

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Diplomová práce

**Diverzita akvatických a aerofytních sinicových  
společenstev**

**Autor:** Bc. Martin Svoboda

**Vedoucí diplomové práce:** Mgr. Otakar Strunecký, Ph.D.

**Konzultant diplomové práce:** M.Sc. Anna Pavlovna Ivanova

**Studijní program a obor:** N4106 Zemědělská specializace, Rybářství a ochrana vod

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** 2.

České Budějovice, 2022

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem napsal samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Dále prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Podpis studenta:

**Poděkování:**

Tímto bych rád poděkoval všem, kteří přispěli svou pomocí k vytvoření této diplomové práce. Zejména však mému vedoucímu práce Mgr. Otakaru Struneckému, Ph.D. a konzultantce M.Sc. Anně Pavlovně Ivanovně, kteří mi po celou dobu práce pomáhali a poskytovali cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat rodičům a přátelům, kteří mi při práci byli velkou oporou.

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Martin SVOBODA**  
Osobní číslo: **V19N008P**  
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Rybářství a ochrana vod**  
Téma práce: **Diverzita akvatických a aerofytních sinicových společenstev**  
Zadávající katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

### Zásady pro vypracování

Cílem diplomové práce je zjistit kvalitu (druhové složení) sinic z neporušených ekosystémů Islandu. Účelem sledování je zaznamenat druhové složení akvatických a aerofytních společenstev a zjistit, jaké jsou mezi nimi rozdíly. Student porovná tato dvě odlišná prostředí pomocí optické mikroskopie a „single cell PCR“.

Zaměří se primárně na sinice skupin Synechococcales, Nostocales, Oscillatoriales, Microcoleales, Occulateales, Trichocoleales a Pseudoanabaenales. Optickou mikroskopií zdokumentuje minimálně 30 přírodních vzorků a podle morfologických znaků určí druhové složení přítomných organismů. Získanou diverzitu vyhodnotí a pokusí se kultivovat sinice skupin, jejichž taxonomická klasifikace je nejasná. Taxonomickou příslušnost sledovaných sinic student dále vyjasní výběrem jednotlivých buněk ze vzorků, provedením PCR a následným sekvenováním jejich 16S rRNA genu. Student provede fylogenetickou analýzu, vyhodnotí biogeografickou příslušnost izolátů a jejich taxonomickou příslušnost.

Získané výsledky dále student srovná s informacemi z dostupné literatury. Diplomová práce tak přinese nové informace o morfologické a genetické variabilitě jednotlivých druhů sinic v rámci dosud neprobádaného regionu a napomůže rozšířit znalosti o celosvětové diverzitě sinicových společenstev.

Rozsah pracovní zprávy: **50-70 stran**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

### Seznam doporučené literatury:

- Anagnostidis K, Komárek J 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes 3 – Oscillatoriales. *Algolog. Stud.* 50-53: 327-472.328.  
Anagnostidis K, Komárek J 1990. Modern approach to the classification system of Cyanophytes 5 – Stigonematales. *Archiv fur Hydrobiologie/Algological Studies* 59: 1-73.  
Allen, M. M. (1984). „Cyanobacterial Cell Inclusions.“ *Annual Review of Microbiology* 38(1): 1-25.  
Becker, E. W. (2007). „Micro-algae as a source of protein.“ *Biotechnology Advances* 25(2): 207-210.  
Borowitzka, M. (1997). „Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints.“ *Journal of Applied Phycology* 9(5): 393-401.  
Casamatta, D. A. and C. E. Wickstrom (2000). „Sensitivity of Two Disjunct Bacterioplankton Communities to Exudates from the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kutzing.“ *Microb Ecol* 40(1): 64-73.  
Komárek J, Anagnostidis K. 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm: Gustav Fischer.  
Komárek J, Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota -2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales. Heidelberg: Elsevier/Spektrum.  
Leao, P. N., N. Engene, A. Antunes, W. H. Gerwick and V. Vasconcelos (2012). „The chemical ecology of cyanobacteria.“ *Nat Prod Rep* 29(3): 372-391.  
Piorreck, M., K.-H. Baasch and P. Pohl (1984). „Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green

algae under different nitrogen regimes." *Phytochemistry* 23(2): 207-216.

Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgal culture : biotechnology and applied phycology*. Oxford, OX, UK ; Ames, Iowa, USA, Blackwell Science.

Richmond, A. and Q. Hu (2013). *Handbook of microalgal culture : applied phycology and Biotechnology*. Chichester, West Sussex, UK, John Wiley & Sons, Ltd.

Whitton, B. A. (2012). *Ecology of cyanobacteria II : their diversity in space and time*. New York, Springer. Whitton, B. A. and M. Potts (2000). „The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space.“ Kluwer Academic Publishers. Netherlands: 37-59


Willame R, et al. 2006. Morphological and Molecular Characterization of Planktonic Cyanobacteria from Belgium and Luxembourg. *Journal of Phycology* 42: 1312-1332.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Otakar Strunecký, Ph.D.**  
Ústav akvakultury a ochrany vod

Konzultant diplomové práce: **MSc. Anna Pavlovna Ivanova**  
Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání diplomové práce: **9. března 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2021**

  
\_\_\_\_\_  
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
děkan

L.S.

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Jan Kašpar  
ředitel

## Obsah

1	Úvod .....	7
2	Literární přehled.....	8
2.1	Sinice .....	8
2.1.1	Aerofytní sinice.....	11
2.2	Sekvencování.....	11
3	Materiál a metodika .....	13
3.1	Odběr.....	13
3.2	Morfologická determinace .....	14
3.3	Molekulární metody.....	14
3.3.1	Single Cell metodika .....	14
3.3.2	Metoda klasické izolace.....	19
4	Výsledky.....	22
4.1	Popis nalezených řádů.....	22
4.2	Výskyt jednotlivých druhů .....	26
4.3	Popis nalezených druhů .....	31
4.3.1	Chroococcales .....	31
4.3.2	Nostocales.....	32
4.3.3	Oscillatoriales .....	34
4.3.4	Synechococcales.....	37
4.4	Fylogenetická analýza.....	42
5	Diskuze.....	44
6	Závěr.....	50
7	Literatura .....	51
8	Abstrakt .....	60
9	Abstract .....	61

# 1 Úvod

Mnoho druhů sinic je schopno přežít ve velkém rozmezí fyzikálních podmínek což znamená, že mají širokou ekologickou valenci. Díky této skutečnosti jsou schopné osídlit i prostředí, ve kterém by ostatní řasy či rostliny nebyly schopné přežít. Mají tedy dobrou schopnost adaptace, která jim umožňuje dobré přizpůsobení na chladné a mrazivé oblasti (Anesio et al., 2017). Mnoho druhů je schopno přežít vysušení a do několika desítek minut po rehydrataci znovu rychle obnovit metabolickou aktivitu (Seckbach, 2007). Hrají důležitou roli v bilanci dusíku a uhlíku v polárních a subpolárních oblastech (Vincent, 2000) a jsou zde hlavními organismy, které mají schopnost fixovat dusík (Chapin & Bledsoe, 1992). Kromě toho, že mají důležitou roli v bilanci dusíku a uhlíku, hrají v těchto oblastech také klíčovou roli jakožto primární producenti (Elster, 2002; Seckbach, 2007) a jsou tedy prospěšné pro další biologické osídlení mnoha extrémních biotopů (Whitton & Potts, 2002). Ze studií z posledních let bylo vyvozeno, že druhová rozmanitost sinic je dosti podceňovaná (Mai et al., 2018). V poslední době bylo proto rozsáhle použito sekvenování druhé generace (NGS), tato metoda byla použita s cílem přesného popsání rozmanitosti sinicových společenstev v těchto extrémních lokalitách. NGS je nezbytný nástroj k probádání rozmanitosti, historie a procesů přírodních habitatů (Monchamp et al., 2016). Nicméně výsledky NGS nemusí vždy zachytit úplnou druhovou diverzitu a je často obtížné je přiřadit ke konkrétním sinicovým morfotypům. Tradičně zavedená, levná a jednoduchá metoda optické mikroskopie (OM) tak umožňuje i v současné době rychlou a účinnou determinaci přírodních společenstev sinic. Metoda NGS by proto měla být doplněna o klasickou determinaci pod mikroskopem, aby bylo dosaženo co nejpřesnějších výsledků s reálnými počty druhů, přebývajících v habitatech (Strunecký et al., 2019). Klasické fykologické přístupy založené na mikroskopování a kultivaci kmenů, které byly doplněny o sekvenování, mají velký potenciál přinést nové znalosti o struktuře a diverzitě společenstev (Strunecký et al., 2017).

## 2 Literární přehled

### 2.1 Sinice

Sinice jsou prokaryotní organismy schopné fotosyntetické aktivity. Za dobu své existence na Zemi osídlily naprostou většinu fotických ekosystémů. Patří kvantitativně mezi nejvýznamnější organismy na zemi. Jejich odhadovaná biomasa činí  $3 \times 10^{14}$  g C (Garcia-Pichel et al., 2003). Sinice jsou často první organismy, které kolonizují dosud holé oblasti skal a půd. Mnoho druhů je schopno žít v půdě nebo na jiných suchozemských místech, kde hrají důležitou roli v ekosystému a v koloběhu živin (Whitton, 1992). Mají působivou schopnost osídlit nehostinné substráty jako například sopečný popel, písečné pouště či již zmíněné skály (Dor & Danin, 1996). Další pozoruhodnou vlastností je jejich schopnost přežít vysoké i nízké teploty. Mohou obývat termální prameny, horské řeky (Kann, 1988) nebo zasněžené a zamrzlé oblasti (Laamanen, 1996). Jejich schopnost adaptace na široké rozmezí prostředí poukazuje na úspěšnou životní strategii (Whitton & Potts, 2000). Této úspěšné životní strategie dosáhli i díky tomu, že patří mezi nejstarší organismy na zemi a měly tak dostatek času k adaptaci na různá prostředí. (Kalina & Váňa, 2005). Stáří sinic se odhaduje na 3,5 miliardy let, patřily mezi pionýrské organismy na naší planetě (Schopf, 1996). Tyto fotosyntetické mikroorganismy byly v té době velmi pravděpodobně hlavními primárními producenty organické hmoty. Zároveň byly první organismy, které uvolňovaly kyslík do atmosféry. Toto období je nazýváno „Great Oxidation Event.“ a došlo k němu přibližně před 2,4 miliardy let (Anbar et al., 2007).

K životu vyžadují sinice pouze vodu, oxid uhličitý, anorganický materiál ve formě živin a mikroprvků a světlo. Jejich hlavním režimem energetického metabolismu je fotosyntéza (Fay, 1965). Fotosyntetická barviva sinic se nacházejí v tylakoidech, které leží volně v cytoplasmě. Ty způsobují charakteristickou barvu buněk sinic, která podle konkrétního složení jednotlivých pigmentů může být od modrozelené po fialovočervenou. Kromě chlorofylu a jsou u sinic přítomny i tzv. doprovodná fotosyntetická barviva, mezi které patří fykocyanin (modré barvivo), allofykocyanin (modré barvivo) a fykoerythrin (červené barvivo). Tyto barviva jsou začleněny do fykobilizomů, které se vyskytují na povrchu tylakoidů. Všechny sinice obsahují fykocyanin a chlorofyl a. Fykoerythrin je přítomen pouze u některých druhů (Douglas, 1994). Pouze chlorofyl a má schopnost přeměnit energii pohlceného fotonu na chemickou energii. Ostatní barviva mají funkci světlosběrné antény. Absorbují a přenášejí sluneční energii (fotony) do reakčního centra (Raghavendra, 2000). Sinice disponují ve svém fotosyntetickém aparátu dvěma reakčními centry – PS I a PS II (Whitton, 1992). Donorem elektronu při fotosyntéze je voda. Na to aby vznikla jedna molekula kyslíku, se musí oxidovat dvě molekuly vody tak, že



se jim odeberou čtyři elektrony. Kyslík, který je tak nepostradatelný a nezbytný pro život na zemi, se tak uvolní během fotosyntetického procesu (Raghavendra, 2000). Je však známo, že některé druhy sinic jsou schopny získávat energii i heterotroficky, tj. rozkladem organických látek. Druhy sinic, které tuto schopnost využívají, pak dokáží přežít i dlouhé období v úplné tmě.

Prokaryotická buňka je oproti eukaryotické buňce jednodušší. V prokaryotické buňce je absence organel, nenajdeme zde mitochondrie, endoplasmatické retikulum, Golgiho aparát ba do dokonce ani jádro. DNA není fixováno v jádře, ale nachází se v cytoplazmě (Kalina & Váňa, 2015). Mnoho druhů sinic disponuje plynovými měchýřky, stěna měchýřků se skládá z glykoproteinů, což umožňuje průchod plynům, které jsou rozpuštěny ve vodě. Plynové měchýřky jsou pak vyplněny plyny (Whitton & Potts, 2000). Díky tomu jsou sinice schopny upravit svoji vertikální pozici ve vodním sloupci, to jim pomůže najít vhodnou niku pro přežití a růst (Walsby, 1987).

Přítomnost sinic a také jejich schopnost růstu a rozmnožování je limitována ve všech ekosystémech čtyřmi faktory. Mezi tyto faktory se řadí sluneční energie, oxid uhličitý a dostupnost klíčových živin, což je fosfor a dusík. Omezení růstu sinic v ekosystémech může být způsobeno nedostatkem buď pouze jedním ze zmíněných faktorů, nebo nedostatkem i více těchto klíčových faktorů. V minulosti byla běžně pozorována limitace růstu sinic kvůli fosforu a dusíku (Elster et al., 1999). Nízká koncentrace živin v ekosystému (jsou zde tedy oligotrofní podmínky) umožňuje, že v takovém prostředí je pak vysoká diverzita fytoplanktonu (Huisman & Weissing, 1994). Vysoká rozmanitost a nízká biomasa fytoplanktonu je spojena s vysokou kvalitou vody.

Pokud je v ekosystému vysoká koncentrace živin (eutrofní až hypertrofní prostředí), přechází do dominantního postavení sinice. Jejich rychlý růst, a následná dominance, která je způsobená dostatečně vysokou koncentrací živin, může vest v akvatických ekosystémech až k tvorbě a vzniku tzv. vodního květu. Některé existující studie poukazují na to, že na výskyt, intenzitu a trvání vodního květu má vliv i celkové globální oteplování klimatu na Zemi a zvýšená koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře (Deng et al., 2014; Paerl & Huisman, 2009; Visser et al., 2016; Sinha et al., 2012). Nadměrné obohacení akvatických ekosystémů o vysokou koncentraci živin je většinou způsobené zemědělským hospodářstvím, ve kterém se používají ve velké míře hnojiva, která jsou bohatá na dusík a fosfor. Živiny se pak dostávají do vodního prostředí hlavně díky splachům půdy. Kromě zemědělského hospodářství má na eutrofizaci vod značný podíl také průmyslové hospodářství (Reynolds, 1997).

Vodní květ, který je způsoben jak již bylo zmíněno masivním šířením sinic v akvatických ekosystémech, přitahuje v poslední době značnou pozornost po celém světě (Harke et al., 2016; Paerl & Otten, 2013). A to hlavně kvůli tomu, že má na ekosystémy prokazatelně velmi neblahý dopad a způsobuje snížení kvality vody. Některé druhy sinic jsou schopné produkovat toxické metabolity, tyto sekundární toxické metabolity jsou v odborné literatuře označovány souhrnně jako cyanotoxiny.

Cyanotoxiny lze rozdělit do tří skupin a to sice na hepatotoxiny, neurotoxiny a cytotoxiny (Dittman et al., 2013; Neilan et al., 2013). Hepatotoxiny jsou ve vodě dost stabilní. Ve vodním prostředí mohou přetrvat i několik dní po zmizení vodního květu. Cílový orgán, který je napadán, jsou játra. Mezi hepatotoxiny řadíme microviridin, microcystin, nodularin a cylindrospermopsin (Říhová Ambrožová, 2007). Při otravě hepatotoxiny lze pozorovat klinické příznaky jako například slabost a nechutenství (Cronberg & Annadotter, 2006). Neurotoxiny mají alkaloidní povahu, blokuji sodíkové kanály membrán, depolarizují je a inhibují cholinesterázy (Říhová Ambrožová, 2007). Mezi účinné látky neurotoxinů patří anatoxin či aphanotoxin (Briand et al., 2003). Nejčastější diagnóza při otravě neurotoxiny je nekoordinovaný pohyb, křeč nebo smrt následkem udušení (Haider et al., 2003). Cytotoxiny jsou biologicky aktivní látky. Ve vodním prostředí ovlivňují svojí přítomností chemické a fyzikální parametry (Říhová Ambrožová, 2007).

V případě potřeby je mnoho druhů sinic schopno fixovat elementární dusík (Bergman et al., 1997; Gallon, 2001). Jedná se hlavně o druhy, u kterých jsou přítomny heterocyty. Mezi tyto druhy lze zařadit *Anabaena* sp. či *Nostoc* sp. (Stewart, 1973). Fixace elementárního dusíku byla však zaznamenána i u druhů, u kterých heterocyty chybí, například *Trichodesmium* (Carpenter et al., 1992). Fixace je z fyziologického hlediska poměrně nákladná, a proto se k ní sinice uchylují v případě, že je koncentrace dusíku v okolním prostředí nízká.

Jediný známý způsob rozmnožování u sinic je nepohlavní. Pohlavní rozmnožování u nich není známo. Gamety, obrvené rozmnožovací buňky či jiné pohlavní orgány se nikdy netvoří (Šejnohová & Maršálek, 2005). Kokální sinice se rozmnožují prostým dělením. Rozlišují se tři typy dělení, binární dělení, mnohonásobné dělení a nerovnoměrné dělení.

U vláknitých sinic dochází k příčnému dělení k podélné ose trichomu. Pro efektivnější rozmnožování mohou tvořit hormogonie tzv. pohyblivé jednotky, což jsou vlákna, které jsou tvořeny několika buňkami, jež se oddělí od mateřského vlákna a dorostou v nové (Komárek & Anagnostidis, 1998).

### **2.1.1 Aerofytní sinice**

Pojmem aerofytní (vzdušné) sinice označujeme druhy, které nemají svoji niku ve vodním prostředí. Do míst, které osidlují se dostává voda pouze ve formě atmosférické depozice, deště, mlhy, či sněhu (Komárek & Anagnostidis, 1998). Typickými biotopy aerofytních sinic může být půda, skalní substrát, písčité substrát a jiné (Büdel, 1996). Charakteristickým znakem těchto zmíněných habitatů je časté kolísání teplot a vlhkosti (Potts, 1994). Aerofytní sinice disponují ochranným membránovým pouzdem, tj. pochvami tvořenými polysacharidy a malým množstvím bílkovin, jimiž jsou obaleny. Pochva obsahuje velké množství vody. Tato fyziologická výhoda jim umožnila dobrou obrannou adaptaci proti vysychání (Potts, 1999). Aerofytní sinice lze rozdělit do dvou skupin na endolitické a epililitické. Epililitická skupina osidluje přímo povrch substrátu, zatímco endolitická skupina je přítomna přímo v substrátu, tedy pod jeho povrchem. Povrch substrátu rozruší sinice samy nebo využijí pukliny (Whitton & Potts, 2002).

## **2.2 Sekvencování**

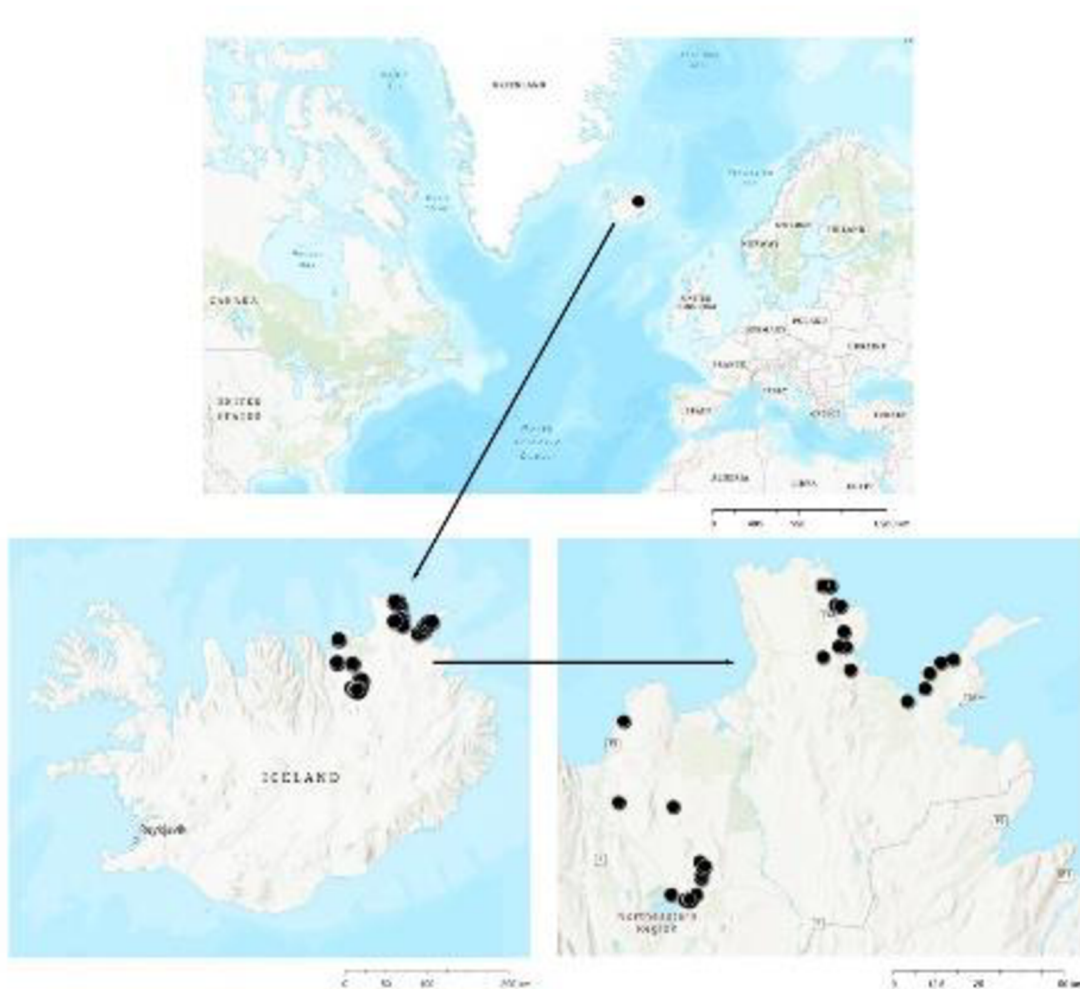
Koncept metody sekvencování byl historicky poprvé představen roku 1975 (Sanger & Coulson, 1975). V roce 1977 byly zveřejněny dvě významné studie od Sangera a Maxama, které se zabývaly sekvencováním. Tyto dvě studie stály za zrodem prvního automatizovaného přístroje pro sekvencování DNA, který byl veden Kalifornskou technologickou institucí (Smith et al., 1986). Pro hlubší kontext pochopení morfologických, fyziologických a evolučních charakteristik, jež organismy dosáhly, je dobré porozumět jejich genům (De Bruin et al., 2003). Sekvence DNA jsou tak používány jako pevná kotva, která zajišťuje objektivní srovnání možností metabolismu mezi jednotlivými rody a druhy sinic. Technologie jako například sekvencování genu 16S ribozomální RNA nám dává podrobné informace o fylogenetických vztazích mezi sinicemi (Rudi et al., 1997). U sinic existuje značná morfologická a genotypová rozmanitost (Nakao et al., 2010). Lepší pochopení fylogenetických vztahů vede tedy přes molekulární přístup, který umožňuje odlišit i podobné morfotypy. Pro rozlišení druhů byla arbitrárně stanovena hranice 97,5% a pro rozlišení druhů se obecně uznává 95% identity sekvencí v 16S rDNA genu. V posledních letech se objevilo mnoho studií založených na sekvencování izolovaných kmenů. Výsledky těchto studií poukázaly na velké množství nových rodů sinic. Současný pohled na taxonomii sinic je ale bohužel trochu zmatečný a nejasný kvůli tomu, že mnoho druhů a rodů bylo historicky určeno čistě na základě jejich morfologického vzhledu. Leč bez znalosti složení jejich DNA markeru a díky neexistenci původního materiálu

je velmi komplikované, je dále přiřadit k současně popisovaným druhům a rodům sinic (Komárek, 2019).

### 3 Materiál a metodika

#### 3.1 Odběr

Materiál, který byl použit pro diplomovou práci, byl odebrán z nenarušených ekosystémů Islandu. Konkrétně se jedná o 42 vzorků, které byly odebrány a přivezeny mým školitelem roku 2020. Odebrané vzorky mají původ z různých lokalit. Detailní zobrazení poloh odběrových míst vzorků je vyznačeno na mapě (Obrázek 1).



Obrázek 1: Mapa s vyznačením poloh odběrových míst

Odběrová místa měly různé typy substrátu. Na každé z navštívených lokalit byl odebrán vzorek, který byl následně zamražen a uchován pro naplánovanou kultivaci, optickou mikroskopii (OM) a další případnou analýzu pomocí metody sekvenování druhé generace (NGS).

## 3.2 Morfologická determinace

Podle morfologických znaků sinic byla provedena determinace za pomoci následné literatury:

Komárek J. (2013): Cyanoprokaryota – 3. Teil/ 3rd part: Heterocytous Genera

Komárek J. & Anagnostidis K. (2005): Cyanoprokaryota – 2. Teil/ 2nd part: Oscillatoriales

Komárek J. & Anagnostidis K. (1998): Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales

## 3.3 Molekulární metody

Pro molekulární identifikace sinic na základě izolace genomové DNA pro následující polymerázovou řetězovou reakci (PCR) a sekvencování genu 16S ribozomální RNA byly zvoleny dvě metody. První metodou byla izolace jednotlivých buněk nebo vláken z přírodních vzorků, přímo následovaná PCR, tzv. single cell PCR. Druhou metodou byla klasická izolace a kultivace jednotlivých kmenů sinic, následovaná izolací DNA pomocí kitu, PCR a sekvencováním 16S ribozomální RNA. Obě metody jsou dále detailně popsány.

### 3.3.1 *Single Cell metodika*

Vybrané vzorky z různých biotopů byly zdokumentovány pod optickým mikroskopem při zvětšení 1000x (Olympus DP74, Olympus, Japonsko) pomocí CCD kamery (TH4-200, Olympus, Japonsko).

Pro následnou metodu single Cell bylo nezbytné zhotovit nejprve kapiláry. Pro zhotovení kapilár byly využity skleněné trubičky (Conatex). Skleněná trubička byla nejprve nahřátá nad kahanem, po nahřátí byla trubička okamžitě roztažena, čímž se docílilo zhotovení skleněné kapiláry. Celá příprava kapilár byla provedena ve flow boxu, ve kterém bylo zajištěno potřebné sterilní prostředí. Zhotovené skleněné kapiláry byly následně vloženy do 200 µl špiček, které byly nasazeny na pipetu. Pomocí zhotovených kapilár byly vybírány jednotlivé buňky nebo vlákna sinic. Vlákna a buňky byly vybírány na invertovaném mikroskopu (Olympus DP74, Olympus, Japonsko) nejčastěji pod zvětšením 5-20x. Při větším zvětšení bylo vybírání malých druhů velmi obtížné.

Jednotlivé buňky vybrané za pomoci kapilár byly vloženy do předem přichystaných PCR zkumavek o objemu 0,2 ml, které byly ve stripech po osmi kusech. Do všech mikrozkušavek bylo již dříve přidáno 10 µl TE roztoku. TE roztok byl připraven ve flow boxu smícháním Tris/Acetic Acid/EDTA pufru (40mM Tris, 20mM Acetic acid, 1mM EDTA, pH 8,3; Bio Rad, Česká republika) s destilovanou vodou v poměru 1:50. Buňky, u kterých bylo předpokládáno, že se jedná o jeden druh, byly vybrány ze vzorku za pomoci kapilár vždy alespoň v osmi

opakováních. Při vybírání buněk kapilárou bylo podstatné, aby byly nasáty buňky pouze jednoho určitého druhu. V případě, že by byly nasáty buňky více než jednoho druhu a následně by byly vloženy do jedné mikrozkušavky, vznikl by směsný vzorek. Takový vzorek už by neměl nadále žádnou hodnotu.

Do všech PCR mikrozkušavek s TE roztokem a buňkami bylo následně přidáno 25  $\mu\text{l}$  master mixu (Top-Bio, Česká republika), 2,5  $\mu\text{l}$  primeru 359F (5'-GGGGAATYTTCCGCAATGGG-3') (Nübel et al., 1997), 2,5  $\mu\text{l}$  primeru 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (Strunecký et al., 2013) a 10  $\mu\text{l}$  PCR vody, celkový objem kapaliny v PCR reakci tedy činil 50  $\mu\text{l}$ . Stripy pak byly zcentrifugovány a vloženy do PCR stroje (C1000 Touch Thermal Cycler, Bio Rad, Česká republika; Obrázek 2). „Touch down“ PCR probíhala následovně: počáteční denaturace 5 min při 95°C, 10 cyklů s denurací 96°C po dobu 30 sekund, počáteční teplota annealingu primerů byla 56°C a při každém cyklu se snížila o 0,5°C, následována elongací při 72°C po dobu 120 sekund. Následujících 50 cyklů probíhalo s denurací 96°C po dobu 30 sekund, teplota annealingu byla 52°C po 30 s, následována elongací při 72°C po dobu 120 sekund. Finální elongace proběhla 5 min při 72°C a produkt byl ochlazen na 10°C a následně uložen v -20°C.



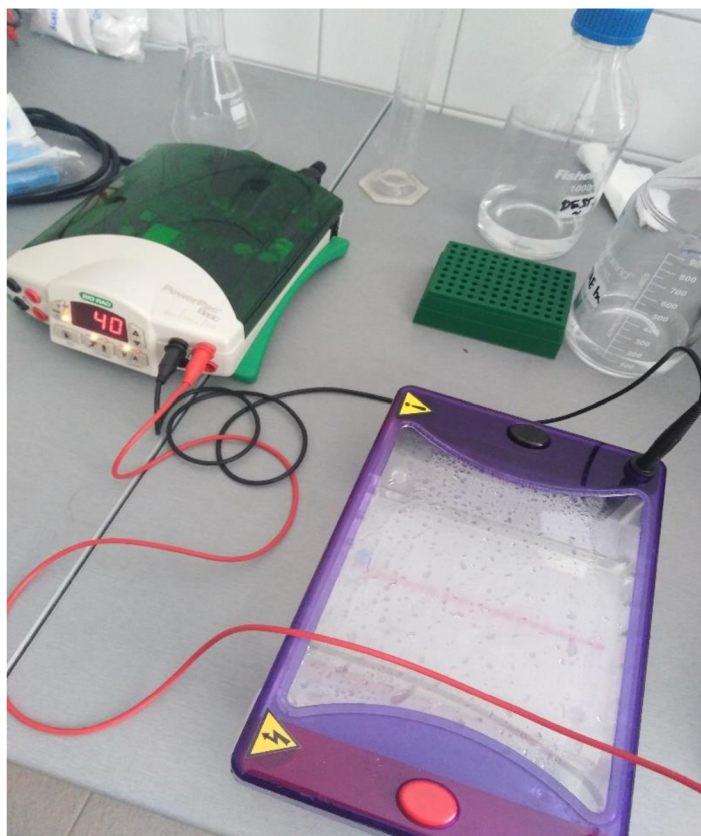
Obrázek 2: Příklad přístroje C1000 Touch Thermal Cycler, využitý pro PCR

Metoda PCR byla použita k amplifikaci DNA. PCR produkt byl pak následně dále využit při gelové elektroforéze. Gelová elektroforéza patří mezi elektromigrační separační metody a slouží pro separaci odlišně dlouhých fragmentů DNA. Elektromigrační separační metody využívají rozdílnou pohyblivost nabitých částic v elektrickém poli k jejich oddělení. Princip elektroforézy je tedy založen na pohybu elektricky nabitých částic, které jsou ve stejnosměrném elektrickém poli. Elektrické pole je vytvořeno díky vkládání konstantního stejnoměrného napětí mezi dvě elektrody. Prostředí mezi oběma elektrodami je vytvořeno základním elektrolytem, díky čemuž je zajištěna v celém systému dostatečná elektrická vodivost. V takovémto systému se pak následně pohybují anionty ke kladnému pólu, kationty k zápornému pólu a neutrální částice či molekuly nemigrují. Kvůli odlišné rychlosti pohybu složek vzorku se při průběhu elektroforézy jednotlivé složky separují na základě elektroforetické pohyblivosti. Elektroforetická pohyblivost nabité částice je definována jako rychlost pohybu v elektrickém poli o jednotkové intenzitě (Klouda, 1996).

Pro gelovou elektroforézu bylo nutné přichystat nejprve 1% agarózový gel, čehož bylo docíleno následovně: do Erlenmeyerovy baňky byl přidán 1 g agarózy (Sigma Aldrich) odvážené na kalibrované váze. Skleněným válcem bylo odměřeno 100 ml TAE roztoku, který byl poté přidán do baňky a smíchán s agarózou. Erlenmeyerova baňka byla vložena do mikrovlnné trouby a byla vařena při maximální teplotě po dobu jedné minuty, po vyjmutí byla baňka promíchána a nechala se mírně vychladit. Roztok s agarem byl následně přelit z baňky do připravené nalévací vany, do vany byl vložen hřebínek pro vytvoření jamek.

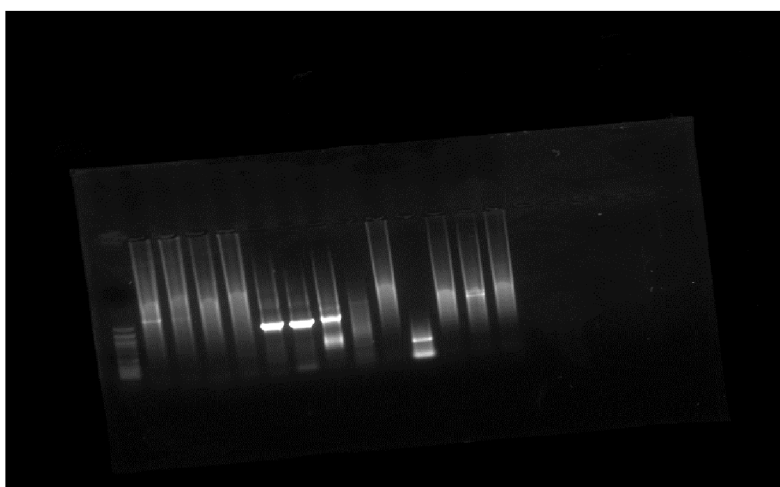
Zhruba po 30 minutách byl agar ztuhlý a připraven pro horizontální gelovou elektroforézu. Ztuhlý agarózový gel byl vložen do přístroje (PowerPac Basic, Bio Rad, Česká republika; Obrázek 3), který byl pro elektroforézu použit. Z agarózového gelu byl vyjmut hřebínek a následně byl agarózový gel zalit TAE roztokem, tak aby byl celý ponořen. Do první jamky na gelu bylo vždy napipetováno 5  $\mu$ l markeru, který byl připraven smícháním DNA markeru (200-1500 coloured, Top-Bio, Česká republika) s PCR „loading“ pufrům (Top-Bio, Česká republika) v poměru 10:3. Do dalších jamek na gelu bylo vždy napipetováno 10  $\mu$ l produktu, zbylý objem PCR produktu byl uchováván v mrazáku. Parametry elektroforézy byly nastaveny pokaždé na 110 V, 400 mA a 50 minut.



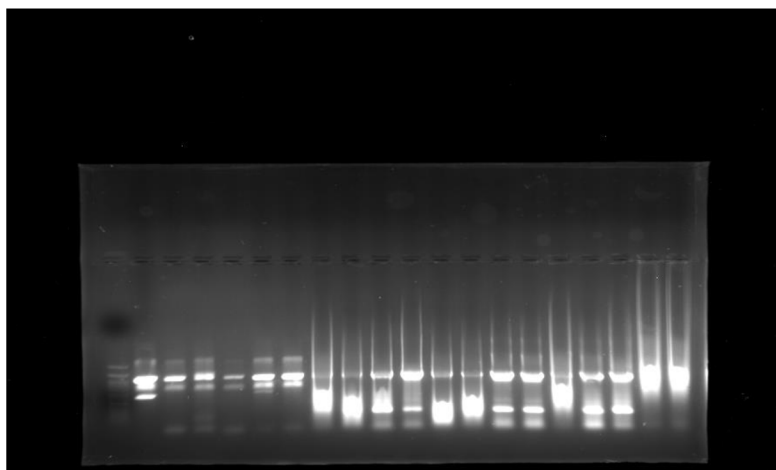


Obrázek 3: Přístroj PowerPac Basic, který byl použit pro horizontální gelovou elektroforézu

Po dokončení gelové elektroforézy byl gel opatrně vyjmut a přemístěn do přístroje (Azure c300, Azure Biosystems, USA), který disponuje transiluminátorem. V přístroji byl gel osvětlen UV světlem o vlnové délce 305 nm a zároveň vyfotografován (Obrázek 4). Dle pořízených fotografií bylo následně určeno, které PCR produkty obsahují fragmenty DNA odpovídající délce předpokládaného PCR produktu. Některé PCR produkty obsahovaly více proužků (Obrázek 5), které byly z gelu selektivně vyříznuty a přečištěny.



Obrázek 4: Vyfocený gel s PCR produkty, který je osvětlen UV světlem



Obrázek 5: Vyfocení gel s více proužky v PCR produktech

PCR produkty určené jako pozitivní byly vyjmuty z mrazáku, rozmrazeny a poté přečištěny od barviv a primerů přítomných v master mixu, které by jinak interferovaly se sekvenční reakcí. K vyčištění PCR produktů byl využit TIANGen Mini DNA Purification Kit (TIANGEN, Čína). Čištění probíhalo následovně: do PCR produktu bylo nejprve přidáno 100  $\mu$ l lyzačního pufru. Mezitím bylo do spin kolonky s membránou vložené do eppendorf zkumavky napipetováno 500  $\mu$ l BL pufru, který je určený k aktivaci membrány v kolonce. Spin kolonka byla dále vložena do centrifugy na 1 minutu při 12 000 RPM. BL pufr projde skrz membránu až na dno sběrné eppendorfky, ze které se odstraní. Následně byl napipetován přichystaný PCR produkt do spin kolonky s aktivovanou membránou, která byla opět vložena do centrifugy na 1 minutu při 12 000 RPM. Při tomto kroku bylo DNA zachyceno na membráně v kolonce, zbylý objem PCR produktu, který se dostal při centrifugaci do eppendorfky, byl odstraněn. Membrána se zachycenou DNA byla vyčištěna pomocí promývacího pufru WB, který byl do spin kolonky přidán o objemu 600  $\mu$ l. Kolonka byla následně centrifugována 2 minuty při 12 000 RPM. Tento krok byl opakován ještě jednou. V posledním kroku byla vložena spin kolonka s membránou do zkumavky o objemu 1,5 ml. Na střed membrány bylo opatrně napipetováno 40  $\mu$ l elučního pufru EB. Zkumavka byla následně vložena do centrifugy na 2 minuty při 12 000 RPM. Po centrifugaci byla rotační kolonka s membránou nakonec vyhozená a ve zkumavce zůstal finální vyčištěný produkt s DNA.

Pokud PCR produkty obsahovaly na gelu více proužků, byly vyřezány. Vyřezávání proužku bylo provedeno v místnosti bez přístupu světla. Gel byl osvětlen pomocí UV záření, tím bylo docíleno, že proužky v gelu byly ve tmě viditelné a mohli tak být za pomoci skalpelu vyříznuty.

Vyříznuté části gelu s obsahem DNA byly následně vloženy do připravených eppendorf zkumavek o objemu 1,5 ml. Do eppendorf zkumavek bylo ke gelu následně napipetováno 200  $\mu$ l lyzačního pufru PN. Eppendorfky byly poté vloženy do pece na 40 minut o teplotě 70°C, aby se gel rozpustil. Následovalo čištění, které bylo provedeno stejně jako u předchozích PCR produktů.

### **3.3.2 Metoda klasické izolace**

Pro kultivaci vzorků bylo použito medium BG 11 (Rippka et al., 1979) ztužené 1,5% agarem (Sigma Aldrich) za denního světla při 10°C pro studenomilné kmeny a 30°C pro kmeny z termálních lokalit. Kultivovaný vzorek na Petriho misce byl prohlédnut pomocí OM pod invertovaným mikroskopem. Následně byla vybraná malá část biomasy ideálně s co nejhomogennějším složením a přenesena za pomoci jehly na další již připravenou Petriho misku s médiem BG 11. Vybraná kultura byla následně dále kultivována a prohlédnuta pod invertovaným mikroskopem s tím, že byla opět vybrána a přemístěna malá část nejhomogennější biomasy. Tento proces byl opakován do doby, než byla jistota, že je monokultura zcela čistá bez směsi. Ze vzniklých monokultur byla následně izolovaná genomová DNA.

K izolaci byl použit EliGene Soil DNA Isolation Kit (Elisabeth Pharmacon, Česká republika). Izolace genomové DNA byla provedena následně: Vykultivované monokultury sinic byly vloženy do homogenizačních zkumavek, které obsahovaly keramické částice. Poté bylo přidáno do homogenizačních zkumavek 60  $\mu$ l lyzačního pufru S1. Homogenizační zkumavky se vzorkem a pufrem byly inkubovány v termobloku (Grant QBD2, Cadmus) při 70°C po dobu 10 minut. Po inkubaci byly zkumavky připevněny pomocí lepicí pásky do horizontální polohy na třepačku (Lab dancer, IKA), kde byly třepány 10 minut. Po třepání byly homogenizační zkumavky vloženy do centrifugy. Centrifugace probíhala 1 minutu při 10 000 RPM. Vzniklý supernatant byl přepipetován z homogenizačních zkumavek do čistých 2 ml eppendorf zkumavek. Do eppendorfek se supernatantem bylo přidáno 250  $\mu$ l S2 pufru k případnému odstranění inhibitorů PCR reakce. Následně se zkumavky eppendorf nechaly inkubovat na ledě po dobu 5 minut. Po inkubaci byly eppendorfky opět centrifugovány 1 minutu při 10 000 RPM. Poté bylo přidáno 600  $\mu$ l vazebného pufru S3 a eppendorfky s pufrem byly opět centrifugovány 1 minutu při 10 000 RPM. Po centrifugaci byl z eppendorfek převeden supernatant o objemu 700  $\mu$ l do přichystaných spin kolonek s membránou. Rotační kolonky s membránou byly následně vloženy do centrifugy na 1 minutu při 10 000 RPM. Poté se do spin kolonek napipetovalo 500  $\mu$ l promývacího pufru k vyčištění membrány se zachycenou DNA. Kolonky

byly vloženy do centrifugy na 1 minutu při 10 000 RPM. Tento krok s promývacím pufrem byl následně opakován ještě jednou. Při poslední fázi izolace byla spin kolonka se zachycenou DNA na membráně vložena do nové a čisté eppendorf zkumavky, následně bylo na střed membrány napipetováno 50  $\mu$ l elučního pufru S4. Spin kolonka v eppendorfce byla vložena do centrifugy na 2 minuty při 10 000 RPM. Po centrifugaci byla spin kolonka s membránou odstraněna a v eppendorf zkumavce zůstala vyizolovaná genomická DNA přichystána na PCR. Před PCR byla ještě provedena kontrola vyizolované DNA. Z eppendorf zkumavky s vyizolovanou DNA byl přepipetován 1  $\mu$ l na spektrofotometr (NanoDrop Lite, Thermo Scientific, USA; Obrázek 6), který změřil koncentraci produktu. Koncentrace byla poté zaznamenána do protokolu.



Obrázek 6: Spektrofotometr NanoDrop Lite, který byl využit k měření koncentrace produktu

Pro PCR bylo využito 10  $\mu$ l izolovaného produktu, který byl smíchán s 25  $\mu$ l master mixu (Top-Bio, Česká republika), 2,5  $\mu$ l primeru 359F (5'-GGGGAATYTTCCGCAATGGG-3') (Nübel

et al., 1997), 2,5 µl primeru 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (Strunecký et al., 2013) a 10 µl PCR vody. Zkumavka o celkovém objemu 50 µl byla krátce centrifugována a vložena do PCR stroje (C1000 Touch Thermal Cyclers, Bio Rad, Česká republika). PCR proběhla stejně, jako bylo již popsáno v předcházející metodice, pouze s jediným rozdílem a tím bylo snížení počtu cyklů na 40. Ze vzniklého PCR produktu bylo napipetováno 10 µl do jamky na připraveném agarózovém gelu.

Následovala gelová elektroforéza, skenování gelu, určení pozitivních PCR produktů a jejich vyčištění (viz první metoda).

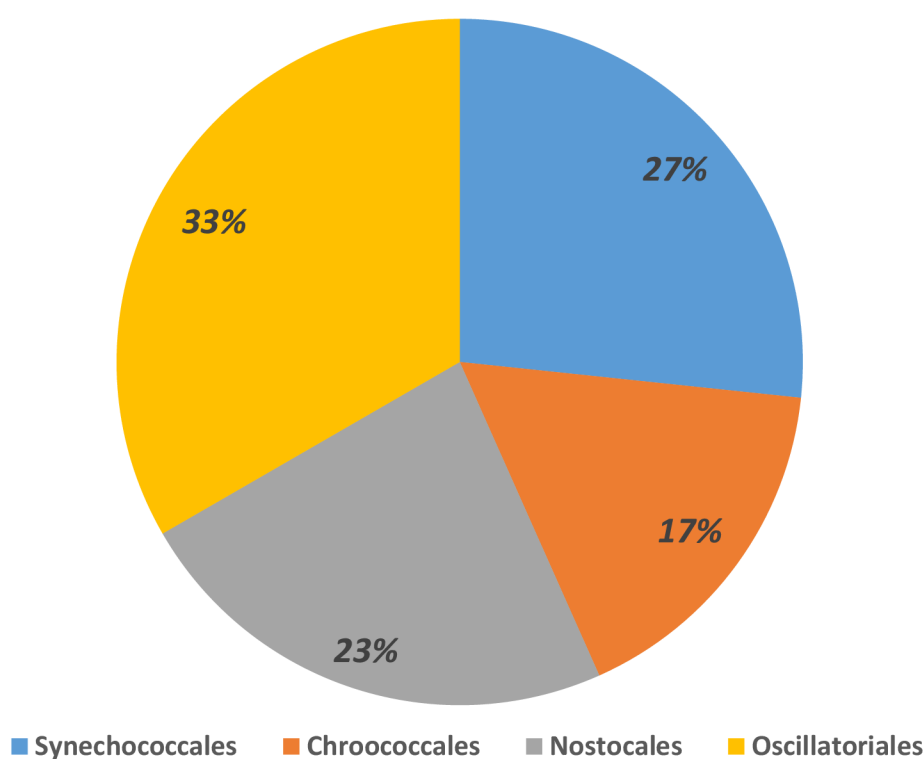
K odeslání na komerční sekvencování (Eurofins Genomics, CZ) bylo využito 5 µl vyčištěného produktu, ke kterému bylo přidáno 5 µl primeru 1492R. Po confirmaci pozitivního výsledku bylo ještě taktéž smícháno dalších 5 µl vyčištěného produktu s 5 µl primeru 800R.

Sekvence byly zpracovány v programu Geneious Prime v. 2021. Následně byly alignovány se srovnávacími sekvencemi sinic poskytnutými mým školitelem online pomocí programu MAFFT (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>). Soubor se sekvencemi byl vložen do programu MEGA7, ve kterém byl vytvořen finální fylogenetický strom metodou Maximal Likelihood.

## 4 Výsledky

Ve vzorcích, které byly odebrány z islandských ekosystému, bylo nalezeno celkově 30 zástupců sinic. Zastoupené druhy spadají do čtyř taxonomických řádů. Nejpočetnější je řád Oscillatoriales, do kterého náleží 10 zástupců. Druhý nejhojnější řád je Synechococcales s 8 zástupci. O jednoho nalezeného zástupce méně má řád Nostocales. Nejméně početný řád je Chroococcales, do kterého spadá celkově pouze 5 nalezených zástupců. Pro lepší přehlednost byl zhotoven Graf 1.

*Procentuální rozdělení řádů dle počtu nalezených zástupců*



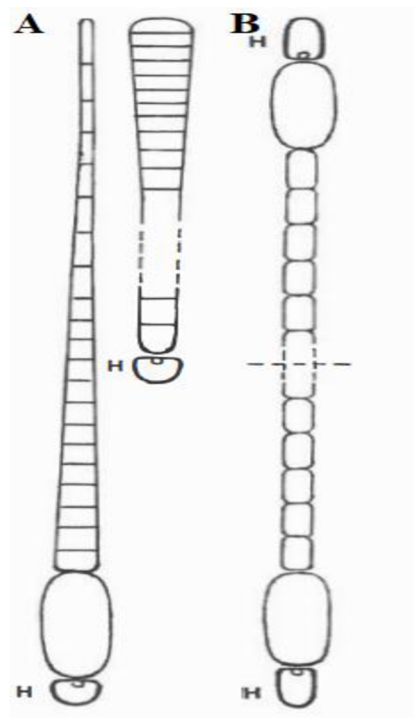
Graf 1: Procentuální rozdělení řádů dle počtu nalezených třiceti zástupců

### 4.1 Popis nalezených řádů

#### Řád Nostocales

Nostocales byly zastoupeny v 15 analyzovaných vzorcích. Do tohoto řádu spadají výhradně vláknité typy sinic. Vlákna jsou u řádu Nostocales buď jednoduchá a přímá nebo může u některých druhů docházet k pravému či nepravému typu větvení. U nepravého větvení vzniká větev tlakem dvou buněk na sebe, díky čemuž dochází k proniknutí přes trichom nebo

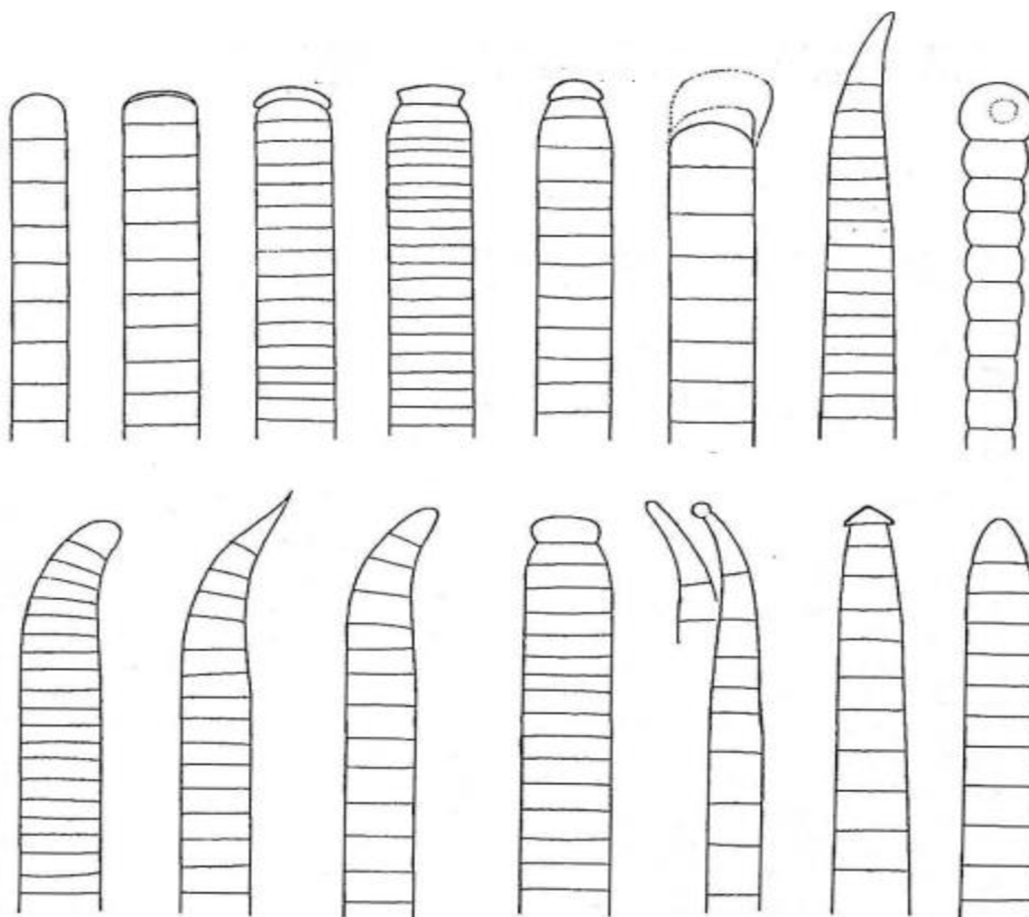
nekrotickou buňku. Vlákna mohou být izopolární (konce vlákna jsou stejná a neliší se od sebe) nebo heteropolární (konce vlákna se od sebe liší) (Obrázek 7). Téměř vždy jsou přítomny heterocyty, které umožňují fixaci dusíku (Komárek & Anagnostidis, 1989). Množství heterocytů, jež je přítomno ve vláknech, se odvíjí od podmínek v daném prostředí. Za klíčové faktory je považována koncentrace dusíku, dostupnost organických složek a také teplota. Frekvence produkce heterocytů je tedy proměnlivá v závislosti na podmínkách prostředí a jejich množství se tak může měnit. V prostředí s nízkou koncentrací dusíku je tvorba heterocytů větší. Naopak v prostředí, které je bohaté na dusík, mohou heterocyty zcela vymizet. Ve vláknech jsou často přítomny akinety, což jsou modifikované buňky, které vznikají z jedné nebo více vegetativních buněk. Vzniklé akinety jsou obvykle větší než samotné vegetativní buňky a zároveň mají také tlustší buněčnou stěnu. Akinety slouží k přežití nehostinných a nepříznivých podmínek. Vlákna druhů, tohoto řádu jsou buď jednotlivě, nebo tvoří kolonie (Komárek, 2013). Ve vzorcích bylo nalezeno z řádu Nostocales 7 zástupců. Jednalo se o *Mastigocladus laminosus*, *Nostoc commune*, *Anabaena oscillarioides*, *Chlorogloeopsis fritschii*, *Rivularia borealis*, *Rivularia* sp., *Tolypothrix* sp.



Obrázek 7: Polarita jednotlivých vláken. Heteropolární vlákno (A), izopolární vlákno (B). Pozice heterocytů (H) (Komárek & Anagnostidis, 1989).

## Řád Oscillatoriales

Zástupci řádu Oscillatoriales byli v analyzovaných vzorcích zastoupeni hojně, jejich přítomnost byla pozorována ve 23 vzorcích. Tento řád zahrnuje většinou jednoduché vláknité typy stélek. Výjimku v tomto řádu tvoří rod *Cyanothece*, který nemá vláknitý typ stélky. U všech vláknitých druhů jsou trichomy tvořeny jednou řadou buněk. Koncové buňky vláken mohou být zaoblené, špičaté či různě ohnuté (Obrázek 8). Druhy spadající do řádu Oscillatoriales nemají heterocyty ani akinety. Mezi důležité morfologické znaky patří tvar apikálních buněk, velikost vegetativních buněk ve vlákně a přítomnost slizového obalu. Rozmnožování probíhá obvykle pomocí hormogonií nebo prostou fragmentaci trichomů (Komárek & Anagnostidis, 2005). Ve vzorcích bylo nalezeno 10 zástupců z řádu Oscillatoriales. Jednalo se *Microcoleus favosus*, *Microcoleus vaginatus*, *Anagnostidinema amphibium*, *Anagnostidinema lemmermannii*, *Kamptonema formosum*, *Desertifilum tharense*, *Anagnostidinema pseudacutissimum*, *Desertifilum* sp., *Cyanothece epiphytica* a *Cyanothece* sp..

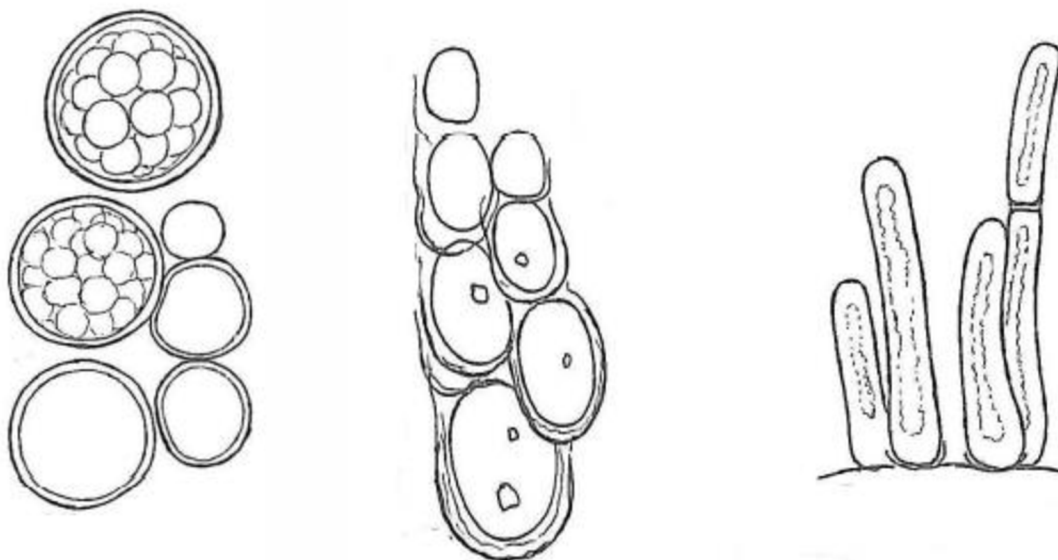


Obrázek 8: Jednotlivé typy koncových buněk vláknitých sinic (Anagnostidis & Komárek, 1988).



## Řád Chroococcales

Chroococcales byly v analyzovaných vzorcích zastoupeny nejméně. Zástupci řádu Chroococcales byli pozorováni pouze v 9 vzorcích. Řád zahrnuje kokální sinice, které jsou buď solitérní, nebo se shlukují a tvoří mikroskopické až makroskopické kolonie. Druhy, které spadají pod tento řád, netvoří nikdy pravá vlákna pouze takzvané pseudofilamenty, ale mohou tvořit kolonie. Kokální buňky mohou mít různý tvar, například kulovitý, oválný, tyčinkovitý nebo i různě nepravidelný. Vzácně se může objevovat i vřetenkovitý tvar. Struktura buněk je v zásadě homogenní. Buňky mohou být polarizované. Některé rody mohou vytvářet kolem buněk slizový obal. Slizový obal může mít různý tvar, strukturu, barvu či vrstvení. Některé druhy z tohoto řádu mohou mít plynové váčky, což představuje zajímavý fenomén, který je považován za hodnotnou taxonomickou charakteristiku. U Chroococcales nebyly pozorovány akinety ani heterocyty. Rozmnožování probíhá dělením (Komárek & Anagnostidis, 1998). Ve vzorcích bylo nalezeno z řádu Chroococcales 5 zástupců. Konkrétně se jednalo o *Gloeocapsopsis crepidinum*, *Gloeocapsa nigrescens*, *Gloeocapsa aeruginosa*, *Aphanothece microscopica* a *Aphanothece* sp..



Obrázek 9: Typy tvarů buněk řádu Chroococcales (Komárek & Anagnostidis, 1998).

## Řád Synechococcales

Synechococcales byly zastoupeny ve 28 analyzovaných vzorcích. Do tohoto řádu spadají kokální i vláknité sinice. Ve vzorcích bylo nalezeno z řádu Synechococcales 8 zástupců. Jednalo se o *Leptolyngbya thermalis*, *Leptolyngbya geysericola*, *Leptolyngbya boryana*, *Phormidesmis nigrescens*, *Phormidesmis communis*, *Jaaginema thermale*, *Cyanobium* sp. a *Pseudanabaena catenata*.

### 4.2 Výskyt jednotlivých druhů

V níže uvedené Tabulce 1 je přesně popsáno, z jakých míst a typů substrátů byly vzorky odebrány. Kromě toho byla zaznamenána také zeměpisná poloha a teplota odběrových lokalit.

Tabulka 1: Výskyt jednotlivých druhů na daných lokalitách

Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Biotop	Substrát	Kategorie	Teplota	Nalezené druhy
65,63975	16,9696	jezero	kamenitý	termální	27,1 °C	<i>Phormidesmis nigrescens</i> <i>Leptolyngbya thermalis</i> <i>Gloeocapsopsis crepidinum</i> <i>Aphanothece microscopica</i> <i>Rivularia borealis</i>
65,62559	16,8833	potok	kamenitý	termální	44 °C	<i>Jaaginema thermale</i>
65,6415	16,80755	jezírko	kamenitý	termální	41 °C	<i>Gloeocapsopsis crepidinum</i>
65,68124	16,775	potok	kamenitý	termální	25,8 °C	<i>Microcoleus favosus</i> <i>Leptolyngbya thermalis</i>
65,69156	16,7726	potok	kamenitý	termální	26 °C	<i>Anabaena oscillarioides</i> <i>Chlorogloeopsis fritschii</i>
65,88736	17,31188	potok	půdní	termální	45 °C	<i>Leptolyngbya geysericola</i> <i>Anagnostidinema amphibium</i> <i>Desertifilum</i> sp.
65,88736	17,31188	potok	půdní	termální	34 °C	<i>Microcoleus favosus</i> <i>Desertifilum</i> sp. <i>Mastigocladus laminosus</i>
66,45876	15,9394	jezero	bahnitý	akvatická	7 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Anagnostidinema lemmermannii</i>

						<i>Gloeocapsa aeruginosa</i> <i>Cyanobium</i> sp.
66,45884	15,97148	potok	bahnitý	akvatická	6 °C	<i>Leptolyngbya boryana.</i> <i>Anagnostidinema lemmermannii</i>
66,45854	15,8785	půda	půdní	aerofytní	6 °C	<i>Cyanothece epiphytica</i> <i>Nostoc commune</i>
66,45906	15,99344	jezero	kamenitý	akvatická	6 °C	<i>Aphanothece</i> sp.
66,4539	15,88707	jezero	kamenitý	akvatická	5 °C	<i>Rivularia</i> sp. <i>Cyanobium</i> sp.
66,4539	15,88707	půda	tundra	aerofytní	6 °C	<i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Gloeocapsa nigrescens</i>
66,4539	15,88707	potok	tundra	akvatická	5 °C	<i>Microcoleus vaginatus</i>
66,454	15,88707	jezero	kamenitý	akvatická	5 °C	<i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Desertifilum</i> sp.
66,10252	17,27869	řeka	bahnitý	akvatická	5,5 °C	<i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Aphanothece</i> sp. <i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Pseudanabaena catenata</i> <i>Desertifilum</i> sp.
66,40679	15,9034	řeka	kamenitý	akvatická	7,6 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Pseudanabaena catenata</i>
66,4047	15,87099	jezero	kamenitý	akvatická	7,6 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Pseudanabaena catenata</i>
66,3372	15,8493	jezero	kamenitý	akvatická	8,6 °C	<i>Phormidesmis communis</i> <i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Gloeocapsa aeruginosa</i> <i>Pseudanabaena catenata</i>
66,3372	15,8493	jezero	bahnitý	akvatická	8,6 °C	<i>Kamptonema formosum</i> <i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i>
66,2972	15,8352	potok	bahnitý	akvatická	6 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i>
66,2983	15,8813	potok	bahnitý	akvatická	7 °C	<i>Phormidesmis communis</i> <i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i> <i>Desertifilum</i> sp.

65,70947	16,76317	jezero	bahnitý	akvatická	6,9 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i>
65,7278	16,78328	půda	tefra	aerofytní	25 °C	<i>Mastigocladus laminosus</i>
65,7159	16,75052	jezero	kamenitý	akvatická	9,9 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Pseudanabaena catenata</i>
65,62473	16,85114	půda	půdní	aerofytní	25 °C	<i>Leptolyngbya geysericola</i> <i>Desertifilum tharense</i> <i>Gloeocapsa aeruginosa</i>
65,62473	16,85115	půda	půdní	aerofytní	40 °C	<i>Gloeocapsa aeruginosa</i> <i>Leptolyngbya geysericola</i> <i>Mastigocladus laminosus</i>
65,62473	16,85117	půda	půdní	aerofytní	40 °C	<i>Desertifilum tharense</i> <i>Mastigocladus laminosus</i>
65,62473	16,85117	půda	půdní	aerofytní	45 °C	<i>Desertifilum tharense</i> <i>Mastigocladus laminosus</i>
65,62728	16,84826	půda	tefra	aerofytní	13 °C	<i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i> <i>Leptolyngbya boryana</i>
65,62728	16,84826	popel	tefra	aerofytní	6,5 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i>
65,62728	16,84826	louže	tefra	akvatická	6,5 °C	<i>Nostoc commune</i>
65,62755	16,84907	louže	tefra	akvatická	6,5 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Cyanothece</i> sp.
66,23705	15,80633	jezero	kamenitý	akvatická	9,5 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Rivularia</i> sp. <i>Microcoleus vaginatus</i> <i>Cyanobium</i> sp. <i>Nostoc commune</i>
66,1543	15,43668	potok	bahnitý	termální	35 °C	<i>Anagnostidinema amphibium</i>
65,6305	16,84829	jezero	kamenitý	termální	38 °C	<i>Anagnostidinema amphibium</i> <i>Leptolyngbya geysericola</i> <i>Phormidesmis nigrescens</i>
66,1881	15,3221	řeka	kamenitý	akvatická	7,4 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Rivularia</i> sp. <i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i> <i>Cyanothece</i> sp.
66,22842	15,2921	potok	kamenitý	akvatická	8,1 °C	<i>Phormidesmis communis</i> . <i>Cyanobium</i> sp.

						<i>Tolypothrix</i> sp.
66,25621	15,21792	jezero	bahnitý	akvatická	9 °C	<i>Tolypothrix</i> sp.
66,45713	15,94292	louže	bahnitý	akvatická	4 °C	<i>Pseudanabaena catenata</i>
66,2645	15,13873	jezero	bahnitý	akvatická	8,1 °C	<i>Pseudanabaena catenata</i>
66,2707	66,2707	jezero	kamenitý	akvatická	7,9 °C	<i>Leptolyngbya boryana</i> <i>Pseudanabaena catenata</i> <i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i> <i>Tolypothrix</i> sp.

Největší počet vzorků byl odebrán z akvatických ekosystémů, konkrétně se jednalo o 24 vzorků. Vzorky se odebíraly z různých akvatických biotopů, mezi nejčastější patřily menší potoky a jezera. Odběry byly provedeny ale i z řek či dokonce louží. Z aerofytních a termálních ekosystémů bylo odebráno již značně menší množství vzorků. Z aerofytních ekosystémů se odebralo celkově 9 vzorků, většina z nich byla odebrána z půdy, některé se však odebraly i ze skály či z tefry. Z termálních ekosystémů bylo odebráno stejné množství vzorků jako z aerofytních ekosystémů, tudíž 9 vzorků. Do termální kategorie jsem zařadil vzorky, které byly odebrány z vodních ekosystémů, kde teplota vody přesahovala 25°C.

Nejčastější typ substrátu na odběrových místech byl kamenitý substrát, který byl následován bahnitým a půdním substrátem. Pár vzorků bylo odebráno i z tefry, což je velmi specifický typ substrátu. Pojem tefra se využívá pro pyroklastické horniny. Tento typ hornin vzniká v blízkosti sopek, které vyvrhují při erupci do atmosféry sopečný materiál, jenž se následně usazuje na pevnině nebo v moři. Existuje více typu sopečné tefry. Jednotlivé typy tefry se od sebe liší hlavně velikostí částic.

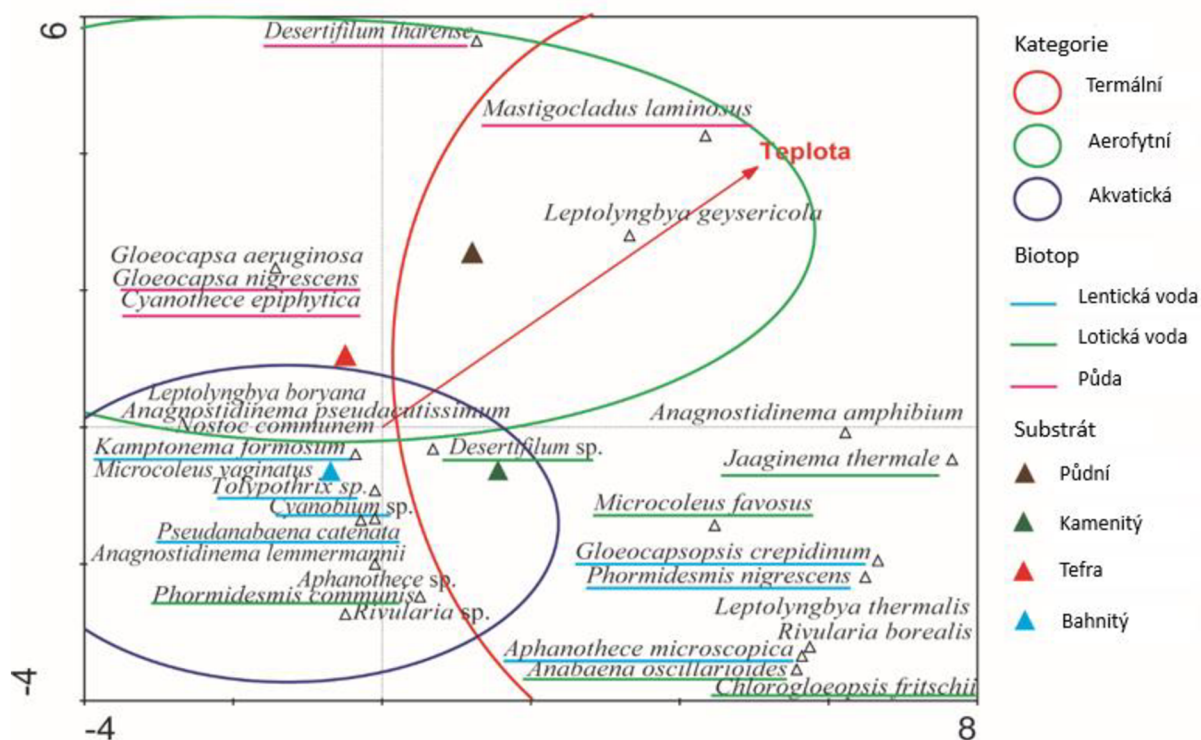
Nejvyšší počet nalezených druhů v jednom vzorku byl 5. Tento maximální počet druhů byl nalezen celkem v šesti vzorcích. Pět z těchto vzorků náleží do akvatické kategorie a 1 vzorek náleží do termální kategorie. Ve 13 vzorcích byl nalezen pouze 1 druh. Tyto vzorky pochází ze všech tří zmíněných kategorií.

Zcela jednoznačně nejhojnější výskyt měl druh *Leptolyngbya boryana*, který byl nalezen celkem v 17 vzorcích. Následovaly druhy *Pseudanabaena catenata* a *Microcoleus vaginatus*, které byly nalezeny shodně v 8 vzorcích. Dále následovaly druhy *Mastigocladus laminosus* a *Anagnostidinema pseudacutissimum*, které byly nalezeny v 5 vzorcích.

Tabulka 2: Druhy s nejhojnějším výskytem ve vzorcích.

Druh	Počet výskytů ve vzorcích	Procentuální výskyt ve vzorcích
<i>Leptolyngbya boryana</i>	17	40,05 %
<i>Pseudanabaena catenata</i>	8	19,05 %
<i>Microcoleus vaginatus</i>	8	19,05 %
<i>Mastigocladus laminosus</i>	5	11,9 %
<i>Anagnostidinema pseudacutissimum</i>	5	11,9 %

Pro lepší přehlednost byla provedena datová analýza za pomoci softwaru Canoco5 (Obrázek 10). Výsledná analýza zobrazuje výskyt jednotlivých druhů v ekosystémech.



Obrázek 10: Datová analýza provedená pomocí softwaru Canoco5, která zobrazuje vztah mezi druhy a prostředím.

Pro datovou analýzu byly stanoveny 3 typy kategorií - termální, akvatická a aerofytní. Dále byly stanoveny 3 typy biotopů – lentické vody (stojaté vody), lotické vody (tekoucí vody) a půda. Dále byly ještě stanoveny 4 typy substrátů – půdní, kamenitý, bahnitý a tefra.

## 4.3 Popis nalezených druhů

### 4.3.1 *Chroococcales*

#### ***Gloeocapsopsis crepidinum* (Thuret) Geitler ex Komárek 1993**

Spadá do řádu Chroococcales. Buňky se shlukují a vytváří až makroskopicky viditelné kolonie. Kolonie jsou nepravidelného tvaru a mají olivově zelenou až modrozelenou barvu. Buňky mají nepravidelně kulovitý tvar. Velikost buněk v rozmezí 4-8  $\mu\text{m}$ . Kolem jednotlivých buněk nebo skupin buněk jsem pozoroval tenký, bezbarvý až žlutohnědý slizový obal. Buněčný obsah je obvykle homogenní.

#### ***Gloeocapsa nigrescens* Nägeli 1865**

Spadá do řádu Chroococcales. Jedná se o jednobuněčný druh sinic. Tvoří mikroskopické až makroskopické kolonie. Menší subkolonie se skládají ze skupin buněk kulovitého tvaru, okolo kterých je slizový obal. Obal kolem buněk má kulovitý tvar. Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 3-5  $\mu\text{m}$ . Barva pozorovaných buněk byla modrozelená.

#### ***Aphanothece microscopica* Nägeli 1849**

Náleží do řádu Chroococcales. Tvoří kolonie mikroskopické až makroskopické velikosti. Buňky v koloniích jsou rozmístěny nepravidelně a nahodile s různou hustotou. Kolonie mají nepravidelný tvar. Buňky mají oválný až válcovitý tvar. Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 3-5  $\mu\text{m}$ . Barva buněk je modrozelená, olivově zelená, vzácně může být i světlezelená. Občas jsem kolem buněk pozoroval bezbarvý slizový obal.

#### ***Aphanothece* sp.**

Náleží do řádu Chroococcales. Tvoří nepravidelné mnohobuněčné kolonie, které mají mikroskopickou až makroskopickou velikost. Celé kolonie mají modrozelenou až olivově zelenou barvu. Pozorovaný tvar buněk byl oválný až široce válcovitý. Slizový obal přítomný kolem buněk nemá pevnou strukturu a je bezbarvý. Konce buněk jsou zaoblené. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 4-9  $\mu\text{m}$  a šířka v rozmezí 2-5  $\mu\text{m}$ . Buněčný obsah je homogenní.

#### ***Gloeocapsa aeruginosa* Kützing 1843**

Spadá do řádu Chroococcales. Jedná se o jednobuněčné sinice. Tvoří nepravidelné mikroskopické kolonie, které se v pozdější části vegetační sezony mění až na makroskopicky

viditelné kolonie. Kolonie mají modrozelenou či olivově zelenou barvu. Buňky jsou malé, mají v průměru 2-3  $\mu\text{m}$ . Tvar buněk je kulovitý. Barva pozorovaných buněk byla modrozelená.

#### **4.3.2 Nostocales**

##### ***Mastigocladus laminosus* Cohn ex Kirchner 1898**

Spadá do řádu Nostocales. Vlákna jsou moniliformní tzn., že tvoří uspořádání podobné náhrdelníku a mají řetězovitý tvar. Vlákna mohou vytvářet kompaktní a husté nárosty, není to ovšem častý jev. Trichomy jsou nepravidelně stočené a jejich šířka se pohybuje v rozmezí 4-8  $\mu\text{m}$ . Kolem trichomu je přítomný tenký a bezbarvý slizový obal. U tohoto druhu dochází primárně k větvení typu Y. Postranní vlákna se větví obvykle pouze na jednu určitou stranu od hlavního vlákna, což je u čeledi Hapalosiphonaceae velmi častým jevem. Do této čeledi spadá i rod *Fischerella*, který je velmi příbuzný rodu *Mastigocladus*. Postranní větve vlákna jsou obvykle užší než hlavní vlákna, jejich šířka se pohybuje okolo 3  $\mu\text{m}$ . Buňky v hlavních vláknech mají sudovitý tvar, v postranních vláknech je tvar buněk válcovitý a často jsou delší než široké. Apikální buňky jsou válcovitého tvaru a zaoblené. Heterocyty byly pozorovány. Akinety byly pozorovány velmi vzácně, pokud byly přítomny tak soliterně a byly umístěny ve starých částech trichomů. Rozmnožování probíhá pomocí hormogonií, které se oddělují od konce větví. Hormogonie jsou často dost morfologicky odlišná a disponují plynovými měchýřky.

##### ***Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahault 1888**

Spadá do řádu Nostocales. Jedná se o vláknité sinice. Vlákna jsou pružná a obvykle se do sebe hustě zaplétají a vytváří makroskopicky viditelné, želatinové kolonie. Barva kolonie je olivově zelená, hnědá až tmavě hnědá. Trichomy jsou izopolární a po celé délce stejně široké. Kolem vláken je slizový obal, který je více či méně pevný, zpravidla však bývá mohutný. Slizový obal je bezbarvý nebo až žlutohnědý. Nedochozí k pravému ani nepravému větvení. Buňky mají sudovitý nebo až téměř kulovitý tvar a jsou delší nebo kratší (3-5,5  $\mu\text{m}$ ) než široké (4-4,5  $\mu\text{m}$ ). Apikální buňky nejsou od ostatních buněk morfologicky odlišné. Heterocyty jsou přítomny a mají téměř kulovitý tvar. Ve vláknu jsou soliterně nebo jsem jich někdy pozoroval několik v řadě za sebou. Mohou vznikat tzv. terminální heterocyty, které vznikají na konci vláken. Akinety byly pozorovány.



### ***Anabaena oscillarioides* Bory ex Bornet & Flahault 1886**

Spadá do řádu Nostocales. Jedná se o vláknité sinice. Vlákna jsou rovná či mírně zprohýbaná a zaplétají se do sebe. Tvoří mikroskopické až makroskopické slizovité kolonie, které mají modrozelenou až černozelelou barvu. Vlákna mají válcovitý tvar a jsou po celé délce stejně široké. Trichomy jsou izopolární a bez pevného slizového obalu. Tvar vegetativních buněk je sudovitý, izodiametrický nebo jsou buňky kratší či delší než široké. Koncové buňky jsou zaoblené nebo mírně kuželovité. Heterocyty jsou přítomny, ve vláknu se nachází jednotlivě a jsou pouze interkalární. Heterocyty mají kulovitý až oválný tvar a jsou obvykle větší než vegetativní buňky. Akinety vznikají při heterocytech a mohou být buď osamoceně, nebo ve skupině (2-3 v řadě). Tvar pozorovaných akinet byl oválný či válcovitý. Na konci jsou akinety mírně zaoblené.

### ***Chlorogloeopsis fritschii* Mitra & Pandey 1967**

Je řazen do řádu Nostocales. Buňky se shlukují do nepravidelných kolonií, které mají modrozelenou barvu. „Typické“ trichomy se netvoří, buňky však mohou být uspořádané ve vertikálních či horizontálních krátkých řadách, které jsou uniseriální a mají v řadě 3-20 buněk. Vegetativní buňky mají kulovitý až sudovitý tvar. Šířka buněk se pohybuje v rozmezí 5-8  $\mu\text{m}$ . Buňky jsou bez vlastního, zřetelného slizového obalu. Heterocyty jsou přítomny. Typické akinety nebyly pozorovány. Mohou ale vznikat buňky, které jsou podobné akinetám. Tyto buňky mají zesílenou buněčnou stěnu.

### ***Rivularia* sp.**

Patří do řádu Nostocales. Jedná se o vláknité sinice. Vlákna jsou heteropolární a dělí se na bazální a apikální část. Vlákna se k sobě připojují a tvoří na začátku vegetačního cyklu polokulovité až kulovité kolonie, které jsou přichyceny k substrátu. V pozdější fázi vegetačního cyklu se mohou kolonie spojovat a tvořit nepravidelné, makroskopicky viditelné vrstvy. Trichomy jsou v bazální části široké v rozmezí 5-10  $\mu\text{m}$ . Směrem k apikální části se trichom postupně zužuje. Okolo trichomu je přítomný slizový obal, který je široký, pevný, bezbarvý či žlutohnědý. Barva trichomu je modrozelená. Vegetativní buňky v trichomu mají různou délku a šířku. V bazální části mají buňky přibližně kvadratický tvar nebo jsou mírně kratší než široké. V apikální části jsou buňky užší a protáhlé, jsou až 2x delší než široké. Heterocyty jsou přítomny v bazální části a mají kulovitý tvar. Akinety nebyly ve vláknech pozorovány.

### ***Rivularia borealis* Richter 1897**

Patří do řádu Nostocales. Jedná se o vláknité sinice. Vláknina jsou heteropolární a dělí se na bazální a apikální část. Vláknina se k sobě připojují a tvoří polokulovité až kulovité kolonie. Trichomy jsou v bazální části široké okolo 4  $\mu\text{m}$  a jen pozvolna se zužují k apikální části. Okolo trichomu je přítomný slizový obal, který je bezbarvý. V bazální části jsou buňky kratší než široké, v apikální části se pak mírně protahují až do kvadratického tvaru. Heterocyty jsou přítomny a mají kulovitý tvar. Šířka heterocytů se pohybuje podobně jako u vegetativních buněk okolo 4  $\mu\text{m}$ . Akinety nebyly nalezeny.

### ***Tolypothrix* sp.**

Spadá do řádu Nostocales. Jsou to vláknité sinice. Vláknina se shlukují a vytváří kolonie, které jsou přichyceny k substrátu. Vláknina jsou rovná nebo mírně stočená. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 5-10  $\mu\text{m}$ . Dochází k nepravému větvení, k pravému větvení nedochází. Kolem trichomu je tenký slizový obal. Slizový obal je bezbarvý nebo má nahnědlou barvu. Hlavní trichomy i postranní větve jsou tvořeny jednou řadou buněk. Tvar trichomu je válcovitý. Vegetativní buňky jsou přibližně válcovité, izodiametrické nebo o něco delší či kratší než široké. Barva buněk je olivově zelená až modrozelená. Heterocyty jsou přítomny, jejich tvar je kulovitý až válcovitý. V trichomu se heterocyty vyskytují buď osamoceně, nebo jich je více seřazeno v řadě za sebou. Akinety nebyly pozorovány.

### **4.3.3 *Oscillatoriales***

#### ***Microcoleus favosus* (Gomont) Strunecký, Komárek & Johansen 2013**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vláknitý druh sinic. Vláknina jsou obvykle rovná. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 4-6  $\mu\text{m}$ . U vláken nedochází k pravému ani nepravému větvení. Trichomy mají víceméně válcovitý tvar a konce trichomů jsou zúžené. Kolem trichomu je přítomný pevný slizový obal. Slizový obal je bezbarvý. Vegetativní buňky mají válcovitý tvar a jsou kratší než široké. Buňky jsou zrnité a s granulemi. Akinety ani heterocyty nebyly ve vlákninách pozorovány.

#### ***Microcoleus vaginatus* Gomont ex Gomont 1892**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vláknitý druh sinic. Vláknina jsou osamoceně nebo se shlukují. Trichomy jsou uniseriální a izopolární. U vláken nedochází k pravému ani nepravému větvení. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 5-9  $\mu\text{m}$ . Kolem trichomu je bezbarvý slizový

obal. Vegetativní buňky jsou přibližně izodiametrické nebo mírně kratší než široké. Barva buněk je zelená až modrozelená. Apikální buňky jsou zaoblené. Akinety ani heterocyty nebyly pomocí optické mikroskopie ve vláknech vidět.

***Anagnostidinema amphibium* (Agardh ex Gomont) Strunecký, Bohunická, Johansen & Komárek 2017**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Vlákňitý druh, který tvoří kolonie. Trichomy jsou obvykle rovné nebo mírně zakřivené a dlouhé. Často mohou být též šroubovitě vinuté. Trichomy mají schopnost klouzavého pohybu. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 1,5-4  $\mu\text{m}$ . Konce trichomů jsou mírně zúžené. Slizový obal chybí. Buňky jsou 2-3x delší než široké. Délka buněk v rozmezí 3-9  $\mu\text{m}$ . Barva buněk je světle zelená až modrozelená. Apikální buňky protáhle a zaoblené. Heterocyty ani akinety nebyly pozorovány.

***Anagnostidinema lemmermannii* (Wołoszyńska) Strunecký, Bohunická, Johansen, Capková, Raabová, Dvořák & Komárek 2017**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vlákňitý druh sinic. Trichomy jsou rovné nebo mírně ohnuté. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 2-2,5  $\mu\text{m}$ . Trichomy jsou ke koncům postupně zúžené a zakřivené. Buňky jsou 2-3x delší než široké. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 4-6  $\mu\text{m}$ . Slizový obal nebyl kolem vláken pozorován. Barva buněk je světle modrozelená. Apikální buňky mírně zúžené. Heterocyty ani akinety nebyly pozorovány.

***Anagnostidinema pseudacutissimum* (Geitler) Strunecký, Bohunická, Johansen & Komárek 2017**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vlákňitý druh, který formuje kolonie. Trichomy jsou rovné nebo mírně ohnuté a mají schopnost klouzavého pohybu. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 1,4-2,1  $\mu\text{m}$ . Konce trichomů jsou mírně zúžené a zahnuté. Slizový obal kolem buněk nebyl pozorován. Buňky jsou 2-4x delší než široké. Délka buněk v rozmezí 4-8  $\mu\text{m}$ . Barva buněk je zelená až jasně modrozelená. Apikální buňky protáhle a zúžené. Přítomnost akinet a heterocytů jsem ve vláknech nezjistil.

***Kamptonema formosum* (Bory ex Gomont) Strunecký, Komárek & Smarda 2014**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vlákňitý druh. Trichomy jsou obvykle rovné. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 4-6  $\mu\text{m}$ . Konce trichomů jsou mírně zúžené a ohnuté. Trichomy jsou schopné pohybu. Barva trichomů je světle modrozelená někdy olivově zelená. Slizový obal byl pozorován kolem vláken pouze výjimečně. Vegetativní buňky jsou víceméně

izodiametrické nebo až 2x kratší než široké. Délka buněk je v rozmezí 2,5-5,5  $\mu\text{m}$ . Apikální buňky jsou kuželovité, zaoblené a bez kalyptry.

#### ***Desertifilum tharense* Dadheech & Krienitz 2012**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vláknitý druh. Vlákna jsou rovná nebo zakřivená a mohou být buď osamocená, nebo ve shlucích. Trichomy jsou tenké, jejich šířka se pohybuje v rozmezí 2-3,5  $\mu\text{m}$ . Barva trichomu je světle až jasně modrozelená. Vlákna jsou pohyblivá, pohyb probíhá díky klouzání a oscilaci. Kolem trichomu byl pozorován tenký a bezbarvý slizový obal. Trichomy jsou u konce mírně zúžené. Vegetativní buňky jsou přibližně izodiametrické nebo delší než široké. Apikální buňky jsou kónické. Pozoroval jsem přítomnost plynových měchýřků.

#### ***Desertifilum* sp.**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Jedná se o vláknitý druh. Vlákna jsou rovná nebo zakřivená a mohou být buď osamocená, nebo ve shlucích. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 4-6  $\mu\text{m}$ . Barva trichomu je modrozelená. Vlákna jsou pohyblivá (klouzání nebo oscilace). Kolem vláken jsem pozoroval tenký a bezbarvý slizový obal. Vegetativní buňky jsou izodiametrické nebo kratší než široké. Plynové měchýřky nejsou přítomny.

#### ***Cyanothece epiphytica* Watanabe & Komárek 1999**

Patří do řádu Oscillatoriales. Buňky jsou buď solitérní, nebo se mohou shlukovat a tvořit menší skupiny. Slizový obal kolem jednotlivých buněk chybí. Barva buněk je světle olivově zelená. Velikost pozorovaných buněk se pohybovala v rozmezí 6-12  $\mu\text{m}$  x 6-8  $\mu\text{m}$ . Reprodukce probíhá vždy binárním dělením.

#### ***Cyanothece* sp.**

Spadá do řádu Oscillatoriales. Buňky jsou solitérní nebo po dvou, někdy ale mohou tvořit skupiny či shluky. Buňky mají oválný tvar. Barva buněk je modrozelená. Kolem buněk jsem pozoroval tenkou vrstvu bezbarvého slizu. Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 30-50  $\mu\text{m}$  x 20-30  $\mu\text{m}$ . Reprodukce probíhá vždy dělením.

#### **4.3.4 *Synechococcales***

##### ***Leptolyngbya thermalis* Anagnostidis 1988**

Druh spadající do řádu *Synechococcales*. Jedná se o vláknité sinice. Trichomy jsou rovné nebo mírně zakřivené. Šířka trichomu se pohybuje v rozmezí 1-1,5  $\mu\text{m}$ . Trichomy jsou po celé délce stejně široké a nezužují se. Barva je světle modrozelená. U vláken jsem nepozoroval žádný typ větvení. Slizový obal kolem trichomu je velmi tenký a bezbarvý. Akinety ani heterocyty nebyly pozorovány. Vegetativní buňky mají válcovitý tvar nebo jsou delší než široké, zřídka kdy mohou být izodiametrické. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 1-6  $\mu\text{m}$ . Apikální buňky jsou zaoblené.

##### ***Leptolyngbya geysericola* (Copeland) Anagnostidis 2001**

Druh spadající do řádu *Synechococcales*. Jedná se o vláknité sinice. Trichomy jsou dlouhé a rovné. Šířka trichomu se pohybuje okolo 0,5  $\mu\text{m}$ . Trichomy jsou po celé délce stejně široké a nezužují se. Barva trichomu je modrozelená nebo také často mírně nažloutlá. Při pozorování jsem nezaznamenal žádný typ větvení. Akinety ani heterocyty nejsou přítomny. Vegetativní buňky jsou izodiametrické nebo až 2x delší než široké. Délka buněk je v rozmezí 0,4 – 1  $\mu\text{m}$ . Apikální buňky jsou zaoblené a bez kalyptry.

##### ***Leptolyngbya boryana* (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988**

Spadá do řádu *Synechococcales*. Jedná se o vláknitý druh sinic. Trichomy jsou zakřivené a často do sebe bývají hustě zapleteny. Výjimečně byla pozorována přítomnost nepravého větvení. Šířka trichomu je v rozmezí 2,5-3,5  $\mu\text{m}$ . Kolem trichomu je tenký a bezbarvý slizový obal. Barva trichomu je světle modrozelená. Akinety ani heterocyty nejsou přítomny. Vegetativní buňky jsou přibližně izodiametrické nebo mohou být delší či kratší než široké. Koncové buňky jsou zaoblené.

##### ***Phormidesmis communis* Raabová, Kovacik, Elster & Strunecký 2019**

Druh spadá do řádu *Synechococcales*. Jedná se o vláknité sinice. Vlákna jsou rovná nebo mírně zakřivená. Vlákna jsou jednotlivě nebo se shlukují a jsou mezi sebou zapletená. Slizový obal je tlustý a bezbarvý. V jednom slizovém obalu mohou být i dva trichomy. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 1-3  $\mu\text{m}$ . Heterocyty ani akinety nejsou přítomny. Vegetativní buňky mají sudovitý tvar nebo jsou kratší než široké. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 1-3  $\mu\text{m}$ . Apikální buňky jsou zakulacené.

### ***Phormidesmis nigrescens* (Komárek) Raabová, Kovacik, Elster & Strunecký 2019**

Spadá do řádu Synechococcales. Jedná se o vláknitý druh sinic. Vlákna jsou dlouhá, rovná nebo mírně zakroucená. Vlákna jsou buď soliterně, nebo se mohou shlukovat v nepravidelných koloniích. Někdy může být v jednom slizovém obalu více vláken. Obal je pevný a má šedavou nebo světle černou barvu. Vlákna jsou na konci mírně zúžená. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 1,5-4  $\mu\text{m}$ . Heterocyty ani akinety nejsou přítomny. Vegetativní buňky mají sudovitý tvar. Apikální buňky jsou zakulacené a bez kalyptry.

### ***Jaaginema thermale* Anagnostidis 2001**

Druh spadající do řádu Synechococcales. Jedná se o vláknité sinice. Vlákna jsou obvykle soliterní, někdy se ale mohou shlukovat do menších kolonií. Trichomy jsou rovné nebo mírně zakroucené, občas mohou být spirálovitě stočené. Šířka trichomů se pohybuje v rozmezí 2-2,5  $\mu\text{m}$ . Slizový obal kolem trichomů chybí. Vlákna se směrem ke koncům nezužují a nejsou pohyblivá. K pravému či nepravému větvení nedochází. Vegetativní buňky jsou izodiametrické nebo až 2x delší než široké. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 1-3  $\mu\text{m}$ . Obsah buněk je homogenní. Plynové měchýřky nebyly pozorovány. Apikální buňky jsou zaoblené nebo mohou mít kónický tvar. Kalyptra u koncových buněk chybí. Akinety ani heterocyty nebyly pozorovány.

### ***Pseudanabaena catenata* Lauterborn 1915**

Patří do řádu Synechococcales. Jedná se o vláknitý druh sinic. Vlákna jsou soliterní nebo tvoří shluky. Vlákna jsou různě ohnutá a pružná. Šířka vláken se pohybuje v rozmezí 1-2,2  $\mu\text{m}$ . Vlákna se směrem ke koncům nezužují. K žádnému typu větvení nedochází. Barva buněk je olivově zelená až modrozelená. Vegetativní buňky mají válcovitý tvar nebo jsou 1-3x delší než široké, pouze výjimečně mohou být izodiametrické nebo o něco kratší než široké. Délka buněk je v rozmezí 1,5-6  $\mu\text{m}$ . Koncové buňky jsou mírně zaoblené. Akinety ani heterocyty nebyly pozorovány.

### ***Cyanobium* sp.**

Spadá do řádu Synechococcales. Buňky jsou soliterní, v párech nebo tvoří krátké řady. Kolem buněk je tenká, bezbarvá slizová vrstva. Buňky mají oválný tvar. Barva buněk je bledě až jasně modrozelená. Délka buněk se pohybuje v rozmezí 1,5-3  $\mu\text{m}$  a šířka 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ . Tylakoidy jsou uspořádané parietálně podél buněčných stěn.

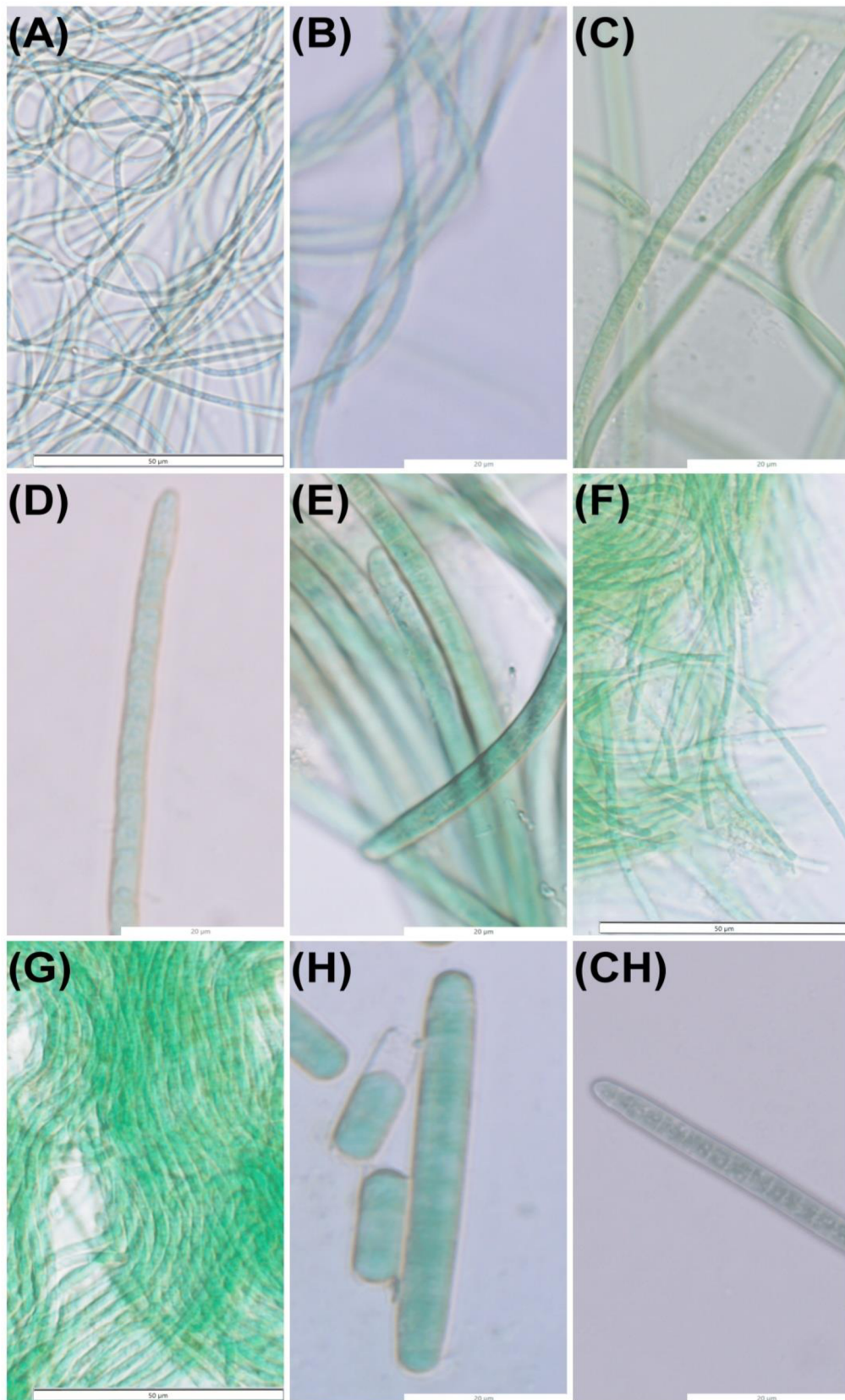
Do výsledku jsem zařadil i popis 2 rodů bakterií, konkrétně se jedná o rody *Paenibacillus* a *Deinococcus*. Učinil jsem tomu tak, že i navzdory velkému množství vynaloženého úsilí, se mi nepodařilo získat sekvence mnoha druhů sinic a to hlavně kvůli kontaminaci zmíněnými bakteriemi. Většina získaných sekvencí ukazovala jako výsledek právě *Paenibacillus* či *Deinococcus*, což bylo velmi zvláštní, neboť pro PCR byly použity primery 359F a 1492R, které jsou specifické pro sinice (Nübel et al., 1997; Strunecký et al., 2013).

### ***Paenibacillus* sp.**

Jsou bakterie, které se nachází v různých ekosystémech. Jejich rozmanitost je značná, jejich přítomnost byla zjištěna od polárních oblastí až po tropy a od vodního prostředí až po pouště. Mnoho druhů produkuje antimikrobiální sloučeniny, které se využívají ve farmaceutickém průmyslu. Více než 20 druhů je schopno fixovat vzdušný dusík (Grady et al., 2016). Některé druhy jsou schopny rozkládat polysacharidy sinic a využívat ho jako zdroj energie, jako například druh *Paenibacillus glycanilyticus* sp. (Kajiyama et al., 2002).

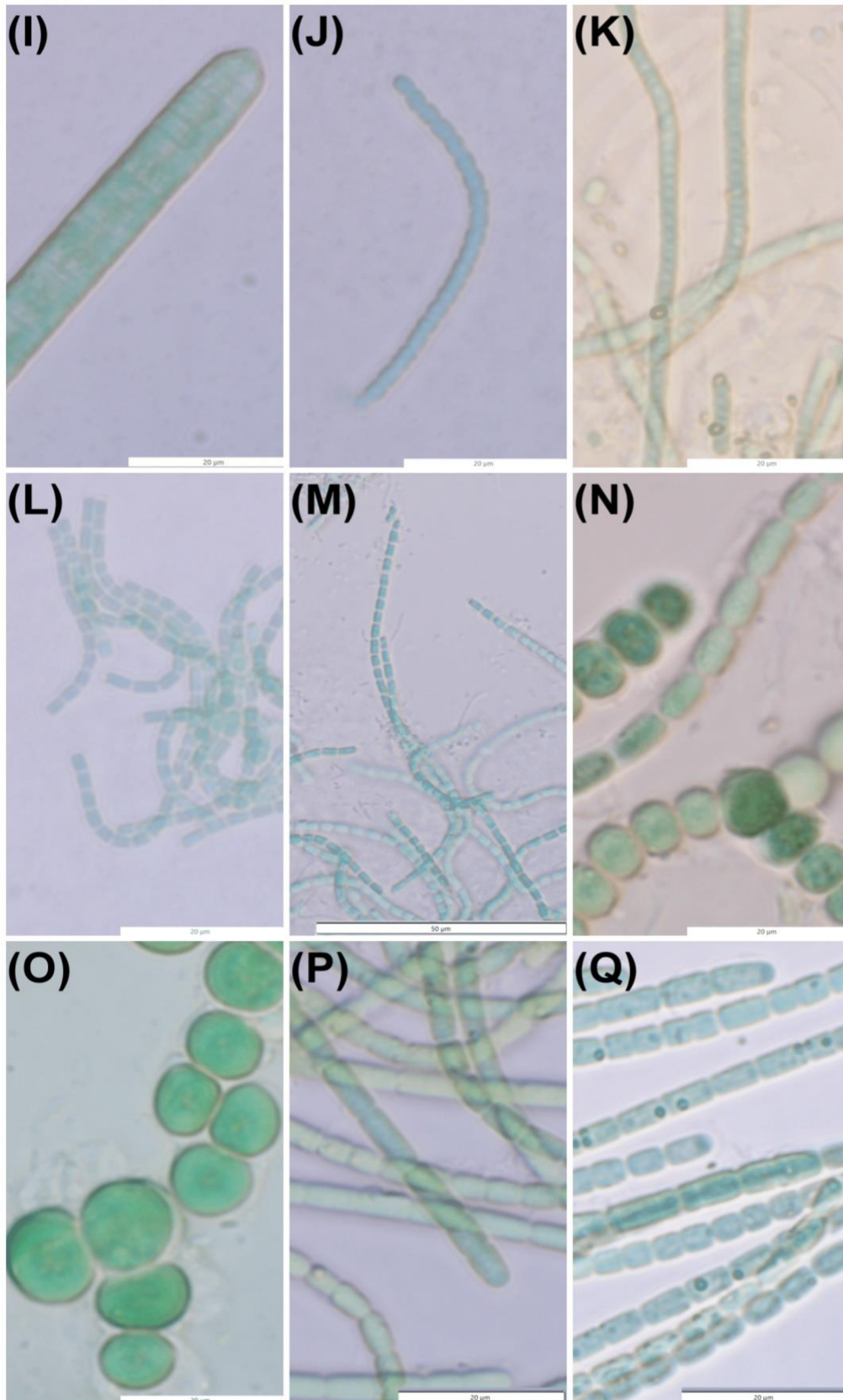
### ***Deinococcus* sp.**

Dříve identifikovaný pod názvem *Micrococcus* jsou bakterie, které mají dobrou schopnost odolávat různým stresovým faktorům. První objevený druh byl *Deinococcus radiodurans* roku 1956 (Anderson et al., 1956). Aktuálně se ví o 60 druzích, které jsou přítomny v celé řadě různých habitatů od pouštních oblastí až po polární oblasti (De Groot et al., 2005). *Deinococcus* je schopen růst v teplotním rozmezí od 4°C do 55°C (Rainey et al. 2005). Patří mezi druhy, které mají vysokou odolnost vůči radiaci. Mají pozoruhodnou odolnost vůči ionizujícímu záření, UV záření či vysoušení. Mají schopnost odbourávat a metabolizovat cukry (Gerber et al., 2015).



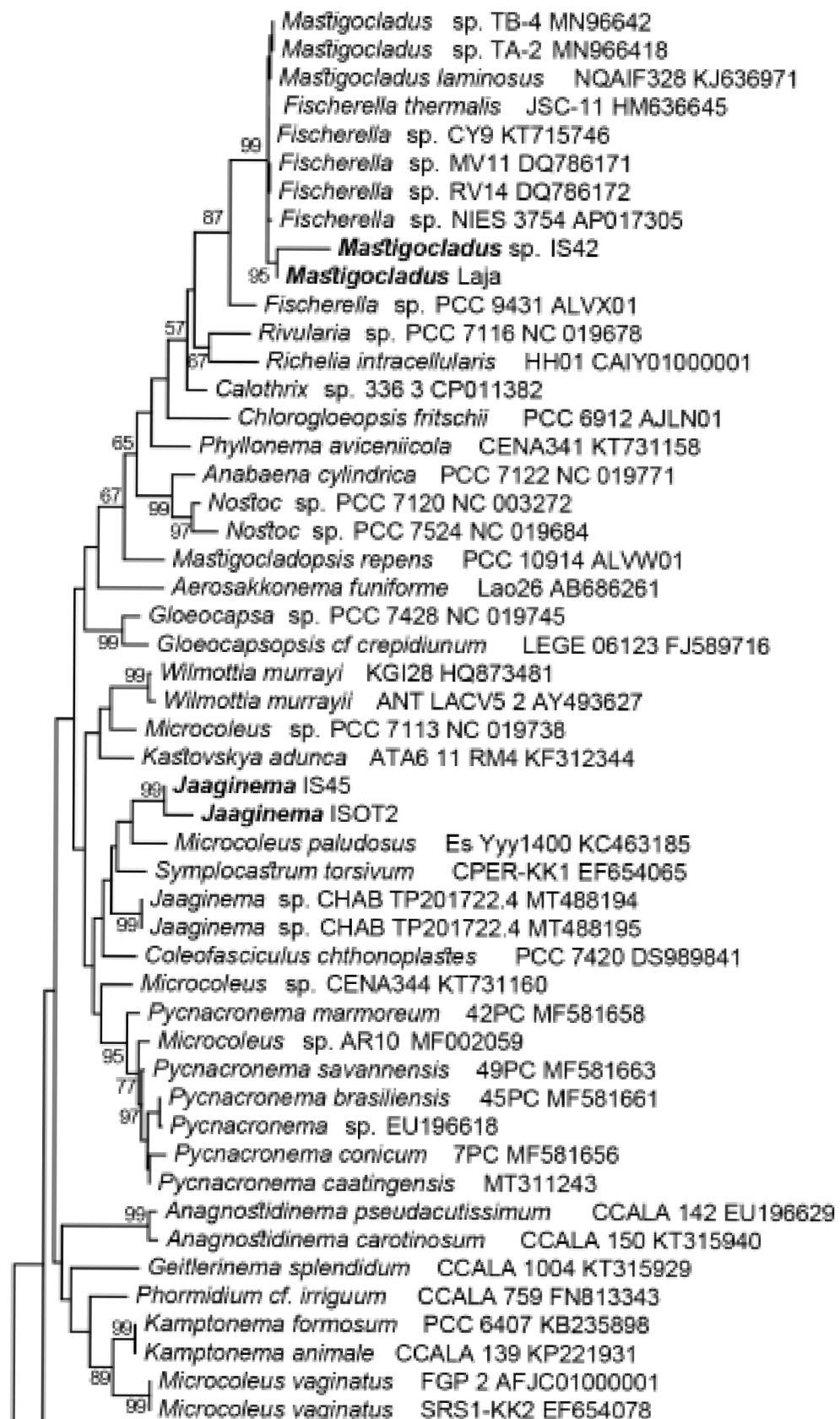
Obrázek 11: (A) *Anagnostidinema lemmermannii*, (B) *Anagnostidinema amphibium*, (C) *Desertiĝilum tharense*, (D) *Desertiĝilum* sp., (E) *Kamptonema formosum*, (F) *Leptolyngbya thermalis*, (G) *Leptolyngbya boryana*, (H) *Microcoleus vaginatus*, (CH) *Microcoleus favosus*

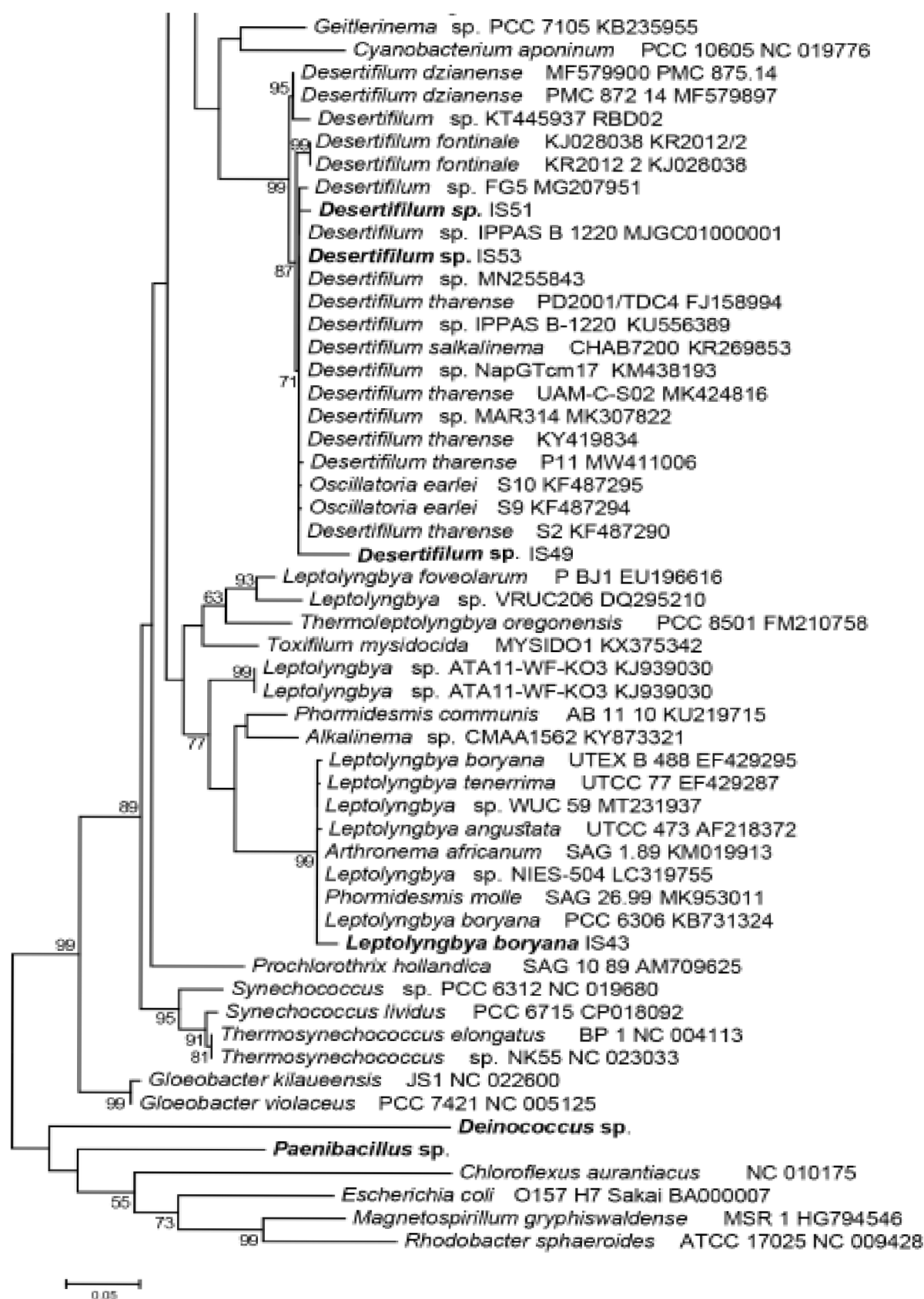




Obrázek 12: (I) *Microcoleus vaginatus*, (J) *Phormidesmis communis*, (K) *Phormidesmis nigrescens*, (L-M) *Pseudanabaena catenata*, (N-O) *Mastigocladus laminosus*, (P-Q) *Jaaginema thermale*

#### 4.4 Fylogenetická analýza





Obrázek 13: Fylogenetický strom vytvořený metodou Maximal Likelihood. Druhy, u nichž se podařilo získat sekvenční údaje, jsou vyznačeny tučně.

## 5 Diskuze

Jak již bylo zmíněno v úvodu práce, sinice jsou velmi dobře adaptabilní a jsou tak schopny přežít v širokém rozmezí odlišných fyzikálních podmínek. Díky své šířce ekologické valence dokázaly sinice osídlit prakticky veškeré oblasti planety, včetně subpolárního pásu, ve kterém se nachází Island. Ovšem teprve přesné, nejlépe molekulárně genetické určení druhů umožňuje přiřadit k jednotlivým druhům prostředí, ve kterém buď mohou růst, nebo nejsou vytlačeny lépe přizpůsobenými druhy. Cílem práce tak bylo určit ekologickou valenci jednotlivých druhů a jejich biogeografické srovnání s podobnými typy rozšířenými v jiných částech světa. Rozšíření jednotlivých druhů, které byly ve vzorcích z Islandu nalezeny, je popsáno dále v diskuzi.

Největším problémem zvoleného metodického přístupu, se ukázala nespecifita specifických sinicových primerů. Primery, které se celosvětově používají na amplifikaci sinicového 16S rRNA genu (Nübel et al., 1997; Strunecký et al., 2013) a bez výhrady dosud neamplifikovaly jiné organismy, se ukázaly v našem případě neefektivní. Sekvenační výsledky tak často ukazovaly směs sinicové kultury a jedné ze dvou bakterií. Amplifikace 16S rRNA genu bakterií *Deinococcus* a *Paenibacillus* z Islandu byla nepředvídatelná, a velmi omezila využitelnost sekvenačních výsledků.

Variabilita sinic byla z velké míry určována s využitím jejich morfologických znaků. Z rodu *Leptolyngbya* byly nalezeny 3 druhy - *Leptolyngbya boryana*, *Leptolyngbya thermalis* a *Leptolyngbya geysericola*. Rozšíření druhu *Leptolyngbya boryana* je velmi hojné díky jeho široké ekologické valenci. Výskyt *L. boryana* byl popsán ve vodních biotopech napříč celou Evropou (Komárek & Anagnostidis, 2005) včetně České republiky (Kaštovský et al., 2018). Její přítomnost byla popsána i v aerofytních biotopech například na Svalbardu, který patří do polární oblasti (Kim et al., 2011). *Leptolyngbya thermalis* byla nalezena ve vzorcích, které byly odebrány z termálních biotopů, kde se teplota pohybovala v rozmezí 25,8°C-27°C. Tento nález odpovídá ekologickým požadavkům druhu, jež jsou popsány v literatuře (Komárek & Anagnostidis, 2005). Rozšíření *L. thermalis* na Islandu bylo popsáno již dříve. Konkrétně v geotermální nádrži Blue Lagoon (Modrá Laguna), kde byla teplota vody při odběru 37°C (Olafsson et al., 1996). Rozšíření druhu je kromě Islandu zaznamenáno také v termálních pramenech v Evropě (Anagnostidis & Komárek, 2005). Distribuce je popsána ale i mimo Evropu, například v pramenech v Mexiku (López-Cortés et al., 2001) nebo v brazilské řece Paraná (Dunck et al., 2018). *Leptolyngbya geysericola* obývá termální biotopy podobně jako

*Leptolyngbya thermalis*. Druh *L. geysericola* byl nalezen ve vzorcích, jež byly odebrány z termálních biotopů s teplotou v rozmezí od 25°C až do 45°C. Distribuce *L. geysericoly* byla potvrzena již dříve i mimo Island, výskyt je popsán například v bulharských termálních pramenech Rupite. Teplota se v místech odběru pohybovala kolem 50°C (Strunecký et al., 2019). Z rodu *Phormidesmis* byly ve vzorcích nalezeny *Phormidesmis nigrescens* a *Phormidesmis communis*. *P. nigrescens* obývá vlhké kameny, zdi jeskyní, jezera či termální prameny a jeho výskyt je pravděpodobně celosvětově rozšířený, včetně subpolárních a polárních oblastí (Raabová et al., 2019). V mých vzorcích se vyskytoval v termálních biotopech. *P. communis* obývá subaerofytní a akvatické ekosystémy, kde bývá přichycen k různému typu substrátu (nejčastěji kamenitému). Ve vzorcích z Islandu byl *P. communis* nalezen v akvatických ekosystémech s kamenitým a bahnitým substrátem, což odpovídá ekologickým nárokům popsaných v literatuře. Výskyt je pravděpodobně kosmopolitní a to i včetně polárních oblastí. Byl nalezen například na Svalbardu (Raabová et al., 2019). *Pseudanabaena catenata* byla nalezena ve vzorcích, které byly odebrány především z kamenitého a bahnitého substrátu tekoucích a stojatých vod s teplotou do 10°C. V literatuře je výskyt *P. catenaty* popsán především v akvatických biotopech napříč celým světem (Anagnostidis & Komárek, 2005). Hojně obývá i vodní biotopy České republiky (Kaštovský et al., 2018) a Slovenska (Hindák & Hindáková, 2016). Výskyt byl potvrzen i v polárních oblastech. Studie potvrzují přítomnost například na Svalbardu, kde se *P. catenata* objevovala v bahnitých sedimentech malých vodních nádrží (Khan et al., 2017) nebo na kamenitých substrátech ve vodních biotopech (Matula et al., 2007). *Jaaginema thermale* byla nalezena v termálním potoku s teplotou dosahující 44°C. *J. thermale* obývá striktně termální vody. Jeho rozšíření je známo v termálních pramenech napříč Evropou. Jedná se například o Rakousko, Chorvatsko (Anagnostidis & Komárek, 2005) nebo Bulharsko, kde voda dosahovala teploty až 59°C (Stoyneva-Gärtner et al., 2019). Mimo Evropu byl výskyt zdokumentován například v termálních pramenech v Iránu, kde se teplota vody při odběru pohybovala v rozmezí 37°C – 39°C (Arman et al., 2014). *Cyanobium* sp. bylo nalezeno ve vzorcích, které byly odebrány z akvatických ekosystémů. Teplota vody při odběru se pohybovala v rozmezí 5°C – 9,5°C. Dle ekologické niky by se mohlo jednat o druh *Cyanobium diatomicola*, jehož výskyt byl popsán v neznečištěných pramenech a jezerech v Rakousku, Švýcarsku (Komárek & Anagnostidis, 1998) nebo v pramenech na Slovensku (Hindák & Hindáková, 2014). Výskyt *C. diatomicola* v subpolárních či polárních oblastech se mi v literatuře dohledat nepovedlo. V jedné studii byl popsán výskyt *Cyanobium* sp. v aerofytních ekosystémech na Svalbardu. (Matula et al., 2007). Předpokládám však, že se jednalo nejspíš o jiný morfotyp, než u *Cyanobium* sp., který byl

nalezen ve vzorcích z Islandu. *Microcoleus favosus* byl nalezen ve vzorcích, které byly odebrány z potoků, kde byla teplota při odběru 25,8°C a 34°C. V literatuře je popsán jako druh, který obývá oligotrofní prameny a vodní biotopy v horách (Strunecký et al., 2013). Preferuje spíše nižší teploty, byl však nalezen i v termálních pramenech (Komárek & Anagnostidis, 2005). *Microcoleus vaginatus* byl nalezen především ve vzorcích, které byly odebrány z vodních biotopů, výskyt byl však potvrzen i ve vzorku z půdy. V literatuře je *M. vaginatus* popsán jako druh, který obývá celou řadu biotopů ať už akvatických nebo aerofytních. Jedná se o kosmopolitní druh (Komárek & Anagnostidis, 2005). Výskyt na Islandu byl popsán již dříve ve vzorcích, které byly odebrány z půdního substrátu (Pushkareva et al., 2021). V polárních oblastech byla popsána přítomnost *M. vaginatus* například ve vodních biotopech na Svalbardu (Matula et al., 2007). Z rodu *Anagnostidinema* byly nalezeny 3 druhy - *A. amphibium*, *A. lemmermannii* a *A. pseudacutissimum*. *Anagnostidinema amphibium* se vyskytovala v akvatických biotopech s teplotou v rozmezí 35°C – 45°C. *A. amphibium* má širokou ekologickou valenci, výskyt byl popsán v řekách, půdě, termálních pramenech (Komárek & Anagnostidis, 2005) či ve stojatých vodách (Strunecký et al., 2017). V termálních pramenech byl nalezen například v Bosně a Hercegovině (Tomović et al., 2021). *Anagnostidinema lemmermannii* byla nalezena ve vzorcích odebraných z bahnitého substrátu potoku a jezera s teplotou 6°C – 7°C. Přítomnost *A. lemmermannii* byla popsána ve vodních habitatech v Centrální Asii v Tádžikistánu (Barinova & Niyatbekov, 2018). *A. pseudacutissimum* byla nalezena ve vzorcích, které byly odebrány především z vodních biotopů, výskyt byl však potvrzen i ve vzorku z půdy. V literatuře je výskyt *A. pseudacutissimum* popsán ve vodních biotopech (litorál jezer, zaplavené louky) ale i v půdě. Druh byl evidován i v polárních oblastech (ostrov Jamese Rosse, Antarktida), v Indii, Itálii ale také v České republice (Strunecký et al., 2017). *Kamptonema formosum* byla nalezena ve vzorku, který byl odebrán z bahnitého substrátu jezera. Výskyt *K. formosum* odpovídá jeho ekologickým požadavkům, které jsou popsány v literatuře. Obývá především různé vodní biotopy. Má pravděpodobně kosmopolitní rozšíření (Strunecký et al., 2014), jeho přítomnost byla popsána i v České republice (Kaštovský et al., 2018). V polárních oblastech byla jeho přítomnost zdokumentována na Svalbardu, avšak ještě pod původním názvem *Phormidium formosum* (Matula et al., 2007). *Desertifilum thareense* bylo nalezeno ve vzorcích, které byly odebrány z půdních substrátů. Teplota půdy na odběrových místech byla v rozmezí 25°C – 45°C. V literatuře je popsán výskyt *D. thareense* pouze v Tháráské poušti v Indii. Vzorky tam byly odebrány z písčitých krust. Teplota povrchu přesahovala při odběrech 65°C (Dadheech et al., 2012). Na Islandu ani v jiných subpolárních oblastech nebyl *D. thareense* dosud

zdokumentován. *Desertifilum* sp. bylo nalezeno v akvatických biotopech s vysokou (34°C a 45°C) ale i nízkou teplotou (5°C – 7°C). *Desertifilum* sp. bylo popsáno v Evropě již dříve, jeho přítomnost byla zdokumentována v Bulharsku v termálních pramenech Rupite (Strunecký et al., 2019). Vůbec první zmínka o výskytu *Desertifilumu* v termálních pramenech byla popsána ve východní Africe. Teplota vody termálních pramenů dosahovala při odběru 37°C (Dadheech et al., 2014). Na Islandu nebylo dříve *Desertifilum* sp. popsáno v žádných biotopech. *Cyanothece* sp. bylo nalezeno v akvatických biotopech s teplotou kolem 7°C. Podle biogeografické příslušnosti a ekologické niky by se mohlo jednat o druh *Cyanothece major*. Výskyt *C. major* byl popsán v polárních oblastech, subpolárních oblastech Eurasie, severní Kanadě (Komárek & Anagnostidis, 1998) ale v i České republice (Kaštovský et al., 2018). *Mastigocladus laminosus* byl nalezen v termálních habitatech, kde se teplota pohybovala v rozmezí 25°C – 45°C. *M. laminosus* je v literatuře popsán jako druh, který obývá obvykle termální biotopy s teplotním rozmezím 37°C – 55°C (Komárek, 2013). Rozšíření je kosmopolitní. Přítomnost druhu byla popsána například v termálních pramenech v Itálii, Spojených státech amerických, Chile, na Slovensku (Miller et al., 2007) ale i v České republice (Kaštovský & Komárek, 2001). Výskyt v islandských termálních pramenech byl prokázán již dříve (Miller et al., 2007). *Nostoc commune* byl nalezen v aerofytním i akvatickém biotopu. Jedná se o kosmopolitní druh, který je schopen obývat celou řadu nik od tropických oblastí až po polární oblasti (Komárek, 2013). V polární oblasti byl jeho výskyt potvrzen například ve studii ze Svalbardu, kde byl nalezen ve vzorcích odebraných jak z vodních tak i z aerofytních biotopů (Matula et al., 2007). *Nostoc commune* nebyl na Islandu nalezen poprvé, již dřívější studie popisuje jeho výskyt v těchto ekosystémech (Jensen et al., 2013). *Anabaena oscillarioides* byla nalezena ve vzorku, který byl odebrán z kamenitého substrátu v potoce. *A. oscillarioides* je považována za kosmopolitní druh, který se vyskytuje převážně ve vodním prostředí (Komárek, 2013), zřídka kdy může najít svojí ekologickou niku i mimo vodní prostředí (Kaštovský et al., 2018). *Chlorogloeopsis fritschii* byl nalezen v potoku o teplotě 26°C. V literatuře se o rozšíření *Ch. fritschii* příliš nepíše. Jeho výskyt byl popsán například v půdě rýžových polí v Indii (Komárek, 2013; Halder, 2016). Co se týče vodního prostředí, tak byl *Ch. fritschii* zdokumentován v termálních pramenech na Slovensku (Hindák, 2008). *Rivularia* sp. byla nalezena výhradně ve vzorcích, které byly odebrány z vodních biotopů (jezero, řeka). Dle morfologických znaků a rozšířená by se mohlo jednat konkrétně o *Rivularii biasolettiana*. *R. biasolettiana* má často svojí niku na kamenech ponořených ve stojatých či tekoucích vodách. Dle literatury se tento druh vyskytuje pravděpodobně pouze v subpolárních oblastech (Island, Grónsko a Aljaška) a Eurasii (Komárek, 2013). Z rodu *Rivularia* byl určen

ještě druh *Rivularia borealis*. V literatuře je popsáno, že *R. borealis* bývá přichycena ke kamenům, které jsou ponořeny ve stojatých či pomalu tekoucích vodách (Komárek, 2013). Nález druhu byl zdokumentován v Grónsku, v severní Evropě či na Svalbardu, je tedy rozšířen hlavně v subpolárních a polárních oblastech (Komárek et al., 2012; Komárek, 2013). V mých vzorcích byla *R. borealis* nalezena pouze v jezeře o teplotě 27,1°C. Z toho lze usoudit, že může obývat i akvatické biotopy s mírně vyšší teplotou. *Tolypothrix* sp. byl nalezen ve vzorcích odebraných z akvatických ekosystému. Dle morfologických znaků a také biotopu se bude jednat nejspíše konkrétně o druh *Tolypothrix tenuis*. V literatuře je popsán výskyt *T. tenuis* ve stojatých a pomalu tekoucích vodách. Přítomnost druhu byla popsána v mírném a subpolárním pásu (Komárek, 2013) a například i ve studii ze Svalbardu (Matula et al., 2007). *Gloeocapsopsis crepidinum* je druh se širokou ekologickou valencí. Obývá marinní i sladkovodní biotopy, subaerofytní substráty či termální prameny. Jedná se pravděpodobně o druh s kosmopolitním rozšířením (Komárek & Anagnostidis, 1998). Jeho výskyt byl potvrzen i v polární oblasti na Svalbardu (Matula et al., 2007). V mých vzorcích z Islandu byl nalezen *G. crepidinum* v termálních biotopech s teplotním rozmezím od 27°C do 41°C. V podobných podmínkách byl popsán jeho výskyt již dříve v termálních pramenech v Indii. Konkrétně se jednalo o termální pramen Taptapani, kde se teplota vody pohybovala v rozmezí 35°C-42°C a dále o termální pramen Atri, kde se teplota vody pohybovala mezi 38°C až 58°C (Bhakta et al., 2016). *Aphanothece microscopica* obývá především různé vodní biotopy, výjimečně může obývat i vlhké subaerofytní habitaty. Distribuce *A. microscopica* byla potvrzena v subpolárních i polárních oblastech. Výskyt druhu v polární oblasti byl evidován například na Svalbardu, kde byl nalezen ve vodních biotopech ale i v půdě (Komárek et al., 2012). Na Islandu byl výskyt *A. microscopica* potvrzen již dříve v termálním pramenu Stjáni, kde voda dosahovala maximální teploty až 45°C (Pentecost, 2011). V mých vzorcích byl *A. microscopica* nalezen pouze v jezeře o teplotě 27,1°C, což koresponduje s nálezem Pentecosta. *Gloeocapsa aeruginosa* je kosmopolitní druh se širokou ekologickou valencí. Může obývat aerofytní i akvatické biotopy. Distribuce druhu byla popsána například v jeskyni v Kentucky, kde byly vzorky odebrány ze skalního substrátu a teplota na odběrovém místě dosahovala 20°C (Smith & Olson, 2007). Ve vodních biotopech byl výskyt popsán například v řece Nil, kde byla teplota vody při odběrech 28°C (El-Sheekh et al., 2010) nebo i ve vysokohorských jezerech v Nepálu (Rai, 2012). Dřívější studie o výskytu *Gloeocapsa aeruginosa* na Islandu jsem nedohledal, nicméně díky jeho široké distribuci a ekologické valenci není divu, že tento druh osídlil i habitaty na Islandu. *Aphanothece* sp. byl nalezen ve vzorcích, které byly odebrány z akvatických biotopů. Dle habitatů, ve kterých byl *Aphanothece* nalezen, by se mohlo jednat



konkrétně o druh *Aphanothece stagnina*. Tento druh má svojí niku ve vodních biotopech. Rozšíření *A. stagnina* je kosmopolitní (Komárek & Anagnostidis, 1998). V polárních oblastech byl výskyt potvrzen například na Svalbardu (Matula et al., 2007). *Gloeocapsa nigrescens* je aerofytní druh. Druh byl nalezen pouze ve vzorku, který byl odebrán z půdy v tundře. V podobných podmínkách byl nalezen *Gloeocapsa nigrescens* i na Svalbardu. Tam byl pozorován ve vzorcích, které byly odebrány taktéž z půdních biotopů tundry (Komárek et al., 2012).

Podle výše sepsaných poznatků lze tedy říci, že ekologická valence sinic je obecně velmi široká, což bylo nastíněno již v úvodu diskuze. Mnoho druhů dosáhlo schopnosti adaptace na různé podmínky a mohou díky tomu dobře přežívat v rozličných biotopech. Velmi dobrým příkladem může být druh *Leptolyngbya boryana*, který byl ve vzorcích velmi hojně rozšířen a obýval množství akvatických a aerofytních biotopů. Některé druhy se vydaly cestou specializace na určitý typ biotopu. Dobrým příkladem takovýchto druhů mohou být například *Jaaginema thermale*, *Leptolyngbya geysericola* či *Desertifilum tharense*, kterým se daří velice dobře v biotopech s vysokou teplotou.

## 6 Závěr

Cílem této práce bylo zjistit druhové složení sinic z neporušených ekosystémů Islandu. I přestože se Island nachází v subpolárním podnebném pásu, nabízí mnoho rozličných biotopů, což hraje důležitou roli pro diverzitu sinic. Pro výzkum bylo odebráno z islandských biotopů celkově 42 vzorků, ve kterých bylo nalezeno 30 druhů spadajících do čtyř taxonomických řádů. Dominoval řád Oscillatoriales (33%), následovaný řády Synechococcales (27%), Nostocales (23%) a Chroococcales (17%). Nalezené druhy byly pak rozděleny dle biotopu do tří kategorií, konkrétně se jedná o aerofytní, akvatickou a termální kategorii. Dále byly u nalezených druhů popsány morfologické znaky pozorované pod optickým mikroskopem a u některých druhů byly pomocí molekulární analýzy získány 16S rRNA sekvence.

Nejhojněji rozšířený druh byl jednoznačně *Leptolyngbya boryana*, který byl dále následovaný druhy *Pseudanabaena catenata*, *Microcoleus vaginatus*, *Mastigocladus laminosus* a *Anagnostidinema pseudacutissimum*.

Na závěr lze tedy konstatovat, že podle získaných výsledků je druhová diverzita sinicových společenstev islandských ekosystémů dosti vysoká a neměla by být podceňovaná. Proto by se měly i v budoucnu provádět studie, jež se zaměří na druhovou diverzitu sinic islandských či jiných subpolárních ekosystémů.

## 7 Literatura

Anagnostidis, K., Komárek, J., 1988. Modern Approach to the Classification System of Cyanophytes. 3-Oscillatoriales. *Algological Studies* 80: 327-472.

Anagnostidis, K., 2001. Nomenclatural changes in cyanoprokaryotic order Oscillatoriales. *Preslia* 73: 359-375.

Anbar, A. D., Duan, Y., Lyons, T. W., Arnold G. L., Kendall, B., Creaser, R. A., Kaufman, A. J., Gordon, G. W., Scott, C., Garvin, J., Buick, R. A., 2007. Whiff of oxygen before the Great Oxidation Event? *Science* 317(5846): 1903-1906.

Anderson, A., Nordan, H., Cain, R., Parish G., Duggan, D., 1956. Studies on a radioresistant *Micrococcus*. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to gamma radiation. *Food Technology* 10: 575-578.

Anesio, A. M., Lutz, S., Christmas, N. A. N., 2017. The microbiome of glaciers and ice sheets. *NPJ Biofilms and Microbiomes* 3(10): 1-11.

Arman, M., Riahi, H., Yousefzadi, M., Sonboli, A., 2014. Floristic study on cyanophyta of three hot springs of Hormozgan province. *The Iranian Journal of Botany* 20(2): 240-247.

Barinova, S., Niyatbekov, T., 2018. Alpha-biodiversity of nondiatom algae in the Pamir aquatic habitats, Tajikistan. *Biodiversity International Journal* 2(3): 236-263.

Bergman, B., Gallon, J. R., Rai, A. N., Stal, L. J., 1997. N<sub>2</sub> fixation by non-heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 19(3): 139-185.

Bhakta, S., Das, S. K., Adhikary, S. P., 2016. Algal diversity in hot springs of Odisha. *Nelumbo* 58: 157-173.

Bornet, É., Flahault, C., 1886 '1888'. Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France (quatrième et dernier fragment). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Septième Série* 7: 177-262.

Briand, J. F., Jacquet, S., Bernard C., Humbert J. F., 2003. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Veterinary Research* 34(4): 361-377.

Büdel, B., 1996. Wo leben Algen? Vorkommen und biologische Bedeutung. *Praxis der Naturwissenschaften. Biologie* 45: 12-19.

- Carpenter, E. J., Capone, D. G., Reuter, J. G. [Eds.], 1992. Marine Pelagic Cyanobacteria: Trichodesmium and other Diazotrophs. NATO ASI Series C, Mathematical and Physical Sciences, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 360 s.
- Cronberg, G., Annadotter, H., 2006. Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and a synopsis of their toxicology. Copenhagen Denmark: 106 s.
- Dadheech, K., Abed, M. M., Mahoud, H., Mohan, K., Krietniz, L., 2012. Polyphasic characterization of cyanobacteria isolated from desert crusts, and the description of *Desertifilum tharense* gen. et sp. nov. (Oscillatoriales). *Phycologia* 51(3): 260-270.
- Dadheech, K., Mahoud, H., Kotut, K., Krietniz, L., 2014. *Desertifilum fontinale* sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria) from a warm spring in East Africa, based on conventional and molecular studies. *Fottea* 14(2): 129-140.
- De Bruin, A., Ibelings, B. W., Van Donk, E., 2003. Molecular techniques in phytoplankton research: from allozyme electrophoresis to genomics. *Hydrobiologia* 491: 47–63.
- De Groot, A., Chapon, V., Servant, P., Christen, R., Saux, M. F. L., Sommer, S., Heulin, T., 2005 *Deinococcus deserti* sp. nov., a gamma-radiation-tolerant bacterium isolated from the Sahara Desert. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 2441–2446.
- Deng, J., Qin, B., Paerl, H. W., Zhang, Y., Ma, J., Chen, Y., 2014. Earlier and warmer springs increase cyanobacterial (*Microcystis* spp.) Blooms in subtropical Lake Taihu, China. *Freshwater Biology* 59(5): 1076–1085.
- Dittmann, E., Fewer, D. P., Neilan, B. A., 2013. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiology Reviews* 37(1): 23–43.
- Dor, I., Danin, A., 1996. Cyanobacterial desert crusts in the Dead Sea Valley, Israel. *Algological Studies* 83: 197-206.
- Douglas, S. E., 1994. Chloroplast origins and evolution. In: D. A. Bryant [Ed.] *The Molecular Biology of Cyanobacteria.*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 91-118.
- Dunck, B., Junqueira, M. G., Bichoff, A., Vieira da Silva, M., Pineda, A., Magro de Paula, A. C., Zanco, B. F., Moresco, G. A., Iatskiu, P., Bortolini, J. C., Rodrigues de Souza, Y., Train, S., Rodrigues, L. C., Jazi, S., Rodrigues, L., 2018. Periphytic and planktonic algae records from the upper Paraná river floodplain, Brazil: an update. *Hoehnea* 45(4): 560-590.

- El-Sheekh, M. M., Deyab, M. A. I., Desouki, S. S., Eladl, M., 2010. Phytoplankton Compositions as a Response of Water Quality in El Salam Canal Hadous Drain and Damietta Branch of river Nile Egypt. *Pakistan Journal of Botany* 42(4): 2621-2633.
- Elster, J., Lukesova, A., Svoboda, J., Kopecky, J., Kanda, H., 1999. Diversity and abundance of soil algae in the polar desert, Sverdrup Pass central Ellesmere Island. *Polar Record* 35(194): 231–254.
- Elster, J., 2002. Ecological classification of terrestrial algal communities of polar environment. In: L. Beyer and M. Boelter (eds.), *Geoecology of terrestrial oases. Ecological studies*. Springer–Verlag, Berlin, Heidelberg: 303–319.
- Fay, P., 1965. Heterotrophy and nitrogen fixation in *Chlorogloea fritschii*. *The Journal of General Microbiology* 39: 11-20.
- Gallon, J. R., 2001. N<sub>2</sub> fixation in phototrophs: adaptations to a specialized way of life. *Plant and Soil* 230: 39-48.
- Garcia-Pichel F., Belnap, J., Neuer, S., Schanz, F., 2003. Estimates of global cyanobacterial biomass and its distribution. *Algological Studies* 109: 213–227.
- Gerber, E., Bernard, R., Castang, S., Chabot, N., Coze, F., Dreux-Zigha, A., Hauser, E., Hivin, P., Joseph, P., Lazarelli, C., Letellier, G., Olive, J., Leonetti, J. P., 2015. *Deinococcus* as a new chassis for industrial biotechnology: biology, physiology and tools. *Journal of Applied Microbiology* 119(1): 1-10.
- Gomont, M., 1892. *Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées)*. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 7* 15: 263-368.
- Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., Yuan, Z., 2016. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial cell factories* 15(203): 1-18.
- Haider, S., Naithani, V., Viswanathan P. N., Kakkar, P., 2003. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern. *Chemosphere* 52(21): 1-21.
- Halder, N., 2016. Note on taxonomy of *Chlorogloeopsis fritschii* (Mitra) Mitra et Pandey with soil analysis, collected from a rice field in West Bengal, India. *Our Nature* 14(1): 92-98.
- Harke, M. J., Steffen, M. M., Gobler, C. J., Otten, T. G., Wilhelm, S. W., Wood, S. A., Paerl, H. W., 2016. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae* 54: 4–20.
- Hindák F., 2008. On *Chlorogloeopsis fritschii* (Cyanophyta/Cyanobacteria) from thermal springs in Slovakia and from saline lake in Tunisia. *Algological Studies* 126(1): 47-64.

Hindák, F., Hindáková, A., 2014. Sinice a riasy v minerálnych prameňoch na travertínovej kope Sivá Brada (Spiš, východné Slovensko). *Limnologický spravodajca* 8(2): 27-33.

Hindák, F., Hindáková, A., 2016: Algae. In: Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska [List of lower and upper plants of Slovakia]. Version 1.1. Slovakia: On-line list.

Huisman, J., Weissing, F. J., 1994. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology* 75: 507-520.

Chapin, D. M., Bledsoe C. S., 1992. 14 – Nitrogen Fixation in Arctic Plant Communities. In: Chapin F. S. Jefferies R. L. Reynolds J. F. Shaver G. R. Svoboda J. Chu E. W. (eds.), *Arctic Ecosystems in a Changing Climate*. San Diego: Academic Press.

Jensen, S., Petersen, B. O., Omarsdottir, S., Paulsen, B. S., Duus, J. O., Olafsdottir, E. S. 2013. Structural characterisation of complex heteroglycan from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *Carbohydrate Polymers* 91(1): 370-376.

Kajiyama, S., Kawasaki, H., Yagi, M., Seki, T., Fukusaki, E., Kobayashi, A., 2002. *Paenibacillus glycanilyticus* sp. nov., a novel species that degrades heteropolysaccharide produced by the cyanobacterium *Nostoc commune*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52(5): 1669-1674.

Kalina, T., Váňa, J., 2005. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. 1. Vyd. Karolinum Praha, 606 s.

Kann, E., 1988. Zur Autökologie benthischer Cyanophyten in reinen europäischen Seen und Fließgewässern. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 80, *Algological Studies*: 473-495.

Kaštovský, J., Komárek, J., 2001. Phototrophic microvegetation of thermal springs in Karlovy Vary, Czech Republic. *Nova Hedwigia* 123: 107-120.

Kaštovský, J., Hauer, T., Geriš, R., Chattová, B., Juráň, J., Lepšová-Skácelová, O., Pitelková, P., Puzstai, M., Škaloud, P., Šťastný, J., Čapková, K., Bohunická, M., Mühlsteinová, R., 2018. Atlas sinic a řas České republiky 1. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 384 s.

Khan, Z., Wan Omar, W. M., Merican, F. M. M. S., Azizan, A. A., Foong, CH. P., Convey, P., Najimudin, N., Smykla, J., Alia, S. A., 2017. Identification and phenotypic plasticity of *Pseudanabaena catenata* from the Svalbard archipelago. *Polish Polar Research* 38(4): 445-458.

Kim, G. H., Klochkova, T. A., Han, J. W., Kang, S.-H., Choi, H. G., Chung, K. W., Kim, S. J., 2011. Freshwater and Terrestrial Algae from Ny-Ålesund and Blomstrandhalvøya Island (Svalbard). *Arctic* 64(1): 25-31.

Kirchner, O., 1898. Schizophyceae. In: Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten insbesondere den Nutzpflanzen unter Mitwirkung zahlreicher hervorragender Fachgelehrten I. Teil, 1. Abteilung a. (Engler, A. & Prantl, K. Eds). Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann: 45-92.

Klouda, P., 1996. Moderní analytické metody: Učebnice základů instrumentálních analytických metod. 1. vyd. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 203 s.

Komárek, J., Anagnostidis, K., 1989. Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4 – Nostocales. *Algological studies* 56: 247-345.

Komárek, J., 1993. Validation of the genera *Gloeocapsopsis* and *Asterocapsa* (Cyanoprokaryota) with regard to species from Japan, Mexico and Himalayas. *Bulletin of the National Science Museum, Tokyo, Series B, Botany* 19(1): 19-37.

Komárek, J., Anagnostidis, K., 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil. Chroococcales. In Ettl, H., Gärtner, G., Heinig, H. & Mollenhauer, D. (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. 19/1. Gustav Fischer Jena: 548 s.

Komárek, J., Watanabe, M., 1998. Contribution to the attached Cyanoprokaryotes from submerged biotopes in Sagarmatha National Park (Eastern Nepal). *Bulletin of the National Science Museum Series B, Botany* 24(4): 117-135.

Komárek, J., Anagnostidis, K., 2005. Cyanoprokaryota – 2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales. In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner and M. Schagerl (ed.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/2, Elsevier/Spektrum, Heidelberg: 759 s,

Komárek, J., Kováčik, L., Elster, J., Komárek, O., 2012. Cyanobacterial diversity of Petuniabukta, Billefjorden, central Spitsbergen. *Polish Polar Research* 33(4): 347-368.

Komárek, J., 2013. *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Cyanoprokaryota 3. Teil/ 3rd part: Heterocytous Genera. 1141 s.

Komárek, J., 2019. Quo vadis, taxonomy of cyanobacteria. *Fottea, Olomouc* 20(1): 104–110.

Kützing, F. T., 1843. *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange*. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser. Leipzig: F. A. Brockhaus: 668 s.

Laamanen, M., 1996. Cyanoprokaryotes in the Baltic Sea ice and winter plankton. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 117, *Algological Studies* 83: 423-433.

- Lauterborn, R., 1915. Die sapropelische Lebewelt. Ein Beitrag zur Biologie des Faulschlammes natürlicher Gewässer. Verhandlungen des Naturhistorisch-Medizinischen Vereins zu Heidelberg ser. 2 13: 395-481.
- López-Cortés, A., García-Pichel, F., Nübel, U., Vázquez-Juárez, R., 2001. Cyanobacterial diversity in extreme environments in Baja California, Mexico: a polyphasic study. *International Microbiology* 4: 227-236.
- Mai, T., Johansen, J. R., Pietrasiak N., Bohunická, M., Martin, M. P., 2018. Revision of the Synechococcales (Cyanobacteria) through recognition of four families including Oculatellaceae fam. nov. and Trichocoleaceae fam. nov. and six new genera containing 14 species. *Phytotaxa* 365(1): 1-59.
- Matula, J., Pietryka, M., Richter, D., Wojtu, B., 2007. Cyanoprokaryota and algae of Arctic terrestrial ecosystems in the Hornsund area, Spitsbergen. *Polish Polar Research* 28(4): 283-315.
- Miller, S. R., Castenholz, R. W., Pedersen, D., 2007. Phylogeography of the Thermophilic Cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. *Applied and Environmental Microbiology* 73(15): 4751-4759.
- Mitra, A. K., Pandey, D. C., 1967. On a new genus of the blue-green alga *Chlorogloeopsis* with remarks on the production of heterocysts in the alga. *Phykos* 5: 106-114.
- Monchamp, M. E., Walser, J. C., Pomati F., Spaak, P., 2016. Sedimentary DNA reveals cyanobacterial community diversity over 200 years in two perialpine lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 82(21): 6472-6482.
- Nakao, M., Okamoto, S., Kohara ,M., Fujishiro, T., Fujisawa, T., Sato, S., Tabata, S., Kaneko, T., Nakamura, Y., 2010. Cyanobase: the cyanobacteria genome database update 2010. *Nucleic Acid Res* 38: 379-381.
- Nägeli, C., 1849. Gattungen einzelliger Algen, physiologisch und systematisch bearbeitet. *Neue Denkschriften der Allg. Schweizerischen Gesellschaft für die Gesamten Naturwissenschaften* 10(7): 1-139.
- Neilan, B. A., Pearson, L. A., Muenchhoff, J., Moffitt, M. C., Dittmann, E., 2013. Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental Microbiology* 15(5): 1239–1253.
- Olafsson, J. H., Sigurgeirsson, B., Pálsdóttir, R., 1996. Psoriasis treatment: bathing in a thermal lagoon combined with UVB, versus UVB treatment only. *Acta Derm Venereol* 76(3): 228-230.



- Nübel, U., Garcia-Pichel F, Muyzer G., 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 63(8): 3327–3032.
- Paerl, H. W., Huisman, J., 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports* 1(1): 27–37.
- Paerl, H. W., Otten, T. G., 2013. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial Ecology* 65(4): 995–1010.
- Pentecost, A., 2011. Some observations on travertine algae from Stjáni hot springs, Lýsuholl, Iceland. *Nordic Journal of Botany* 29: 741-745.
- Potts, M., 1994. Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiology Reviews* 58(4): 755-805.
- Potts, M., 1999. Mechanism of desiccation tolerance in cyanobacteria. *European Journal of Phycology* 34(4): 319-328.
- Pushkareva, E., Barrantes, I., Leinweber, P., Karsten, U., 2021. Microbial Diversity in Subarctic Biocrusts from West Iceland following an Elevation Gradient. *Microorganisms* 9(11): 2195.
- Raabová, L., Kovacik, L., Elster, J., Strunecký, O., 2019. Review of the genus *Phormidesmis* (Cyanobacteria) based on environmental, morphological, and molecular data with description of a new genus *Leptodesmis*. *Phytotaxa* 395(1): 1-16.
- Rabenhorst, L., 1865. *Flora europaea algarum aquae dulcis et submarinae. Sectio II. Algas phycochromaceas complectens.* Lipsiae: Apud Eduardum Kummerum: 1-319 s.
- Rai, S. H., 2012. Cyanobacteria from Khumbu region (Mt. Everest) including a new record for Nepal. *Indian Hydrobiology* 15(2): 223-226.
- Rainey, F. A., Ray, K., Ferreira, M., Gatz, B. Z., Nobre, M. F., Bagaley, D., Rash, B. A., Park, M. J., 2005. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran Desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 5225–5235.
- Raghavendra, A. S., 2000. *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise.* Cambridge University Press: United Kingdom: 87–104.
- Reynolds, C. S., 1997. *Vegetation Processes in the Pelagic: A Model for Ecosystem Theory,* Ecology Institute, Oldendorf, Germany: 371 s.

Richter, P., 1897. Süßwasseralgen aus dem Umanakdistrikt. In: Botanische Ergebnisse der von der Gesellschaft für Erdkunde zu Berlin unter Leitung D. v. Drygalski's ausgesandten Grönlandexpedition nach Dr. Vanhöffens Sammlungen bearbeitet. A. Kryptogamen. Bibliotheca Botanica 8(42): 1-12.

Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. The Journal of General Microbiology 111: 1-61.

Rudi, K., Skulberg, O. M., Larsen, F., Jakobsen, K. S., 1997. Strain characterization and classification of oxyphotobacteria in clone cultures on the basis of 16S rRNA sequences from the variable regions V6, V7 and V8. Applied and Environmental Microbiology 63(7): 2593-2599.

Říhová Ambrožová, J., 2007. Encyklopedie hydrobiologie. Praha: VŠCHT Praha

Sanger, F., Coulson, A. R., 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. Journal of Molecular Biology 9: 441-448.

Seckbach, J., 2007. Algae and cyanobacteria in extreme environments. Hamburg, Germany, Springer: 814 s.

Schopf, J. W., 1996. Cyanobacteria. Pioneers of the early Earth. In: A. K. S. K, Prasad, J. A. Nienow and V. N. R. Rao [Eds] Contributions in Phycology. Nova Hedwigia, Beiheft 112: 13-32.

Sinha, R., Pearson, L. A., Davis, T. W., Burford, M. A., Orr, P. T., Neilan, B. A., 2012. Increased incidence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in temperate zones – is climate change responsible? Water Research 46(5): 1408-1419.

Smith, L. M., Sanders, J. Z., Kaiser, R. J., Hughes, P., Dodd, Ch., Connell, Ch. R., Heiner, Ch., Kent, S. B. H., Hood, L. E., 1986. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. Nature 321(6071): 674-679.

Smith, T., Olson, R., 2007. A Taxonomic Survey of Lamp Flora (Algae and Cyanobacteria) in Electrically Lit Passages within Mammoth Cave National Park, Kentucky. International Journal of Speleology 36(2): 105-114.

Stewart, W. D. P., 1973. Nitrogen fixation by photosynthetic microorganisms. Annual Review Microbiology 27: 283-316.

Stoyneva-Gärtner, M. P., Uzunov, B. A., 2019. First application of a drone for studies of the biodiversity of Bulgarian extremophilic algae in the Marikostinovo thermal complex. Annual of Sofia University 103: 5-37.

- Strunecký, O., Komárek, J., Johansen, J., Lukešová, A., Elster, J., 2013. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *microcoleus* (oscillatoriales, cyanobacteria). *Journal of Phycology* 49(6): 1167–1180.
- Strunecký, O., Komárek, J., Smarda, J., 2014. *Kamptonema* (Microcoleaceae, Cyanobacteria), a new genus derived from the polyphyletic *Phormidium* on the basis of combined molecular and cytomorphological markers. *Preslia* 86(2): 193–207.
- Strunecký, O., Raabová, L., Bohunicka, M., Johansen, J. R., Dvořák, P., Komárek, J., 2017. A revision of the genus *Geitlerinema* and a description of the genus *Anagnostidinema* gen. Nov (Oscillatoriophycidae, Cyanobacteria). *Fottea* 17(1): 114-126.
- Strunecký, O., Kopejtková, K., Goecke, F., 2019. High diversity of thermophilic cyanobacteria in Rupite hot spring identified by microscopy, cultivation, single-cell PCR and amplicon sequencing. *Extremophiles: life under extreme conditions* 23: 35-48.
- Šejnohová, L., Maršálek B., 2005. Pohled do mikroskopického světa sinic. *Živa* 3: 105-108.
- Tomović, G., Sabovljević, M. S., Mašić, E., Popović, S. S., Marković, A., Trbojević, I., Pantović, J., Sutorý, K., Niketić, M., Boycheva, P., Ivanov, D., Hajrudinović-Bogunić, A., Begić, A., Assyov, B., Tamas, G., Bîrsan, C. C., Ștefănuț, S., 2021. New records and noteworthy data of plants, algae and fungi in SE Europe and adjacent regions, 6. *Botanica Serbica* 45(2): 361-368.
- Vincent, W. F., 2000. Cyanobacterial dominance in the polar regions. In: B. A. Whitton and M. Potts (eds.) *The Ecology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers: 321–340.
- Visser, P. M., Verspagen, J. M., Sandrini, G., Stal, L. J., Matthijs, H. C., Davis, T. W., Paerl, H. W., Huisman, J., 2016. How rising CO<sub>2</sub> and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms. *Harmful Algae* 54: 145–159.
- Walsby, A. E., 1987. Mechanisms of buoyancy regulation by planktonic cyanobacteria with gas vesicles. In: P. Fay and C. Van Baalen [Eds] *The Cyanobacteria*. Elsevier, Amsterdam: 377-392.
- Whitton, B. A., 1992. Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In: N. H. Mann and N. G. Carr [Eds] *Photosynthetic Prokaryotes*. Plenum Press, New York: 1-51.
- Whitton, B. A., Potts, M., 2000. Introduction to the cyanobacteria, in the *Ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space*. (Eds B. A., Whitton, M., Potts): 1-11.
- Whitton, B. A., Potts, A. M., 2002. *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publishers: 669 s.

## 8 Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá druhovým složením sinic z ekosystémů Islandu. Roku 2020 bylo odebráno 42 vzorků z různých islandských biotopů. Druhová diverzita byla stanovena převážně dle morfologických znaků. U některých druhů byly získány sekvence 16S rRNA genu. Morfologické znaky nalezených druhů sinic jsou popsány v práci. Kromě toho lze nalézt i fylogenetickou analýzu druhů, u kterých byla získána 16S rRNA sekvence. Celkově bylo nalezeno 30 druhů sinic rozdělených do čtyř řádů. Dominoval řád Oscillatoriales (33%), následovaný řády Synechococcales (27%), Nostocales (23%) a Chroococcales (17%). Nejdominantnější druh byl *Leptolyngbya boryana*, který byl nalezen v 17 vzorcích (40%). V diskuzi je následně porovnána biogeografická příslušnost nalezených druhů s dostupnou světovou literaturou.

Klíčová slova: Island, sinice, diverzita, ekologie, morfologie

## 9 Abstract

This master thesis deals with the species composition of cyanobacteria from Iceland's ecosystems. In 2020, 42 samples were taken from various Icelandic habitats. Species diversity was determined mainly according to morphological features. In some species were obtained sequences of 16S rRNA gene. The morphological features of the found cyanobacterial species are described in the work. In addition, phylogenetic analysis of species for which the 16S rRNA sequence was obtained can be found. A total of 30 species of cyanobacteria divided into four orders were found. The order Oscillatoriales (33%) dominated, followed by the orders Synechococcales (27%), Nostocales (23%) and Chroococcales (17%). The most dominant species was *Leptolyngbya boryana*, which was found in 17 samples (40%). Finally, the discussion compares the biogeographical affiliation of the found species with the available world literature.

Key words: Iceland, cyanobacteria, diversity, ecology, morphology