Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Obor: Biologie

Tereza Ševčíková

Morfologické strategie fotoautotrofních protist v různých podmínkách prostředí

Morphological strategies of photoautotrophic protists under various environmental conditions

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Jana Veselá, Ph.D.

Praha, 2012

Prohlášení:

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

V Praze, 11.5.2012

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat mé rodině mamince, Slávkovi, babičce Alence a dědovi Péťovi za morální i finanční podporu v průběhu celého mého studia. Dík patří za velkou podporu také Jirkovi a rodičům Šoljakovým.

A především bych tímto ráda poděkovala mé školitelce Mgr. Janě Veselé, PhD. za čas a pozornost, které mi bez váhání věnovala. Za rychlé reakce, které mi ušetřily mnoho starostí a trpělivé odpovědi na mé opakující se dotazy.

ABSTRAKT

Cílem této práce je poskytnout ucelený přehled morfologických přizpůsobení fotoautotrofních protist různým podmínkám prostředí a popsat význam jejich tvaru a velikosti pro různé životní strategie. Práce shrnuje přehled hlavní faktory ovlivňující přírodní mikrořasová společenstva a ukazuje jejich význam pro život fotoautotrofních protist; konkrétně se jedná o množství živin, pH, teplotu, dostupnost světla a přítomnost predátorů. Dále jsou uvedeny také různé metodické přístupy a názory, jak lze morfologické vlastnosti zkoumat, měřit a reprodukovat.

Klíčová slova: limitace, morfologie, pH, predace, protista, řasy, světlo, teplota, živiny

ABSTRACT

The aim of this thesis is to provide a comprehensive overview of morphological adaptation of photoautotrophic protists to various environmental conditions and to describe the influence of their shape and size for different life strategies. Thesis summarizes overview of the main factors affecting the natural mikroalgal community and shows their relevance for life of photoautotrophic protists. These factors include availability of nutrients, pH, temperature, penetration of light and predation. Next part focuses on different methodological approaches and attitudes, how to investigate, measure and explain morphological features.

Keywords: algae, light, limitation, morphology, nutrient, pH, predation, protist, temperature

OBSAH:

1. Úvod 2

1.1 Stručná historie pojmu protista 2

1.2 Současná charakteristika protist 2

2. Velikost protistní buňky 3

2.1 Základní rozměry 3

2.2 Pravidla pro zachování korektnosti měření objemu sledovaného společenstva 4

2.3 Povrch a objem 5

2.4 Technické možnosti měření 7

3. Řasy ve vztahu k podmínkám prostředí 8

3.1 Živiny 8

3.1.1 Efektivita využití živin 8

3.1.2 Koncentrace živin 9

3.1.3 Konduktivita 12

3.2 pH 13

3.3 Světlo 15

3.3.1 Plankton 16

3.3.2 Bentos 17

3.4 Teplota 17

3.4.1 Teplotní optimum 17

3.4.2 Růstová rychlost 18

3.4.3 Teplotně-velikostní pravidlo 20

3.4.4 Aklimace 21

3.5 Přítomnost predátorů 21

4. Závěr 22

5. Použitá literatura 24

1. Úvod

1.1 Stručná historie pojmu protista

Poprvé byl pojem „protista“ použit Ernestem Haeckelem v roce 1866, který rozdělil živé organismy na tři říše - protista, rostliny a zvířata, kde protista představovala primitivní jednobuněčné formy, které se nedaly zařadit mezi zvířata nebo rostliny. Tento systém přepracoval roku 1969 Robert Whittaker do pěti říší (Monera, Protista, Fungi, Plantae a Animalia) a specifikoval protista jako mikroskopické, eukaryotní organismy. Významný převrat přinesla až molekulární fylogenetika, která nabídla nové měřítko pro uspořádání taxonů. Díky novým poznatkům byl systém říší přepracován do podoby, ve které ho známe dnes (Adl et al., 2005).

1.2 Současná charakteristika protist

V současnosti skupina protista označuje parafyletickou skupinu organismů, jejíž zástupce nalezneme ve všech šesti říších systému Simpsona a Rogera (2004). Protista jsou obvykle charakterizována jako jednobuněčné, eukaryotní organismy, které se živí se fototrofně, heterotrofně, nebo mixotrofně[1] (např. nálevníci - heterotrofie, obrněnky - mixotrofie) a mohou žít samostatně (např. rod *Euglena* (Euglenoidea)), být koloniální (např. *Ankistrodesmus* (Chlorophyceae)), nebo cenobiální[2] (např. *Scenedesmus* (Chlorophyceae)). Protista představují širokou skupinu mikroorganismů, která se vyskytuje v akvatických i terestrických ekosystémech.

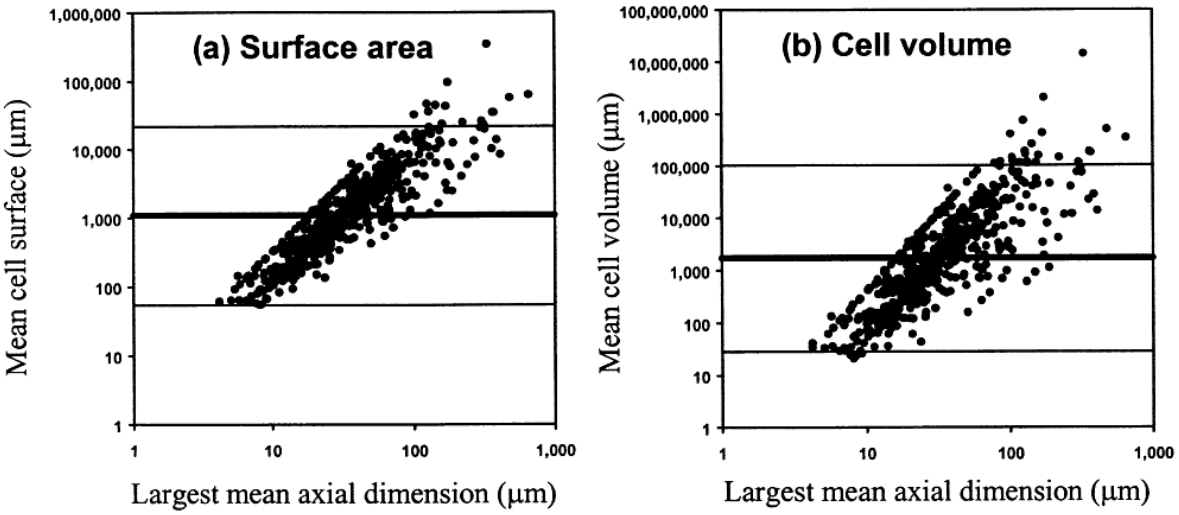
Pro člověka jsou fotoautotrofní protista významní jako primární producenti (Stockner, 1988), tvoří součást koloběhu látek; příkladem může být *Emiliania huxleyi*, (Haptophyta), která se navíc účastní i koloběhu vody tím, že uvolňuje do atmosféry dimethylsulfid tvořící kondenzační jádra mraků (Franklin et al., 2010). Dále se fotoautotrofní řasy využívají při výrobě biopaliv (Quinn et al., 2012) nebo výživových doplňků *(Chlorella,* Trebuxyophycae). Mezi protista patří také významní parazité živočichů včetně člověka jako např. *Naegleria fowleri, Acantamoeba* spp. a mnoho dalších (Visvesvara et al., 2006). Ti způsobují nejen smrtelné choroby lidí, ale i velké hospodářské ztráty. Obdobně například některé obrněnky či

[1] Mixotrofie je způsob výživy zahrnující autotrofnii i heterotrofii (Hindák et al., 1978).
[2] Cenobium je strukturně organizovaná kolonie jednobuněčných organismů jedné generace, počet buněk v cenobitu je vždy dělitelný dvěma (Hindák et al., 1978).

rozsivky produkující toxiny při přemnožení zapříčiňují toxické přílivy a způsobují úhyny ryb (Usup et al., 2012).

2. Velikost protistní buňky

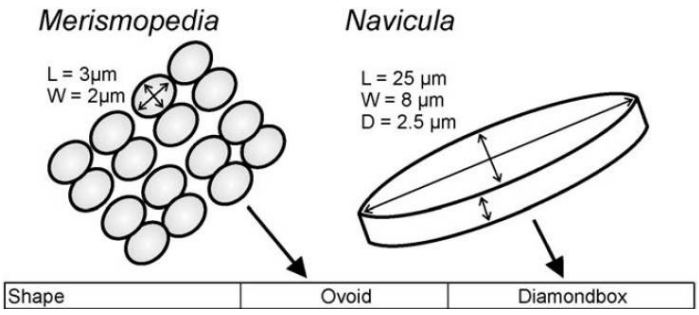
Existují různé vnější tvary buněk typické pro jednotlivé protistní skupiny např. podlouhlá buňka *Closteria* (Desmidiales). Pro každou buňku můžeme určit její velikost, ta lze vyjádřit více způsoby. Setkáváme se s vyjádřením velikosti rozměry buňky, objemem buňky, povrchem buňky a vyjádřením povrchu vůči objemu buňky. Numerické hodnoty měření jednotlivých významů velikosti nelze mezi sebou navzájem přímo porovnávat, neboť se mohou lišit i o několik řádů. Ale často je mezi nimi lineární závislost (Obr.č.1) (Snoeijs et al., 2002). Pokud je použit termín velikost je proto nutné obezřetně sledovat, který z výše uvedených významů popisuje.



Obr. č. 1 - Grafické znázornění vztahu délky, povrchu a objemu (Snoeijs et al., 2002)

2.1 Základní rozměry

Mikroskopické měření rozměrů buněk je základní a časově nejméně náročné. Podle účelu měření je potřeba znát různé rozměry. V případě, že chceme pozorovanou buňku určit do druhu, stačí většinou znát její tvar, délku a šířku. Pokud je cílem výpočet objemu buňky, musíme znát i její hloubku. Výjimkou jsou buňky ovoidního nebo kulovitého tvaru, u kterých i pro výpočet objemu stačí měřit pouze délku a šířku (Obr. č. 2) (Reavie et al., 2010; Vadrucci et al., 2007).



Obr. č. 2 - Měření buněk, převzato z Reavie et al. (2010).

Za měřitelné jsou uznávány jedině buňky, které jsou v mikroskopu orientovány k pozorovateli kolmo, aby nedocházelo ke zkreslení rozměrů. Bývá pravidlem, že pokud lze změřit délku a šířku, není možné uspokojivě pootočit buňku pro zjištění hloubky. Šířka s délkou a hloubka bývají párovány hybridně tzn., že naměřené hloubky buněk orientovaných bokem jsou přiřazeny buňkám orientovaným čelně. (Reavie et al., 2010)

V přírodním vzorku se obvykle nachází více než jeden druh, pokud chceme s hodnotami dále pracovat, je nutné buňky před měřením identifikovat. (Passy, 2007).

Pokud je cílem identifikace buňky do druhu, je důležitá největší a nejmenší velikost buňky. Zjištěné hodnoty se porovnávají s určovacími klíči, či jinou dostupnou literaturou (Krammer & Lange-Bertalot 1986-1991; Leira & Sabater, 2005).

Pro výpočet objemu druhu se z jednotlivých, vzájemně si odpovídajících hodnot pro každý rozměr určí průměrná hodnota. Tato metoda je základem všech složitějších měření, neboť takto kalibrovaná buňka je uznávána za buňku průměrnou a je tedy možné její parametry využít jako vzorový model pro další zpracování (Passy, 2007).

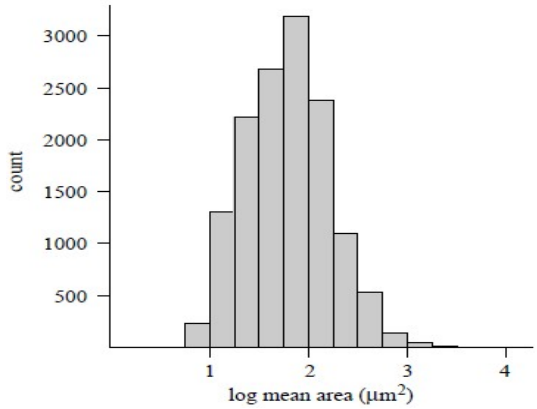
2.2 Pravidla pro zachování korektnosti měření objemu sledovaného společenstva

Ve studii zabývající se fytoplanktonem je vhodné mít takto determinováno a změřeno alespoň 100 buněk daného vzorku (Montagnes et al., 1994). U bentických společenstev se v převážné většině vědeckých prací tyto nároky zužují jen na společenstvo rozsivek, neboť jejich zastoupení bývá téměř absolutně dominantní nad ostatními druhy. Za reprezentativní vzorek rozsivkového společenstva se považuje alespoň 400 buněk (Lavoie et al., 2006).

Minimální počet jedinců, který může být ke zjištění průměrné velikosti druhu použit, aby byla výsledná hodnota vypovídající, je významně menší. Nejnižší přípustný počet jsou pouze 4 zástupci v jednom vzorku (Snoeijs et al., 2002). Není zároveň nutné, aby byl počet

průměrovaných jedinců v každém vzorku stejný, může se lišit i v rámci jednoho vzorku (Lavoie et al., 2010). Ačkoli v práci Soinien & Kokocinski (2006) byly využity maximální a minimální rozměry pozorovaných druhů, které lépe odpovídaly změnám v parametrech prostředí.

Pokud se studie zabývá celým společenstvem, je legitimní do výsledků studie nezapočítat okrajové hodnoty ve smyslu sledovaného parametru, které jsou specifikovány jako ty, které se nacházejí pod 25. a nad 75. percentilem. Významné jsou jen hodnoty, které se nacházejí mezi percentily 25 - 75. V tomto případě percentily vyjadřují logaritmovaný obsah buněk (Obr. č. 3) (Finkel et al., 2009).



Obr. č. 3 - Vyjádření obsahu buněk ve vztahu k četnosti; převzato z Finkel et al. (2009)

2.3 Povrch a objem

Na základě předchozích měření lze vypočíst povrch i objem zkoumaných buněk, který se počítá pomocí geometrických modelů buněk (Obr. č. 4). Základní tvary a vzorce je možné dohledat v literatuře, celou řadu jich můžeme například najít v pracích Hillebrand et al. (1999) a Sun & Liu (2003).

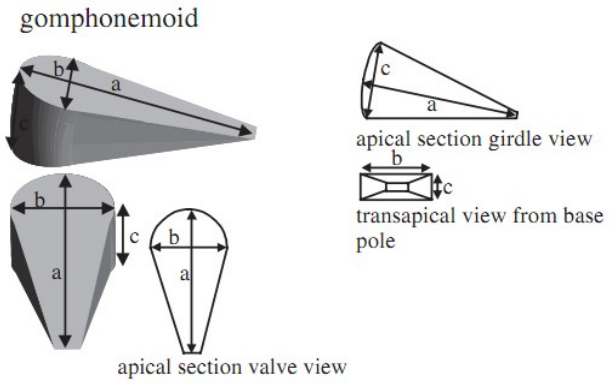
Objem i povrch je také možné vypočítat s využitím geometrické morfometriky[3], kdy lze přesněji modelovat složitější tvary buněk. Touto metodou se připraví podklady pro vytvoření 3D modelů pomocí eliptické Fourierovy analýzy[4], která vygeneruje koeficienty sloužící

[3] Geometrická morfometrika je metoda pro popis buněk pomocí jejich vnějších geometrických tvarů (Neustupa & Škaloud, 2007).
[4] Eliptické Fourierova analýza je matematická metoda obrysové analýzy používaná mimo jiné v biologii (Viscosi & Fortini, 2011).

k popisu jednotlivých vlastností daného tvaru (Neustupa et al, 2009; Neustupa et al., 2011; Viscosi & Fortini, 2011).

Pro výpočet objemu z tvarů buněk je důraz kladen především na:

- co nejpřesnější zjednodušený tvar
- snadné měření
- využitelnost tvarové podobnosti druhů



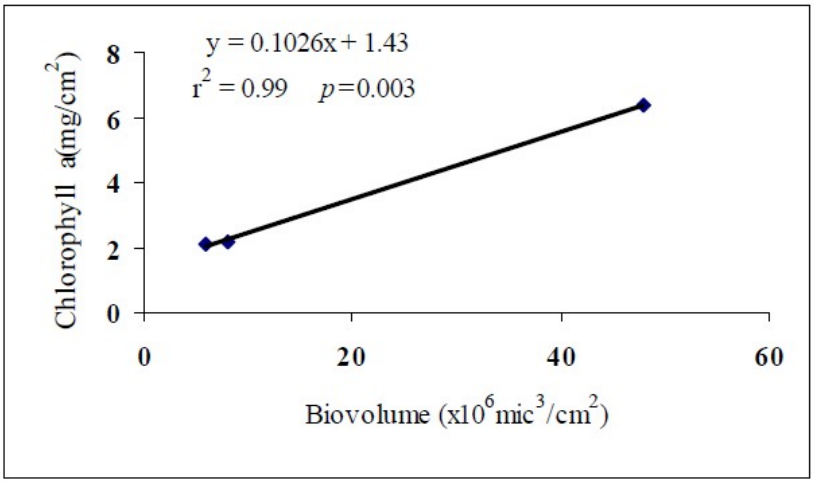
$$V \approx \frac{a \cdot b}{4} \cdot \left[a + \left(\frac{\pi}{4} - 1\right) \cdot b\right] \cdot \operatorname{asin}\left(\frac{c}{2a}\right)$$

$$A \approx \frac{b}{2} \cdot \left(2a + \pi \cdot a \cdot \operatorname{asin}\left(\frac{c}{2a}\right) + \left(\frac{\pi}{2} - 2\right) \cdot b\right)$$

Obr. č. 4 - Vzorec pro objem gomphonemoidu; Převzato z Sun & Liu (2003).

Pokud potřebujeme získat hodnotu pro střední velikost buňky určitého druhu, není ji vždy nutné počítat, jelikož průměrné velikosti buněk mnoha druhů jsou již publikovány (Morin et al., 2008).

Biomasu fotoautotrofních protist lze vyjádřit také pomocí měření množství přítomného chlorofylu *a* na jednotku objemu. Přestože toto pojetí nenese informaci o velikosti jednotlivých buněk, dobře vypovídá o celkové biomase (Köhler et al., 2005, Sharifi & Ghafori, 2005). Pro názornost uvádím graf (obr. č. 5), který ukazuje, že obsah chlorofylu *a* a celkový objem fototrofních buněk spolu signifikantně korelují.



Obr. č. 5 - Závislost koncentrace chlorofylu *a* a celkovým objemem rozsivek, převzato z Sharifi & Ghafori (2005)

2.4 Technické možnosti měření

Při měření můžeme použít vzorky živé, nebo fixované. Pozorují se pod mikroskopem volně na podložním sklíčku, na sklíčku s vyleptanou mřížkou, nebo v počítací komůrce (Hamilton et al., 2000). U rychle se pohybujících skupin můžeme využít možnost pořízení fotografie nebo videa a rozměry buněk měřit následně podle obrazové dokumentace. Tento záznam lze použít pro taxonomickou identifikaci i za účelem měření objemu pozorovaných buněk.

Fixace je možná kyselým Lugolovým roztokem o různé koncentraci nebo formaldehydem (Menden-Deuer et al., 2001). U rozsivkových preparátů je možné následně zvýšit rozlišení předem vypálených vzorků zalitím do Naphraxu ® (Delgado et al., 2011).

Existují i přístroje a programy, které jsou schopny určit různé parametry vloženého vzorku. Například pro určování objemu je možné použít Coulter Multisizer III (MIII) nebo Fluid Imaging Technologies, tzv. FlowCam (Jakobsen & Carstensen, 2011). Tyto nástroje představují alternativu k manuálnímu provedení, ale i zde je nutné provést ruční nastavení. Pokud je chceme využívat, musíme zvážit jejich relativní chybovost, finanční náročnost a dobu přípravy.

K práci se složitějšími tvary a povrchy v rámci morfometrického zpracování pak můžeme použít např. TPS-series software. Tento balíček programů není automatizován, vyžaduje manuální zpracování fotografií vzorku (Nemjová et al., 2011; Neustupa et al., 2011).

3. Řasy ve vztahu k podmínkám prostředí

Jednobuněčné řasy jsou považovány za kosmopolitně rozšířené druhy (Finlay, 2002), které lze využít pro biomonitoring. Například rozsivky jsou považovány za indikátory čistoty, respektive znečištění vod již od konce 19. století. Od dvacátých let 20. století se používají k analýze sedimentů za účelem zpětného monitoringu změn čistoty vod. Schránky rozsivek jsou také využívány pro paleontologické analýzy, jež napomáhají vědcům k utvoření představy o vývoji Země (Battarbee et al., 2001). Z tohoto důvodu je zajímavé položit si otázku, jak mohou řasy na podmínky reagovat a přizpůsobit se, které podmínky a jakým způsobem jejich život ovlivňují. Reakce na změnu podmínek může zahrnuje dvě možnosti odpovědi, buď se přizpůsobit se fyziologicky, nebo morfologicky.

Tato práce se věnuje především variantě druhé. Morfologickému přizpůsobení, které je možné chápat jako změnu velikosti nebo tvaru buňky v reakci na podmínky prostředí (koncentrace živin, světlo, teplota, pH, konduktivita a další).

3.1 Živiny

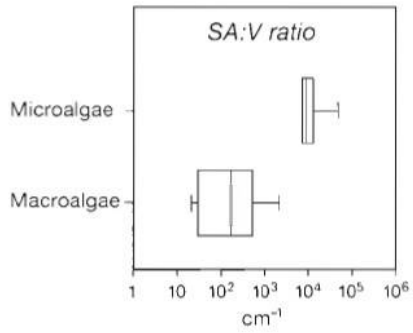
Ve vodním prostředí jsou živiny ve formě rozpuštěných látek. Pro život řas je určující množství rozpuštěných solí. Tyto látky se dostávají již do dešťové vody z atmosféry a dále se do vody uvolňují z půdních profilů, se kterými se dostává voda do kontaktu a také rozkladem těl mrtvých organismů. Pevninské vody ovlivňuje 5 hlavních faktorů: klima, geologie, topografie, biota a čas (Poulíčková, 2011).

Pro ekologické studie se nejčastěji měří koncentrace přítomného dusíku a fosforu, které jsou důležité pro všechny organismy. Některé organismy mají pak speciální nároky na přítomnost živin například z důvodu tvorby schránek. Takovým příkladem jsou studie rozsivek a zlativek s křemičitými schránkami a šupinami, kdy je také někdy měřena koncentrace křemíku. Jednotlivé živiny jsou v různých formách pro řasy rozdílně dostupné. Například dusík je pro řasy přímo využitelný ve formě dusičnanů, ale jen některé (např. *Euglena* spp., Euglenoidea) jsou schopny využívat amonné ionty (Grover, 1989; Hendry & Robinson, 2012; Morin et al., 2008; Noges et al., 2008; Poulíčková, 2011; Velho et al., 2005).

3.1.1 Efektivita využití živin

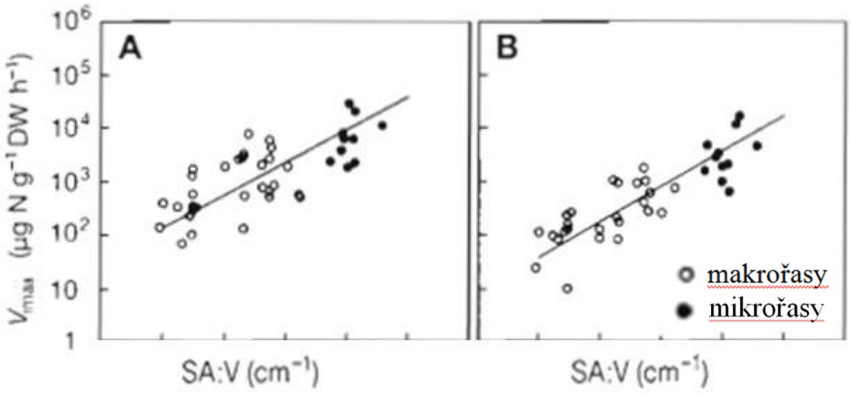
Ve studii Hein et al., z roku 1995 pozorovali schopnost vstřebávání dusíku z okolí mořských řas v závislosti na jejich relativním povrchu, vyjádřeném poměrem povrchu (SA-surface area)

k objemu (V-volume). Za účelem demonstrace rozdílu velikosti relativního povrchu rozdělili řasy na dvě skupiny podle jejich velikosti: mikrořasy a makrořasy (Obr. č. 6).



Obr. č. 6 - Relativní objem mikro- a makro-řas; převzato z Hein et al. (1995)

Nejdříve určili obsah dusíku v počátečním vzorku. Pro obě definované skupiny řas jeho množství vyjádřili jako množství v sušině. Následně vystavili mikrořasy i makrořasy prostředí s vysokým obsahem dusíkatých iontů a poté stejným způsobem změřili obsah dusíku. Z jejich výsledů jasně vyplývá, že relativní povrch řas (S/V) koreluje s jejich účinností využití živin z okolí (Obr. č. 7). Potvrzení tohoto zjištění můžeme najít v článku Atkinson et al. (2003).



Obr. č. 7 - Vztah rychlosti vstřebávání dusíku (V_{max}) a relativního povrchu (SA:V); upraveno podle Hein et al. (1995)

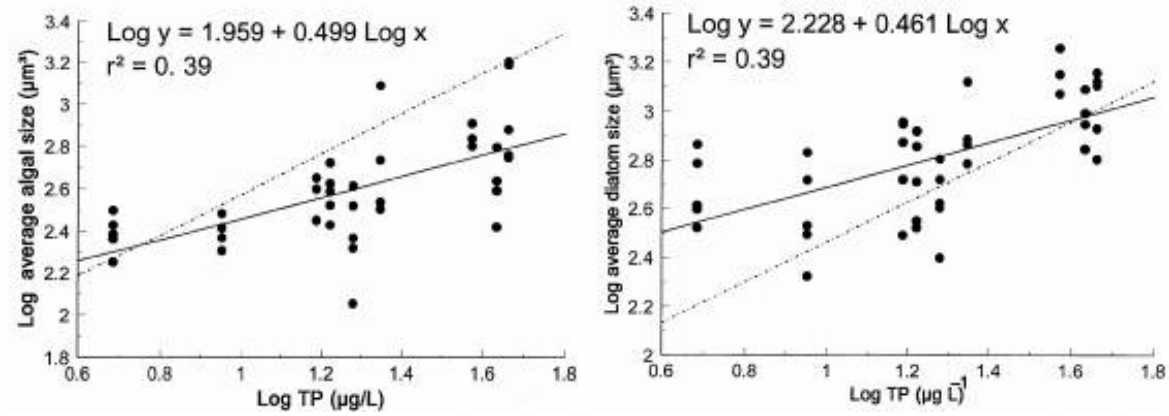
S tímto výsledkem souhlasí i pozdější studie fytoplanktonu i bentosu jezer, pramenů, tekoucích vod a oceánů, ačkoli tato problematika není jejich hlavním cílem (Cattenao et al., 1997; Finkel et al., 2009; Irwin at al., 2006; Passy et al., 2007).

3.1.2 Koncentrace živin

Primárním cílem studií vyjmenovaných na konci předešlého oddílu bylo zjistit, zda existuje závislost mezi množstvím dostupných živin a velikostí buněk. Živiny jsou jedním z nejčastěji měřených parametrů ve vztahu k hodnocení ekologického stavu vod. Častěji však bývají

vztaženy k biomase všech přítomných fotoautotrofních organismů v určitém objemu vody. Základní teorie říká, že jejich biomasa roste spolu s množstvím dostupných živin (Obr. č. 8).

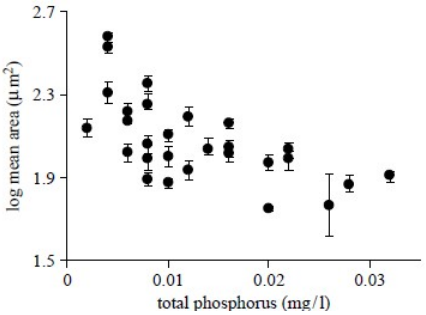
Tuto teorii matematicky namodeloval Irwin et al. (2006) a tento vztah se také podařilo signifikantně prokázat na perifytonu tekoucích vod v práci Cattaneo et al. (1997). Porter et al. (2008) se rozhodli zjistit, zda se budou perifytonní[5] společenstva tekoucích vod Ameriky velikostně signifikantně lišit ve vztahu k eutrofizaci[6] toků. V rámci své studie měřili i velikostní strukturu těchto společenstev, které se ukázaly být dobrým ukazatelem trofie[7] vody vyjádřené koncentrací dusíku a fosforu.



Obr. č. 8 - Vztah rozpuštěného fosforu a velikosti řas, respektive bentických rozsivek, převzato z Cattaneo et al. (1997)

V roce 2006 vyšla práce na bentických rozsivkách pramenů jižní Kanady, která prokázala nezávislost velikosti bentických rozsivek na koncentraci fosforu (Lavoie et al., 2006). Velikostí rozsivek se zabývali i Finkel et al. (2009). Tentokrát se jednalo o jezera severní Ameriky. Sledovali závislost velikosti na množství fosforu. Jejich výsledky nepotvrdily zjištění publikované ve studii Cattaneo et al. (1997). Vztah mezi měřeným množstvím fosforu a velikostí bentických rozsivek nebyl signifikantní. Planktonní rozsivky dokonce reagovaly na rostoucí koncentraci fosforu svou velikostí negativně (Obr. č. 9).

[5] Peryfyton označuje společenstva volně asociovaná k vodním rostlinám, méně specifické označení je biofilm (Poulíčková, 2011).
[6] Zvýšená koncentrace živin vody způsobené činností člověka, typicky hnojením polí a další hospodářskou činností. (Hindák et al., 1978).
[7] Trofie je vlastnost vody, která označuje množství ve vodě rozpuštěných, využitelných živin (Poulíčková, 2011).



Obr. č. 9 - Vztah rozpuštěného fosforu a velikosti planktonních rozsivek, převzato z Finkel et al.(2009)

O rok později byla publikována práce, která na základě vědeckých studií poukázala na nevhodnost používání velikostního rozložení bentického společenstva pro účely monitoringu trofie vod (Lavoie et al., 2010).

Takto výrazný rozdíl mezi výsledky Finkel et al. (2009) u planktonních rozsivek a Cattaneo et al. (1997) u bentických rozsivek se snaží vysvětlit hned několik hypotéz. Pro lepší pochopení si musíme nyní uvědomit rozdíl mezi životem ve vodním sloupci a na dně.

Teorie omezení velikosti klesáním

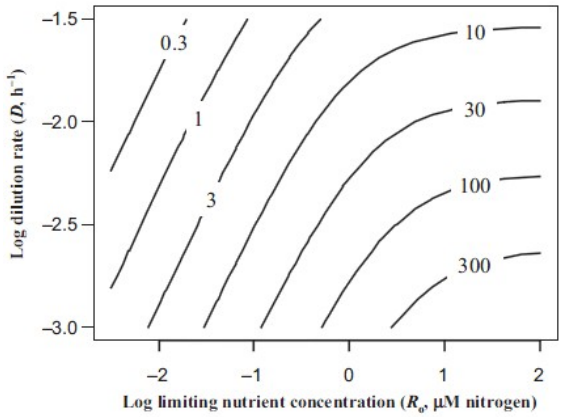
Zásadní rozdíl mezi planktonem a bentosem je dán prostředím, ve kterém žijí. Jelikož plankton se vznáší volně ve vodním sloupci, je velký objem buňky a tím pádem i vysoká hmotnost na obtíž. Větší buňka se vodním sloupcem rychleji propadá. Tím vzniká větší pravděpodobnost, že se dostane z eufotické zóny[8] a pokud ji proudění nevynese zpět k hladině, přijde o světelný zdroj energie. Mixotrofní organismy mohou nedostatek světelné energie částečně nahradit, ale čistě fotoautotrofní řasy za těchto okolností zahynou. Tak dochází k limitaci růstu planktonních organismů shora (Irwin et al, 2006). Bentické organismy oproti tomu žijí na dně, a proto klesání způsobené nadměrnou velikostí pro ně limitující pravděpodobně není.

Jednobuněčné organismy, které se chtějí nadměrnému klesání vyhnout, ale zároveň si zachovat velký objem, mohou snížit svou propadovou rychlost zvětšením své relativní plochy (poměr S/V), buď utvořením povrchových výběžků, nebo naopak vznikem zářezů (Padisák et al., 2003). Tato přizpůsobení jsou druhově specifická (Neustupa & Škaloud, 2007).

[8] Eufotická zóna je svrchní vrstva vody, kde jsou fototrofní organismy schopny fotosyntézy (pod eufotickou zónou se nachází afotická zóna, ve které již dostatek světla pro fotosyntézu není), (Hindák et al., 1978).

Model omezení velikosti klesáním ve vodním sloupci tedy platí jen pro plankton a počítá s tendencí růstu při dostatku živin. Říká, že se buňky planktonu budou s rostoucí dostupností živin zvětšovat přesně do doby, než by je jejich váha stáhla pod úroveň eufotické zóny (Obr. č. 10).

V souladu s teorií o omezení klesání a teorií Mette Heina (1995) může být tento jev způsoben také rychlým množením a malou investicí do růstu jednotlivců (Atkinson et al., 2003).



Obr. č. 10 - Maximální průměr buňky (µm) jako funkce log10 limitující živiny - dusíku (µM dusíku) a log10 rychlosti klesání (h-1), převzato z Irwin et al. (2006)

Teorie omezení distribuce živin

Bentická společenstva mají podle studie Sophie Passy (2008) ve spodních vrstvách druhy menší a ve svrchních vrstvách druhy větší kvůli různé dostupnosti živin z vody. Jak jsme si již dříve deklarovali, menší druhy živiny efektivněji vstřebávají, a proto jsou schopny žít i v relativním nedostatku oproti větším druhům. Svrchní vrstvy také lépe odpovídají na podmínky prostředí, protože jsou v bližším kontaktu s vodou.

3.1.3 Konduktivita

Vodivost vody neboli konduktivita, je lineárně závislá na množství rozpuštěných iontů (Leira & Sabater, 2005; Potapova & Charles, 2003). Tento fakt se potvrzuje i ve studiích zabývajících se složením odpadních vod. Morin et al. (2008) detekovali nárůst konduktivity v místech výpustí odpadních vod z lomů způsobený vyluhováním při těžbě. Konduktivita roste společně s množstvím živin směrem od pramene po proudu, což je způsobeno částečně uvolňováním iontů ze substrátu, ale hlavně splachy z okolní krajiny. Podle prostředí, kterým voda protéká, se nárůst konduktivity liší. Jmenovitě ji zvyšují splachy z hnojených polí, nebo

hustě obydlených oblastí. Nízká naopak zůstává na kamenitém podloží v člověkem méně narušených oblastech, typicky v horách (Leira & Sabater, 2005).

Podle studie Leira & Sabater (2005) se konduktivita mezi ekologickými charakteristikami prostředí projevila jako nejlepší ukazatel druhového složení rozsivek tekoucích vod. Tato skutečnost je vysvětlována preferencí jednotlivých druhů rozsivek k různým hodnotám vodivosti. Ke stejným výsledkům došli také Potapova & Charles (2003), kteří zpracovali obsáhlý dataset vzorků z celých Spojených států amerických.

Potapova & Charles (2003) ve své studii dále uvádějí, že druhové složení rozsivek je také ovlivněno koncentrací jednotlivých iontů, které jsou ve vodě rozpuštěné. Ukázala se preference jednotlivých druhů podle škály složení vod, kde na jedné straně je iontové složení dominováno vápenatými ionty a deriváty kyseliny uhličité. Na straně druhé jsou sodné, draselné a chloridové ionty. V jejich studii můžeme proto pro jednotlivé druhy rozsivek najít hodnoty konduktivity, ve kterých se vyskytují a současně i údaje o koncentraci iontů v daných lokalitách (Obr. č. 11).

		Conductivity ($\mu S\ cm^{-1}$)			Anion optima (meq L^{-1})			Cation optima (meq L^{-1})				Anion optima (% eq)			Cation optima (% eq)				
Taxon name	Code	Opt.	Low	High	HCO_3 $+CO_3$	Cl	SO_4	Ca	Mg	Na	K	HCO_3 $+CO_3$	Cl	SO_4	Ca	Mg	Na	K	N occ.
Brachysira brebissonii Ross		40	21	76	0.16*	0.05*	0.05*	0.13*	0.08*	0.07*	0.01*	54	24	21	44	24	27	4.7	48
Eunotia tenella (Grun.) A. Cl.		48	23	100	0.17*	0.09*	0.04*	0.17*	0.08*	0.12*	0.02*	53	33	15	41	21	32	5.8	74
Frustulia saxonica Rab.	FSsax	50	26	97	0.17*	0.12	0.04*	0.12*	0.09*	0.15*	0.02*	50	38	13	32*	23	38**	6.7**	39
Eunotia bilunaris var. *mucophila* L.-B. & Nör.	EUbilmuc	66	35	125	0.13*	0.16	0.08	0.19*	0.13*	0.16	0.03	33*	41**	25	37*	24	32	6.8**	29
Eunotia rhomboidea Hust.	EUrhomb	66	34	127	0.11*	0.17	0.07*	0.18*	0.12*	0.16	0.04	32*	44**	24	36*	24	33	7.8**	75
Stauroneis livingstonii Reimer	SSliving	67	38	117	0.16*	0.15	0.03*	0.19*	0.14*	0.17	0.03	43	46**	12	36*	25	32	6.8**	30
Stenopterobia delicatissima (Lewis) Bréb.	SNdelic	68	33	143	0.10*	0.16	0.11	0.20*	0.13*	0.16	0.03	29*	39**	31**	37*	24	32	7.1**	34

Obr. č. 11 - Optimální hodnoty konduktivity a iontového složení vody pro výskyt určitých druhů rozsivek, upraveno podle Potapova & Charles (2003)

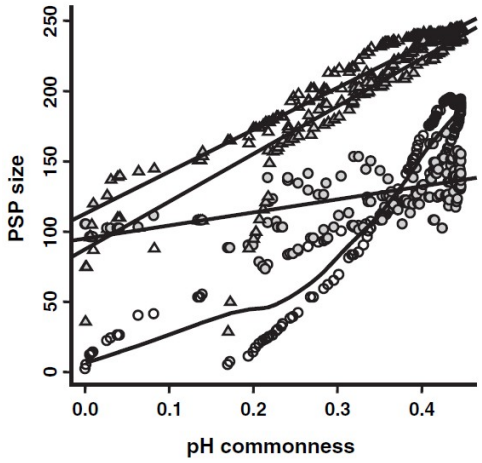
3.2 pH

Kyselost, respektive zásaditost vody se určuje pomocí pH. Vyjadřuje poměr mezi zásaditou a kyselou reakci vody. Definované je pH jako záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů v litru vzorcem $pH = -\log [H^+]$. Jeho jednotkou je $mol.l^{-1}$. V čisté neutrální vodě je pH 7, neboli obsahuje 10^{-7} $mol.l^{-1}$ disociovaných H^+. Stupnice pH vyjadřuje hodnoty od kyselé, pH=1, až po zásaditou, kde pH=14. Hodnota pH může být také určována rovnovážnými stavy mezi kyselinou uhličitou a jejími solemi, nebo volným oxidem uhličitým a hydrogenuhličitanem (Lellák & Kubíček, 1992).

pH vody patří mezi nejvýznamnější ekologické faktory, protože jeho hodnota ovlivňuje využitelnost přítomných zdrojů pro jednotlivé druhy řas. Koncentrace vodíkových iontů

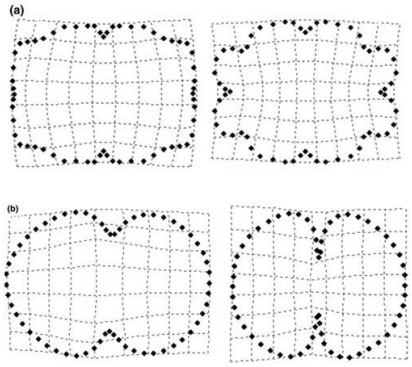
určuje rozpustnost a disociaci přítomných sloučenin (Hindák et al., 1978). Obecně můžeme říci, že pH vody je pozitivně korelováno s přítomností živin a konduktivitou (Wunsam et al., 2002). Z tohoto faktu vyplývá, že stejně jako množství živin a konduktivita (viz kapitola 4.1.2.3 Konduktivita) roste směrem po proudu a jeho hodnoty jsou obecně vyšší ve znečištěném prostředí. Hodnota pH kolísá také v průběhu dne, protože fotoautotrofní organismy při fotosyntéze využívají volný oxid uhličitý a tím pH dočasně zvyšují (Lellák & Kubíček, 1992).

Jednotlivé druhy se vyskytují typicky v prostředí o určité hodnotě pH, proto je pH vody signifikantním ukazatelem druhového složení řasového společenstva, je také prokázáno, že více druhů je tolerantních k pH středních hodnot, než k pH nízkému, proto v tomto rozmezí s rostoucím pH stoupá druhová rozmanitost (Obr. č. 12) (Pither & Aarsen, 2005).



Obr. č. 12 – Závislost druhové bohatosti (PPS) na pH, upraveno podle Pither & Aarsen (2005)

Autotrofní protista mají různé strategie morfologického přizpůsobení na kyselost respektive zásaditost prostředí. Ve studii Černá & Neustupa (2010), která se věnuje dvěma druhům krásivek různých rodů, uvádí hned několik morfologických přizpůsobení. Obecně se dá říci, že se s klesajícím pH snižuje relativní povrch buňky (S/V), každý z pozorovaných druhů tohoto výsledku ale dosahuje jiným způsobem. *Euastrum binale* var. *gutwinskii* má při klesajícím pH stále plošší buněčné zářezy, ale rozměrová velikost jeho buňky se co do maximálních rozměrů šířky, délky ani hloubky významně nemění. Změna hloubky zářezů obstará dostatečný pokles poměru S/V. *Staurastrum hirsutum* naopak ke stejnému cíli v reakci na rostoucí kyselost využívá zvětšování buněk. Dochází také ke změně proporcí jeho buněk, které jsou v kyselejším prostředí více kulovité (Obr. č. 13).

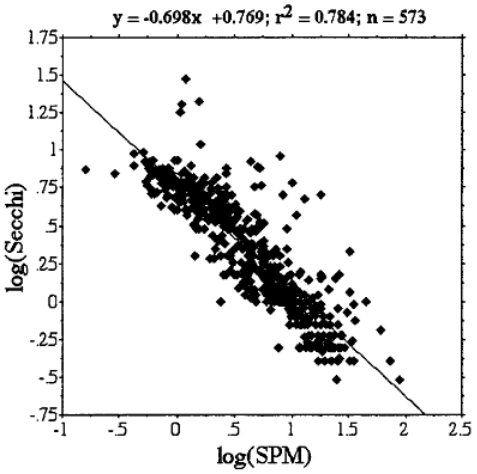


Obr. č. 13 – Vlevo je tvar buňky v kyselejším a vpravo v méně kyselém prostředí pro a) *Euastrum binale* var. *gutwinskii* a b) *Staurastrum hirsutum*, upraveno podle Černá & Neustupa (2010)

3.3 Světlo

S přibývající hloubkou dostupnost světla klesá, neboť světlo je pohlcováno přítomnými fototrofními organismy a stíněno suspendovanými částicemi. V literatuře týkající se vztahu světla a vodních organismů je jako vhodné měřítko průhlednosti používána Secchiho deska[9]. Vhodnou variantou je i z důvodu, že odráží znečištění vody vířením materiálu ode dna (turbiditu) i vegetační zákaly (Obr. č. 14), (Felip & Catalan, 2000, Håkanson & Boulion, 2003). Protože průhlednost vody odráží i zakalení vody, lze podle ní porovnávat její mechanickou čistotu (Swift et al., 2006). Strategie a přizpůsobení dostupnosti světla se u jednotlivých společenstev liší.

[9] Deska o průměru 25 cm, rozdělená na 4 kvadranty, které se střídají černý s bílým, ve středu je zavěšena na kalibrovaný provázek, používá se k měření průhlednosti vody (Poulíčková, 2011).



Obr. č. 14 - Vztah mezi Secchiho hloubkou (m) a koncentrací suspendovaných částic (SPM v mg/l), převzato z Håkanson & Boulion (2003)

Množství světla můžeme přímo měřit v určité hloubce také pomocí složitějších přístrojů. Ve studii Pillsbury et al. (2002) měřili množství světla v pěti metrech senzorem LiCor Li-193SA určeným k použití pod vodou a také Secchiho deskou. Výsledky obou těchto měření jsou konzistentní.

3.3.1 Plankton

Vycházejme z hypotézy o propadu vodním sloupcem uvedené v kapitole **3.1.2**, která říká, že eutrofizace může u planktonu vést k preferenci menších buněk z důvodu kompetice o světlo.

Tento model vysvětluje na témže místě uvedené rozdílné výsledky pokusů Finkel et al (2009), Cattaneo et al. (1997) a Lavoie et al. (2006), jejichž cílem je nalezení závislosti mezi velikostí buněk a přítomností živin, zejména dusíkem a fosforem. V Cattaneo et al. (1997) se ukazuje signifikantní pozitivní vztah mezi zvětšováním bentických rozsivek s přibývajícím množstvím živin. V Lavoie et al. (2006) a Finkel et al. (2009) není u bentických rozsivek prokázán signifikantní vztah a ve studii Finkel et al. (2009) se u planktonních rozsivek buňky dokonce s rostoucím množstvím živin zmenšují. Jak bylo již uvedeno v předchozím textu, místo živin se může stát limitujícím faktorem zdroj světla. Pokud dojde k přílišné eutrofizaci vody, zvýší se množství suspendovaných částic (biomasy), tím dochází ke ztenčení eufotické zóny a začnou být preferovány menší buňky. V takovém případě může nastat kruhový efekt, a pokud eutrofizace dále narůstá, nebo obecně roste zakalení, může dojít k plynulé preferenci menších buněk a to navzdory trendu, který předpokládá teorie propadu vodním sloupcem při limitaci živinami (Winder et al., 2008).

3.3.2 Bentos

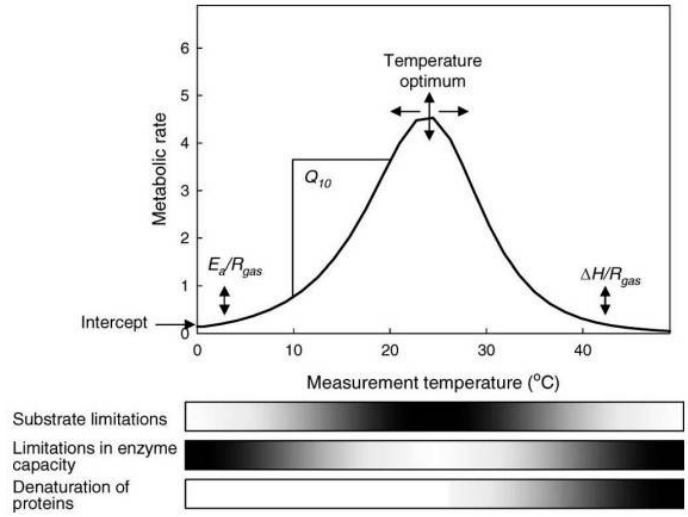
Bentické organismy nemohou v letním období, kdy je typicky větší vegetační zákal vody spoléhat na stálý dostatek světla. Organismy, které žijí ve vyšších hladinách vody, mohou zvýšit své abundance a tím bentos zastínit. V publikaci Pillsbury et al. (2002), studovali vliv světla a predátora slávičky mnohotvárné (*Dreissena polymorpha*) na společenstvo rozsivek v Huronském jezeře. Ukázalo se, že rozsivky mají nižší světelné nároky než planktonní organismy, nebo vláknité řasy. Pokud ostatní organismy nejsou limitovány živinami, rozrostou se právě v období, kdy je dostatek světla (v této studii 215.3 μmol m^{-2} s^{-1}). Rozsivky se tím ocitnou v ještě větším světelném nedostatku, a ačkoli jsou rozsivky mixotrofní, důsledkem je útlum jejich růstu. Menší vzrůst je pro rozsivku v tomto případě výhodnější, protože čím je buňka menší, tím se obsah chlorofylu na jednotku objemu zvyšuje a tak je rozsivka schopna ve vztahu ke své velikosti efektivněji využívat sluneční záření. Ze stejného důvodu jsou malé formy odolnější k nedostatku světla (Staehr et al., 2006; Hill et al., 2011).

Pokud je nižší intenzita světla (98.5 μmol m^{-2} s^{-1}), nedochází k vegetačnímu boomu ostatních společenstev a na bentické rozsivkové společenstvo zbude relativně více světla. V takovém období se rozrůstá a je dominantním společenstvem s většími jedinci. V takto příznivých podmínkách dochází ke zvýšení abundancí rozsivek. Tyto rozsivky dokonce nemusí žít trvale u dna a invadují i do planktonu. Většina jich ale stále zůstává přisedlá. (Pillsbury et al., 2002).

3.4 Teplota

3.4.1 Teplotní optimum

Každý organismus je přizpůsoben životu v určitých podmínkách a má své teplotní optimum (Atkinson et al., 2003). Teplotní optimum, jak ukazuje obrázek č. 15, označuje interval teplot, kdy tělo organismu dosahuje nejvyšší možné rychlosti metabolismu (produkce ATP a uhlovodíků). U fotoautotrofních organismů také nejúčinnější fotosyntézy. Interval teplotního optima je z jedné strany ohraničen kapacitou enzymů, která je v chladnějším prostředí menší. Stejné omezení způsobuje i nadměrná teplota, která navíc způsobuje denaturaci buněčných proteinů. V teplotním optimu může být rychlost metabolismu limitována jedině dostupností zdrojů. (Staehr et al., 2006).



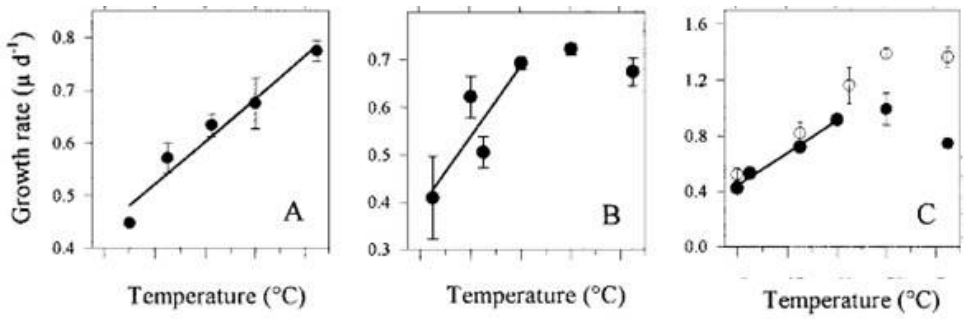
Obr. č. 15 - Závislost rychlosti metabolismu na teplotě; převzato z Staehr et al. (2006).

3.4.2 Růstová rychlost

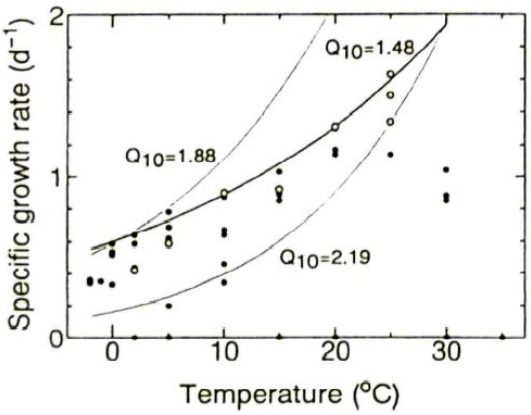
S metabolickou rychlostí je korelovaná růstová rychlost. Růstová rychlost označuje rychlost růstu populace. Je důležitou vlastností, která ovlivňuje konkurenceschopnost populace. Čím se populace rychleji množí, tím roste její šance získat pro sebe větší část niky a s ní souvisejících zdrojů (Atkinson et al., 2003).

Některé studie ukazují, že vztah růstové a metabolické rychlosti je lineární (Obr. č. 16) (Montagnes & Franklin, 2001), častěji se ale potvrzuje vztah exponenciální (Obr. č. 17) (Staerth et al., 2006; Suzuki & Takahashi, 1995). Exponenciální růst je popisován tzv. Q_{10} pravidlem, podle kterého se růstová rychlost zdvojnásobí, když teplota vzroste o 10 stupňů Celsia (Raven & Geider, 1988). V recentních výzkumech, které jsou potvrzením exponenciálních vztahů, je Q_{10} teplota vypočítávána z experimentálních měření. Takovým příkladem je například studie Staerth et al. (2006), kde určili hodnotu Q_{10} pro *Scenesesms acutus* (Chroococcales), kultivovaný v teplotách od 5 do 25 stupňů, rovnou číslu 1,9. Zda se jedná o lineární nebo exponenciální změny metabolické rychlosti v reakci na změnu teploty je pravděpodobně druhově specifické (Montagnes & Franklin, 2001).

Atkinson et al. (2003) dále uvádí, že korelace růstové rychlosti s teplotními optimy může být příčinou sezónního kolísání velikosti populací. Každý druh má vlastní teplotní optimum a z toho důvodu se může poměr jednotlivých přítomných druhů v čase podle teploty měnit.



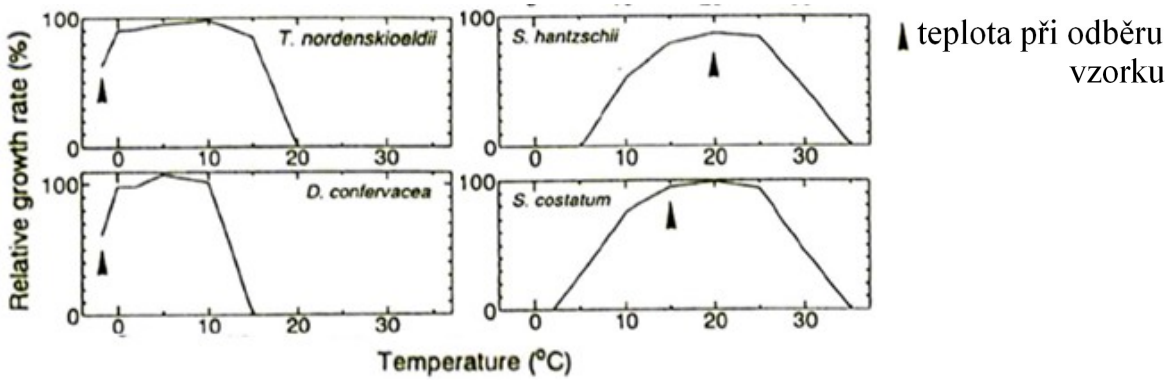
Obr. č. 16 - Lineární vztah mezi teplotou a růstovou rychlostí u rozsivek, převzato z Montagnes & Franklin (2001).



Obr. č. 17 - Vztah růstové rychlosti a teploty pro osm druhů rozsivek, podle Suzuki & Takahashi (1995)

Růstová rychlost sladkovodních ani mořských jednobuněčných řas neroste do nekonečna, plynule se zvyšuje, dokud nedosáhne růstového optima, poté začne prudce klesat. Růstové optimum je posunuto blíže k maximální teplotě, kterou je organismus schopen vydržet a ve které se běžně nevyskytuje, než k teplotě minimální, viz obr. č. 18 (De Boer et al., 2005; Suzuki & Takahashi, 1995).

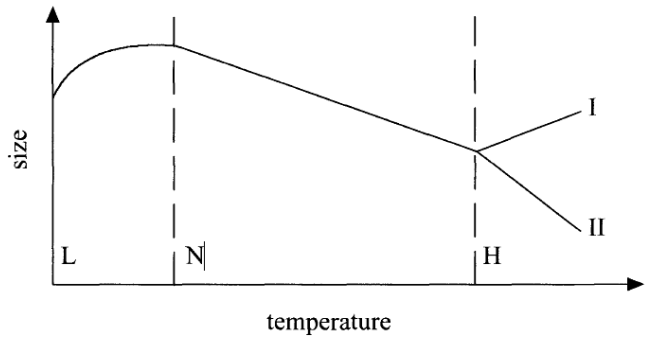
Teploty nad růstovým optimem způsobují stres, který se projevuje zvýšenou chybovostí při vývoji a nárůstu tvarově poškozených forem. Na příkladu *Micrasterias rotata* (Desmidiales), který je pro svou symetricky laločnatou buňku často využíván k morfometrickým analýzám, byla tato závislost prokázána (Neustupa et al., 2008).



Obr. č. 18 - Závislost růstové rychlosti 4 druhů rozsivek na teplotě; upraveno podle Suzuki & Takahashi (1995)

3.4.3 Teplotně-velikostní pravidlo

Podle Staerth et al. (2006) velikost jednobuněčných řas i dalších protistních organismů s přibývající teplotou lineárně klesá, na tuto studii navázali David Atkinson et al. (2003), jejichž výsledky ukazují, viz obr. č. 19, že u ektotermních organismů, tedy i jednobuněčných řas, dochází s rostoucí teplotou v teplotně optimálních podmínkách k lineárnímu zmenšování těla. V extrémních teplotách tomu tak být nemusí. Pokud jsou teploty extrémně nízké, nastává preference většího vzrůstu. V teplotách přesahujících horní hranici optima může dojít k poklesu nebo nárůstu velikosti, což je pravděpodobně druhově specifické.



Obr. č. 19 - Závislost velikosti těla na teplotě, Atkinson et al. (2003)

Popsaná preference buněk zmenšovat se s rostoucí teplotou je vysvětlována třemi teoriemi. O všech se zmiňuji již v předchozích kapitolách. První teorie říká, že je růst omezen klesáním a dostupností zdrojů, na které jsou se zrychlujícím se metabolismem stále větší nároky. Menší buňka je schopna vstřebat relativně více ve vztahu ke svému objemu (Atkinson et al., 1997; Hein et al., 1995). Druhá teorie popisuje preferenci investice do množení na úkor růstu jednotlivců. Smyslem takového jednání je snaha obsadit co nejrychleji co největší část dostupné niky (Atkinson et al., 2003). Třetí teorie popisuje výhodu menších rozměrů při

propadu vodním sloupcem. Protože viskozita vody s přibývající teplotou klesá, roste rychlost propadu buněk a tím i limitace jejich velikosti (Montagnes & Franklin, 2001).

3.4.4 Aklimace

Zajímavá je také otázka schopnosti aklimace na změnu teploty. Staerth et al. (2006) ve své studii sledovali schopnost aklimace druhů *Microcystis aeruginosa* (Cyanobakteriales) a *Scenesesms acutus* (Chroococcales) při inkubaci v různých teplotách. Oba druhy byly pěstovány v kontinuálních kulturách po dobu dvou týdnů, při 5, 15 a 25 stupních Celsia. Výsledky této studie ukazují, že oba pozorované druhy jsou schopny aklimace, přičemž odpověď na zvyšující se teplotu je u *M. aeruginosa* i *S. acutus* stejná. S rostoucí teplotou se zvyšuje optimální teplota a rychlost fotosyntézy i metabolismu, roste množství pigmentu v buňkách. Klesá naopak velikost buněk a respirace.

Možným vysvětlením omezení velikosti buněk je rostoucí teplotou způsobené zvýšení nároků na množství živin, které organizmus při rychlejším metabolismu zpracovává. Aby snížil zbytečné metabolické výdaje, snaží minimalizovat svůj relativní povrch (S/V). Alternativní teorie říká, že tento jev může být způsoben také rychlým množením a malou investicí do růstu jednotlivých buněk (obě teorie podle Atkinson et al., 2003).

3.5 Přítomnost predátorů

Přítomnost predátorů může být také limitujícím faktorem velikosti fotoautotrofních protist, jelikož účinně reguluje populace kořisti (Usup et al., 2012).

Ve studii Pillsbury et al. (2002) sledovali efekt invaze mušle slávičky mnohotvárné (*Dreissena polymorpha*) na planktonní a bentické společenstvo v Sagynawském zálivu Huronského jezera. Rok před invazí slávičky bylo společenstvo dominováno velkými bentickými rozsivkami, které nežijí jen přisedle, ale často se uvolňují i do planktonu. Po invazi mušle se jejich počet po dva roky snižoval, až prakticky velké rozsivky v planktonu vymizely a zůstaly jen ty, které byly pevně přichycené k substrátu. Vlivem invaze bylo utlumené rozsivkové společenstvo přerůstané vláknitými řasami, které slávičky neumí zpracovat. Predace velkých planktonních druhů také uvolnila niku dalším druhům, které slávičky nejsou schopny zpracovat. V případě této studie docházelo k přemnožení toxické sinice rodu *Microcystis*. V následujícím pátém roce se situace vrátila k původní dominanci bentických rozsivek, pravděpodobně to bylo způsobeno regulací populace sláviček nestravitelností a toxiny *Microcystis*. Dochází tak k ustavení nové rovnováhy, ale

společenstvo před a po invazi se zásadně liší. Před invazí byly dominantní rozsivky, které se snadno uvolňovaly do vodního sloupce, ale v nástupnickém společenstvu se prosazují jen menší rozsivky, které jsou pevně přisedlé k substrátu.

4. Závěr

Pro fotoautotrofní protistní společenstva je důležité, v jakém prostředí se nacházejí a jak jsou schopny se danému prostředí přizpůsobit. Podle množství dostupných živin můžeme u těchto organismů pozorovat změny poměru povrchu k objemu; čím je tento poměr větší, tím je vyšší také efektivita vstřebávání živin z vody na jednotku objemu (Hein et al., 1995; Potapova & Charles, 2003).

Stejně jako množství živin ve vodě je důležité pro život fotoautotrofních protist i pH, neboť jeho hodnota určuje dostupnost přítomných iontů pro organismy (Hindák et al., 1978). Čím je pH nižší, tím častěji se vyskytují nerozpustné formy látek, které jsou pro řasy nevyužitelné, proto s klesajícím pH klesá počet přítomných druhů a velikost společenstva (Pither & Aarsen, 2005). U dvou druhů různých rodů krásivek bylo experimentálně zjištěno, že s klesajícím pH klesá relativní povrch buňky a to buď prohloubením zářezů buňky, nebo jejím růstem (Černá & Neustupa, 2010).

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím velikost fotoautotrofních protist je dostupnost světla, která společenstva velikostně limituje, protože způsobuje nárůst biomasy a tím zmenšení eufotické zóny, které má za následek preferenci menších buněk v planktonním společenstvu z důvodu omezení propadu vodním sloupcem. Zmenšení buněk může působit i u bentického společenstva z důvodu jeho zástinu ostatními rozrůstajícími se společenstvy vyšších hladin vody, pokud však k zástinu nedojde, budou se bentické řasy s přibývajícím světlem zvětšovat (Pillsbury et al., 2002; Staehr et al., 2006; Hill et al., 2011).

Fotoautotrofní protista ovlivňuje také teplota. Každý druh má své teplotní optimum, ve kterém jeho metabolismus a fotosyntéza nejrychleji pracují. V optimálních teplotních podmínkách dochází ke zmenšování buňky z důvodu zvětšení relativního povrchu a tím relativní snížení poměru výdeje přijatých živin na funkce metabolismu. V extrémně nízkých teplotách dochází naopak ke zvětšování buňky a v extrémně vysokých teplotách dochází k druhově specifickému zmenšení nebo zvětšení buňky (Atkinson et al., 2003).

Posledním zde zmíněným faktorem je přítomnost predátorů, která shora limituje velikost pozorovaného společenstva (Usup et al., 2012).

Planktonní i bentická společenstva fotoautotrofních protist jsou komplexní přírodní systém regulovaný mnoha faktory, které se mezi sebou navzájem ovlivňují. Abychom se mu naučili dobře rozumět a mohli ho smysluplně studovat, je nutné vědět a správně volit, které vlastnosti prostředí sledovaný jev ovlivňují a jak jsou mezi sebou vzájemně provázané.

5. Použitá literatura

Adl S. M., Simpson A. G. B., Farmer M. A., Andersen R. A., Anderson O. R., Barta J. R., Bowser S. S., Brugerolle G., Fensome R. A., Fredericq S., James T. Y., Karpov S., Kugrens P., Krug J., Lane Ch. E., Lewis L. A., Lodge J., Lynn D. H., Mann D. G., McCourt R. M., Mendoza L., Moestrup Ø., Mozley-Standridge S. E., Nerad T. A., Shearer C. A., Smirnov A. V., Spiegel F. W. & Taylor M. F. J. R. (2005): The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. – *J. Eukaryot. Microbiol*. 52(5): 399-451.

Atkinson D., Ciotti B. J. & Montagnes D. J. S. (2003): Protists decrease in size linearly with temperature: ca. 2.5% $^{\circ}C^{-1}$. – *Proceedings of the Royal Society* 270(1533): 2605-2611.

Battarbee R. W., Jones V. J., Flower R. J., Cameron R. G., Bennion H., Carvalho L. & Juggins S. (2001): Diatoms In: Birks H. J. B., Eds Smol J. P. & Last W. M. (eds).– *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol.3: Terrestrial, Algal and Siliceous Indicators*: 155-202, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Cattaneo A., Kerimian T., Roberge M. & Marty J. (1997): Periphyton distribution and abundance on substrata of different size along a gradient of stream trophy. – *Hydrobiologia* 354: 101–110.

Černá K. & Neustupa J. (2010): The pH-related morphological variations of two acidophilic species of Desmidiales (Viridiplantae) isolated from a lowland peat bog, Czech Republic.– *Aquat Ecol* 44: 409–419.

De Boer M. K., Koolmees E. M., Vrieling E. G., Breeman A. M. & Van Rijssel M. (2005): Temperature responses of free Fibrocapsa japonika strains (Raphidophycae) from different chmate regions.– *Journal of Plankton Research* 27(1): 47–60.

Delgado C., Pardo I. & Garcia L. (2012): Diatom communities as indicators of ecological status in Mediterranean temporary streams (Balearic Islands, Spain). – *Ecological Indicators* 15: 131-139.

Felip M. & Catalan J. (2000): The relationship between phytoplankton biovolume and chlorophyll in a deep oligotrophic lake: decoupling in their spatial and temporal maxima. – *Journal of Plankton Research* 22(1): 91-105.

Finkel Z. V., Vaillancourt C. J., Irwin A. J., Reavie E. D. & Smol J. P. (2009): Environmental control of diatom community size structure varies across aquatic ecosystems. – *Proceedings of the Royal Society b-biological sciences* 276: 1627-1634.

Finlay B. J. (2002): Global Dispersal of Free-Living Microbial Eukaryote Species. – *Science* 296: 1061.

Franklin D. J., Steinke M., Young J., Probert I. & Malin G. (2010): Dimethylsulphoniopropionate (DMSP), DMSPlyase activity (DLA) and dimethylsulphide (DMS)in 10 species of coccolithophore. – *Marine Ecology Progress Series* 410: 13-23 .

Grover J. P. (1989): Effects of Si : P supply ratio, supply variability, and selective grazing in the plankton: An experiment with a natural algal and protistan assemblage.– *Limnol. Oceanogr.* 34(2): 349-367.

Hamilton P.B., Proulx M. & Earle C. (2001): Enumerating phytoplankton with an upright compound microscope using a modified settling chamber. – *Hydrobiologia* 444: 171–175.

Håkanson L. & Boulion V. V. (2003): A Model to Predict How Individual Factors Influence Secchi Depth Variations among and within Lakes. – *Internat. Rev. Hydrobiol.* 88: 212-232.

Hein M., Pedersen M. F. & Sand-Jensen K. (1995): Size-dependent nitrogen uptake in micro- and macroalgae. – *Marine Ecology Progress Series* 118: 247-253.

Hendry K. R. & Robinson L. F. (2012): The relationship between silicon isotope fractionation in sponges and silicic acid concentration: Modern and core-top studies of biogenic opal.– *Geochimica et Cosmochimica Acta* 81: 1-12.

Hillebrand H., Dürselen C.-D., Kirschtel D., Pollingher U. & Zohary T. (1999): Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. – *J. Phycol.* 35, 403–424.

Hill W. R., Rinchard J. & Czesny S. (2011): Light, nutrients and the fatty acid composition of stream perifyton. – *Freshwater Biology* 56: 1825-1836.

Hindák F., Cyrus Z., Marvan P., Javornický P., Komárek J., Ettl H., Rosa K., Sládečková A., Popovský J., Punčochářová M. & Lhotský O. (1978): Biologické rozbory

druhového složenia biocenóz .In: Hindák F. (edt) *Sladkovodné riasy* kap.3.2 : 111-132, Slovenské pedagogické nakladatelstvo, Bratislava.

Irwin J. A., Finkel Z. V., Schofield O. M. E. Falkowski P. G. (2006): Scaling-up from nutrient fysiology to the size-structure of fytoplankton communities. – *Journal of Plankton Research* 28: 459-471.

Jakobsen H. H. & Carstensen J. (2011): FlowCAM: Sizing cells and understanding the impact of size distributions on biovolume of planktonic community structure. – *Aquat Microb Ecol* 65: 75–87.

Köhler J., Hilt S., Adrian R., Nicklisch A., Kozerski H. P. & WALZ N. (2005): Long-term response of a shallow, moderately flushed lake to reduced external phosphorus and nitrogen loading. – *Freshwater Biology* 50: 1639–1650.

Krammer K. & Lange-Bertalot H. (1986-1991): Bacillariophyceae 1-4. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds) *Süsswasserflora von Mitteleuropa*, vol. 2/1-4, G. Fischer, Stuttgart and New York.

Lavoie I., Campeau S., Fallu M.-A. & Dillon P. J. (2006): Diatoms and biomonitoring: should cell size be accounted for?. – *Hydrobiologia* 573: 1–16.

Lavoie I., Lento J. & Morin A. (2010): Inadequacy of size distributions of stream benthic diatoms for environmental monitoring. – *Journal of the North American Benthological Society* 29(2): 586-601.

Leira M. & Sabater S. (2005): Diatom assemblges distribution in catalan rivers, NE Spain, in relation to chemici and physiographical factors. – *Water Research* 39: 73-82.

Lellák J. & Kubíček F. (1992): Malý K. (edt) *Hydrobiologie.* kap. 5: 17-31, Karolinum, Praha.

Menden-Deuer S., Lessard E. J. & Satterberg J. (2001): Effect of preservation on dinoflagellate and diatom cell volume and consequences for carbon biomass predictions. – *Marine Ecology Progress Series* 222: 41-50.

Montagnes D. J. S., Berges J. A., Harrison P. J. & Taylor F. J. R. (1994): Estimating carbon nitrogen protein and chlorophyll a from volume in marine phytoplankton. – *Limnol. Oceanogr.* 39(5): 1044-1060.

Montagnes D. J. S. & Franklin D. J. (2001): Effect of temperature on diatom volume, growth rate, and carbon and nitrogen content: Reconsidering some paradigma.– *Limnol. Oceanogr.* 46(8): 2008–2018.

Morin S., Coste M. & Delmas F. (2008): A comparison of specific growth rates of periphytic diates of varying cell size under laboratory and field conditions. – *Hydrobiologia* 614: 285–297.

Nemjová K., Neustupa J., Šťastný J., Škaloud P. & Veselá J. (2011): Species concept and morphological differentiation of strains traditionally assigned to Micrasterias truncata. – *Phycological Research* 59: 208–220.

Neustupa J., Černá K. & Šťastný J. (2009): Diversity and morphological disparity of desmid assemblages in Central European peatlands. – *Hydrobiologia* 630: 243–256.

Neustupa J., Černá K. & Šťastný J. (2011): The effects of aperiodic desiccation on the diversity of benthic desmid assemblages in a lowland peat bog. – *Biodivers Conserv*. 20: 1695–1711.

Neustupa J. & Škaloud P. (2007): Geometric morphometrics and qualitative patterns in the morphological variation of five species of Micrasterias (Zygnemophyceae, Viridiplantae). – *Preslia* 79: 401–417.

Neustupa J., Šťastný J. & Hodač L. (2008): Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga Micrasterias rotata.– *Aquat. Microb. Ecol.* 51: 77-86.

Nõges P., Nõges T., Adrian R. & Weyhenmeyer G. A. (2008): Silicon load and the development of diatoms in three river-lake systems in countries surrounding the Baltic Sea.– *Hydrobiologia* 599: 67-76.

Passy S. I. (2007): Differential cell size optimization strategies produce distinct diatom richness-body size relationships in stream benthos and plankton. – *Journal of Ecology* 95: 745–754.

Passy S. I. (2008): Species size and distribution jointly and differentially determine diatom densities in U.S. streams. – *Ecology* 89(2): 475–484.

Pither J. & Aarssen L. W. (2005): The evolutionary species pool hypothesis and patterns of freshwater diatom diversity along a pH gradient.– *J. Biogeogr*. 32: 503–513.

Porter S. D., Mueller D. K., Spahr N. E., Munn M. D. & Dubrovsky N. M. (2008): Efficacy of algal metrics for assessing nutriet and organic enrichment in flowing waters. – *Freshwater Biology* 53: 1036–1054.

Potapova M. & Charles D. F. (2003): Distribution of benthic diatoms in U.S. rivers in relation to conductivity and ionic composition.– *Freshwater Biology* 48: 1311-1328.

Poulíčková A. (2011): *Základy ekologie Sinic a Řas,* kap. 2,3 a 4: 11-44, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.

Quinn J. C., Kimberly C., Wagner N. & Bradley T. H. (2012): Current Large-Scale US Biofuel Potential from Microalgae Cultivated in Photobioreactors. – *Bioenerg. Res*. (2012) 5:49–60.

Raven J.A. & Geider R. J. (1988): Temperature and algal growth.– *New Phytol.* 110: 441-461

Reavie E. D., Jicha T. M., Angradi T. R., Bolgrien D. W. & Hill B. H. (2010): Algal assemblages for large river monitoring: Comparison among biovolume, absolute and relative abundance metrics. – *Ecological Indicators* 10: 167–177.

Sharifi M. & Ghafori M. (2005): Effects of added nutrients on dry mass, afdm, chlorophyll a and biovolume of periphyton algae in artificial stresams. – *Iranian Journal of Science & Technology* Transaction A, Vol. 29, No. A1.

Simpson A. G. B. & Roger A. J. (2004): Evolution: Revisiting the Root of the Eukaryote Tree. – *Current biology* 19: 165-167.

Snoeijs P., Busse S. & Potapova M. (2002): The importace of diatom cell size in community analisys. – *J.phycol*. 38: 265-272.

Staehr P. A. & Birkeland M. J. (2006): Temperature acclimation of growth, photosynthesis and respiration in two mesophilic phytoplankton species. – *Phycologia* 45: 648-656.

Stockner J. G. (1988): Phototrophic picoplankton: An overview from marine and freshwater ecosystems. – *Limnology and Oceanography* 33(4 část2): 765-775.

Sun J. & Liu D. (2003): Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. – *Journal of Plankton Research* 25: 1331-1346.

Suzuki Y. & Takahashi M. (1995): Growth responses of several diatom species isolated from various environments to temperature.– J. *Phycol.* 31: 880-888.

Swift T. J., Perez-Losada J., Schladow S. G., Reuter J. E., Jassby A. D. & Goldman Ch. R. (2006): Water clarity modeling in Lake Tahoe: Linking suspended matter characteristics to Secchi depth. – *Aquat. Sci.* 68: 1-15.

Usup G., Ahmad A., Matsuoka K., Lim P.T. & Leaw Ch.P. (2012): Biology, ecology and bloom dynamics of the toxic marine dinoflagellate Pyrodinium bahamense. – *Harmful Algae* 14 (2012): 301–312.

Vadrucci M. R., Cabrini M. & Basset A. (2007): Biovolume determination of fytoplankton guilds in transitional water ecosystems of Mediterranean Ecoregion. – *Transit. Waters Bull.* 2: 83–102.

Velho L. F. M., Pereira D. G., Pagioro T. A., Santos V. D., Perenha M. C. Z. & Lansac-Töha F. A. (2005): Abundance, biomass and size structure of planktonic ciliates in reservoirs with distinct trophic states.– *Acta Limnol. Bras*. 17(4): 361-371.

Viscosi V. & Fortini P. (2011): Leaf shape variation and differentiation in free sympatric white oak species revealed by elliptic Fourier analysis. – *Nordic Journal of Botany* 29: 632-640.

Visvesvara G. S., Moura H. & Schuster F. (2006): Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris , Naegleria fowleri , and Sappinia diploidea. – *Federation of European Microbiological Societies (FEMS)* 50: 1-26.

Winder M., Reuter J. E. & Schladow S. G. (2008): Lake warming favours small-sized planktonic diatom species. – *Proceedings of the Royal Society* (published online - doi:10.1098/rspb.2008.1200).

Wunsam S., Cattaneo A. & Bourassa N. (2002): Comparing diatom species, genera and size in biomonitoring: a case study from streams in the Laurentians (Québec, Canada).– *Freshwater Biology* 47: 325–340.