupin. Výstup analýzy na Obr.18a

poukazuje na nezřetelné oddělení skupin dle ročních dob dvojným způsobem ve vztahu k odlišným tvarovým trendům sledujícím průběh první a druhé kanonické variáty. První kanonická variáta (CV1; 43%) se týká tvarových změn nápadně korespondujících s tvarovými změnami pozorovanými podél druhého relativního warpu („PC2“ v analýze relativních warpů jakéhokoli analyzovaného vzorku, viz např. Obr. 9). Průvodním jevem dále spojeným s CV1 je nepříliš výrazné oddělení populačních vzorků sebraných v jarním a podzimním období; mezi skupinami existuje mnoho přechodů. Ještě méně zřetelná je separace letních populací od populací z jara a podzimu podél druhé kanonické variáty (CV2; 17%). Pozoruhodný je nicméně tvarový trend sledující tuto ordinační osu, protože se nápadně shoduje s tvarovým trendem zachyceným prvním relativním warpem („PC1“ v analýze relativních warpů, viz např. Obr. 9). CVA neprokázala existenci vlivu regionu. CVA provedená paralelně na datovém souboru z roku 2006 podává tytéž výsledky.

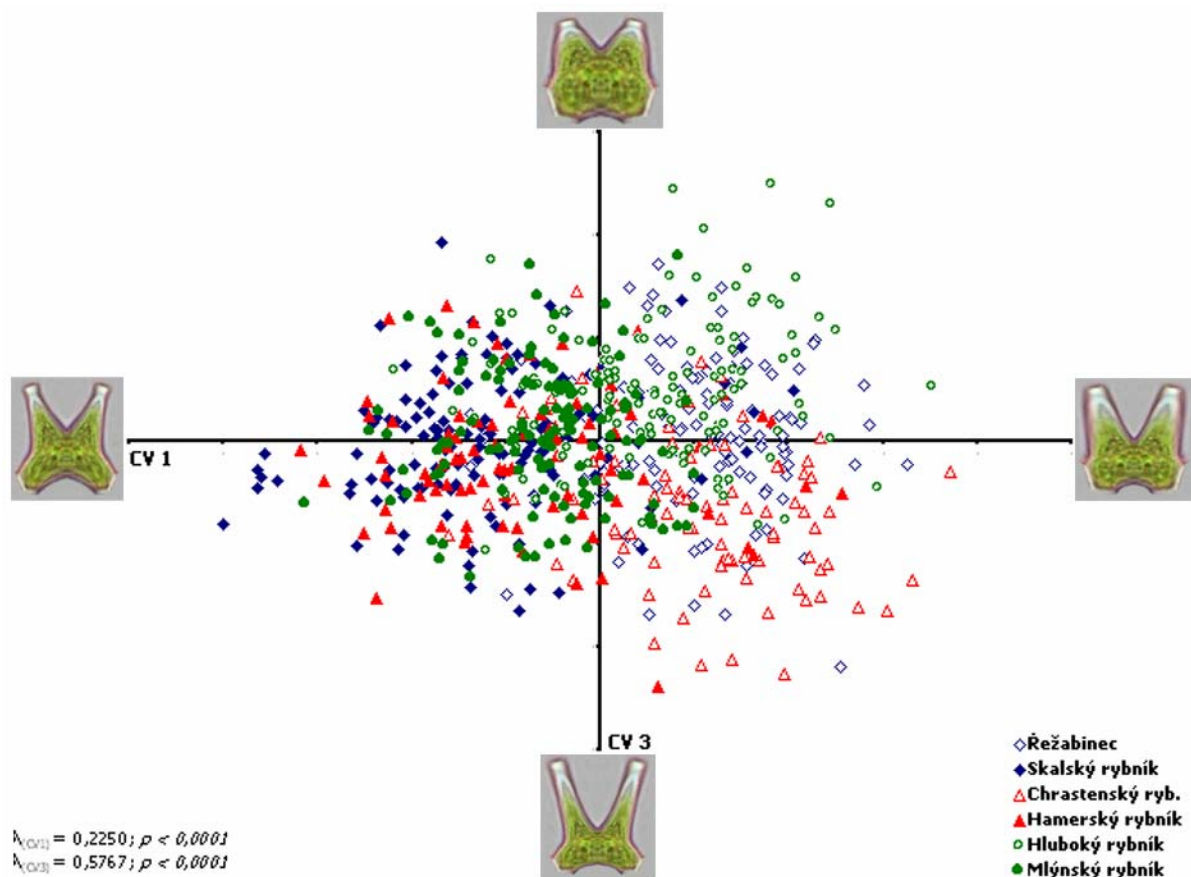
Cílem analýzy kanonických variát datového souboru z roku 2005 s dílčím výsledkem zachyceným na Obr.18b bylo zodpovězení otázky, zda je příslušnost jedinců do skupin definovaných lokalitami jejich původu spolehlivým diskriminačním kritériem. Ačkoli všechny čtyři extrahované kanonické osy byly na 5-procentní hladině statistické významnosti signifikantní, vizuálně nejzajímavější rozdělení dat ilustruje kombinace první a třetí kanonické variáty. V ordinačním prostoru zmíněných dvou os je totiž patrné, i když nepříliš výrazně, oddělení populací z téhož regionu podle každé ze dvou zdrojových lokalit. Podél první kanonické variáty (CV1; 47%) tak můžeme sledovat tvarový trend maximalizující rozdíly mezi lokalitami v rámci každého z regionů. Třetí kanonická osa (CV3; 6%), přináší pouze doplňující informaci a s ohledem na příslušnou tvarovou deformaci je zajímavá především zřetelnou podobností s druhým relativním warpem („PC2“ viz např. Obr. 9).

Relativně nejlépe oddělené skupiny podél první kanonické osy tvoří populační vzorky sebrané v jihočeském regionu (rybníky Skalský a Řežabinec), nejméně výrazně naopak separují populační vzorky sebrané v oblasti středních Čech (Mlýnský a Hluboký). Tvarový trend prezentovaný CV1 je příbuzný tvarovému trendu spojenému s průběhem třetího relativního warpu („PC3“, viz např. Obr. 10), který se shodně projevuje na bázi těla marginálních buněk coenobií, v oblasti vnitřních výběžků, které mají v obou případech tendenci konvergovat resp. divergovat pouze s tím rozdílem, že porovnání RW3 a CV1 jsou směry tohoto trendu právě opačné. Ještě pozoruhodnější je však srovnání tvarového trendu spojeného s první kanonickou variátou s tvarovým trendem popsáním čtvrtým relativním warpem („PC4“, viz např. Obr. 12) – obě tvarové deformace jsou zcela shodné; neliší se navíc ani ve znaménku. Čtvrtý relativní warp v analýze celkového datového souboru z let 2003-

2006 se patrně nepodílí na oddělení populačních vzorků podle jednotlivých ročníků a s ohledem na dokonalou korespondenci v příslušných tvarových trendech s CV1 lze tedy soudit, že tento warp primárně odráží fenoplasticitu populací uvnitř každé z dvojic téhož regionu.



Obr.18a – Analýza kanonických variát: ordinace objektů datového souboru z roku 2005 v prostoru první a druhé kanonické variáty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v každé ze tří ročních dob vegetační sezóny.



Obr.18b – Analýza kanonických variát: ordinace objektů datového souboru z roku 2005 v prostoru první a druhé kanonické variáty. V extrémních hodnotách každé ordinační osy jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace. Barevně jsou odlišeny populační vzorky sebrané v jednotlivých regionech, odlišné symboly v rámci téže barvy dále korespondují s jednotlivými odběrovými lokalitami.

3.2 Kombinovaná analýza tvarových proměnných a ekologických dat o prostředí

Po zjištění hlavních tvarových komponent a základních charakteristik struktury dat o tvaru jsem přistoupil k analýze zohledňující společně informaci o tvaru s informací o vnějším prostředí studovaného organismu. Za tímto účelem jsem použil dvoublokovou analýzu parciálních nejmenších čtverců (*two-block partial-least squares*, PLS) a mnohorozměrnou regresní analýzu. V obou případech jsem k analýze použil souhrnný datový soubor z let 2003-2006.

3.2.1 Ekologické parametry a zastoupení dominantních skupin planktonu

Výsledky terénního měření ekologických parametrů a odhadu relativní abundance jednotlivých dominantních skupin fyto- a zooplanktonu jsou zachyceny v Tab. 2 a 3 v Příloze. Rozptyl hodnot vybraných význačných fyzikálně-chemických proměnných ilustrují krabicové diagramy v kapitole 3.2.3 (Mnohorozměrná regrese tvaru na vybrané ekologické parametry), kde se nimi dále detailněji pracuji.

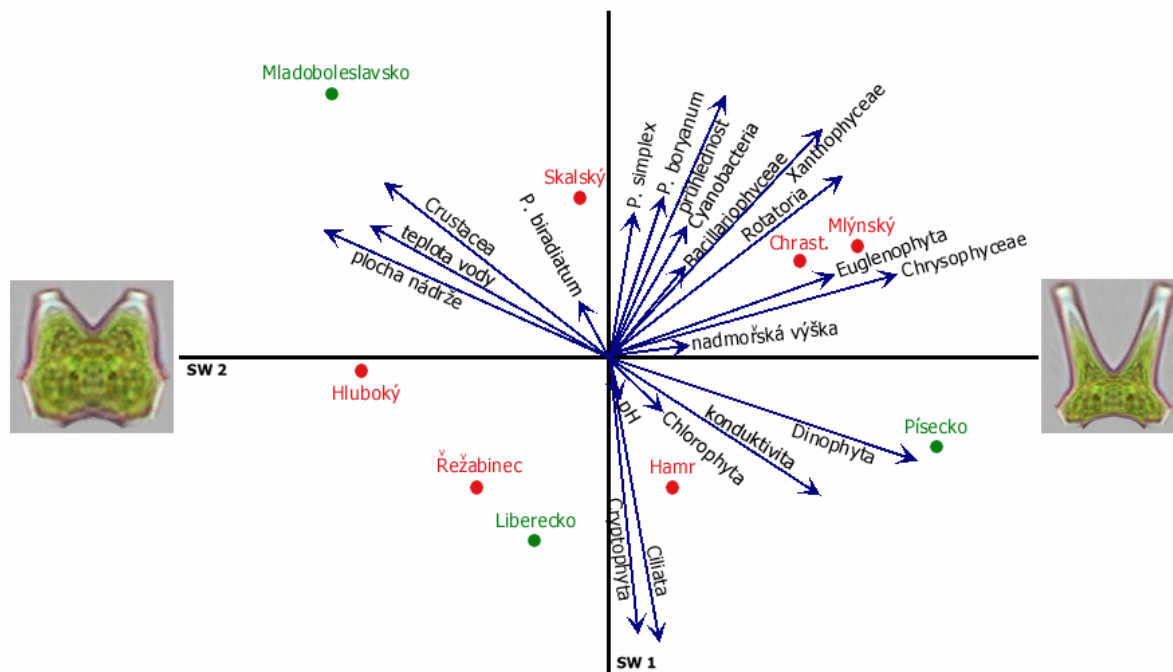
3.2.2 Analýza parciálních nejmenších čtverců

Analýzou parciálních nejmenších čtverců jsem obdržel celou řadu párových vektorů (singulárních warpů), jejichž směřování v ordinačním prostoru je zásadně ovlivněno podmínkou maximálního zohlednění kovarianční struktury mezi maticemi ekologických a tvarových proměnných. Jediným párovým singulárním warpem extrahovaným analýzou, zachycujícím statisticky signifikantní kovarianci těchto matic (na 5-procentní hladině statistické významnosti), byl druhý párový singulární warp (SW2). Obě jeho složky, tj. singulární warp extrahovaný z matice ekologických proměnných a singulární warp extrahovaný z matice tvarových proměnných společně postihují 28,33% kovariance mezi maticemi (při randomizačním testu byla při 1000 permutacích pozorována vyšší hodnota kovariance v 2,29% případech). Hodnota korelačního koeficientu mezi oběma složkami druhého párového singulárního warpu je 0,54 (při randomizačním testu byla při 1000 permutacích pozorována vyšší hodnota korelačního koeficientu pouze v 0,10% případech). Ačkoli první párový singulární warp shrnuje celých 61,96% kovariance v datech, výsledek randomizačního testu poukazuje na náhodnost zjištěného kovariančního vztahu (vyšší hodnota kovariance mezi maticemi ekologických a tvarových proměnných spojená s prvním párovým singulárním warpem byla při 1000 permutacích pozorována ve 41,86% případech).

Zaměřil jsem se tedy na interpretaci struktury dat spojené s průběhem druhého párového singulárního warpu (SW2, Obr. 19). Zmíněný singulární warp popisuje zcela shodný tvarový trend jako druhý relativní warp („PC2“, viz např. Obr. 9) z RWA jakéhokoli analyzovaného přírodního populačního vzorku. Tvarové deformace se u obou vektorů liší pouze směřováním v opačném směru, kdy v případě RW2 mají buňky v záporných hodnotách tendenci být gracilnější a v kladných robustnější a v případě SW2 je tomu právě naopak.

Na Obr. 19 je znázorněna celá řada vektorů zastupujících v přírodě naměřené

ekologické proměnné, které s druhým párovým singulárním warpem korelují; hodnoty korelací uvádějí Tab. 2 a 3.



Obr. 19 – Dvoubloková analýza parciálních nejmenších čtverců. Znázornění vztahů mezi kontinuálními ekologickými proměnnými a faktory v ordinačním prostoru definovaném prvním a druhým párovým singulárním warpem. Z grafu je z důvodu zvýšení přehlednosti vypuštěna informace o rozložení vlastních objektů. V extrémních hodnotách druhého párového singulárního warpu jsou pomocí programu tpsSuper znázorněny příslušné tvarové deformace.

ekologické proměnné	korelace s SW2
nadmořská výška lokality [m n.m.]	0,410
konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	0,171
průhlednost [cm]	0,041
pH	0,031
teplota vody v nádrži [$^{\circ}\text{C}$]	-0,284
plocha vodní nádrže [ha]	-0,297

Tab. 2 – Korelace naměřených ekologických parametrů s druhým párovým singulárním warpem. Proměnné jsou seřazeny sestupně podle klesající hodnoty korelačního koeficientu.

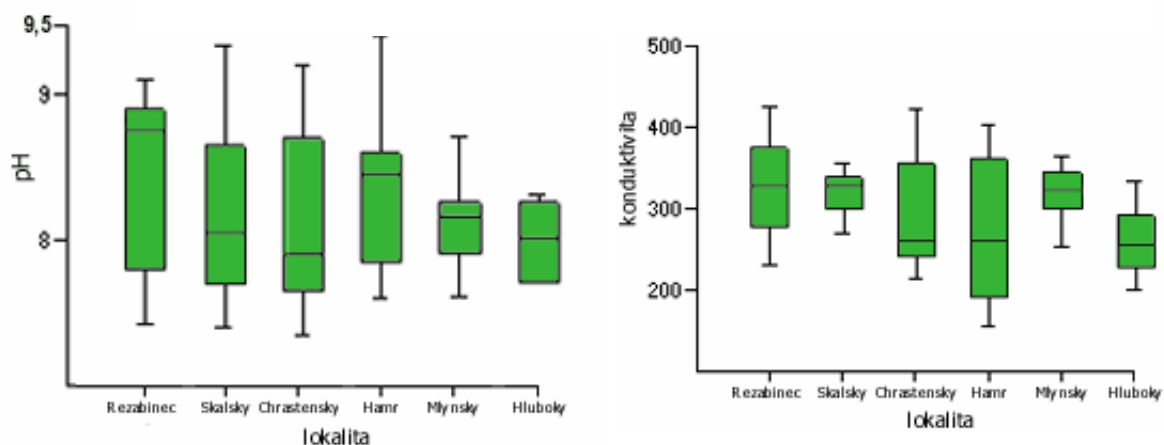
zástupci fyto- a zooplanktonu	korelace s SW2
<i>Dinophyta</i> (obrněnky)	0,308
<i>Chrysophyceae/Synurophyceae</i> (zlativky)	0,292
<i>Euglenophyta</i> (krásnoočka)	0,213
<i>Rotatoria</i> (vířníci)	0,193
<i>Xanthophyceae/Eustigmatophyceae</i>	0,188
<i>Bacillariophyceae</i> (rozsivky)	0,087
<i>Chlorophyta</i> (zelené řasy)	0,076
<i>Cyanobacteria</i> (sinice)	0,074
<i>Pediastrum boryanum</i> var. div	0,039
<i>Ciliata</i> (nálevníci)	0,023
<i>Pediastrum simplex</i> var. div	0,02
<i>Cryptophyta</i> (skrytěnky)	0,019
<i>Pediastrum biradiatum</i>	-0,032
<i>Crustacea</i> (korýši)	-0,251

Tab. 3 – Korelace zjištěné frekvence dominantních skupin popř. druhů fyto- a zooplanktonu s druhým párovým singulárním warpem. Skupiny planktonu jsou seřazeny sestupně podle klesající hodnoty korelačního koeficientu.

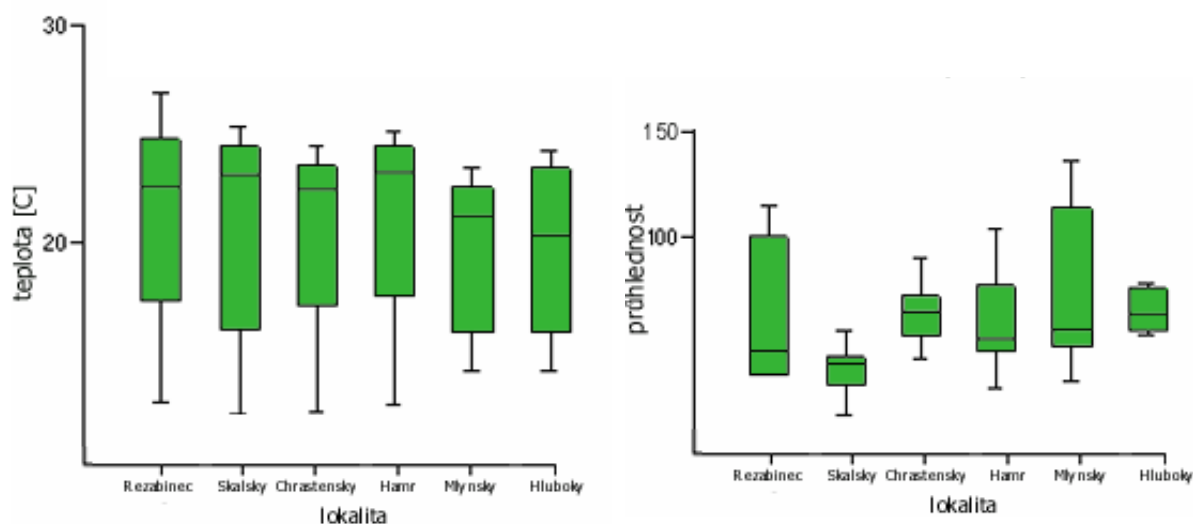
3.2.3 Mnohorozměrná regrese tvaru na vybrané ekologické parametry

Čtyři v algologii široce užívané a v přírodě technicky nejsnáze změřitelné ekologické parametry (pH, konduktivitu, průhlednost a teplotu) jsem použil jako nezávislé proměnné pro rekonstrukci modelů generovaných mnohorozměrnou regresní analýzou, kam jsem namísto proměnné závislé dosadil matici tvarových proměnných. Hodnoty výše zmíněných zvolených ekologických parametrů samozřejmě vykazují jistý rozptyl, ovšem toliko v rámci běžně očekávaného rozmezí (Obr. 20 a 21).

Regresní modely zachycené na Obr. 22 doprovází Tab. 4, kde jsou uvedeny testové statistiky signifikantnosti mnohorozměrného regresního modelu pro příslušné ekologické proměnné. Není uvedena tabulka s hodnotami pro teplotu vody v nádrži, protože právě u této jediné proměnné nebyla nenáhodnost modelu podpořena výsledkem randomizačního testu (mnohorozměrný permutační test o 2000 náhodných permutacích).



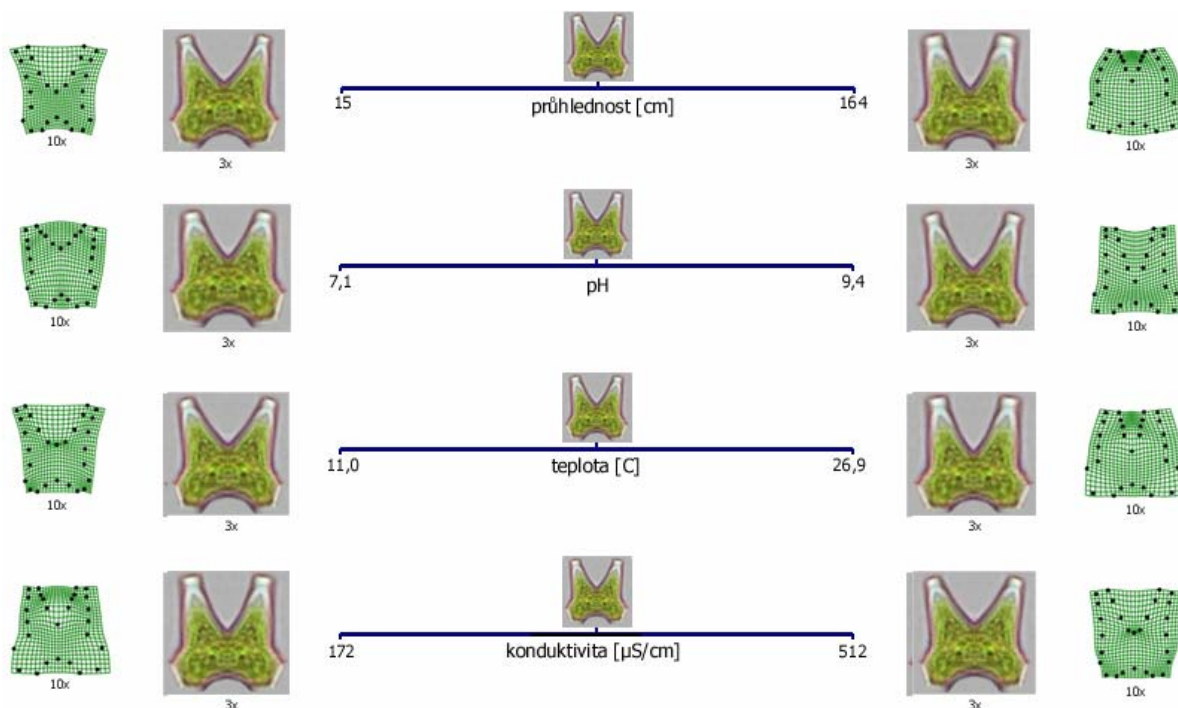
Obr. 20 – Box-and-whisker plot. Rozptyl naměřených hodnot: pH/ konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$].



Obr. 21 – Box-and-whisker plot. Rozptyl naměřených hodnot: teplota/průhlednost [cm].

Níže vyobrazené regresní modely poukazují na celou řadu souvislostí; dynamika tvaru marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex*, indukovaná gradientem hodnot pH prediktivního modelu, je blízká tvarovým změnám odehrávajícím se podél druhého relativního warpu („PC2“, viz např. Obr. 9), potažmo druhého tvarového párového singulárního warpu (SW2, Obr. 19). Podoba tvarových deformací sledujících gradient pH není v rozporu s výstupem z analýzy parciálních nejmenších čtverců (PLS, Obr. 19), kde mají buňky obdobně tendenci být ve vyšších hodnotách pH gracilnější. Regresní model, opět vztažený ke gradientu hodnot pH, je také možné připodobnit k jinému obecnějšímu trendu

tvárovostu *Pediastrum duplex* var. *duplex*. Tento trend je zastoupen třetím relativním warpem, popisujícím rozšiřování či zužování výklenku mezi vnitřními laloky buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex*.



Obr. 22 – Mnohorozměrná regrese tvaru na kontinuální ekologické proměnné. V poloze nad prostřední hodnotou každé úsečky znázorňující reálnou škálu naměřených hodnot je vyobrazena konsenzuální konfigurace. Po stranách každé z úseček jsou znázorněny výsledky rekonstrukce krajních hodnot regresního modelu při trojnásobné amplifikaci. Deformační mřížky regresní model dále amplifikují až na desetinásobek reálné deformace.

Zajímavou skutečností, jež vyplývá ze srovnání regresního modelu a PLS analýzy je rozpor ve výsledcích obou analýz v případě průhlednosti – zde dávají obě statistické techniky navzájem protichůdné výsledky. Buňky mají tendenci se rozšiřovat v oblasti těla i vnějších laloků po gradientu stoupající průhlednosti. Totéž je možné vyčíst i z výše přiloženého výstupu z PLS analýzy, kde právě průhlednost s SW2 pozitivně koreluje.

Další pozoruhodná zjištění jsou vázána na proměnné konduktivita a teplota, protože jimi popsané trendy jsou vzájemnými opakem. Stejný tvarový trend, který sleduje gradienty těchto ekologických parametrů je ovšem také nejvíce procentuelně podpořeným kritériem rozdílu mezi populačními vzorky sebranými v různých vegetačních sezónách (viz CV1 v analýze kanonických variát celkového datového souboru, kde byly skupiny *a priori*

definovány příslušností jedinců do konkrétních roků, např. Obr 16).

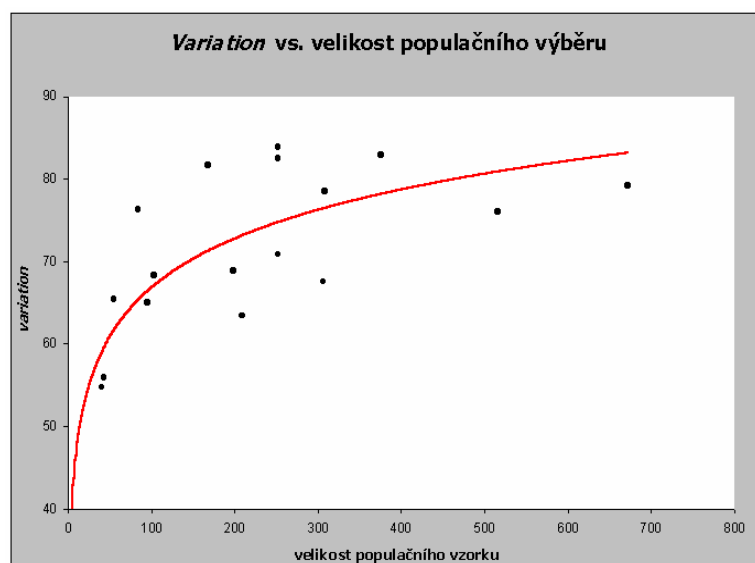
	Wilksovo λ		zobecnělé Goodalovo F	
	hodnota statistiky	p -hodnota	hodnota statistiky	p -hodnota
průhlednost [cm]	0.5780	0.0000	40.9977	0.0000
pH	0.8518	0.0000	1.9130	0.0001
vodivost [μS/cm]	0.6482	0.0000	8.6432	0.0000

Tab. 4 – Dosažené hodnoty testových kritérií signifikantnosti mnohorozměrného regresního modelu a příslušných p -hodnot.

3.3 Analýza rozsahu fenoplasticity

Rozsah fenoplasticity, tak jak se projevuje v rámci jednotlivých populací a populačních souborů, jsem analyzoval za pomoci programu DisparityBox užitím proměnné zvané „*variation*“. Tato proměnná nabývá pro každý analyzovaný vzorek charakteristické hodnoty. Jak vyplývá z výsledků, tyto hodnoty se pohybují v nepřilíš širokém rozmezí, od jisté velikosti populačního nabývají svého horního maxima a se zvyšujícím se počtem jedinců již více nerostou. Zajímavým zjištěním je skutečnost, že výše uvedené platí bez ohledu na původ toho kterého populačního vzorku. Např. vyšší hodnotu „*variation*“ jsem obdržel analýzou smíšeného vzorku sebraného na jaře roku 2005, než analýzou vzorku všech jedinců sebraných v celém témže roce. Jiným příkladem je srovnání „*variation*“ v rámci dat sebraných v severočeském regionu v roce 2006 a „*variation*“ uvnitř datového souboru sdružující veškeré jedince sebrané při podzimního odběrech vzorků v letech 2004-2006; ačkoli druhá jmenovaná skupina zahrnuje bezpochyby o mnoho více jedinců, morfologická variabilita je zde nižší.

Graf na Obr. 22 znázorňuje logaritmickou křivku závislosti „*variation*“ na velikosti analyzované populace a jasně z něj vyplývá, že fenoplasticity uvnitř populací má horní limit svého rozptylu kolem hodnoty 250 jedinců. Hodnoty zmíněného parametru ostře stoupají mezi velikostí populačního vzorku 40-110 jedinců. Tab. 5 dále poukazuje na skutečnost, že morfologická plasticita nedoznává v přírodních populacích příliš velkého rozptylu.



Obr. 23 – Vynesení závislosti šíře fenotypické plasticity vzorku na velikosti populačního výběru (rovnice regrese: $y = 8,5802\ln(x) + 27,292\dots R^2 = 0,61$).

datový soubor	variation
data z jara 2005	0,00838865
data nasbíraná v severočeském regionu	0,00828832
severočeské vzorky z roku 2005	0,00825117
jihočeské vzorky z roku 2005	0,00816721
data z roku 2005	0,00791954
data nasbíraná v jihočeském regionu	0,00784960
severočeské vzorky z roku 2006	0,00762681
letní sběry z let 2004-2006	0,00760593
data z léta 2005	0,00708632
data z roku 2004	0,00688719
data z léta 2004	0,00683482
středočeské vzorky z roku 2004	0,00683482
podzimní sběry 2003-2005	0,00675772
jihočeské vzorky z roku 2004	0,00654082
data z podzimu 2004	0,00650395
data z léta 2006	0,00634525
data z podzimu 2003	0,00559237
data z roku 2003	0,00559237
jihočeské vzorky z roku 2003	0,00559237
severočeské vzorky z roku 2004	0,00547698

Tab. 5 (vpravo) - Hodnoty parametru „variation“ spočtené programem DisparityBox pro populační vzorky různého původu a velikosti.

4 Diskuze

Nejvariabilnější tvarový trend tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex* popisuje první relativní warp z analýzy celkového datového souboru. Ze srovnání s výsledky analýzy kanonických variát téhož datového souboru plyne, že tvarové změny podél gradientu RW1 (ordinační osy popisující 45,92 % variability v datech) jsou totožné s tvarovými změnami odlišujícími chladnější a teplejší období vegetační sezóny roku v analýze kanonických variát. Výrazným tvarovým trendem asociovaným s prvním relativním warpem je velice zřetelná konvergence/divergence externích laloků marginálních buněk coenobia. Tvaru samotných laloků se změny nedotýkají, proměnlivá je pouze jejich vzájemná poloha, tj. velikost úhlu (tzv. *V-incision*), který v rovině coenobia svírají. Tento vnitropopulačně nejvariabilnější tvarový trend nepozorujeme pouze v přírodních populacích, ale shodně byl zjištěn i analýzou dat získaných nejen kultivací *Pediastrum duplex* var. *duplex* v laboratorních podmínkách (NEUSTUPA & HODAČ 2005), ale i v datech sebraných v přírodě (HODAČ 2005). Data nasbíraná v přírodě v rámci této diplomové práce jasně dokládají, že uvedený trend je pro jakýkoli populační vzorek *Pediastrum duplex* var. *duplex* fixní a v základních rysech se shodně projevuje neodvisle od proměnlivého nastavení abiotických a biotických ekologických faktorů prostředí.

Tvarové změny související s RW1 jsou prakticky shodné s hypotetickým tvarovým trendem, který jsem obdržel jako výsledek regresního modelu závislosti tvaru na průhlednosti ve vodním sloupci. Regresní model je signifikantní, a proto lze uvažovat jeho případné aplikace pro paleoekologické rekonstrukce. Vztah tvarového trendu konvergence/divergence úhlu mezi externími laloky marginálních buněk coenobia a nejvýznačnější kanonické osy maximalizující rozdíly mezi chladnými a teplejšími obdobími vegetační sezóny podporuje i velice nízká, ale statisticky signifikantní korelace skóru na prvním relativním warpu a gradientu teploty vody v nádrži. Dnes se soudí, že fosilní nálezy *Pediastrum duplex* var. *duplex*, narozdíl od chladnomilnějších druhů *P. kawraiskyi* a *P. integrum*, poukazují spíše na vyšší teploty prostředí a zejména vyšší stupně trofie na lokalitách nálezů (KOMÁREK & JAKOVSKÁ 2001). Paleoekologické implikace výskytu *Pediastrum* se datují již od sedmdesátých let minulého století a dnes jsou široce uznávané (VAN GEEL 1978; PALS et al. 1980; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001). Taxon, na který jsem se zaměřil ve své diplomové práci, patří spolu s *Pediastrum boryanum* var. *borynum* k vůbec nejčastějším řasám, jejichž fosilní zbytky se nacházejí v palynologických vzorcích (JANKOVSKÁ & KOMÁREK 2000).

Studie vztahů ekologických proměnných k dynamice tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex* může tudíž přispět ke generování hypotéz o historických klimatických a vegetačních poměrech v naší krajině.

V případě interpretace druhého relativního warpu, který popisuje 19,42 % variability v datech, je situace podstatně komplikovanější. Překvapivé zjištění přineslo srovnání tvarového trendu asociovaného s RW2 z analýzy dat sebraných v přírodě s daty získanými kultivací *Pediastrum duplex* var. *duplex* v laboratorních podmínkách ve studii NEUSTUPA & HODAČ (2005). Tvarové trendy na témže warpu se mezi obě studii nápadně liší. Změny tvaru reprezentované RW2 z dat z přírody jsou shodné až s RW3 z analýzy dat experimentálních. A naopak tvarový trend spojený s RW3 z analýzy populací kultivovaných v laboratoři je zcela identický s RW2 z analýzy přírodních populací. Zmíněné dvě ordinační osy z analýzy relativních warpů experimentálních dat však popisují takřka stejný podíl variability v datech (16,4% a 14,5%), z tohoto hlediska jsou tedy záměnné. Naproti tomu RW2 a RW3 z analýzy dat sebraných v přírodě se navzájem liší markantněji (19,42 % vs. 8,59 %). Vzhledem k tomu, že jsem analýzu relativních warpů uskutečnil na celé řadě datových souborů rozmanitého původu a velikosti a vždy bez jediné výjimky jsem obdržel týž výše naznačený výsledek, lze příčinu odchylky v souslednosti ordinačních os standardně analyzovaného experimentálního datového souboru přisoudit vlivu stresových podmínek indukovaných kultivací organismu v laboratorních podmínkách. Ačkoli se pořadí jednotlivých warpů při exploratorní analýze tvaroprostoru přírodních a experimentálních dat výše diskutovaným způsobem liší, je nejvýš zajímavým zjištěním, že i přes tak diametrálně odlišné životní podmínky jsou podstatné rysy dynamiky tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex* zcela neměnné.

Tvarový trend, který v analýze relativních warpů přírodních populací RW2 popisuje, je totožný s trendem zachyceným 2. tvarovým párovým singulárním warpem v analýze kovariance matic morfometrických a ekologických proměnných (*partial-least squares analysis*). Zmíněný tvarový SW2 a s ním asociovaný párový SW2 z matice ekologických parametrů prostředí, společně popisují více než jednu čtvrtinu veškeré kovariance mezi maticemi. RW2 je spojený se změnami postihujícími takřka celý tvar buňky. V oblasti kladných hodnot směřuje trend k expanzi těla buněk a rozšiřování externích laloků, v záporném extrému jsou buňky naopak subtilní s laloky nabývajících konický tvar. V tomto pozitivním extrému habituelně poněkud připomíná varieta *duplex* subtilní varietu *gracillimum*. Toto zjištění přináší další pozoruhodný moment. Taxonomický význam morfologických znaků pro vnitřní členění rodu *Pediastrum* není dosud zcela vyjasněné

(MCMANUS & LEWIS 2005). Chybí totiž studie fenoplasticity diagnostických znaků a taxony na úrovni druhů jsou považovány za výrazně polymorfické (NIELSEN 2000; KOMÁREK & JANKOVSKÁ 2001). Recentní molekulárně-fylogenetické studie, založené na srovnání topologií stromů získaných jedno- i dvougenovými a kombinovanými analýzami, definitivně vyvrátily monofyletické pojetí rodu *Pediastrum* (BUCHHEIM et al 2001; BUCHHEIM et al. 2005). Studie (MCMANUS & LEWIS 2005) dokonce na základě kombinované analýzy 26S a ITS-2 úseků rDNA naznačují polyfyletičnost druhu *Pediastrum duplex*. Jeho diagnostické morfologické znaky se objevují napříč několika separovanými klady, např. izoláty identifikované na základě morfologie jednoznačně jako *Pediastrum duplex* var. *gracillimum* byly kombinovanou dvougenovou analýzou přiřazeny do kladu společně s bývalým druhem *Pediastrum simplex*. Za dnešního stavu poznání je posledně jmenovaný taxon již součástí jiného rodu (*Monactinus*) popsaného ve výše zmíněné studii BUCHHEIM et al (2005). Vlastní pozorování, podpořené výstupy analýzy relativních warpů, je s popsanými výsledky molekulárně-fylogenetických studií zcela v konkordanci. Tradiční var. *gracillimum* stávajícího taxonu *Pediastrum duplex* (který si rodový název *Pediastrum* zachoval díky tomu, že je typovým druhem rodu) se od nejsubtilnějších jedinců v přírodě zdaleka běžnější var. *duplex* liší pouze poměrem velikosti perforací coenobií vůči velikosti těla buněk a striktně kónickými externími laloky. Ovšem i přes zdánlivou podobnost celkového habitu lze vyloučit přechod var. *duplex* ve var. *gracillimum*, protože ani v nejzazším extrému tvarové ordinační osy se podstatně nemění míra vyklenutí bazální části buněk a tudíž se nemění ani poměr velikosti pomyslných coenobiálních perforací vůči tělu buňky. Lze shrnout, že ani při maximální amplifikaci trendů tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex*, které zdánlivě směřují k podobnosti s var. *gracillimum*, není možné hranice taxonů překročit. Neexistuje-li mezi oběma varietami tvarové kontinuum, pravděpodobně není důvod považovat je za zástupce téhož druhu. Zvláště tehdy ne, když jsou variety morfologicky odlišovány prakticky pouze na základě charakteru skulptury buněčné stěny (SULEK 1969; KOMÁREK & JAKOVSKÁ 2001).

Popsané tvarové změny reprezentované RW2 souvisejí s alometrií, jak shodně pozorovali NEUSTUPA & HODAČ (2005) v laboratorních podmínkách i HODAČ (2005) analýzou přírodních vzorků. Buňky subtilní a s kónickými laloky mají tendenci být menší. Naopak buňky se širokým tělem a široce cylindrickými laloky jsou průkazně větší. Změny tvaru marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* jsou totožné se znakem nejvýrazněji oddělujícím data sebraná v různých ročních dobách, který maximalizuje rozdíly mezi jarním a podzimním obdobím. Ačkoli teplotní gradient reprezentovaný odlišnostmi mezi teplejšími a

chladnějšími částmi roku je významně asociovaný s tvarovými změnami již na prvním relativním warpu, existuje souvislost teploty i s výše uvedeným 2. párovým singulárním warpem; ten je směřováním v tvaroprostoru identický s druhým relativním warpem. Mezi tvarovým SW2 a teplotním gradientem byla zjištěna slabá negativní korelace podobně jako s faktorem rozlohy nádrže. Oba faktory jsou navzájem též nepatrně pozitivně, ale vysoce signifikantně korelované. Zajímavá zjištění přináší korelace tvarového SW2 s abundancí vybraných dominant fyto- a zooplanktonu. Nejsilnější negativní korelační vztah k alometrickým tvarovým trendům marginálních buněk *Pediastrum duplex* var. *duplex* nepřekvapivě vykazují hodnoty relativní abundance planktonních korýšů ve vzorcích. Níže jmenované skupiny řas a prvoků mírou abundance v planktonu korelují v sestupné tendenci pozitivně s tvarovým trendem zachyceným druhým párovým SW2: obrněnky (*Dinophyta*), zlativky (*Chrysophyceae/Synurophyceae*), krásnoočka (*Euglenophyta*), vířníci (*Rotatoria*), heterokontní řasy z tříd *Xanthophyceae* a *Eustigmatophyceae*, rozsivky (*Bacillariophyceae*), zelené řasy (*Chlorophyta*), sinice (*Cyanobacteria*), nálevníci (*Ciliata*), skrytěnky (*Cryptophyta*). Maximální negativní korelace dosahuje tvarový trend SW2 se skupinou korýšů (*Crustacea*). Buňky *Pediastrum* mají tedy tendenci se zvětšovat a habituelně rozšiřovat za sílicího predáčního tlaku koryšů. Naopak v období oslabení vlivu predáčního tlaku největších zooplanktonů (tedy v době rozvoje druhově pestřejších řasových společenstev fytoplanktonu) mají buňky tendenci být menší a habituelně gracilnější. *Pediastrum duplex* var. *duplex* zřejmě podobně jako celá řada dalších planktonních řas nepostrádá schopnost reagovat na signály chemické povahy informující o blížící se hrozbě predace.

Řada prací dokládá existenci komunikace mezi planktony v pelagickém prostředí (LARSSON & DODSON 1993; VERITY & SMETACEK 1996; LUO et al. 2006) a zároveň potvrzuje názor, že planktonní primární producenti nejsou vůči biotickému stresu zdaleka bezbranní – mj. i díky vysoké morfologické fenoplasticitě (VAN DONK 1997). Zvláště pozoruhodná je studie WILTSHIRE et al. (2003) na planktonních zástupcích rodu *Staurastrum*, která odhaluje ještě poněkud pestřejší vztah predátor-primární producent než je klasický model *Daphnia-Scenedesmus*. Objeví-li se ve vodním prostředí určité signální látky (zv. kairomony), buňky *Staurastrum* začnou na povrchu buněčné stěny produkovat sliz, navzájem se shlukovat a poklesnout ve vodním sloupci. Dokonalost vnímavosti řas vůči signálům ve vodním prostředí ilustruje zjištění, že tak podstatnou změnu chování *Staurastrum*, jakou je aktivní tvorba shluků, signální látka bez přítomnosti samotného predátora nezpůsobí, podobně jako ji nezpůsobí ani přítomnost ještě příliš malých a žiru neschopných korýšů WILTSHIRE et al.

(2003). Skutečnost, že *Pediastrum duplex* var. *duplex* vegetuje v období bez predančního tlaku za tvorby poněkud menších a subtilnějších forem, není v rozporu ani se studií CONWAYE & TRAINORA (1972), kteří soudí, že např. pro planktonní zástupce rodu *Scenedesmus* je energeticky výhodnější, vegetovat v podobě malých jednobuněčných stadií; snáze se totiž udrží v eufotické zóně vodního sloupce. Dle jejich názoru je změna životní strategie *Scenedesmus* při přechodu do stadia několikabuněčného coenobia indukována právě predančním tlakem větších korýšů. Další doklady různých způsobů aktivní obrany primárních producentů fytoplanktonu proti predaci přinesly práce GILBERT (1966); KRÜGER & DODSON (1981); KUSCH & HECKMANN (1992); TOLLRIAN (1994); LÜRLING (1999), nebo YANG et al. (2006).

Podle povahy ekologických nároků dalších výše zmíněných skupin planktonních organismů, jejichž relativní abundance pozitivně koreluje s SW2, lze ve vztahu k dynamice tvaroprostoru *Pediastrum duplex* var. *duplex* soudit, že gracilnější formy tento taxon vytváří v letním období rovnováhy mezi fyto- a zooplanktonem, kdy vedle sebe za nepřítomnosti predančního tlaku velkých korýšů a větších výkyvů teplot koexistuje rozmanité společenstvo planktonních krásnooček, zelených řas, sinic, nálevníků a zlativek.

Třetí relativní warp již na rozdíl od RW1 a RW2 není asociován s alometrií, velice výrazně však ordinací objektů v jeho směru vystupuje struktura dat sledující výrazné rozdíly mezi sezónami. Tvarový trend, vázaný na oddalování a přibližování laloků bazální části buňky, je zcela identický se změnami tvaru podél kanonické osy, která je procentuelně druhým nejvýznačnějším kriteriem (23%) odlišujícím skupiny podle příslušnosti do jednotlivých regionů. Příčinná souvislost tvarových změn na bázi buňky *Pediastrum duplex* var. *duplex* by na základě regresního modelu mohla být v přičtena gradientu hodnot pH v prostředí.

Čtvrtý relativní warp (8% variability) koresponduje s tvarovým trendem podél kanonické osy, která nejúčinněji odděluje skupiny dat z jednotlivých lokalit, tj. jihočeské rybníky Řežabinec a Skalský, středočeské Mlýnský a Hluboký a severočeské Chrastenský a Hamerský, aniž tyto rybníky tvoří shluky podle regionů.

Pro potenciální aplikace geometricko-morfometrických technik pro generování paleoekologických rekonstrukcí historických klimaticko-vegetačních poměrů daného území, bude nezbytné standardizovat určité metodické detaily typu velikosti populačního výběru. Srovnávacím studiem vnitropopulační variability napříč širším spektrem různě početných populací jsem dospěl k výsledku, že šíře fenotypické plasticity populací rapidně roste s velikostí populačního výběru. Ovšem jen do určité míry; vztah těchto dvou proměnných má

povahu logaritmické závislosti. Vnitropopulační variabilita („*variation*“) dosahuje horní meze při velikosti populace kolem 250 jedinců. Při vyšších hodnotách velikosti populace již hodnota „*variation*“ stagnuje. Zůstává tedy perspektivní otázkou pro další studie tohoto typu, zda se obdobné *pattern* objeví i při detailnějším poznání fenoplasticity jiných paleoekologicky významných mikroorganismů, nejen z příbuzenského okruhu nedávno na základě molekulárních znaků rozčleněného rodu *Pediastrum*.

5 Závěr

Prostřednictvím technik landmarkové geometrické morfometriky jsem ve vzorcích fytoplanktonu původem ze šesti lokalit v Čechách, nasbíraných v letech 2003-2006, identifikoval hlavní trendy tvarové variability coenobiální kokální zelené řasy *Pediastrum duplex* MEYEN var. *duplex*. Všechny hlavní tvarové trendy, vázané na marginální buňky coenobií, jsem syntézou výsledků užitých mnohorozměrných statistických technik uvedl do příčinné souvislosti s reálnými ekologickými faktory biotického i abiotického životního studovaného mikroorganismu.

Ekologickými faktory, které nejvyšší měrou ovlivňují dynamiku tvaroprostou *Pediastrum duplex* var. *duplex* jsou dle dosažených výsledků konduktivita, průhlednost ve vodním sloupci, teplota vody v nádrži a relativní abundance většího zooplanktonu – korýšů.

Podobně jako v případě ostatních planktonních zelených řas i *Pediastrum duplex* var. *duplex* díky morfologické fenoplasticitě dokáže aktivně reagovat na proměnlivost biotických i abiotických faktorů vnějšího prostředí. Šíře plasticity v morfologických znacích má však i v případě *Pediastrum duplex* var. *duplex* pevně determinované meze, které není mezi morfologicky podobnými taxony možné překročit.

Literatura

- ASAUL Z. I.** (1975): Viznačnik evgl'enovich vodorostěj Ukrajskoj RSR.. - Redakcija zagaľnoj biologiji, Vidavnictvo "Naukova dumka". Kijiv: 406 pp
- AUFFRAY J.C., ALIBERT P. & LATIEULE C.** (1996): Relative warp analysis of skull shape across the hybrid zone of the house mouse (*Mus musculus*) in Denmark. - Journal of Zoology, 240 (3): 441-455.
- BARČIOVÁ L. & MACHOLÁN M.** (2006): Morphometric study of two species of wood mice *Apodemus sylvaticus* and *A. flavicollis* (Rodentia: Muridae): traditional and geometric morphometric approach. – Acta Theriologica, 51 (1): 15-27.
- BATTEN D. J.** (1996): Green and Blue-green Algae. - In: JANSONIUS J. & MCGREGOR D. C. (eds.), Palynology: Principles and applications, American Assotiation of Stratigraphic Palynologists Foundation, Dallas, 1: 191-203.
- BAYLAC M., VILLEMANT C. & SIMBOLOTTI G.** (2003): Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. - Biological Journal of the Linnean Society, 80: 89–98.
- BECERRA J. M. & VALDECASAS A. D.** (2004): Landmark superimposition for taxonomic identification. - Biological Journal of the Linnean Society, 81: 267–274.
- BERTIN A., BRUNO D., CÉZILLY F. & ALIBERT P.** (2002): Quantification of the sexual dimorphism in *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda) using outline approaches. Biological Journal of the Linnean Society, 77: 523–533.
- BIGEARD E.** (1933): Les *Pediastrum* d'Europe: Étude biologique et systématique. – In: Trav. Lab. Bot. Univ. Cathol. Angers 5: 192 pp.
- BOOKSTEIN F. L.** (1991): Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology, Cambridge University Press, Cambridge.
- BOOKSTEIN F. L.** (1996): Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. – Bulletin of Mathematical Biology, 58 (2): 313–365.
- BOOKSTEIN F. L., STRAUSS R. E., HUMPHRIES J. M., CHERNOFF B., ELDER R. L. & SMITH, G. R.** (1982): A Comment Upon the Uses of Fourier Methods in Systematics. – Systematic Zoology, 31 (1): 85–92.
- BOOKSTEIN F. L., STREISSGUTH A. G., SAMPSON P. D., CONNOR P. D. & BARR H. M.** (2002): Corpus callosum shape and neuropsychological deficits in adult males with

- heavy fetal alcohol exposure. – *NeuroImage*, 15: 233–251.
- BRAUN A.** (1855): *Algarum unicellularium genera nova vel minus cognita I. – III.* W. Engelmann. Leipzig: 111 pp.
- BREUKER C. J., PATTERSON J. S. & KLINGENBERG C. P.** (2006): A Single Basis for Developmental Buffering of *Drosophila* Wing Shape. – *PloS ONE*, 1 (1): 7 pp.
- BUCHHEIM M. A., BUCHHEIM J. E., CARLSON T., BRABAND A., HEPPERLE D., KRIENITZ L., WOLF M. & HEGEWALD E.** (2005): Phylogeny of the Hydrodictyaceae (Chlorophyceae): inferences from rDNA data. – *Journal of Phycology*, 41: 1039-1054.
- BUCHHEIM M. A., MICHALOPULOS E. A. & BUCHHEIM J. E.** (2001): Phylogeny of the Chlorophyceae with special reference to the Sphaeropleales: a study of 18S and 26S rDNA data. – *Journal of Phycology*, 37: 819-835.
- CALLE D. A. L., QUIÑONES M. L., ERAZO H. F. & JARAMILLO N. O.** (2002): Morphometric Discrimination of Females of Five Species of *Anopheles* of the Subgenus *Nyssorhynchus* from Southern and Northwest Colombia. – *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97 (8): 1191-1195.
- CANNON C. H. & MANOS P. C.** (2000): The Bornean *Lithocarpus* Bl. section *Synaedrys* (Lindl.) Barnett (Fagaceae): its circumscription and description of a new species. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 133: 343–357.
- CARDINI A.** (2003): The geometry of the marmot (Rodentia: Sciuridae) mandible: Phylogeny and patterns of morphological evolution. *Syst. Biol.* 52:186–205.
- CAVALCANTI M. J.** (2001): Mantel - Test for Association Between Two Symmetric Distance Matrices with Permutation Iterations. - <http://www.maurobio.cjb.net>.
- CHANG T. P.** (1981a): A Comparative study of *Pediastrum boryanum* and *Pediastrum duplex*. – *Archiv für Protistenkunde*, 124: 232– 243.
- CHANG T. P.** (1981b): Zellwandskulpturen von *Pediastrum boryanum* und *Pediastrum duplex*. - *Nova Hedwigia* 34: 191 – 205.
- CLAUDE J., PARADIS E., TONG H. & AUFRAY J.-C.** (2002): A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 79: 485–501.
- CONWAY K. & TRAINOR F. R.** (1972): Scenedesmus morphology and flotation. – *Journal of Phycology*, 8: 138-143.
- CORTI M. & ROHLF J. F.** (2001): Chromosomal speciation and phenotypic evolution in the house mouse. – *Biological Journal of the Linnean Society*, 73: 99–122.
- CRISMAN T.** (1978): Algal remains in Minnesota lake types: a comparison of modern and

late-glacial distributions. - Verh. Internat. Verein Limnol. 20: 445-451.

- CRONBERG G.** (1982): *Pediastrum* and *Scenedesmus* (Chlorococcales) in sediments from lake Vaxyjosjon, Sweden. - Archiv für Hydrobiologie, Supplement 60 (1); Algological Studies 26: 53-62.
- DAHL T. & NÆS T.** (2003): Outlier and group detection in sensory panel using hierarchical cluster analysis with the Procrustes distance. – Food Quality and Preference, 15: 195–208.
- DEBAT V., BÉGIN M., LEGOUT H. & DAVID J. R.** (2003): Allometric and nonallometric components of *Drosophila* wing shape respond differently to developmental temperature. Evolution 57:2773–2784..
- DEBAT V., MILTON C. C., RUTHERFORD S., KLINGENBERG C. P. & HOFFMANN A. A.** (2006): HSP90 and the quantitative variation of wing shape in *Drosophila melanogaster*. – Evolution, 60 (12).
- DOBIGNY G., BAYLAC M. & DENYS C.** (2002): Geometric morphometrics, neural networks and diagnosis of sibling *Taterillus* species (Rodentia, Gerbillinae). Biol. J. Linn. Soc. 77:319–327.
- DOUGLAS M. E., DOUGLAS M. R., LYNCH J. M. & MCELROY D. M.** (2001): Use of geometric morphometrics to differentiate *Gila* (Cyprinidae) within the upper Colorado River basin. Copeia 2001:389–400.
- DRYDEN I. L. & MARDIA K. V.** (1998): Statistical shape analysis. – John Wiley & Sons Ltd. England: 367 pp.
- DUARTE L. C., MONTEIRO L. R., VON ZUBEN F. J. & DOS REIS S. F.** (2000): Variation in mandible shape in *Trichomys apereoides* (Mammalia: Rodentia): Geometric analysis of a complex morphological structure. Syst. Biol. 49:563–578.
- ETTL H.** (1978): Xanthophyceae 1. Teil. – In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H., Mollenhauer, D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, 3. G. Fischer Verlag. Jena: 530 pp.
- ETTL H.** (1983): Chlorophyta 1. Teil . – In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H., Mollenhauer, D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, 9. G. Fischer Verlag. Jena: 807 pp.
- FUKAMI H., BUDD A. F., LEVITAN D. R., JARA J., KERSANACH R. & KNOWLTON N.** (2004): Geographic differences in species boundaries among members of the *Montastraea annularis* complex based on molecular and morphological markers. – Evolution, 85 (2):

324–337.

- GERIŠ R.** (2004): *Pediastrum privum* v České republice. – Czech Phycology, 4: 63–66.
- GILBERT J. J.** (1966): Rotifer ecology and embryological induction. *Science*, 151: 1234–1237.
- GIRI F. & COLLINS P. A.** (2004): A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family *Aeglidae* (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin *Italian Journal of Zoology*, 71 (1): 85–88.
- GLENK H.–O.** (1994): Interspezifische Morphen zwischen *Pediastrum tetras* (EHRENBERG) RALFS und *Pediastrum biradiatum* MEYEN, Hydrodictyaceae, Chlorococcales. – In: *Lauterbornia* H.15: 115–123.
- GOODALL C. R.** (1991): Procrustes methods in the statistical analysis of shape. – *J. R. Stat. Soc. B*: 285–339.
- HAMMER Ø., HARPER D. A. T. & RYAN P. D.** (2001): PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, 4 (1): 9 pp.
- HAMMER Ø.** (2002): Morphometrics – brief notes. – Course texts, Paläontologisches Institut und Museum, Zürich: 49 pp.
- HARVATI K.** (2003): Quantitative analysis of Neanderthal temporal bone morphology using three-dimensional geometric morphometrics. *Am. J. Phys. Anthropol.* 120:323–338.
- HARVATI K. & WEAVER T. D.** (2006): Human cranial anatomy and the differential preservation of population history and climate signatures. – *The Anatomical Record, Part A* (288A): 1225–1233.
- HENDERSON A.** (2006): Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematics. – *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151 (1): 103–111.
- HENNESSY R. J., LANE A., KINSELLA A., LARKIN C., O'CALLAGHAN E. & WADDINGTON J. L.** (2004): 3D morphometrics of craniofacial dysmorphology reveals sex – specific asymmetries in schizophrenia. – *Schizophrenia Research*, 67: 261–268.
- HENNESSY R. J. & STRINGER C. B.** (2002): Geometric morphometric study of the regional variation of modern human craniofacial form. – *American Journal of Physical Anthropology*, 117: 37–48.
- HINDÁK F.** (ed.) (1978): *Sľadkovodné riasy*. – SPN. Bratislava: 754 pp.
- HODAČ L.** (2005): Morfologie a fenotypická plasticita druhu *Pediastrum duplex* (*Chlorophyceae*). – *Bakalářská seminární práce*, Praha: 50 pp.
- HORÁKOVÁ V., KUBEŠOVÁ S. & ŠUMBEROVÁ K.** (2005): Mechorosty rybníků a sádek v Českobudějovické pánvi. – *Bryonora*, 35: 9–18.

- JENSEN R. J.** (1990): Detecting shape variation in oak leaf morphology: a comparison of rotational – fit methods. – *American Journal of Botany*, 77 (10): 1279–1293.
- JENSEN R. J., CIOFANI K. M. & MIRAMONTES L. C.** (2002): Lines, outlines, and landmarks: morphometric analyses of leaves of *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* (Aceraceae) and their hybrid. – *Taxon*, 51 (3): 475-492.
- KALINA T.** (1994): Sinice a řasy. – In: KŘÍSA B. & PRÁŠIL K. (eds.). Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu. PřFUK, Praha: 5-45.
- KENT J. T. & MARDIA K. V.** (2001): Shape, Procrustes tangent projections and bilateral symmetry. – *Biometrika*, 88 (2): 469–485.
- KLINGENBERG C. P.** (2000a): A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. – http://www.flywings.org.uk/papers_page.htm:1–26.
- KLINGENBERG C. P.** (2000b): Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. – http://www.flywings.org.uk/papers_page.htm:1–30.
- KLINGENBERG C. P.** (2002): Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. – *Gene*, 287: 3–10.
- KLINGENBERG C. P.** (2004): Integration, modules and development: molecules to morphology to evolution. - In: PIGLIUCCI M. & PRESTON K. (eds.), *Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes*, Oxford University Press, New York: 213–230.
- KLINGENBERG C. P.** (2005): Developmental constraints, modules, and evolvability. – *Variations*, Chapter 11: 1–30.
- KLINGENBERG C. P., BADYAEV A. V., SOWRY S. M. & BECKWITH S. J.** (2001): Inferring developmental modularity from morphological integration: analysis of individual variation and asymmetry in bumblebee wings. – *The American Naturalist*, 157 (1): 11–23.
- KLINGENBERG C. P., BARLUENGA M. & MEYER A.** (2002): Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. – *Evolution*, 56 (10): 1909–1920.
- KLINGENBERG C. P., MCINTYRE G. S. & ZAKLAN S. D.** (1998): Left – right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. – *Proceedings of the Royal Society in London (B)*, 265: 1255–1259.
- KLINGENBERG C. P. & MCINTYRE G. S.** (1998): Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. –

Evolution, 52 (5): 1363–1375.

- KLINGENBERG C. P., MEBUS K. & AUFRAY J.-C.** (2003): Developmental integration in a complex morphological structure: how distinct are the modules in the mouse mandible? – Evolution & Development, 5 (5): 522–531.
- KLINGENBERG C. P., LEAMY L. J. & CHEVERUD J. M.** (2004): Integration and Modularity of Quantitative Trait Locus Effects on Geometric Shape in the Mouse Mandible. – Genetics, 166: 1909–1921.
- KLINGENBERG C. P. & MONTEIRO L. S.** (2005): Distances and directions in multidimensional shape space: implications for morphometric applications. – Systematic Biology, 54 (4): 678–688.
- KLINGENBERG C. P. & NIJHOUT H. F.** (1998): Competition among growing organs and developmental control of morphological asymmetry. – Proceeding of the Royal Society in London (B), 265: 1135–1139.
- KLINGENBERG C. P. & NIJHOUT H. F.** (1999): Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental stability. – Evolution, 53 (2): 358–375.
- KLINGENBERG C. P., SPENCE J. R. & MIRTH C. K.** (2000): Introgressive hybridization between two species of waterstriders (Hemiptera: Gerridae: *Limnoporus*): geographical structure and temporal change of a hybrid zone. – Journal of Evolutionary Biology, 13: 756–765.
- KLINGENBERG C. P. & ZAKLAN S. N.** (2000): Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. – Evolution, 54 (4): 1273–1285.
- KOMÁREK J. & ANAGNOSTIDIS K.** (1999): Cynoprocaryota. – In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa, 1. Teil, Chroococcales. Gustav Fischer Verlag. Jena: 548 pp.
- KOMÁREK J. & FOTT B.** (1983): Chlorococcales. – In: Huber-Pestalozzi G. (ed.). Das Phytoplankton des Süßwassers, Band 7. pp. Schweitzerbartsche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart: 1043 pp.
- KOMÁREK J. & JANKOVSKÁ V.** (2001): Review of the Green algal Genus *Pediastrum*; Implication for Pollen-analytical Research. – In: Bibliotheca Phycologica, Band 108. J. Cramer. Berlin, Stuttgart: 127 pp.
- KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H.** (1986, 1988, 1991a, 1991b): Bacillariophyceae, 1. – 4. Teil. – In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H., Mollenhauer, D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, 2. G. Fischer Verlag. Jena.
- KRAMMER K.** (2000): The genus *Pinnularia*. – In: Lange-Bertalot, H. (ed.). Diatoms of

- Europe, Volume 1. A.R.G. Gantner Verlag K.G.. Ruggell: 703 pp.
- KRÜGER D. A. & DODSON S. I.** (1981): Embryological induction and predation ecology in *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*, 26: 219-223.
- KUSCH J. & HECKMANN K.** (1992): Isolation of the Lembadion-factor, a morphologically active signal that induces Euplotes cells to change from their ovoid form into a larger lateral winged morph. *Dev. Genet.*, 13: 241-246.
- LANGE-BERTALOT H.** (2001): *Navicula sensu stricto*. – In: LANGE-BERTALOT, H. *Diatoms of Europe*, Volume 2. A.R.G. Gantner Verlag K.G.. Ruggell: 526 pp.
- LARSSON P. & DODSON S.** (1993): Invited review: Chemical communication in planktonic animals. – *Archiv für Hydrobiologie*, 129: 129-155.
- LEAMY L. J. & KLINGENBERG C. P.** (2005): The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. – *Annual Reviews of the Ecological and Evolutionary Systematics*, 36: 1–21.
- LETCHER B. H.** (2003): Life history dependent morphometric variation in stream – dwelling Atlantic salmon. – *Oecologia*, 137: 533–540.
- LUO W., PFLUGMACHER L. W., WALZ N. & KRIENITZ L.** (2006): Experimental bristle induction in *Micractinium* (Chlorophyta): an example of interaction between phytoplankton and grazer. - *Adaptation, plasticity, and dynamics of communities*: 101-112.
- LÜRLING M.** (1999): Grazer-induced coenobial formation in clonal cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorococcales, Chlorophyceae). – *Journal of Phycology*, 35: 19-23.
- MACLEOD M.** (2001): Landmarks, localization and the use of morphometrics in phylogenetic analysis. – *Department of Paleontology, Museum of Natural History. London*: 1–18.
- MACHOLÁN M.** (2006): A geometric morphometric analysis of the shape of the first upper molar in mice of the genus *Mus* (Muridae, Rodentia). – *Journal of Zoology*, 270: 672–681.
- MANTEL N.** (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. - *Cancer Research*, 27: 209-220.
- MARDIA K. V., BOOKSTEIN F. L. & MORETON I. L.** (2000): Statistical assessment of bilateral symmetry in shapes. – *Biometrika*, 87 (2): 285-300.
- MARUGÁN-LOBÓN J. & BUSCALIONI A. D.** (2003): Disparity and geometry of the skull in Archosauria (Reptilia: Diapsida). – *Biological journal of the Linnean Society*, 80: 67 – 88.
- MCMANUS H. A. & LEWIS L. A.** (2005): Molecular phylogenetics, morphological variation

- and colony-form evolution in the family Hydrodictyaceae (Sphaeropleales, Chlorophyta). – *Phycologia*, 44(6): 582-595.
- MEINDL U.** (1993): *Micrasterias cells* as a model system for research on morphogenesis. – *Microbiological Reviews*: 415–433.
- MEYEN F. I. F.** (1829): Beobachtungen über einige niedere Algenformen. – In: *Nova Acta Leop. Carol., Norimbergae*, 14 (2): 768-778.
- MOROZOVA-VODJANICKAJA N. V.** (1925): Гомологические ряды как основа классификации рода *Pediastrum* Meyen. – *Russ. Arch. Protist.*, 4 (1-2): 11-31.
- NAVIA D., DE MORAES G. J. & QUERINO R. B.** (2006): Geographic variation in the coconut mite, *Aceria guerreronis* KEIFER (Acari: Eriophyidae): A geometric morphometric analysis. - *International Journal of Acarology*, 32 (3): 301-314.
- NEIGE P.** (2003): Le débat macroévolutif: apports de la disparité morphologique. – *Comptes Rendus Palevol*, 2: 423–433.
- NEUSTUPA J.** (2005): Investigations on the genus *Phycopeltis* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from South – East Asia, including the description of two new species. – *Cryptogamie, Algologie*, 26 (3): 229–242.
- NEUSTUPA J. & HODÁČ L.** (2005): Changes in shape of the coenobial cells of an experimental strain of *Pediastrum duplex* var. *duplex* (Chlorophyta) reared at different pH. – *Preslia, Praha*, 77: 439–452.
- NEUSTUPA J. & ŠŤASTNÝ J.** (2006): The geometric morphometric study of Central European species of the genus *Micrasterias* (Zygnematophyceae, Viridiplantae). – *Preslia*, 78: 253–263.
- NEILSEN H. & SØRENSEN I.** (1992): Taxonomy and stratigraphy of late-glacial *Pediastrum* taxa from Lysmosen, Denmark a preliminary study. - *Review of Palaeobotany and Palynology*, 74: 55-75.
- NIELSEN H.** (2000): Morphometric analysis of cell wall sculpture in seven infraspecific taxa of *Pediastrum boryanum* (Sphaeropleales, Chlorophyta) and its taxonomic implications. *Phycologia*, 39 (1): 36–49.
- NITARDY E.** (1914): Zur Synonymie von *Pediastrum*. - Sonderabdruck aus den „Beiheften zum Botan. Centrallblatt“, Bd. XXXII. Abt. II. Heft 1. Verlag C. Heinrich. Dresden: 194 pp.
- OLEKSYK T. K., NOVAK J. M., PURDUE J. R., GASHCHAK S. P. & SMITH M. H.** (2004): High levels of fluctuating asymmetry of *Apodemus flavicollis* from the most contaminated

- areas of Chernobyl. – *Journal of Environmental Radioactivity*, 73: 1-20.
- ORON G., SHELEF G. & LEVI A.** (2005): Algal polymorphism in high rate wastewater treatment ponds. - *Hydrobiologia*, 77 (2): 167-175.
- PALS J. P., VAN GEEL B. & DELFOS A.** (1980): Paleoecological studies in the Klokkeweel bog near Hoogkarspel (prov. of Noord-Holland). - *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 30: 371-418.
- PARRA B. O. O.** (1979): Revision der Gattung *Pediastrum* Meyen (Chlorophyta). - *Bibliotheca Phycologica* 48: 1-186.
- PALMER A. R.** (1994): Fluctuating asymmetry analyses: a primer. - In T. A. Markow (ed.), *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 355–364.
- PALMER A. R. & STROBECK C.** (1986): Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. – *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 391-421.
- PEREZ S. I., BERNAL V. & GONZALEZ P. N.** (2006): Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. – *Journal of Anatomy*, 208: 769-784.
- RACIBORSKI M.** (1890): Przegląd gatunków rodzaju *Pediastrum*. – In: *Rozpr. Spraw. Posiedz. Wydz. mat. – przyr. Acad. Umiej.*, Kraków, 20: 84-120.
- RADWAN J., WATSON P. J., FARSLow J. & THORNHILL R.** (2003): Procrustean analysis of fluctuating asymmetry in the bulb mite *Rhizoglyphus robini* Claparede (Astigmata: Acaridae). – *Biological Journal of the Linnean Society*, 80: 499-505.
- RAMANATHAN K. R.** (1964): Ulotrichales.- In: *RANDHAWA, M. S. (ch. ed.). Monographs on Algae*. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi: 188 pp.
- RAO C. R. & SURYAWANSHI S.** (1996): Statistical analysis of shape of objects based on landmark data – *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93: 12132-12136.
- RENSSEN H., ISARIN R. F. B., VANDENBERGHE J., AALBERSBERG G., BEETS C. J., BJÖRCK S., BOESSENKOOL K. P., BOHNCKE S. J. P., BOND G. C., BOS J., BUNNIK F., Cwynar L., GROOTES P., GUIOT J., HOEK W. Z., KASSE C., KROON D., KRUK R.W., LOWE J. J., MAGNY M., NADEAU M. J., PAUL A., PRINS M. A., RAHMSTORF S., SCHUURMANS C. J. E., VAN GEEL B., VAN LOON A. J., VALDES P. J., VELICHKO A. A., VERWEIJ W., WAGNER R., WALKER M. J. C., WEBER S. L., WILLEMSE N. & VAN DER SCHRIER G.** (2001): Rapid climatic warming at the end of the last glacial: new perspectives. - *Global and Planetary Change*, 30: 155-165.

- ROHLF F. J.** (1998): TpsSmall, version 1.19. – Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- ROHLF F. J.** (1999): Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. – *Journal of Classification*, 16: 197-223.
- ROHLF F. J.** (2003): Bias and error in estimates of mean shape in geometric morphometrics. – *Journal of Human Evolution*, 44: 665-683.
- ROHLF F. J.** (2004a): tpsSpln, version 1.20.
 - (2004b): tpsRegr, version 1.29.
 - (2004d): tpsDig, version 1.40.
 - (2004e): tpsRelw, version 1.40.
 - (2006): tpsPLS, version 1.18. – Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- ROHLF F. J. & CORTI M.** (2000): Use of two-block partial least squares covariation in shape. – *Systematic Biology*, 49 (4): 740-753.
- ROSAS A. & BASTIR M.** (2004): Geometric morphometric analysis of allometric variation in the mandibular morphology of the hominids of Atapuerca, Sima de los Huesos site. – *The Anatomical Record Part A*, 278A: 551-560.
- ROHLF F. J., LOY A. & CORTI M.** (1996): Morphometric analysis of Old World Talpidae (Mammalia, Insectivora) using partial-warp scores. *Syst. Biol.* 45:344–362.
- ROHLF F. J. & SLICE D. E.** (1990): Extensions of the Procrustes method for the optimal superimpositions of landmarks. – *Systematic zoology*, 39: 40-59.
- ROSENBERG M. S.** (2002): Fiddler crab claw shape variation: a geometric morphometric analysis across the genus *Uca* (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae). – *Biological Journal of the Linnean Society*, 75: 147-162.
- 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.
- SHEETS H. D.** (2002): IMP: PLSMaker6g June 6,02 Version - morfometrický freeware, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>.
- SHEETS H. D.** (2003a): IMP: CoordGen6f March 19,03 Version.
 (2003b): IMP: CVAGen6j May 15,03 Version
 (2003c): IMP: DisparityBox6h October 15,03 Version – morfometrický freeware, <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>.
- SIEMIŃSKA J.** (1964): Bacillariophyceae (Okrzemki). – In: KAROL STARMACH (red.). *Flora*

- Słodkowodna Polski, tom 6. Państwowe Wydawnictwo Naukowe. Warszawa: 609 pp.
- SLÁDEČEK V. & SLÁDEČKOVÁ A.** (1996a): Destruenti a producenti. – In: Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství, povrchové vody a čistírny odpadních vod, 1.díl. ČVTVHS. Praha: 350 pp.
- SLÁDEČEK V. & SLÁDEČKOVÁ A.** (1996b): Konzumenti. – In: Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství, povrchové vody a čistírny odpadních vod, 2.díl. ČVTVHS. Praha: 530 pp.
- SLICE E. D., BOOKSTEIN F. & ROHLF F. J.** (1998): A glossary for geometric morphometrics. - <http://life.bio.sunysb.edu/morph/glossary>.
- SLICE D. E.** (ed.) (2005): Modern morphometrics in physical anthropology. Kluwer Academic Publishers Group: 406 pp.
- SMITH D. R., CRESPI B. J. & BOOKSTEIN F. L.** (1997): Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. – Journal of Evolutionary Biology, 10: 551-574.
- SOKAL R. R. & ROHLF F. J.** (1995): Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd. edition FREEMAN W.H. (ed.), San Francisco: 887 pp.
- STARMACH K.** (1966): Cyanophyta – Sinice, Glaucophyta – Galukofity. – In: Flora słodkowodna Polski, Tom 2. – 806 pp. Państwowe wydawnictwo naukowe. Warszawa
- STARMACH K.** (1972): Chlorophyta 3. – Zielenice nitkovate. – In: Flora słodkowodna Polski, Tom 10. Państwowe wydawnictwo naukowe. Warszawa – Kraków: 749 pp.
- STARMACH K.** (1983): Euglenophyta. – In: Flora słodkowodna Polski, tom 3. Państwowe wydawnictwo naukowe. Kraków: 590 pp.
- STARMACH K.** (1985): Chrysophyceae und Haptophyceae. – In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa, 1. G. Fischer Verlag. Jena: 515 pp.
- STEGMANN M. B. & GOMEZ D. D.** (2002): A brief introduction to statistical shape analysis: 1-15.
- SULEK J.** (1959): Rod *Pediastrum* Meyen v ČSR. - Diplomová práce, depon. in – knihovna katedry botaniky PřFUK, Praha.
- SULEK J.** (1969): Taxonomische Übersicht der Gattung *Pediastrum* Meyen. – In: FOTT, B.(ed.): Studies in Phycology. Praha: 197–261.
- TELL G.** (2004a): A Miocene algal assemblage dominated by *Pediastrum leonensis* n. sp. (Chlorophyceae) from Patagonia, Argentina: paleoenvironmental implications. – In: Journal of Paleolimnology, 32: 247–254.

- TELL G.** (2004b): Recent and fossil species of the genus *Pediastrum* Meyen (Chlorococcales) from Argentina and their geographical distribution. - *Algological Studies*, 112: 49-71.
- TATSUTA H., MIZOTO K. & AKIMOTO S.-I.** (2004): Relationship between size and shape in the sexually dimorphic beetle *Prosopocoilus inclinatus* (Coleoptera: Lucanidae). - *Biological Journal of the Linnean Society*, 81: 219-233.
- TOLLRIAN R.** (1994): Fish-kairomone induced morphological changes in *Daphnia lumholzi* (SARS). - *Archiv für Hydrobiologie*, 130: 69-76.
- UBUKATA T.** (2003): A morphometric study on morphological plasticity of shell form in crevice-dwelling Pterioda (Bivalvia). - *Biological Journal of the Linnean Society*, 73: 285-297.
- VAN DONK E.** (1997): Defenses in phytoplankton against grazing induced by nutrient limitation, UV-B stress and infochemicals. - *Aquatic Ecology*, 31: 53-58.
- VAN GEEL B.** (1978): A palaeoecological study of Holocene peat bog sections in Germany and the Netherlands. - *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 25: 1-120.
- VERBRUGGEN H., DE CLECK O., KOOISTRA W. H. C. F. & COPPEJANS E.** (2005a): Molecular and morphometric data pinpoint species boundaries in *Halimeda* section *Rhipsalis* (Bryopsidales, Chlorophyta). - *Journal of Phycology*, 41: 606-621.
- VERBRUGGEN H., DE CLECK O., COCQUYT E., KOOISTRA W. H. C. F. & COPPEJANS E.** (2005b): Morphometric taxonomy of siphonous green algae: a methodological study within the genus *Halimeda* (Bryopsidales). - *Journal of Phycology*, 41: 126-139.
- VERITY P. G. & SMETACEK V.** (1996): Organism life-cycles, predation and the structure of marine pelagic ecosystems. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 130: 277-293.
- WILLMORE K. E., KLINGENBERG C. P. & HALLGRÍMSSON B.** (2005): The relationship between fluctuating asymmetry and environmental variance in rhesus macaque skulls. - *Evolution*, 59 (4): 898-909.
- WILTSHIRE K., BOERSMA M. & MEYER B.** (2003): Grazer-induced changes in the desmid *Staurastrum*. - *Hydrobiologia*, 491: 255-260.
- WOŁOWSKI K.** (1998): Taxonomic and Environmental Studies on Euglenophytes of the Kraków – Częstochowa Uppland. - In: WOLEK, J. (ed.). *Fragmenta Floristica et Geobotanica, Supplementum 6*. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. Kraków: 122 pp.
- WU J.-T.** (1987): Revision of Formosan *Pediastrum*. - *Nova Hedwigia*, 44: 497-509.
- YANG Z., KONG F., XIAOLI S. & HUANSHENG C.** (2006): Morphological response of *Microcystis aeruginosa* to grazing by different sorts of zooplankton. - *Hydrobiologia*,

563: 225-230.

ZELDITCH M. L., SWIDERSKI D. L., SHEETS H. D. & FINK W. L. (2004): Geometric morphometrics for biologists: a primer. – Elsevier Academic Press. New York: 445 pp.

ZELDITCH M. L., MEZEY J., SHEETS H. D., LUNDRIGAN B. L. & GARLAND T. JR. (2006): Developmental regulation of skull morphology II: ontogenetic dynamics of covariance. – *Evolution & Development*, 8 (1): 46-60.

Přílohy

sezóna	č. populace	populace	sezóna	č. populace	populace	
2003	1	03_pJr	2006	33	06_JJr	
	2	03_pJs		34	06_JJs	
	3	04_JJr		35	06_JLc	
	4	04_JJs		36	06_JLh	
	5	04_JLc		37	06_JSh	
	6	04_JLh		38	06_JSm	
	7	04_JSh		39	06_pJr	
	8	04_JSm		40	06_pJs	
	9	04_pJr		41	06_pLc	
	10	04_pJs		42	06_pLh	
	11	04_pLc		43	06_pSh	
	12	04_pLh		44	05_pSm	
	13	04_pSh				
	14	04_pSm				
2004	15	05_JJr				
	16	05_JJs				
	17	05_JLc				
	18	05_JLh				
	19	05_JSh				
	20	05_JSm				
	21	05_JJr				
	22	05_JJs				
	23	05_JLc				
	24	05_JLh				
	25	05_JSh				
	26	05_JSm				
	27	05_pJr				
	28	05_pJs				
	29	05_pLc				
	30	05_pLh				
	31	05_pSh				
	32	05_pSm				

Tab. 2 - Struktura dat – 2003-2006: sezóna odběru; jaro/léto/podzim: roční doba; Jižní-/Střední Čechy/Liberecko: region; chrastenský/hamr/hluboký/mlýnský/rezabinec/skály: lokality. Každý populační vzorek sestává z 50 jedinců.

2004	pH			konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$]			teplota [C]			světelnost [cm]		
	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen
Řezabinec	7,1	8,7	8,0	297	356	392	22,0	25,5	11,5	121	65	51
Skalský rybník	7,6	8,5	7,4	336	321	340	23,6	25,3	11,0	40	41	15
Chrastenský rybník	7,9	9,2	7,6	234	294	415	21,5	22,6	11,1	65	50	64
Hamerský rybník	8,3	7,6	7,8	156	264	391	25,1	23,5	11,4	112	74	78
Hluboký rybník	7,2	7,9	7,8	451	495	470	23,4	20,5	13,0	164	80	85
Mlýnský rybník	7,9	7,3	7,3	369	423	380	24,2	18,8	13,0	31	40	45

2005	pH			konduktivita [$\mu\text{S}/\text{cm}$]			teplota [C]			světelnost [cm]		
	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen	květen	červenec	říjen
Řezabinec	7,6	9,1	8,8	260	312	425	20,5	26,9	14,1	130	50	57
Skalský rybník	7,8	8,8	7,9	305	296	337	21,0	25,1	11,1	30	40	45
Chrastenský rybník	7,7	9,0	7,9	215	252	423	24,5	23,9	12,8	90	42	57
Hamerský rybník	8,6	8,6	7,9	172	257	403	25,0	23,8	12,6	100	74	57
Hluboký rybník	7,6	7,7	7,8	399	490	470	22,0	22,6	13,3	150	60	85
Mlýnský rybník	7,8	7,9	7,3	424	452	380	24,0	21,3	13,0	20	20	45

2006	pH		kond. [$\mu\text{S}/\text{cm}$]		teplota [C]		světelnost [cm]	
	květen	červenec	květen	červenec	květen	červenec	květen	červenec
Řezabinec	8,9	8,9	231	341	23,1	24,0	109	50
Skalský rybník	9,7	8,2	269	356	22,6	23,9	55	30
Chrastenský rybník	7,2	8,4	271	250	22,2	23,1	74	70
Hamerský rybník	8,6	9,4	209	331	23,0	22,6	132	81
Hluboký rybník	7,4	8,3	441	512	22,5	18,5	134	74
Mlýnský rybník	7,6	7,6	348	480	22,8	19,4	25	30

Tab. 3 – Hodnoty ekologických parametrů naměřené na odběrových lokalitách



a



b



c



d



e



f

Tabule 1 - fotografie studovaných lokalit: **(a)** Řežabinec, **(b)** Skalský rybník, **(c)** Chrastenský rybník, **(d)** Hamerský rybník, **(e)** Hluboký rybník, **(f)** Mlýnský rybník.



a



b



c



d

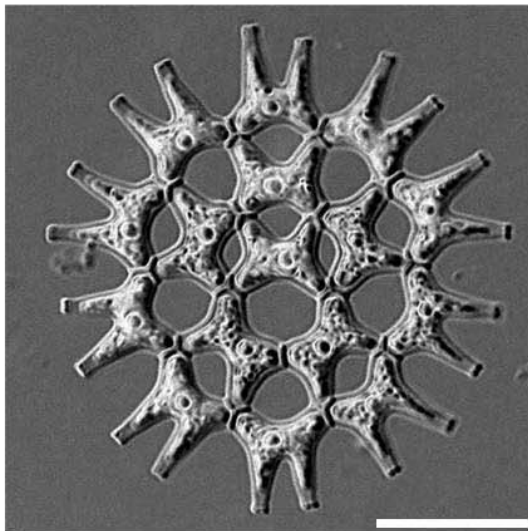


e

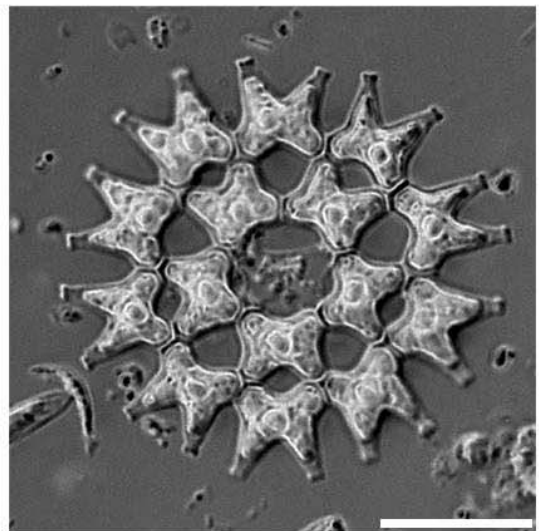


f

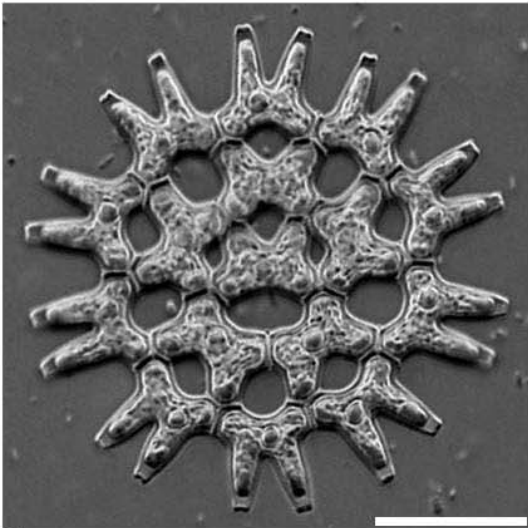
Tabule 2 - Letecké snímky studovaných lokalit: (a) Řežabinec, (b) Skalský rybník, (c) Chrastenský rybník, (d) Hamerský rybník, (e) Hluboký rybník, (f) Mlýnský rybník; zdroj: www.mapy.cz.



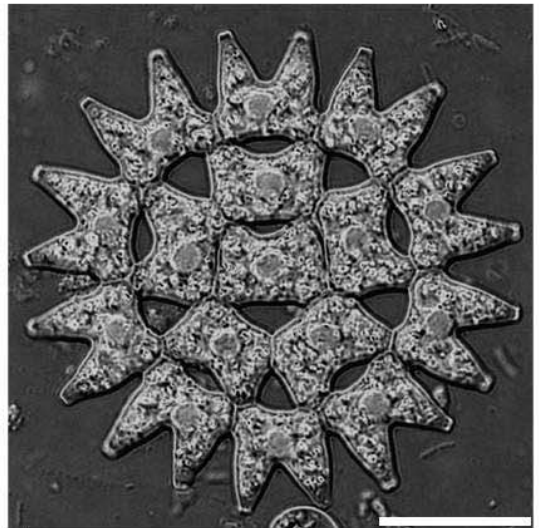
a



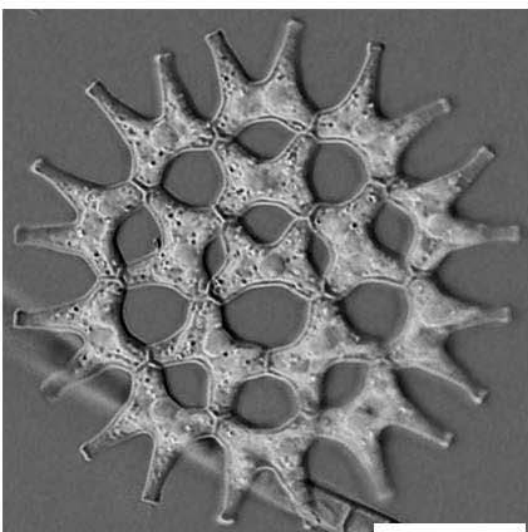
b



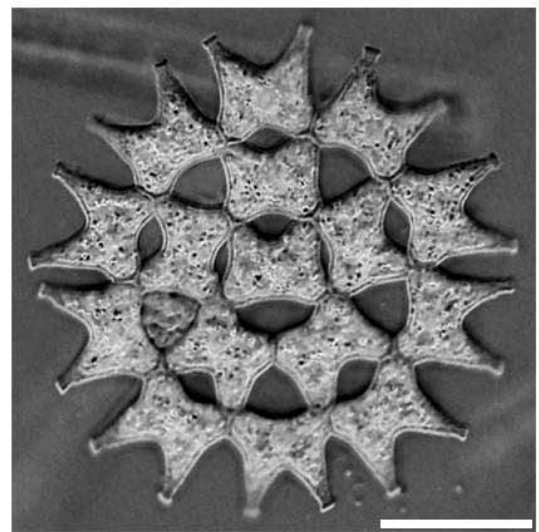
c



d



e



f

Tabule 3- mikrofotografie *Pediastrum duplex* var. *duplex*; úsečka ve všech případech značí 20 μ m.