

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie



MORFOLOGICKÁ VARIABILITA A FYLOGENEZE SINIC ASIE

Diplomová práce

Bc. Eva Jahodářová

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Hydrobiologie
Forma studia: Prezenční

Olomouc 2014

Vedoucí práce: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, s pomocí vedoucího práce Mgr. Petra Dvořáka, Ph.D., použila jsem jen uvedené bibliografické a elektronické zdroje.

V Olomouci dne 7. 5. 2014

PODĚKOVÁNÍ

Velice děkuji svému vedoucímu Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. za umožnění práce na tomto velice zajímavém tématu. Za jeho ochotu, vstřícný přístup, cenné rady, obětavost a za vše co mě o sinicích naučil. Dále bych ráda poděkovala doc. Petru Hašlerovi, Ph.D. za pomoc při určování kultur a cenné rady. Poděkování rovněž patří Mgr. Luboši Majeskému, Ph.D (katedra botaniky, PřF UP) a Dr. Evgeniy S. Gusevovi (Institute for Biology of Inland Waters RAS, Russia) za sběr a poskytnutí vzorků sinic. V neposlední řadě nesmím opomenout poděkovat své rodině a přátelům.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Bc. Eva Jahodářová

Název práce: Morfologická variabilita a fylogeneze sinic Asie

Typ práce: diplomová

Pracoviště: Katedra botaniky

Vedoucí práce: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.

Rok obhajoby: 2014

ABSTRAKT

V minulosti se tropickým druhům sinic nevěnovala výrazná pozornost. Preferoval se výzkum převážně temperátní zóny, v posledních letech se zájem vědců soustředil i na polární region. Taxonomické údaje z tropů jsou dosti chudé. V této práci jsou studovány cyanobakteriální kmeny z Bornea, Jávy, Vietnamu, Mongolska a bajkalské části Ruska. Celkově bylo vyizolováno 29 čistých kmenových kultur. Byla provedena morfologická analýza a fylogenetická inference na základě fragmentu genu 16S rRNA. S pomocí polyfázického přístupu jsem byla schopna identifikovat například druh *Geitlerinema splendidum*, *Arthronema africanum*, *Fischerella* cf. *tisserantii*, která nebyla dosud molekulárně studována. Devět kmenů bylo identifikováno na základě morfologie jako rod *Leptolyngbya*. Podle analýzy 16S rRNA vytvořily koherentní skupiny a nesdílely klastr s *Leptolyngbya sensu stricto*. Je to tedy další důkaz polyfyletického původu tohoto rodu. Byly také determinovány dosud zcela nepopsané rody sinic: kandidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov., kandidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov., kandidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. Na základě fylogenetické analýzy byla zjištěna signifikantní podobnost kmenů vyizolovaných z tropů a polárních oblastí. To napovídá, že mohou existovat některé druhy sinic s vysokou environmentální tolerancí a velkým geografickým areálem výskytu.

Klíčová slova: sinice, taxonomie, fylogenetika, tropické sinice, 16S rRNA, Stigonematales

Počet stran: 75

Počet příloh: 22

Jazyk: český

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Bc. Eva Jahodářová

Name of the thesis: A morphological variability and phylogenetics of the Asian cyanobacteria

Type of thesis: diploma thesis

Workplace: Botany department

Thesis supervisor: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.

Year of defence: 2014

ABSTRACT

The tropical biodiversity of cyanobacteria have been largely overlooked. Researchers preferred the temperate zone or the polar regions. Thus taxonomic data from the tropics are quite scarce. In this work, I studied the cyanobacterial strains from Borneo, Java, Vietnam, Mongolia and the baikal parts of Russia. Altogether 29 clean cultures were isolated. Morphological analysis and phylogenetic inference based on the 16S rRNA gene fragment were performed. Using the polyphasic approach, I was able to identify, for example *Geitlerinema splendidum*, the *Arthronema africanum*, and *Fischerella* cf. *tisserantii*, which has not yet been molecular studied. Based on a morphology, nine strains were identified as the genus *Leptolyngbya*. However, according to a analysis of the 16S rRNA, these nine strains did not form a coherent group and they did not share a cluster with the *Leptolyngbya* sensu stricto. This is therefore further evidence of the polyfyletic origin of this genus. There were also determined completely undescribed genera of cyanobacteria: candidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov., candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. and candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. Based on a phylogenetic analysis. I found the significant similarity of strains from tropical and polar regions. It suggests high environmental tolerance and large geographical area of some species.

Keyword: cyanobacteria, taxonomy, phylogenetics, tropical cyanobacteria, 16S rRNA, Stigonematales

Number of pages: 75

Number of appendices: 22

Language: Czech

OBSAH

ÚVOD	1
1. Taxonomie	1
2. Centra biodiverzity „biodiversity hotspots“	1
3. Sinice tropů	2
3. 1. Cyanobakterie s heterocyty	4
3. 2. Ostatní sekce (řády) sinic	5
3. 3. Oscillatoriales a Stigonematales, zaměření na vybrané rody	5
CÍLE PRÁCE	10
MATERIÁL A METODY	11
1. Charakteristika lokalit	11
1. 1. Vietnam	11
1. 2. Mongolsko	11
1. 3. Jezero Bajkal	12
1. 4. Ostrov Borneo	12
1. 5. Ostrov Jáva	13
2. Sběr materiálu	13
3. Kultivace	14
4. Mikroskopování a determinace	14
5. Izolace vybraných kmenů	14
6. Izolace (extrakce) DNA	14
7. DNA amplifikace	15
8. Klonování DNA	15
9. Purifikace PCR produktu	16
10. Fylogenetická analýza	16
11. Změna fyzikálně-chemických podmínek kultivace kmenu E14	17

VÝSLEDKY	18
1. Fylogeneze na základě genu 16S rRNA	18
1. 1. Fylogram Stigonematales	18
1. 2. Fylogram pro zbývající vzorky	20
2. Morfologická charakteristika vyizolovaných kmenů	24
DISKUZE	30
ZÁVĚR	36
POUŽITÁ LITERATURA	37
SEZNAM PŘÍLOH	47

ÚVOD

Sinice (Cyanobacteria) jsou autotrofní, fotosyntetické, gramnegativní organismy. Jedná se o mikroskopické jednobuněčné, vláknité nebo koloniální bakterie (Stanier a Cohen-Bazire 1977; Bellinger a Sigee 2010). Patří k nejstarším organismům vyskytujícím se na Zemi. Obývají širokou škálu biotopů například půdu, sladkou i slanou vodu, zdi, nárosty, mech (Stal 2002). Obývají i velmi nehostinné podmínky prostředí, jako jsou například vřídla a termální prameny (Bellinger a Sigge 2010). Vyskytují se u nich speciální buňky a struktury, jako jsou akinety, heterocyty nebo aerotopy. Rozmnožují se pouze nepohlavně.

1. Taxonomie

V průběhu 20. století se na taxonomii sinic začalo nahlížet odlišně. V minulosti se preferoval morfologický přístup klasifikace, avšak morfologické znaky mohou být ovlivněny prostředím (Palinska et al. 2006). V dnešní době je preferován polyfázický přístup, který kombinuje znaky molekulární se znaky klasickými. Molekulární data v mnoha případech odhalí vyšší diverzitu (kryptické druhy) než pouhá fenotypová studie. Často se k analýzám používá rDNA ribozomu (Komárek 2005). Geny 16S rRNA, 23S rRNA a 5S rRNA jsou exprimovány jako operon. Jejich sekvence jsou velice konzervativní (Ernst et al. 2003). ITS (Internal Transcribed Spacer) region je pro změnu variabilní v sekvencích i v délce (Acinas et al. 2009). Objevuje se také problém, zda používat nomenklaturu botanickou ICBN (International Code of Botanical Nomenclature) nebo bakteriologickou ICNP (International Code Nomenclature of Prokaryotes) (Suda et al. 2002; Komárek 2005; Palinska et al. 2006; Oren 2011).

V současné době je na systém sinic nahlíženo z několika různých pohledů. Komárek a Anagnostidis (1998) a Komárek a Anagnostidis (2005) klasifikují tradičně cyanobakterie podle botanické nomenklatury do čtyř základních skupin (Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales a Stigonematales). Rippka et al. (1979) klasifikuje sinice podle bakteriologické nomenklatury do sekcí I-V.

2. Centra biodiverzity „biodiversity hotspots“

Až 44 % všech druhů cévnatých rostlin a 35 % obratlovců je koncentrováno do dvaceti pěti hotspots, které zaujímají pouze 4 % zemského povrchu. Původně tyto hotspots pokrývaly daleko větší plochu, a to 11,8 %. Tyto oblasti zahrnují nejružnější

přírodní stanoviště v celosvětovém měřítku. Hlavní složku tvoří tropické lesy (obsaženy v patnácti hotspots) a středomořské oblasti (obsaženy v pěti hotspots). Devět hotspots jsou převážně nebo zcela ostrovního typu. Šestnáct z nich pak leží v rozvojových zemích tropů. Ochrana přírody je zde nedostatečná (Myers et al. 2000).

Mezi nejbohatší oblasti světa, co do počtu endemických druhů, patří tropické Andy, Velké Sudy, Madagaskar, brazilské atlantické lesy a Karibik. Dohromady zahrnují 20 % všech druhů rostlin a 16 % obratlovců. Jejich rozloha je pouze 0,4 % zemského povrchu (Myers et al. 2000).

Hauer et al. (2013) ve své publikaci uvádí, že není důvodu, proč by se do celkové diverzity neměly zahrnovat také sinice a řasy. Proto publikace přinášející informace o nových taxonech poskytují cenná data.

3. Sinice tropů

Deštné pralesy se řadí k největšímu bohatství Země, říká se jim „plíce světa“ a patří k nejproduktivnějším biotopům vůbec. Avšak díky těžbě dřeva a intenzivní kultivaci krajiny dochází k ohrožení tohoto cenného území.

Tropický deštný les je vázán na tropický klimatický pás. V historii porůstal oblasti kolem rovníku čtyř kontinentů. Pokrýval rozsáhlá území Střední a Jižní Ameriky. Druhou největší rozlohu pokrýval deštný les v Africe. Do souvislosti s Afrikou je také zahrnován Madagaskar s pruhem deštného lesa na východě ostrova. Rozsáhlá biomasa tropického deštného lesa se rozprostírala také v Asii. Na západní straně Indie se táhl pás deštných lesů severojižním směrem. V závislosti na srážkách se deštný tropický les vyskytoval od východního Bangladéše až po jižní Čínu. Rozsáhlé porosty se také nacházely na Sundských ostrovech, Filipínách, Nové Guinei a na dalších ostrovech ležících po jižní cíp Tchaj-wanu. V Austrálii byly deštné lesy soustředěny pouze na omezená území na severovýchodním pobřeží. Díky devastaci deštných lesů je dnes situace jiná. Nejvíce byly poškozeny lesy Asie a Afriky. Komplexy souvislého porostu byly rozděleny na menší fragmenty lesa a z původní velikosti porostů dnes zbyla jen třetina (Moravec 2009).

Přednostně byly v minulých letech zkoumány hlavně biotopy mírného pásu a polárních oblastí. Sinicím tropů byla věnována malá pozornost a se studiem diverzity se pokročilo až v současnosti.

Tropické biotopy a jejich diverzita je relativně málo prozkoumána (Sant'Anna et al. 2007) a značně zaostává za znalostmi o sladkovodních a marinních habitatech

(Neustupa a Škaloud 2010). Neustále jsou objevovány a popisovány nové morfotypy a ekotypy tropických sinic. Nalezení nových druhů a rodů je nesmírně cenné pro budoucí výzkum, avšak kultivace je v mnoha případech dosti složitá (Sant'Anna et al. 2007). Sinice jsou důležitými kolonizátory nejrůznějších terestrických habitatů. Osídlily budovy, půdu ledových i vyprahlých pouští (Mague 1977; Gaylarde et al. 2001; Sant'Anna et al. 2007), kůru stromů v deštném pralese a mokré kameny (Sant'Anna et al. 2007). Mikroorganismy se musely přizpůsobit rozdílným klimatickým podmínkám, jako třeba změně relativní vlhkosti, která během dne dosahuje hodnot od 30 % do 100 % a světelnému ozáření, které dosahuje ve 13 hodin až 100 klux (Reynaud a Franche 1986). Vodní nádrže tropů jsou charakteristické vodní ekosystémy, jejichž fyzikálně-chemické vlastnosti jsou silně řízeny vstupem vody z okolních řek a periodickým odvodňováním (Thornton et al. 1990).

Neustupa a Škaloud (2010) informovali o druhové bohatosti sinic a řas rostoucí na kůře stromů v deštném horském lese v jihovýchodní Asii. Zjistili vysokou bohatost druhů ve vzorcích z kůry, obvykle v průměru 4,8 až 7,8 druhů ve vzorku z jednoho stromu. V porovnání s podobnými studii mírného a subtropického ekosystému bylo zjištěno asi 1,7 až 5,9 druhů v jednom vzorku kůry (Mikhailyuk et al. 2001).

Ačkoli je v taxonomii využíván polyfázický přístup, tak zejména v extrémních tropických biotopech máme o morfologii a skutečné biodiverzitě žalostně málo informací (Sant'Anna et al. 2007). Tento fakt může být způsoben morfologickou jednoduchostí mnoha aero-terestrických sinic, ovlivněný selekčním tlakem na co nejmenší povrch buňky. Buňky jsou kulovité a eliptické, značně podobné u mnoha nepříbuzných druhů (Hoffmann 1989).

Stigonematales se zdá být velice vyvinutý taxon sinic. Jeho morfologie je velice odlišná a komplikovaná. Rody tohoto taxonu se vyvinuly poprvé v kambriu a v nezměněné podobě přežily do dnešní doby (co se týká morfologie a komplikovanosti životního a vegetativního cyklu) (Croft a George 1959).

Druhy taxonu Stigonematales jsou nejméně studovanou skupinou sinic s ohledem na jejich molekulární fylogenezi a vzájemné vztahy s jinými sinicemi tvořícími heterocyty. Stigonematales se vyskytují zřídka, ale jsou všudypřítomné v extrémních biotopech, často v tropických oblastech světa. Jejich ekologická funkce není příliš významná (Golubic et al. 1996; Sahu et al. 1996; Gugger a Hoffmann 2004; Kaštovský a Johansen 2008). Jejich dokumentace, ve srovnání s ostatními skupinami sinic, není z různých stanovišť běžná (Sahu a Adhikary 2012). Navíc řada rodů nebyla

jasně definována (Anagnostidis a Komárek 1990). V současné době se stávají objektem zájmu, co se týká pochopení buněčné diference, morfogeneze a fylogenetických vztahů (Sahu a Adhikary 2012).

Mezi nově popsané tropické druhy a rody patří například *Brasilonema* (Fiore et al. 2007), *Nodosilinea* (Perkerson et al. 2011) nebo *Tapinothrix clintonii* (Bohunická et al. 2011).

3. 1. Cyanobakterie s heterocyty

Sinice s heterocyty podle výzkumů pocházely ze stejného společného předka (Gugger a Hoffmann 2004). Jejich monofilie je podpořena sekvencemi 16S rRNA genu (Wilmotte et al. 1994; Lyra et al. 2001), *gyrB*, *rpoC1*, *rpoD1* (Seo et al. 2003), sekvencemi *nifD* (Henson et al. 2004), *nifH* sekvencemi (Zehr et al. 1997), RFLP a genomovým fingerprintingem (Lyra et al. 2001).

Jako první uvedl taxonomii Nostocales ve své publikaci Bornet a Flahault (Greuter et al. 1988), do které také spadala čeleď Sirospionaceae, dnes Stigonematales. Geitler (1925) zdůraznil rozdíl mezi pravým a nepravým větvením vláken, nově klasifikoval Stigonematales a Nostocales. Přístup Staniera a také mnoha dalších (Stanier et al. 1971; Rippka et al. 1979 atd.) byl založen na metodách, které zahájily experimentální trend v taxonomii sinic. Využívali axenické klonální kultury a komplexně hodnotili znaky morfologické, cytologické, fyziologické a biochemické. Tento přístup je nazýván jako polyfázický (Komárek a Anagnostidis 1989).

Do první podskupiny spadají vláknité heterocyty tvořící sinice. Dělení probíhá v rovině kolmé k podélné ose, proto jsou vlákna jednotlivě a postrádají pravé větvení. Podle bakteriologické klasifikace jsou řazeny do subsekcce IV (Rippka et al. 1979; Castenholz 2001) nebo podle tradičního systému dle Komárek a Anagnostidis (1989) jsou nazývány jako Nostocales. Subsekcce IV je podle bakteriologického kódu rozdělena do dvou podskupin: podskupina IV.I, kde jsou umístěny druhy, které nevykazují bazálně-apikální polaritu vláken. Do podskupiny IV.II spadají druhy s výrazně bazálně-apikální polaritou trichomů a s trichomy zužujícími se od vrcholu k bázi (Castenholz 2001; Rippka et al. 2001). Druhou podskupinu taktéž tvoří sinice vytvářející heterocyty. Příčné buněčné dělení je navíc doplněno o podélné a šikmé dělení. Tento způsob dělení vede k pravému větvení a multisériové skladbě trichomů. Tyto druhy jsou řazeny do subsekcce V (formálně Stigonematales) (Rippka et al. 1979; Anagnostidis a Komárek 1990). Studium nových kmenů ze Stigonematales ukázalo,

že sinice s pravým větvením nejsou monofyletické a měly by být rozděleny do dvou hlavních skupin na základě větvení. První skupina by měla obsahovat druhy s T-větvením a druhá skupina s charakteristickým Y-větvením (Anagnostidis a Komárek 1990; Gugger a Hoffmann 2004).

Klasifikace sinic na základě morfologických charakteristik nemusí odrážet skutečné fylogenetické vztahy uvnitř linií. Některé molekulární markery tradičně používané k vymezení rodů a druhů mohou být fenotypově plastické v závislosti na podmínkách prostředí (Rippka et al. 1979; Mollenhauer 1988). Při použití různých molekulárních markerů se ukázalo, že velká většina rodů je polyfyletická, například *Anabaena*, *Aphanizomenon* (Lyra et al. 2001; Iteman et al. 2002). Také je často diskutováno oddělení rodu *Nostoc* a *Anabaena* (Tamas et al. 2000; Henson et al. 2002). Fylogenetická analýza genu 16S rRNA podporuje monofylii subsekcce V a poukazuje na fakt, že původně vznikla v rámci subsekcce IV (Wilmotte 1994; Turner 1997; Wilmotte a Herdman 2001). Gen *nifD* nediferencuje členy podsekcí IV a V, ale podporuje hypotézu, že buněčné dělení ve více než jedné rovině (charakteristika oddělující podsekcí IV a V) mohlo vzniknout v minulosti více než jedenkrát (Turner 1997). Rozdělení subsekcce IV na dvě podskupiny IV.I a IV.II není genem *nifD* podporováno (Henson et al. 2004).

3. 2. Ostatní sekce (řády) sinic

Zbývající sinice se dělí na subsekcí I (formálně Chroococcales). Jedná se o jednobuněčné organismy s podvojným dělením (Rippka et al. 1979; Komárek a Anagnostidis 1986). Do subsekcce II (Pleurocapsales) spadají také jednobuněčné druhy rozmnožující se vícenásobným štěpením, produkují malé, lehce dispergované buňky, baeocyty (Rippka et al. 1979). Vlákňité druhy sinic spadají do subsekcce III (Oscillatoriales), nevytváří heterocyty, rozmnožují se zlomy vláken (Rippka et al. 1979; Komárek a Anagnostidis 1988).

3. 3. Oscillatoriales a Stigonematales, zaměření na vybrané rody

Řád Oscillatoriales je jedním z nejbohatších a nejdiferzifikovanějších taxonů sinic (Perkerson et al. 2011). Jejich taxonomie je značně složitá. V rámci Oscillatoriales existuje množství polyfyletických rodů, např. *Phormidium* (Palinska a Marquardt 2008), *Pseudanabaena* (Acinas et al. 2009), *Leptolyngbya* (Perkerson et al. 2011), a proto není zmíněný řád monofyletický (Perkerson et al. 2011). V posledních

letech se nejvíce zabýval taxonomií Oscillatoriales Komárek a Anagnostidis (2005). Rozdělili Oscillatoriales *sensus classicus* do dvou samostatných podtříd: Pseudanabaenales (Synechococcophycidae) a Oscillatoriales (Oscillatoriothraxales).

Rod *Leptolyngbya* byl jako první popsán Anagnostidis a Komárek (1988). Zmíněný rod je, co do počtu taxonů, velice obsáhlý. Genetická diverzita do značné míry překonává diverzitu morfologickou (Casamatta et al. 2005). V rámci botanického přístupu existuje velké množství kládů (rodů) taxonu *Leptolyngbya*. Jejich morfologické rozlišení je velice náročné, protože rod *Leptolyngbya* nemá výrazné morfologické charakteristiky (Alberto a Kováčik 1994; Casamatta et al. 2005), jejich vlákna jsou velice malá (méně než 3,5 μm) (Johansen a Casamatta 2005). Je potřeba důkladné revize zmíněného rodu (Komárek a Anagnostidis 2005). Buňky mají parietálně umístěné thylakoidy a často mají fakultativní slizovou pochvu (Anagnostidis a Komárek 1988; Komárek a Anagnostidis 2005). Je zřejmé, že v rámci *Leptolyngbya* i dalších příbuzných zástupců Pseudanabaenaceae existuje mnoho nepopsaných druhů (Casamatta et al. 2005; Johansen et al. 2008), ale i množství nepopsaných rodů (Perkerson et al. 2011). Rod se převážně skládá z převedených druhů z jiných oscillatoriálních rodů, jako je *Lyngbya*, *Plectonema*, *Phormidium*, *Oscillatoria* (Anagnostidis a Komárek 1988). Původně byl tento klastr řazen podle bakteriologického kódu dle Rippka et al. (1979) do „LPP skupiny B.“ Rod *Leptolyngbya* je tedy polyfyletický (Alberto a Kováčik 1994; Komárek a Anagnostidis 2005), zahrnuje sinice se vzdálenou evoluční historií (Taton et al. 2003; Casamatta et al. 2005). Fylogenetická analýza genu 16S rRNA druhů izolovaných ze sladkovodních biotopů, moře a pouště prokázala, že by měl být rod *Leptolyngbya* rozdělen na několik dalších rodů (Casamatta et al. 2005; Komárek a Anagnostidis 2005). Nově byl například popsán rod *Oculatella* (Zammit et al. 2012), druh *Tapinothrix clintonii* (Bohunická et al. 2011).

Do rodu *Leptolyngbya sensu stricto* je řazena *Leptolyngbya boryana*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya tenerrima* a *Leptolyngbya angustata* například dle Perkerson et al. (2011).

Nově vzniklý rod *Oculatella* byl nejprve pojmenován jako *Leptolyngbya* „Albertano/Kováčik-red“ 1997 (Komárek a Anagnostidis 2005). Zammit et al. (2012) se po vyhodnocení všech genetických, morfologických a ekologických dat rozhodl

ustanovit nový rod *Oculatella*, jak již dříve navrhl Bruno et al. (1999) a Zammit et al. (2011). Vlákna toho rodu jsou často načervenalá, zřídka nazelenalá (Zammit et al. 2012).

Rod *Phormidium* je taktéž polyfyletický (Palinska a Marquardt 2008). V klasické literatuře je členění taxonů v rámci Oscillatoriales založeno na kvalitě slizové pochvy a utváření kolonií. Tyto taxonomické znaky daly prostor k vytvoření nesrovnalostí a chyb. Existuje možnost, že některé druhy mohly být popsány více než v jednom rodu (Palinska et al. 2011). Rippka et al. (1979) řadí *Phormidium* spolu s rody *Oscillatoria*, *Plectonema* a *Lyngbya* do takzvané „LPP-skupiny“. Řadí zde rody s tenkými trichomy a problematickou taxonomií. Hlavní revizi „LPP-skupiny“ provedl Anagnostidis a Komárek (1988) a Komárek a Anagnostidis (2005). Zavedli nová kritéria klasifikace například velikost buněk, způsob dělení, pohyblivost, způsob rozpadu buněk. Pro snazší klasifikaci a lepší přehlednost rozdělili Komárek a Anagnostidis (2005) rod *Phormidium* do skupin I-VIII. Dle Siegesmund et al. (2008) potřebuje rod *Phormidium* důkladnou revizi. Některé druhy rodu *Phormidium* jsou morfologicky dosti podobné druhům rodu *Microcoleus* (Hašler et al. 2012). Například druh *Microcoleus vaginatus* a *Phormidium autumnale* se od sebe liší pouze ve formování kolonií a organizaci vláken. Morfologie trichomu je však dosti podobná (Boyer et al. 2002; Hašler et al. 2012). Z rodu *Phormidium* byl například vyčleněn nový rod *Phormidesmis* (Komárek et al. 2009) a rod *Willmotia* (Strunecký et al. 2011).

Sinici rodu *Pseudanabaena* není věnována příliš velká pozornost, existuje jen málo genetických a fenotypových údajů (Acinas et al. 2009). *Pseudanabaena* je dosti podobná rodu *Limnothrix*, a proto jsou tyto rody od sebe dosti obtížně rozeznatelné. U *Limnothrix* tvoří zásadní rozdíl poněkud širší buňky (1-6 μm) a méně zřetelné zaškrcení buněčné stěny (Castenholz et al. 2001). Na základě studie genu malé podjednotky ribozomu 16S rRNA vytváří *Limnothrix* a *Pseudanabaena* monofyletický klast (Zwart et al. 2005; Willame et al. 2006). Nemáme však dostatečné množství molekulárních dat, která by rozřešila fylogenezi skupiny *Pseudanabaena/Limnothrix* (Acinas et al. 2009). *Pseudanabaena* je běžným druhem (Acinas et al. 2009), obývá nejružnější vodní a bentické ekosystémy. Byla determinována v horkých pramenech (Castenholz et al. 2001), v brakickém prostředí (Stal et al. 2003), ve sladkovodních jezerech (Gkelis et al. 2005; Zwart et al. 2005) a jako součást epilimnického společenstva

na kamenech pláží (Diez et al. 2007). Pro *Limnothrix* jsou typické mesoeutrofní sladkovodní systémy (Castenholz et al. 2001). *Pseudanabaena* se spolu s *Limnothrix* vyskytují v eutrofních nádržích a vytváří vodní květ, někdy se v nádrži stávají i dominantními (Mayer et al. 1997; Rücker et al. 1997; Zwart et al. 2005). U některých druhů byla pozorována komplementární chromatická adaptace CCA (Complementary Chromatic Adaptation). Jedná se o proces umožňující regulaci poměru fykocyaninu a fykoerytrinu (Kehoe a Gutu 2006). Díky využití převažujícího světelného spektra (Kehoe a Gutu 2006) je *Pseudanabaena* zvýhodněna oproti jiným druhům (Stomp et al. 2004, 2008). Některé izolované kmeny rodu *Pseudanabaena* byly schopny pohybu a některé byly schopny anaerobně fixovat dusík (Rippka a Herdman 1992).

Rod *Mastigocladus* vytváří vlákno s dlouhými, úzkými bočními větvemi. Větve se obvykle vytváří pouze na jedné straně (větvení Y-typu). Heterocyty jsou tvořeny interkalárně, zřídka na bázi větvících se vláken. Hormogonia nejsou dosud známa. Hlavní vlákna jsou 4-8 μm široká s 3 μm širokými bočními větvemi, jsou orientovaná v pravém úhlu k hlavnímu vláknu. Buňky hlavního vlákna jsou soudečkovité nebo krátce cylindrické, buňky postranních větví jsou cylindrické. Kolonie formují tuhé nárosty (Geitler 1932; Brock 1978). *Mastigocladus* je nejvíce termofilní sinice fixující dusík (Stewart 1970), s horním limitem teploty 60 °C (Stewart 1980). Složení mastných kyselin je odlišné od jiných rodů sinic (postrádá polynenasycené mastné kyseliny) (Brock 1978). Díky schopnosti fixace dusíku může být *Mastigocladus* nalezen v pramenech s nízkou koncentrací dusíku (Sompong 2006). Jedním z nejvíce diskutovaných druhů je *Mastigocladus laminosus*. Jako první jej popsal Cohn (1862), ale pro moderní taxonomii nebyla jeho studie vyhovující. Tvrdil, že se tento druh vyskytuje pouze v termálních pramenech. Avšak později mnoho autorů zjistilo kosmopolitní výskyt druhu *Mastigocladus laminosus* v termálních pramenech s nízkou salinitou, teplotou nižší než 60 °C a pH nižším než 7,5. Je dosti těžké definovat tento druh dle klasického přístupu, protože existuje široká škála různých forem, ať už morfologických nebo ekologických (Kaštovský a Johansen 2008).

Stélka rodu *Fischerella* je plstěného vzhledu, málokdy vytvářející kompaktní nárosty. Vlákna jsou morfologicky odlišná, uniseriální nebo multiseriální. Postranní vlákna jsou více či méně přímá a uniseriální. Vlákna jsou moniliformní, obklopena hustou, vlnitou někdy mírně lamelovitou a barevnou pochvou. Postranní vlákna se

obvykle vytváří pouze na jednu stranu hlavního vlákna. Přítomno pravé větvení T-typu. Buňky většinou tvaru cylindrického nebo protáhlé. Mají tenkou často bezbarvou slizovou pochvu. Plasma buněk často granulovitá, thylakoidy nepravidelně rozmístěny po celé buňce. Heterocyty interkalární, subsfěrické na bázi trichomů, cylindrické ve větvích. Akinety se vytváří nepravidelně a zřídka u báze trichomu (jen u několika málo druhů). Rozmnožování pomocí uniseriálních hormogonií oddělujících se od konců větví. Hormogonia jsou obvykle značně morfologicky odlišná a obsahují aerotopy. Velká většina druhů je subaerofytických. Rostou na vlhkých (často kyselých, rašelinných) půdách. Několik druhů bylo identifikováno pouze z tropických deštných lesů (například z mechů, z kůry stromů) (Komárek a Hauer 2012). Vztahy a hranice mezi rody *Hapalosiphon*, *Fischerella* a *Stigonema* jsou špatně definovány. Znaky, které jsou používány k rozlišení těchto rodů, jako je šířka hlavního a postranního vlákna, zda se vlákna skládají z jedné nebo více řad buněk, buněčná morfologie atd., jsou matoucí, nejsou obecně přijímány. Velká většina druhů byla popsána z tropických nebo subtropických oblastí, proto se liší morfologicky i ekologicky od populací našich druhů (Hindák 2012).

Někteří autoři na základě větvení rodu *Fischerella* (větvení T-typu) a *Mastigocladus* (větvení Y-typu) by charakterizovali tyto dva rody jako jednu taxonomickou jednotku (Castenholz 1989).

Stélka rodu *Hapalosiphon* je složena z volných, svinutých vláknitých chomáčů, které jsou přirostlé k substrátu. Později také volně plavou v metafytou. U vláken uniseriálních (jen zřídka se vyskytuje podélné dělení buněk), se laterálně vyskytuje pravé větvení T-typu. Vlákna jsou nepravidelně ohnutá. Hlavní a boční vlákna se od sebe nijak morfologicky neliší, jen zřídka jsou boční větve mírně užší. Slizová pochva je tenká, bezbarvá někdy nezřetelně vrstvená. Heterocyty cylindrického charakteru se vyskytují interkalárně, výjimečně laterálně. Buňky jsou cylindrického tvaru, jen zřídka kdy se vykytuje zaškrzení příčných buněčných stěn nebo soudečkovitý tvar. Obsah buněk je někdy jemně zrnitý. Někdy pozorovány samostatné akinety. Většinu druhů najdeme ve stojatých vodách (například bažiny, litorál jezer), často v čistých vodách s vodní vegetací (tropická a temperátní zóna). Některé z druhů preferují močály a rašelinné vody. Jeden druh byl nalezen v termální vodě, dva druhy rostly subaerofyticky (Komárek a Hauer 2012).

CÍLE PRÁCE

1. Vyizolovat čisté kmenové kultury z různých regionů Asie.
2. Identifikovat kmeny podle morfologických a ekologických vlastností.
3. Vyhodnotit morfologickou variabilitu kmenů.
4. Provést popis nově získaných druhů a rodů na základě polyfázického (komplexního) přístupu.

MATERIÁL A METODY

1. Charakteristika lokalit

1. 1. Vietnam

Vietnam leží na nejvýchodnějším okraji jihovýchodní Asie (FromSoft 2014) na poloostrově Zadní Indie. Severní část Vietnamu je na okraji tropického klimatického pásu. V létě přichází teplé a silné deště, doprovázené občasnými tajfuny. Ve středním a jižním Vietnamu během června až listopadu přináší monzunové větry deště a tajfuny na jihovýchodní svahy hor a na nížiny. Od prosince do dubna je počasí sušší, je charakterizováno severovýchodními monzuny na jihu země a vysokými teplotami. Vegetace Vietnamu je dosti bohatá a rozmanitá, odráží širokou škálu klimatu, topografie a půdy, a také mění se vliv lidského osídlení. Vyskytují se zde listnaté a jehličnaté lesy, savany a bambusové porosty. V centrální části se vyskytují primární, nenarušené lesy. Ze zvířat zde volně žije například nosorožec sumaterský, slon, tapír, tygr, levhart, medvěd, divoké prase, šakal, vydra nebo též létající veverka (Encyclopaedia Britannica 2014a). Celková rozloha přírodních vnitrozemských těles (řeky a jezera) se odhaduje na 4 200 km² (Gusev a Thanh 2011). Vietnamem protékají velké řeky. Jsou to Rudá řeka a Mekong, které ústí v Jihočínském moři (Encyclopaedia Britannica 2014a).

1. 2. Mongolsko

Tento stát se rozkládá na severu centrální Asie. Na západě a severu dominují horská pohoří, mezi nimiž se rozkládají pánve. V oblasti Velkých jezer leží více než 300 jezer. V jižní a východní části leží rozsáhlé náhorní plošiny. Rozkládají se zde kopcovité stepní pláně nebo rozsáhlá rovinatá území, která tvoří severní okraj východního (mongolského) Gobi. Celá země je seismicky nestabilní. V pohoří Khangai je tucet vyhaslých sopek a nespočet vulkanických jezírek. Mongolsko leží ve vysoké nadmořské výšce a na jeho počasí už nemá vliv oceán. Proto je zde výrazné kontinentální klima s chladnými zimami, studeným až teplým létem, vysoký rozsah ročních a denních teplot a dosti málo srážek. Množství srážek se zvyšuje s nadmořskou výškou a zeměpisnou šířkou. Pozoruhodným rysem Mongolska je počet jasných a slunečných dní, v průměru mezi 220 až 260 dny za rok. Vyskytují se zde čtyři hlavní vegetační zóny: lesostep, step, polopouště a pouště. Ve vysokých horách se objevuje i tajga a alpské pásmo. Stepi převládají, pokrývají tři čtvrtiny území. Rozmanité

přírodní podmínky, umístění a řídká lidská populace přispívají k bohaté škále divoce žijících zvířat. Nalezneme zde divoce žijící medvědy, kance, srnce, mongolské gazely, divoké ovce (známé jako argal), velbloudy či osly. Orkhon je mongolská nejdelší řeka. Řeka Selenge ústí do ruského Bajkalu. Mnoho mongolských jezer je slaných a nestálých. Největší sladkovodní jezero je Khövsgöl, mezi velká jezera patří také solné jezero Uvs (Encyclopaedia Britannica 2014b).

1. 3. Jezero Bajkal

Bajkal se nachází v jižní části Sibíře v Rusku. Jedná se o nejstarší sladkovodní jezero na Zemi (staré asi 20-25 milionů let). Bajkal je také nejhlubším kontinentálním jezerem, maximální hloubka je 1 620 m. Rozloha činí 31 500 km², délka činí 636 km a průměrná šířka 48 km. Jeho objem činí jednu pětinu zásob sladké vody na zemském povrchu (asi 23 000 km³ vody). Do jezera ústí více než 330 řek, mezi největší patří Selenga, Barguzin a Angara. Bajkal leží v hluboké strukturální prohlubni obklopené horami (některé hory jsou vysoké až 2 000 m). Klima Bajkalu je mnohem mírnější než v okolním území. Zimní teploty v průměru dosahují -21 °C, teploty v srpnu okolo 11 °C. Jezero zamrzá v lednu a taje v květnu nebo červnu. Voda je velmi jasná, průhlednost někdy činí až 40 m. Salinita vody je nízká s malým obsahem minerálů. Život v jezeře je bohatý a rozmanitý. Žije zde asi 1 500 až 1 800 druhů živočichů a několik stovek druhů rostlinných. Většina zde se vyskytujících druhů jsou endemiti Bajkalu. V minulých letech bylo jezero silně znečišťováno odpady z těžebního průmyslu, výrobou celulózy a papíru. Dnes je jezero Bajkal i jeho pobřeží chráněno (Encyclopaedia Britannica 2014c).

1. 4. Ostrov Borneo

Borneo patří k největším ostrovům světa. Je součástí souostroví Velké Sundy. Ostrov je dosti hornatý, z velké části pokrytý hustými deštnými pralesy. Největší hora je Mount Kinabalu vysoká 4 101 m. Podnebí je rovníkové, horké a vlhké. Vyznačuje se dvěma odlišnými obdobími. Mezi říjnem a březnem přicházejí monzuny, po zbytek roku je relativně sušší a klidnější letní období. Fauna i flóra Bornea je velmi rozmanitá. Vyskytuje se zde *Rafflesia* (největší květina na světě), orangutani, giboni, levharti, sloni, nosorožci a velké množství hmyzu (Encyclopaedia Britannica 2014d). Deštné pralesy Bornea jsou asi 130 milionů let staré, patří k nejstarším pralesům na Zemi. Roste zde asi 15 000 druhů rostlin, zahrnující 3 000 druhů stromů. Žije zde 221 druhů

suchozemských savců a 420 druhů ptáků (MacKinnon et al. 1997). I když je geologická historie Bornea poměrně složitá, je pravděpodobné, že nedávné doby ledové během pleistocénu měly výrazný vliv na dnešní stromovou flóru ostrova (Morley 2000). Jsou zde také důkazy, že během těchto dob se na jihozápadě Bornea rozprostírala vegetace savan s fragmenty deštného lesa a to kolem hlavních řek a na horských svazích. Sever a východ ostrova byl pokryt deštným pralesem (Thomas 2000). Další faktor, který by mohl ovlivňovat floristickou skladbu, je přítomnost centrálního pohoří. Pohoří rozděluje ostrov na severní a jižní část (Adams 2001).

1. 5. Ostrov Jáva

Tento indonéský ostrov leží jihovýchodně od Malajsie a Sumatry, jižně od Bornea a západně od Bali. Jedná se o čtvrtý největší ostrov v Indonésii. Od východu na západ se rozprostírá pohoří s velkým množstvím sopek. Ostrov je lemován vápencovými hřebeny a nížinami. Jáva je poměrně sopečnatá, ale pouze 35 sopek ze 112 je aktivních. Většina řek na ostrově teče na sever z centrálního pohoří. Největší řeky ostrova jsou Solo a Brantas. Klima je po většinu roku vlhké a horké. Maximální teploty se vyskytují zejména podél severního pobřeží, v horách je mnohem chladněji. Od listopadu do března přichází jihozápadní monzun. V tomto období je počasí deštivé a je zataženo. Jihovýchodní monzun trvající od dubna do října přináší převážně slunné počasí. Na Javě roste více než 5 000 druhů rostlin. Na vlhkých svazích hor rostou husté deštné pralesy, na západě roste bambus. Z ovocných stromů zde najdeme například banánovník a mangovník. Žije zde nosorožec, divoký vůl (banteng), opice, divoké prase, krokodýl, asi 400 druhů ptáků, 100 druhů hadů, 500 druhů motýlů a nespočet dalšího hmyzu (Encyclopaedia Britannica 2014e).

2. Sběr materiálu

Vzorky použité v této práci byly sbírány Mgr. Lubošem Majeským, Ph.D. na ostrovech Jáva a Borneo. Vzorky z Vietmanu, bajkalské části Ruska a Mongolska nasbíral Dr. Evgeniy S. Gusev. Vzorky byly získány z earyfytických substrátů například z kamenů, kůry stromů, ze dřeva, ale také z termálních pramenů, vodních nádrží a lesních potoků (Příloha 1, 2, 3, 4, 5).

3. Kultivace

Vzorky byly kultivovány v tekutém Zehnder mediu (Z médium) (Staub 1961), Bolt-Basal/Bristol mediu (BBM médium) (Bischoff a Bold 1963) a WC mediu (Guillard a Lorenzen 1972). Kultivace také proběhla na bifázovém mediu (1,5 % agarové plotny se Z médiem, BBM médiem nebo WC mediem). Petriho misky se vzorky byly umístěny na okno nebo do kultivačního boxu (22 ± 1 °C, záření $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, světelný režim: 12 h světlo/12 h tma). Vzorky rostly lépe na bifázovém mediu.

4. Mikroskopování a determinace

Vzorky byly mikroskopovány mikroskopem firmy Olympus typ CH20, CHX21 (firma Olympus, Japonsko). Morfologická determinace rodů a druhů sinic byla provedena na základě následující literatury: Komárek a Anagnostidis (1990), Komárek a Anagnostidis (1998), Komárek a Anagnostidis (2005), Komárek (2013). Fotografie byly vyhotoveny pomocí mikroskopu Primo Star (Carl Zeiss, Německo) a kamerou Micrometrics 31 (Micro-Metrics Company, USA), mikroskopem AxionImager (Carl Zeiss, Německo) a kamerou AxionCam Hrc (Carl Zeiss, Německo).

5. Izolace vybraných kmenů

Izolace proběhla za použití skleněných kapilár a mikroskopu Olympus CH20, CH21 (Olympus, Japonsko). Buňka nebo trichom sinice byl přenesen do kapky média na podložním skle. Následně byla buňka nasáta skleněnou pipetou se silikonovým balónkem a přemístěna do další čisté kapky média. V posledním kroku byla buňka přenesena do sérologické desky s médiem. Po nárůstu dostatečného množství biomasy byl kousek odebrán a přemístěn do tekutého nebo bifázového média. Izoláty čistých kmenů byly kultivovány v boxu za následujících podmínek: 22 ± 1 °C, záření $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, světelný režim: 12 h světlo/12 h tma.

Biomasa vzorků byla následně využita k izolaci DNA.

6. Izolace (extrakce) DNA

K izolaci genomické DNA byl použit UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., USA). Izolace proběhla dle manuálu, přiloženého u výše zmíněného kitu. K extrakci DNA bylo použito 50 mg biomasy.

Koncentrace DNA byla změřena pomocí spektrofotometru BioPhotometer (Eppendorf North America, USA).

7. DNA amplifikace

ITS region mezi 16S rRNA a 23S rRNA byl amplifikován v celé délce, zatímco gen 16S rRNA pouze částečně. K amplifikaci byly použity primery:

- P2 (5'- GGGGAATTTTCCGCAATGGG- 3')
- P1 (5'- CTCTGTGTGCCTAGGTATCC- 3')

(Boyer et al. 2002).

Objem PCR byl 40 μ l, do PCR zkumavky bylo napipetováno: 1 μ l primeru P1 a 1 μ l P2 (koncentrace 0,01 mM), 17 μ l sterilní neionizované vody, 20 μ l FastStart PCR mastru (Roche Deagnostics GmbH, Německo) a 1 μ l templátové DNA.

PCR reakce probíhala v GeneQTM termálním cycleru (BIOER TECHNOLOGYCO., LTD, Čína).

V termálním cycleru byly nastaveny následující podmínky reakce:

1. Iniciální denaturace trvala 4 min při teplotě 95 °C.
2. 35 cyklů denaturace po dobu 30 s při teplotě 95 °C, žhání po dobu 30 s při teplotě 57 °C a prodlužování po dobu 1 min 50 s při teplotě 72 °C.
3. Konečné prodlužování po dobu 7 min při teplotě 72 °C.

Kvalita PCR produktů (délka asi 1 600 bp) byla zkontrolována elektroforézou na 1,5 % agarovém gelu, postup dle práce Hašler et al. (2012).

8. Klonování DNA

U vybraných vzorků bylo přistoupeno ke klonování DNA z důvodu podezření na výskyt více shodných operonů.

Pro transformaci PCR produktů byl použit StrataClone PCR cloning kit (Stratagene, USA). Postup dle práce Jahodářová (2012).

Izolace bakteriálních plazmidů proběhla pomocí High-Speed Plasmid Mini Kit (Geneaid Biotech Ltd., USA), dle přiloženého manuálu.

9. Purifikace PCR produktu

K purifikaci byl využit GenElute™ PCR Clean-Up Kit (Sigma- Aldrich, Co., USA). Postup byl proveden dle přiloženého manuálu u kitu.

Plasmidy a purifikační PCR produkty byly poslány na komerční sekvenování. Na sekvenci primerů byly použity primery M13f a M13r, spolu s vnitřními primery P5 (5'-TGTACACACCGCCCGTC-3') a P8 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCACA-3') (Boyer et al. 2001). K osekvenování PCR produktů byly použity stejné primery jako při jejich amplifikaci, s vnitřními primery P5 a P8, které jsou zmíněny výše. Jednotlivé sekvence byly analyzovány a poskládány v programu Sequencher 5.1 (Gene Codes Corporation, USA).

10. Fylogenetická analýza

Sekvence genu 16S rRNA byly překontrolovány v softwaru Malldard 1.02 (Ashelford et al. 2005) kvůli možnému výskytu chimér nebo jiných abnormalit. Alignment genu byl vytvořen podle algoritmu ClustalW (Larkin et al. 2007) v programu MEGA 5.05 (Tamura et al. 2011). Poté proběhlo ruční zkontrolování alignmentu v softwaru MEGA alignment editor. Dokument byl exportován v různých formátech k následnému využití. Sekvence 16S rRNA genu byly použity ke konstrukci fylogramu.

Maximum likelihood analýza byla provedena pomocí programu MEGA 5.05. K dosažení nejvhodnějšího substitučního modelu pro analýzu bylo zvoleno Bayesiánské Informační kritérium (Schwarz 1978), byl určen jako HKY+G. Výsledný fylogenetický strom byl statisticky testován pomocí bootstrap metody (1 000 opakování).

Maximum parsimony byl analyzován v programu MEGA 5.05. Výsledný fylogram byl statisticky testován pomocí bootstrap metody (1 000 opakování).

Evoluční modely byly vybrány na základě BIC (Bayesian Information Criterion) model testu realizovaného v MEGA 5.05. Evoluční model použitý v Mr. Bayes 3.1 (Ronquist a Huelsenbeck 2003) pro fylogram obsahující stigonematální druhy byl HKY model s gamma-distribucí míry variace mezi bázemi a poměrem nevariabilních bází. Analýza běžela pro 1 000 000 generací, pro výpočet finálního fylogramu byl použit každý stý fylogram. Pro fylogenetický strom obsahující zbytek vzorků byl použit model GRT s gamma-distribucí míry variace mezi bázemi a poměrem nevariabilních bází. Analýza běžela pro 164 310 000 generací, k výpočtu finálního fylogramu byl použit každý pěti tisící fylogram. V obou rekonstrukcích bylo diskartováno prvních 25 % fylogramů jako tzv. burn-in.

11. Změna fyzikálně-chemických podmínek kultivace kmenu E14

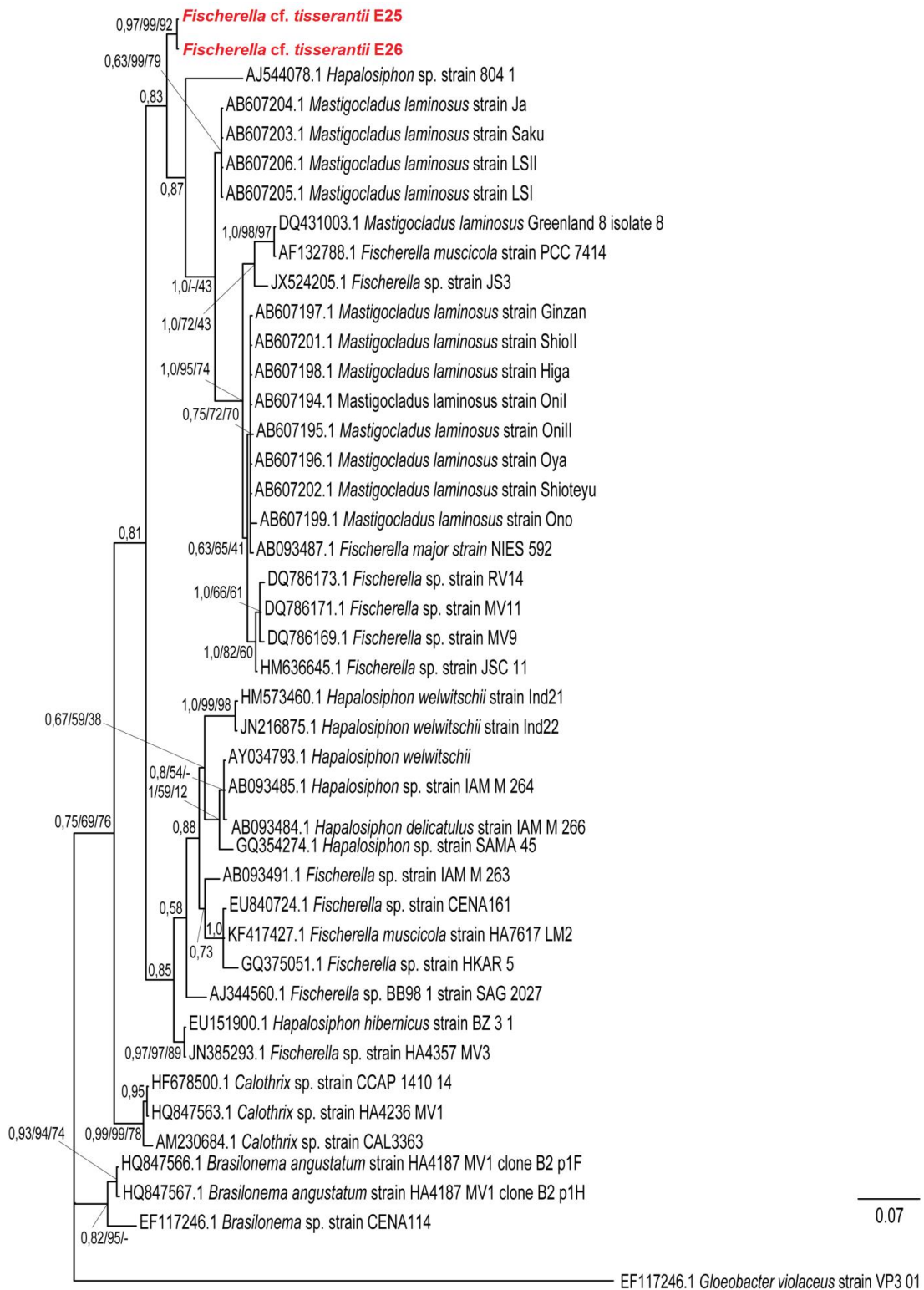
Tento kmen byl umístěn do koncentrační řady Z média (jednotlivé koncentrace 100 %, 50 %, 25 %, 12,5 %). Celá tato koncentrační řada byla překryta buď dvěma vrstvami papíru, jednou vrstvou nebo žádnou. Kultury byly umístěny v kultivačním boxu (22 ± 1 °C, záření $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, světelný režim: 12 h světlo/12 h tma).

VÝSLEDKY

1. Fylogeneze na základě genu 16S rRNA

1.1. Fylogram Stigonematales

K vytvoření matice bylo použito čtyřicet tři taxonů. Jako outgroup byl použit EF117246 *Gloeobacteri violaceus* VP301. K fylogenetické analýze byla použita částečná sekvence genu 16S rRNA (cca 1 100 bp) dvou vyizolovaných kmenů stigonematálních sinic. Matice byla doplněna skoro všemi dostupnými sekvencemi genu 16S rRNA (cca 1 100 bp) rodu *Fisherella*, *Hapalosiphon* a *Mastigocladus*. Také byly použity podobně dlouhé sekvence rodu *Brasilonema* a *Calothrix* (všechny sekvence dostupné z GenBank). Na základě konsenzuálního Bayesova stromu tvořil rod *Calothrix* a rod *Brasilonema* samostatné bazální monofyletické linie s vysokou podporou větví. Morfologicky definované taxony rodu *Mastigocladus*, *Fisherella* a *Hapalosiphon* v rámci fylogramu tvoří několik polyfyletických kladů. Izolované kmény *Fischerella* cf. *tisserantii* E25 a *Fischerella* cf. *tisserantii* E26 vytvářejí samostatnou monofyletickou linii s vysokou podporou kládu.



Obrázek 1.1. Fylogram (konsenzuální Bayesuv strom) založený na sekvenci genu 16S rRNA (velikost fragmentu ~ 1000 bp). Bootstrap podpora ukazuje (zleva doprava) hodnoty posteriorních pravděpodobností, maximum parsimony a maximum likelihood. Červeně jsou zaznačeny mé vzorky.

1.2. Fylogram pro zbývající vzorky

K vytvoření matice bylo použito dvě stě osm taxonů. Jako outgroup byl použit EF117246 *Gloeobacter violaceus* VP301. K fylogenetické analýze byla použita částečná sekvenční genu 16S rRNA (cca 1 100 bp). Bylo studováno dvacet sedm unialgálních kultur. Matice byla doplněna stejně dlouhými sekvencemi rodů sinic, které jsou dostupné z GenBank.

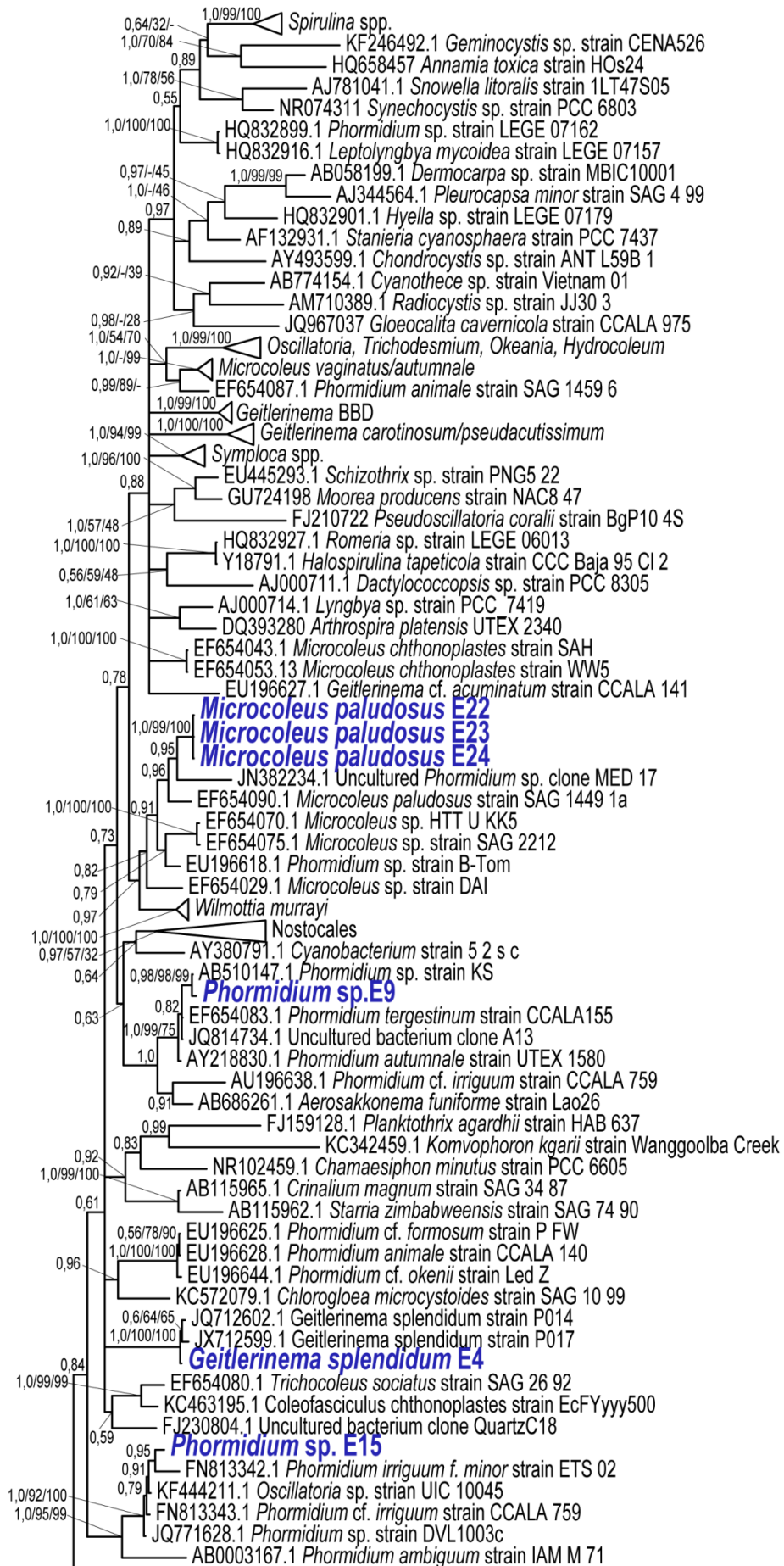
Kmen *Phormidium* sp. E15 leží uvnitř kládu složeného z rodů *Phormidium* a *Oscillatoria*. Celá tato větev má signifikantní podporu. Kmeny *Microcoleus paludosus* E22, *Microcoleus paludosus* E23 a *Microcoleus paludosus* E24 si jsou příbuzné a leží na sesterské linii taxonu JN382234 Uncultured *Phormidium* sp. clon MED 17. Tato větev má podporu 95 %. Taxon *Phormidium* sp. E9 je příbuzný vzorku AB510147.1 *Phormidium* sp. strain KS, tato příbuznost je podpořena 98-99 %. Vzorek *Geitlerinema splendidum* E4 vytváří příbuzný taxon k taxonu JQ712602.1 *Geitlerinema splendidum* strain P014 a k JX712599.1 *Geitlerinema splendidum* strain P014, celá větev je podpořena signifikantní podporou. *Leptolyngbya* sp. E21 je příbuzná vzorku JQ769796.1 Uncultured bakterium clone YJ 67 a vytváří sesterský klád k *Leptolyngbya sensu stricto*. Vzorky *Arthronema africanum* E18, *Arthronema africanum* E19, *Arthronema africanum* E20, *Arthronema africanum* E32 jsou téměř shodné s taxonem AB115966.1 *Arthronema africanum* strain SAG 12 89, celý klastr má vysokou podporu.

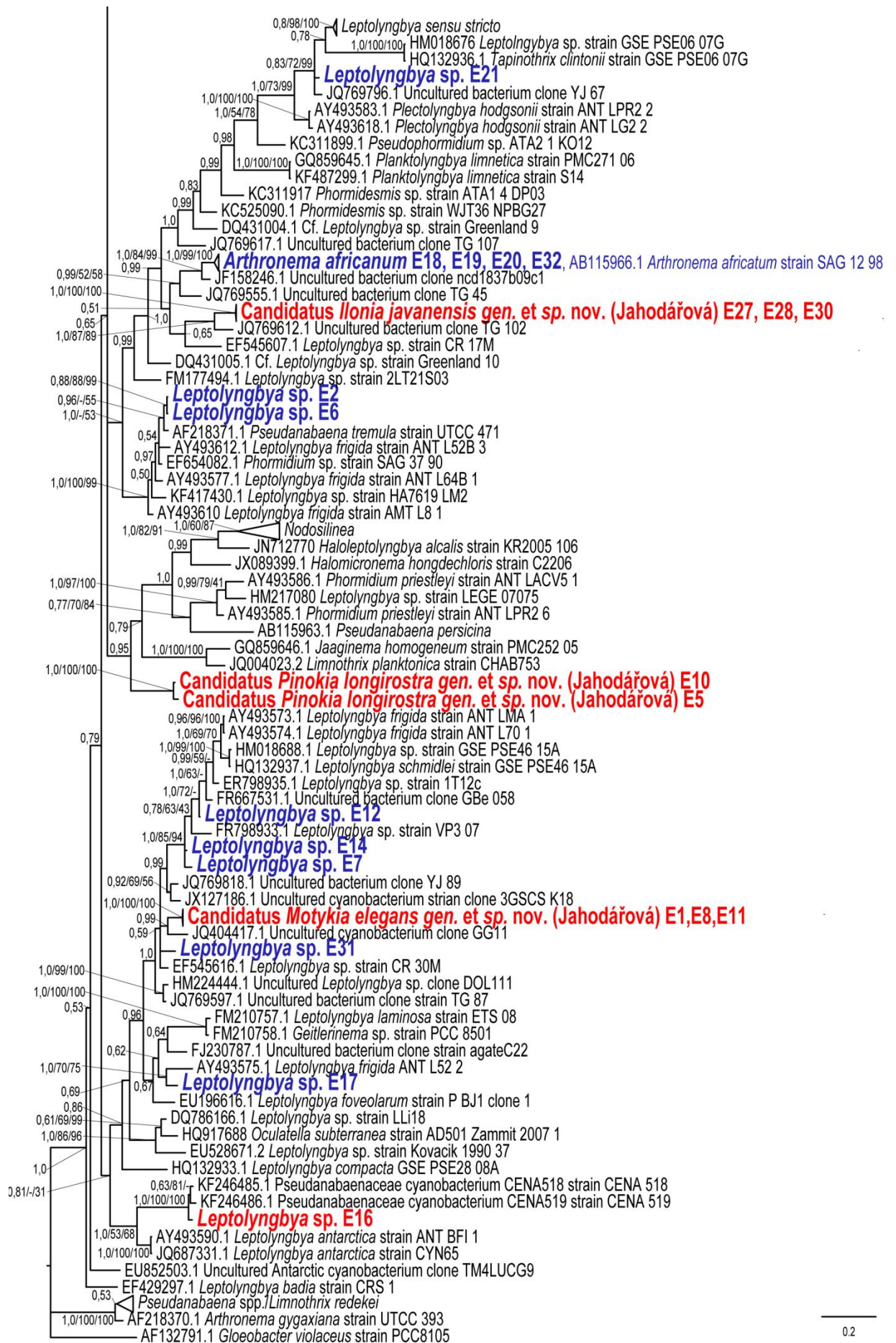
Vzorek candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E27, candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E28 a candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E30 tvoří sesterskou skupinu s JQ769612.1 Uncultured bakterium clone TG 102. S tímto taxonem tvoří vysoce podporovaný samostatný klád. *Leptolyngbya* sp. E2 a *Leptolyngbya* sp. E6 leží v klastru společně se zástupci rodu *Leptolyngbya*, *Pseudanabaena* a *Phormidium*. V tomto vysoce podpořeném kládu jsou převážně zastoupeny druhy *Leptolyngbya frigida*.

Kmen candidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E5 a E10 tvoří v rámci topologie stromu zcela samostatnou linii s vysokou podporou. Vzorek *Leptolyngbya* sp. E12 náleží k druhému kládu, ve kterém je obsažena *Leptolyngbya frigida*. Vzorky E14 a E7 tvoří také signifikantně podporovanou samostatnou větev, která je příbuzná taxonu *Leptolyngbya*.

Vzorek candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E1, candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E11 a candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E8 jsou navzájem příbuzné a leží v sesterské větvi k taxonu

JQ404417.1 Uncultured cyanobacterium clone GG11. S tímto vzorkem tvoří samostatnou větev se 99 % podporou. Vzorek *Leptolyngbya* sp. E31 tvoří samostatnou linii, která je příbuzná s taxony rodu *Leptolyngbya* a Uncultured cyanobacterium clone. Taxon *Leptolyngbya* sp. E17 je příbuzný s taxonem AY493575.1 *Leptolyngbya frigida* ANT L52 2., tato linie nese stoprocentní podporu. *Leptolyngbya* sp. E16 je geneticky podobná taxonu KF246485.1 Pseudanabaenaceae cyanobacterium strain CENA518 a taxonu KF246468.1 Pseudanabaenaceae cyanobacterium strain CENA519. Celý tento klastr nese vysokou podporu.





Obrázek 1.2. Fylogram (konsenzuální Bayesuv strom) založený na sekvenci genu 16S rRNA (velikost fragmentu ~ 1000 bp). Bootstrap podpora ukazuje (zleva doprava) hodnoty posteriorních pravděpodobností, maximum parsimony a maximum likelihood. Modře a červeně jsou zaznačeny mé vzorky. Červené označení rovněž znázorňuje nové rody.

2. Morfologická charakteristika vyizolovaných kmenů

Kmeny nové pro vědu, které budou v budoucnu potvrzeny a publikovány, mají v textu přiřazena kandidátní jména.

Kmen E1, E8, E11 candidatus *Motykia elegans gen. et sp. nov.* (Jahodářová)

Vlákna jednoduchá, nerozvětvená. Často v kolonii, málokdy vlákna samostatně. Vlákna se slizovou pochvou, která je bezbarvá. Trichomy vlnité. Koncové buňky zaoblené, bez kalyptry. Šířka vegetativních buněk 3-4 μm , délka buněk 2-3 μm . Jednotlivé buňky ve vlákne od sebe zřetelně odděleny. Vlákno v místě styku dvou buněk lehce zaškrčené. Nekrotické buňky přítomny. Nevyskytují se granula, aerotopy, heterocyty ani akinety. Barva kolonií je tmavě zelená až namodralá (Příloha 6).

Místo nálezu vzorků E1, E8: Vietnam, Národním parku Cat Tien, dočasný vodní útvar v lese, plankton.

Místo nálezu vzorku E11: Vietnam, vodopád Pongour, žula, písek.

Kmen E5, E10 candidatus *Pinokia longirostra gen. et sp. nov.* (Jahodářová)

Vlákna nevětvená, v kolonii. Asi se slizovou pochvou. Vlákna isopolární, dosti úzká. Buňky od sebe zřetelně odděleny. Výrazně zaškrceny příčné stěny. Šířka buněk je 2 μm , délka buněk 2-4 μm . Koncová buňka trichomu v některých případech značně protáhlá a mírně zašpičatělá (až 12 μm). Vlákna pohyblivá. Barva kolonie a vláken je zelená. V buňkách granula. Nejsou přítomny heterocyty, akinety ani aerotopy (Příloha 9).

Místo nálezu vzorku E5, E10: Vietnam, jezero Hồ Đâu Co, plankton, periphyton, teplota vody 28 °C.

Kmen E27, E28, E30 candidatus *Ilonia javanensis gen. et sp. nov.* (Jahodářová)

Vlákna jednoduchá, v kolonii. Kolonie propletená. Vlákna isopolární a dlouhá. Koncové buňky zaoblené, někdy mírně kónické. Trichomy obsahují bezbarvou slizovou

pochvu, někdy na konci trichomu otevřená. Jednotlivá vlákna kolem sebe obtočená, samostatná vlákna někdy zakroucená. Někdy zamotána ve shlucích. Vlákna tenká, šířka buněk 2 μm a délka buněk 2-3 μm . Buňky asi kubického charakteru. Jednotlivé buňky od sebe zřetelně odděleny. Barva vláken zelenomodrá, stejnou barvu mají i kolonie, obsah vláken homogenní. Ve vláknech se nevyskytují granula ani aerotopy, heterocyty, akinety nebo aerotopy (Příloha 21).

Místo nálezů vzorků E27, E28, E30: západ ostrova Jáva, blízko vesnice Tamanjaya, Národní park Ujung Kulon, horký pramen, kůra stromu.

Kmen E2, E6 *Leptolyngbya* sp.

Vlákna jsou nevětvená, jednoduchá. Slizová pochva bezbarvá, přítomna. Vlákna v kolonii. Jednotlivé trichomy propletené. Vlákna s isopolárními konci. Trichomy rovné, vlnité i spirálovitě zatočené. Vlákna dosti úzká, šířka jednotlivých buněk 1 μm , délka buněk 1-2 μm . Buňky od sebe zřetelně odděleny, příčné stěny zaškrčené. Koncové buňky se zaobleným koncem. Nekrotické buňky ve vláknech přítomny. Nejsou přítomna granula, aerotopy, heterocyty a akinety. Barva kolonií tmavě zelená, obsah buněk homogenní (Příloha 7).

Místo nálezů vzorku E2: Vietnam, vodopád Thac Van Son, písek, jíl.

Místo nálezů vzorku E6: Vietnam

Kmen E4 *Geitlerinema splendidum*

Nevětvená vlákna, málokdy osamělá. Slizová pochva přítomna, bezbarvá. Vlákna isopolární, rovná. Vlákna úzká, buňky delší než širší, šířka buněk 2 μm , délka buněk 4 μm . Buňky od sebe zřetelně odděleny. Není přítomno zaškrčení příčných stěn vláken. Koncové buňky se postupně zužují do špičky a většinou jsou mírně zahnuté. Vlákna pohyblivá. Nejsou přítomny aerotopy, heterocyty a akinety. Granula zřídka. Obsah buněk světle modrozelený (Příloha 8).

Místo nálezů vzorku E4: Vietnam, řeka Thuc Ong Thung, žula, písek.

Kmen E7 *Leptolyngbya* sp.

Vlákna jednoduchá, v kolonii. Trichomy obsahují bezbarvou slizovou pochvu. Přítomno nepravé větvení typické pro rod *Leptolyngbya*. Vlákna isopolární, rovná někdy lehce zakroucená nebo ohnutá. Koncová buňka zaoblená, jednotlivé buňky od sebe nezřetelně odděleny. U některých vláken koncové buňky ztloustlé. Vlákna

pohyblivá. Šířka vegetativní buňky 2 μm , délka buňky 3 μm . Vnitřní obsah homogenní. Nekrotické buňky přítomny. Barva zelená. Neobsahují granula, aerotopy, heterocyty nebo akinety. I po deseti dnech v úplné tmě byly kolonie stále zelené. A častěji bylo viditelné nepravé větvení (Příloha 10).

Místo nálezu vzorku E7: Vietnam, Národní park Cat Tien, pramen v deštném lese, bentos.

Kmen E14 *Leptolyngbya* sp.

Vlákna jednoduchá, v kolonii. Trichomy obsahují bezbarvou slizovou pochvu. Přítomno nepravé větvení typické pro *Leptolyngbya*. Vlákna isopolární, některá spirálovitě stočená, zakroucená, kudrnatá. Někdy vlákno vytvářelo smyčku spojenou slizovým můstkem. Buňky od sebe nezřetelně odděleny. Šířka vegetativních buněk 2 μm , délka 4 μm . Vnitřní obsah buněk homogenní. Nekrotické buňky přítomny. Barva vláken zelená. Neobsahují granula, aerotopy, akinety ani heterocyty. I po deseti dnech v úplné tmě byla kolonie stále zelená. Při zhoršujících se podmínkách byla vlákna více zakroucená, spletená, vlnitá, spirálovitě stočená, častěji se vyskytovaly smyčky na vláknech spojené slizovým můstkem (Příloha 11).

Místo nálezu vzorku E14: Mongolsko, řeka Zavhan Gol, fytoplankton.

Kmen E9 *Phormidium* sp.

Vlákna jednoduchá, nerozvětvená. V koloniích. Trichomy dlouhé, s bezbarvou slizovou pochvou. Některá vlákna rovná jiná zatočená. Buňky od sebe zřetelně odděleny. Koncová buňka se zužuje a konec je zašpičatělý, někdy ohnutý na stranu. Buňky delší než širší, šířka buněk 3 μm , délka buněk 2-6 μm . Trichomy pohyblivé. Granula viditelná. Barva trichomů modrozelená. Bez přítomnosti akinet, heterocytů a aerotopů (Příloha 12).

Místo nálezu vzorku E9: Vietnam, jezero Hồ Đâu Co, bentos, teplota vody 31 °C.

Kmen E12 *Leptolyngbya* sp.

Trichomy v koloniích, málokdy samostatně. V koloniích vlákna vzájemně spletená. Trichomy se slizovou bezbarvou pochvou. Vlákna isopolární se zaobleným koncem vláken. Vlákna rovná, vlnitá, zakroucená. Šířka vegetativních buněk 2 μm , délka 2 μm . Přítomno nepravé větvení, které je typické u rodu *Leptolyngbya*.

Nekrotické buňky ve vláknech. Vlákna s nehomogenním obsahem, přítomna granula. Kolonie barvy zelené až světle zelené. Akinety, heterocyty a aerotopy se nevyskytují (Příloha 13).

Místo nálezu vzorku E12: Mongolsko, jezero Har Us, perifyton.

Kmen E15 *Phormidium* sp.

Trichomy jednoduché, v koloniích. Trichomy nerozvětvené, s bezbarvou slizovou pochvou (někdy dosti tlustou). Vlákna isopolární, často rovná, někdy se v kultuře navzájem obtáčejí a různě krotí. Buňky od sebe dobře rozlišitelné. Jemné zaškrčení příčné buněčné stěny, někdy na koncích vláken výraznější. Koncová buňka zaoblená. Šířka vegetativních buněk vlákna 4-7 μm , délka buněk 2-3 μm . Uvnitř trichomů nekrotické buňky. Barva vláken zelená až tmavě zelená. Bez aerotopů, heterocytů a akinet. Rozmnožování hormogonií (Příloha 14).

Místo nálezu vzorku E15: bajkalská část Ruska, u města Enkhaluk, termální pramen, detrit, teplota vody 38,5 °C.

Kmen E16 *Leptolyngbya* sp.

Nevětvená, jednoduchá vlákna, v koloniích. Na povrchu trichomy obsahují bezbarvou slizovou pochvu. Vlákna v kolonii propletená, převážně rovná, někdy ohnutá. Vlákna s isopolárními konci. Jednotlivé buňky od sebe dobře odlišeny. Někdy velice lehké zaškrčení příčné buněčné stěny vlákna. Šířka buněk 1 μm , délka buněk 1,5-2 μm . Barva vláken a kolonií zelená až zelenomodrá s homogenním obsahem. Nejsou přítomny heterocyty, akinety ani aerotopy (Příloha 15).

Místo nálezu vzorku E16: bajkalská část Ruska, u města Enkhaluk, termální pramen, detrit, písek, teplota vody 38,5 °C.

Kmen E17 *Leptolyngbya* sp.

Vlákna jednoduchá, v koloniích. Vlákna s nepravým větvením. Trichomy s bezbarvou slizovou pochvou, vzájemně propleteny. Některá vlákna vlnitá, spirálovitě stočená. Některé trichomy stočeny v uzly. Vlákna isopolární, konce vláken zaoblené. Jednotlivé buňky od sebe hůře rozlišitelné. Šířka buněk 2-3 μm , délka 1,5-2 μm . Barva kolonií zelená. Granula, akinety, heterocyty a aerotopy nepřítomny (Příloha 16).

Místo nálezu vzorku E17: bajkalská část Ruska, řeka Vydrinnaya, perifyton.

Kmen E18, E19, E20, E32 *Arthronema africanum*

Vlákna jednoduchá, nerozvětvená, málokdy samostatně, většinou v kolonii. Jednotlivá vlákna kolonie navzájem propletená a značně zamotaná. Trichomy se slizovou pochvou, která je bezbarvá. Někdy pochva přesahuje konec vlákna. Isopolární vlákna někdy ohnutá nebo zkroucená. Trichomy s lehkým zaškrcením v místě dotyku dvou buněk. Koncové buňky vlákna zaoblené. Buňky kubického charakteru, délka 2 μm a šířka buněk 2-3 μm . Aerotopy, granula, heterocyty a akinety chybí. Uvnitř vláken nekrotické buňky. Barva kolonií i samotných vláken modrozelená, homogenní obsah vláken (Příloha 17).

Místo nálezů vzorků E18, E19, E32: východ ostrova Borneo, okrsek Long Berang deštný prales, kůra stromů.

Místo nálezů vzorku E20: východ ostrova Borneo, vesnice Nansurang, půda ve vesnici

Kmen E21 *Leptolyngbya* sp.

Vlákna většinou v kolonii. Trichomy s bezbarvou slizovou pochvou, někdy dost silnou. Vlákna isopolární, někdy ohnutá a zkroucená. Koncové buňky zaoblené, mírně kónické. Uvnitř vlákna se vyskytují nekrotické buňky. Šířka buněk 2-3 μm , délka buněk 2-3 μm . Bez výskytu aerotopů, granulí, heterocytů a akinet. Kolonie jsou barvy zelenomodré. Konce buněk někdy bez slizové pochvy. Někdy naopak slizová pochva přechází přes konec vlákna. Dělení vlákna typické u rodu *Leptolyngbya* (Příloha 18).

Místo nálezů vzorku E21: východ ostrova Borneo, vesnice Nasarang, půda.

Kmen E22, E23, E24 *Microcoleus paludosus*

Vlákna nerozvětvená, většinou v kolonii. Vlákna v kolonii značně propletená. Kolonie okem viditelné. Vlákna isopolární. Trichomy se slizovou pochvou, která je bezbarvá, uvnitř slizové pochvy vždy pouze jedno vlákno. Někdy pochva přesahuje koncovou část vlákna. Někdy jsou trichomy zakroucené a ohnuté. Koncové buňky zaoblené, někdy kónické. Šířka buňky 4 μm , délka buňky 4-6 μm . Buňky kubické nebo cylindrické. Ve vláknech přítomna granula. Barva tmavě zelenomodrá. Nevyskytují se nekrotické buňky, heterocyty, akinety ani aerotopy. Rozmnožování hormogonií (Příloha 19).

Místo nálezů vzorků E22, E23, E24: východ ostrova Borneo, deštný prales, kůra stromů.

Kmen E25, E26 *Fischerella cf. tisserantii*

Jedná se o vláknitou, stigonematální sinici. Kolonie vytváří rohože, které jsou plst'ovitého charakteru. Z hlavního vlákna vyrůstají na obě dvě strany vlákna boční. Přítomno pravé větvení (T-typu). Trichomy někdy isoseriální, častěji multiseriální, šířka celého trichomu 10-12 (14) μm . Vegetativní buňky hlavního vlákna kulovitého nebo soudečkovitého charakteru, šířka buňky 7-8 μm , délka buňky 4-7 μm . Hlavní vlákno různě ohnuté. Buňky bočních vláken kulovité nebo cylindrického tvaru, šířka 3-7 μm , délka 5-7 μm . Buňky od sebe zřetelně odlišeny, zaškrčená příčná buněčná stěna. Koncová vegetativní buňka zaoblená, mírně kónická. Postranní vlákna v některých případech zakroucená a ohnutá. Heterocyty přítomny, kulovitého tvaru, velikost 5-7 μm . Na povrchu vláken bezbarvá slizová pochva. Vlákna u báze větvení široká, postupně se zužují. Plasma buněk zrnitá. Barva vláken tmavě zelená. Některá samostatná vlákna se pohybovala. (Příloha 20).

Místo nálezu vzorků E25, E26: západ ostrova Jáva, v blízkosti vesnice Tamanjaya, Národní park Ujung Kulon, deštný les, horký pramen, povrch kamene.

Kmen E31 *Leptolyngbya sp.*

Vlákna v kolonii. Kolonie propletená. Jednotlivá vlákna isopolární, koncové buňky zaoblené. Trichomy s bezbarvou slizovou pochvou. Vlákna zakroucená, některá vlnitá a stočená. Šířka buněk 2 μm , délka buněk 1-2 μm . Buňky jsou od sebe nezřetelně odděleny. Ve vláknech viditelná granula. Výskyt nekrotických buněk. Barva vláken tmavě zelená až namodralá. Nevyskytují se heterocyty, akinety ani aerotopy (Příloha 22).

Místo nálezu vzorku E31: východ Javy, blízko vesnice Tamanjaya, Národní park Ujung Kulon, přírodní brázda do rýžoviště, kámen.

DISKUZE

Znalost struktury a diverzity subaerofytických tropických (Neuskupa a Škaloud 2010) i akvatických sinic je značně vzdálená od skutečné situace. Taxonomie sinic vyžaduje důkladnou revizi (Komárek et al. 2009). V současnosti nelze k taxonomii sinic přistupovat jedním způsobem, kdy jsou využity pouze data morfologická, molekulární nebo ekologická. Nejvhodnější je aplikovat takzvaný polyfázický přístup, který kombinuje data tradiční s daty molekulárními (Komárek 2005; Komárek et al. 2009; Strunecký et al. 2011; Hašler et al. 2012; Hašler et al. 2014). Velká většina tradičně definovaných rodů není homogenní a měly by být separovány do samostatných taxonomických klastrů (Strunecký et al. 2011). Vystává rovněž otázka, jak vymezit taxonomický rod a druh. Jako kritérium pro oddělení jednotlivých rodů byl navržen 95 % limit genetické podobnosti (Stackebrandt a Goebel 1994). Molekulární separace rodů spolu s apomorfním morfologickým znakem se jeví jako nejlepší cesta definice rodu (Komárek 2010; Strunecký et al. 2011). Není však možné striktně akceptovat tento limit 95 % k separaci rodů. Musí být rovněž zahrnuty i další markery (například morfologické, ekologické). U některých rodů jako je třeba *Synechococcus*, *Leptolyngbya* nebo *Pseudanabaena* je dosti obtížné definovat taxony po morfologické stránce. Proto se používá status kryptický taxon (rod nebo druh) (Dvořák et al. 2014).

Rod *Fischerella* je, stejně jako *Hapalosiphon* a *Mastigocladus* polyfyletický taxon, jak vyplývá z topologie fylogramu Stigonematales (Obrázek 1.1.). Tím jsem zároveň potvrdila, že řád Stigonematales není monofyletický a měl by být separován do několika skupin na základě typu větvení (Gugger a Hoffmann 2004). Vzorke E25 a E26 byly morfologicky determinovány jako *Fischerella* cf. *tisserantii* E25 a E26 a ve fylogenetickém stromu tvoří zcela samostatnou větev s velice vysokou podporou. Od toho druhu nejsou dostupná molekulární data, proto v této chvíli nejsem schopna danou situaci rozřešit. Typovým druhem rodu *Fischerella* je *Fischerella thermalis*. Od tohoto rodu nejsou v databázi GenBank prozatím dostačující data. Avšak pokud budou kmeny *Fischerella* cf. *tisseranti* E25 a E26 příbuzné typovému druhu *Fischerella thermalis* bude potvrzeno, že se skutečně jedná o *Fischerella tisserantii*. Pokud bude *Fischerella thermalis* nepříbuzná mým vzorkům, bude se jednat o novou kombinaci tohoto taxonu a tudíž odlišný rod. Doporučovala bych celkovou revizi taxonu Stigonematales nebo alespoň rodů *Fischerella*, *Hapalosiphon* a *Mastigocladus*.

Kmeny E1, E8, E11 jsou příbuzné s JQ404417.1 Uncultured cyanobacterium clone GG11 s nesignifikantní podporou. Kmeny spolu vytváří zcela samostatnou větev s 99 % podporou v rámci topologie fylogramu (Obrázek 1.2.). Na základě tohoto faktu jsem stanovila nový rod s kandidátním jménem *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová). Morfologicky je tento druh podobný rodu *Phormidium*, který je polyfyletický a dají se předpokládat další zatím nepopsané linie sdílející morfologické vlastnosti (Hašler et al. 2012). Nicméně zatím nebyla nalezena žádná morfologická apomorfie, která by tento rod a druh odlišila pouze na základě morfologického přístupu. Mohlo by se jednat o další příklad kryptického rodu.

Kmeny E5 a E10 vytváří rovněž zcela samostatnou větev, která má podporu 100 %. Morfologicky jsou tyto kmeny podobné rodu *Pseudanabaena*. Avšak rod *Pseudanabaena* není homogenní a dosud nebyl dostatečně taxonomicky zrevidován (Acinas et al. 2009). Na základě této informace byl stanoven potenciaální nový rod candidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov. (Jahodářová). Apomorfii, která by rod definovala po morfologické stránce, by mohla být výrazně protáhlá koncová buňka vlákna.

Kmeny E27, E28 a E30 rovněž vytváří samostatnou linii se 100 % podporou. Zmíněné vzorky jsou morfologicky totožné s rodem *Leptolyngbya*. Taxony rodu *Leptolyngbya* tvoří monofyletickou skupinu (Alberto a Kovácik 1994; Komárek a Anagnostidis 2005; Perkinson et al. 2011). Ve fylogramu (Obrázek 1.2.) jsou rozprostřeny v rámci celého stromu. Tento rod by měl být na základě studie genu 16S rRNA rozdělen na několik zcela samostatných rodů (Casamatta 2005; Komárek a Anagnostidis 2005). U kmenu E27, E28, E30 nebyla nalezena žádná morfologická apomorfie. U druhů taxonu *Leptolyngbya* se vyskytuje jen velice málo znaků, které jsme schopni využít při identifikaci (Alberto a Kovácik 1994; Casamatta 2005). Pravděpodobně se jedná o kryptický rod, který byl provizorně pojmenován candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová).

Kmeny E22, E23, E24 jsou příbuzné JN382234.1. Uncultured *Phormidium* sp. clone MED 17. Morfologicky byly kmeny určeny jako *Microcoleus paludosus*. Taxonomie skupiny *Phormidium/Microcoleus* je problematická (Boyer et al. 2002; Siegesmund et al. 2008) a navzájem se prolíná. Recentní revize rodu *Microcoleus* založená na molekulárních datech prokázala jeho polyfyletičnost (Mühlsteinová et al. 2014). Je nevyhnutelné rozdělení rodu *Microcoleus* na více samostatných rodů. Typovým druhem tohoto rodu je *Microcoleus vaginatus*, který je fylogeneticky dobře

definován (Garcia-Pichel et al. 2001) a umožňuje snazší revizi rodu *Microcoleus* (Müchelsteinová et al. 2014). Strunecký et al. (2011) vyčlenil samostatný rod *Wilmottia*, Siegesmund et al. (2008) stanovila nový rod *Coleofalculus* a Anagnostidis (2001) rovněž definoval nový rod *Trichocoleus*. Dle Komárek a Anagnostidis (2005) byl *Microcoleus paludosus* zaznamenán i v tropických a subtropických oblastech, totožnost s evropskými druhy musí být ještě prozkoumána po molekulární stránce.

Kmen E9 byl dle morfologie determinován jako *Phormidium* sp., spolu s kmenem AB510147.1 *Phormidium* sp. strain KS tvoří společný klád, který má podporu 98-99 %. Bohužel nejsem schopna porovnat vzájemnou morfologii těchto dvou kmenů. Kmen AB510047.1 *Phormidium* sp. strain KS je publikován pouze v databázi GenBank. *Phormidium* sp. E9 bylo nalezeno v jezeře Hồ Đâu Co s teplotou vody 31 °C, což je pro tento rod netypické. Rod *Phormidium* je taktéž polyfyletický (Palinska a Marquardt 2008), jak je patrné s fylogenetického stromu založeného na fragmentu sekvence genu 16S rRNA.

Kmen E15 byl morfologicky identifikován jako *Phormidium* sp., tento kmen leží ve společné větvi se zástupci rodu *Phormidium* a *Oscillatoria*. Celý tento klastř nese podporu 95 % a 100 %. Shishido et al. (2013) vzhled kmenu JQ771628.1 *Phormidium* sp. strain DVL 1003c v publikaci neuvádí. Podobnost kmenu FN813342.1 *Phormidium irriguum* f. *minor* strain ETS 02 s kmenem *Phormidium* sp. E15 je špatně porovnatelná dle publikace Scuito et al. (2012). Popis obou taxonů je podobný, ale *Phormidium* sp. E15 nevytváří na konci vlákna ztluštělou bezbarvou slizovou pochvu. Pro přesné porovnání by musely být zhodnoceny živé preparáty. Kmen FN813343.1 *Phormidium* cf. *irriguum* strain CCALA 759 je příbuzný kmenu FN813342.1 *Phormidium irriguum* f. *minor* strain ETS 02, ale morfologicky neodpovídá *Phormidium* sp. E15. Je také zajímavé, že kmen *Phormidium* sp. E15 pochází z termálního pramene o teplotě vody 38,5 °C s pH 9. FN813342.1 *Phormidium irriguum* f. *minor* strain ETS byl nalezen v termálním prameni v Itálii s teplotou vody okolo 40 °C s pH 6,8. Kmen JQ771628.1 *Phormidium* sp. strain DVL 1003c byl izolován z nádrže v USA, kmen FN813343.1 *Phormidium* cf. *irriguum* strain CCALA 759 z litorálu nádrže na Slovensku.

Kmeny E7 a E14 tvoří ve fylogramu (Obrázek 1.2.) samostatnou skupinu, která je podpořena 100 % a 93 %. Morfologicky jsou kmeny podobny rodu *Leptolyngbya*, avšak vytváří morfologické struktury, kterými by mohly být v budoucnu odlišeny (například vlákno tvořilo spirály, smyčky). Kmen E14 se mírně morfologicky

i molekulárně liší od kmenu E7. Za zmínku stojí, že kmen E14 byl nalezen v Mongolsku, zatímco kmen E7 ve Vietnamu. Na vyřešení otázky ohledně taxonomie kmenu E7 a E14 spolupracujeme s prof. Jeffrey R. Johansen z John Carroll University, Ohio, USA. „Pravděpodobně náleží do příbuznosti rodu *Oculatella* odvozeného od rodu *Leptolyngbya*“ (Dr. Nicole Pietrasiak, osobní komunikace). Pro lepší objasnění situace by se měl použít odlišný molekulární marker a ten porovnat s dalšími sekvencemi, které zatím nejsou dostupné v databázi GenBank.

Kmen E31 byl charakterizován jako *Leptolyngbya* sp. Po molekulární stránce je postavení v rámci Pseudanabaenaceae nejasné. Pro přiblížení skutečnosti by měl být použit jiný molekulární marker například ITS region mezi 16S-23S rRNA, který odhalí zda se jedná o nový rod. Nicméně rod *Leptolyngbya* (Perkerson et al. 2011) je polyfyletický, proto by se mohlo jednat o nový monospecifický rod.

Kmen E17 morfologicky spadá do taxonu *Leptolyngbya*, je pravděpodobně geneticky příbuzný taxonu AY93575.1 *Leptolyngbya frigida* ANT L52 2, i když má společná větev poměrně vysokou podporu, není mezi sekvencemi úplná shoda. *Leptolyngbya frigida* je polyfyletický druh (Dvořák et al. 2014). *Leptolyngbya* sp. E17 byla nalezena v bajkalské části Ruska, taxon AY93575.1 *Leptolyngbya frigida* ANT L52 2 pochází z Antarktidy. Zda se v našem případě jedná skutečně o druh *Leptolyngbya frigida* nebo o novou linii, vyřeší budoucí studie jiného molekulárního markeru.

Kmen E16 byl dle morfologie popsán jako *Leptolyngbya* sp. E16. Na základě genu 16S rRNA vytvořil tento kmen spolu s taxony KF246485.1 Pseudanabaenaceae cyanobacterium strain CENA 518 a KF246486.1 Pseudanabaenaceae cyanobacterium strain CENA 519 samostatný klád se signifikantní podporou. Kmen *Leptolyngbya* sp. E16 je z bajkalské části Ruska z termálního pramene s teplotou vody 38,5 °C a pH 9. Příbuzné kmeny v kládu pocházejí z Brazílie ze slaných alkalických jezer. Pravděpodobně se jedná o nový kryptický rod, který bude blíže studován.

Kmen E21 byl determinován jako *Leptolyngbya* sp. Taxon je příbuzný s JQ769796.1 Uncultured bacterium clone YJ 67 a pravděpodobně jsou tyto dva taxony příbuzné *Leptolyngbya sensu stricto*. Zda se jedná skutečně o nový druh nebo ne v rámci pravé *Leptolyngbya* musí být ještě prověřeno. Pro ověření tohoto tvrzení bych navrhovala použít například odlišný molekulární marker (ITS region mezi 16S-26S rRNA, gen 23S rRNA, gen *rbcL*) nebo studium sekundárních struktur domény D1-D1'

helix, antiterminálního helix B-Boxu, V2 helix a V3 helix u ITS regionu mezi 16S-23S rRNA.

Leptolyngbya frigida vytváří ve fylogramu dva velké klastry (Obrázek 1.2.). Vzorek E2 a E26 tvoří sesterskou větev prvního klastru tvořeného *Leptolyngbya frigida*. Celý tento klástr má vysokou podporu 99 % a 100 %. Morfologicky jsem kmen E2 a E6 popsala jako *Leptolyngbya* sp. Vegetativní buňky vlákna jsou však výrazně zaškrbené a částečně připomínají rod *Pseudanabaena*. K *Leptolyngbya* sp. E2 a E6 je nejpříbuznější AF218371.1 *Pseudanabaena tremula* strain UTCC 471. Rod *Pseudanabaena* i *Leptolyngbya* jsou polyfyletické (Acinas et al. 2009; Perkerson et al. 2011) a jejich odlišení je někdy velmi složité. Morfologicky definované druhy se na základě genetické příbuznosti často prolínají. V kládu jsou promíchány druhy z polárních oblastí a druhy z tropů.

Kmeny E18, E19, E20 a E32 jsou příbuzné taxonu AB115966.1 *Arthronema africanum* SAG 12 89. Klád do kterého společně spadají má vysokou podporu 99 % a 100 %. Morfologicky se *Arthronema africanum* E18, E19, E20 a E32 od popisu klasické *Arthronema africanum* dle Anagnostidis a Komárek (1988) částečně liší. Vyskytovala se bezbarvá slizová pochva a nekrotické buňky, ale nebylo přítomno asymetrické rozšíření buněk. Příbuzný kmen AB115966.1 *Arthronema africanum* SAG 12.89 byl nalezen v Nepálu (o dalších kmenech *Arthronema africanum* nejsou data publikována). Ostatní kmeny AB482073.1 *Arthronema* sp. BGA-9, AB482072.1 *Arthronema* sp. BGA-8 a AB482071.1 *Arthronema* sp. BGA-7 byly vyizolovány z rýžového pole v Japonsku. AF218370.1 *Arthronema gygaxiana* UTCC 393 byla vyizolována z kanadského jezera v Ontariu. Tímto jsem potvrdila výskyt druhu *Arthronema africanum* i na ostrově Borneo.

Kmen E12 je morfologicky shodný s morfologicky definovaným rodem *Leptolyngbya*. Spadá do druhého klastru tvořeného převážně druhem *Leptolyngbya frigida*, který má podporu okolo 70 %. Kmen *Leptolyngbya* sp. E12 byl nalezen v mongolském jezeře Har Us. Klád dále zahrnuje například vzorky pocházející z italské fontány nebo Antarktidy.

Kmen E4 byl morfologicky i molekulárně determinován jako *Geitlerinema splendidum*. Kmeny JQ712602.1 *Geitlerinema splendidum* P014 a JX7125991. *Geitlerinema splendidum* P017 tvoří samostatnou větev s podporou 100 %.

U většiny eurakyotních organismů je zcela evidentní, zda žijí v tropech nebo v polárním regionu (například Hunt a Roy 2006). U prokaryot zmíněné tvrzení říci

nemůžeme. Tato studie také dokládá výskyt taxonů spadajících do jednoho klastru v různých zeměpisných šířkách. Taxon *Leptolyngbya* sp. E2 a E6 pochází z tropů, zatímco příbuzné taxony AY493577.1 *Leptolyngbya frigida* strain ANT L64B 1 a AF218371.1 *Pseudanabaena tremula* strain UTCC 471 byly nalezeny v polárních oblastech.

ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá problematikou taxonomie sinic za použití polyfázického přístupu. Studované vzorky byly získány z asijského kontinentu, konkrétně z Vietnamu, Bornea, Jávy, Mongolska a bajkalské části Ruska. Celkově bylo do studie zahrnuto 29 unialgálních kmenových kultur. Nejčastěji byly zastoupeny taxony řádu Oscillatoriales, v menší míře řádu Stigonematales. Pro konstrukci fylogenetického stromu byl použit fragment genu 16S rRNA. Kulture byly rovněž vyhodnoceny dle morfologie.

Díky této studii byl doložen výskyt druhu *Arthronema africanum* i na ostrově Borneo. Dále byl determinován druh *Geitlerinema splendidum* z Vietnamu. Ve vzorcích byl nejčastěji zastoupen rod *Leptolyngbya sensu lato*. Díky polyfyletičnosti zmíněného rodu nejsou některé taxonomické vztahy v rámci fylogramu příliš jasné a je potřeba přistoupit ke studii odlišného molekulárního markeru než byl zvolen v této studii, například ITS region mezi 16S-23S rRNA nebo gen *rbcL*. Rovněž byla řešena taxonomie v rámci rodů *Fischerella*, *Mastigocladus* a *Hapalosiphon*. Ke zjištění vzájemných vztahů stigonematálních rodů je nutná revize zmíněných rodů.

V rámci práce byly popsány nové rody sinic, mezi které patří candidatus *Pinokia longirostra gen. et sp. nov.* (Jahodářová), která se vyznačuje výrazně delší koncovou buňkou vlákna. Dále pak candidatus *Motykia elegans gen. et sp. nov.* (Jahodářová), candidatus *Ilonia javanensis gen. et sp. nov.* (Jahodářová). Tyto dva rody jsou pravděpodobně kryptické, prozatím nebyla objevena žádná apomorfie, která by je morfologicky definovala.

Rovněž byla zjištěna genetická podobnost mezi kmeny, které pocházely ze zcela odlišných geografických oblastí. Na základě tohoto zjištění můžeme předpokládat široký areál výskytu některých cyanobakteriálních kmenů a rovněž schopnost snášet rozličné environmentální podmínky prostředí.

POUŽITÁ LITERATURA

- Acinas, S. G., Haverkamp, T. H. A., Huisman, J. a Stal, J. (2009): Phenotypic and genetic diversification of *Pseudanabaena* spp. (cyanobacteria). -The International Society for Microbial Ecology Journal 3: 31-46.
- Adams, J. S. (2001): Changes in forest community structures of tropical montane rain forest on the slope of Mt. Trus Madi in Sabah, Malaysia. -Journal of Tropical Forest Science 13: 76-92
- Alberto, P. a Kováčik, L. (1994): Is the genus *Leptolyngbya* (Cyanophyta) a homogenous taxon?. -Algological Studies 75: 37-51.
- Anagnostidis, K. (2001): Nomenclatural ganges in cyanoprokaryotic order Oscillatoriales. -Preslia 73: 359-375.
- Anagnostidis, K. a Komárek, J. (1988): Modern approach to the classification system of cyanophytes Tiel 3- Oscillatoriales. -Archiv für hydrobiologie 80: 327-472
- Anagnostidis, K. a Komárek, J. (1990): Modern approach to the classification systém of cyanophytes Tiel 5- Stigonematales. -Algological Studies 59: 1-73.
- Ashelford, K. E., Chuzhanova, N. A., Fry, J. C., Jones, A. J. a Weighman, A. (2005): At least 1 in 20 16S rRNA sequence records currently held in public repositories is estimated to contain substantial anomalies. -Applied and Environmental Microbiology 71: 7724-7736.
- Belligner, E. G. a Sigeo, D. C. (2010): Freshwater algae: identification and use as bioindicators.- 271 pp., Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Bischoff, H. W. a Bold, H. C. (1963): Phylcological Studie. IV. Some algae from Enchanted Rock and related algal species. -University of Texas Publication 6318: 1-95.
- Bohunická, M., Johansen, J. R. a Fučíková, K. (2011): *Tapinothrix clintonii* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria), a new species at the nexus of five genera. -Fottea 11: 127-140.
- Bornet, E. a Flahault, C. (1886-1888): Revision des Nostocacécs heterocystées. - Annales des Sciences Naturelles. Botanique 7/3: 323-381, 4: 343-373, 5: 51-129, 7: 171-262.
- Bourelly, P. (1969): Quelques remargues sur la classification des algues blues: Stigonematales et Oscillatoriales. -Verhandlungen des Internationalen Verein Linnologie 17: 757-760.
- Boyer, S. L., Flechtner, V. R. a Johansen, J. R. (2001): Is the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in cyanobacteria. -Molecular Biology and Evolution 18: 1057-1069.

Boyer, S. L., Johansen, J. R. a Howerd, G. L. (2002): Phylogeny and genetic variance in terrestrial *Microcoleus* (Cyanophyceae) species based on sequence analysis of the 16S rRNA gene and associated 16S-23S ITS region. -Journal of Phycology 38: 1222-1225.

Brock, T. D. (1978): Thermophilic microorganisms and life at high temperatures.- 465 pp., Springer Verlag, New York.

Bruno, L. a Albertano, P. (1999): Photoacclimation of sciaphilous epilithic cyanobacteria isolated from Roman hypogea. -Archiv für Hydrobiologie, Supplement, 129: 89-103.

Casamatta, D. A., Johansen, J. R., Vis, M. L. a Broawater, S. T. (2005): Molecular and morphological characterization of ten polar and Nera-polar strains within the Oscillatoriales (Cyanobacteria). -Journal of Phycology 41: 421-438.

Castenholz, R. W. (1989): Subsection V. order Stigonematales.- In: Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfennig, N. a Holt, J. G. (eds.): Bergey's manual of systematic Bacteriology 1: 1794-1799, Williams a Wilkins, Baltimore.

Castenholz, R. W. (2001): Phylum BX. Cyanobacteria.- In: Boone, D. R. a Castenholz, R. W. (eds.): Bergey's manual of systematic Bacteriology 2: 473-487, Springer Verlag, New York.

Castenholz, R. W., Rippka, R., Herdman, M a Wilmotte, A. (2001): Form-genus XII. *Pseudanabaena* Lauterborn 1916.- In: Boone, D. R. a Castenholz, R. W. (eds.): Bergey's manual of systematic Bacteriology 2: 554-557, Springer Verlag, New York.

Cohn, F. (1862): Über die Algen des Karlsbader Sprudels, mit Rücksicht auf die Bildung des Sprudelsinesters. -Abhandlungen der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Kultur 5: 37-55.

Croft, W. N. a George, E. A. (1959): Blue-green algae from the Middle Devonian of Rhynie, Aberdeenshire. -Bulletin of the British Museum (Natural History) Geology 3: 341-353.

Diez, B., Bauer, K. a Bergman, B. (2007): Epilithic cyanobacterial communities of a marine tropical beach rock (Heron Island, Great Barrier Reef): Diversity and diazotrophy. -Applied and Environmental Microbiology 73: 3656-3668.

Dvořák, P., Hindák, F., Hašler, P., Hindáková, A. a Pouličková, A. (2014): Morphological and molecular studie of *Neosynechococcus sphagnicola*, gen. et sp. nov. (Cyanobacteria, Synechococcales). -Phytotaxa (in press).

Encyclopaedia Britannica (a). Vietnam. [online]. ©2014 Encyclopaedia Britannica, Inc. Chicago: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.britanica.com

Encyclopaedia Britannica (b). Mongolia . [online]. ©2014 Encyclopaedia Britannica, Inc. Chicago: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.britanica.com

Encyclopaedia Britannica (c). Lake Baikal. [online]. ©2014 Encyclopaedia Britannica, Inc. Chicago: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.britanica.com

Encyclopaedia Britannica (d). Borneo. [online]. ©2014 Encyclopaedia Britannica, Inc. Chicago: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.britanica.com

Encyclopaedia Britannica (e). Java. [online]. ©2014 Encyclopaedia Britannica, Inc. Chicago: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.britanica.com

Ernst, A., Becker, S., Wollenzien, U. I. A. a Postius CH. (2003): Ecosystem-dependent adaptive radiations of picocyanobacteria inferred from 16S rRNA and ITS-1 sequences analysis.- *Microbiology* 149: 217-228.

Fiore, M. F, Sant'Anna, C. L., Pavia Azevedo, M. T., Komárek, J., Kaštovský, J., Sulek, J. a Lorenzi, A. S. (2007): The cyanobacterial genus *Brasilonema*, *gen. nov.*, a molecular and phenotypic evaluation. -*Journal of Phycology* 43: 189-798.

FromSoft. Chování. eu. [online]. © Fromsoft s. r. o. Třebíč: [cit 2014-2-18]. Dostupné z: www.chovani.eu

Garcia-Pichel, F., Lopez-Cortes, A. a Nübel, U. (2001): Phylogenetic and morphological diversity of cyanobacteria in soil desert crusts from the Colorado Plateau. -*Applied and Environmental Microbiology* 67: 1902-1910.

Gaylarde, P. M., Gaylarde, C. C., Guiamet, P. S., Gomez de Saravia, S. G. a Videla, H. A. (2001): Biodeterioration of Mayan buildings at Uxmal and Tulum, Mexico. -*Biofouling* 17: 41-45.

Geitler, L. (1925): Synoptische Darstellung der Cyanophyceen in morphologischer und systematischer Hinsicht. -*Beihefte zum Botanischen Zentralblatt* 2: 163-184.

Geitler, L. (1932): Cyanophyceae.- In: Rabenhorst, L. (eds.): *Kryptogamen von Deutschland, Österreich und der Schweiz* 14: 673-1196, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.

Geitler, L. (1942): Schizophyta (Klasse Schizophyceae).- In: Engler, A. a Prantl, K. (eds.): *Pflanzenfamilien* 1b: 1-232, Duncker a Humbot, Berlin.

Gkelis, S., Rajaniemi, P., Vardaka, E., Moustaka-Gouni, M., Lanaras, T. a Sivonen, K. (2005): *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (Cyanobacteria) strains from Lake Kastoria, Greece from a separate phylogenetic group. -*Microbial Ecology* 49: 176-182.

Golubic, S., Hernandez-Marine, M. a Hoffman, L. (1996): Developmental aspects of branching in filamentous cyanophyta/cyanobacteria. -*Archiv für Hydrobiologia* 83: 303-329.

Greuter, W., Burdet, H. M., Chaloner, W.G., Demoulin, V., Grolle, R., Hawksworth, D.L., Nicolson, D.H., Silva, P.C., Stafleu, F.A., Voss, E.G. a McNeill, J. (1988): *International Code of Botanical Nomenclature*. -*Regnum Vegetabile* 118: 328.

- Gugger, M. F. a Hoffmann, L. (2004): Polyphyly of true branching cyanobacteria (Stigonematales). -International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 349-357.
- Guillard, R. R. L. a Lorenzen, C. J. (1972): Yellow-green algae with chlorophyllide. - Journal of Phycology 8: 10-14.
- Gusev, E. S. a Thanh, T. H. (2011): Silica-scaled chrysophytes (Chrysophyceae and Synurophyceae) from Vietnam (Khanh Hoa and Quang Nam provinces). -Nova Hedwigia 93: 191-199.
- Hašler, P., Dvořák, P., Johansen, J. R., Kitner, M., Ondřej, V. a Poulíčková, A. (2012): Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). -Fottea 12: 341-356.
- Hašler, P., Dvořák, P. a Poulíčková, A. (2014): A new genus of filamentous epipellic cyanobacteria, *Johansenia*. -Preslia 86: 81-94.
- Hauer, T., Bohunická, M. a Mühlsteinová, R. (2013): *Calochaete* gen. nov. (Cyanobacteria, Nostocales), a new cyanobacterial type from „páramo“ zone in Costa Rica. -Phytotaxa 109: 36-44.
- Henson, B. J., Watson, L. E. a Barnum, S. R. (2002): Molecular differentiation of the heterocystou cyanobacteria, *Nostoc* and *Anabaena*, based on complete *nifD* sequences. - Current Microbiology 45: 161-164.
- Henson, B. J., Hesselbrock, M., Watson, L. E. a Bamum, S. R. (2004): Molecular phylogeny of the heterocystous cyanobacteria (subsection IV and V) based on *nifD*. - International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 493-497.
- Hindák, F. (2012): Hormogonia in two noscolalean cyanophytes (cyanobacteria) from the genera *Hapalosiphon* and *Fischerella*. -Biologie 67: 1075-1079.
- Hoffmann, L. (1989): Algae of terrestrial habitats. -Botanical review 55: 77-105.
- Hunt, G. a Roy, K. (2006): Climate change, body size evolution, and Cope's rule in deep-sea ostracodes. -Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America 103: 1347-1352.
- Itean, I., Rippka, R., Tandeau de Marsac, N. a Herdman, M. (2002): rDNA analyses of planktonic heterocystous cyanobacteria, including members of the genera *Anabaenopsis* and *Cyanospira*. -Microbiology 148: 481-496.
- Jahodářová, E. (2012): Ekologie a taxonomie perifytických sinic. Olomouc. Bakalářská práce. Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta, Algologická laboratoř.
- Johansen, J. R. a Casamatta, D. (2005): Recognizing cyanobacterial diversity through adoption of a new species paradigm. -Algological Studies 117: 71-93.

Johansen, J. R., Olsen, C. E., Lowe, R. L. Fučíková, K. a Casamatta, D. A. (2008): *Leptolyngbya* species from selected seep walls in the Great Smoky Mountains National Park. -Algological Studies 126:21-36.

Kaštovský, J. a Johansen, J. R. (2008): *Mastigocladus laminosus* (Stigonematales, Cyanobacteria): phylogenetic relationship of strains from thermal spring to soil-inhabiting genera of the order and taxonomic implications for the genus. -Phycologia 47: 307-320.

Kehoe, D. M. a Gutu, A. (2006): Responding to color: the regulation of complementary chromatic adaptation. -Annual Review of Plant Biology 57: 127-150.

Komárek, J. (2005): The modern classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacteria). - Oceanological and Hydrobiological Studies 34: 5-17.

Komárek, J. (2010): Recent changes (2008) in cyanobacteria taxonomy based on a combination of molecular background with phenotype and ecological consequences (genus and species concept). -Hydrobiologia 639: 245-259.

Komárek, J. (2013): Cyanoprokaryota 3. Teil Heterocytous Genera.- In: Budel, B., Gärtner, G., Krienitz, L. a Schagerl, M. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/3: 1-1130, Spektrum Verlag, Berlin.

Komárek, J. a Anagnostidis, K. (1986): Modern approach to the classification system of cyanophytes Teil 2- Chroococcales. -Archiv für hydrobiologie 73: 157-226.

Komárek, J. a Anagnostidis, K. (1989): Modern approach to the classification system of cyanophytes Teil 4- Nostocales. -Archiv für hydrobiologie 82: 247-345.

Komárek, J. a Anagnostidis, K. (1990): Modern approach to the classification system of Cyanophytes Teil 5- Stigonematales. -Algological Studies 59: 1-73.

Komárek, J. a Anagnostidis, K. (1998): Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales.- In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1: 1-548, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm.

Komárek, J. a Anagnostidis, K. (2005): Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales.- In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L. a Schagerl, M. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2: 1-759, Elsevier, München.

Komárek, J. a Hauer, T. (2012): CyanoDB.cz- On-line database of cyanobacterial genera.[online]. © 2004-2012. Univ. of South Bohemia a Inst. of Botany AS CR: [cit. 2014-03-29]. Dostupné z: <http://www.cyanodb.cz>

Komárek, J., Kaštovský, J., Ventura, S., Turicchia, S. a Šmarda, J. (2009): The cyanobacterial genus *Phormidesmis*. -Algological Studies 129: 41-59.

Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown N. P., Duenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A. a other authors (2007): Clustal W and Clustal X version 2.0. -Bioinformatics 23: 2947-2948.

- Lyra, Ch., Suomalainen, S., Gugger, M., Vezie, Ch., Sundman, P., Paulin, L. a Sivonen, K. (2001): Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. -International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 513-526.
- MacKinnon, K., Hatta, G., Halim, H. a Mangalik, A. (1997): The ecology of Kalimantan.- 802 pp., Oxford University Press, Oxford.
- Mague, T. H. (1977): Ecological aspekt of dinitrogen fixation by blue-green algae.- In: Hardy, R. W. E. a Gibosn, A. H. (eds.): A treatise on dinitrogen fixation. Agronomy and ecology: 85-139, John Wiley a Sons, New York.
- Mayer, J., Dokulil, M. T., Salbrechter, M., Berger, M. Posch, T., Pfister, G., Kirschner, A. K. T., Velimirov, B., Steitz, A. a Ulbricht, T. (1997): Seasonal successions and trophic relations between phytoplankton, zooplankton, ciliate and bacteria in a hypertrophic shallow lake in Vienna, Austria. -Hydrobiologia 342: 165-174.
- Mikhailyuk, T. I., Tsareko, P. M., Nevo, E. a Wasser, S. P (2001): Additions to the study of aerophytic eukaryotic algae of Israel. -International Journal on Algae 3: 19-39.
- Mollenhauer, D. (1988): *Nostoc* species in the field. -Archiv für Hydrobiologie, Supplement 80: 315-326.
- Moravec, J. (2009): Procházka Amazonským prasezem.- 410 pp., Academia, Praha.
- Morley, R. J. (2000): Origion and evolution of tropical rain forestr.- 362 pp., John Wiley a Sons, Chichester.
- Mühlsteinová, R., Johansen, J. R., Pietrasiak, N. a Martin, M. P. (2014): Polyphasic characterization of *Kastovsya adunca* gen. nov. et comb. nov. (Cyanobacteria: Oscillatoriales), from desert soils of the Atacama Desert, Chile. -Phytotaxa 163: 216-228.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Fonseca, G. A. B. a Kent, J. (2000): Biodiversity hotspots for conservation priorites. -Nature 403: 853-858.
- Neustupa, J. a Škaloud, P. (2010): Diversity of subaral algae and cyanobacteria growing on bark and wood in the lowland tropical forests of Singapore. -Plant Ecology and Evolution 143: 51-62.
- Oren, A. (2011): Cyanobacterial systematics and nomenclature as featured in the International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy / International Journal of Systematic Bacteriology / International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology. -International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 61: 10-15.
- Palinska, K. A., Marquardt, J. (2008): Conformity between molecular and phenotypic results demonstrated on *Phormidium autumnale* isolates (cyanobacteria). -Archives of Microbiology 189: 325-335.

- Palinska, K. A., Thomasius, CH. F., Marquardt, J. a Golubic, S. (2006): Phylogenetic evaluation of cyanobacteria preserved as historic herbarium exsiccata. -International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56: 2253-2263
- Palinska, K. A., Deventer, B., Hariri, K. a Łotocka, M. (2011): A taxonomic study on *Phormidium*-group (cyanobacteria) based on morphology, pigments, RAPD molecular markers and RFLP analysis of the 16S rRNA gene fragment. -Fottea 11: 41-55.
- Perkerson, R. B., Johansen, J. R., Kováčik, L., Brand, J., Kaštovský, J. a Casamatta, D. A. (2011): A unique Pseudanabaenalean (Cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. Based on morphological and molecular data. -Journal of Phycology 47: 1397-1412.
- Reynaud, P. A. a Franche, C. (1986): Isolation and characterization of non-heterocystous tropical cyanobacteria growing on nitrogen-free medium. -Microcen Journal 2: 427-443.
- Rippka, R. a Herdman, M. (1992): Pasteur culture collection of Cyanobacteria 1, Institute Pasteur, Paris, France.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M. a Stanier, R. Y (1979): Genetic assignmnets, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. - Journal of General Mickrobiology 111: 1-61.
- Rippka, R., Catenholz, R. W. a Herdman, M. (2001): Subsection IV.- In: Boone, D. R. a Castenholz, R. W. (eds.): Bergey's manual of systematic Bacteriology 2/1: 562-589, Springer, New York.
- Ronquist, F. a Huelsenbeck, J. P. (2003): MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under med models. -Bionformatics 19: 1572-1574.
- Rücker, J., Wiedner, C. a Zippel, P. (1997): Factors controlling the dominance of *Planktothrix agardhii* and *Limnothrix redekei* in eutrophic shallow lakes. - Hydrobiologia 342: 107-115.
- Sahu, J. K., Nayak, H. a Adhikary, S. P. (1996): Blue green of rice fiedls of Orissa state.I. Distributional pattern in different agroclimatic zones. -Phykos 35: 93-110.
- Sahu, J. K. a Adhikary, S. P. (2012): Phylogenetic analysis of two Stigonematalean cyanobacteria based on 16S rRNA sequence. -Phykos 42: 59-64.
- Sant'Anna, C. L., Paiva Azevedo, M. T., Zanini Branco, L. H. a Komárek, J. (2007): New aerophytic morphospecies of *Nostoc* (Cyanobacteria) from São Paulo State, Brazil. -Hoehnea 34: 95-101.
- Scuito, K., Andreoli, C., Rascio, N., La Rocca, N a Moro, I. (2012): Polyphasic approach and typification of selected *Phormidium* strains (Cyanobacteria). -Cladistics 28: 357-374.

- Seo, P.-S. a Yokota, A. (2003): The phylogenetic relationships of cyanobacteria inferred from 16S rRNA, *gyrB*, *rpoC1*, and *rpoD1* gene sequences. -The Journal of General and Applied Microbiology 49: 191-203.
- Shishido, T. K., Kaasalainen, U., Fewer, D. P., Rouhiainen, L., Joke la, J., Wahlsten, M., Fiore, M. F., Yunes, J. S., Rikkinen, J. a Sivonen K. (2013): Convergent evolution of [D-Leucine] microcystin-LR in taxonomically disparate cyanobacteria. -BMC Evolutionary Biology 13: 1-15.
- Schwarz, G. E. (1978): Estimating the dimension of a model. -The Annals of Statistics 6: 461-464.
- Siegesmund, M. A., Johansen, J. R., Karsten, U. a Friedl, T. (2008): *Coleofasticulus* gen. nov. (Cyanobacteria): morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* Gomont. -Journal of Phycology 44: 1572-1585.
- Sompong, U., Castenholz, R. W., Anuntolabhochai, S. a Peerapornpisal, Y. (2006): Genetic diversity of *Microcoleus* in Ranong hot spring, southern part of Thailand. - Chian Mai Journal of Science 33: 363-370.
- Stackebrandt, E. a Goebel, B. M. (1994): A place for Dna-Dna reassociation and 16S ribosomal-RNA sequence-analysis in the present species definition in bacteriology. - International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 44: 846-849.
- Stal L. J. (2002): Cyanobacterial mats and stromatolites.- In: Whitton, B. A. a Potts, M. (eds.): The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space: 61-120, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Stal, L. J., Albertano, P., Bergman, B., von Brockel, K., Gallon, J. R., Hayes, P. K., Sivonen, K. a Walsby, A. E. (2003): BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea- responses to a changing environment. -Continental Shelf Research 23: 1695-1714.
- Stanier, R.Y. a Cohen-Bazire, G. (1977): Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria.- Annual Review of Microbiology 31: 225-274.
- Stanier, R. Y., Kunisawa, R., Mandel, M. a Cohen-Bazire, G. (1971): Purification and properties of unicellular blue-green algae (other Chroococcales). -Bacteriological Review 35: 171-205.
- Staub, R. (1961): Research on fysiology of nutrients of the planktonic cyanobacterium *Oscillatoria rubences*. -Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie 23: 83-198.
- Stewart. W. D. P. (1970): Nitrogen fixation by blue-green algae in Yellowstone thermal areas. -Phycologia 9: 261-268.
- Stewart, W. D. P. (1980): Some aspects of structure and fiction in N₂-fixing cyanobacteria. -Annual Review of Microbiology 34: 497-536.

- Stomp, M., Huisman, J., de Jongh, F., Veraart, A. J., Gerla, D., Rijkeboer, M., Ibelings, B. W., Wollenzien, U. I. A. a Stal, L. J. (2004): Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. -*Nature* 432: 104-107.
- Stomp, M., van Dijk, M. A., van Overzee, H. M. J., Wortel, M. T., Sigon, C. A. M., Egas, M., Hoogveld, H., Gons, H. J. a Huisman, J. (2008): The timescale of phenotypic plasticity and its impact on competition in fluctuating environments. -*The American Naturalist*: 172: E169-E185.
- Strunecký, O., Elster, J. a Komárek, J. (2011): Taxonomic revision of the fresh-water cyanobacterium „*Phormidium*“ *murray* = *Wilmottia murray*. -*Fottea* 11: 57-71.
- Suda, S., Watanabe, M. M., Otsuka, S., Mahakahant, A., Yongmanitchai, W., Nopartnaraporn, N., Liu, Y. D. a Day, J. G. (2002): Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoroid cyanobacteria. -*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577-1595.
- Tamas, I., Svircev, Z. a Andersson, S. (2000): Determinative value of a portion of the *nifH* sequence for the genera *Nostoc* and *Anabaena* (cyanobacteria). -*Current Microbiology* 41: 197-200.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. a Kumar, S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. -*Molecular Biology and Evolution* 28: 2947-2948.
- Taton, A., Grubisic, S., Branbilla, E., De Wit, R. a Wilmotte, A. (2003): Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. -*Applied and Environmental Microbiology* 69: 5157-5169.
- Thomas, M. F. (2000): Late Quarternary environmental changes and the alluvial record in humid tropical environments. -*Quaternary International* 72: 23-36.
- Thornton, K. E., Kimmel, B. L. a Payne, B. L. (1990): *Reservoir Limnology: Ecological perspectives.*- 246 pp., John Wiley a Sons, New York.
- Turner, S. (1997): Molecular systematics of oxygenic photosynthetic bacteria. -*Plant Systematics and Evolution* 11: 13-52.
- Willame, R., Boutte, C., Grubisic, S., Wilmotte, A., Komarek, J. a Hoffmann, L. (2006): Morphological and molecular characterization of planktonic cyanobacteria from Belgium and Luxembourg. -*Journal of Phycology* 42: 1312-1332.
- Wilmotte, A. (1994): Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria.- In: Bryant, D. (eds.): *Molecular biology of Cyanobacteria*: 1-25, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Wilmotte, A. a Herdman, M. (2001): Phylogenetic relationship among the cyanobacteria based on 16S rRNA sequences.- In: Boone, D. R. a Castenholz, R. W. (eds.): Bergey's manual of systematic Bacteriology 2/1: 562-589, Springer, New York.

Zehr, J. P., Mellon, M. T. a Hioms, W. D. (1997): Phylogeny of cyanobacterial *nifH* genes: evolutionary implications and potential applications to natural assemblages. - Microbiology 143: 1443-1450.

Zammit, G., Billi, D., Shubert, E., Kaštovský, J. a Albertano, P. (2011): The biodiversity of subaerophytic phototrophic biofilms from Maltese hypogea. -Fottea 11: 187-201.

Zammit, G., Billi, D. a Albertano, P. (2012): The subaerophytic cyanobacterium *Oculatella subterraranea* (Oscillatoriales, Cyanophyceae) *gen. et sp. nov.*: a cytomorphological and molecular description. -European Journal of Phycology 47: 341-354.

Zwart, G., Kamst-van Agterveld, M. P, van der Werff-Staverman, I., Hagen, F., Hoogveld, H. L., Gons, H. J. (2005): Molecular characterization of cyanobacterial diversity in a shallow eutrophic lake. -Environmental Microbiology 7: 365-377.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1: Lokality Vietnamu a jejich charakteristika
- Příloha 2: Lokality přítoků Bajkalu a jejich charakteristika
- Příloha 3: Lokality Mongolska a jejich charakteristika
- Příloha 4: Lokality Bornea a jejich charakteristika
- Příloha 5: Lokality Jávy a jejich charakteristika
- Příloha 6: Obrazová tabule vzorků *Motykia elegans gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E1, *Motykia elegans gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E8, *Motykia elegans gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E11
- Příloha 7: Obrazová tabule vzorků *Leptolyngbya sp.* E2, *Leptolyngbya sp.* E6
- Příloha 8: Obrazová tabule vzorku *Geitlerinema splendidum* E4
- Příloha 9: Obrazová tabule vzorků *Pinokia longirostra gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E5, *Pinokia longirostra gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E10
- Příloha 10: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E7
- Příloha 11: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E14
- Příloha 12: Obrazová tabule vzorku *Phormidium sp.* E9
- Příloha 13: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E12
- Příloha 14: Obrazová tabule vzorku *Phormidium sp.* E15
- Příloha 15: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E16
- Příloha 16: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E17
- Příloha 17: Obrazová tabule vzorků *Arthronema africanum* E18, *Arthronema africanum* E19, *Arthronema africanum* E20, *Arthronema africanum* E32
- Příloha 18: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E21
- Příloha 19: Obrazová tabule vzorků *Microcoleus paludodus* E22, *Microcoleus paludosus* E23, *Microcoleus paludosus* E24
- Příloha 20: Obrazová tabule vzorků *Fischerella cf. tisserantii* E25, *Fischerella cf. tisserantii* E26
- Příloha 21: Obrazová tabule vzorků *Ilonia javanensis gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E27, *Ilonia javanensis gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E28, *Ilonia javanensis gen. et sp. nov.* (Jahodářová) E30
- Příloha 22: Obrazová tabule vzorku *Leptolyngbya sp.* E31

Příloha 1: Lokality Vietnamu a jejich charakteristika

Vzorek	Lokalita	Provincie	GPS souřadnice		Konduktivita [μ S/cm]	pH	Teplota [°C]	Datum
E1	Národní park Cat Tien, dočasný vodní útvar v lese, plankton	Đồng Nai	-	-	21	6,06	26,7	24.11.10
E2	Vodopád Thac Van Son, 1 508 m n. m., písek, jíł	Lâm Đồng	N12° 11.462'	E108° 43.209'	9	6,40	18,9	27.10.10
E4	Řeka Thuc Ong Thung, 1 800 m n. m., žula, písek	Lâm Đồng	N12° 11.133'	E108° 41.127'	13	6,50	19,3	27.10.10
E5	Hồ Dầu Co, plankton, perifyton	Đồng Nai	N11° 28.336'	E107° 20.462'	44	5,47	28,0	10.9.10
E6	-	-	-	-	-	-	-	-
E7	Národní park Cat Tien, pramen v lese, bentos	Đồng Nai	N11° 28.788'	E107° 22.745'	103	6,83	25,9	09.9.10
E8	Národní park Cat Tien, dočasný vodní útvar v lese, plankton	Đồng Nai	-	-	101	5,84	-	22.11.10
E9	Hồ Bàu Chim, bentos	Đồng Nai	N11° 28.826'	E107° 22.641'	105	6,25	31,0	25.11.10
E10	Hồ Dầu Co, plankton, perifyton	Đồng Nai	N11° 28.336'	E107° 20.462'	44	5,47	28,0	10.9.10
E11	Vodopád Pongour, 875 m n. m., žula, písek	Đồng Nai	N11° 41.302'	E108° 15.877'	62	7,10	22,9	29.10.10

Příloha 2: Lokality přítoků Bajkalu a jejich charakteristika

Vzorek	Lokalita	GPS souřadnice		Konduktivita [μS/cm]	pH	Teplota [°C]	Datum
E15	Enkhaluk, bahno z termálního pramene, detrit	N52° 12.619'	E106° 44.847'	1140	9,0	38,5	15.7.2011
E16	Enkhaluk, bahno z termálního pramene, písek	N52° 12.619'	E106° 44.847'	1140	9,0	38,5	15.7.2011
E17	Řeka Vydrinnaya, perifyton	N51° 29.383'	E104° 50.986'	14	-	16,0	20.7.2011

Příloha 3: Lokality Mongolska a jejich charakteristika

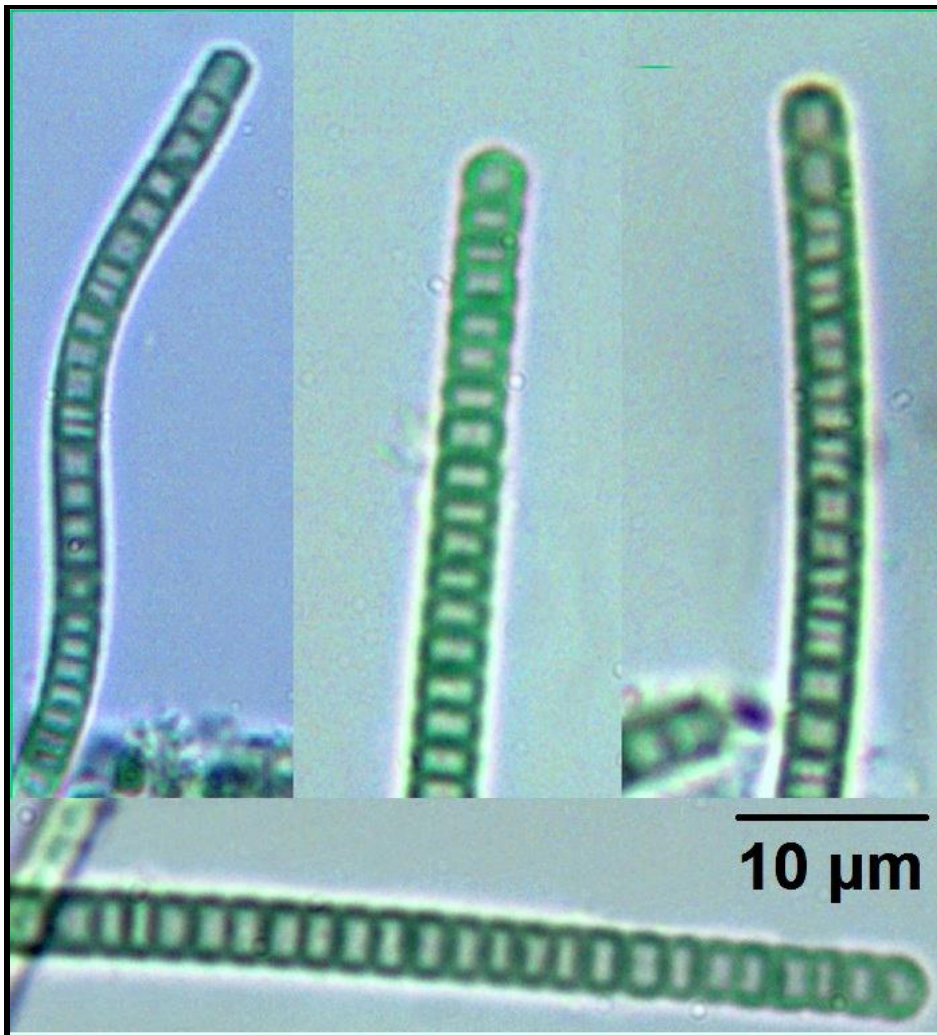
Vzorek	Lokalita	GPS souřadnice		Konduktivita [μS/cm]	pH	Teplota [°C]	Datum
E12	jezero Har Us, perifyton	N48° 00.675'	E92° 22.866'	118	9,13	27,9	3.8.2011
E14	řeka Zavhan Gol, fytoplankton	N46° 41.854'	E96° 38.086'	114	8,57	12,4	3.8.2011

Příloha 4: Lokality Bornea a jejich charakteristika

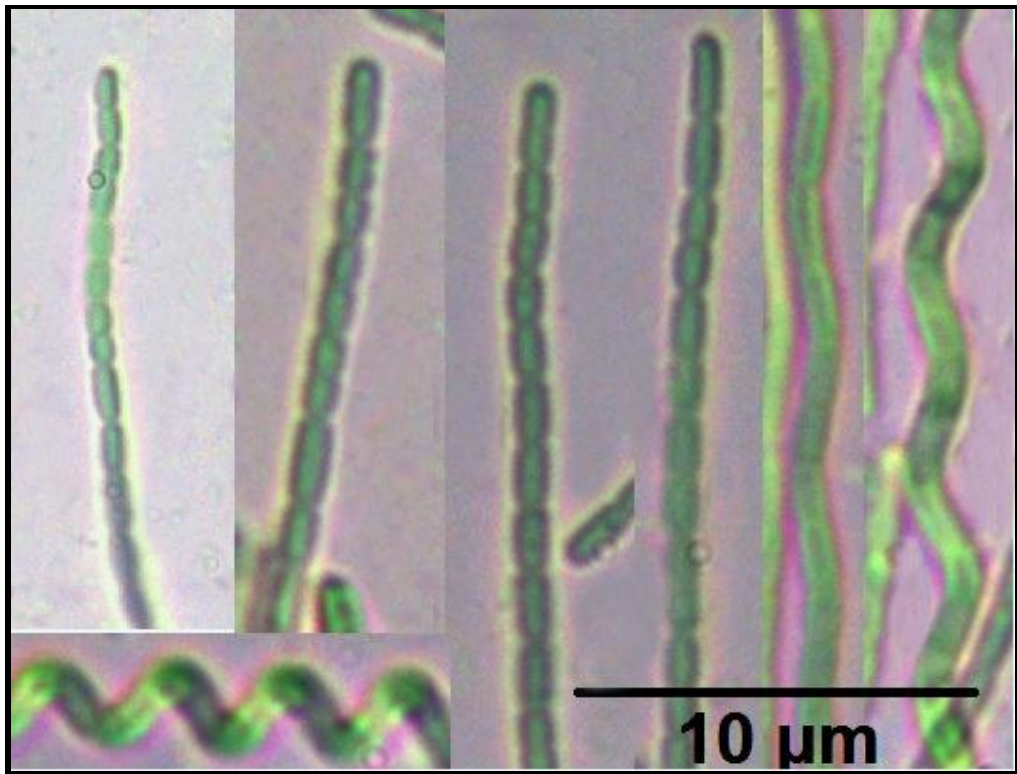
Vzorek	Lokalita	GPS souřadnice		Datum
E18	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu, 1014 m n. m.	N3° 50' 45.77"	E116° 4' 49.68"	2.2.2012
E19	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu, 1014 m n. m.	N3° 50' 45.77"	E116° 4' 49.68"	2.2.2012
E20	Okrsek Long Berang, vesnice Nansarang, půda ve vesnici, 259 m n. m.	N3° 51' 11.25"	E116° 7' 53.87"	1.2.2012
E21	Okrsek Long Berang, vesnice Nansarang, půda ve vesnici, 259 m m. m.	N3° 51' 11.25"	E116° 7' 53.87"	1.2.2012
E22	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu, 845 m n. m.	N3° 50' 33.48"	E116° 5' 45.52"	1.2.2012
E23	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu, 845 m n. m.	N3° 50' 33.48"	E116° 5' 45.52"	1.2.2012
E24	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu, 845 m n. m.	N3° 50' 33.48"	E116° 5' 45.52"	1.2.2012
E32	Okrsek Long Berang, deštný prales, kůra stromu	N3° 50' 45.77"	E116° 4' 49.68"	2.2.2012

Příloha 5: Lokality Jávy a jejich charakteristika

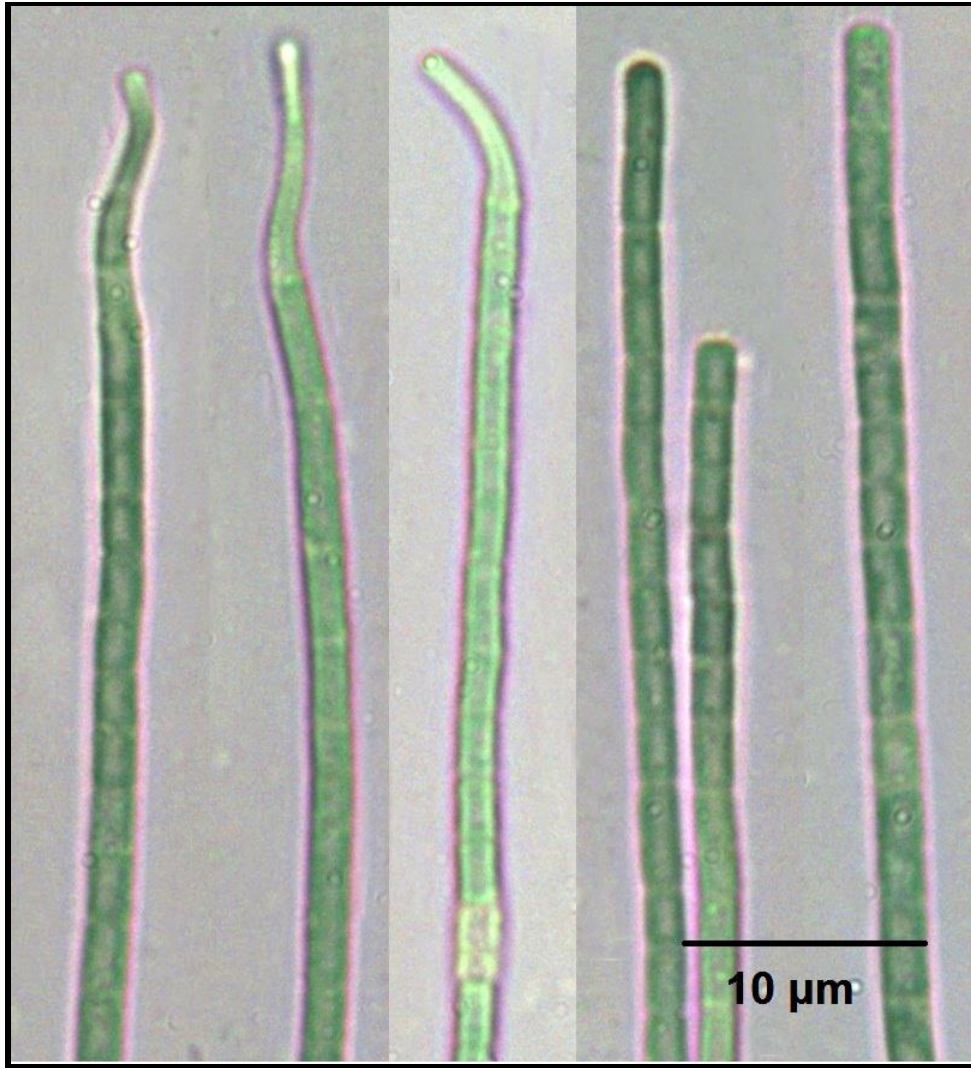
Vzorek	Lokalita	GPS souřadnice		Datum
E25	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, povrch kamene, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E26	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, povrch kamene, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E27	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, kůra stromu, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E28	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, kůra stromu, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E29	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, kůra stromu, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E30	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, horký pramen v deštném pralese, kůra stromu, 49 m n. m.	S6°47' 0.81"	E105° 30' 9.14"	25.2.2012
E31	Národní park Ujung Kulon, blízko vesnice Tamanjaya, přírodní brázda do rýžoviště, kámen	S6°48' 4.22"	E105° 31' 43.1"	26.2.2012



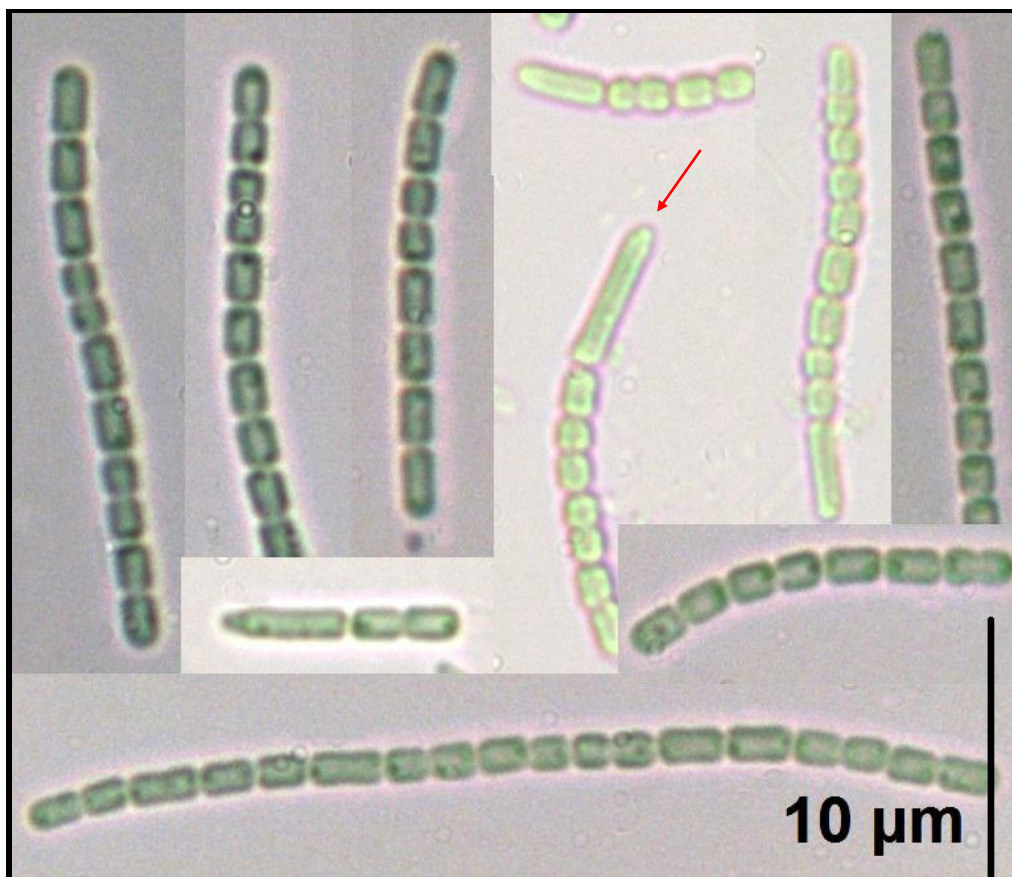
Příloha 6: Candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E1, candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E8, candidatus *Motykia elegans* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E11 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



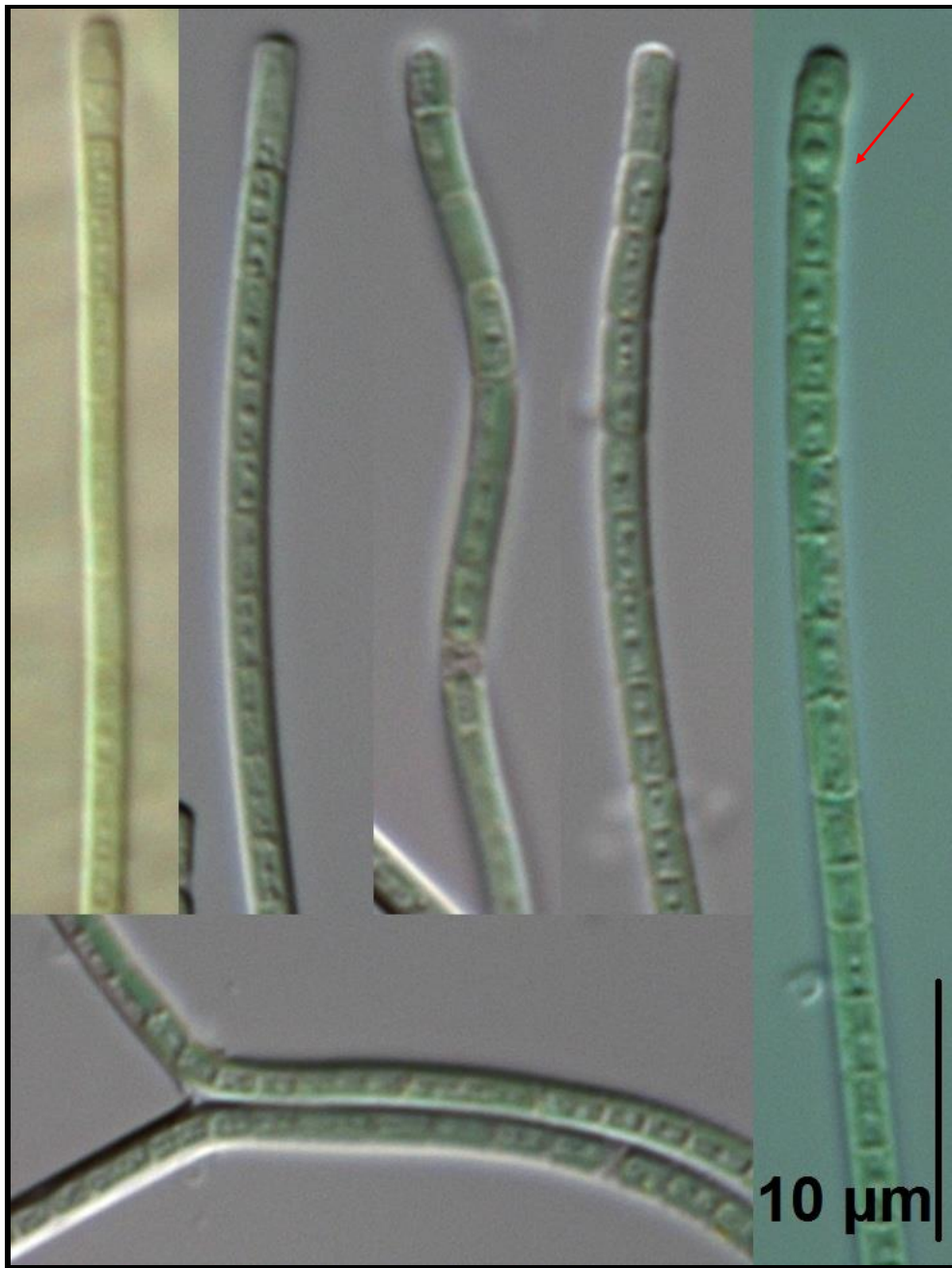
Příloha 7: *Leptolyngbya* sp. E2, *Leptolyngbya* sp. E6 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



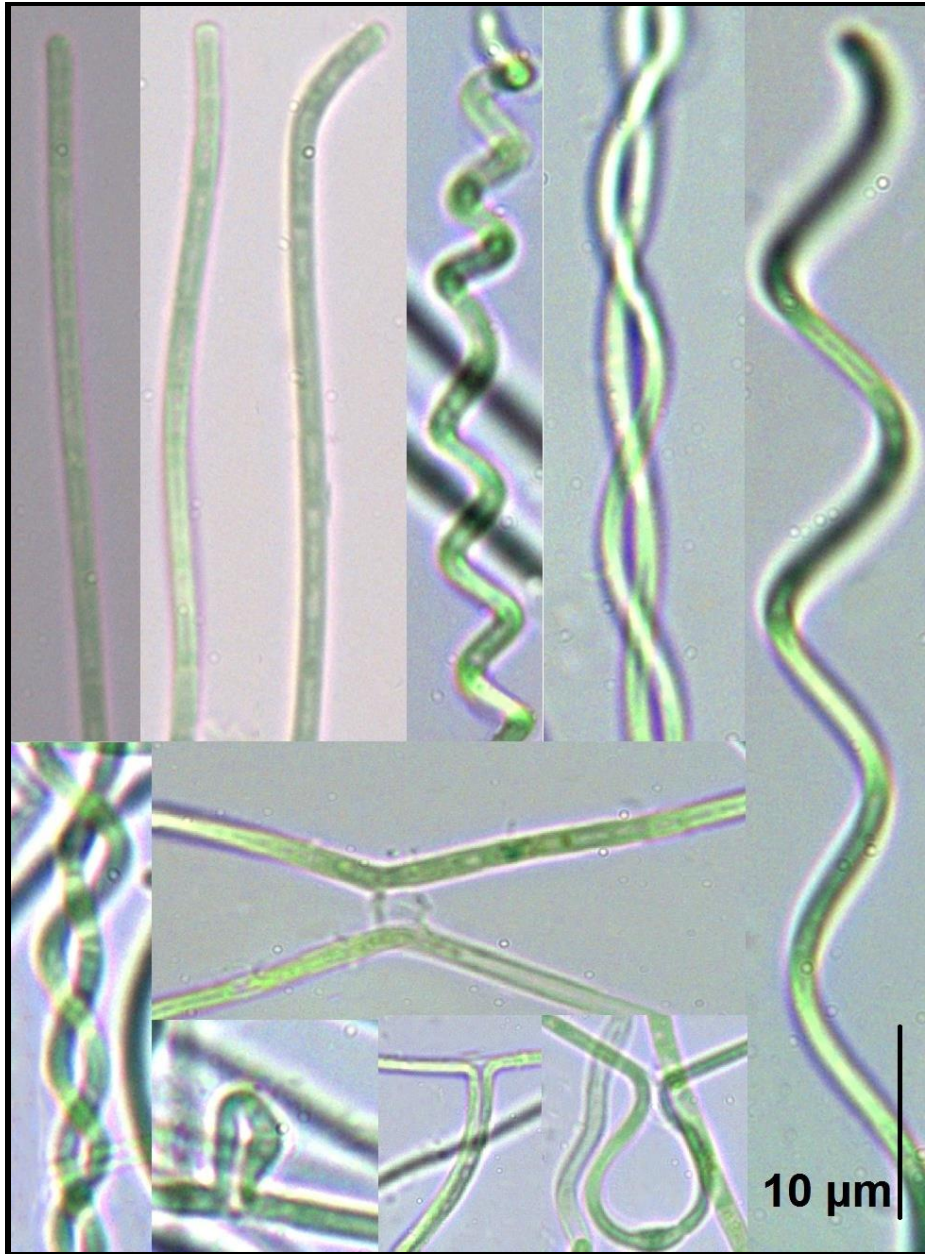
Příloha 8: *Geitlerinema splendidum* E4 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 9: Candidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E5, candidatus *Pinokia longirostra* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E10 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 10: *Leptolyngbya* sp. E7 (Foto: Prof. RNDr. Aloisie Pouličková, Csc.)



Příloha 11: *Leptolyngbya* sp. E14 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 12: *Phormidium* sp. E9 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



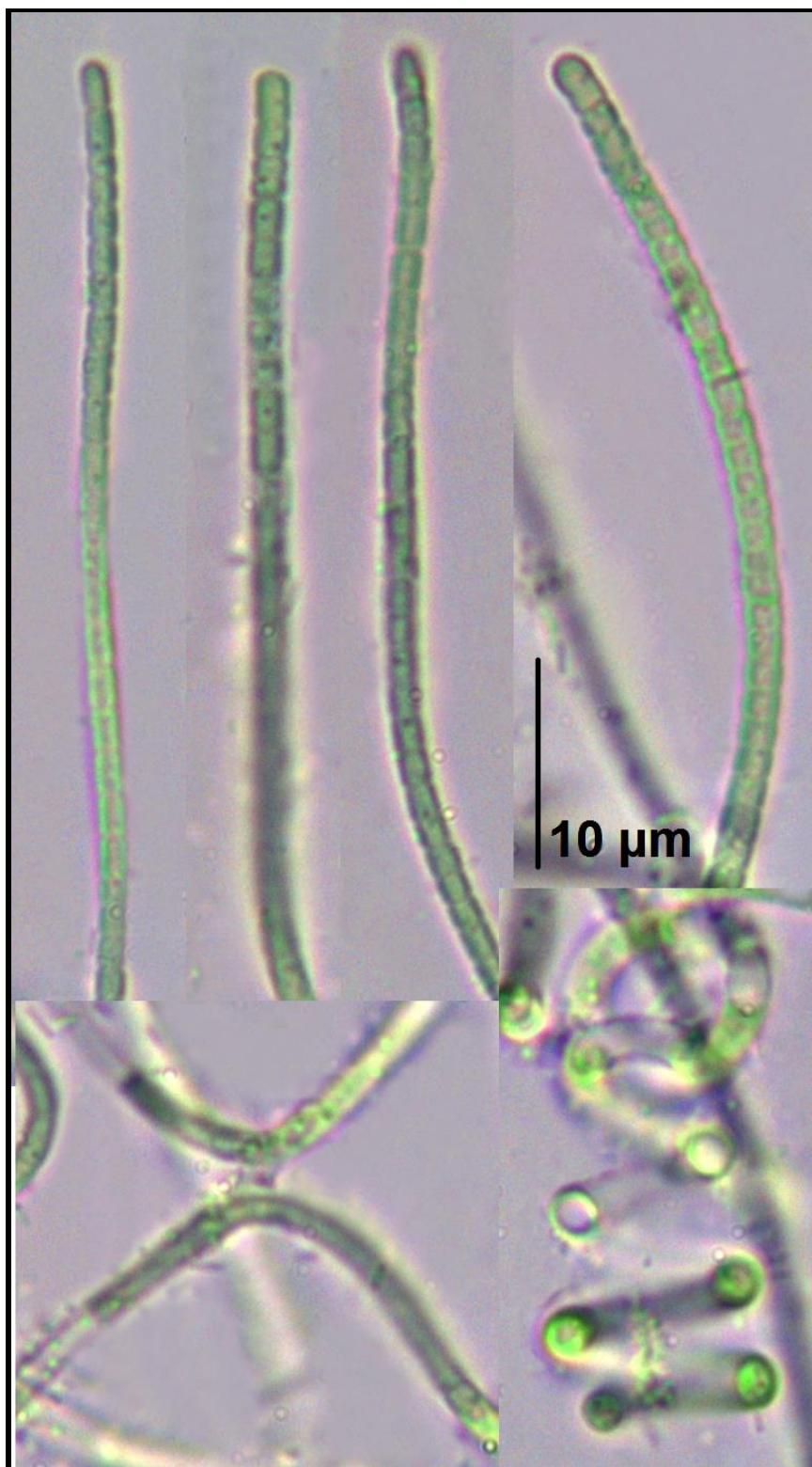
Příloha 13: *Leptolyngbya* sp. E12 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 14: *Phormidium* sp. E15 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 15: *Leptolyngbya* sp. E16 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 16: *Leptolyngbya* sp. E17 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



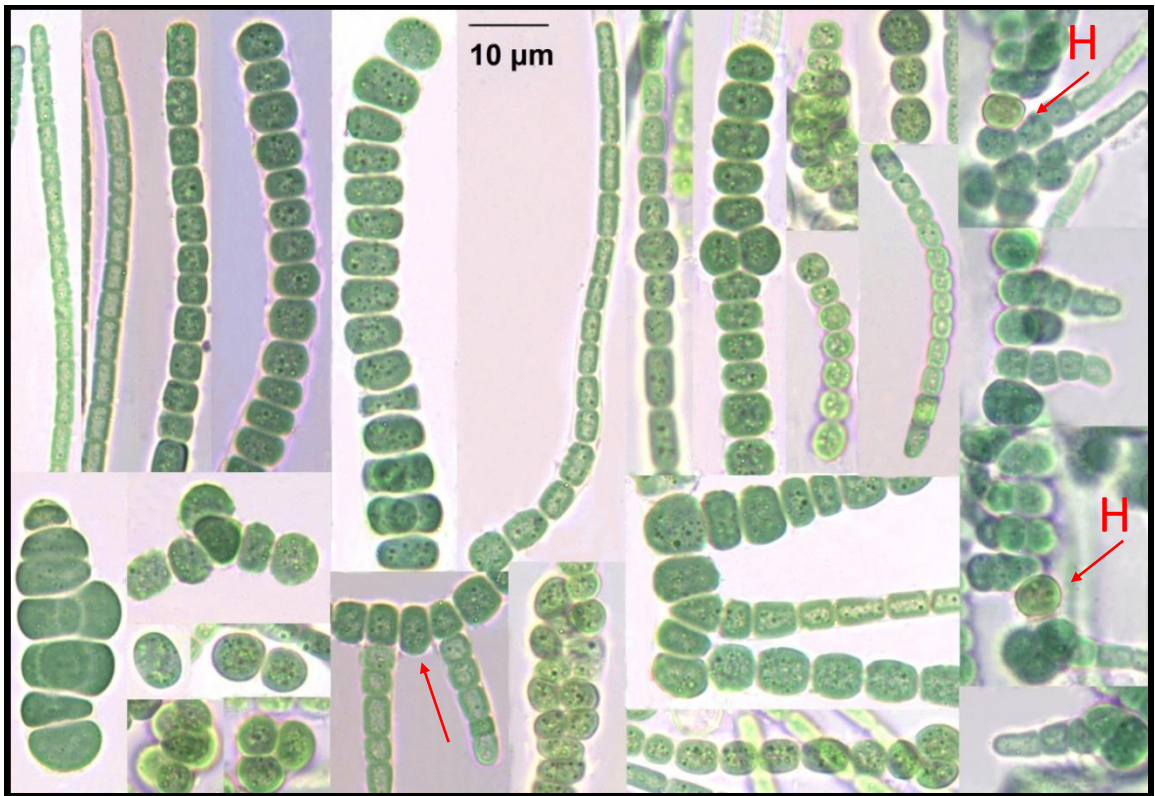
Příloha 17: *Arthronema africanum* E18, *Arthronema africanum* E19, *Arthronema africanum* E20, *Arthronema africanum* E32 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



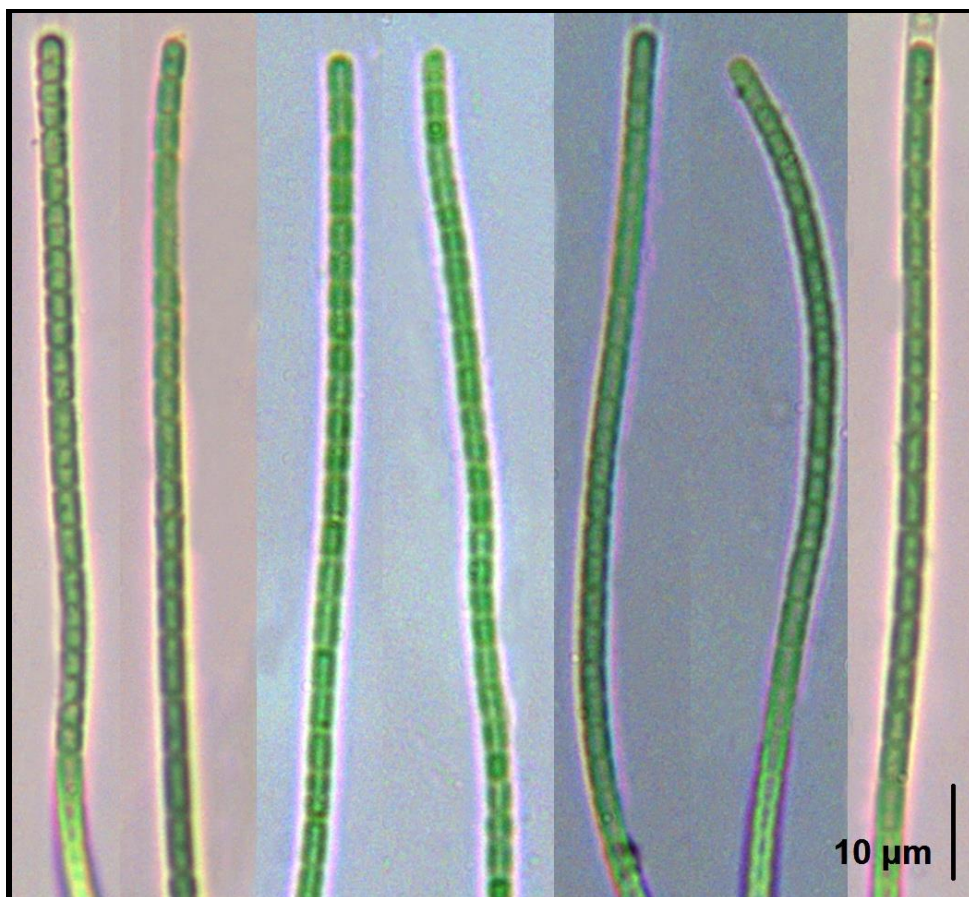
Příloha 18: *Leptolyngbya* sp. E21 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 19: *Microcoleus paludosus* E22, *Microcoleus paludosus* E23, *Microcoleus paludosus* E24 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 20: *Fischerella* cf. *tisserantii* E25, *Fischerella* cf. *tisserantii* E26 (foto: Bc. Eva Jahodářová), H: heterocyt



Příloha 21: Candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E27, candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E28, candidatus *Ilonia javanensis* gen. et sp. nov. (Jahodářová) E30 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)



Příloha 22: *Leptolyngbya* sp. E31 (Foto: Bc. Eva Jahodářová)