

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Je tropická sinice rodu *Brasilonema* limitována v růstu nízkými
teplotami?

Diplomová práce

Autor: Bc. Jana Šubrová

Studijní program: N0588A030001 Biologie a ekologie

Studijní obor: Biologie a ekologie – spec. biologie rostlin

Vedoucí práce: RNDr. Markéta Bohunická, Ph.D.

Hradec Králové

leden 2022

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Dr. Markétě Bohunické za cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích a za zapůjčení kmenů k mé diplomové práci.

ANOTACE

ŠUBROVÁ, J. Je tropická sinice rodu *Brasilonema* limitována v růstu nízkými teplotami? Hradec Králové, 2022. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce Markéta Bohunická. 82 s.

Tato práce se zabývá testováním životaschopnosti tropické sinice rodu *Brasilonema* v nízkých teplotách laboratorně vytvořených. První část práce je rešeršní, kde jsou shromážděny poznatky o tropické sinici rodu *Brasilonema* a charakteristika dosud objevených druhů náležících k tomuto rodu. Součástí práce je také přehledová tabulka těchto druhů. V praktické části byl proveden kultivační pokus s nízkými teplotami, který probíhal ve dvou oddělených bázích v letních, resp. zimních měsících roku na vybraných kmenech rodu *Brasilonema* z Portorika, Floridy, Portugalska, Ostravy a Prahy. Na těchto kmenech je také provedena základní morfologická charakteristika.

Klíčová slova

Tropy, *Brasilonema*, morfologie, nízká teplota, kultivační pokus

ANNOTATION

ŠUBROVÁ, J. Is tropical cyanobacterium *Brasilonema* growth limited by low temperatures? Hradec Králové, 2022. Diploma Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis supervisor Markéta Bohunická. 82 p.

This thesis deals with testing of the viability of a tropical cyanobacterium *Brasilonema* at low temperatures generated in a laboratory. The first part of the thesis is a research part where current knowledge about the tropical cyanobacterium of the genus *Brasilonema* and the characteristics of the species belonging to this genus discovered so far are summarized. A summary table of these species is also a part of the thesis. In the practical part, two separate runs of a cultivation experiment with low temperatures was carried out in the summer and winter months on selected strains of the genus *Brasilonema* from Puerto Rico, Florida, Portugal, Ostrava and Prague. Basic morphological characterization is also performed on these strains.

Keywords

Tropics, *Brasilonema*, morphology, low temperature, cultivation experiment

OBSAH

1. Úvod	8
1.1. Obecný úvod do problematiky.....	8
1.2. Cíle práce	8
2. Literární přehled.....	9
2.1. Tropické oblasti	9
2.2. Biodiverzita sinic v tropických oblastech.....	10
2.3. Rod <i>Brasilonema</i>	14
2.3.1. Objev a vymezení rodu <i>Brasilonema</i>	14
2.3.1.1. Fenotypové vymezení.....	14
2.3.1.2. Molekulární vymezení.....	15
2.3.2. Charakteristika rodu <i>Brasilonema</i>	19
2.3.2.1. Zařazení taxonu.....	19
2.3.2.2. Morfologie taxonu	19
2.3.2.3. Ekologie taxonu.....	20
2.3.3. Druhy rodu <i>Brasilonema</i>	21
2.3.3.1. <i>Brasilonema bromeliae</i>	21
2.3.3.2. <i>Brasilonema octagenarum</i>	22
2.3.3.3. <i>Brasilonema sennae</i>	25
2.3.3.4. <i>Brasilonema epidendron</i>	27
2.3.3.5. <i>Brasilonema ornatum</i>	28
2.3.3.6. <i>Brasilonema terrestre</i>	29
2.3.3.7. <i>Brasilonema roberti-lamyi</i>	31
2.3.3.8. <i>Brasilonema angustatum</i>	32
2.3.3.9. <i>Brasilonema tolantongensis</i>	34
2.3.3.10. <i>Brasilonema burkei</i>	36
2.3.3.11. <i>Brasilonema lichenoides</i>	36
2.3.3.12. <i>Brasilonema geniculatum</i>	38

2.3.3.13. <i>Brasilonema fioreae</i>	39
2.3.3.14. <i>Brasilonema santannae</i>	40
2.3.3.15. <i>Brasilonema wernerae</i>	41
3. Metodika.....	44
3.1. Teoretická část	44
3.2. Původ kmenů	44
3.3. Praktická část.....	46
3.3.1. Příprava média.....	46
3.3.2. Kultivační pokus.....	48
3.3.2.1. Kultivační pokus v letních měsících.....	48
3.3.2.2. Kultivační pokus v zimních měsících	49
3.3.2.3. Pokračování kultivačního pokusu	50
3.3.3. Mikroskopování.....	50
4. Výsledky.....	51
4.1. Přehledová tabulka objevených druhů rodu <i>Brasilonema</i>	51
4.2. Kultivační pokus	56
4.2.1. Kultivační pokus v letních měsících	56
4.2.2. Kultivační pokus v zimních měsících.....	60
4.2.3. Shrnutí kultivačních pokusů	61
4.3. Charakteristika vlastních kmenů	62
5. Diskuze	69
6. Závěr.....	75
7. Přehled použité literatury	76
8. Seznam zkratk.....	82

1. Úvod

1.1. Obecný úvod do problematiky

Nedávno popsána sinice rodu *Brasilonema* (Fiore *et al.* 2007) je teplomilná sinice s těžištěm výskytu v tropech a subtropích celého světa. V temperátním pásu se vyskytuje pouze lokálně v podmínkách klimaticky připomínajících tropy a subtropy, jako například tropické skleníky nebo chladicí věže elektráren. Předpokládá se tedy, že je v temperátním pásu limitována nízkými teplotami v zimním období.

V první části této diplomové práce jsou shrnuty poznatky o sinici rodu *Brasilonema* a charakteristika dosud objevených druhů náležících k tomuto rodu. Součástí teoretické části je také zpracování přehledové tabulky těchto druhů.

V praktické části této diplomové práce je provedení kultivačního pokusu na tropické sinici rodu *Brasilonema* s cílem zhodnotit, zda snese teploty blízké se bodu mrazu nebo ne. Zpracováno je pět vybraných kultur z pěti různých geografických oblastí světa, zahrnující tropickou oblast (Portoriko), pomezí tropické a subtropické oblasti (jižní Florida), subtropickou oblast (Portugalsko) i dvě lokality připomínající tropické oblasti v České republice – tropický skleník a chladicí věž tepelné elektrárny.

1.2. Cíle práce

Hlavními cíli této diplomové práce je:

1. Zpracovat přehled dosavadních znalostí o sinici rodu *Brasilonema* a charakteristika dosud objevených druhů tohoto rodu formou literární rešerše
2. Zpracovat přehledovou tabulku dosud objevených druhů rodu *Brasilonema*, která poskytne porovnání jednotlivých druhů
3. Provést kultivační pokus s nízkými teplotami na vybraných zástupcích rodu *Brasilonema* a vyhodnocení jejich životaschopnosti
4. Provést základní morfologické charakteristiky na vybraných zástupcích rodu *Brasilonema*

2. Literární přehled

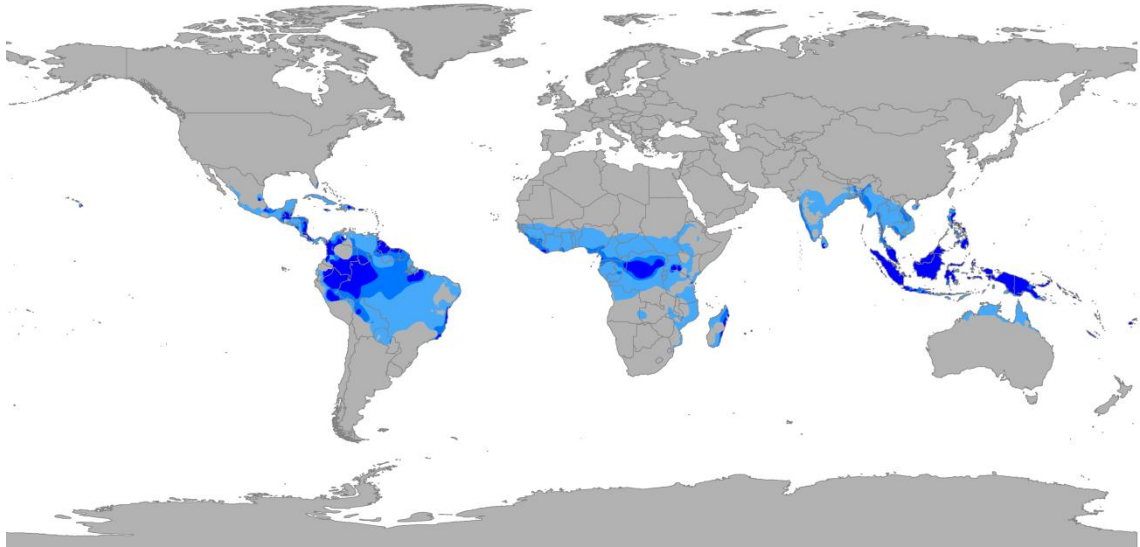
2.1. Tropické oblasti

Tropický podnebný pás obepíná Zemi okolo rovníku. Rozloha tropického pásma odpovídá sklonu rotační osy Země a je vymezena obratníkem Raka na severní polokouli 23°26' severní šířky a obratníkem Kozoroha na jižní polokouli 23°26' jižní šířky (Demek *et al.* 1997). Sluneční paprsky sem alespoň v určité období roku dopadají kolmo a tropický podnebný pás tak vykazuje dvě maxima slunečního záření, když je Slunce v zenitu a dvě minima, když je Slunce v nadhlavníku obratníku Raka a Kozoroha (Demek *et al.* 1997).

Podle Köppenovy klasifikace podnebí je tropické podnebí charakterizováno oblastmi s teplotou vyšší než 18 °C (64 °F) ve všech měsících. V závislosti na typu tropického klimatu je vlhkost proměnlivá. Na klima v tropických oblastech má vliv tzv. intertropická zóna konvergence (ITCZ Intertropical Convergence Zone). ITCZ je oblast nízkého tlaku a je místem konvergence pasátových větrů, která se vyznačuje vysokou vlhkostí a dešťovými srážkami. ITCZ obklopuje Zemi blízko u rovníku a v průběhu roku se pouze mírně mění. Nad pevninou se ITCZ unáší dále na sever či na jih než ITCZ nad oceány, což je dáno většími teplotními rozdíly pevniny. V mírných zeměpisných šířkách je relativní migrace Slunce mezi obratníky Raka a Kozoroha odpovědná za střídání ročního období, zatímco v tropických zeměpisných šířkách je odpovědná za migraci nízkého tlaku vzduchu a následné posuny v sezónních tropických deštích. Dále na sever a na jih od této zóny v tropických oblastech začíná vzduch klesat a otepluje se. Teplý vzduch pojme mnohem více vodní páry a jeho relativní vlhkost se uzavírá do teplého vzduchu. Vzduch se dále otepluje a vysušuje. Tyto oblasti s vysokým tlakem se nazývají anticyklony (The British Geographer 2021).

Podle Köppenovy klasifikace (Obr. 1) se tropické podnebí dělí na podnebí tropického dešťového pralesa, tropické monzunové podnebí a tropické vlhké a suché savany. Podnebí tropického dešťového pralesa v blízkosti rovníku je charakterizováno vysokou průměrnou teplotou po celý rok a vysokými měsíčními srážkami, minimálně 60 mm a roční srážky obvykle přesahují 2000 mm. Rozsah denních teplot je větší než roční teplotní rozsah. Tropické podnebí vlhkých a suchých savan je charakterizované obdobími sucha a vlhka, které souvisí s jejich situací vzhledem k rovníku a migraci ITCZ. Měsíční srážky jsou nižší než 60 mm a roční srážky jsou nižší než 1000 mm. Tropická monzunová podnebí jsou poměrně vzácná. Střídají se zde období monzunu a období sucha. Tyto oblasti se nenacházejí přímo na rovníku, a tak se v různých částech roku mohou výrazněji měnit teploty i množství srážek. V období monzunu může spadnout více než 1000 mm srážek za

rok a v období sucha mohou být některé měsíce prakticky bez srážek (The British Geographer 2021).



Obr. 1 – Typy tropických oblastí na světě dle Köppenovy klasifikace podnebí: ■ podnebí tropického deštného lesa, ■ podnebí monzunové, ■ podnebí savanové (upraveno podle: The British Geographer 2021).

Dle jiných klasifikací podnebí, např. Alisovova klasifikace podnebí, sem náleží i pouště, které jsou typické pro pevninský tropický typ podnebí charakterizovaný suchým a velmi teplým klimatem, s velkými denními výkyvy teplot vzduchu (Demek *et al.* 1997).

2.2. Biodiverzita sinic v tropických oblastech

Tropické ekosystémy jsou hlavní zásobárnou biologické rozmanitosti na naší planetě. Vliv zeměpisné šířky na druhovou rozmanitost, kterou jako první zaznamenal Wallace (1876), byla podložena i mnoha ekologickými studiemi, které se však většinou zaměřily na živočichy, rostliny a další makroorganismy. Dle de Azevedo *et* Quecine (2017) zastávají někteří vědci názor, že mikroorganismy, které tvoří velkou část biologické rozmanitosti na zemi a mají zásadní roli ve struktuře a funkci ekosystémů, se vyskytují kosmopolitně, vzhledem k jejich snadné disperzi vzdušnými i vodními proudy, pohybem hostitelských rostlin či živočichů. Přesto některé studie dospěly k závěru, že mikrobiální komunity, stejně jako většina rostlin a živočichů, jsou v oblasti okolo rovníku rozmanitější než ve vyšších zeměpisných šířkách (de Azevedo *et* Quecine 2017).

Znalost identit mikroorganismů a jejich funkcí v ekosystémech v tropických oblastech zaostává za těmi v temperátním pásmu (de Azevedo *et* Quecine 2017). Dle Komárka (2006) je odhaleno méně než 10 % diverzity tropických sinic. Dvořák *et al.* (2015) poukázali na to, že i přes toto nízké procento, je pouze přibližně 3 % výzkumných článků zabývajících se diverzitou sinic zaměřeno na diverzitu sinic v tropických ekosystémech. Diverzita sinic může být navíc v několika ekosystémech ohrožena antropickými zásahy způsobující ztrátu a fragmentaci stanovišť, znečištění a globální změnu klimatu (Rigonato *et al.* 2017). Podle Rigonato *et al.* (2017) lze proto biomy v tropických oblastech považovat za hotspoty objevu nových taxonů sinic, což je dokázáno nedávno nově popsánymi rody a druhy sinic, např. *Alkalinema pantanalense* (Vaz *et al.* 2015), *Cephalothrix komarekiana* a *lacustris* (da Silva Malone *et al.* 2015), *Halotia branconii*, *longispora* a *wernerae* (Genuario *et al.* 2015), *Pantanalinema rosanae* (Vaz *et al.* 2015), *Aliterella atlantica* (Rigonato *et al.* 2016), *Ancylothrix rivularis* a *terrestris* (Martins *et al.* 2016), *Dapisostemon apicaliramis* (Hentschke *et al.* 2016), *Foliisarcina bertioagensis* a *Phyllonema aviceniicola* (Alvarenga *et al.* 2016), *Potamolinea magna* (Martins *et* Branco 2016).

Ve většině případů jsou práce zabývající se tropickými sinicemi zaměřené na planktonní druhy, zejména ty, které tvoří toxické vodní květy. Na rozdíl od mírných pásem, kde k tvorbě vodních květů sinic obvykle dochází pouze během letního období, jsou vodní květy tropických sinic daleko trvalejší a představují tak velká ekologická a zdravotní rizika (Rigonato *et al.* 2017). Tropické sinice však mohou kolonizovat různé ekosystémy v tropických oblastech od vodních biomů přes lesní biomy až po pouště (de Azevedo *et* Quecine 2017).

Sinice jsou široce rozšířené v tropických mořských ekosystémech. Tyto ekosystémy se vyznačují specifickou diverzitou sinic, přičemž teplota je pravděpodobně hlavním limitujícím faktorem pro geografické rozšíření těchto druhů (Hoffman 1999). Tropická oceánická oblast je podle van den Hoek (1984) vymezena zimní izotermou vody 20 °C, zatímco v temperátu činí pouze 10 °C. Nejvyšší biodiverzita mořských tropických sinic je pozorována v litorálních zónách, kde mohou tvořit biofilmy v infralitorální a přílivové zóně, nebo zde mohou žít endoliticky v kostrách živých i mrtvých korálů, epifyticky na makrořasách (Sargassum) či v symbiózách s živočišnými houbami či sumkami (Hoffman 1999, Rigonato *et al.* 2017).

Sinice jsou dále důležitou složkou pobřežních ekosystémů jako například oligotrofních zásaditých slaných bažin objevených ve střední Americe a Karibiku, například v Belize (Komárek *et al.* 2005). Zpočátku se tato společenstva sinic vyvíjí jako bentická, tvořící

nárasty na dně a na ponořených rostlinách (zejména *Eleocharis* spp.) a později tyto nárasty vyplouvají na povrch. V těchto společenstvech byla objevena vysoká diverzita sinic s dominancí vláknitých druhů netvořících heterocyty. Nejdiferzifikovanější jsou zde však kokální sinice a několik vláknitých sinic tvořících heterocyty je přítomno ve větším množství v určitých stádiích vývoje těchto nárastů. Podle Komárka *et al.* (2005) je přibližně 60 % popsaných sinic z těchto prostředí limitováno pouze na tropické oblasti, což naznačuje, že mikrobiota sinic z těchto prostředí je vysoce specializovaná a zahrnuje mnoho adaptovaných forem a možná i endemických v této oblasti.

Mangrovové lesy jsou přechodným ekosystémem mezi mořem a pevninou, který podléhá neustálým změnám parametrů (salinita, teplota, světlo, příliv a odliv). Tyto lesy hostí řadu unikátních druhů sinic, které často tvoří nárasty a sídlí na jejich listech, kmenech či pneumatoforech. Tyto epifytické sinice jsou často schopny fixace dusíku a bývají nejvyšším přispěvatelem dostupného dusíku pro některé rostliny v zaplavených půdách (Rigonato *et al.* 2017).

V mnoha tropických biomech se vyskytují epilitické a endolitické sinice. Skalní povrchy na různých kontinentech s odlišnými klimatickými podmínkami bývají obvykle obsazeny dobře adaptovanými kosmopolitními společenstvy s nízkou diverzitou, s dominancí cyanolišejníků a volně žijících sinic, zejména z rodů *Scytonema* a *Gloeocapsa* (Rigonato *et al.* 2017). Podle výzkumu Mühlsteinová *et al.* (2013) ze střední Ameriky v Kostarice převažovaly zejména heterocytické sinice tvořící zbarvené pochvy.

Stolové hory „Inselberges“ jsou další běžné substráty pro sinice v tropech. Prostorové rozložení sinic na těchto izolovaných skalnatých kopcích se liší rozdílnou ekofyziologií a mikrohabitaty pro sinice a dle Rascher *et al.* (2003) je lze rozdělit na tři následující komunity. Komunity rostoucí v centrální zóně uprostřed brázd, které jsou během dešťů a po dešti pokryty sloupcem vody. Ve vlhkém stavu jsou tyto komunity zbarveny červeně a označují se jako „červené“ komunity s dominancí jednobuněčného a koloniálního *Gloeocapsa sanguinea* a krátce větveného druhu *Stigonema mammosum*. Komunity rostoucí po stranách brázd jsou označovány jako „zelené“ komunity, protože se ve vlhkém stavu zbarví do zelena, ale za sucha jsou černé. Tato komunita je dominantním druhem *Stigonema ocellatum* tvořící dlouhá větvená vlákna. Třetí typ komunit pokrývá horizontální zóny, což je až 80 % celého skalního povrchu. Nazývá se „černá“ komunita s dominancí druhu *Scytonema myochrous*, která je černě zbarvená za jakéhokoliv vodního stavu (Rascher *et al.* 2003).

Na půdách s velmi nízkou vlhkostí, jako jsou například tropické pouště, se mohou vyskytovat biologické půdní krusty (BSCs biological soil crusts). BSCs jsou společenstvem autotrofních (sinice, řasy, lišejníky a mechorosty) a heterotrofních (mikroskopické houby a bakterie) organismů doplněných o částice půdy. Tato vrstva se vyskytuje na povrchu nebo v horních pár milimetrech půdy a vyskytují se napříč různými vegetačními pásy celého světa (Belnap *et al.* 2001). Mezi nejčastější sinice vyskytující v biologických půdních krustách patří *Microcoleus vaginatus*, která díky silným slizovým pochvám patří k zakladatelům BSCs. K dalším sinicím typicky se vyskytujícími v krustách patří *Nostoc*, *Scytonema*, *Calothrix*, *Gloeocapsa*. BSCs mají důležité ekologické role, jsou důležitým zdrojem vstupu dusíku a uhlíku do ekosystému, chrání půdu před erozí vodní i větrnou (Belnap *et al.* 2001).

2.3. Rod *Brasilonema*

2.3.1. Objev a vymezení rodu *Brasilonema*

Vědci z Botanického institutu a z institutu CENA v São Paulu spolu s vědci z Botanického ústavu a Jihočeské Univerzity z Českých Budějovic během studia subaerofytických sinic v humidních lesích subtropických a tropických oblastí v jihovýchodní Brazílii opakovaně nalézali morfotyp připomínající *Scytonemu*. Jednalo se o běžně se vyskytující sinicový heterocytický morfotyp podobný rodu *Scytonema* v morfologii vláken a interkalární pozicí heterocytů. Tento nový morfotyp fenotypicky přesně neodpovídal žádnému do té doby popsanému rodu. Mezi nejdůležitější fenotypové rozdíly ve srovnání s tradičními scytonematoidními rody patří například charakteristická fascikulace vláken a vzácné nepravé větvení. Toto zjištění tedy vedlo vědce k rozsáhlému výzkumu (Fiore *et al.* 2007).

Navzdory malým morfologickým odlišnostem tohoto morfotypu od jiných scytonematoidních morfotypů, potvrdily molekulární metody samostatnou fylogenetickou pozici na obecné úrovni, a proto byl popisován jako oddělený rod *Brasilonema* s typovým druhem *Brasilonema bromeliae* (Fiore *et al.* 2007). *Brasilonema* je rod kryptických sinic zahrnující druhy, které se překrývají v morfologii, molekulární fylogenezi a ekologii, a proto je při popisu nezbytné kombinovat molekulární i morfologické postupy (Barbosa *et al.* 2021)

Nový rod byl tedy popsán za pomoci kombinace molekulárních a cytomorfologických kritérií v souladu bakteriologickým i botanickým nomenklatorickým kódem. Reference a typový kmen jsou uloženy ve sbírce kultur v botanickém institutu a institutu CENA v São Paulu pod číslem SPC951 (Fiore *et al.* 2007).

2.3.1.1. Fenotypové vymezení

Morfologická variabilita a životní cykly byly studovány na všech 12 odebraných vzorcích populací jednoho běžného morfotypu shromážděného z různých subaerofytických lokalit v São Paulu. Jednalo se převážně o vzorky kmenů odebraných z listových růžic bromélií rodů *Vriesea*, *Aechmea*, *Wittrockia*, *Nidularium*, *Diskia*, *Neoregelia* a další rody rostoucí ve skleníku v botanické zahradě. Další vzorky byly odebrány z dřevěných desek v těsné blízkosti květináčů s broméliemi, z kůry stromů v Atlantickém lese a z železných vodovodů a kamenů u pramenů poblíž Paranapiacaba (Fiore *et al.* 2007).

Ultrastruktura *Brasilonema* je podobná jiným scytonematoidním a heterocytickým typům, jako například: uspořádání thylakoidů, struktura pochvy, pozice nukleoplazmy, karboxyzomy, fykobiliny a ribozomy. V buňkách se však vyskytují struktury s nejasným významem, jako například inkluze neidentifikované funkce či rozšířené stočené thylakoidy (Anagnostidis & Komárek 1990, Hindák *et* Komárek 2003, Fiore *et al.* 2007).

Nápadné struktury podobné vakuolám se vyskytují běžně v buňkách mnoha scytonematoidních populací, hlavně v terminálních částech několika druhů *Tolypothrix* sp. a *Scytonema* sp. U druhu *Brasilonema bromeliae* se vyskytují řady takovýchto buněk obsahující tyto nepravé vakuoly. V jiných morfotypech se tyto struktury vyskytují jen zřídka. Je potvrzeno, že se nejedná o pravé vakuoly, ale jsou to volné prostory v buňce bez protoplastu obklopené dalšími zvětšenými thylakoidy různé hustoty. Funkce těchto struktur není dosud jasná (Fiore *et al.* 2007).

Bikonkávní nebo multikonkávní disky složené z mezibuněčných látek se také běžně vyskytují v trichomech *Brasilonema*. Tyto disky stejnoměrně iniciují fragmentaci trichomů v hormogonii (Desikachary 1959). Jsou složeny z elektronově hustého materiálu připomínající hmotu vyskytující se v pórech heterocytů (Fiore *et al.* 2007).

Typickými fenotypovými znaky, kterými se *Brasilonema* liší od jiných heterocytických morfotypů je typická fascikulace trichomů a forma stélky. Odlišnosti ve formě stélky zahrnují například cylindrické trichomy, buňky podél celého trichomu jsou přibližně morfologicky uniformní, jen terminální buňky jsou zaoblené. Pochvy jsou především uzavřené, otevřené jsou jen během reprodukční fáze. Heterocyty jsou většinou solitérní interkalární a hormogonie jsou krátké. Podle Fiore *et al.* (2007) se *Brasilonema* liší absencí pravého větvení a formou stélky od rodů *Schmidleinema* a *Symphyonemopsis*, méně častým nepravým větvením typu *Scytonema* se liší od rodů *Tolypothrix* a *Scytonema* a absencí akinet a výrazně vztyčenými svazky vláken se liší od rodu *Camtylonemopsis*.

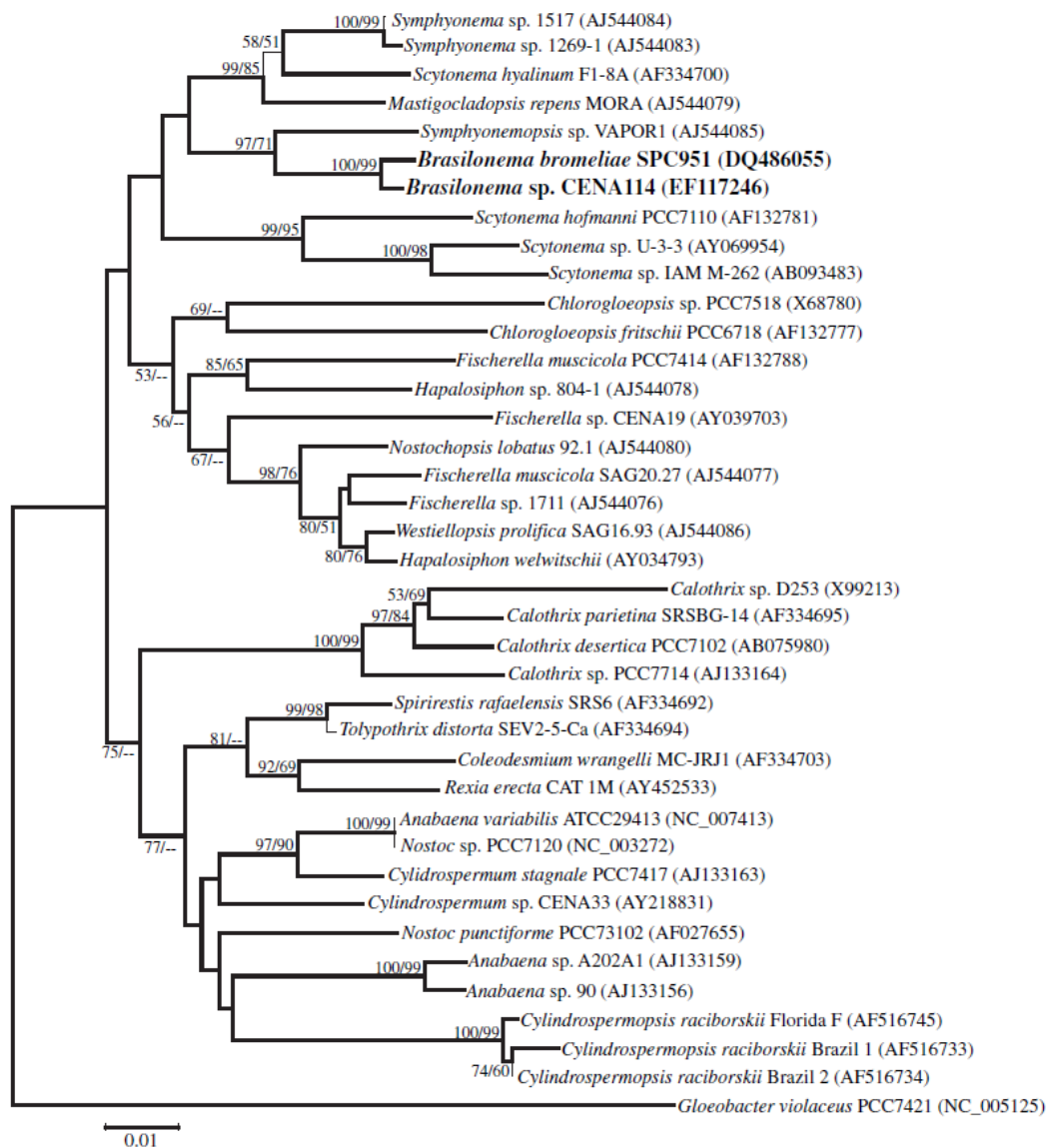
2.3.1.2. Molekulární vymezení

Molekulární analýza byla provedena na dvou kmenech odebraných z listových růžic bromélií a z železného vodovodu poblíž Paranapiacaba. Z kultivovaných buněk *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA114 byla izolovaná celá genomová DNA. Sekvenován byl gen 16S rRNA (Obr. 2, Obr. 3) a gen *cpcBA-IGS* pro fykocyanin (Obr. 4). Nukleotidové sekvence získané v rámci studia a sekvence 37 kmenů

sinic obdržných z genetické banky byly srovnány a použity ke generování fylogenetického stromu (Fiore *et al.* 2007).

Fylogenetický strom zrekonstruovaný na základě sekvenování 16S rRNA (Obr. 2) ukázal, že kmeny *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA114 jsou seskupeny do podporovaného sekvenčního klastru s podporou 97 % pro metodu NJ (neighbor-joining) a 71 % pro metodu MP (maximum parsimony) spolu s jedním členem *Symphyonemopsis* VAPOR1 původně řazeným do řádu Stigonematales (nyní Nostocales). Tento podporovaný sekvenční klastr je vnořen do hlavního klastru charakterizovaný nízkými hodnotami bootstrapu pod 50 %. Do tohoto hlavního klastru se řadí i zástupci původně řazení do řádu Stigonematales (nyní Nostocales): *Symphyonema*, *Mastigocladopsis* a zástupci patřící do řádu Nostocales: *Scytonema*. Nejbližšími morfotypy na rodové úrovni jsou *Symphyonema* a *Scytonema*, ale podobnost sekvence genu 16S rRNA (Obr. 3) s těmito dvěma rody je výrazně nízká (pod 95 %). Jediný morfotyp, který má s rodem *Brasilonema* podobnost vyšší než 95 % je kmen *Symphyonemopsis* VAPOR1. Nicméně rod *Symphyonemopsis* založený na typovém druhu *Symphyonemopsis katniensis*, má zásadně odlišnou morfologii vláken a je u něj přítomno pravé větvení. Tyto výsledky indikují samostatnou polohu *Brasilonemy* (kmen SPC951) na rodové úrovni (Fiore *et al.* 2007, algaebase 2021).

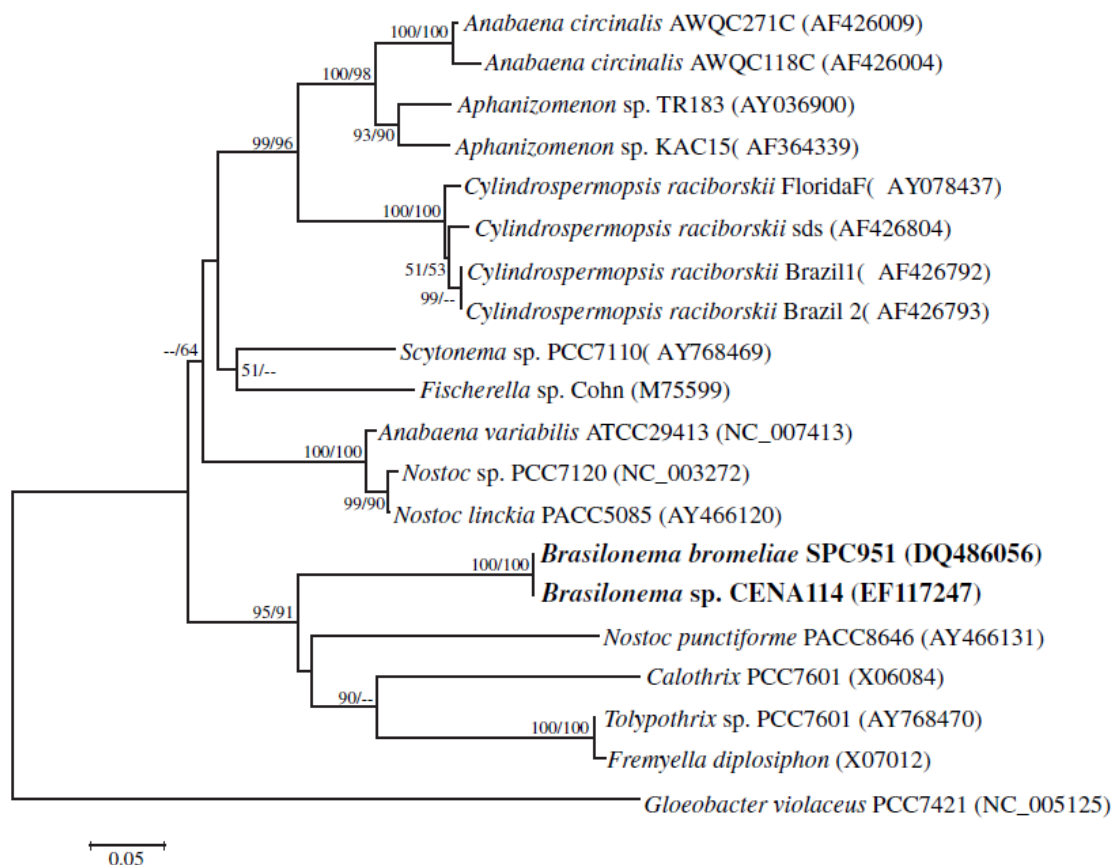
Fylogenetický strom zrekonstruovaný na základě sekvenování fykocyaninu (cpcBA-IGS; Obr. 4) také ukazuje, že kmeny *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA114 jsou seskupeny do klastru s členy patřícími do řádu Nostocales: *Nostoc*, *Calothrix*, *Tolypothrix*, *Fremyella*, s vysokou podporou 95 % pro NJ a 91 % pro MP analýzu. Nicméně podobnost sekvence genu 16S rRNA těchto rodů s kmeny *Brasilonema* je výrazně nízká (pod 90 %, Fiore *et al.* 2007, algaebase 2021).



Obr. 2 – Fylogenetický strom založený na sekvencích genu 16S rRNA pomocí metody NJ znázorňuje vztahy mezi kmeny *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA114 a příbuznými sinicemi a *Gloeobacter violaceus* PCC7421 jako zástupce méně příbuzné sinice. Poblíž uzlů fylogenetického stromu jsou uvedeny hodnoty bootstrapu vyšší než 50 % podle metod NJ a MP (Fiore *et al.* 2007).

Strain	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Brasilonema</i> CENA 114									
" <i>Symphyonemopsis</i> " VAPOR 1	96.0								
<i>Mastigocladopsis repens</i> MORA	94.6	95.2							
<i>Symphyonema</i> sp.1517	94.3	94.2	95.6						
<i>Symphyonema</i> sp.1269-1	94.6	94.2	95.6	99.2					
<i>Scytonema hyalinum</i> FI-8A	93.8	93.7	95.0	96.5	96.3				
<i>Scytonema hoffmannii</i> PCC7110	93.2	93.4	92.9	92.6	92.8	92.7			
<i>Scytonema</i> sp.U-3-3	92.2	92.9	91.8	91.5	91.6	91.5	95.2		
<i>Scytonema</i> sp. IAM M-262	92.7	92.9	92.0	91.4	91.6	91.1	95.5	97.5	
<i>Brasilonema bromeliae</i> SPC951	99.3	96.1	94.6	93.7	94.3	93.4	92.8	92.3	92.3

Obr. 3 – Podobnost sekvence genu 16S rRNA kmenů *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA 114 s příbuznými kmeny sinic rodu *Symphyonemopsis*, *Mastigocladopsis*, *Symphyonema* a *Scytonema*, hodnoty jsou vyjádřeny v % (Fiore *et al.* 2007).



Obr. 4 – Fylogenetický strom založený na sekvencích genu *pcpA-IGS* pro fykocyanin pomocí metody NJ znázorňuje vztahy mezi kmeny *Brasilonema bromeliae* SPC951 a *Brasilonema* sp. CENA114 a příbuznými sinicemi a *Gloeobacter violaceus* PCC7421 jako zástupce méně příbuzné sinice. Poblíž uzlů fylogenetického stromu jsou uvedeny hodnoty bootstrapu vyšší než 50 % podle metod NJ a MP (Fiore *et al.* 2007).

2.3.2. Charakteristika rodu *Brasilonema*

2.3.2.1. Zařazení taxonu

- Kmen: Cyanobacteria
- Třída: Cyanophyceae
- Řád: Nostocales
- Čeleď: Scytonemataceae
- Rod: *Brasilonema*

(algaebase 2021).

2.3.2.2. Morfologie taxonu

Brasilonema je rod vláknité sinice, která roste na pevných (hlavně subaerofytických) substrátech. Někdy může vytvářet makroskopické sametově vypadající nárosty různého zbarvení, obvykle jsou tmavě zelené, fialové či tmavě hnědé. Tyto nárosty bývají složeny z hustě paralelně uspořádaných většinou vztyčených svazků vláken (Fiore *et al.* 2007).

Vláknina jsou cylindrická, dlouhá, přibližně 7-30 μm široká. Méně často se vlákna mohou nepravě větvit (Fiore *et al.* 2007). Nepravé větvení znamená, že se vlákno vychýlí ze svého původního směru po překonání nějaké překážky, vlákna jsou spojena jen slizovou pochvou, ale ne fyziologicky, na rozdíl od pravého větvení (Kalina *et Váňa* 2010). Toto nepravé větvení může být dvojité, které je typické pro čeleď Scytonemataceae, které vzniká stočením trichomu a jeho přerušением mezi dvěma vegetativními buňkami. Výsledkem jsou dvě paralelní větve (Komárek *et Anagnostidis* 1989, Korelusová 2008). Druhým typem může být nepravé větvení jednoduché, které také vzniká mezi dvěma vegetativními buňkami, ale bez typického stočení trichomu, takže výsledkem je pouze jedna větev. Tento druhý typ větvení je podle Fiore *et al.* (2007) označován jako „větvení typu *Tolypothrix*“. Podle Komárka *et Anagnostidis* (1989) je větvení typu *Tolypothrix* vytvořeno přerušением trichomu mezi vegetativní buňkou a heterocytem. Podle Becerra-Absalón (2013) by se označení „větvení typu *Tolypothrix*“ u rodu *Brasilonema* používat nemělo.

Trichomy bývají obaleny tenkou nebo mírně zesílenou pochvou, často bezbarvou nebo žlutohnědou, někdy mohou být mírně lamelované. Pochva je na koncích zakulacená, obvykle uzavřená, po uvolnění hormogonie otevřená. Mezi pochvou a trichomem a prostor mezi vlákny vyplňuje slizovitá matrix (Fiore *et al.* 2007). Trichomy jsou cylindrické,

většinou nejsou vůbec, nebo jen mírně zaškrčené na buněčných přepážkách a na koncích trichomů obvykle nejsou zúžené. Rod *Brasilonema* je podle Fiore *et al.* (2007) definován jako izopolární. V některých případech však může dočasně dojít ke ztrátě izopolarity a vlákno se může jevit jako heteropolární (Barbosa *et al.* 2021).

Jednotlivé buňky mohou být různě dlouhé. Velmi krátké buňky (až do 1/5 šířky buňky) se objevují v apikálních částech trichomů, meristematických zónách a hormogoniích. Buňky delší než širší se vyskytují ve starších částech trichomů. Apikální buňky jsou morfologicky identické s jinými vegetativními buňkami, jen na vrcholu jsou zaoblené a někdy mohou být opatřené kalyptrou. Rod *Brasilonema* se vyznačuje přítomností heterocytů, které jsou často interkalární, bývají solitérní nebo méně často v párech, diskoidního až cylindrického tvaru, až delší než širší. *Brasilonema* netvoří akinety (Fiore *et al.* 2007). Ve středu buněk v nukleoplazmatické oblasti se nacházejí karboxyzomy. *Brasilonema* se rozmnožuje hormogoniemi. Fragmentace trichomů se může uskutečňovat nekridickými buňkami nebo pomocí speciální bikonkávní lamely mezi rozdělenými buňkami (Fiore *et al.* 2007).

2.3.2.3. Ekologie taxonu

Rod *Brasilonema* se vyskytuje hlavně v tropech a subtropích neotropických oblastí. Tento rod je zřejmě běžný a dobře distribuovaný, ale velice opomíjený (Fiore *et al.* 2007). Dosud je známo, že tento rod se běžně vyskytuje zejména v jihovýchodní Brazílii (Fiore *et al.* 2007, Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011) a v posledních letech přichází údaje o výskytu *Brasilonemy* z USA (Vaccarino *et al.* 2012, Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021). Podle Hauer (2010) a Kaštovský *et al.* (2010) je distribuce rodu *Brasilonema* s největší pravděpodobností pantropická a nové druhy se pravděpodobně vyskytují v dosud neprozkoumaných geografických stanovištích a habitatech.

Brasilonema se od ostatních rodů liší aerofytickým a subaerofytickým výskytem. Různé populace *Brasilonemy* se liší ekologií. Rostou ve fytohelmách, epifyticky na rostlinách a na kůrách stromů, epilíticky na různých kamenných substrátech, na železitých materiálech či na vlhkých stěnách, a to buď jednotlivě či v asociacích (Fiore *et al.* 2007, Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011, Vaccarino *et al.* 2012, Becerra-Absalón *et al.* 2013, Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021).

2.3.3. Druhy rodu *Brasilonema*

V současnosti je vymezeno 15 druhů spadajících do rodu *Brasilonema*. Konkrétní druhy jsou popsány níže a jsou seřazeny chronologicky, dle data publikace v rámci zařazení do tohoto rodu.

2.3.3.1. *Brasilonema bromeliae*

Typový druh *Brasilonema bromeliae* byl objeven a popsán v roce 2007 kolektivem Fiore *et al.* Tento druh se nacházel ve skleníku v botanické zahradě v São Paulu v Brazílii s GPS souřadnicemi: 23.650000° S, 46.616667° W. Zde rostl epifyticky v tzv. fytotelmách uvnitř listové rozety na vnitřní straně listů velkých bromélií (např. druhů *Aechmea ornata*, *A. blanchetiana*, *Vriesea procera*, *Wittrockia superba*, *Nidularium procerum* a rodů *Dickia*, *Neoregelia* a další) a vyskytuje se zde v prostorách až 4 cm širokých těsně nad hladinou vody, ale nebyl objeven na broméliích rostoucích mimo skleníky. Zřídka byl objeven i na dřevěných substrátech, jako například na dřevěných stolech v blízkosti květináčů s broméliemi. Podle mikrohabitatu tohoto druhu byl stanoven název tohoto druhu jako „bromeliae“ (Fiore *et al.* 2007).

Černofialově zbarvená stélka se formuje do plochých, sametově vypadajících zvlněných nárostů složených z hustých svazků vláken, které se zpočátku více či méně plazí po substrátu, a později jsou orientované kolmo k substrátu. Vlákná jsou mírně nepravidelně stočená, cylindrická, jsou 15-17 µm široká, mohou být samostatná a později se spojují do hustých svazků. Vzácně se nepravě větví, a to obvykle pouze v apikálních částech vláken. Toto větvení může být dvojité nebo jednoduché. Pochvy jsou tenké, ale pevné, cylindrické, mírně lamelované, bezbarvé až žlutohnědě zbarvené. Trichomy jsou cylindrické, 14,5-16,8 µm široké, nejsou vůbec, anebo jen mírně zaškrčené na buněčných přepážkách a ke koncům trichomů nejsou zúžené. (Fiore *et al.* 2007, Becerra-Absalón *et al.* 2013).

Jednotlivé buňky jsou izodiametrické, 1,8-16 µm dlouhé, delší buňky se vyskytují ve starších trichomech a naopak velmi krátké buňky se objevují na apexu a v hormogoniích. Terminální buňky jsou morfologicky identické s jinými buňkami, jenom jsou zaoblené a bývají bez kalyptry. Obsah buněk je mírně zrnitý, modrozeleně, olivově zeleně nebo hnědofialově zbarvený. Někdy jsou v buňkách přítomny struktury podobné vakuolám, které bývají seskupeny v řadách sousedních buněk, a to zejména v apikálních částech. Heterocyty jsou interkalární, solitérní, diskoidního nebo cylindrického tvaru, široké 15-16,8 µm a dlouhé 4-19 µm. Rozmnožují se fragmentací trichomů a hormogoniemi, které klíčí symetricky na obou koncích, takže růst je izopolární (Fiore *et al.* 2007).

Podle genové analýzy Barbosa *et al.* (2021; Obr. 11) spadá kmen SPC951 zahrnující druh *B. bromeliae* na základě genové sekvence 16S rRNA s kmenem CENA114 zahrnující druh *B. sennae* a s kmeny BLCC-T43 a BLCC-T64 zahrnující nově popsany druh *B. santannae* do společného sekvenčního klastru s podporou 0,75 pro metodu BS (Bayesian statistics). Na základě fylogenetického stromu Sant'Anna *et al.* (2011) založeném na genové sekvenci 16S rRNA je druh *B. bromeliae* nejbližším příbuzným druhem *B. sennae* s podporou 99 % pro metodu NJ, 96 % pro metodu ML a 0,99 pro metodu BS (Barbosa *et al.* 2021). Tyto dva kmeny spolu sdílí ~ 99,4 % podobnost nukleotidové sekvence genu 16S rRNA (Sant'Anna *et al.* 2011, Barbosa *et al.* 2021) a s druhem *B. santannae* sdílí podobnost ~ 98,5 % genové sekvence 16S rRNA (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).

2.3.3.2. *Brasilonema octagenarum*

Druh *Brasilonema octagenarum* byl objeven a popsán v roce 2008 kolektivem Aguiar *et al.* Tento druh se nacházel v klonální rostlinné školce v obci Timóteo City ve státě Minas Gerais v jihovýchodní Brazílii s GPS souřadnicemi: 19.566667° S, 42.633333° W (Aguiar *et al.* 2008). Druh *B. octagenarum* rostl epifyticky na všech živých i odumřelých nadzemních částech mladých rostlin *Eucalyptus grandis* zahrnující stonek, terminální a axilární pupeny a svrchní i spodní plochy listů. Rostl zde v nárostech obsahujících kromě tohoto druhu ještě další mikroorganismy, například další sinice rodu *Nostoc* a *Oscillatoria* (Aguiar *et al.* 2008). Eukalyptus je rychle rostoucí hospodářsky významná dřevina, široce pěstovaná v Austrálii, Asii, Jižní Americe a částech jižní Evropy a je využívána v papírenském a dřevozpracujícím průmyslu. *B. octagenarum* však může být potenciální hrozbou pro pěstování eukalyptu, protože bylo zaznamenáno, že tento druh poškozují, snižuje růst, vývoj a produktivitu těchto dřevin (Aguiar *et al.* 2008).

Aguiar *et al.* (2008) shromáždili vzorky sinic z rohoží na listech a výhoncích *Eucalyptus grandis* a zkoumali mechanismus infekce *B. octagenarum*. *B. octagenarum* tvoří nárosty na površích listů a interferuje tak s plynovou výměnou ve stomatech snížením podílu asimilovaného oxidu uhličitého a zároveň snižuje množství dopadajícího světla na povrchy listů (Aguiar *et al.* 2008). Výsledkem je snížení poměru chlorofylu a/b v listech, které má podle studie Dai *et al.* (2009) tendenci klesat v reakci na zastínění. Snížený poměr chlorofylu a/b v listech se projevuje světlejšími zelenými plochami na listech (Alvarenga *et al.* 2020). Tato počáteční stádia poškození listů mohou vést k dalším vážným důsledkům pro rostlinu v případě dlouhodobé expozice. Pro rostliny, které jsou delší dobu vystavené nepříznivým podmínkám, extenzivní kolonizace sinic může hrát roli jako stresový faktor

a výsledkem může být vnitřní poškození buněk a nekróza (Aguiar *et al.* 2008, Alvarenga *et al.* 2020).

Světelnou a elektronovou mikroskopií listu eukalyptu bylo zjištěno, že vlákna *B. octagenarum* pronikají až do listového mezofylu. Dochází k prasknutí vrstvy epidermálních buněk, poté poškození buněk mezofylu i sekrečních dutin (Aguiar *et al.* 2008). V přechodové oblasti mezi nekrotickými a nepoškozenými pletivy se vytvoří zajizvené pletivo zvané peridermis, složené z dlouhých buněk se suberizovanými stěnami. Vzniká jako výsledek buněčného dělení buněk mezofylu v nekrotických pletivech. Přilehlé korové buňky zajizveného pletiva vykazují hypertrofii a hyperplazii vedoucí k rozšíření nekrotických oblastí a modrozelený obsah buňky je výsledkem fenolických sloučenin produkovaných v reakci na stres. Podobné příznaky byly pozorovány i na abaxiální straně (Aguiar *et al.* 2008).

Na rozkladu epidermis a kutikuly listů se mohou podílet sekundární metabolity či toxiny produkované sinicemi, mechanismus infekce sinice do listového pletiva však nebyl jednoznačně vysvětlen (Aguiar *et al.* 2008). Původně se předpokládalo, že *B. octagenarum* získala schopnost infekce horizontálním přenosem genů z fytopatogenních organismů, protože podobné poškození listů nebylo dříve pozorováno u interakcí sinice – rostlina (Alvarenga *et al.* 2020). Sekvence podobné známým faktorům virulence z fytopatogenů byly nalezeny v genomu *B. octagenarum* UFV-E1 izolované z listů *Eucalyptus grandis* a v genomu *B. octagenarum* UFV-OR1 izolované z listů orchidejí, které podle dosud známých studií hostitele nepoškozují, a i v jiných druzích rodu *Brasilonema* (Alvarenga *et al.* 2020). Žádná z těchto sekvencí však nebyla nalezena v horizontálně přenesených oblastech, což naznačuje, že horizontální přenos nehrál významnou roli při vzniku schopnosti poškozování listů rodem *Brasilonema*. Pokud tyto proteiny působí jako faktory virulence, může poškození listů tímto druhem být buď omezeno v hostitelském areálu, nebo může být vyvoláno složitějším a neobvyklým souborem faktorů, čímž je tento jev vzácný, a proto není běžně pozorován. Přesto je nepravděpodobné, že by tyto sinice mohly být schopny využití těchto virulenčních faktorů u rostlinných hostitelů vzhledem k tomu, že sinici chybí hlavní nosič infekce, který se u fytopatogenních bakterií vyskytuje. A navíc jejich genomy neobsahují strukturální proteiny nezbytné pro napadení cytoplazmy hostitele (Alvarenga *et al.* 2020).

Brasilonema octagenarum se tedy od ostatních druhů sinic liší zejména schopností způsobovat poškození listů na hostiteli, tato interakce dosud nebyla u jiných sinic pozorována (Alvarenga *et al.* 2020). Poškození je do značné míry způsobeno nepřímým

důsledkem růstu nárostů sinic, je tedy možné, že i další epifylické sinice, které nemusí produkovat žádné potenciální faktory virulence, mohou také způsobovat podobná poškození, pokud specifické podmínky prostředí umožní, aby jejich biomasa dosáhla významného rozměru (Alvarenga *et al.* 2020).

Druh *B. octagenarum* byl nalezen i na orchidejích, ale poškození na těchto rostlinách není doloženo. Dále roste i na dřevěných substrátech, betonových substrátech, stěnách, květináčích či dalších pěstovacích nádobách, na potrubí zavlažovacího systému, v podobě malých skvrnek i na zemském povrchu zahrnující vnitřní prostory skleníku i prostory mimo skleníky (Aguiar *et al.* 2008, Alvarenga *et al.* 2020, Romanenko *et al.* 2020, Barbosa *et al.* 2021). Tento druh byl dále kromě Brazílie nalezen i v rostlinných školkách na Floridě a v tropickém skleníku na Ukrajině, kam se patrně dostal s tropickými rostlinami přivezenými ukrajinskými botaniky z expedice v Brazílii v roce 1986. Jedná se o prvního zástupce, který byl objeven v evropském skleníku (Romanenko *et al.* 2020, Barbosa *et al.* 2021). Tento druh je pojmenován k příležitosti 80. výročí vysoké školy v Brazílii University of the Fraser of Valley (UFV, Aguiar *et al.* 2008).

Žlutohnědě až černozeleň zbarvené stélky se formují do makroskopických nárostů, složených z hustých, nepravidelných svazků vláken, které se plazí po substrátu (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011). Vláknina jsou široká 9,8-18,5 μm , cylindrická, izopolární, nepravidelně stočená. Dle Aguiar *et al.* (2008) se může velmi vzácně nepravě dvojité nebo jednoduše větvit. Pochva je tenká, ale pevná, cylindrická, někdy může být mírně lamelovaná, bezbarvá. Trichomy jsou cylindrické, široké 9,5-18,4 μm , mohou být mírně zaškrbené na buněčných přepážkách a nezužují se směrem ke koncům trichomů (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011, Barbosa *et al.* 2021).

Buňky jsou izodiametrické, dlouhé 1,5-13,3 μm . Obsah buněk je granulovaný, olivově zeleně nebo hnědofialově zbarvený. Apikální buňky jsou zaoblené s kalyptrou. V buňkách apikálních a diferenciačních částí jsou někdy přítomné struktury podobné vakuolám, které se vyskytují v řadách sousedních buněk. Tento druh může také tvořit heterocyty terminální či interkalární, solitérní, diskoidního až cylindrického tvaru. Jsou 10-17 μm široké a 5,4-15,6 μm dlouhé (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011). Rozmnožuje se hormogoniemi, které jsou široké 4,8-12,6 μm , s krátkými granulovanými buňkami. Nepohyblivé hormocysty jsou izodiametrické, s tlustou stěnou, 6,1-10,6 μm široké a 6,5-10,2 μm dlouhé (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011).

Podle posledních molekulárních analýz Barbosa *et al.* (2021; Obr. 11), založených na základě genové sekvence 16S rRNA spadá druh *B. octagenarum* do dobře podporovaného

sekvenčního klastru s podporou 0,99 pro BS analýzu s druhy *B. geniculatum*, *B. roberti-lamyi*, *B. lichenoides* a nově popsáným druhem *B. fioreae*. S těmito všemi druhy sdílí *B. octagenarum* na základě genových sekvencí 16S rRNA kmenů BLCC-T71 a BLCC-T74 podobnost ~ 98 % (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12). Dosud izolované kmeny náležící k druhu *B. octagenarum* patří do sekvenčního klastru s podporou 0,96 pro BS analýzu. Kmen UFV-E1 izolovaný z dřeviny *Eucalyptus grandis* a kmen UFV-OR1 izolovaný z listů orchidejí spolu sdílí 99,9 % podobnost nukleotidové sekvence genu 16S rRNA (Aguiar *et al.* 2008). Oba kmeny izolované na Floridě BLCC-T71 a BLCC-T74 sdílí navzájem podobnost genové sekvence 16S rRNA 99,8 % (Barbosa *et al.* 2021).

2.3.3.3. *Brasilonema sennae*

Druh *Brasilonema sennae* byl objeven a popsán jako *Camptylonemopsis sennae* v roce 2003 Komárkem. *Camptylonemopsis* je heterocytózní rod podobný rodu *Brasilonema*, s nímž sdílí podobnost ve fascikulaci vláken a vzácném nepravém větvení. Nicméně rod *Camptylonemopsis* má kratší vlákna, střední část vláken se morfologicky liší od terminálních vztyčených konců. U typového druhu *C. lahorensis* byly popsány akinety, které se u rodu *Brasilonema* nevyskytují. Molekulární analýzy však prokázaly blízký vztah *Camptylonemopsis sennae* k rodu *Brasilonema*, a tak byl tento morfotyp reklasifikován a přejmenován na druh *Brasilonema sennae* (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011).

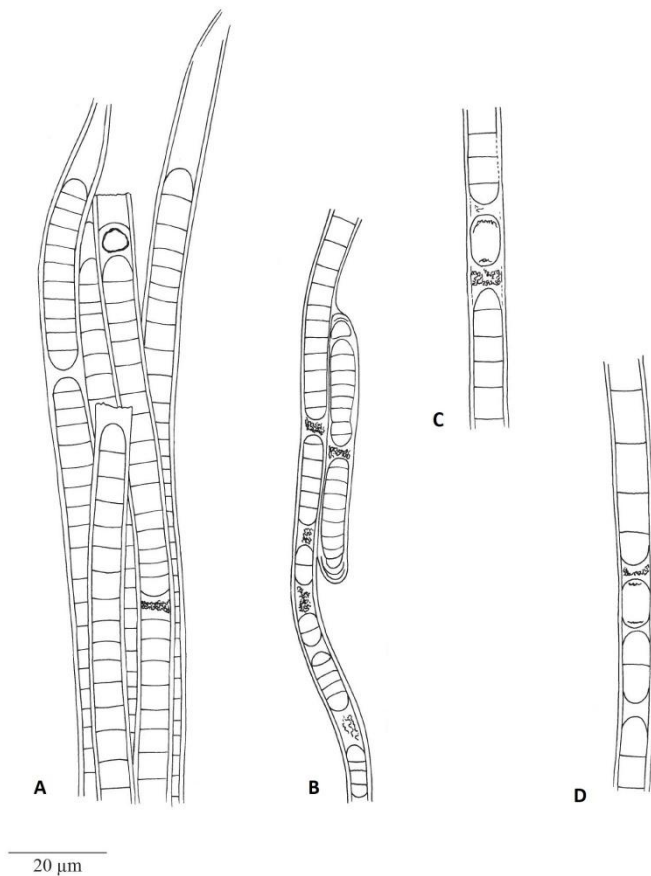
Druh *B. sennae* byl izolován z okolí Paranapiacaba ve státě São Paulo v Brazílii s GPS souřadnicemi: 23.766667° S; 46.300000° W. Zde rostl subaerofyticky poblíž pramenů na mokřích kamenech, železitých substrátech a epifyticky na kůře stromů v Atlantickém lese (Fiore *et al.* 2007, Sant'Anna *et al.* 2011).

Nahnědlé či černo zelené makroskopické stélky se formují do zvlněných nárostů z paralelně uspořádaných svazků vztyčených vláken. Vlákna jsou široká 10-20 μm, jsou mírně zvlněná či stočená, vzácně se nepravě dvojité nebo jednoduše větví. Pochva je tenká, ale pevná, později silná. Mladé pochvy jsou bezbarvé, zatímco starší pochvy jsou žlutohnědé a mohou být lamelované. Trichomy jsou široké 6-12,5 μm, nejsou zaškrbené na buněčných přepážkách a ke koncům trichomů nejsou zúžené (Sant'Anna *et al.* 2011, Obr. 5).

Buňky jsou cylindrické, s proměnnou délkou. Zejména v mladých trichomech a v hormogoniích jsou dlouhé minimálně 2,2 μm, zatímco ve starých trichomech jsou až o 1,6 μm delší než širší. Obsah buněk je modrozeleně nebo olivově zeleně zbarvený. Tento

druh tvoří také heterocyty, které jsou solitérní, cylindrické, 10,2-11,2 μm široké a 6,8-15,4 μm dlouhé (Sant'Anna *et al.* 2011).

Podle genové analýzy Barbosa *et al.* (2021; Obr. 11) spadá kmen CENA114 zahrnující druh *B. sennae* na základě genové sekvence 16S rRNA s kmenem SPC951 zahrnující druh *B. bromeliae* a s kmeny BLCC-T43 a BLCC-T64 zahrnující druh *B. santannae* do společného sekvenčního klastru s podporou 0,75 pro BS analýzu. Na základě fylogenetického stromu Sant'Anna *et al.* (2011) založeném na genové sekvenci 16S rRNA je druh *B. sennae* nejbližším příbuzným druhem *B. bromeliae* s podporou 99 % pro NJ metodu, 96 % pro ML metodu (maximum likelihood) a 0,99 pro BS analýzu (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12). Tyto dva kmeny spolu sdílí ~ 99,4 % podobnost nukleotidové sekvence genu 16S rRNA (Sant'Anna *et al.* 2011, Barbosa *et al.* 2021 a s druhem *B. santannae* sdílí podobnost ~ 99 % genové sekvence 16S rRNA (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).



Obr. 5 – *Brasilonema sennae*: (A) stélka z hustých svazků vláken, (B) trichomy s hormogoniemi (C-D) detail vlákna s heterocyty (upraveno podle: Sant'Anna *et al.* 2011).

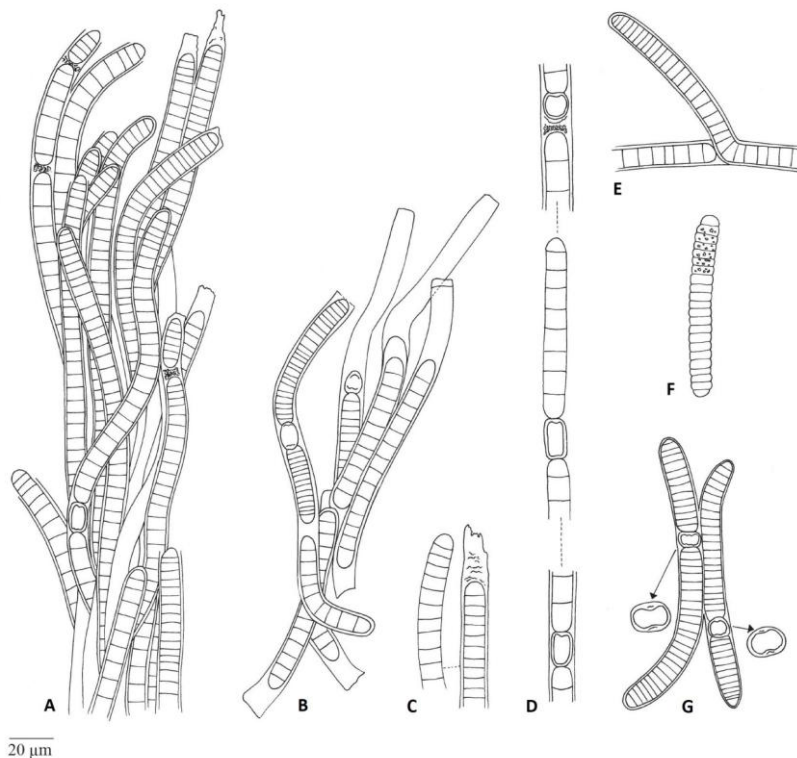
2.3.3.4. *Brasilonema epidendron*

Druh *Brasilonema epidendron* byl objeven a popsán v roce 2011 kolektivem Sant'Anna *et al.* během studia biodiverzity ve státě São Paulo v jihovýchodní Brazílii. Tento druh se nacházel v deštném Atlantickém lese v ekologickém parku a oblasti zachovalé přírody Juréia-Itatins a ve vesnici Paranapiacaba ve státě São Paulo v Brazílii, kde rostl epifyticky na starých dřevěných substrátech (Sant'Anna *et al.* 2011).

Tmavě zeleně až černě zbarvená stélka je tvořená z paralelně uspořádaných svazků nepravidelně vztyčených vláken, vysoké až 3 mm. Vlákná jsou (7)10,9-12(14) μm široká a mohou se velmi vzácně nepravě větvit. Pochva je tenká, ale pevná, bez lamelování a je bezbarvá. Trichomy jsou cylindrické, (5,5)8,2-10(11) μm široké, na buněčných přepážkách nejsou zaškrbené a směrem k apikálnímu částem trichomů nejsou zúžené (Sant'Anna *et al.* 2011, Becerra-Absalón *et al.* 2013, Villanueva *et al.* 2019; Obr. 6).

Buňky jsou izodiametrické, cylindrické. V apikálních částech trichomů a v hormogoniích jsou buňky velmi krátké. Obsah buňky je jasně modrozeleně zbarvený. Heterocyty jsou solitérní, cylindrického až sudovitého tvaru, 7-9 μm široké a (7)8-10(11,5) μm dlouhé. Rozmnožuje se hormogoniemi, které jsou granulované a mírně zaškrbené na buněčných přepážkách (Sant'Anna *et al.* 2011).

Tento druh je vymezen pouze na základě morfologických charakteristik a molekulární analýza na tomto druhu dosud nebyla zpracována.



Obr. 6 – *Brasilonema epidendron*: (A-B) makroskopická ze svazků vláken, (C) apikální části vláknů a trichomu, (D) části trichomů s heterocyty, (E) nepravé jednoduché větvení, (F) hormogonie, (G) detail hormogonie s interkalárními heterocyty (upraveno podle: Sant'Anna *et al.* 2011).

2.3.3.5. *Brasilonema ornatum*

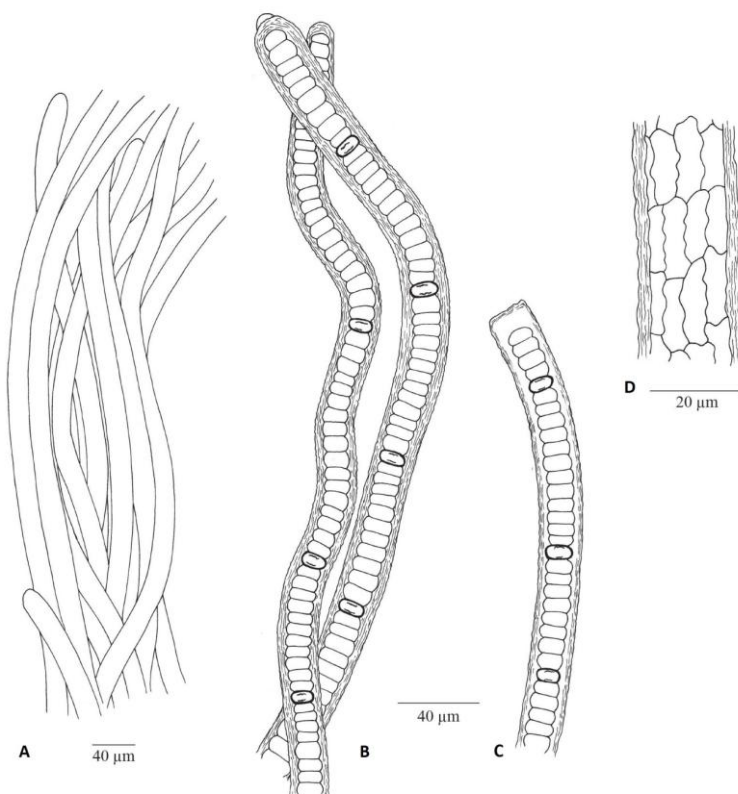
Druh *Brasilonema ornatum* byl objeven a popsán v roce 2011 kolektivem Sant'Anna *et al.* během studia biodiverzity ve státě São Paulo v jihovýchodní Brazílii. Tento druh se nacházel v humidním lese v obci Campos do Jordão ve státě São Paulo v Brazílii s GPS souřadnicemi: 22.755275° S, 45.590275° W, kde rostl epifyticky na kůrách starších stromů mezi mechorosty a lišejníky (Sant'Anna *et al.* 2011).

Šedivě-zelená makroskopická stélka tvoří nepravidelné jemné nárosty tvořené z poléhavých svazků vláken. Vláknů jsou široká 20-23 μm a velmi vzácně se mohou nepravě větvit. Pochvy jsou silné, lamelované, bezbarvé a na povrchu s pravidelnou ornamentací, která je odlišovacím znakem druhu, a podle tohoto znaku byl tento druh také popsán (Sant'Anna *et al.* 2011). Tento znak je zároveň unikátní mezi sinicemi. Poprvé byl popsán v atypické populaci druhu *Scytonema stuposum* (Sant'Anna *et al.* 1983) z mangrovových porostů ve státě São Paulo. Autoři zde zmínili, že by ornamentace mohla

být výsledkem zvláštního typu lichenizace (Sant'Anna *et al.* 1983). Žádné hyfy však v populaci *Brasilonema ornatum* pozorovány nebyly, a tak je původ ornamentace pochvy stále nejasný. Trichomy jsou cylindrické, 17-18 μm široké, jsou zřetelně zaškrbené na buněčných přepážkách a v apikálních částech nejsou zúžené (Sant'Anna *et al.* 2011; Obr. 7).

Buňky jsou krátké, diskoidního tvaru. Jsou tmavě modrozeleně zbarvené. Heterocyty jsou také diskoidního tvaru, jsou 3-6 μm široké a 17-18 μm dlouhé, (Sant'Anna *et al.* 2011, Villanueva *et al.* 2019).

Tento druh je vymezen pouze na základě morfologických charakteristik a molekulární analýza na tomto druhu dosud nebyla zpracována.



Obr. 7 – *Brasilonema ornatum*: (A) stélka z hustých svazků vláken, (B-C) detail vláken, (D) detail povrchu pochvy (upraveno podle: Sant'Anna *et al.* 2011).

2.3.3.6. *Brasilonema terrestre*

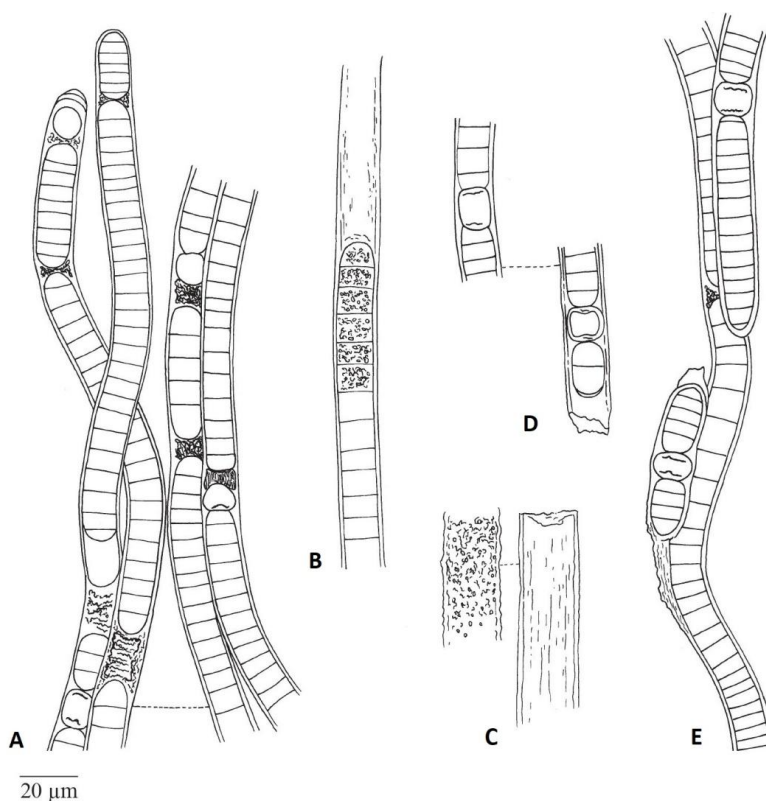
Druh *Brasilonema terrestre* byl objeven a popsán v roce 2011 kolektivem Sant'Anna *et al.* Tento druh byl objeven na ostrově Cardoso a ve vesnici Águas de São Pedro ve státě

São Paulo v Brazílii, kde roste subaerofyticky na betonu nebo epiliticky na příležitostně vlhkých kamenných substrátech (Sant'Anna *et al.* 2011, Becerra-Absalón *et al.* 2013).

Špinavě zeleně zbarvená makroskopická stélka tvoří rohože složené z nepravidelných vztyčených svazků vláken. Vlákná jsou 12-17 μm široká. Pochva je tenká, ale pevná, žlutohnědě zbarvená až bezbarvá, bez lamelace, ale je mírně strukturovaná na povrchu, a to buď v podobě granulace, nebo jemného linkování. Trichomy jsou 9-15 μm široké, nejsou zaškrbené na buněčných přepážkách a směrem k apikální části trichomů nejsou zúžené (Sant'Anna *et al.* 2011; Obr. 8).

Buňky jsou izodiametrické, ke koncům trichomů jsou kratší dokonce až na 1/3 šířky buňky. Obsah buněk je šedo-zeleně nebo špinavě modrozeleně zbarvený. Heterocyty jsou cylindrického až sudovitého tvaru, 13-14 μm široké a 6-17 μm dlouhé (Sant'Anna *et al.* 2011).

Podle analýzy Barbosa *et al.* (2021; Obr. 12) sdílí největší podobnost genu 16S rRNA s druhem *B. angustatum* (98,15 %).



Obr. 8 – *Brasilonema terrestre*: (A) stélka ze svazků vláken, (B) apikální část vlákna, (C) schéma morfologie a struktury pochvy, (D) části trichomů s heterocyty, (E) nepravé větvení (upraveno podle: Sant'Anna *et al.* 2011).

2.3.3.7. *Brasilonema roberti-lamyi*

Druh *Brasilonema roberti-lamyi* byl objeven a popsán jako *Tolypothrix roberti-lamyi* v roce 1952 Bourrellym, později byl tento morfortyp reklasifikován a přejmenován na druh *Schmidleinema roberti-lamyi* v roce 1989 Komárkem, protože má podobné počáteční fáze životního cyklu jako rod *Schmidleinema*, ale odlišnosti jsou ve fascikulaci vláken, absenci pravého větvení a velmi vzácného nepravého jednoduchého větvení. Později byl tento morfortyp znovu reklasifikován a přejmenován na druh *Brasilonema roberti-lamyi*, a to pouze na základě morfologických charakteristik (Sant'Anna *et al.* 2011). Až v roce 2014 byla provedena molekulární analýza na izolovaném kmenu, který měl podobnou morfologickou a ekologickou charakteristiku s tímto druhem. Za použití polyfázické metody se potvrdilo, že tento morfortyp skutečně náleží k rodu *Brasilonema* (Rodarte *et al.* 2014).

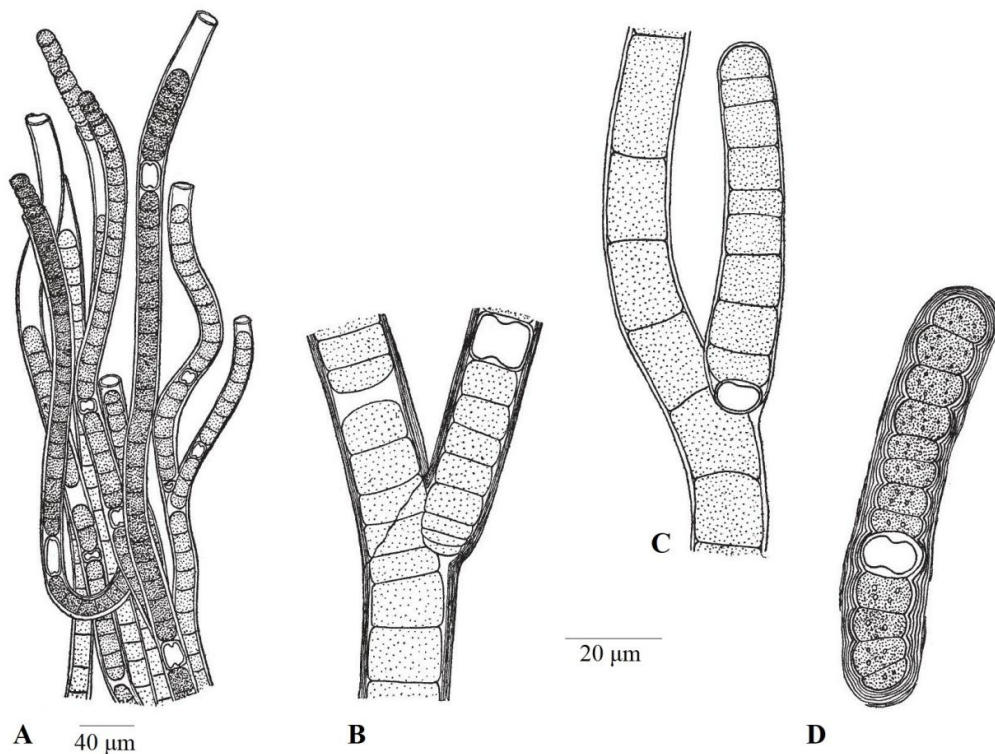
Jedná se o druh, který byl původně izolován z Guadeloupe z Francouzských Malých Antil (Sant'Anna *et al.* 2011). Později byl tento druh objeven na lokalitě Los Manantiales ve státě Morelos ve středním Mexiku. Zde rostl aerofyticky na kamenech a stěnách. Z této populace byl izolován kmen, na kterém byla provedena již zmíněná molekulární analýza (Rodarte *et al.* 2014).

Nahnědlá až načernalá, někdy fialově zbarvená stélka tvoří rozsáhlé, až 3 mm vysoké nárosty složené z paralelně uspořádaných svazků vztyčených vláken. Vlákna jsou 11,5-18 μm široká. Příležitostně se vlákna mohou nepravě jednoduše větvit, a někdy se takto větví z hormogonie. Pochva je tenká, později může být lamelovaná, bezbarvá nebo žlutohnědá. Trichomy jsou cylindrické, 8-11,5 μm široké, jsou izopolární, nejsou zaškrčené na buněčných přepážkách a ke koncům trichomů nejsou zúžené. Mladé trichomy bývají charakteristicky stočeny do tvaru „C“ nebo „J“ (Sant'Anna *et al.* 2011, Rodarte *et al.* 2014; Obr. 9).

Jednotlivé buňky jsou izodiametrické, v meristematických zónách jsou mírně delší než širší. Terminální buňky jsou na koncích zaoblené. Buněčný obsah je fialově zbarvený. Někdy jsou v buňkách přítomny struktury podobné vakuolám. Heterocyty jsou interkalární, 11-13,5 μm široké a 10,5-13 μm dlouhé, cylindrického nebo diskoidního tvaru. Rozmnožuje se hormogoniemi klíčovými z apikálních částí vláken pomocí nekridických buněk asymetrickým růstem v časných stádiích hormogonie (Sant'Anna *et al.* 2011, Rodarte *et al.* 2014).

Podle posledních molekulárních analýz založených na základě genové sekvence 16S rRNA spadá druh *B. roberti-lamyi* do dobře podporovaného sekvenčního klastru s podporou

0,99 pro BS analýzu s druhy *B. octagenarum*, *B. geniculatum*, *B. lichenoides* a *B. fioreae* (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 11). S těmito všemi druhy sdílí *B. roberti-lamyi* na základě genových sekvencí 16S rRNA podobnost ~ 98-99 %. Největší podobnost tohoto genu má s druhem *B. lichenoides* ~ 99,4 % (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).



Obr. 9 – *Brasilonema roberti-lamyi*: (A) stélka ze svazků vláken, (B-C) nepravé větvení jednoduché a z hormogonie, (D) hormogonie (upraveno podle: Sant’Anna *et al.* 2011).

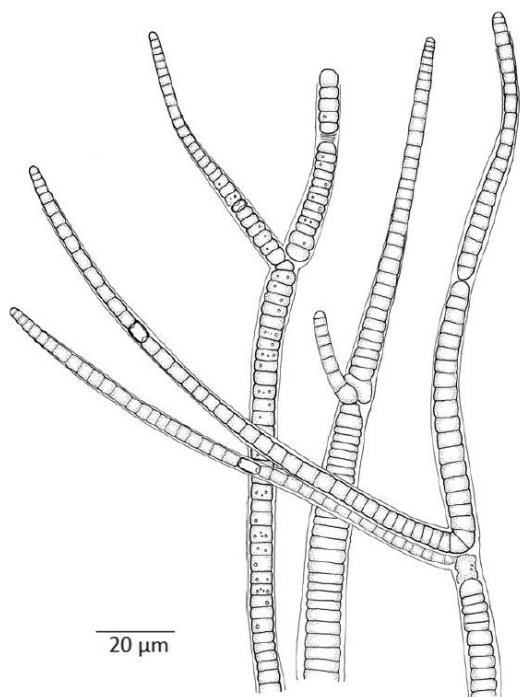
2.3.3.8. *Brasilonema angustatum*

Druh *Brasilonema angustatum* byl objeven a popsán v roce 2012 autory Vaccarino *et* Johansen. Tento druh se nacházel na stezce Moleka Trail blízko cesty Round Top Drive, v údolí Manoa Valley, přibližně 2 km severně od Univerzity v Manoa, na ostrově Oahu na Hawaii ve státě USA, s GPS souřadnicemi: 21.311000° N; 157.823000° W, v nadmořské výšce 238 m n. m. Tento druh rostl epifyticky na mechové bance rostoucí podél stěny u stezky s krátkým útesem a malým potůčkem (Vaccarino *et* Johansen 2012, Villanueva *et al.* 2019).

Stélky bývají hnědě až fialovošedě zbarvené, formují plstěné nárosty složené z jednoduchých vláken vztyčených od substrátu, které nefascikulují v kultuře, jako jiné druhy rodu *Brasilonema*. Vlákná jsou rovná nebo mírně zakřivená, jsou široká 9,8-17,8 μm , izopolární, která se po rozlomení vlákna mohou jevit jako heteropolární. Vlákná se mohou nepravě větvit, a to buď jednoduchým, nebo dvojitým větvením. Pochvy jsou tenké, ale výrazné, nejsou lamelované a jsou bezbarvé. Trichomy jsou široké 9,8-17 μm (někdy až 5,5 μm). Trichomy jsou většinou zaškrčené na buněčných přepážkách, nebývají zaškrčené na buněčných přepážkách směrem k apikálním vrcholům, ale postupně se směrem k vrcholům výrazně zužují stejně jako ve zrající hormogonii. Přestože mírně zužování bylo pozorováno i u jiných druhů, toto zužování u druhu *B. angustatum* bylo mnohem pozvolnější a výraznější (Vaccharino *et* Johansen 2012; Obr. 10).

Buňky jsou izodiametrické, až kratší než širší, zploštělé či hranaté, dlouhé 3-9 μm . Apikální buňky jsou tupě zaoblené. Obsah buněk je granulovaný, hnědě až fialovošedě zbarvený. Buňky někdy obsahují struktury podobné vakuolám (Vaccharino *et* Johansen 2012). Tento druh běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární, solitérní či v párech, zploštělé či protáhlé. Jsou 10-17 μm široké a 2,8-17,4 μm dlouhé. Rozmnožuje se hormogoniemi, které jsou půlměsíčitého tvaru s tmavě šedými či fialovými nekruidickými buňkami. Hormogonie jsou izopolární v době, kdy se poprvé uvolní od mateřského trichomu, ale mohou být i heteropolární, když se uvolní mezi vytvořeným párem heterocytů, např. v médiu s limitujícím dusíkem (Vaccharino *et* Johansen 2012).

Podle posledních molekulárních analýz založených na základě genové sekvence 16S rRNA spadá kmen HA4187 MV1 zahrnující druh *B. angustatum* do sekvenčního klastru spolu s *B. wenerae*, *B. tolantongensis*, *B. geniculatum*, *B. roberti-lamyi*, *B. lichenoides*, *B. fioreae*, *B. octagenarum* s podporou 0,72 pro BS analýzu (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 11). Se všemi těmito druhy sdílí ~ 97-99 % podobnost sekvence genu 16S rRNA (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).



Obr. 10 – *Brasilonema angustatum*: výrazné zúžení směrem ke koncům trichomů (upraveno podle: Vaccarino *et* Johansen 2012).

2.3.3.9. *Brasilonema tolantongensis*

Druh *Brasilonema tolantongensis* byl objeven a popsán v roce 2013 kolektivem Becerra-Absalón *et al.* Tento druh se vyskytoval v subtropickém Tolantongu v obci Cardonal, ve státě Hidalgo v Mexiku s GPS souřadnicemi: 20.643972° N; 98.992778° W, 1422 m n. m. (Becerra – Absalón *et al.* 2013). Jedná se o údolí s horkými travertinovými prameny s různorodým obsahem minerálů. Habitatem tohoto druhu je subaerofytické prostředí vlhkých vápencových stěn poblíž odtoků vodopádů, kde se teplota pohybuje v rozmezí 30-32 °C, pH je 7,4, konduktivita 984-1011 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a ozáření 45-424,5 $\mu\text{mol}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ (Becerra-Absalón *et al.* 2013). Název „tolantongensis“ pochází od názvu lokality, kde byl tento druh objeven (Becerra-Absalón *et al.* 2013).

První záznam o výskytu druhu *B. tolantongensis* v kontinentální části USA, na Floridě, byl vydán teprve nedávno, kolektivem Barbosa *et al.* (2021). Vědci zkoumali výzkumné a vzdělávací centrum na střední Floridě-UF/IFAS Mid-Florida Research & Education Center. Spolu s dalšími druhy *Brasilonema* (*B. fioreae*, *B. santannae*, *B. wenerae*, *B. octagenarum*) zde *B. tolantongensis* rostla na půdě, stěnách, či květináčích a dalších pěstovacích nádobách ve sklenících a rostlinných školkách (Barbosa *et al.* 2021). Tento

objevený druh na Floridě odpovídal morfologicky i fylogeneticky dříve popsanému rodu podle Becerra-Absalón *et al.* 2013.

Černofialově zbarvené stélky se formují do makroskopických rohoží, složených z hustých svazků vláken, které jsou položeny k substrátu. Podle Barbosa *et al.* (2021) mohou být stélky zbarveny zlatavě až tmavě hnědě. Vlákna jsou široká 17,5-24,5 μm (průměrně 21 μm), cylindrická, izopolární. Vzácně se mohou nepravě větvit. Toto větvení bývá převážně dvojité, ale někdy může být i jednoduché, které v některých případech může vzniknout z hormogonie připojené pochvou a následným klíčením hormogonie jako u druhů *B. sennae* a *B. terrestre*. Pochva je tenká, ale pevná, starší pochvy jsou mírně lamelované, zatímco mladé pochvy lamelované nejsou. Podle Barbosa *et al.* (2021) jsou široké průměrně 5,1 \pm 1,7 μm . Pochvy jsou bezbarvé (Becerra-Absalón *et al.* 2013). Trichomy jsou cylindrické, široké 12,5-20 μm (průměrně 17 μm). Mladé trichomy mohou být zakřivené do tvaru „C“ nebo „J“. Trichomy obvykle nejsou vůbec anebo jsou jen mírně zúžené, stejně široké po celé délce trichomu (Becerra-Absalón *et al.* 2013, Barbosa *et al.* 2021). Druh *B. tolantongensis* se však od jiných druhů rodu *Brasilonema* vyznačuje dočasnou ztrátou izopolarity. Zralé trichomy v době, kdy tvoří hormogonie, se na těchto koncích s hormogoniemi rozšiřují a vykazují asymetrický růst. U druhů *B. octagenarum* a *B. roberti-lamyi* byl také pozorován asymetrický růst, ale pouze v časných stádiích hormogonie, zatímco u druhu *B. tolantongensis* asymetrický růst pokračoval do doby, než se vytvořily mladé trichomy. Vlákno na straně s bazálním heterocytem je rozšířené a naopak na opačné straně od heterocyty je zúžené, takže výsledné vlákno hormogonie je tedy heteropolární. Apikální buňky na obou stranách trichomů jsou naopak obvykle zúžené (Becerra-Absalón *et al.* 2013).

Buňky jsou téměř izodiametrické (Barbosa *et al.* 2021), dlouhé 5,25-18,7 μm (průměrně 11,4 μm). Apikální buňky jsou zaoblené a někdy mohou být kryty kalyptrou. Obsah buněk je granulovaný, a to zejména ve starších buňkách, fialově až hnědě zbarvený. Buňky obsahují struktury podobné vakuolám, které bývají seřazeny v řadách sousedních buněk. Tento druh může také tvořit heterocyty, které byly v přírodních podmínkách méně časté, než v kulturách. Heterocyty jsou interkalární, solitérní, diskoidního až obdélníkového tvaru v trichomech, zatímco v hormogoniích jsou spíše hemisférického tvaru. Jsou 12,48-16,4 μm široké (průměrně 14,85 μm), podle Barbosa *et al.* (2021) až 23,1 μm široké a dlouhé 7,4 – 15,6 μm dlouhé (průměrně 9,6 μm). Rozmnožuje se hormogoniemi, které se začínají formovat asymetrickým růstem trichomu v heteropolární vlákno, takže buňky v hormogoniích jsou širší než trichom, konkrétně 16,2-41,5 μm široké (průměrně 23 μm , Becerra-Absalón *et al.* 2013). Hormogonie vznikají fragmentací trichomů, obvykle pouze

na jednom konci vlákna, prostřednictvím nekridických buněk. Meristemické zóny jsou přítomny v apikálních částech trichomu (Becerra-Absalón *et al.* 2013).

Podle molekulární analýzy založené na genové sekvenci 16S rRNA spadá druh *B. tolantongensis* do klastru s druhy *B. wenerae*, *B. geniculatum*, *B. roberti-lamyi*, *B. lichenoides*, *B. fioreae* a *B. octagenarum* s podporou 0,71 pro BS analýzu (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 11). Podle nejnovějších výzkumů je sesterskou skupinou kmene *B. tolantongensis* druh *B. wenerae* s podporou 1,0 pro BS analýzu, ale procentuální podobnost genu 16S rRNA mezi těmito druhy je nižší než 99,9 % (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).

2.3.3.10. *Brasilonema burkei*

Druh *Brasilonema burkei* byl objeven a popsán v roce 2016 kolektivem Miscoe *et al.* Tento druh se nacházel poblíž jeskyně Maninihola na ostrově Kauai na Havajských ostrovech v USA. Zde rostl na vlhkých skalních stěnách, zvláště hojné byly u vchodu do jeskyně. Název tohoto druhu „burkei“ je pojmenován po půdním mikrobiologovi a molekulárním ekologovi jménem David J. Burke (Miscoe *et al.* 2016).

Kolonie jsou zelenohnědé a na agaru tvoří kulaté chuchvalce. Vlákna jsou široká 3,6-8,9 µm, starší vlákna mohou být na koncích vláken rozšířená a to až na 26,3 µm nebo mohou být uprostřed nepravidelně zvlňená. Vlákna jsou cylindrická, hnědofialově zbarvená a někdy se mohou nepravě větvit a to dvojité. Pochva je tenká a bezbarvá (Miscoe *et al.* 2016).

Jednotlivé buňky jsou cylindrického až diskoidního tvaru, ve zralých vláknech jsou buňky širší, jsou dlouhé 2,0-10,7 µm, v mladých vláknech jsou buňky delší, než je jejich šířka. Apikální buňky jsou na koncích zaoblené. Obsah buněk je fialově-šedě zbarvený. V buňkách se také vyskytují struktury podobné vakuolám. Heterocyty jsou interkalární se dvěma polárními uzlinami, jsou cylindrické, široké 4,6-6,8 µm a dlouhé 6,4-8,2 µm, žlutohnědě zbarvené (Miscoe *et al.* 2016).

2.3.3.11. *Brasilonema lichenoides*

Druh *Brasilonema lichenoides* byl objeven a popsán v roce 2018 kolektivem Villanueva *et al.* Tento druh se nacházel na žulovém hřbitovním náhrobku na hřbitově H. Warren Smith Cemetery v Jackson Beach na Floridě v USA s GPS souřadnicemi: 30.289000° N; 81.407100° W, kde rostl v lišejníkové symbióze. Jedná se vůbec o první druh *Brasilonema*

izolovaný z lišejníkové stélky (Villanueva *et al.* 2018). Podle habitatu izolace tohoto druhu byl stanoven název tohoto druhu jako „lichenoides“ (Villanueva *et al.* 2018).

Tento nový nepopsaný endolitický (rostoucí v kamenných štěrbinách), tripartitní lišejník neobsahuje eukaryotickou řasu, ale dva rozdílné cyanobionty. Podle Villanueva *et al.* (2018) představuje tento lišejník vůbec první instanci tripartity lišejníku se dvěma sinicemi bez eukaryotických řas. Spolu s nově popsanou vláknitou sinicí *B. lichenoides*, zde byla nově popsána i kokální sinice *Chroococcidiopsis lichenoides*. Tento typ lišejníků může představovat neprozkoumaný rezervoár diverzity sinic (Villanueva *et al.* 2018).

V případech, kdy je v lišejníku primárním fotobiontem řasa, je sinice izolovaná do oddělené oblasti stélky zvané cefalodium. V tomto případě nebyly cyanobionty odděleny v cefalodiích, ale byly volně uspořádané ve stélce. Obě sinice jsou navíc potenciálními fixátory a dodavateli dusíku v rámci lišejníkové stélky. To bylo dokázáno tím, že oba druhy byly schopné růst na živném médiu bez přítomnosti dusíku, nelze však stoprocentně určit, zda obě sinice fixují dusík i *in situ* (Villanueva *et al.* 2018).

Sinicová stélka tohoto druhu je součástí lišejníku a v kultuře sestává ze vzájemně protkaných vláken, které příležitostně byly orientovány vzpřímeně od substrátu. Vlákná jsou široká 8-12 μm (Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021), jsou rovná nebo ohnutá, nezužují se typicky, ale vykazují vzácnou heteropolaritu směrem ke konci a nepravě se větví (Villanueva *et al.* 2018). Pochva je tenká, ale pevná, výjimečně může být navrstvená v bazální části poblíž větvení. Je široká až 2,5 μm . Pochvy čerstvých izolátů byly zbarveny hnědooranžově, později byly bezbarvé. Trichomy mohou být klasicky rovné, ohnuté do tvaru „C“ nebo „J“ či dokonce zvlněné uvnitř pochvy a jsou zaškrcené na buněčných přepážkách. (Villanueva *et al.* 2018).

Buňky jsou oproti jiným druhům diskoidního či sudovitého tvaru, nebo mohou být zploštělé. Jsou dlouhé 2-4 μm (Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021). Apikální buňky jsou zaoblené. Obsah buněk je často granulovaný, zeleně až modrozeleně zbarvený s periferní chromatoplazmou a centrální nukleoplazmou. Výjimečné je, že tento druh v buňkách netvoří struktury podobné vakuolám jako všechny ostatní druhy patřící do rodu *Brasilonema*. Tento druh však běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární, tvarem zaoblené, sférické či hemisférické, čímž se odlišuje od jiných druhů, mohou být příležitostně zploštělé (Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021). Podle Villanueva *et al.* (2018) jsou průměrně 8,4 μm široké a 9,7 μm dlouhé. Rozmnožují se hormogoniemi a fragmentací trichomů prostřednictvím nekridických buněk. Meristematické zóny pokud jsou přítomny, jsou obvykle krátké

a v blízkosti apikální nebo bazální části. Při popisu morfologie je však třeba myslet na to, že cyanobionty vykazují fenotypovou variabilitu v lichenizovaném stavu a ve stavu volně žijícím (Villanueva *et al.* 2018).

Fylogenetický strom zrekonstruovaný na základě sekvenování 16S rRNA ukázal nejbližší příbuznost druhu *B. lichenoides* k druhu *B. roberti-lamyi* s podporou 85 % pro ML a 90 % pro MP analýzu, se kterým sdílí podobnost sekvence z 98,5-98,7 % (Villanueva *et al.* 2018).

2.3.3.12. *Brasilonema geniculatum*

Druh *Brasilonema geniculatum* byl objeven a popsán v roce 2019 kolektivem Villanueva *et al.* Tento druh se nacházel na žulovém hřbitovním náhrobku na hřbitově H. Warren Smith Cemetery v Jackson Beach na Floridě v USA s GPS souřadnicemi: 30.289000° N, 81.407100° W, kde rostl v konsorciu s dominancí lišejníků (Villanueva *et al.* 2019). Název „*geniculatum*“ je založen na typu růstové formy tohoto druhu („*geniculatus*“ = zauzlený, pospojovaný, Villanueva *et al.* 2019).

Tyto epilitické komunity na kulturních památkách jsou dlouho známé, ale diverzita těchto organismů stále není dostatečně pochopena. Zajímavým habitatem jsou právě náhrobky, protože jsou všudypřítomné. Kontroverzní je však znečištění kulturních památek, které tyto komunity způsobují. Toto znečištění je celosvětovým problémem, protože má dopad na zachování historických památek (Villanueva *et al.* 2019). Podle de los Ríos *et al.* (2004) sinice mohou vytáhnout ionty ze substrátu, čímž dochází k biomineralizaci a následné deterioraci.

V těchto epilitických komunitách sinice přispívají k fixaci uhlíku a dusíku, pomáhají zadržovat vodu a stabilizovat půdní částice. Druh *B. geniculatum* byl objeven v této epilitické komunitě spolu s dalším dosud neznámým druhem *Calothrix dumus* (Villanueva *et al.* 2019).

B. geniculatum vytváří makroskopické sametově vypadající nárosty, fialověhnědě zbarvené, které jsou složené ze svazků vláken. Vlákna jsou široká 12,1-20,2 µm, jsou rovná nebo ohnutá, mírně se zužují a nepravě se větví. Pochva je výrazná a pevná, výjimečně může být navrstvená v bazální části poblíž větvení. Je široká až 3,5 µm. Pochvy čerstvých izolátů byly zbarveny purpurověhnědě, později byly bezbarvé. Trichomy mohou být rovné, ohnuté, zaškrčené na buněčných přepážkách (Villanueva *et al.* 2019).

Buňky jsou obvykle zploštělé až téměř izodiametrické. Jsou dlouhé 3,2-8,6 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, bez kalyptry. Obsah buněk je často granulovaný, zeleně, modrozeleně nebo hnědě zbarvený s periferní chromatoplazmou a centrální nukleoplazmou. V buňkách jsou často struktury podobné vakuolám. Tento druh běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární a mohou být jednotlivé nebo v párech, čímž se liší od jiných druhů spadající do rodu *Brasilonema*. Heterocyty jsou tvarem hranaté až hemisférické, někdy zploštělé, 16,7-18,2 μm široké a 5,7-10,1 μm dlouhé. Rozmnožují se hormogoniemi a fragmentací trichomů prostřednictvím nekridických buněk. Meristematické zóny pokud jsou přítomny, jsou obvykle krátké a v blízkosti apikální části (Villanueva *et al.* 2019).

Podle poslední molekulární analýzy Barbosa *et al.* (2021; Obr. 11) spadá izolovaný kmen *B. geniculatum* na základě genové sekvence 16S rRNA do vysoce podporovaného klastru s podporou 0,99 pro BS analýzu a s druhy *B. roberti-lamyi*, *B. lichenoides*, *B. fioreae*, *B. octagenarum* a nepopsaným kmenem *Brasilonema* sp. CENA347. Fylogenetický strom zrekonstruovaný podle Villanueva *et al.* (2019) na základě sekvenování 16S rRNA ukázal, že druh *B. geniculatum* spadá do méně podporovaného klastru společně s kmenem *B. roberti-lamyi* a kmenem *Brasilonema* sp. CENA347 izolovaným z listů *Avicennia schaueriana* s podporou 77 % pro ML analýzu a 83 % pro MP analýzu. Podobnost sekvence v tomto klastru byla ~ 99 % (Villanueva *et al.* 2019).

2.3.3.13. *Brasilonema fioreae*

Druh *Brasilonema fioreae* byl objeven a popsán v roce 2021 kolektivem Barbosa *et al.* Tento druh se nacházel ve výzkumném a vzdělávacím centru UF/IFAS Mid-Florida Research & Education Center ve městě Apopka na Floridě v USA s GPS souřadnicemi 28.638556° N; 81.548306° W, kde rostl uvnitř skleníků na stěnách, kamenech i květináčích (Barbosa *et al.* 2021). Název „fioreae“ byl vybrán na počest Dr. Marli de Fátima Fiore za její obětavost a práci na systematice sinic, genetice a bioaktivních sloučenin (Barbosa *et al.* 2021).

Skleníky používané jako školky pro pěstování tropických i zemědělských rostlin jsou ideálním stanovištěm pro rozvoj subaerofytických biofilmů a nárostů sinic (Aguiar *et al.* 2008, Laughinghouse *et al.* 2019, Romanenko *et al.* 2020, Barbosa *et al.* 2021). Jejich vysoká teplota a vysoká vlhkost a relativně stabilní podmínky prostředí poskytují optimální podmínky pro tropické sinice. Výskyt sinic v těchto sklenících lze připsat komerčnímu obchodu s okrasnými rostlinami (Barbosa *et al.* 2021).

Zeleně zbarvené stélky se formují do hustých, paralelně uspořádaných vztyčených svazků vláken. Vlákna jsou široká 15,7-22,9 μm , jsou rovná nebo ohnutá, mírně se zužují, nepravě se dvojité větvi. Pochva je tenká, ale v blízkosti větvení je silnější, široká průměrně 3,2 μm , bezbarvá. Trichomy jsou široké 12,4-20,2 μm , cylindrické, rovné, mírně zaškrčené na buněčných přepážkách. (Barbosa *et al.* 2021).

Buňky jsou téměř izodiametrické, dlouhé 5,1-10,1 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, bez kalyptry. Obsah buněk je granulovaný, světle zeleně až tmavě šedě nebo oranžově zbarvený. Buňky jsou vysoce vakuolizované. Tento druh běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární, hranaté a někdy zploštělé, 12,1-18,3 μm široké a 5,3-11,7 μm dlouhé. Rozmnožují se hormogoniemi, které jsou izopolární, pohyblivé a aerosolizující (Barbosa *et al.* 2021).

Druh *B. fioreae* spadá na základě genové sekvence 16S rRNA do dobře podporovaného sekvenčního klastru s hodnotou 0,99 pro BS analýzu s druhy *B. lichenoides*, *B. roberti-lamyi*, *B. geniculatum* a *B. octagenarum*. *B. fioreae* je sesterskou skupinou nepopsaných kmenů *Brasilonema* sp. KEN MK50, *Brasilonema* sp. CR65A, *Brasilonema* sp. BZ HDL 007 a *Brasilonema* sp. CR64B s vysokou podporou 0,71 pro BS analýzu (Obr. 11). Procentuální podobnost genu 16S rRNA pro všechny čtyři kmeny izolované Barbosa *et al.* (2021; Obr. 12) BLCC-T72, BLCC-T73, BLCC-T83 a BLCC-T86 zahrnující druh *B. fioreae* je ~ 99,0 %. Ale také má podobnost ~ 99,0 % s některými kmeny zahrnující *B. octagenarum* a s druhy *B. lichenoides* a *B. roberti-lamyi* (Barbosa *et al.* 2021).

2.3.3.14. *Brasilonema santannae*

Druh *Brasilonema santannae* byl objeven a popsán v roce 2021 kolektivem Barbosa *et al.* Tento druh se nacházel ve výzkumném a vzdělávacím centru UF/IFAS Mid-Florida Research & Education Center ve městě Apopka na Floridě v USA s GPS souřadnicemi: 28.638556° N; 81.548306° W, kde rostl uvnitř skleníků na stěnách, kamenech i květináčích (Barbosa *et al.* 2021). Druh je pojmenován podle Dr. Celia Leite Sant'Anna za její obětavost a práci na taxonomii a systematice sinic (Barbosa *et al.* 2021).

Zelené až tmavě šedě zbarvené stélky se formují do hustých, paralelně uspořádaných vztyčených svazků vláken. Vlákna jsou široká 19,2-26,1 μm , rovná nebo ohnutá, mírně se zužují a nepravě se dvojité větvi. Pochva je tenká, široká průměrně 4,7 μm . Je bezbarvá až žlutohnědá, často je inkrustovaná. Trichomy jsou cylindrické, široké 13,0-21,4 μm , rovné, mírně zaškrčené na buněčných přepážkách (Barbosa *et al.* 2021).

Buňky jsou téměř izodiametrické, někdy širší než delší. Jsou dlouhé 5,9-13,4 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, s kalyptrou. Obsah buněk je granulovaný, zeleně až červenohnědě zbarvený. Buňky jsou vysoce vakuolizované. Tento druh také běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární, hranaté a někdy protáhlé, 20,3-26,1 μm široké a 12,4-18,2 μm dlouhé. Hormogonie jsou vzácné, nebo nejsou vůbec přítomny. Pokud jsou přítomny, tak jsou izopolární a pohyblivé (Barbosa *et al.* 2021).

B. santannae je nejvíce příbuzná druhům *B. sennae* a *B. bromeliae* s podporou 0,75 pro BS analýzu (Obr. 11). Podobnost s těmito příbuznými kmeny je ~ 98 % (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12). Oba kmeny izolované Barbosa *et al.* (2021) BLCC-T43 a BLCC-T64 zahrnující *B. santannae* spadají do dobře podporovaného klastru s hodnotami 99 % pro ML analýzu a 1,0 pro BS analýzu a procentuální podobnost mezi těmito dvěma kmeny je ~ 99,0 %.

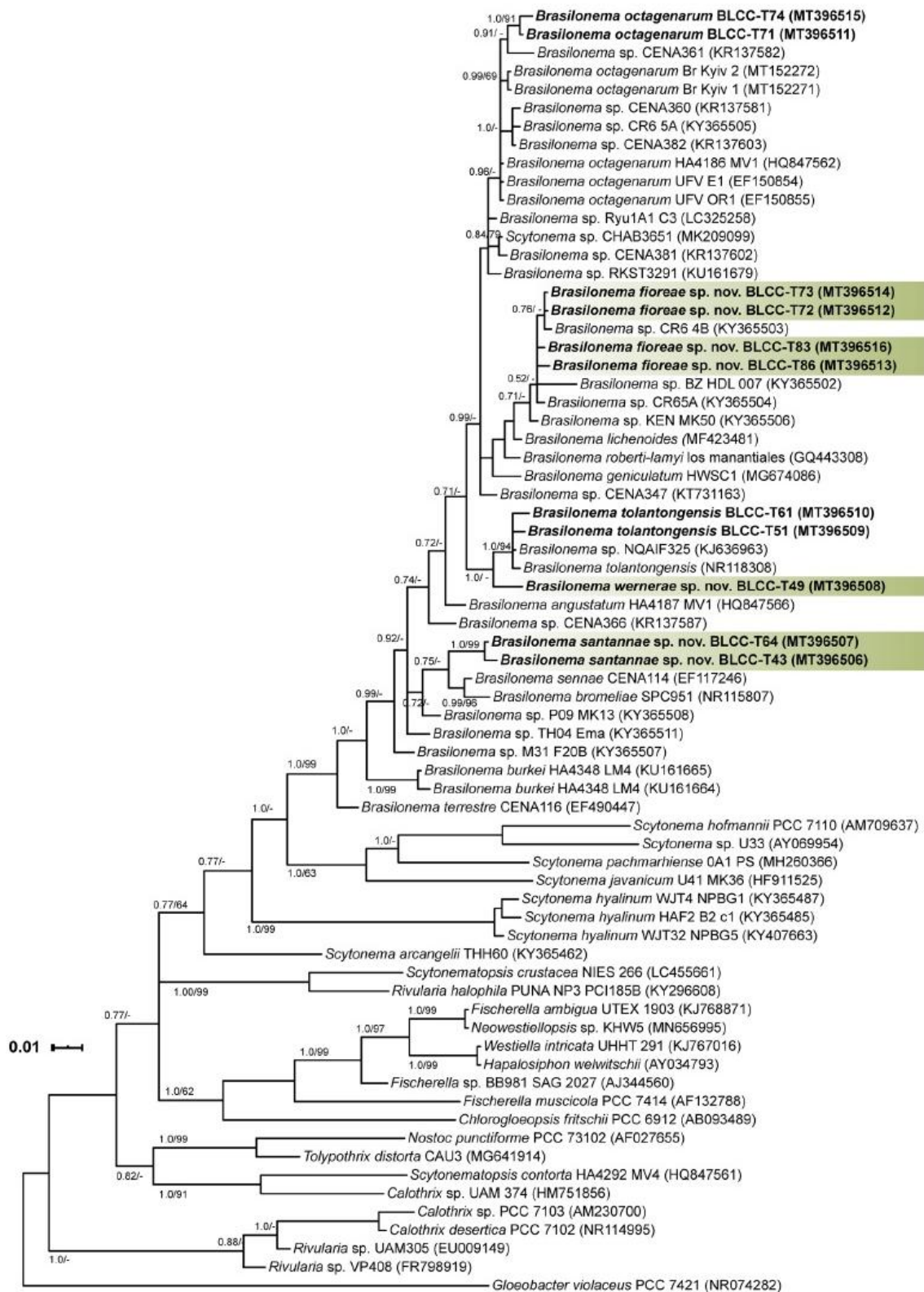
2.3.3.15. *Brasilonema wenerae*

Druh *Brasilonema wenerae* byl objeven a popsán v roce 2021 kolektivem Barbosa *et al.* Tento druh se nacházel ve výzkumném a vzdělávacím centru UF/IFAS Mid-Florida Research & Education Center ve městě Apopka na Floridě v USA s GPS souřadnicemi: 28.638556° N; 81.548306° W, kde rostl uvnitř i mimo skleníky připojený ke stěnám, kamenům i květináčům (Barbosa *et al.* 2021). Název „wenerae“ byl určen k poctě Dr. Vera Regina Werner za práci na studii taxonomie a systematiky sinic (Barbosa *et al.* 2021).

Olivově zeleně zbarvené stélky se formují do hustých, paralelně uspořádaných vztyčených svazků vláken. Vlákná jsou široká 24,1-29,9 μm , rovná nebo ohnutá, mírně se zužují, nepravě se dvojité větvi. Pochva je tenká, příležitostně může být i silnější, široká průměrně 4,5 \pm 1,5 μm , bezbarvá. Trichomy jsou cylindrické, široké 19-26,7 μm , rovné, mírně zaškrbené na buněčných přepážkách (Barbosa *et al.* 2021).

Buňky jsou téměř izodiametrické, někdy širší než delší. Jsou dlouhé 7,6-14,4 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, s kalyptrou. Obsah buněk je granulovaný, světle hnědě a červenohnědě zbarvený. Buňky jsou vysoce vakuolizované. Tento druh také běžně tvoří heterocyty, které jsou interkalární, hranaté a protáhlé, 18,6-26,5 μm široké a 6,3-17,6 μm dlouhé. Rozmnožují se hormogoniemi, které jsou izopolární (Barbosa *et al.* 2021).

B. wenerae je sesterskou skupinou *B. tolantongensis* s vysokou podporou 1,0 pro BS analýzu (Obr. 11), ale procentuální podobnost genu 16S rRNA *B. wenerae* je nižší než 99,0 % s jinými příbuznými taxony (Barbosa *et al.* 2021; Obr. 12).



Obr. 11 – Fylogenetický strom ukazující vzájemný vztah sekvence genu 16S rRNA zahrnující příbuzné sinice a *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 jako zástupce méně příbuzné sinice. Poblíž uzlů fylogenetického stromu jsou uvedeny hodnoty ML metody $\geq 50\%$ a BS metody $\geq 0,5$. Kmeny zahrnující tři nové druhy jsou zvýrazněné (Barbosa *et al.* 2021).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1. <i>Brasilonema fioreae</i> BLCC-T72																								
2. <i>B. fioreae</i> BLCC-T73	100.00																							
3. <i>B. fioreae</i> BLCC-T83	99.81	99.81																						
4. <i>B. fioreae</i> BLCC-T86	99.71	99.71	99.71																					
5. <i>B. santanae</i> BLCC-T43	97.75	97.75	97.95	97.65																				
6. <i>B. santanae</i> BLCC-T64	97.95	97.95	97.95	97.85	99.81																			
7. <i>B. wernerae</i> BLCC-T49	97.75	97.75	97.75	97.65	97.15	97.35																		
8. <i>B. octagenarium</i> BLCC-T71	99.20	99.20	99.10	98.90	97.99	97.99	97.89																	
9. <i>B. octagenarium</i> BLCC-T74	99.03	99.03	98.83	98.74	97.65	97.85	97.95	99.80																
10. <i>B. tolantongensis</i> BLCC-T51	98.15	98.15	98.35	98.05	98.34	98.15	98.45	98.50	98.15															
11. <i>B. tolantongensis</i> BLCC-T61	98.05	98.05	98.05	97.95	97.85	98.05	98.35	98.20	98.05	99.52														
12. <i>B. angustatum</i> HA4187MV1	98.54	98.54	98.54	98.44	97.56	97.75	97.95	98.70	98.54	98.25	98.15													
13. <i>B. bromeliae</i> SPC951	96.95	96.95	96.95	96.85	98.44	98.64	97.06	97.18	97.05	97.76	97.65	97.75												
14. <i>B. geniculatum</i> HWSC1	98.64	98.64	98.64	98.54	97.85	98.05	97.95	98.80	98.74	97.95	97.85	98.35	97.25											
15. <i>B. lichenoides</i> CDV2	99.32	99.32	99.32	99.23	98.05	98.25	97.75	98.90	98.74	98.15	98.05	98.54	97.25	98.93										
16. <i>B. octagenarium</i> HA4186-MV1	99.32	99.32	99.13	99.03	97.95	98.15	98.25	99.70	99.52	98.64	98.54	99.03	97.36	98.93	99.13									
17. <i>B. roberti-lamyi los manantiales</i>	99.13	99.13	99.13	99.03	98.24	98.44	97.75	99.00	98.83	98.15	98.05	98.54	97.45	99.13	99.42	99.13								
18. <i>B. sennae</i> CENA114	97.35	97.35	97.35	97.25	98.83	99.03	97.65	97.58	97.65	98.15	98.05	97.95	99.42	97.75	97.65	97.75	97.84							
19. <i>B. terrestre</i> CENA116	97.35	97.35	97.25	97.15	97.45	97.65	97.45	97.89	97.75	97.75	97.65	98.15	97.84	97.35	97.25	97.85	97.25	97.84						
20. <i>B. tolantongensis tolantongo</i>	98.17	98.17	98.18	98.07	97.97	98.17	98.99	98.33	98.38	99.70	99.60	98.28	97.77	98.48	98.18	98.69	98.17	98.18	97.87					
21. <i>Brasilonema</i> sp. CENA361	98.83	98.83	98.73	98.64	97.55	97.75	98.04	99.30	99.32	98.25	98.14	98.64	96.95	98.64	98.74	99.42	98.73	97.35	97.75	98.28				
22. <i>Mastigocladopsis repens</i> MORA	94.54	94.54	94.30	94.17	94.31	94.54	94.41	95.10	94.66	94.42	94.29	94.54	94.41	94.65	94.30	94.78	94.41	94.53	94.53	94.19				
23. <i>Scytonema hofmanni</i> PCC7110	92.66	92.66	92.67	92.53	93.85	94.10	92.41	92.95	92.80	92.68	92.53	92.55	93.19	92.92	92.66	92.80	92.78	93.46	92.94	92.80	92.67	91.89		
24. <i>Symphyonema</i> sp. 1517	94.68	94.68	94.45	94.33	94.92	95.14	94.11	95.10	94.80	93.67	93.55	94.90	94.91	94.79	94.45	94.91	94.55	95.02	94.91	93.78	94.24	96.64	92.96	
25. <i>Symphyonemopsis</i> sp. VAPOR1	96.70	96.70	96.59	96.48	96.49	96.71	96.04	96.71	96.70	96.16	96.04	96.70	96.59	96.59	96.59	96.59	96.70	96.59	96.81	96.27	96.48	94.18	92.54	94.46

Obr. 12 – Podobnost sekvence genu 16S rRNA jednotlivých druhů rodu *Brasilonema* a příbuzných sinic (Barbosa *et al.* 2021).

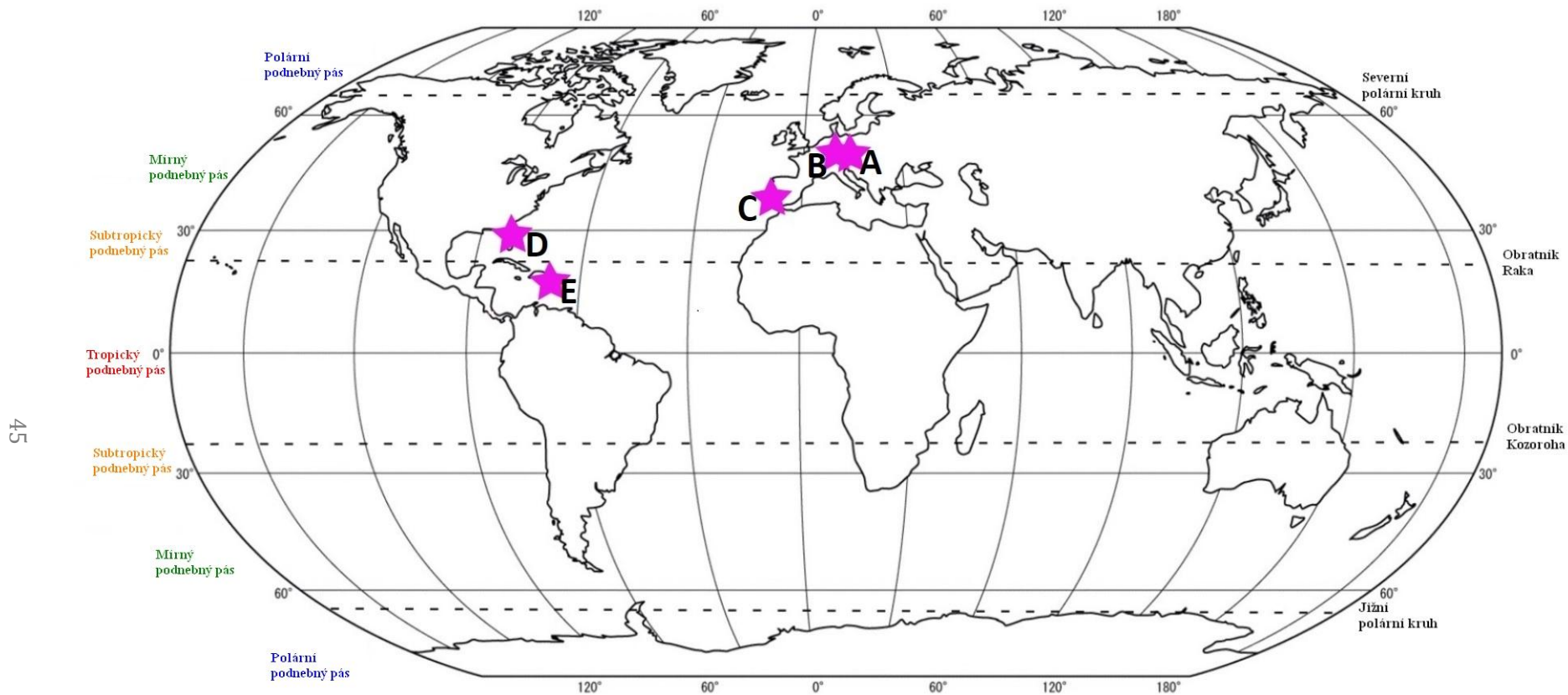
3. Metodika

3.1. Teoretická část

Teoretická část spočívala ve vyhledávání relevantních zdrojů. Část literární rešerše zabývající se charakteristikou rodu *Brasilonema* byla zpracována z odborných článků věnujících se konkrétním druhům uvedených v kapitole 7. Přehled použité literatury. Součástí teoretické práce je i přehledová tabulka porovnávající dosud objevené druhy náležící k rodu *Brasilonema*, která byla zpracována z následujících zdrojů: *B. bromeliae* (Fiore *et al.* 2007, Sant'Anna *et al.* 2011), *B. octagenarum* (Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011), *B. sennae*, *B. epidendron*, *B. ornatum*, *B. terrestre* (Sant'Anna *et al.* 2011), *B. roberti-lamyi* (Sant'Anna *et al.* 2011, Rodarte *et al.* 2014), *B. angustatum* (Vaccarino *et al.* Johansen 2012), *B. tolantongensis* (Becerra-Absalón *et al.* 2013), *B. burkei* (Miscoe *et al.* 2016), *B. lichenoides* (Villanueva *et al.* 2018), *B. geniculatum* (Villanueva *et al.* 2019), *B. fioreae*, *B. santannae* a *B. wernerae* (Barbosa *et al.* 2021).

3.2. Původ kmenů

Pro kultivační pokus bylo vybráno pět nepopsaných kmenů z různých geografických oblastí světa. Lokality připomínající tropické oblasti v České republice: Ostrava – uvnitř betonové chladicí věže tepelné elektrárny v Třebovicích, Praha – aerofyticky v botanickém skleníku Fata Morgana. Subtropická oblast – Portugalsko – Porto, Palacio Cristal, na žulovém žlábků – přítok vody do parkového jezírka. Pomezí tropické a subtropické oblasti – Florida, Big Cypress NP, Kirby Storter Roadside Park, na dřevěném zábradlí. Tropická oblast – Portoriko, El Yunque National Forest, vrchol Yunque, epiliticky na skále (Obr. 13).



Obr. 13 – Mapa původu kmenů použitých v kultivačním pokusu: (A) Kmen *Brailonema* sp. TH05-T14 – Ostrava, chladicí věž Třebovice, (B) Kmen *Brailonema* sp. FM01-MK70 – Praha, tropický skleník Fata Morgana, (C) Kmen *Brailonema* PT5-MK70 – Portugalsko, Porto, (D) Kmen *Brailonema* sp. FL15-MK94 – Florida, (E) Kmen *Brailonema* sp. CT173=P834A – Portoriko.

3.3. Praktická část

3.3.1. Příprava média

Vlastní praktická část sestávala z kultivačního pokusu kmenů z pěti odlišných geografických oblastí. Nejprve byly připraveny misky a zkumavky s agarovým médiem. Pro přípravu agarového média bylo použito univerzální Z médium (Zehnder in Staub 1961), které bylo připraveno smícháním následujících složek uvedených v Tab. 1: odměřeno pipetou 10 ml zásobních roztoků č. 1, č. 3 a č. 5, 500 ml deionisované vody odměřených odměrným válcem a 6 g agarů převedeno do lahve se šroubovacím uzávěrem. Do druhé lahve se šroubovacím uzávěrem bylo odměřeno pipetou 10 ml zásobních roztoků č. 2, č. 4, 0,2 ml roztoku č. 6, 500 ml deionisované vody odměřeno odměrným válcem, 0,08 ml roztoku mikroprvků č. 7 odměřených mikropipetou a 6 g agarů. Obě lahve se šroubovacím uzávěrem byly pečlivě promíchány jejich převrácením.

Obě lahve se šroubovacími uzávěry, čisté zkumavky a čisté Petriho misky byly vysterilizovány v autoklávu. Objemy obou lahví se šroubovacími uzávěry byly poté převedeny do jednoho objemu a tato směs byla důkladně promíchána za vzniku agarového média. Agarové médium bylo poté nalito na Petriho misky a do prázdných zkumavek se šroubovacími uzávěry, které byly před ztuhnutím agarového média zafixovány tak, aby agar vytvořil ve zkumavce šikmou plochu.

Číslo zásobního roztoku	Zásobní roztok	Koncentrace zásobního roztoku		Použité množství
1	NaNO ₃	46,7 g/1000 ml destilované vody		10 ml
2	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	5,9 g/1000 ml destilované vody		10 ml
3	K ₂ HPO ₄	3,1 g/1000 ml destilované vody		10 ml
4	MgSO ₄ ·7H ₂ O	2,5 g/1000 ml destilované vody		10 ml
5	Na ₂ CO ₃	2,1 g/1000 ml destilované vody		10 ml
6	Fe - EDTA	H ₂ O	250 ml	0,2 ml
		35% HCl	2,2 ml	
		Na ₂ EDTA	4,65 g	
		FeCl ₃ ·6H ₂ O	4,5 g	
7	Roztok mikroprvků (Gaffron) do 100 ml destilované vody	H ₃ BO ₃	0,31 g	0,08 ml
		MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,223 g	
		Al ₂ (SO ₄) ₃ ·K ₂ SO ₄ ·24H ₂ O	0,0474 g	
		ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0287 g	
		NiSO ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄ ·6H ₂ O	0,0198 g	
		Cd(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0,0154 g	
		Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,0146 g	
		CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0125 g	
		KBr	0,0119 g	
		(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,0088 g	
		KI	0,0083 g	
		Cr(NO ₃) ₂ ·7H ₂ O	0,0037 g	
		V ₂ O ₄ (SO ₄) ₃ ·16H ₂ O	0,0035 g	
		Na ₂ WO ₃ ·2H ₂ O	0,003 g	

Tab. 1 – Seznam jednotlivých složek použitých v kultivačním Z médiu (upraveno dle: Zehnder in Staub 1961).

3.3.2. Kultivační pokus

Pět kmenů použitých v tomto kultivačním pokusu bylo překultivováno pro dlouhodobější uchování do zkumavek se šikmým agarem a na Petriho misky. Pro každý kmen bylo v pokusu použito celkem devět Petriho misek a na každou Petriho misku byl kmen z důvodu kontroly překultivován třikrát (tj. 3 oddělené kolonie na jedné misce). Všechny Petriho misky byly před zahájením samotných kultivačních pokusů umístěny na 3 týdny do proskleného inkubátoru Q-Cell s teplotou 25 °C, aby se rozrostly. Všechny kolonie v Petriho miskách byly poté zakroužkovány lihovým fixem Centropen tak, aby linie ohraničila obvod celé kolonie. Poté byly všechny Petriho misky rozděleny do inkubátorů, lednic a mrazáků pro dvě testovací roční období, v letních (srpen a září) měsících na jeden týden a v zimních (listopad a prosinec) měsících na tři týdny.

3.3.2.1. Kultivační pokus v letních měsících

Kultivační pokus v letních měsících probíhal v srpnu a září 2020 v jednotlivých popisovaných podmínkách po dobu jednoho týdne. Testovány byly čtyři pokusné teploty a jedna kontrolní. V každé teplotě bylo vždy pět Petriho misek, každá Petriho miska s jiným testovaným kmenem.

Kontrolní kolonie s Petriho miskami byly umístěny v inkubátoru Q-Cell s teplotou 25 °C. Tento inkubátor byl prosklený, a tak zde bylo zajištěno přirozené střídání dne (cca 13 h) a noci (cca 11 h). Intenzita světla zde byla naměřena luxmetrem Volcraft LX 1108 přibližně 100-300 luxů.

Další pět Petriho misek bylo umístěno do inkubátoru Memmert s teplotou 8 °C. Tento inkubátor nebyl prosklený, ale intenzita světla zde byla nastavena na 6 %, aby měla přibližně stejné hodnoty jako za dne v kontrolním inkubátoru. Podmínky pro střídání dne a noci zde nastaveny nebyly. Vlhkost v tomto inkubátoru byla nastavena na 80 %.

Dalších pět Petriho misek bylo umístěno do lednice Lovibond s teplotou 5 °C. Tato lednice nebyla prosklená, ale intenzita světla zde byla nastavena luxmetrem Volcraft LX-1108 na přibližně 290 luxů. Podmínky pro střídání dne a noci zde nastaveny nebyly.

Dalších pět Petriho misek bylo umístěno do mrazáku Liebherr s teplotou -18 °C. Tento mrazák nebyl prosklený ani s osvětlením, pokus probíhal ve tmě.

Dalších pět Petriho misek bylo umístěno do mrazáku Liebherr s teplotou -18 °C na pouhé dvě hodiny a ihned poté byly vráceny do inkubátoru Q-Cell s kontrolní teplotou 25 °C. Mrazák nebyl prosklený, nebyla zde nastavena intenzita osvětlení ani světelné podmínky.

3.3.2.2. Kultivační pokus v zimních měsících

Kultivační pokus v zimních měsících probíhal v listopadu a prosinci 2021 v jednotlivých popisovaných podmínkách po dobu tří týdnů. Testovány byly tři pokusné teploty a jedna kontrolní. V každé teplotě bylo vždy pět Petriho misek, každá Petriho miska s jiným testovaným kmenem.

Kontrolní kolonie s Petriho miskami byly umístěny v inkubátoru Q-Cell s teplotou 25 °C. Tento inkubátor byl prosklený a tak zde bylo zajištěno přirozené střídání dne (cca 8 h) a noci (cca 16 h). Intenzita světla zde byla naměřena luxmetrem R&D MT 30 přibližně 50-250 luxů.

Dalších pět Petriho misek bylo umístěno do lednice Lovibond s teplotou 2 °C. Tato lednice nebyla prosklená, ale světelné podmínky zde byly upraveny tak, aby délka dne, tedy osvětlení trvalo 8 hodin a 16 hodin zde byla tma. Světlo během denních hodin zde bylo nastaveno luxmetrem R&D MT 30 na přibližně 140 luxů.

Dalších pět Petriho misek bylo umístěno do mrazáku Liebherr s teplotou -18 °C. Tento mrazák nebyl prosklený, nebyla zde nastavena intenzita osvětlení a ani zde nebyly nastaveny podmínky pro střídání dne a noci.

Dalších pět Petriho misek bylo střídavě umístováno do mrazáku Liebherr s teplotou -18 °C a do lednice Lovibond s teplotou 2 °C dle Tab. 2. Mrazák Liebherr nebyl prosklený, a ani zde nebyla nastavena intenzita osvětlení. Lednice Lovibond nebyla prosklená, ale světelné podmínky zde byly upraveny tak, aby délka dne, tedy osvětlení trvalo 8 hodin a 16 hodin zde byla tma. Světlo během denních hodin zde bylo nastaveno luxmetrem R&D MT 30 na přibližně 140 luxů.

Dny v dané teplotě	Teplota (°C)
1.-4.	-18
5.-6.	2
7.-8.	-18
9.-11.	2
12.-13.	-18
14.-18.	2
19.-21.	-18

Tab. 2 – Časová osa dní pobytu testovaných kmenů v dané teplotě.

3.3.2.3. Pokračování kultivačního pokusu

Po uplynutí doby v testovacích teplotách byly všechny Petriho misky vyndány z inkubátorů, lednic, mrazáků a vždy jedna kolonie z každé Petriho misky byla pro kvantitativní posouzení překultivována do zkumavky s tekutým Z médiem, které bylo připraveno podle kapitoly 3.3.1. Příprava média, ale bez přidání agaru. Nakonec byly všechny Petriho misky i zkumavky s koloniemi vráceny zpět do inkubátoru s teplotou 25 °C. Po třech a po pěti týdnech v případě letního pokusu a po čtyřech týdnech v případě zimního pokusu od doby jejich návratu do kontrolní teploty byly kolonie v Petriho miskách a zkumavkách zkontrolovány, zda rostou a na základě stavu v tomto okamžiku byla vytvořena tabulka jejich životaschopnosti.

3.3.3. Mikroskopování

Všechny kmeny použité v kultivačním pokusu byly pozorované pomocí mikroskopu Olympus BX51 vybaveným DIC a kamerou Olympus DP71 a dále na nich byla provedena základní morfologická charakteristika. Snímky byly pořizovány pomocí programu Cell[^]D.

4. Výsledky

4.1. Přehledová tabulka objevených druhů rodu *Brasilonema*

Do přehledových tabulek (Tab. 3 pro druhy objevených a zařazených do rodu *Brasilonema* do roku 2011 a Tab. 4 pro druhy objevených a zařazených do rodu *Brasilonema* od roku 2012) byly zazamenány základní charakteristiky dosud objevených druhů rodu *Brasilonema*.

Již dříve objevené a zařazené druhy do rodu *Brasilonema* byly objeveny převážně v Brazílii v Jižní Americe. Až v posledních letech se výzkum rozšířil do Severní Ameriky a nově objevené druhy tedy pochází z Floridy. Z hlediska jejich ekologie, převážně epiliticky, ať už na kamenech, betonu, na stěnách, či květináčích rostou druhy *B. terrestre*, *B. roberti-lamyi*, *B. tolantongensis*, *B. burkei*, *B. lichenoides*, *B. geniculatum*, *B. fioreae*, *B. santannae*, *B. wernerae*. *B. lichenoides* má zajímavou ekologii, jelikož je součástí endolitického tripartitního lišejníku. Pevážně epifytické druhy jsou *B. bromeliae* rostoucí převážně ve fytotelmách bromélií, *B. octagenarum* parazitující na eukalyptu, druhy *B. epidendron* a *B. ornatum* rostou na kůře stromů a *B. angustatum* roste na mechové bance. *B. sennae* může růst jak epiliticky, tak epifytický na kůře stromů.

Většinou stélka *Brasilonemy* tvoří nárosty na substrátu ze svazků vláken. Tyto svazky bývají ve většině případů vztyčené od substrátu, v některých případech jsou tyto svazky vláken poléhavé k substrátu např. u druhů *B. octagenarum*, *B. ornatum*, *B. tolantongensis*, a v ranných fázích vývoje druhu *B. bromeliae*. Výjimečně stélka svazky vláken netvoří a je tvořena pouze jednotlivými vlákny, např. druh *B. angustatum*. Buněčné přepážky zaškrcené být mohou anebo nemusí, výrazná zaškrcenost buněčných přepážek je však pozorována u druhu *B. ornatum*. Konce trichomů většinou nejsou zúžené vůbec, anebo jen mírně. U druhu *B. angustatum* jsou konce trichomů zúžené výrazně. U druhu *B. burkei* jsou konce mladých vláken dokonce rozšířené. U druhu *B. lichenoides* jsou vlákna heteropolární. Pochva může být tenká či silná, v některých případech se může objevit lamelace, např. u *B. bromeliae*, *B. octagenarum*, *B. sennae*, *B. ornatum*, *B. roberti-lamyi* a *B. tolantongensis*. Na povrchu pochvy je u druhů *B. ornatum* a *B. terrestre* vidět nápadná ornamentace.

Heterocyty jsou většinou interkalární, u druhu *B. octagenarum* však byly kromě interkalárních heterocytů pozorovány i heterocyty terminální. Většinou jsou tyto heterocyty solitérní, u druhů *B. angustatum* a *B. geniculatum* mohou být i v párech.

Porovnání část 1	<i>B. bromeliae</i>	<i>B. octagena-rum</i>	<i>B. sennae</i>	<i>B. epidendron</i>	<i>B. ornatum</i>	<i>B. terrestre</i>	<i>B. roberti-lamyi</i>
Rozšíření	Brazílie (São Paulo)	Brazílie (Timóteo), Florida, Ukrajina	Brazílie (Parana-piacaba)	Brazílie (Parana-piacaba)	Brazílie (Campos do Jordão)	Brazílie (Águas de São Pedro)	Fr. Malé Antily Guadeloupe střední Mexiko, Los Manantiales
Ekologie	epifyticky ve fytotelmách bromélií, na dřevěných substrátech ve skleníku	epifyticky na eukalyptu, orchidejích, na půdě, dřevěných a betonových substrátech, stěnách, potrubí	epiliticky na kamenech, železitých substrátech, epifyticky na kůře stromů	epifyticky na dřevě	epifyticky na kůrách stromů mezi mechorosty a lišejníky	epiliticky na kamenech, betonu	epiliticky na kamenech, stěnách
Stélka	černofialová nárosty ze svazků vláken, nejprve plazivé, později vztyčené	žlutohnědá, černozeleň nárosty ze svazků vláken, plazivé po substrátu	nahnědlá, černozeleň nárosty ze svazků vláken, vztyčené	tmavě zelená, černá, svazky vláken vztyčené	šedivě-zelená, nárosty ze svazků vláken, plazivé po substrátu	špinavě zelená, nárosty ze svazků vláken, nepravidelně vztyčené	nahnědlá, načernalá, fialová, nárosty ze svazků vláken, vztyčené
Šířka vlákn (µm)	15-17	9,8-18,5	10,0-20,0	(7)10,9 – 12(14)	20-23	12,0-17,0	11,5-18
Nepravé větvení vlákn	vzácné, dvojité, jednoduché, v apikálních částech vláken	vzácné, dvojité, jednoduché	vzácné, dvojité, jednoduché	vzácné	vzácné		jednoduché někdy z hormogonie
Pochva morfologie	tenká, mírně lamelovaná	tenká, někdy mírně lamelovaná	tenká, později silná, může být lamelovaná	tenká, bez lamelace	silná, lamelovaná	tenká, bez lamelace	tenká, později někdy lamelovaná
Pochva barva	bezbarvá, žlutohnědá	bezbarvá	zprvu bezbarvá, později žlutohnědá	bezbarvá	bezbarvá s pravidelnou ornamentací	bezbarvá, žlutohnědá, mírná strukturace na povrchu	bezbarvá, žlutohnědá
Šířka trichomů (µm)	14,5-16,8	9,5-18,4	6-12,5	(5,5)8,2 – 10 (11)	17-18	9,0-15,0	8-11,5
Zaškrce-nost buněných přepážek	chybí, nebo jen mírně zaškrcené	mírně zaškrcené	chybí	chybí	zřetelně zaškrcené	chybí	chybí
Konce trichomů	nejsou zúžené	nejsou zúžené	nejsou zúžené	nejsou zúžené	nejsou zúžené	nejsou zúžené	nejsou zúžené

Porovnání část 2	<i>B. bromeliae</i>	<i>B. octagena-rum</i>	<i>B. sennae</i>	<i>B. epidendron</i>	<i>B. ornatum</i>	<i>B. terrestre</i>	<i>B. roberti-lamyi</i>
Buňky tvar	izodiametrické, 1,8-16 μ m dlouhé	izodiametrické, 1,5-13,3 μ m dlouhé	cyklindrické, min. 2,2	izodiametrické, cyklindrické	diskoidní	izodiametrické	izodiametrické
Kalyptra	chybí	přítomna					
Barva buněk	modrozelená, olivově zelená, hnědofialová	olivově zelená, hnědofialová	modrozelená, olivově zelená	modrozelená	modrozelená	šedozelená, modrozelená	fialová
Heterocyty pozice	interkalární, solitérní	interkalární /terminální, solitérní	solitérní	solitérní			interkalární
Heterocyty tvar (šířka × délka μm)	diskoidní, cyklindrické, 15-16,8 × 4-19	diskoidní, cyklindrické, 10-17 × 5,4-15,6	cyklindrické, 10,2-11,2 × 6,8-15,4	cyklindrické, sudovité, 7-9 × (7)8-10(11,5)	diskoidní, 3-6 × 17-18	cyklindrické, sudovité, 13-14 × 6-17	cyklindrické, diskoidní, 11-13,5 × 10,5-13
Hormonie	klíčí symetricky, izopolární růst	přítomny		přítomny			klíčí asymetricky

Tab. 3 – Přehled druhů rodu *Brasilonema* objevených a zařazených do tohoto rodu do roku 2011.

Porovnání část 1	<i>B. angustatum</i>	<i>B. tolantongensis</i>	<i>B. burkei</i>	<i>B. lichenoides</i>	<i>B. geniculatum</i>	<i>B. fioreae</i>	<i>B. santannae</i>	<i>B. wernerae</i>
Rozšíření	USA, Hawai (Oahu)	Mexiko (Hidalgo)	USA, Hawai (Kauai)	USA, Florida (Jackson Beach)	USA, Florida (Jackson Beach)	USA, Florida (Apopka)	USA, Florida (Apopka)	USA, Florida (Apopka)
Ekologie	epifytický na mechové bance	epilitický na vápencových stěnách, květináčích	epilitický na skalních stěnách poblíž jeskyně	součástí endolitičského tripartitního lišejníku	epilitický na žulovém náhrobku v konsorciu s lišejníky	epilitický na kamenech, na stěnách, květináčích	epilitický na kamenech, na stěnách, květináčích	epilitický na kamenech, na stěnách, květináčích
Stélka	hnědá, fialově-šedá, nárosty z jednoduchých vláken, vzpřímené	černofialové, nárosty ze svazků vláken, položené k substrátu	zeleno-hnědá, na agaru tvoří chuchvalce	součástí lišejníku	fialově-hnědá, nárosty ze svazků vláken	zelená, ze svazků vláken, vztyčené	zelená, tmavě šedá, ze svazků vláken, vztyčené	olivově zelená, ze svazků vláken, vztyčené
Šířka vlákn (μm)	9,8-17,8	17,5-24,5	3,6-26,3	8,0-12,0	12,1-20,2	15,7-22,9	19,2-26,1	24,1-29,9
Nepřavé větvení vlákn	jednoduché, dvojité	vzácné, dvojité, jednoduché	vzácné, dvojité	přítomné	přítomné	dvojitě	dvojitě	dvojitě
Pochva morfologie	tenké, bez lamelace	tenká, později lamelovaná	tenká	tenká, někdy navrstvená	výrazná, někdy navrstvená	tenká	tenká, inkrustovaná	tenká
Pochva barva	bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá	hnědo-oranžová, bezbarvá	purpurově hnědá, později i bezbarvá	bezbarvá	bezbarvá, žlutohnědá	bezbarvá
Šířka trichomů (μm)	9,8-17	12,5-20				12,4-20,2	13,0-21,4	19-26,7
Zaškrce-nost buněných přepážek	zaškrčené			zaškrčené	mírně zaškrčené	mírně zaškrčené	mírně zaškrčené	mírně zaškrčené
Konce trichomů	výrazné zúžené	nejsou zúžené, někdy heteropolární	zúžené (nezralá vlákna) × rozšířené (zralá vlákna)	heteropolární	mírně zúžené	mírně zúžené	mírně zúžené	mírně zúžené

Porovnání část 2	<i>B. angustatum</i>	<i>B. tolanton-gensis</i>	<i>B. burkei</i>	<i>B. lichenooides</i>	<i>B. geniculatum</i>	<i>B. fioreae</i>	<i>B. santannae</i>	<i>B. wernerae</i>
Buňky tvar	izodiametrické, 3-9 dlouhé	izodiametrické, 5,25-18,7 µm dlouhé	cyklindrické diskoidní,	diskoidní, sudovitě, zploštělé, 2-4 µm dlouhé	izodiametrické, zploštělé, 3,2-8,6 µm dlouhé	izodiametrické, 5,1-10,1 µm dlouhé	izodiametrické, 5,9-13,4 µm dlouhé	izodiametrické, 7,6-14,4 µm dlouhé
Kalyptra		někdy přítomna			chybí	chybí	přítomna	přítomna
Barva buněk	hnědá, fialově-šedá	fialová, hnědá	fialově-šedá	zelená, modrozeleňá	zelená, modrozeleňá, hnědá	světle zelená, tmavě šedá, oranžová	zelená, červeno-hnědá	světle hnědá, červeno-hnědá
Heterocyty pozice	interkalární, solitérní × v párech	interkalární, solitérní	interkalární	interkalární	interkalární, solitérní × v párech	interkalární	interkalární	interkalární
Heterocyty tvar (šířka × délka µm)	zploštělé, protáhlé, 10-17 × 2,8-17,4	diskoidní, obdélníkové, hemisférické, 12,48-23,1 × 7,4-15,6	cyklindrické 4,6-6,8 × 6,4-8,2	zaoblené, sférické, hemisférické, zploštělé, 8,4 × 9,7	hranaté až hemisférické, zploštělé, 16,7-18,2 × 5,7-10,1	hranaté, zploštělé, 12,1-18,3 × 5,3-11,7	hranaté, protáhlé, 20,3-26,1 × 12,4-18,2	hranaté, protáhlé, 18,6-26,5 × 6,3-17,6
Hormonie	přítomny	přítomny		přítomny	přítomny	přítomny	vzácně přítomny	přítomny

Tab. 4 – Přehled druhů rodu *Brasilonema* objevených a zařazených do tohoto rodu od roku 2012.

4.2. Kultivační pokus

4.2.1. Kultivační pokus v letních měsících

Životaschopnost kmenů rodu *Brasilonema*, která byla testována v kultivačním pokusu pro letní měsíce je uvedena v Tab. 5.

V rámci pokusu v letních měsících rostly nejrychleji kmeny, které byly po celou dobu umístěné pouze v kontrolní teplotě 25 °C, kde rostly všechny pozorované kmeny, pomalu, rychle či středně rychle. Kmeny, které byly umístěny nejprve v mrazáku s -18 °C a po dvou hodinách byly umístěny zpět do inkubátoru s kontrolní teplotou 25 °C, rostly přibližně stejně rychle jako kmeny, které byly umístěny po celou dobu pokusu pouze v kontrolní teplotě, až na kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, který rostl pomaleji. Rozdíl v růstu mezi kmeny, které byly testovány na jeden týden ve všech jednotlivých nižších teplotách 8 °C, 5 °C a -18 °C nebyl patrný. Tyto kmeny rostly zprvu pomaleji než kmeny, které byly po celou dobu pouze v kontrolní teplotě a kmeny umístěné v teplotě -18 °C pouze na dvě hodiny.

Výraznější rozdíl v růstu mezi kmeny rostoucími celou dobu pouze v kontrolní teplotě s 25 °C a nižšími teplotami byl patrný u kmenů *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy. Růst kmenu *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy původně umístěn v lednicích s teplotami 8 °C a 5 °C po třech týdnech v kontrolní teplotě nerostl a rozrostl se až po pěti týdnech pobytu v kontrolní teplotě. Kolonie kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, které byly během testování umístěné ve všech jiných teplotách, než té kontrolní, byly po třech týdnech v kontrolní teplotě zažloutlé (Obr. 14) a v růstu pokračovaly až po dalších dvou týdnech v této teplotě.

Ve zkumavkách po pěti týdnech rostly všechny kmeny. Nejrychleji rostly kmeny *Brasilonema* sp. CT173=P834A z Portorika (Obr. 15) a *Brasilonema* sp. PT-MK70 z Portugalska (Obr. 16), naopak nejpomaleji rostly kmeny *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy.

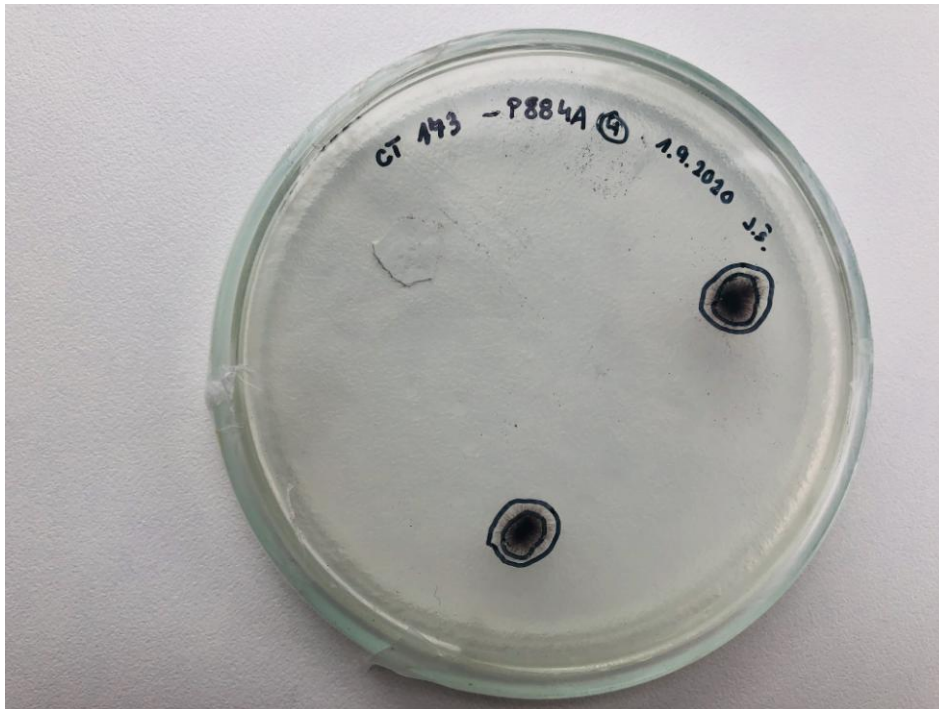
Letní pokus, část 1	<i>Brasilonema</i> sp. TH05-T15 z Ostravy	<i>Brasilonema</i> sp. FM01- MK42 z Prahy	<i>Brasilonema</i> sp. PT5-MK70 z Portugalska	<i>Brasilonema</i> sp. FL15-MK94 z Floridy	<i>Brasilonema</i> sp. CT173=P834A z Portorika
Teplota 25 °C (kontrola)					
Stav po 3 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	roste pomalu hustšími vlákny	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 3 týdnech ve zkumavkách	roste rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	roste středně rychle hustšími vlákny	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 5 týdnech v Petriho miskách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	roste pomalu hustšími vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny
Teplota 8 °C					
Stav po 3 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste pomalu dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 3 týdnech ve zkumavkách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 5 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny
Teplota 5 °C					
Stav po 3 týdnech v Petriho miskách	neroste	neroste	roste pomalu dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 3 týdnech ve zkumavkách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste hustými pravidelnými vlákny
Stav po 5 týdnech v Petriho miskách	roste velmi pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny
Teplota -18 °C					
Stav po 3 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste pomalu dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 3 týdnech ve zkumavkách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 5 týdnech v Petriho miskách	roste velmi pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny

Letní pokus, část 2	<i>Brasilonema</i> sp. TH05-T15 z Ostravy	<i>Brasilonema</i> sp. FM01-MK42 z Prahy	<i>Brasilonema</i> sp. PT5-MK70 z Portugalska	<i>Brasilonema</i> sp. FL15-MK94 z Floridy	<i>Brasilonema</i> sp. CT173=P834A z Portorika
Teplota -18 °C na 2 h					
Stav po 3 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 3 týdnech ve zkumavkách	roste rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 5 týdnech v Petriho miskách	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste pomalu hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny

Tab. 5 – Životaschopnost kmenů rodu *Brasilonema* během letního pokusu.



Obr. 14 – Nerostoucí a zažloutlé kolonie kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy po třech týdnech v kontrolní teplotě, původně umístěn v rámci letního pokusu na jeden týden v testovací teplotě 5 °C.



Obr. 15 – Hustě rostoucí kolonie kmenu *Brasilonema* sp. CT173=P834A z Portorika po třech týdnech v kontrolní teplotě, původně umístěn v rámci letního pokusu na jeden týden v testovací teplotě -18 °C.



Obr. 16 – Kolonie rostoucí dlouhými řídkými vlákny kmenu *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska po třech týdnech v kontrolní teplotě, původně umístěn v rámci letního pokusu na dvě hodiny v teplotě -18 °C a po zbytek jednoho týdnu v kontrolní teplotě

4.2.2. Kultivační pokus v zimních měsících

Životaschopnost kmenů rodu *Brasilonema*, která byla testována v kultivačním pokusu pro zimní měsíce je uvedena v Tab. 6.

V rámci pokusu v zimních měsících rostly nejrychleji kmeny, které byly po celou dobu umístěné pouze v kontrolní teplotě 25 °C, kde rostly všechny pozorované kmeny pomalu, rychle, či středně rychle. Rozdíl v růstu mezi kmeny, které byly testovány na tři týdny v mrazáku s teplotou -18 °C, v lednici s teplotou 2 °C a kmeny střídavě umístované do mrazáku s teplotou -18 °C a do lednice s teplotou 2 °C nebyl patrný.

Výraznější rozdíl v růstu mezi kmeny rostoucími celou dobu pouze v kontrolní teplotě s 25 °C a nižšími teplotami byl patrný u kmenů *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy. Růst kmenu *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy původně umístěn v lednici s teplotou 2 °C a střídavě umístován do mrazáku s -18 °C a do lednice s 2 °C, po čtyřech týdnech v kontrolní teplotě rostl pouze ve zkumavkách s kapalným Z médiem. Kolonie kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, které byly během testování umístěné ve všech jiných teplotách, než té kontrolní, byly po čtyřech týdnech v kontrolní teplotě v Petriho miskách zažloutlé a jejich růst nebyl patrný. Jejich růst byl však pozorován alespoň ve zkumavkách v podobě řídkých vláken.

Po čtyřech týdnech v kontrolní teplotě rostly všechny kmeny alespoň ve zkumavkách. Nejrychleji rostl kmen *Brasilonema* sp. TH05-T14 a naopak nejpomaleji rostly kmeny *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy.

Zimní pokus	<i>Brasilonema</i> sp. TH05-T15 z Ostravy	<i>Brasilonema</i> sp. FM01- MK42 z Prahy	<i>Brasilonema</i> sp. PT5-MK70 z Portugalska	<i>Brasilonema</i> sp. FL15-MK94 z Floridy	<i>Brasilonema</i> sp. CT173=P834A z Portorika
Teplota 25 °C (kontrola)					
Stav po 4 týdnech v Petriho miskách	roste rychle hustými nepravidelnými vlákny	roste pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými nepravidelnými vlákny	roste rychle hustými pravidelnými vlákny	roste rychle hustými pravidelnými vlákny
Stav po 4 týdnech ve zkumavkách	roste rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými nepravidelnými vlákny	roste rychle hustšími pravidelnými vlákny	roste rychle hustšími pravidelnými vlákny
Teplota 2 °C					
Stav po 4 týdnech v Petriho miskách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny
Stav po 4 týdnech ve zkumavkách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste rychle dlouhými řídkými vlákny	roste pomalu řídkými vlákny	roste pomalu řídkými nepravidelnými vlákny
Teplota -18 °C					
Stav po 4 týdnech v Petriho miskách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny
Stav po 4 týdnech ve zkumavkách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny
Teplota -18 °C a 2 °C					
Stav po 4 týdnech v Petriho miskách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	neroste	roste pomalu dlouhými řídkými vlákny	neroste	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny
Stav po 4 týdnech ve zkumavkách	roste středně rychle hustšími nepravidelnými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste středně rychle dlouhými řídkými vlákny	roste velmi pomalu řídkými nepravidelnými vlákny	roste středně rychle hustými pravidelnými vlákny

Tab. 6 – Životaschopnost kmenů rodu *Brasilonema* během zimního pokusu.

4.2.3. Shrnutí kultivačních pokusů

Žádná z pokusných teplot ani střídání teplot, kterým byly vybrané testované kmeny vystaveny po dobu jednoho či třech týdnů, neměla za následek úplné odumření žádného z kmenů, pouze byla dočasně více či méně snížena rychlost jejich růstu nebo viabilita menší či větší části celkové biomasy kolonie.

4.3. Charakteristika vlastních kmenů

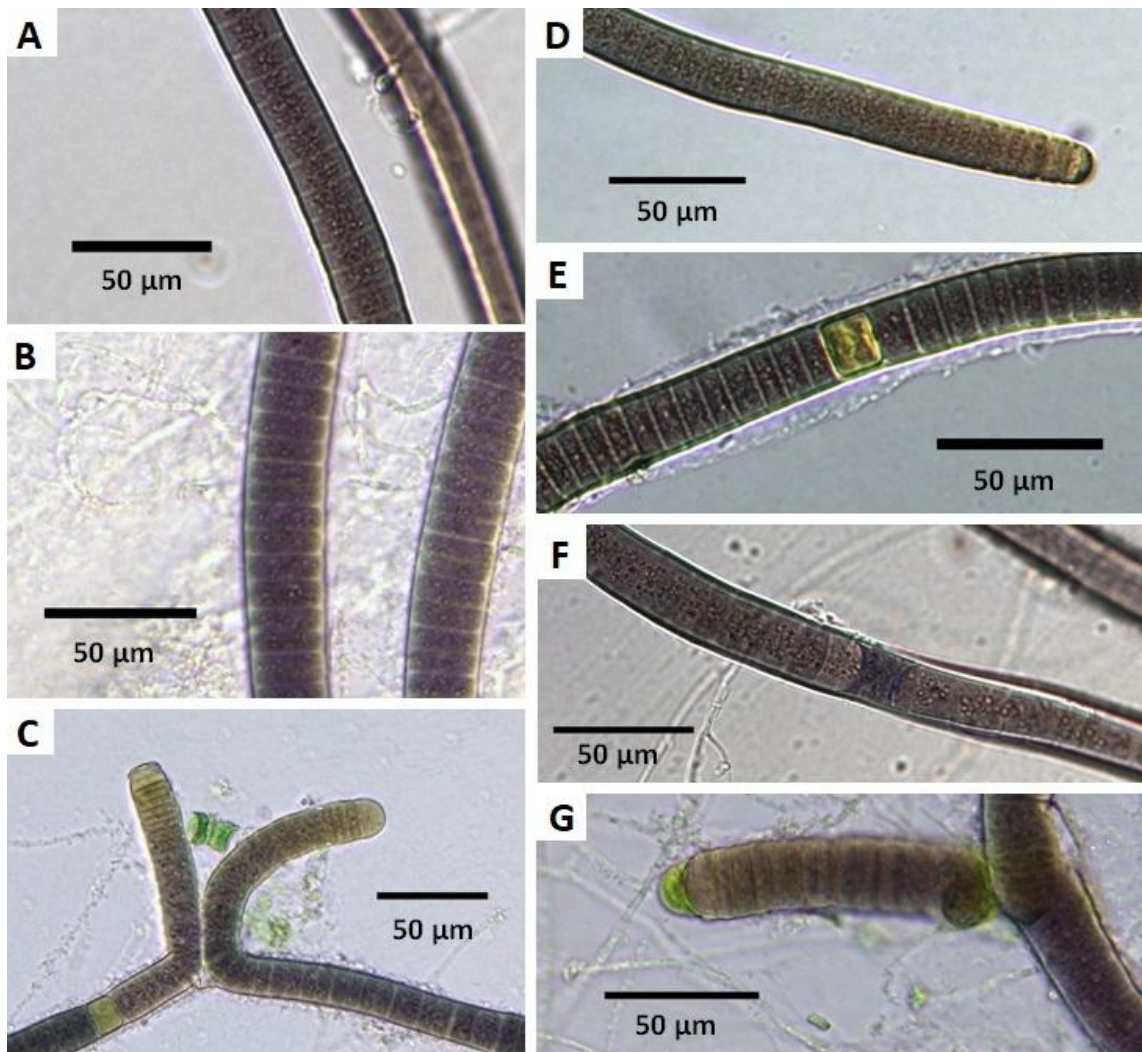
Kmen *Brasilonema* sp. TH05-T14 (Obr. 17) z Ostravy má vlákna široká 16,6-26,1 μm , rovná nebo ohnutá, často se nepravě větví, dvojitě nebo jednoduše. Pochva je široká přibližně 2,5 μm , bezbarvá nebo šedivá. Trichomy jsou cylindrické, široké 13,8-24,8 μm , rovné, nejsou zaškrčené na buněčných přepážkách a směrem k apikálním koncům nejsou zúžené. Buňky jsou širší než delší, dlouhé 2,4-8,9 μm . Apikální buňky jsou zaoblené bez kalyptry. Obsah buněk je šedofialově, šedo zeleně či šedožlutě zbarvený. Vakuolizace nebyla pozorována. Tento druh často tvoří heterocyty, které jsou interkalární, solitérní, izodiametrické, cylindrické, široké 16,6-19,4 μm a dlouhé 13,2-19,4 μm . Rozmnožují se hormogoniemi, které jsou izopolární. Fragmentace vláken se uskutečňuje pomocí nekridických buněk.

Kmen *Brasilonema* sp. FM01-MK42 (Obr. 18) z Prahy má vlákna široká 11,1-22,2 μm , rovná, nebo ohnutá, často se nepravě větví, a to dvojitě i jednoduše. Pochva je široká přibližně 2 μm , bezbarvá nebo šedivá. Trichomy jsou cylindrické, široké 8,3-18,7 μm . Vlákna se v některých případech postupně výrazně zužovala směrem k apikálním koncům. U některých trichomů byla pozorována ztráta izopolarity po fragmentaci vlákna, a na jedné straně s přítomným terminálním heterocytem, byl trichom rozšířený, a naopak na druhé straně byl trichom zúžený. Některé trichomy mohou být výrazněji zaškrčené na buněčných přepážkách. Buňky jsou izodiametrické, širší než delší, nebo delší než širší, dlouhé 1,8-5,8 μm . Apikální buňky jsou zaoblené bez kalyptry. Obsah buněk je jasně zeleně, žlutošedě či fialověšedě zbarvený. Vakuolizace nebyla pozorována. Heterocyty, které se u toho druhu vyskytovaly často, byly interkalární, po rozpadu trichomu terminální, solitérní, izodiametrické, cylindrické nebo širší než delší, široké 9,7-19,4 μm a dlouhé 4,1-13,7 μm . Rozmnožují se hormogoniemi. Fragmentace vláken se uskutečňuje pomocí nekridických buněk.

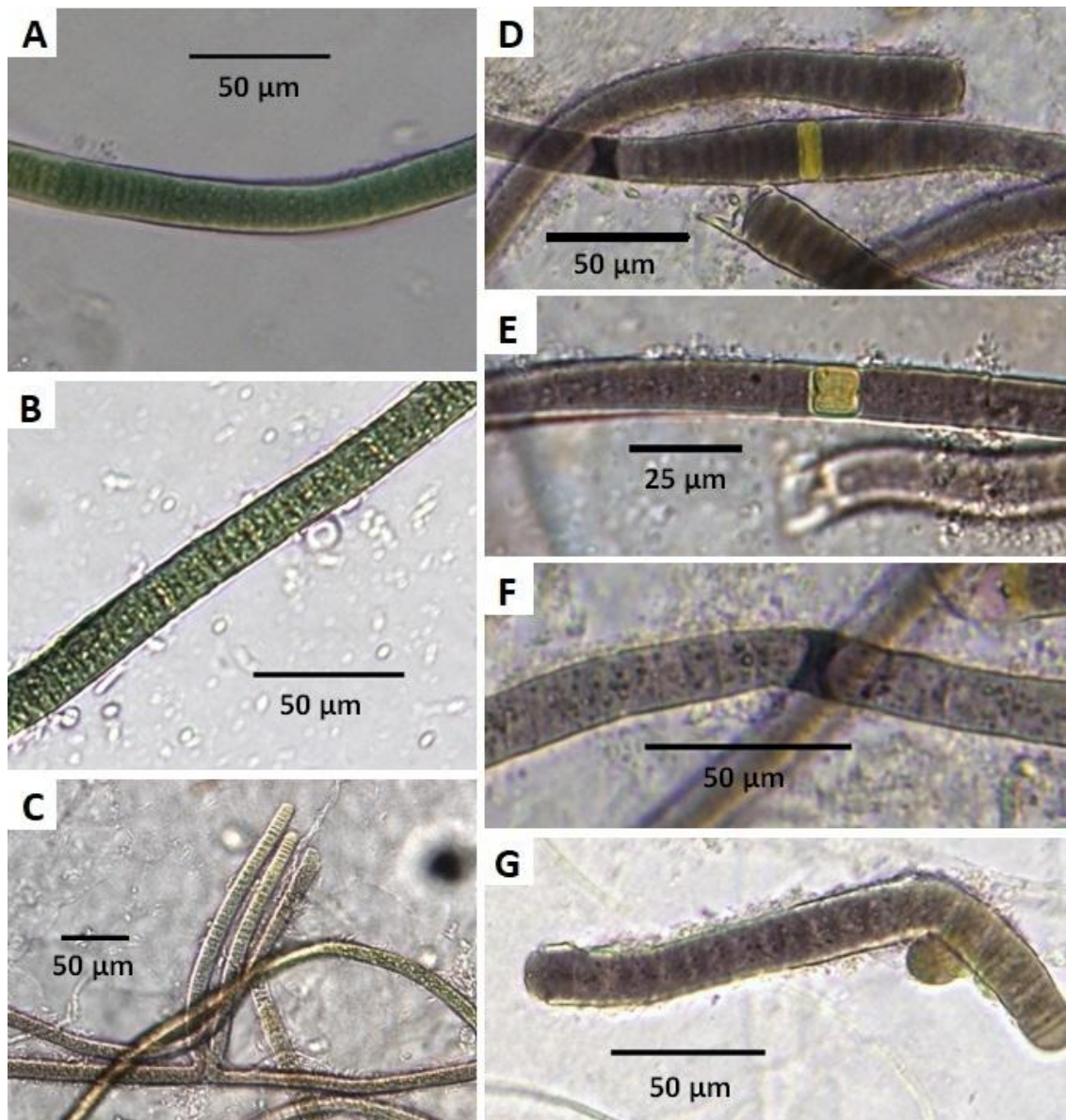
Kmen *Brasilonema* sp. PT5-MK70 (Obr. 19) z Portugalska má vlákna široká 17-28 μm , jsou rovná nebo ohnutá. Bylo pozorováno vzácné nepravé větvení a to buď dvojitě, nebo jednoduché. Pochva je široká přibližně 2,5 μm , bezbarvá, může být navrstvená. Trichomy jsou široké 15-25 μm , cylindrické, mohou být mírně zaškrčené na buněčných přepážkách a nejsou zúžené směrem k apikálním koncům. Buňky jsou širší než delší, dlouhé 5-13,4 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, bez kalyptry. Obsah buněk je fialověšedě, žlutozeleně či tmavězeleně zbarvený. Buňky mohou být vakuolizované. Heterocyty u tohoto kmene nebyly pozorovány. Rozmnožuje se hormogoniemi. Fragmentace vláken se uskutečňuje pomocí nekridických buněk či bikonkávních disků.

Kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94 (Obr. 20) z Floridy má vlákna široká 14,6-20,8 μm , jsou rovná nebo ohnutá, často se nepravě větví a to buď dvojité, nebo jednoduše. Pochva je tenká, široká přibližně 3,4 μm , bezbarvá, nebo nažloutlá. Trichomy jsou široké 12,4-18,1 μm , cylindrické, mohou být mírně zaškrčené na buněčných přepážkách a nejsou zúžené směrem k apikálním koncům. Buňky jsou různého tvaru, někdy izodiametrické, delší než širší nebo kratší než širší, dlouhé 5,2-22,2 μm . Apikální buňky jsou zaoblené, bez kalyptry. Obsah buněk je modrošedě, šedozeleně či tmavězeleně zbarvený. Buňky jsou vysoce vakuolizované. Tento druh často tvoří heterocyty, které jsou interkalární a solitérní, jsou široké 13,4-18 μm a dlouhé 4,2-11,5 μm . Rozmnožuje se pomocí hormogonií. Fragmentace vláken se uskutečňuje pomocí nekridických buněk.

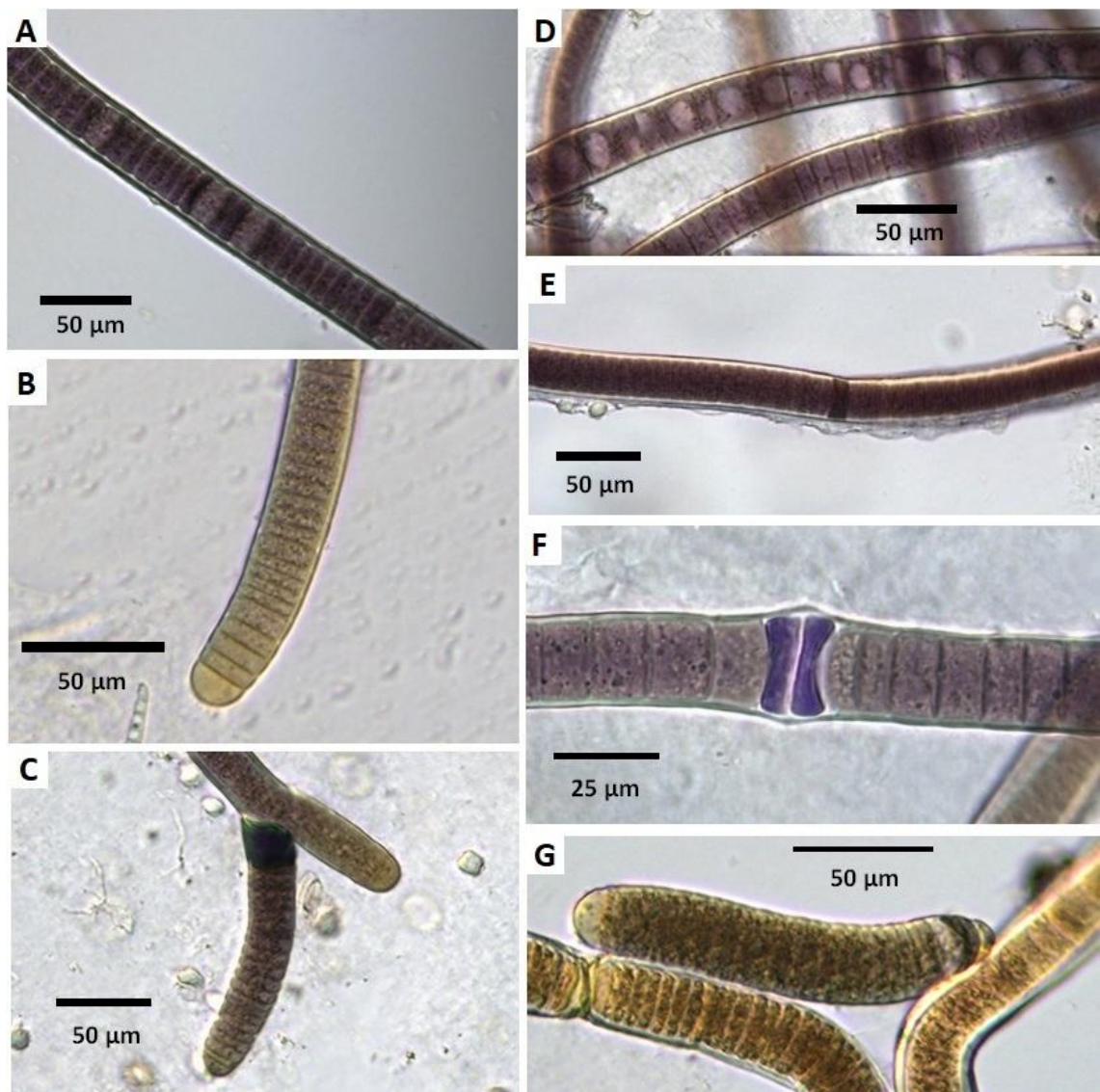
Kmen *Brasilonema* sp. CT173=P834A (Obr. 21) z Portorika má vlákna široká 13,2-20,8 μm , rovná nebo ohnutá, často se nepravě větví, převážně dvojité, ale i jednoduše. Pochva je široká přibližně 1,5 μm , bezbarvá, nebo žlutooranžově zbarvená. Trichomy jsou cylindrické, široké 12,5-18,5 μm , rovné, mírně zaškrčené na buněčných přepážkách, nejsou zúžené směrem k apikálním koncům. Buňky jsou izodiametrické, nebo širší než delší, dlouhé 2,7-9,6 μm . Apikální buňky jsou zaoblené bez kalyptry. Obsah buněk je modrofialově, fialověšedě, hnědofialově či žlutohnědě zbarvený. Vakuolizace nebyla pozorována. Heterocyty jsou interkalární, solitérní, izodiametrické nebo širší než delší, široké 15,5-19,4 μm a dlouhé 6,9-12,5 μm . Rozmnožují se hormogoniemi, které jsou izopolární. Fragmentace vláken probíhá pomocí nekridických buněk.



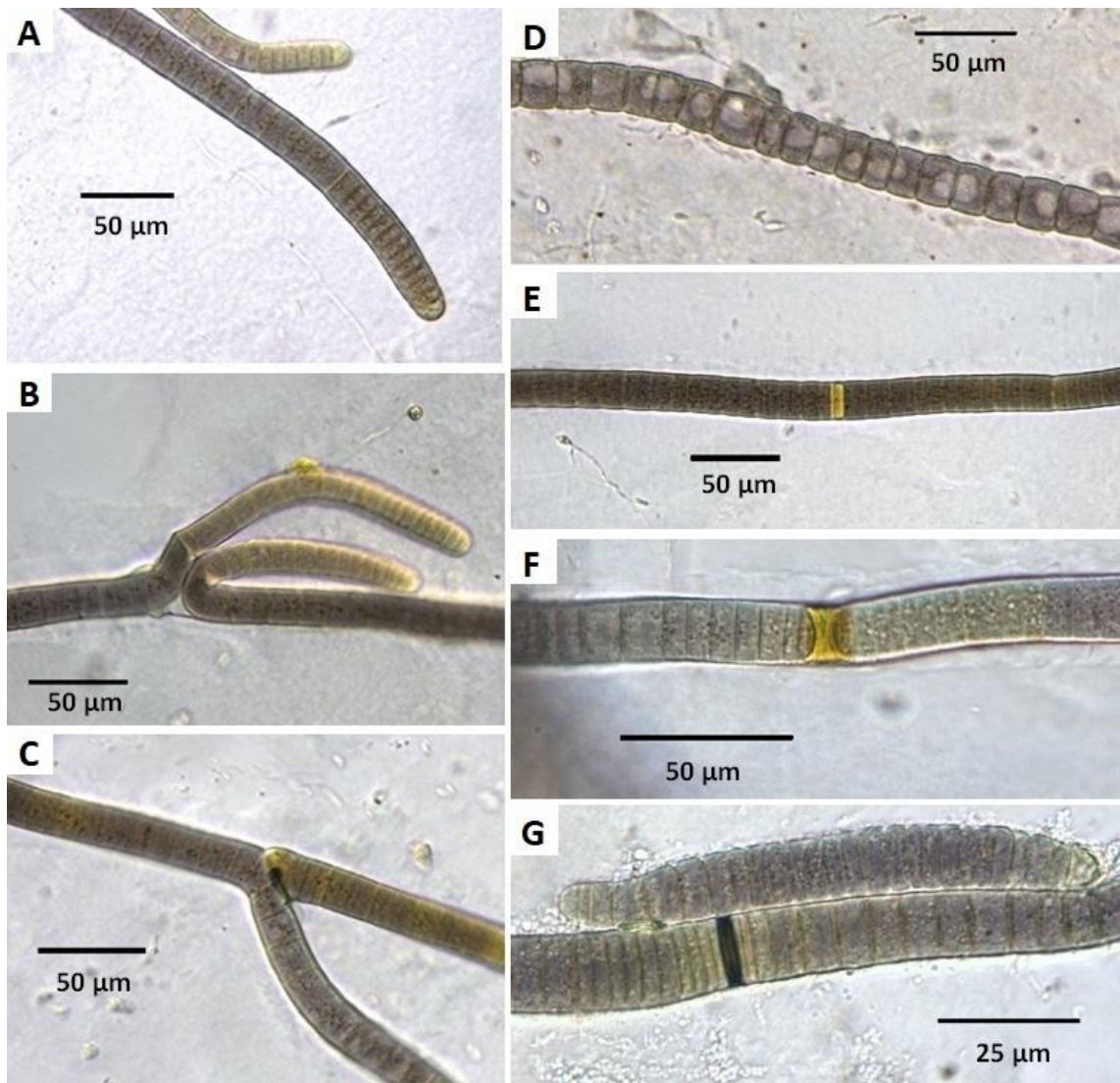
Obr. 17 – Kmen *Brasilonema* sp. TH05-T14: (A-B) detail trichomu, (C) nepravé dvojité větvení, (D) apikální konec vlákna, (E) vlákno s interkalárním cylindrickým heterocytem a bezbarvá pochva, (F) tvořící se nekridická buňka, (G) hormogonie.



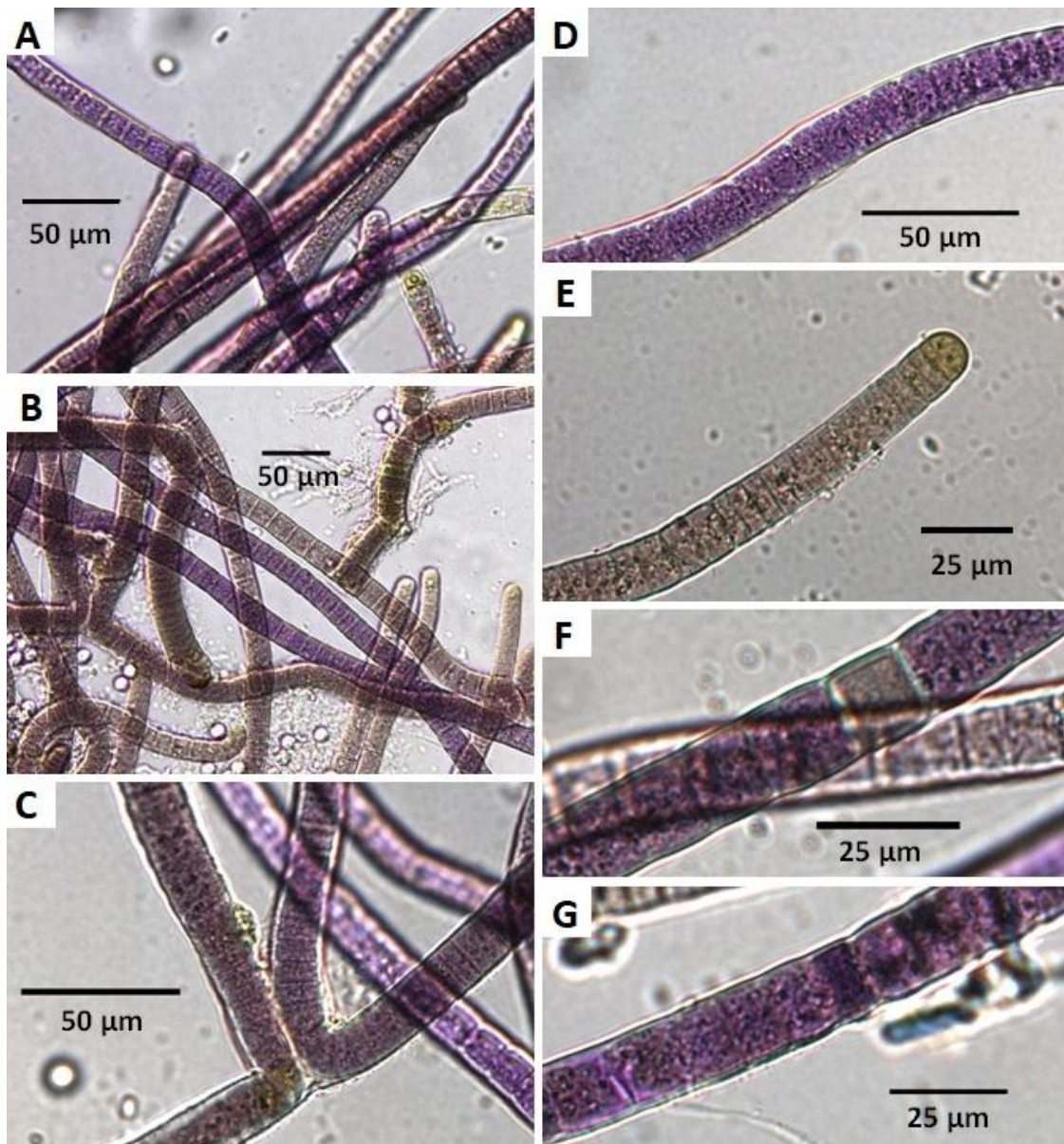
Obr. 18 – Kmen *Brasilonema* sp. FM01-MK42: (A-B) trichom, (C) nepravé dvojité větvení, (D) ztráta izopolarity trichomu, (E) vlákno s interkalárním cylindrickým heterocytem, (F) nekridická buňka, (G) hormogonie.



Obr. 19 – Kmen *Brasilonema* sp. PT5-MK70: (A) trichom, (B) apikální konec vlákna, (C) nepravé jednoduché větvení, (D) vakuolizace buněk, (E) navrstvená pochva a vlákno s nekridickou buňkou, (F) bikonkávni disky, (G) hormogonie.



Obr. 20 – Kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94: (A) apikální konec vlákna, (B) nepravé dvojité větvení, (C) nepravé jednoduché větvení, (D) vakuolizace buněk (E) vlákno s interkalárním diskovitým heterocytem, (F) nekridická buňka, (G) hormogonie.



Obr. 21 – Kmen *Brasilonema* sp. CT173=P834A: (A-B) morfologie vláken, (C) nepravé dvojité větvení, (D) detail trichomu, (E) apikální konec vlákna, (F) vlákno s interkalárním cylindrickým heterocytem, (G) nekridická buňka.

5. Diskuze

Nedávno popsaná sinice rodu *Brasilonema* je teplomilná sinice s těžištěm výskytu v tropech a subtropích celého světa (Fiore *et al.* 2007). Podle Hauera (2010) a Kaštovského *et al.* (2010) se nové druhy pravděpodobně vyskytují v dosud neprozkoumaných geografických stanovištích a habitatech. Dosud je známo, že tento rod se běžně vyskytuje zejména v jihovýchodní Brazílii (Fiore *et al.* 2007, Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011) a v posledních letech přichází údaje o výskytu *Brasilonemy* z USA (Vaccarino *et al.* 2012, Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021).

Mikroorganismy se mohou vyskytovat kosmopolitně vzhledem k jejich snadné disperzi vzdušnými i vodními proudy či pohybem hostitelských rostlin či živočichů (de Azevedo *et al.* 2017). Přesto se v temperátním pásu tento rod vyskytuje pouze v podmínkách lokálně klimaticky připomínající tropy a subtropy jako například tropické skleníky (Romanenko *et al.* 2020) nebo chladící věže elektráren (Hauer 2007, 2010, Hauer *et al.* 2016).

Dle Romanenko *et al.* (2020) se v tropickém skleníku na Ukrajině objevil první zástupce rodu *Brasilonema* objevený v Evropě. Patrně se sem dostal s tropickými rostlinami přivezenými ukrajinskými botaniky z expedice v Brazílii v roce 1986 (Romanenko *et al.* 2020).

Chladící věže elektráren jsou zřídka studovaným prostředím hostícím různé druhy fototrofních i heterotrofních organismů, které jsou součástí biofilmů. Tyto chladící věže představují jedinečné prostředí uvnitř temperátních či jiných chladnějších oblastí, protože připomínají „ostrůvky“ s tropickými klimaty a mohou tedy hostit jiné organismy, než v okolní krajině (Hauer *et al.* 2016). Podle Hauer (2007) se druhové bohatství biofilmů ve zkoumaných věžích elektráren nelišilo od relevantních přírodních habitatů. Tyto věže jsou většinou betonové a jsou používány v průmyslu a při výrobě energie k rozptýlení odpadního tepla. V těchto věžích panují příznivé podmínky pro intenzivní růst mnoha organismů a jsou vysoce stabilní ohledně teploty, dostupnosti živin a vodního režimu (Hauer *et al.* 2016). Hauer *et al.* (2016) zkoumali fototrofní složky biofilmů v chladících věžích elektráren a prokázali vliv světla na rozmístění společenstev biofilmů.

Na základě těchto informací se předpokládá, že je rod *Brasilonema* v temperátním pásu limitován nízkými teplotami v zimním období, které ale dosud nikdo netestoval.

V praktické části byl proto proveden kultivační pokus, který měl za cíl objasnit tuto domněnku.

V rámci kultivačního pokusu bylo použito pět kmenů rodu *Brasilonema*. Kultivační pokus byl proveden pro dvě testovací roční období, v letních měsících na jeden týden a v zimních měsících na tři týdny. Poté byly testované kmeny umístěny zpět do kontrolní teploty, zda kolonie obnoví svůj růst, nebo ne. V obou těchto pokusech bylo nastaveno měření s kontrolní teplotou 25 °C, jelikož přesně tolik je průměrná roční teplota v tropech (Demek *et al.* 1997) a tudíž by kmeny při této teplotě měly být životaschopné a měly by růst nejrychleji. Inkubátor s kontrolní teplotou byl prosklený, a tudíž zde testované kmeny měly přirozený přístup denního světla daného měřeného období.

Během letní části kultivačního pokusu, ve které byly kmeny vystaveny nízkým teplotám na jeden týden, byly testovány následující teploty: 8 °C, 5 °C, -18 °C a kmeny umístěné pouze na dvě hodiny v -18 °C a pak byly umístěny zpět do kontrolní teploty s 25 °C. Teploty 8 °C a 5 °C simulují průměrnou roční teplotu v temperátním pásu, která je přibližně 5-9 °C (Inpočasí 2020). Teplota -18 °C byla vybrána jako extrémně nízká teplota pro životaschopnost rodu *Brasilonema* vyskytující se v tropech s minimální teplotou 18 °C ve všech měsících (The British Geographer). V rámci pokusu vložit kolonie kmenů nejprve do mrazáku s -18 °C na dvě hodiny a ihned poté je umístit do kontrolní teploty s 25 °C bylo cílem navodit kmenům šok a otestovat, zda snesou náhlou změnu teploty nebo ne.

Všechny kmeny umístěné ve všech nižších testovaných teplotách 8 °C, 5 °C a -18 °C, rostly víceméně podobně a rozdíl v růstu mezi kmeny v těchto teplotách nebyl patrný. Kolonie, které byly nejprve umístěny v mrazáku s -18 °C na dvě hodiny a ihned poté umístěny do kontrolní teploty s 25 °C, v této kontrolní teplotě rychle obnovily svůj růst a rostly lépe, než kmeny umístěné ve všech jiných nízkých testovacích teplotách na celý jeden týden. Tyto kolonie zároveň rostly přibližně stejně rychle jako kmeny, které byly umístěny po celou dobu pouze v kontrolní teplotě, až na kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, který v testovací teplotě -18 °C na dvě hodiny rostl pomaleji. V rámci tohoto pokusu rostly nejlépe kmeny umístěné v kontrolní teplotě s 25 °C, které byly v této příznivé teplotě umístěné po celou dobu pokusu, a tudíž měly více času na svůj růst, zatímco jiné kolonie obnovily svůj růst, až po pobytu v testovacích teplotách a znovuumístění do teploty s 25 °C.

Výraznější rozdíl v růstu mezi kmeny rostoucími celou dobu pouze v kontrolní teplotě s 25 °C a nižšími teplotami byl patrný u kmenů *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy původně umístěn v lednicích s teplotami 8 °C a 5 °C po třech týdnech v kontrolní teplotě

nerostl a rozrostl se až po pěti týdnech v kontrolní teplotě. Kolonie kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, které byly během testování umístěné ve všech jiných teplotách, než té kontrolní, byly po třech týdnech zažloutlé a v růstu pokračovaly až po dalších dvou týdnech.

Všechny kmeny během letního pokusu po vyjmutí z testovaných teplot, ve kterých byly jeden týden a umístění do teplot simulujících ty tropické, po pěti týdnech pokračovaly ve svém růstu, a tudíž jsem neprokázala, že by krátkodobý mráz nebo nízké teploty byly faktorem eliminujícím růst této sinice v přirozeném prostředí temperátního pásu.

Druhá část pokusu probíhala v zimních měsících, které lépe simulují podmínky, které byly testovány. Cílem bylo navodit ještě extrémnější podmínky simulující zimní období v temerátním pásu. Nastaveny byly i světelné podmínky podobnější zimnímu období. Během tohoto pokusu byly kmeny vystaveny nízkým teplotám na celé tři týdny, byly testovány následující teploty: 2 °C, -18 °C a střídání teplot v -18 °C a 2 °C. Teplota 2 °C byla vybrána jako nejnižší možná teplota nastavitelná v dané lednici, která simuluje -0,9 °C, což je průměrná teplota v České republice v nejchladnějším měsíci lednu za posledních deset let (Fakta o klimatu 2021). V rámci pokusu kmeny střídavě umísťovat do mrazáku s -18 °C a do lednice s 2 °C, bylo cílem otestovat toleranci kmenů na rychlé střídání zamrzání a rozmrzání, tj. podmínky, které mohou v temperátní zóně nastat v mírnějších částech zimního období v rámci jediného dne (v noci mráz, ve dne hodnoty nad bodem mrazu).

Všechny kmeny umístěné původně v nižších testovaných teplotách 2 °C a -18 °C na tři týdny, rostly víceméně podobně a rozdíl v růstu mezi kmeny v těchto teplotách nebyl patrný. Zároveň tyto kolonie rostly přibližně stejně jako kmeny, které byly střídavě umísťované do mrazáku s -18 °C a do lednice s 2 °C. V rámci tohoto pokusu rostly nejlépe kmeny umístěné v kontrolní teplotě s 25 °C, které byly v této příznivé teplotě umístěné po celou dobu pokusu, a tudíž měly více času na svůj růst, zatímco jiné kolonie obnovily svůj růst, až po pobytu v testovacích teplotách a znovuumístění do teploty s 25 °C.

Výraznější rozdíl v růstu mezi kmeny rostoucími celou dobu pouze v kontrolní teplotě s 25 °C a nižšími teplotami byl patrný u kmenů *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy. Růst kmenu *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy původně umístěn v lednici s teplotou 2 °C a střídavě umísťován do mrazáku s -18 °C a do lednice s 2 °C, po čtyřech týdnech v kontrolní teplotě rostl pouze ve zkumavkách s kapalným Z médiem. Kolonie kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy, které byly během testování umístěné ve všech jiných teplotách, než té kontrolní, byly po čtyřech

týdnech v kontrolní teplotě v Petriho miskách zažloutlé a jejich růst nebyl patrný. Jejich růst byl však pozorován alespoň ve zkumavkách v podobě řídkých vláken.

Všechny kmeny během zimního pokusu po vyjmutí z testovaných teplot, ve kterých byly tři týdny a umístění do teplot simulující ty tropické, po čtyřech týdnech pokračovaly ve svém růstu, a tudíž jsem ani touto druhou částí pokusu neprokázala, že by je nízká teplota v zimních měsících limitovala v pobytu v temperátním prostředí.

V kultivačním pokusu bylo zjištěno, že vyšší teplota (25 °C) má pozitivní vliv na růst sinice rodu *Brasilonema*, což plyne z faktu, že v této teplotě rostly testované kmeny nejrychleji. Nižší teploty sice omezují tento rod v růstu, ale neomezují je v jeho životaschopnosti, protože všechny kmeny dříve nebo později obnovily metabolické pochody a pokračovaly v růstu. Nejnáchylnější na testované podmínky byl kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy

Vzhledem k tomu, že nejsou žádné údaje o výskytu rodu *Brasilonema* v temperátním pásu v přirozených podmínkách, přestože by na základě provedeného kultivačního pokusu při nižších teplotách být životaschopná měla, bude ji v temperátním pásu omezovat zřejmě jiný faktor.

Brasilonema je pantropický rod (Hauer 2010, Kaštovský *et al.* 2010) vyskytující se v tropech a subtropích celého světa. Tropické podnebí je charakterizováno oblastmi s teplotou vyšší než 18 °C ve všech měsících a v závislosti na typu tropického klimatu je vlhkost proměnlivá (The British Geographer 2021). V tropických oblastech může relativní vzdušná vlhkost dosahovat až 100 % (Demek *et al.* 1997), zatímco v České republice je průměrná vzdušnost přibližně 70 % (Infomet 2022). Testované kmeny v Petriho miskách byly uzavřené, a tak zde vlhkost byla blízká 100 %. Zajímavé je, že výskyt rodu *Brasilonema* dosud není znám také z aridních oblastí, kde jsou teplotní podmínky podobné těm tropickým, ale vzdušná vlhkost je v aridních oblastech nižší. Je tedy možné, že by limitujícím faktorem výskytu tohoto rodu mohla být nedostatečná vzdušná vlhkost v temperátních oblastech.

V rámci praktické části práce jsem dále kmeny použité v kultivačním pokusu pozorovala pod mikroskopem a provedla na nich základní morfologickou charakteristiku. Morfologie jsou hodně překrývající se a ani jeden z mých použitých kmenů v kultivačním pokusu jednoznačně neseďí na žádný, dosud popsáný druh rodu *Brasilonema* (Fiore *et al.* 2007, Aguiar *et al.* 2008, Sant'Anna *et al.* 2011, Rodarte *et al.* 2014, Vaccarino *et al.* 2012,

Becerra-Absalón *et al.* 2013, Miscoe *et al.* 2016, Villanueva *et al.* 2018, Villanueva *et al.* 2019, Barbosa *et al.* 2021).

Průměrně nejširší vlákna a trichomy se nacházely u kmenu *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska a naopak nejkratší u kmene *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy. Přítomností nepravého větvení se mé kmeny shodují s ostatními druhy náležící do rodu *Brasilonema*. Na rozdíl od popsaných druhů, u kterých bylo nepravé větvení vzácné, se mé kmeny, kromě kmenu *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska, nepravě větvyly často. U všech mých kmenů převažovalo nepravé větvení dvojité, ale pozorováno bylo i to jednoduché.

Zbarvení pochvy mých kmenů je podobné jako u popsaných druhů rodu *Brasilonema*. Kmeny *Brasilonema* sp. TH05-T14 z Ostravy a *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy mají pochvy bezbarvé nebo šedivé, u kmenů *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy a *Brasilonema* sp. CT173=P834A z Portorika mají pochvy bezbarvé nebo žlutě zbarvené. Kmen *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska má pochvy bezbarvé, ale mohou být navrstvené.

Trichomy u kmene *Brasilonema* sp. TH05-T14 z Ostravy nejsou zaškrčené na buněčných přepážkách. U zbylých čtyř kmenů byl alespoň náznak zaškrčení trichomů na buněčných přepážkách. Mé kmeny směrem k apikálním koncům trichomů zúžené nebyly. Pouze výjimečně v některých případech u kmenu *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy byly některé trichomy uprostřed své délky jasně silnější než směrem ke koncům. Tento kmen se dále vyznačoval ztrátou izopolarity po fragmentaci těchto vláken podobně jako u popsaného druhu *B. lichenoides* (Villanueva *et al.* 2018). U mého kmenu po fragmentaci vlákna byl trichom na straně s terminálním heterocytem rozšířený, a naopak na druhé straně byl trichom zúžený. U druhu *B. tolantogensis* podle Becerra-Absalón *et al.* (2013) dochází ke ztrátě izopolarity asymetrickým růstem trichomů v době, kdy tvoří hormogonie, se na těchto koncích s hormogoniemi trichomy rozšiřují a vykazují asymetrický růst. Vlákno na straně s bazálním heterocytem je rozšířené a naopak na opačné straně od heterocytu je zúžené, takže výsledné vlákno hormogonie je tedy heteropolární (Becerra-Absalón *et al.* 2013).

Nejkratší buňky se vyskytovaly u kmenu *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy. Vakuolizace, která je obvyklá u rodu *Brasilonema* (Fiore *et al.* 2007), byla pozorována pouze u kmenů *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska a *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy. U kmenů *Brasilonema* sp. TH05-T14 z Ostravy, *Brasilonema* sp. FM01-MK42

z Prahy a *Brasilonema* sp. CT173=P834A z Portorika žádná vakuolizace buněk pozorována nebyla podobně jako u popsaného druhu *B. lichenoides* (Villanueva *et al.* 2018).

Charakteristika heterocytů, jako například interkalární pozice a solitérní výskyt, které jsou typické pro rod *Brasilonema* (Fiore *et al.* 2007), se shoduje s jinými dosud popsanými druhy rodu *Brasilonema*. U kmenu *Brasilonema* sp. TH05-T14 z Ostravy byly pozorovány pouze cylindrické heterocyty, u kmenu *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy se vyskytovaly pouze diskoidní heterocyty a u kmenů *Brasilonema* sp. FM01-MK42 z Prahy a *Brasilonema* sp. CT173=P834A se vyskytovaly jak cylindrické, tak diskoidní heterocyty. U kmenu *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska nebyly pozorovány žádné heterocyty.

Všechny mé kmeny se rozmnožovaly hormogoniemi a fragmentace vláken se uskutečňovala pomocí nekridických buněk a u kmenu *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska také pomocí bikonkávních disků.

6. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo shrnout poznatky o nedávno popsané sinici rodu *Brasilonema*, která byla vymezena z rodu *Scytonema* na základě kombinace molekulárních a cytomorfologických kritérií. Charakterizováno je i 15 dosud objevených druhů náležících k tomuto rodu.

Součástí teoretické části práce je i vypracovaná tabulka, kde bylo porovnáno všech 15 dosud objevených druhů rodu *Brasilonema*. Porovnávalo se jejich geografické rozšíření, ekologie a morfologické znaky jako například charakteristika vláken, trichomu, pochev, jednotlivých buněk, či heterocytů.

V praktické části této diplomové práce byl proveden kultivační pokus s nízkými teplotami na rodu *Brasilonema* a vyhodnocení její životaschopnosti. K pokusu bylo použito pět kmenů z různých geografických oblastí světa. Lokality připomínající tropické oblasti v České republice: *Brasilonema* sp. TH05-T14 z Ostravy zchladicí věže tepelné elektrárny, *Brasilonema* sp. FM01-MK70 z Prahy z tropického skleníku Fata Morgana. Ze subtropické oblasti kmen *Brasilonema* sp. PT5-MK70 z Portugalska. Pomezí tropické a subtropické oblasti kmen *Brasilonema* sp. FL15-MK94 z Floridy. Z tropické oblasti kmen *Brasilonema* sp. CT173=P834A z Portorika. Během letní části kultivačního pokusu byly na jeden týden testovány teploty 8 °C, 5 °C, -18 °C a teplotní šok z -18 °C do 25 °C. Z výsledků této části kultivačního pokusu nebylo prokázáno, že by krátkodobý mráz nebo nízké teploty byly limitující pro *Brasilonemu* v temperátním pásu. V zimní části kultivačního pokusu byly na tři týdny testovány teploty 2 °C, -18 °C a testování teplotního šoku střídáním teplot 2 °C a -18 °C. Z výsledků kultivačního pokusu nebylo prokázáno, že by nízké teploty v zimních měsících nedovolovaly rodu *Brasilonema* růst v temperátním pásmu.

Součástí praktické části práce bylo dále provedení základní morfologické charakteristiky na vybraných kmenech rodu *Brasilonema*. Žádný z mých použitých kmenů však jednoznačně neseď na žádný dosud popsáný druh rodu *Brasilonema*.

Cíle diplomové práce byly splněny.

7. Přehled použité literatury

Aguiar, R., Fiore, M. F., Franco, M. W., Ventrella, M. C., Lorenzi, A. S., Vanetti, C. A., Alfenas, A. C. (2008). A novel epiphytic cyanobacterial species from the genus *Brasilonema* causing damage to *Eucalyptus* leaves. *Journal of Phycology*, 44(5), 1322-1334.

Alvarenga, D. O., Franco, M. W., Sivonen, K., Fiore, M. F., Varani, A. M. (2020). Evaluating *Eucalyptus* leaf colonization by *Brasilonema octagenarum* (Cyanobacteria, Scytonemataceae) using in planta experiments and genomics. *PeerJ*, 8, 1-27.

Alvarenga, D. O., Rigonato, J., Branco, L. H. Z., Melo, I. S., Fiore, M. F. (2016). *Phyllonema aviceniicola* gen. nov., sp. nov. and *Foliisarcina bertiogensis* gen. nov., sp. nov., epiphyllic cyanobacteria associated with *Avicennia schaueriana* leaves. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(2), 689-700.

Anagnostidis, K., Komárek, J. (1990). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 5. Stigonematales. *Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Monographische Beiträge*, 86, 1-73.

Barbosa, M., Berthold, D. E., Lefler, F. W., Laughinghouse IV, H. D. (2021). Diversity of the genus *Brasilonema* (Nostocales, Cyanobacteria) in plant nurseries of central Florida (USA) with the description of three new species: *B. fioreae* sp. nov., *B. santannae* sp. nov. and *B. wernerae* sp. nov. *Fottea*, 21(1), 82-99.

Becerra-Absalón, I., Rodarte, B., Osorio, K., Alba-Lois, L., Segal-Kischinevzky, C., Montejano, G. (2013). A new species of *Brasilonema* (Scytonemataceae, Cyanoprokaryota) from Tolantongo, Hidalgo, Central Mexico. *Fottea, Olomouc*, 13(1), 25-38.

Belnap, J., Büdel, B., & Lange, O. L. (2001). Biological soil crusts: characteristics and distribution. In: Belnap, J., Lange, O. L. (Eds.): *Biological soil crusts: structure, function, and management* (pp. 3-30). Springer, Berlin, Heidelberg. ISBN 978-3-540-43757-4.

da Silva Malone, C. F., Rigonato, J., Laughinghouse IV, H. D., Schmidt, E. C., Bouzon, Z. L., Wilmotte, A., Fiore, M. F., Sant'Anna, C. L. (2015). *Cephalothrix* gen. nov. (Cyanobacteria): towards an intraspecific phylogenetic evaluation by multilocus analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(9), 2993-3007.

Dai, Y., Shen, Z., Liu, Y., Wang, L., Hannaway, D., Lu, H. (2009). Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of

- Tetrastigma hemsleyanum Diels et Gilg. *Environmental and experimental botany*, 65(2-3), 177-182.
- de Azevedo, J. L., Quecine, M. C. (2017). Diversity and benefits of microorganisms from the tropics. Springer, 439 pp. ISBN 978-3-319-55803-5.
- de los Ríos, A., Galván, V., Ascaso, C. (2004). In situ microscopical diagnosis of biodeterioration processes at the convent of Santa Cruz la Real, Segovia, Spain. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54(2-3), 113–120.
- Demek, J., Voženílek, V., Vysoudil, M. (1997). Geografie pro SŠ I (fyzickogeografická část). SPN, Praha, 96 pp. ISBN 80-85937-73-5.
- Desikachary, T. V. (1959). Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 686 pp.
- Dvořák, P., Pouličková, A., Hašler, P., Belli, M., Casamatta, D. A., Papini, A. (2015). Species concepts and speciation factors in cyanobacteria, with connection to the problems of diversity and classification. *Biodiversity and Conservation*, 24(4), 739-757.
- Fiore, M. F., Sant'Anna, C. L., Azevedo, M. T. D. P., Komárek, J., Kaštovský, J., Sulek, J., Lorenzi, A. A. S. (2007). The cyanobacterial genus Brasilonema, gen. nov., a molecular and phenotypic evaluation. *Journal of Phycology*, 43(4), 789-798.
- Genuario, D. B., Vaz, M. G. M. V., Hentschke, G. S., Sant'Anna, C. L., Fiore, M. F. (2015). Halotia gen. nov., a phylogenetically and physiologically coherent cyanobacterial genus isolated from marine coastal environments. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(2), 663-675.
- Hauer, T. (2007). Rock-inhabiting cyanoprokaryota from South Bohemia (Czech Republic). *Nova Hedwigia*, 85(3), 379-392.
- Hauer, T. (2010). Phototrophic biofilms on the interior walls of concrete Iterson-type cooling towers. *Journal of applied phycology*, 22(6), 733-736.
- Hauer, T., Čapek, P., Böhmová, P. (2016). Main photoautotrophic components of biofilms in natural draft cooling towers. *Folia microbiologica*, 61(3), 255-260.

- Hentschke, G. S., Johansen, J. R., Pietrasiak, N., Fiore, M. D. F., Rigonato, J., Sant'Anna, C. L., Komárek, J. (2016). Phylogenetic placement of *Dapisostemon* gen. nov. and *Streptostemon*, two tropical heterocytous genera (Cyanobacteria). *Phytotaxa*, 245(2), 129-143.
- Hindák, F. Š., Komárek, J. (2003). *Nodularia moravica* spec. nova, a new benthic freshwater nostocalean species (Cyanophyta/Cyanobacteria/Cyanoprokaryota). *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 241-253.
- Hoffman, L. (1999). Marine cyanobacteria in tropical regions: diversity and ecology. *European Journal of Phycology*, 34(4), 371-379.
- Kalina, T., Váňa, J. (2010). *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum, Praha, 608 pp. ISBN 978-80-246-1036-8
- Kaštovský, J., Hauer, T., Komárek, J., Skácelová, O. (2010). The list of cyanobacterial species of the Czech Republic to the end of 2009. *Fottea*, 10(2), 245-249.
- Komárek, J. (2006). Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae*, 21(4), 349-375.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. (1989). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4. Nostocales. *Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Monographische Beiträge*, 82(3), 247-345.
- Komárek, J., Ventura, S., Turicchia, S., Komárková, J., Mascalchi, C., Soldati, E. (2005). Cyanobacterial diversity in alkaline marshes of northern Belize (Central America). *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 265-278.
- Korelusová, J. (2008). Phylogeny of heterocystous cyanobacteria (Nostocales and Stigonematales). *Jihočeská univerzita, České Budějovice*, diplomová práce, 33 pp.
- Laughinghouse, H. D., Berthold, D. E., Marble, S. C., Saha, D. (2019). Biology and management of *Nostoc* (cyanobacteria) in nurseries and greenhouses. *EDIS*, (2), 1-4.
- Martins, M. D., Branco, L. H. Z. (2016). *Potamolinea* gen. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria): a phylogenetically and ecologically coherent cyanobacterial genus. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(9), 3632-3641.
- Martins, M. D., Rigonato, J., Taboga, S. R., Branco, L. H. Z. (2016). Proposal of *Ancylotrinx* gen. nov., a new genus of Phormidiaceae (Cyanobacteria, Oscillatoriales) based on a

polyphasic approach. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(6), 2396-2405.

Miscoe, L. H., Johansen, J. R., Vaccarino, M. A., Pietrasiak, N., Sherwood, A. R. (2016). II Novel cyanobacteria from caves on Kauai, Hawaii. In: Miscoe, L. H., Johansen, J. R., Kociolek, J. P., Lowe, R. L., Vaccarino, M. A., Pietrasiak, N., Sherwood, A. R. (Eds.): *The diatom flora and cyobacteria from caves on Kauai, Hawaii* (pp. 75-152). Bibliotheca Phycologica, Stuttgart. ISBN 978-3-443-60047-1.

Mühlsteinová, R., Hauer, T. (2013). Pilot survey of cyanobacterial diversity from the neighborhood of San Gerardo de Rivas, Costa Rica with a brief summary of current knowledge of terrestrial cyanobacteria in Central America. *Brazilian Journal of Botany*, 36(4), 299-307.

Rascher, U., Lakatos, M., Büdel, B., Lüttge, U. (2003). Photosynthetic field capacity of cyanobacteria of a tropical inselberg of the Guiana Highlands. *European Journal of Phycology*, 38(3), 247-256.

Rigonato, J., Alvarenga, D. O., Fiore, M. F. (2017). Tropical cyanobacteria and their biotechnological applications. In: de Azevedo, J. L., Quecine, M. C. (Eds.): *Diversity and benefits of microorganisms from the tropics* (pp. 139-167). Springer, Cham. ISBN 978-3-319-55803-5.

Rigonato, J., Gama, W. A., Alvarenga, D. O., Branco, L. H. Z., Brandini, F. P., Genuario, D. B., Fiore, M. F. (2016). *Aliterella atlantica* gen. nov., sp. nov., and *Aliterella antarctica* sp. nov., novel members of coccoid Cyanobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(8), 2853-2861.

Rodarte, B., Becerra-Absalon, I., Montejano, G. A., Osorio-Santos, K., Alba-Lois, L., Leon-Tejera, H., Segal-Kischinevzky, C. (2014). Morphological and molecular characterization of *Brasilonema roberti-lamii* (Cyanophyceae, Nostocales, Scytonemataceae), from Central Mexico. *Phytotaxa*, 164(4), 255-264.

Romanenko, P. A., Vinogradova, O. N., Romanenko, E. A., Mikhailyuk, T. I., Babenko, L. M., Ivannikov, R., Scherbak, N. N. (2020). Morphological and molecular characterization of the representative of *Brasilonema* (Scytonemataceae, Cyanoprokaryota) from the tropical greenhouse in Kiev (Ukraine). *International Journal on Algae*, 22(2).

- Sant'Anna, C. L., Azevedo, M. P., Fiore, M. F., Lorenzi, A. S., Kaštovský, J., Komárek, J. (2011). Diversidade subgenérica de *Brasilonema* (Cyanobacteria, Scytonemataceae). *Brazilian Journal of Botany*, 34(1), 51-62.
- Sant'Anna, C. L., Bicudo, R. M. T., Pereira, H. A. S. L. (1983). Nostocophyceae (Cyanophyceae) do Parque estadual da ilha do Cardoso, estado de São Paulo, Brasil. *Rickia*, 10, 1-27.
- Vaccarino, M. A., Johansen, J. R. (2012). *Brasilonema angustatum* sp. nov. (nostocales), a new filamentous cyanobacterial species from the hawaiian islands. *Journal of Phycology*, 48(5), 1178-1186.
- van den Hoek, C. (1984). World-wide latitudinal and longitudinal seaweed distribution patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of Rhodophytan genera. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 38(2), 227-257.
- Vaz, M. G. M. V., Genuario, D. B., Andreote, A. P. D., Malone, C. F. S., Sant'Anna, C. L., Barbiero, L., Fiore, M. F. (2015). *Pantalaninema* gen. nov. and *Alkalinema* gen. nov.: novel pseudanabaenacean genera (Cyanobacteria) isolated from saline-alkaline lakes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(1), 298-308.
- Villanueva, C. D., Garvey, A. D., Hašler, P., Dvořák, P., Poulíčková, A., Norwich, A. R., Casamatta, D. A. (2019). Descriptions of *Brasilonema geniculatum* and *Calothrix dumus* (Nostocales, Cyanobacteria): two new taxa isolated from cemetery tombstones. *Phytotaxa*, 387(1), 1-20.
- Villanueva, C. D., Hašler, P., Dvořák, P., Poulíčková, A., Casamatta, D. A. (2018). *Brasilonema lichenoides* sp. nov. and *Chroococcidiopsis lichenoides* sp. nov. (Cyanobacteria): two novel cyanobacterial constituents isolated from a tripartite lichen of headstones. *Journal of phycology*, 54(2), 224-233.
- Wallace, A. R. (1876). The geographical distribution of animals. Harper & Brothers, New York, 503 pp.
- Zehnder in Staub R. (1961). Ernährungphysiologisch-autökologische Untersuchung an den planktonischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* DC. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, 23, 82-198.

Internetové zdroje

Algaebase, databáze [online]. [cit. 17. 10. 2021]. Dostupné z WWW: <<https://www.algaebase.org/>>

Fakta o klimatu [online]. [cit. 17. 10. 2021]. Dostupné z WWW: <Průměrná teplota v ČR v jednotlivých měsících (faktaoklimatu.cz)>

Infomet, informační web ČHMÚ [online]. [cit. 3. 1. 2022]. Dostupné z WWW: <<http://www.infomet.cz/index.php?id=read&idd=1299511636>>

In-počasí [online]. [cit. 5. 5. 2020]. Dostupné z WWW: <Klima České republiky | In-počasí (in-pocasi.cz)>

The British Geographer [online]. [cit. 17. 10. 2021]. Dostupné z WWW: <<http://thebritishgeographer.weebly.com/the-climate-of-tropical-regions.html>>

8. Seznam zkratek

ITCZ – Intertropical convergence zone (intertropická zóna konvergence)

BSCs – Biological soil crusts (biologické půdní krusty)

NJ metoda – Neighbour-joining

MP metoda – Maximum parsimony

BS metoda – Bayesian statistics

ML metoda – Maximum likelihood