

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

BIODIVERSITA A SPECIACE VLÁKNITÝCH SINIC
BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Filip Mahdal

Biologie a environmentální výchova-Geografie

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: Mgr. Svatopluk Skoupý

Olomouc 2021

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Biodiversita a speciace vláknitých sinic vypracoval samostatně a s použitím uvedené literatury a zdrojů.

V Olomouci 2021

Filip Mahdal

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce Mgr. Svatoplukovi Skoupému a Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. za ochotu a cenné rady, které mi při vypracování této práce poskytli. Dále bych rád poděkoval své přítelkyni a rodině za trpělivost a podporu.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Filip Mahdal

Název práce: Biodiversita a speciace vláknitých sinic

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra Botaniky PřF UP

Vedoucí práce: Mgr. Svatopluk Skoupý

Rok obhajoby: 2021

Abstrakt:

Diverzita vláknitých sinic není stále dostatečně popsána a v poslední době přináší řada autorů nové poznatky k jejich skryté diverzitě díky rozvoji metod molekulární biologie. Literární rešerše pojednává o sinicích, jejich roli v ekosystému, diverzitě, klasifikaci, morfologii a speciaci.

Praktická část se zabývá izolací a determinací jednotlivých kmenů sinic získaných z různých geografických lokalit pomocí morfologické analýzy a fylogenetické rekonstrukce na základě sekvenace 16S-23 ITS. V textu je uvedena metodika kultivace sinic, morfologické hodnocení, postup extrace DNA, PCR a sekvenování. Ve výsledcích je každý druh morfologicky popsán a zařazen do fylogenetického stromu. Podařilo se vyizolovat 16 kmenů sinic, z nichž 4 mohou spadat do nových rodů a u 11 se může jednat nové druhy.

Klíčová slova: sinice, půda, diverzita, speciace.

Počet stran: 80

Počet příloh: 1

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification**Autor's first name and surname:** Filip Mahdal**Title:** Biodiversity and speciation of filamentous cyanobacteria**Type of thesis:** Bachelor thesis**Department:** Department of Botany PŘF UP**Supervisor:** Mgr. Svatopluk Skoupý**The year of presentation:** 2021**Abstract:**

The diversity of filamentous cyanobacteria is not well described. Recently, many authors who bring a new knowledge about their hidden diversity due to development of molecular biology. Literature recherche informs about cyanobacteria, their role in ecosystem, diversity, classification, morphology and speciation.

The practical part deals with isolation and determination of individual strains of cyanobacteria obtained from different geographical localities with assistance of morphological analysis and phylogenetic reconstruction based on sequencing 16S-23 ITS. Methodology of cyanobacteria cultivation, morphological evaluation, DNA extraction procedure and sequencing are discussed in the text. In the results, individual species are described and included in phylogenetic tree. Sixteen strains of cyanobacteria were isolated, four of which may belong to new genera and eleven of them could represent a completely new species.

Keywords: cyanobacteria, soil, diversity, speciation.**Number of pages:** 80**Number of appendices:** 1**Language:** Czech

Obsah

1	Úvod	13
2	Půdní organismy	14
2.1	Struktura půdy	14
2.2	Role půdních organismů	16
3	Sinice	17
3.1	Vývoj sinic	17
3.2	Stavba sinic	17
3.2.1	Rozmnožování	21
3.3	Sběr	22
3.3.1	Využití	23
3.3.2	Toxiny	23
3.4	Pohyb a distribuce	24
3.5	Symbióza	25
3.5.1	Mechorosty	26
3.5.2	Lišejníky	27
3.5.3	Anabaena – Azolla	27
3.5.4	Krytosemenné rostliny	27
4	Klasifikace a fylogeneze	29
4.1	Morfologická	30
4.2	Genetická	31
4.2.1	PCR	32
4.3	Speciace	33
4.4	Existuje druh?	34
5	Cíle práce	36
6	Materiál a metody	37

6.1	Biologický materiál.....	37
6.2	Kultivace sinic	37
6.3	Extrace DNA.....	38
6.4	Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	38
6.5	Fylogenetická analýza.....	39
6.6	Morfologická analýza	39
7	Výsledky.....	40
7.1	Morfologická analýza	40
7.2	Fylogenetická analýza.....	57
8	Diskuze.....	59
9	Závěr.....	62
10	Didaktická část	64
11	Literatura	65

1 Úvod

Sinice (Cyanobakterie) patří mezi první obyvatele naší planety. Podle odhadů se jejich geologické stáří pohybuje v rozmezí 2,7 až 3,5 miliardy let. Tyto důkazy stáří sinic byly získány ze stromatolitů – hornin vniklých usazováním uhličitane vápenatého uloženého v slizovém obalu vláknitých sinic. Zhruba miliardu let byly také dominantní skupinou organismů vyskytující se na Zemi. Vděčíme jim hlavně za zamoření planety jejich odpadním produktem fotosyntézy – kyslíkem. Od té doby se složení atmosféry drasticky nezměnilo a život na planetě se novému složení atmosféry přizpůsobil.

Český název sinice pochází z termínu siný, který odráží složení a barvu fotosyntetických barviv, která je modrá.

Sinice jsou schopny přežívat v běžných i extrémních ekosystémech, zejména v těch vodních. Mezi jejich stanoviště se řadí ledovce, horká vřídla, kůra stromů či antropogenní substráty. Jisté sinice nacházíme v radioaktivních či jinak zamořených vodách.

Jedná se většinou o fotoautotrofní, fotolitotrofní organismy, které stejně jako rostliny plní v přírodě roli primárních producentů.

2 Půdní organismy

Diverzitu půdy odráží směs živých organismů, které se zde vyskytují. Na jeden gram půdy připadá až 10 miliard organismů v zastoupení až tisíce druhů, které interagují s rostlinami a drobnými zvířaty za účelem vytvoření rozmanité biologické sítě (Barot a kol., 2007). Tato síť složená z brouků, chvostoskoků, roztočů, červů, pavouků, mravenců, hlístic, hub, bakterií a dalších organismů a vytváří biologicky nejrozmanitější část Země (Bonkowski a kol., 2009, Muller a kol., 2016). Protože je popsáno či kultivováno méně než 1 % organismů pozorovaných pod mikroskopem, je půdní síť stále nedostatečně zmapovaný ekosystém (Amman a kol., 1995)

Organismy vyskytující se v půdě umožňují vstup a akumulaci vody, odolnost vůči erozi, výživu rostlin a vstřebávání organických látek. Působí také jako primární hnací síla koloběhu živin, rozkladu organické hmoty, regulace skleníkových plynů, úpravy fyzikálních vlastností vody, zvýšení množství a účinnosti živin a zlepšení zdraví rostlin. Půdní organismy jsou tak nepostradatelné pro fungování zbylých ekosystémů a správný chod zemědělství. (Hesammi a kol., 2014)

2.1 Struktura půdy

Pórovitost v matici pevných materiálů (půdní částice a organická hmota) určuje strukturu půdy. Pevné materiály společně agregují k vzniku pórů a prasklin. Množství, distribuce a uspořádání pórů determinuje množství zadržované vody, infiltraci, propustnost a kořenové dýchání (Franzluebbers, 2002).

Pouze 50 % půdy se skládá z pevného materiálu, zbytek tvoří pórovitý prostor, ve kterém probíhají veškeré interakce (ukládání vody, výskyt organismů a hromadění živin). Menší póry slouží jako útočiště, větší trhliny a póry zase umožňují cestu plynům, vodě a organismům (Brussaard a kol., 1997). Organický materiál může být přidáván ve formě rostlinných či živočišných zbytků, hnoje, kalu a hnojení. Tyto složky jsou přidávány povrchově a jsou nezbytné pro vývoj zrnité půdy (Hesammi a kol., 2014)

Na rozdíl od složení půdy (bahno, jíl, písek) se struktura půdy dynamicky liší na základě mechanického a hydraulického působení přírodních (povětrnostní podmínky, aktivita kořenů) a zemědělských (zpracování půdy, zhutnění půdy ze zemědělské dopravy) vlivů, které působí na půdu v řádech sekund až let (Hesammi a kol., 2014).

Agregáty jsou sekundární částice vytvořené kombinací minerálních částic s organickými a anorganickými látkami. Složitá dynamika agregace je výsledkem interakce mnoha faktorů včetně životního prostředí, hospodaření s půdou, vlivu rostlin a vlastností půdy, minerálním složením, strukturou, pedogenními procesy, mikrobiální aktivitou, výměnou iontů, zásobou živin a dostupností vlhkosti (Kay, 1998).

Agregáty se ukládají různými způsoby a velikostmi. Podle velikosti půdních zrn se půda dělí na makročástice (>250 μm) a mikročástice (<250 μm) (Tisdall a Oades, 1982).

Hlístice patří mezi nejpočetnější mnohobuněčné organismy vyskytující se v půdě na celé planetě, od arktických po tropické oblasti. Velikostně se pohybují od 0,1 do 2 mm. Jejich tělo je příliš malé a měkké k tlačení půdních částic na stranu, proto využívají vodní film k pronikání skrz půdní póry (Hesammi a kol., 2014)

Chvostokoci jsou drobní živočichové, kteří jsou viditelní pouhým okem, ale mikroskop zviditelní jejich skryté detaily. Žijí v hloubce do deseti centimetrů v trhlinách naplněných vzduchem. Jsou velcí 1-3 mm a na jejich těle se nachází 3 páry malých končetin a na spodní straně je uložen pružící orgán, pomocí něhož dokážou vyskočit do výšky až deseti centimetrů (Christiansen a kol., 2009)

Houby jsou v půdě obtížně pozorovatelné. Jejich mikroskopická vlákna prorůstají skrze kousky organické hmoty, půdy, mrtvého dřeva, hnoje a kusy uhynulých živočichů. Zde houby rozkládají detrit a přinášejí tím živiny zpět do půdy (Ternan a kol., 1996). Mnoho druhů půdních hub žije v symbióze s rostlinnými kořeny, kterým pomáhají rozšířit povrch určený k absorpci živin.

Půda je rovněž bohatá na bakterie, které v nepříznivých podmínkách (převážně sucho) tvoří spory a následně dokážou vyklíčit a opět růst. Potravu bakterií tvoří organická hmota, podestýlka, hnůj, půda a mršiny. Spolu s houbami tvoří skupinu hlavních půdních rozkladačů (Hesammi a kol., 2014). Některé bakterie dokážou poutat vzdušný dusík a následně ho upravit do podoby vhodné pro rostliny (Kien a Kandeler, 1997). Vyskytují se volně v půdě či přímo na kořenech rostlin.

Kromě bakterií a hub se v půdě nacházejí další mikroorganismy. Nalezneme zde kvasinky, aktinomycety, viry a řasy či sinice. První dvě zmíněné skupiny organismů vytvářejí propojená vlákna a podílejí se na rozkladu hmoty. Půdní viry, živící se bakteriemi, jsou stále nedostatečně prozkoumanou skupinou organismů (Hesammi a kol., 2014).

Sinice představují nezastoupitelnou složku půdy v aridních a semiaridních oblastech, kde spolu s lišejníky, houbami a mechy tvoří součást půdních krust (Faist a kol., 2017). Význam těchto biologických krust spočívá v úpravě množství dusíku a fosforu v půdě a v regulaci eroze. Lepivé polysacharidové obaly sinic zvyšují schopnost půdy zadržovat vodu a zachycovat částice bohaté na živiny, což vede ke zvýšení úrodnosti půdy. (Faist a kol., 2017).

2.2 Role půdních organismů

Všechny již zmíněné organismy plní v půdě neodmyslitelné funkce. Mezi ty nejdůležitější patří (Amezket, 1999; Winsome a McColl, 1998; Brown a kol., 2000):

- Rozkládání organických zbytků
- Recyklování živin z organických zbytků
- Zlepšení struktury půdy
- Zlepšují provzdušnění a pórovitosti
- Zvýšení stability půdy
- Promíchání půdy

Půdní organismy odbourávají organické látky, jako jsou mrtvé rostliny, zvířata a hnůj a používají je jako zdroj potravy a živin v procesu uvolňování chemických látek do půdy v podobě, ve které je mohou rostliny znovu použít (Hesammi a kol., 2014). Tento proces vytváří chemickou plodnost půdy. Dekompoziční bezobratlí a mikrobi vykonávají podstatně rozdílné role v rozkladu organického odpadu. Bezobratlí nemají tak významný podíl na chemickém rozkladu, jako mikrobi, pomáhají jim však ve výkonu mnohem důležitějších pochodů.

Kvalitní struktura půdy, které napomáhají velká zvířata (např. žížaly, brouci, mravenci a cikády) a mikrobi, napomáhá fyzické úrodnosti půdy (Brown a kol., 2000; Jegou a kol., 2001). S příhodnou strukturou půdy se zvyšují příznivé účinky, včetně zlepšení přenosu vody skrz póry, nižší objemové hustoty a nižší potenciál eroze půdy. Velká půdní zvířata vytvářejí tunely skrze půdu (Amezket, 1999). Vytváření otvorů v půdě napomáhá přenosu vody a půdní hydrologii. V případě snadného pronikání vody do půdy se snižuje riziko eroze. Během pohybu těchto organismů dochází k promíchání půdních vrstev a míchání organické hmoty, kterou konzumují.

3 Sinice

3.1 Vývoj sinic

Sinice se neodmyslitelně zapsaly do historie Země. Vděčíme jim zejména za velkou kyslíkovou katastrofu (Bekker, 2004) před 2,4 miliardami let, při které obohatily atmosféru a oceány kyslíkem. Pro nás nezbytný kyslík v tehdejší době způsobil anaerobním organismům fatální zkázu. Sinice strategicky vyvinuly schopnost fotosyntézy a tím zvýšily světovou diverzitu složitých organismů (Lewis, 2017).

Před 1,05 miliardami let se schopnost fotosyntézy začala šířit mezi většinu eukaryotických organismů, čímž započal vznik řas a rostlin. Tento nesmírně důležitý krok byl způsoben vznikem endosymbiózy sinice uvnitř eukaryotického organismu (Sagan, 1967). K této teorii se přiklání biochemické, ekologické, strukturální a molekulární analýzy (Giovannoni a kol., 1988), přesto je předek mitochondrií stále nevyřešenou záhadou (Falcón, 2010).

Ke studiu paleontologického původu sinic je známo mnoho metod, všechny však mají své výhody a omezení. Stromatolity jsou obvykle spojeny s aktivitou sinic. Zdá se, že kónické stromatolity jsou pozůstatkem fotosyntézy (Bosak, 2009), další druhy stromatolitů a mikrobiálních indukovaných struktur (MISS) (Noffke, 2001) mohou být vyprodukovány například anoxygenními fototrofními bakteriemi (Bosak a kol., 2013) či metanotrofy (Slotznick a Fisher, 2016), tím pádem stromatolity a MISS nemusí nutně znamenat výskyt sinic a fotosyntézy (Suosaari a kol., 2016).

Mikrofosílie dokážou poskytnout přímý důkaz o sinicích, jenomže jejich identifikace je často nejednoznačná. V nynější době známe tři fosilní taxony, o nichž není pochyb, že se jedná o sinice. Jedná se o *Eoentophysalis*, *Eohyella* a *Polybessurus*. První zmiňována je interpretována jako nejstarší sinice (Hofmann, 1976).

3.2 Stavba sinic

Většinu sinic je možné pozorovat okem pouze v okamžiku, kdy se nacházejí ve velkých seskupeních. Na pozorování jednotlivých organismů je třeba použít mikroskop. Sinice tvoří několik typů stélek (Obr. č. 1). Stélka sinic může být jednobuněčná (kokální) nebo vláknitá (trichální), bez bičíkatých stádií. Mohou žít jednotlivě, nebo tvořit kolonie (Rippka a kol., 1979). Velikost kolonií a tvar buněk je charakteristický pro jednotlivé skupiny (Kaštanovský a Hauer, 2018)

Kokální typy

Jednotlivé buňky bez výrazných slizových obalů

Buňky mohou být oválné, dělicí se v jedné rovině. Častěji se však setkáme buňkami kulovitými až polokulovitými, dělicí se ve dvou rovinách (*Synechocystis*), popřípadě s buňkami válcovitými, minimálně dvakrát delšími, než širokými a různě prohnutými, bez nebo s nezřetelnými slizovými obaly (*Synechococcus*).

Prostorové či lineární kolonie

Slizové obaly mohou nabývat různé tloušťky kopírující tvar buňek, Buňky v kolonii nejsou uspořádány radiálně. Buňky před dělením nedosáhnou původní velikosti ani tvaru (*Chroococcus*). Kolonie kulovité, nebo oválné, často složené ze dvou polokulovitých subkolonií. Buňky hustě nahloučené, radiálně uspořádané po obvodu kolonie (*Woronichinia*).

Ploché či zprohýbané kolonie

Buňky kolonie jsou mikroskopické, u některých druhů makroskopické, ploché, kulaté, v navzájem kolmých řadách (*Merismopedia*), popřípadě zřetelně oválné, uložené v nepravidelných řadách (*Microcrocis*).

Buňky přisedlé k podkladu, rozmnožující se exocyty

Slizová pochva může být silně redukována, chybět, popřípadě může být jasně vyvinutá. Starší buňky válcovité, exocyty oddělující se jednotlivě (*Geitleribactron*). Rovněž se mohou exocyty odškrcovat jednotlivě nebo v krátkých řadách z heteropolárních buněk, dělení asymetrické (*Chamaesiphon*).

Jednoduchá vlákna bez heterocytů a akinet, větvená i nevětvená

Vlákna pravidelně šroubovitě stočená, trichomy mírně či nezaškrcované. V přítomnosti aerotopů vždy širší než 5 μm . Buňky přibližně izodiametrické nebo delší než široké (*Spirulina*). Nevětvené trichomy bez zřetelných pochev (za optimálních podmínek), buňky jsou vždy minimálně dva krát širší, než delší. Při buněčném dělení dceřiné buňky nedorostou původní délky před započítím dělení následujícího (*Oscillatoria*). V případě nevětvených trichomů s tenkými pochvami, nebo bez nich, buněk širších než delších a dorůstání původní délky před započítím buněčného dělení se jedná o *Phormidium*. U ohnutých koncových buněk, zpravidla zašpičatělých, s hlavičkou na konci a neodlišitelnou chromatoplazmou se jedná o *Geitlerinemu*.

Izopolární nevětvená vlákna s heterocyty, popřípadě s akinetami

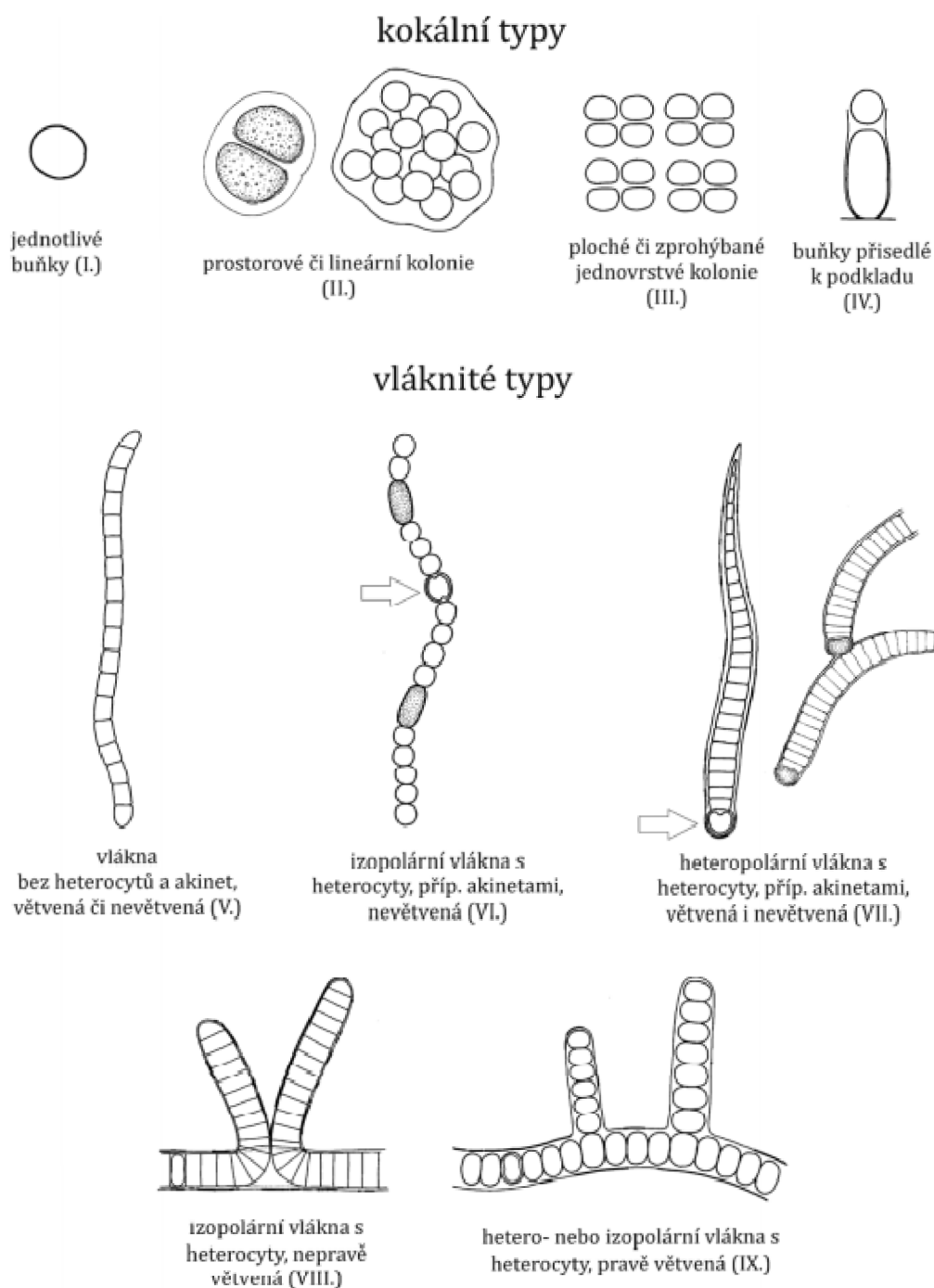
Trichomy přibližně rovné, nikdy šroubovitě stočené, na koncích trichomů se nacházejí více či méně protáhlé heterocyty, popřípadě chybějí. Akinety jsou výrazně větší, než jsou vegetativní buňky, vznikající paraheterocyticky, trichomy vzájemně propletené, bez tuhé slizové pochvy (*Anabaena*). V případě makroskopických amorfních kolonií s tuhým peridermem na povrchu s trichomy nahloučených do skupin s terminálními heterocyty se jedná o *Nostoc*.

Heteropolární větvená i nevětvená vlákna s heterocyty, případně akinetami

Trichomy větvené, větve zpravidla zůstávají připojeny k mateřskému vláknu, ve společné slizové kolonii, uspořádané radiálně (*Gleotrichia*). Trichomy jednotlivé, někdy tvořící shluky, nikdy však nejsou makroskopické (*Calothrix*). V případě sdružených trichomů do přibližně polokruhovitých kolonií, často vrstevnatých a inkrustovaných se jedná o *Rivulariu*.

Vlákna s pravým větvením a heterocyty

Trichomy jedno až víceřadé, trochomy po celé stélce žlutohnědé, buňky kulovité, vejčité, nepravidelně oválné (*Stigonema*). V případě stejné šířky trichomů bočních vláken, jako je šířka vlákna hlavního se jedná o *Hapalosiphon*.



Obr. č. 1: Stavba sinic

Převzato z: Atlas sinic a řas (Kaštanovský a kol., 2018)

Buněčná stěna sinic je čtyřvrstvá, velice pevná, avšak propustná pro plyny. Na jejím povrchu je krytá mnohvrstevnatými slizovými obaly, složenými z polysacharidů (Šmarda a kol., 2002)

Nejnápadnějším útvarem uvnitř buňky jsou thylakoidy, což jsou ploché váčky s fotosyntetickým aparátem (Komárek a kol., 2014). V membráně thylakoidu jsou uloženy chlorofyl a, α - a β - karoten a xantofyly. Na povrchu thylakoidních váček se nachází tzv. fykobilizómy. Tyto drobné útvary obsahují specifická barviva zvaná fykobiliny. Fykobiliny jsou celkem tři, dva z nich jsou modré (c-fykocyanin a allofykocyanin) a jeden je červený (c-fykoerythrin). Tyto pigmenty plní funkci světelného čidla (Bhaya a kol., 2007; Nowack a kol., 2015; Olsen a kol., 2015). Sinicové pigmenty jsou velice citlivé na světlo, a proto umožňují fotosyntézu i ve velmi nehostinných podmínkách, jako je jeskyně, dno oceánu, a dokonce také ve štěrbinách kamenů.

S fotosyntézou souvisí přítomnost karboxyzomů. Tato malá mnohostěnná tělíška zajišťují fixaci oxidu uhličitého v Calvinově cyklu enzymem RuBisCo (Badger a Price, 2003). Produktem fotosyntézy je α -1,4 glukán, neboli sinicový škrob. Svými vlastnostmi je sinicový škrob velmi podobný glykogenu a na snímcích v transmisním elektronovém mikroskopu se jeví ve formě bílých granulí.

V cytoplazmě sinic, zejména těch tvořící vodní květ, se nacházejí plynové měchýřky uspořádané do aerotopů. Měchýřky tvoří pevnou vrstvu, která umožňuje plynům rozpuštěných ve vodě pronikání do buňky. Tyto orgány umožňují sinicím se vznášet.

Podstatnou součástí anatomie sinic je také heterocyt. Tato specializovaná buňka se nachází pouze u některých skupin sinic. Vzniká z vegetativní buňky a nachází se intracelulárně či terminálně na filamentech (Kumar a kol., 2010). Nejvýraznější heterocyt nalezneme u skupiny *Nostocales*. Slouží k fixaci vzdušného dusíku v případě jeho nedostatku ve vodním prostředí pomocí enzymu nitrogenáza (Meeks a kol., 2002). V jejich prokaryotických buňkách chybí jádro, endoplazmatické retikulum, golgiho aparát, cytoskelet, chloroplasty a mitochondrie.

3.2.1 Rozmnožování

Sinice se rozmnožují pouze nepohlavně (vegetativní rozmnožování), pohlavní rozmnožování není doposud známo. Buňky všech druhů sinic se rozmnožují prostým dělením buňky (proces, při kterém z jedné buňky mateřské vzniká několik buněk dceřiných) pomocí zaškrcení plazmatické membrány (Castenholz a kol., 2001). Vlákňité sinice se také mohou

množit fragmentací (Jenkins, 1991), kdy z fragmentů mateřské kolonie vyroste nové vlákno. Mnoho druhů sinic volí strategii rozmnožování pomocí spor. Mezi nejvýznamnější lze zařadit (Komárek a Anagnostidis, 1998):

- Baeocyty (exocyty) – pohyblivé či nepohyblivé endospory
- Hormomogonie – pohyblivá vlákna z buněk spojených slizem, která se oddělují od mateřského vlákna a dorůstají v nová. Vniká v důsledku nadměrného stresu
- Akinety – trvalé spory, sloužící k přežití v nepříznivých podmínkách.

3.3 Sběr

Sinice se vyskytují v celé řadě ekosystémů, zejména pak v těch vodních či půdních. V tekoucích vodách žijí sinice převážně přisedlé na dně (bentos). Ve stojatých a pomalu tekoucích vodách se kromě bentosu vznášející volně ve vodním sloupci (plankton).

Metoda sběru sinic se liší podle ročního období a prostředí, ve kterém se nacházejí. Plankton se nabírá do objemných láhví. V laboratoři se následně zahušťuje pomocí centrifugace, filtrace, popřípadě sedimentací. Bez zahuštění bohužel nelze plankton pozorovat. Další zpracování a uchování je následně závislé na pozorované skupině. Je potřeba sinice kultivovat pro následné pozorování v laboratoři, protože bez následného určení životního cyklu není možné určit, do které skupiny náleží. Půdní sinice je třeba sušit na vzduchu a ponechat ve vlhkém stavu v plastových sáčcích (Castenholtz, 1988).

Tato kultivace může být mnohdy velmi jednoduchá a lze ji provést v domácích podmínkách. Nádobu se vzorkem necháme položenou na světlém místě a průběžně pozorujeme.

V algologii se využívá celá řada preparačních, kultivačních a zobrazovacích metod. Levnější mikroskopy využívají metodu světlého pole. Dražší technologie jsou založeny na metodě Nomarského kontrastu, která umožňuje kvalitní zobrazení buněčných struktur, stěny a slizu. Podrobnější detaily lze pozorovat pod elektronovým mikroskopem. Transmisní elektronový mikroskop (TEM) umožňuje pozorovat vnitřní buněčné struktury. Trojrozměrný obraz získáme za pomoci skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). V mnoha případech je potřeba sinice před pozorováním nabarvit.

3.3.1 Využití

Kromě produktů fotosyntézy vypouštějí sinice do svého okolí také značné množství produktů sekundárního metabolismu z jiného biologického odpadu (alkaloidy a oligopeptidy), které jsou toxické pro životní prostředí i člověka (Dittmann a kol., 2013). Sekundární metabolity nepůsobí pouze negativně. Mnoho toxinů a sekundárních metabolitů nachází možné uplatnění v medicíně, jako vhodný lék v léčbě některých nemocí (Singh a kol., 2011). Množství zástupců rovněž nabízí potenciální využití v biotechnologii. Využívají se jako alternativní zdroj energie, čištění odpadních vod, degradace oleje, přihnojování polí v zemědělství a jako zdroj potravy lidí a zvířat (Abed a kol., 2008).

3.3.2 Toxiny

V letních měsících si na vodní hladině nelze nevšimnou zeleného povlaku nazývaného vodní květ. Tento jev nastává v případě přemnožení mikroorganismů, převážně sinic. V důsledku antropogenní činnosti bývá do prostředí vypouštěno daleko více materiálů, které podporují množení těchto organismů. Jedná se zejména o fosfor a dusík. V obvyklém případě se nacházejí sinice v celém vodním sloupci, avšak během tohoto jevu se sinice pomocí aerotopů dostanou až k vodní hladině, kde vytvoří dojem zelené hladiny. Situace nepůsobí pouze neestetickým dojmem, sinice do svého okolí vypouští mnohdy nebezpečné látky, které mohou způsobit vážné zdravotní problémy (Whitton, 1992) Toxiny vypouštějící do okolí se nazývají cyanotoxiny a způsobují akutní i chronické dopady na celou řadu orgánů, imunitní systém, embryonální vývoj a mnohdy jsou také karcinogenní (Chorus a Bartram, 1999; Mulvenna a kol., 2012). Zasahují rovněž rostliny v případě zavlažování toxickou vláhou. Je prokázán vznik nekróz, inhibice růstu a fotosyntézy a změny poměru chlorofylů. Doposud stále nebyla zodpovězená nejdůležitější otázka: proč sinice vůbec cyanotoxiny vypouštějí a jaká jejich ekologická funkce v ekosystému? Převládá mnoho teorií a názorů. Vzhledem k faktu, že složení cyanotoxinů se chemicky liší v každém kmeni, tak jediná univerzální odpověď neexistuje. Nejčastější teorie připisují cyanotoxinům produkovanými sinicemi biologickou funkci obranných molekul proti predátorům (především zooplanktonu) a zásobním látkám dusíku v přírodě. Další hypotéza popisuje, že jsou toxiny do okolí vypuštěny přímo za účelem potlačení výskytu konkurenčních fotosyntetizujících autotrofních organismů (Van Liere a Mur, 1979). Je stále záhadou, proč v eutrofizovaných vodách dochází tak často k dominanci sinic (převážně planktonní rody *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktohrix*, *Cylindrospermopsis*) na úkor zbylých vodních fotoautotrofních organismů.

3.4 Pohyb a distribuce

Sinice ve většině případů nejsou schopny aktivního pohybu, jelikož se na jejich povrchu nenachází žádné bičíky, které by pohyb umožňovaly. Jsou však schopny pohybu za světlem pomocí útvarů zvaných aerotopy. Tato schopnost byla až do 19. století zcela neznámá (Engelmann, 1883).

Vzhledem k absenci bičíku si sinice dokázaly vytvořit jiné mechanismy pohybu. Vlákňité sinice, zejména *Oscillatoriales*, dokáží vytvořit na svém povrchu sliz, který je tlačí substrátem.

Nalezneme je v nepřeberném množství ekosystémů. Jejich habitat představují sladkovodní a mořské ekosystémy, jako jsou jezera (Rippka, 1988), slániska (Rejmánková, 2004), pobřežní vody (Curren, & Leong, 2018), otevřené oceány (Reed & Stewart, 1985; Harding a kol., 2018) a také extrémní stanoviště, jako jsou hydrotermální prameny (Cerqueira a kol., 2017), pouště (Billi a kol., 2017) a polární či aplinské oblasti (Pessi a kol. 2018) Jejich geografické rozmístění determinují zejména klimatické podmínky jako teplota, vlhkost a množství srážek. Distribuci sinic také ovlivňují další abiotické faktory, jako salinita a dostatek zdrojů živin (Liengen, 1999).

Pohyb na delší vzdálenosti je pro sinice bez pomoci okolních faktorů prakticky nemožný. Nejčastěji jsou sinice disperzovány ve formě klidových stádií za pomoci aerosolů či prachu atmosférickými jevy (Sharma a kol., 2010). Přítomnost mikroorganismů ve vzduchu je lidstvu známá už od roku 1884. Tento způsob transportu je však zanedbatelně prozkoumaný z důvodu obtížného získávání vzorků z vzdušného prostředí (Tesson a kol., 2016). Rozptyl sinic není omezen pouze na jednobuněčné rody, ale také na rody mnohobuněčné, jako jsou *Lyngbya* a *Nostoc*, ve formě trichomů (Lewandowska a kol., 2017). Sinice vyskytující se ve vzdušném prostředí musí zabránit svému vysychání při přepravě na dlouhé vzdálenosti. Určité rody vylučují extracelulární polymerní látky (EPS), které obklopují jejich vlákna hustým glykanovým obalem (Pathak a kol., 2017), který v sobě zadržuje vodu a vytváří tak vhodné podmínky.

Fauna má na celosvětovém rozmístění sinic nesmírný vliv. Jsou rozšiřovány pomocí migrace vodních ptáků, ryb a jiných zvířat. Dle Velasqueza (1939) jsou dokonce některé sinice schopny přežít v trávicím traktu ryb, jelikož jsou jejich heterocyty rezistentní vůči enzymům v trávicím traktu ryb. V dnešní době k distribuci sinic přispívá svým dílem také člověk. Až 90 % světového obchodu je distribuováno pomocí lodní dopravy, a klidová stadia terestrických,

tak vodních sinic mohou snadno přežít na povrchu lodí. (Doblin a kol., 2007). Globalizace a relativně snadné cestování také přispívá k šíření sinic na podrážkách lidí či na pneumatikách aut (Curen a Leong, 2020).

Vodní sinice se mohou šířit i pomocí pasivního transportu v podobě vodních proudů. I na tom má však podíl činnost člověka. Oceány jsou totiž v dnešní době znečištěny plasty, které mají dlouhou životnost a snesou mnohdy podmínky, které vyhovují sinicím. Pomocí mořských proudů jsou poté sinice na povrchu plastových částic rozneseny do okolních moří (HidalgoRuz a kol., 2012).

3.5 Symbióza

Úzké soužití dvou a více nepodobných organismů se obecně nazývá symbióza (Rosypal, 2003). Organismus vstupující do symbiózy se nazývá symbiont. Symbióza může mít mnoho podob. Symbionti si mohou vyměňovat organické či anorganické látky, popřípadě si mohou navzájem poskytovat ochranu. V široké veřejnosti panuje pod tímto pojmem spíše představa oboustranně prospěšného soužití.

Symbiózu můžeme dělit dle prospěšnosti na (Losos a kol., 1985):

- Parazitismus - jeden partner profituje, zatímco druhý ztrácí
- Komenzalismus - jeden organismus profituje a druhý není vůbec ovlivněn
- Mutualismus – vztah, během kterého profitují oba symbionti
- Amenzalismus - pro jednoho symbionta je tento vztah nevýhodný, zatímco druhý není ovlivněn

Dle vzájemné pozice dvou symbiontů na (Losos a kol., 1985):

- Ektosymbióza - jeden ze symbiontů se nachází na vnějším povrchu druhého symbionta
- Endosymbióza - probíhá buďto uvnitř buňky, nebo tělních částí

Dle důležitosti pro symbionta na (Losos a kol., 1985)

- Fakultativní – vzájemné soužití není pro symbionty nezbytně nutné
- Obligátní – symbióza je v tomto případě nezbytně nutná

Určité vztahy jsou tak těsné, že jeden partner nedokáže bez toho druhého žít. Dlouhodobé soužití těchto organismů může vést až ke vzniku nového druhu a tím zvýšení druhové diverzity organismů. Evolučně se symbióza neustále vyvíjí. Vztah mezi symbionty může přerůst z mutualismu k parazitismu a naopak.

Sinice vstupují do symbiózy v terestrickém i vodním prostředí (Cornelissen a kol., 2007). Sinice svým partnerům poskytují potřebný dusík, kterého je v půdě nedostatek. Jsou schopny konvertovat vzdušný dusík (N_2) na amoniak (NH_3), který rostliny využívají jako hnojivo a na oplátku poskytují sinici cukr (Adams a Dugan, 2008). Většina vztahů mezi sinicemi je fakultativní. Nejčastější sinicí vstupující do symbiotických vztahů je rod *Nostoc* a další sinice z řádů *Nostocales* a *Stigonematales* (Howard-Azzeh a kol., 2014).

Fenotyp symbiontních sinic je často modifikován, což komplikuje srovnání mezi symbiotickými a aposymbiotickými jedinci. Po vstupu sinice do hostitelské rostliny prochází sinice drastickými morfologickými i fyziologickými změnami. Vegetativní buňky se mohou rapidně zvětšit a nabývat nepravidelných tvarů. Klesá rychlost fixace CO_2 , stimuluje se fixace N_2 a snižuje se asimilace NH_3 (Adams a Duggan, 2008).

Sinice rovněž přispívají svému hostiteli v podobě vypouštění sekundárních metabolitů, včetně toxických sloučenin (Dittmann a kol., 2015). Cyanobionti produkují například hepatotoxické mikrocystiny a nodularin, čímž svému hostiteli pomáhají v odpuzování parazitů (Oksanen a kol., 2004). Tyto toxiny jsou známé ve vodním prostředí ve formě vodního květu, kde způsobují otravy a úhyn živočichů.

3.5.1 Mechorosty

Tyto stélkaté rostliny v sobě nejčastěji hostí sinici *Nostoc* (Adams, 2008). Vzhledem k hostiteli může být cyanobiont uvnitř, nebo mimo hostitele. Sinice dodává mechu dusík, který vypouští do svého okolí a tím obohacuje převážně arktický ekosystém.

Mnoho mechů tvoří na svém povrchu množství kolonií epifytických sinic. Tento vztah hraje důležitou roli v boreálních, arktických a mírných biomech (Solheim a kol., 1996) při fixaci N_2 a tím obohacením půdy o živiny a tepelné izolaci (Lindo a kol., 2013).

3.5.2 Lišejníky

Tyto organismy jsou tradičně definovány jako ekologicky závislí symbionti mezi houbou (mykobiont) a zelenou řasou/sinicí (fytobiont). Druhy vstupující do této symbiózy jsou na sobě závislé, jelikož mykobionta nelze pěstovat samostatně bez účasti fotobionta a také se zdá, že většina cyanobiontů nezakládá aposymbiotické populace mimo lišejník.

Symbióza mezi houbami a sinicemi se vyvinula nezávisle na sobě v mnoha liniích (Rikkinen, 2002) a zdá se, že mnohdy také zanikla. Soužití se vyvinulo minimálně desetkrát u *Ascomycota* a minimálně pětkrát u *Basidiomycota*, přičemž většina symbiotických vztahů nebyla doposud popsána (Lücking a kol., 2014).

Cyanobiont poskytuje mykobiontu cukry (glukózu) a fixovaný dusík ve formě dinitrogenu, houba na oplátku poskytuje sinici vodu, oxid uhličitý a stabilní prostředí.

3.5.3 *Anabaena* – *Azolla*

Azolla je rod vodních kapradin z čeledi nepukalkovité (*Salviniaceae*) zahrnující sedm existujících druhů (Evrard a Van Hove, 2004), které ve svých listech v slizovém obalu hostí sinici *Anabaenu* (Adams a kol., 2013). Tato sinice v sobě fixuje vzdušný dusík, který vylučuje do okolí a stává se zásobárnou živin pro okolní rostliny.

Tento vztah má vysoký ekonomický význam (Brouver a kol., 2014). Tohoto vztahu si v minulosti všimli zemědělci v Jihovýchodní Asii a využili jej ve svůj prospěch, zejména ve zvýšení produkce rýže. Před samotným sázením rýže se nechá na poli rozmnožit *Azolla* s *Anabaenou*, která do svého prostředí vypustí přírodní hnojivo a není již potřeba přihnojovat uměle (Newton, 1974).

3.5.4 *Krytosemenné rostliny*

Symbiotické vztahy mezi krytosemennými rostlinami a sinicemi jsou dle Osborna a Bergmana (2009) stále poměrně špatně definované. Příkladem symbiotického vztahu mohou být všechny druhy *Gunnera* z čeledi batorovité, které tvoří na svém oddenku endosymbiotický vztah se sinicí *Nostoc* (Bergman, 2002). Pod listy se nachází žláza tvořená papilou, která vylučuje sliz indukující růst hormogonií, která jsou následně pohlcována buňkami rostlin (Johansson a Bergman, 1994). Mezi cyanobyonty existují značné fenotypové i genotypové variace (Bergman a kol., 1992). V jedné rostlině může být přítomno hned několik genotypů

Nostoc (Nilsson a kol., 2000), ve většině případů je však přítomen pouze jeden (Guevara a kol., 2002).

4 Klasifikace a fylogeneze

V době, kdy se pomocí mikroskopických a biochemických analýz ukázalo, že jsou sinice podskupinou bakterií, bylo nutné zavést krom botanického názvosloví také názvosloví bakteriologické. S rostlinami totiž sdílí například thylakoidy, chlorofyl a, fotosystém I a II, schopnost fotosyntézy a jsou rovněž primárními producenty. Shodné znaky s bakteriemi jsou prokaryotická buňka, absence organel, buněčná stěna (murein) a dělení.

Botanické názvosloví má na starost Mezinárodní kód botanické nomenklatury (ICBN), kdežto bakteriologické názvosloví ustanovuje Mezinárodní bakteriologický kód (ICNB). První bakteriologický kód byl odsouhlasen v roce 1945, následně byl však zrušen. Oficiálně se tak bakteriologická nomenklatura začala používat až na přelomu sedmdesátých a osmdesátých let. Doposud však bylo pod platným bakteriologickým názvoslovím popsáno jen velmi málo druhů sinic.

Sinice jsou prokaryotní organismy náležící do kmene nebo oddělení (záleží na botanickém či bakteriologickém pojetí) gramnegativních bakterií. Algologie je společně s nižšími rostlinami a fotosyntetizujícími protisty řadí mezi řasy. Přesný počet druhů je stále otázkou do diskuze. Odhaduje se, že druhů sinic je od 2783 (Nabout a kol., 2013) do 4484 (Guiry, 2015), některé odhady však předpokládají existenci až 8000 druhů (Guiry, 2012).

Sinice klasifikujeme do sedmi řádů (podle Komárek a kol., 2014)

- ***Synechococcales***

Jedná se o nejstarší (paleontologický záznam starý 3 miliardy let nalezený v horkých pramenech Dvořák a kol., 2014), nejhojnější a ekologicky nejvýznamnější zástupce. Zahrnuje dřívější zástupce z řádů *Chroococcales* a *Oscillatoriales*. Drobné buňky mají parietální thylakoidy. Slizové obaly chybí, nebo jsou velmi tenké až nezřetelné. Kokální, žijící v kolonii či samostatně.

- ***Spirulinales***

Vláknité typy se spirálním vláknem, příčné přehrádky málo zřetelné nebo prakticky nemožné pozorovatelné ve světelném mikroskopu. Žijí v koloniích, či samostatně. Vyznačují se trichomy bez pochev, šroubovým tvarem a intenzivním pohybem. Spirulina je velice důležitý organismus z hlediska využití v biotechnologii, potravy zvířat a slouží k redukci hmotnosti u člověka (Khan a kol., 2005).

- ***Pleurocapsales***

Specializované typy kokálních sinic, které vytváří složitěji uspořádané kolonie. Rozmnožují se mnohonásobným či binárním dělením pomocí baeocytů. Někdy řazeny mezi *Chroococcales*.

- ***Chroococciopsidales***

Jednotlivé buňky nebo v koloniích, rozmnožují se mnohonásobným dělením mateřské buňky

- ***Chroococcales***

Zahrnují jednobuněčné zástupce žijící samostatně či v koloniích. Molekulárně biologické studie naznačují, že se jedná o polyfyletickou skupinu. Buňky mají jiné uspořádání thylakoidů než parietální. Nacházíme je ve vodním i terestrickém prostředí

- ***Oscillatoriales***

Řadí se zde vláknité, nevětvené sinice, které nejsou schopny tvorby heterocytů či akinet. Buňky obvykle krátké. Rozmnožování probíhá rozpadem vláken hormogonií. Na konci vlákna přítomna čepička.

- ***Nostocales***

Vláknité sinice s metamorfovanými buňkami zahrnující typy s pravým a nepravým větvením. Také tvoří akinety a heterocyty. Kolem vláken se často nachází sliz. Jedná se o řád, na kterém se nejčastěji testují genetické analýzy a určují fylogenetické vztahy (Mareš a kol., 2015). Tyto sinice se nacházejí endemicky i kosmopolitně ve vodním či terestriálním prostředí arktických (Vincent, 2007), aridních (Řeháková a kol. 2007) a tropických biomů. Jsou známí také jako producenti hepato-, neuro- a dermatotoxinů (Codd a kol., 1997). Mnoho jedinců je obtížné ke kultivaci, a tudíž také na pozorování a popis.

4.1 Morfologická

V minulosti převažovala determinace sinic pomocí morfologických podobností. S rozvojem molekulárních metod a s narůstajícím množstvím známých taxonů bylo jasné, že evoluční vývoj je značně komplikovanější, než se v minulosti předpokládalo (Dvořák a kol., 2015). Problém u morfologické klasifikace je navíc ten, že hodnocení znaků (barva, tvar) je čistě subjektivní.

Nejdůležitějším determinačním znakem, kterého si musíme na stavbě sinic všimnout, je typ stélky. Evolučně nejstarobylší typ stélky se nachází u jednobuněčných sinic. Tento typ

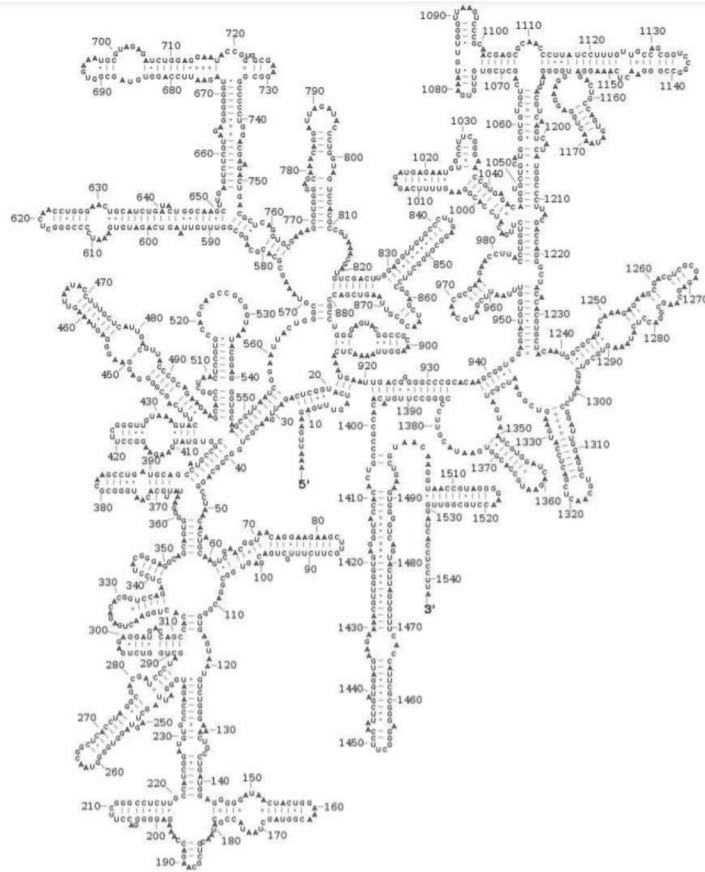
stélky se nazývá kokální. Může se vyskytovat jednotlivě, nebo v koloniích. Tvar a velikost je nejpodstatnější faktor při určování jednotlivých sinic. V případě koloniálních sinic je potřeba se zaměřit například na mocnost slizu, způsob uložení buněk v kolonii, popřípadě na přisedlost k podkladu. Pro determinaci vláknitých typů je třeba vyhodnotit větší množství znaků. Jedná se o přítomnost či absenci slizové pochvy obklopující vlákno, tvar buněk uložených uvnitř vlákna a způsob jejich vzájemného propojení, šířku a tvar buněk, barvu, tvar buněk na konci vlákna a v neposlední řadě typ větvení (Komárek, 2013). Poslední zmínění determinující faktor je poměrně vzácný, protože jen málo rodů se větví. Větvení může být pravé, nebo nepravé. K nepravému větvení dochází v místě, kde se přetrhlo vlákno (například z důvodu odumření buňky, nebo tvorby heterocytů).

4.2 Genetická

K identifikaci mikroorganismů pomocí genetických metod se nejčastěji využívá stanovení nukleotidové sekvence jejich genu kódujícího 16S podjednotku ribosomální RNA (Obr. 2). Jedná se o typ RNA, která tvoří složku menší 30S podjednotky ribosomu prokaryot. Tento gen obsahuje jak oblasti, které jsou mezi všemi mikroorganismy uniformní (Woese a kol., 1990), tak oblasti variabilní a charakteristické pro jednotlivé druhy. Znalost sekvence 16S rRNA se využívá k vytváření fylogenetických stromů znázorňujících možnou příbuznost jednotlivých kmenů či druhů. Důvodem využití 16S rRNA je její pomalý evoluční vývoj, jelikož se jedná o vysoce konzervovaný gen nezbytný pro přežití buňky. (Woese, 1977).

K lepšímu pochopení diverzity se kromě sekvenace 16S rRNA používá také celogenomová sekvence. Tato metoda, zejména v podobě Celogenomového shotgun sekvenování (Whole Genome Shotgun Sequencing – WGS) nabývá v dnešní době popularity, jelikož se stává cenově dostupnější. Celogenomové sekvenování také pokryje mnohem vyšší úroveň diverzity než fylogeneze na základě 16s rRNA. (Ramete a Tiedje, 2007).

Genetická analýza se stala levnou a široce užívanou metodou k identifikaci prokaryot. Většina osekvenovaných sinic se nachází v moři ve formě pikoplanktonu, nejčastěji se jedná o řády *Synechococcus* a *Prochlorococcus* (Larson a kol., 2011). K podotknutí stojí také fakt, že množství kmenů, jejichž genom byl analyzován je špatně charakterizováno.



Obr. č. 2: Struktura 16S rRNA

Převzato z: Uniting the classification of cultured and uncultured Bacteria and Archaea using 16S rRNA gene sequences (Yarza a kol., 2014)

4.2.1 PCR

Slouží k namnožení malého množství nukleových kyselin, jenž se uplatňuje k dalšímu genetickému testování. Tato reakce spočívá ve vytvoření kopií templátové DNA pomocí DNA polymerázy a primerů za neustálého střídání teplot (denaturaci, nasednutí primerů a syntéze DNA). Podmínkou je, aby úseky určené k namnožení byly ohraničeny primery. Celá reakce probíhá v zařízení zvaném termocykler, které dokáže během několika vteřin změnit svou teplotu o desítky stupňů Celsia. Změny teplot vedou k náhlým reakcím v DNA

4.3 Speciace

Na světě existuje nepřeberné množství druhů a každý se musel určitým způsobem vyvinout. Tento proces nazýváme speciace a vyjadřuje vznik nového druhu.

U sinic se poměrně často projevuje konvergentní evoluce. Jedná se o jev, kdy se podobné rysy vyvinuly zcela nezávisle u různých linií. U sinic se tato evoluce projevuje v mnoha fenotypových znacích (Shishido a kol., 2013; Dvořák a kol., 2014). Příkladem konvergence mohou být chlorofyl b a absence fykobilizomů, které se vyvinuly nezávisle v mnoha liniích (Miller a kol., 1988).

Kryptické druhy jsou definovány jako morfologicky téměř identické, ale geneticky odlišné a reprodukčně izolované (Mann a Evans, 2007). Kryptické druhy byly identifikovány, nebo navrhнутy u všech tradičních rodů sinic (Komárek, 2014). Příkladem budiž *Microcoleus* (Siegesmund a kol., 2008), *Oculattea* (Osorio-Santos a kol., 2014) a *Phormidium* (Casamatta a kol., 2003; Hašler a kol., 2012).

Archea i bakterie jsou evolučně zajímavé z důvodu absence sexuálního rozmnožování a zároveň ve vytváření rozsáhlých kolonií s relativně krátkým životním cyklem (Cohan, 2001;2002). Novodobé výzkumy prokázaly významný rozdíl evoluční trajektorie mezi eukaryoty a prokaryoty. Jádrový genom (Core-genome) bakterií je obvykle velmi stabilní a bez výraznějších evolučních změn. Jádrový genom je definováno jako část genu sdílený s odlišnou skupinou bakterií kódující základní metabolické procesy jako je syntéza DNA, produkce proteinů apod. (Daubin a kol., 2002; Shi a Falkowski, 2008; Polz a kol., 2013).

Periferní genom označuje méně stabilní geny, které prochází značnými evolučními změnami (Hess, 2011). Tato část genomu obsahuje oblasti specifické pro určité prostředí. U mnohých z těchto genů dosud není známá jejich funkce (Shi a Falkowski, 2008), zřejmě však hrají důležitou roli v adaptaci sinic rychle se měnícím podmínkám prostředí (Rodriguez-Valera a kol., 2009) a rozdělením niky mezi blízké příbuzné (Kopac a kol., 2014).

Narechania a kol., (2012) ukázal, že mnoho plášťových genů má stejný evoluční původ, jako ty jádrové. Tyto geny rovněž vykazují důkaz horizontálního přenosu genetické informace (David a Alm, 2011; Nakhleh, 2013). Jelikož sinice nemají pohlavní rozmnožování, získávají nové kombinace genů právě díky horizontálnímu genovému přenosu. U sinic se většina horizontální genetické informace přenáší za pomoci virů cyanofágů (Sullivan a kol., 2010), což je skupina bakteriofágů napadající sinice. Tito fágové mohou mimo jiné nést důležité geny pro uskutečnění fotosyntézy (Zheng a kol., 2014).

Kromě genetické izolace vyplývající z diferenciace genomu, ke které dochází v populaci bez geografické izolace (sympatrická speciace) (Koeppel a kol., 2013), existují také geografické a ekologické faktory ovlivňující bakteriální speciaci (alopatrie). Nedávný průzkum odhalil značný rozdíl v 16S rRNA v geograficky rozdílných oblastech stejného druhu (Miller a kol., 2007). Epizodická genetická izolace může vést až ke speciaci (Dvořák a kol., 2012). Rovněž Van Gremberghe a kol., (2011) poukázali na spojení mezi geografickou polohou a umístěním ve fylogenetickém stromu.

Vzorec korelace mezi geografickou polohou a postavením ve fylogenetickém stromě je patrný mezi sinicemi obývající většinu biomů, vyjma polárních, kde nebyla prokázána žádná shoda na základě 16S rRNA a geografické polohy (Jungblut a kol., 2010)

4.4 Existuje druh?

V prvé řadě je potřeba rozlišit dva pojmy-koncept druhu a definice druhu. Konceptem druhu se rozumí teoretické vymezení, což je ideální pro všechny organismy. Naopak definice vysvětluje druh, jako soubor použitých pravidel pro praktickou identifikaci druhu (Hanage, 2013).

Někteří autoři se domnívají, že všechny prokaryotní organismy jsou druhově méně rozmanité (Henage a kol., 2005), protože stále chybí ekologicky i geneticky koherentní skupiny. Podle Cohana a Perryho (2007) a Kopace a kol., (2014) by mohla být tato nejasnost patrná v nejednoznačných ekologických hranicích mezi druhy. U sinic jsou nejzřetelnější fenotypové znaky. Identifikace druhů může být navíc komplikovaná použitými analýzami tradičních metod postrádající rozlišení na úrovni druhů. Hanage a kol., (2005) poukázal na to, že pro rozlišení je nutná multilokusová sekvenční analýza (např. řád *Synechococcus* se skládá z několika ekologických a zeměpisných linií, které mohou být rozpoznány na základě této analýzy (Mazard a kol., 2012).

Většina bakteriologů používá vzdálenost mezi geny, popřípadě genomy (hybridizace DNA, průměrná identifikace nukleotidů; Richter a Roselló-Móra, 2009), jako skutečnou definici druhu bez ohledu na koncept druhu (nezohledňuje fázi speciace či fylogeneze, a tudíž se neopírá o skutečnou evoluční historii druhu).

Problém s identifikací druhů u prokaryot nakonec vedl k částečné shodě o vymezení druhů (Gevers a kol., 2005; Staley, 2006). Dle těchto autorů by měl být druh primárně vymezen na základě podobnosti genotypu, a tedy na vzdálenosti mezi geny. Podobnost druhů lze konstatovat na základě 98,68% shody 16S rRNA. Tuto hodnotu navrhl Kim a kol. (2014) jako

prahovou hodnotu pro vymezení druhu. Bohužel je tato hypotéza a mnoho dalších založeno pouze na podobnosti a není tak v souladu s moderními systematickými přístupy, které zdůrazňují širší pojetí rekonstrukce evolučních vztahů (Castenholz a Norris, 2005).

Hlavní problém pojetí bakteriálních druhů je, že nesplňují požadavky klasického pojetí používaných u eukaryot. Rodové linie nutně představují genetické kontinuum (Konstantinidis a kol., 2006). Matematický model náhodně replikující linie taxonů produkuje skupiny geneticky příbuzné druhy oddělené genetickými mezerami (Mes, 2008).

5 Cíle práce

Má práce se zabývá půdními sinicemi z různých geografických oblastí. Stěžejní pro mou práci byla morfologická a genetická analýza potencionálních nových druhů sinic a porovnání s již známými druhy. Ke správné determinaci druhů jsem pomocí optického mikroskopu provedl morfologickou analýzu a pomocí sekvenace DNA analýzu molekulární. Získaná data byla zanalyzována a následně vyhodnocena možná příbuznost mezi porovnávanými kmeny.

6 Materiál a metody

6.1 Biologický materiál

Biologický materiál byl získán ze vzorků půdních krust posbíraných pracovníky Katedry Botaniky z různých geografických lokalit (Tab. 1).

Tab. č. 1: Geografická poloha a klimatické poměry

Lokalita	Průměrná roční teplota [°C]	Teplotní pás	Typ půdy	Roční úhrn srážek [mm]	Nalezené kmeny
Kréta	20	Subtropický	hnědozem	250-500	KR1-A5, KR3-D1, KR3-D6,
Indie	30	tropický	hnědozem	250-500	LAD2-A3, LAD2-B1
Mauricius	30	subtropický	Červenozem a žlutozem	1 000-2 000	M2-D2, M6-A1, M6-D4,
Montana, USA	10	mírný	hnědozem	250-500	MON1-C2(2)
Norsko	0-10	mírný	Podzoly až mírně zmrzlé	2 000	N3-A1, N3-A3
Polsko	0-10	mírný	hnědozemě	600	POL1-C2, POL5-A5, POL13-B3
Švédsko	0-10	mírný	Podzoly až mírně zmrzlé	400-800	S29-C1, S23-D3

Převzato z: Školní atlas světa (Dobrovolná, 1996)

6.2 Kultivace sinic

Pomocí kahanu jsem opálil bakteriologickou kličku a nanesl malé množství biologického materiálu z půdního vzorku na Petriho misku s 1,5% agarem a Z-médiem (Staub, 1961). Poté jsem vyčkal 2-4 dny, dokud se sinice nenamnožily. S bakteriologickou jehlou jsem následně za využití binokulární lupy sesbíral jednotlivá vlákna sinic, která jsem nanesl jednotlivě do kultivačních destiček naplněných Z-médiem. Opět jsem několik dní vyčkal, dokud vlákna nedosáhla dostatečné velikosti. Namnoženou hmotu jsem následně uložil do zkumavek se Z-médiem o objemu 10 ml. Kultivace probíhala při ± 22 °C.

V důsledku vládních nařízeních a omezení praktické výuky studentů provedl vedoucí práce: Extrakci DNA, PCR a Sekvenaci.

6.3 Extrakce DNA

Extrakce genomové DNA byla provedena pomocí komerčního kitu DNeasy UltraClean Microbial kit (QuiaGEN, Hilden, Německo).

Postup:

1. Ve Flowboxu bylo přeneseno malé množství namnožené kultury do sterilní mikroskopické kumavky o objemu 2 ml. Pomocí pausterovy pipety bylo odpipetováno přebytečné médium.
2. provedena pomocí komerčního kitu dle návodu výrobce.

6.4 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

PCR reakce byla využita k amplifikaci požadovaného úseku genomové DNA (Qiagen, Hilden, Německo).

Postup:

1. Reakční roztok byl připraven na objem 40 μ l na vzorek (Master-mix s polymerázou Emerald 20 μ l, primer I 1 μ l, primer II 1 μ l, sterilní voda 17 μ l).
2. 39 μ l reakčního roztoku bylo napipetováno do mikroskopické kumavky spolu s 1 μ l templátové DNA.
3. Mikroskopické kumavky byly krátce zcentrifugovány a vloženy do termocykléru.
4. PCR reakce probíhala dle programu: Denaturace 94c 5minut, 36x cyklus: Denaturace 94c 10 s, annealing 65c 30s, elongace 72c 1min. Závěrečná elongace 72c 10 minut.
5. Výsledky PCR reakce byly analyzovány pomocí elektroforézy na agarózovém gelu.

PCR produkty byly purifikovány pomocí komerčního kitu E.Z.N.A Cycle Pure Kit (Omega Bio-Tek, Georgia, USA), dle návodu výrobce a odeslány na komerční sekvenaci Sangerovým sekvenováním (Macrogen Europe B.V., Amsterdam, Nizozemsko, <http://dna.macrogen-europe.com>)

6.5 Fylogenetická analýza

Pomocí programu Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Baratyn, 2019), jsem v databázi vyhledal sekvence 16S rRNA s největší podobností mým sekvencím. Sekvence 16S rRNA byly z databáze staženy ve fasta formátu. Následně byl proveden alignment sekvencí MUSCLE algoritmem (Edgard a Robert, 2004) a konstrukce fylogenetického stromu v programu MEGA X (Kumar a kol., 2018). Fylogenetický strom byl následně upraven v softwaru Fig Tree (Rambuat, 2009).

6.6 Morfologická analýza

Pomocí mikroskopu Zeiss AxioImagger jsem se zvětšením 1000x pozoroval přes kameru AxioCam HRc 13 MPx s vysokým rozlišením jednotlivé kmeny. U každého vzorku jsem vytvořil 10 fotek a v programu ZEN 3.3 blue edition provedl u každé fotografie tři měření délky a šířky jednotlivých vláken, ze kterých jsem vypočítal směrodatnou odchylku, průměrnou délku a šířku. Dále byly zaznamenány důležité determinační znaky jako přítomnost slizové pochvy, zakončení vlákna, dělení buněk atd.

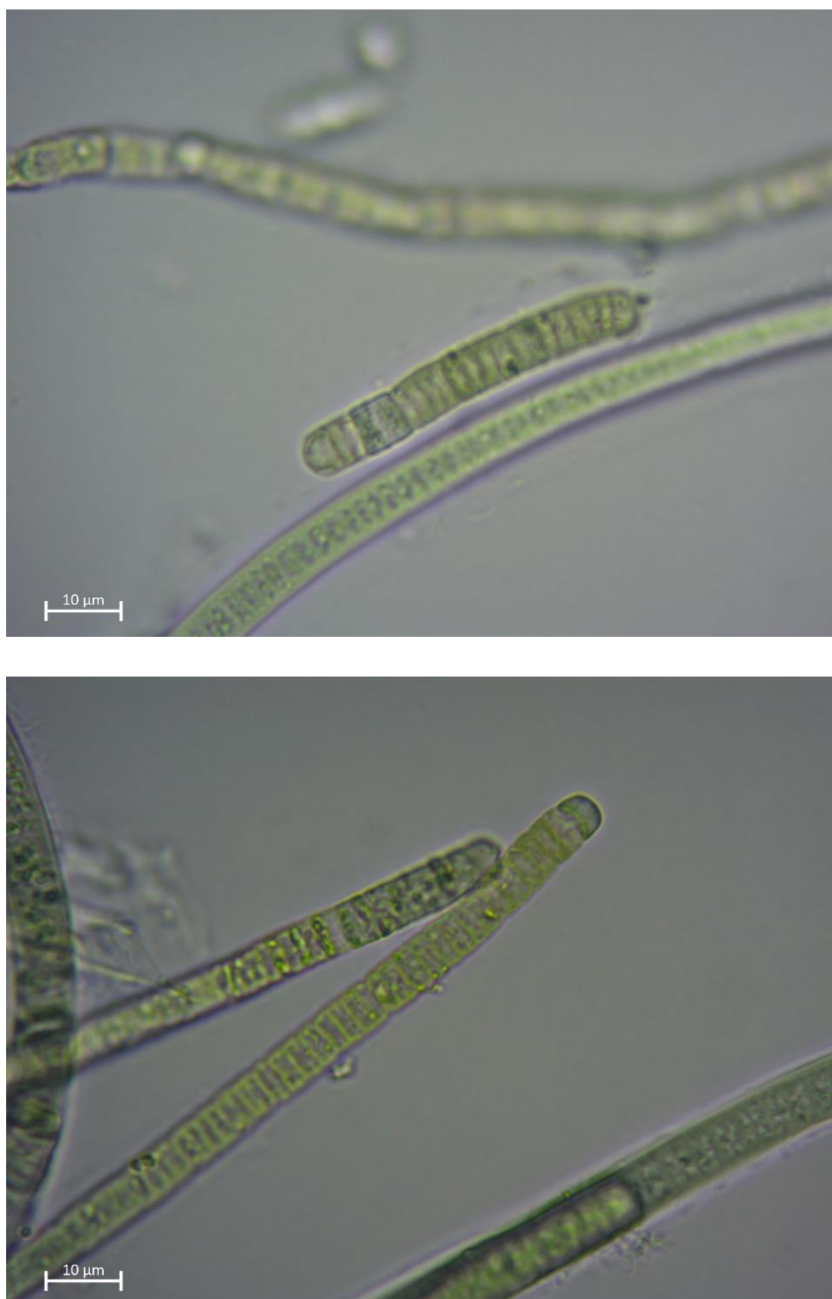
7 Výsledky

7.1 Morfologická analýza

V morfologické části jsem zhotovil dočasné preparáty a následně pomocí mikroskopu pořizoval mikrofotografie půdních sinic (viz obrázky 3 až 18). Rovněž jsem zaznamenával délku a šířku jednotlivých buněk a soustředil se na základní determinační znaky, jako je tvar, barva, přítomnost/absence kalyptry a gran.

KR1-A5

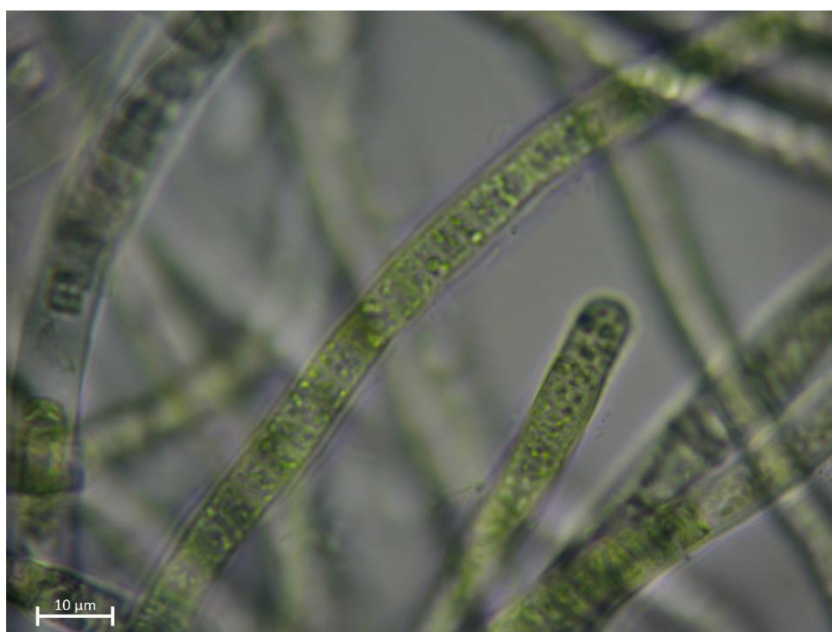
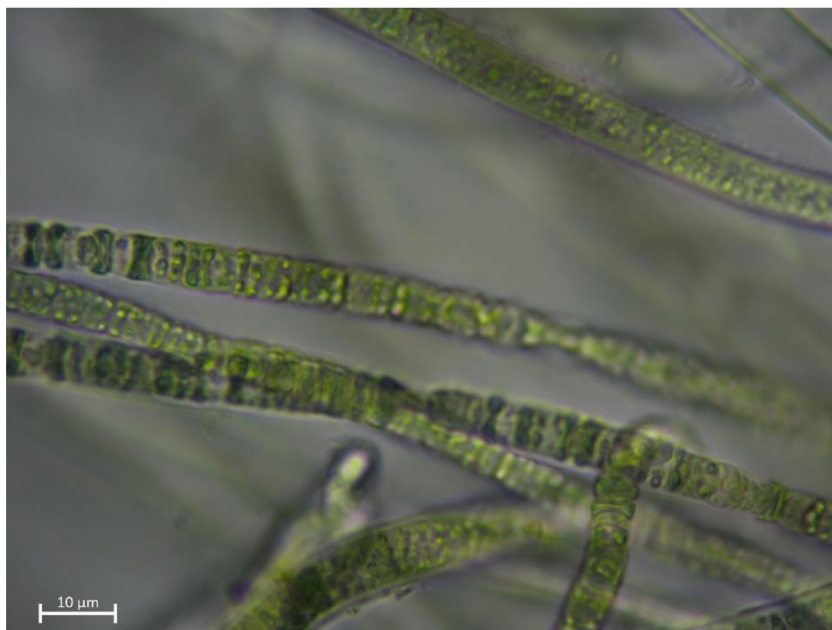
Sinice s označením KR1-A5 dosahovaly průměrné délky buněk 1,91 μm se směrodatnou odchylkou 0,4 μm . Průměrná šířka buněk v tomto případě činila 5,94 μm se směrodatnou odchylkou 0,7 μm . Vlákná sinic byla protáhlá se světlezelenou barvou, grana se vyskytovala po celé délce vlákna. Buňky byly ve většině případů dobře rozlišitelné s častým výskytem buněk nekridických.



Obr. č. 3: Mikrofotografie kmene KR1-A5

KR3-D1

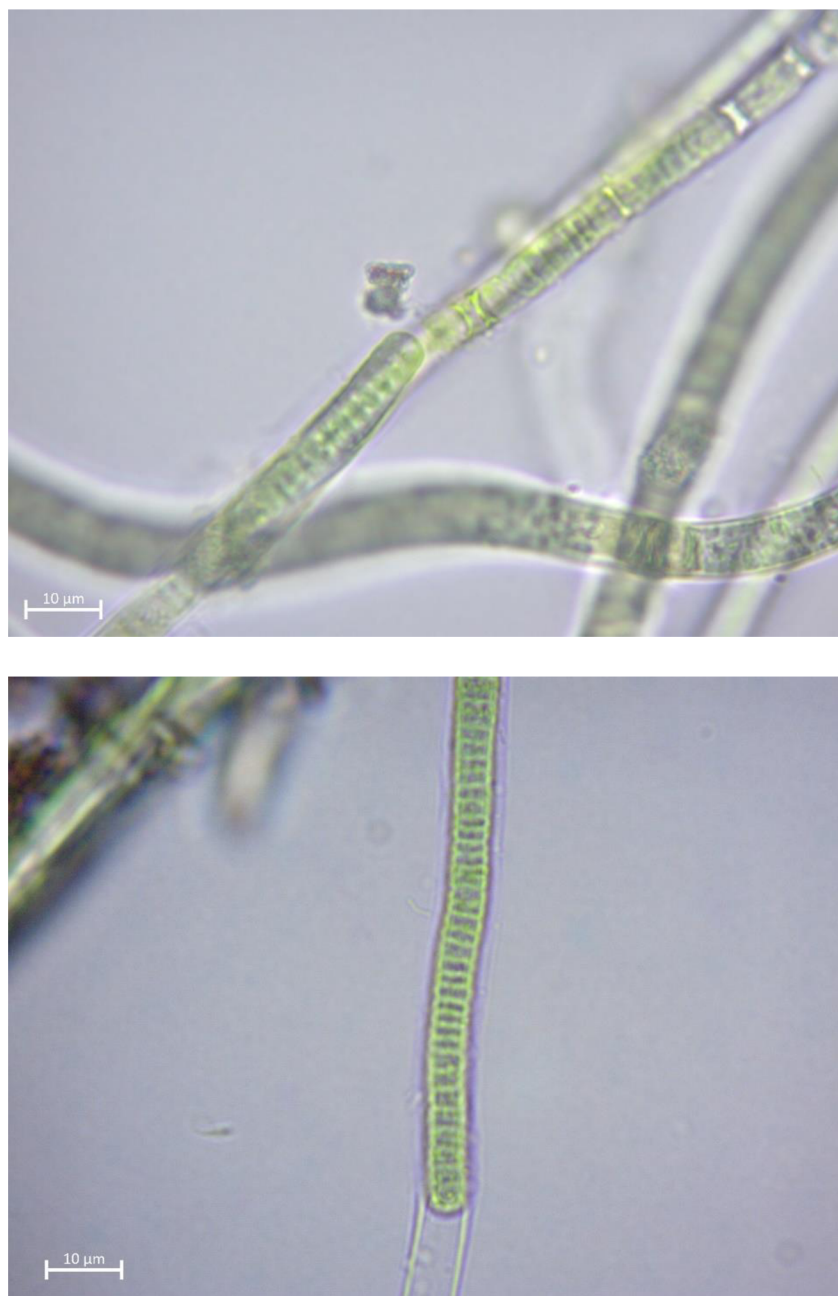
Buňky kmene KR3-D1 byly velmi obtížně rozpoznatelné. Mohutná slizová pochva, znatelné množství gran a nekridických buněk. Barva tmavě zelená. Průměrná délka buněk činila $2,03 \mu\text{m}$ a směrodatná odchylka $0,48 \mu\text{m}$. Průměrná šířka buněk byla naměřena $6,43 \mu\text{m}$ a směrodatná odchylka $0,91 \mu\text{m}$.



Obr. č. 4: Mikrofotografie kmene KR3-D1

KR3-D6

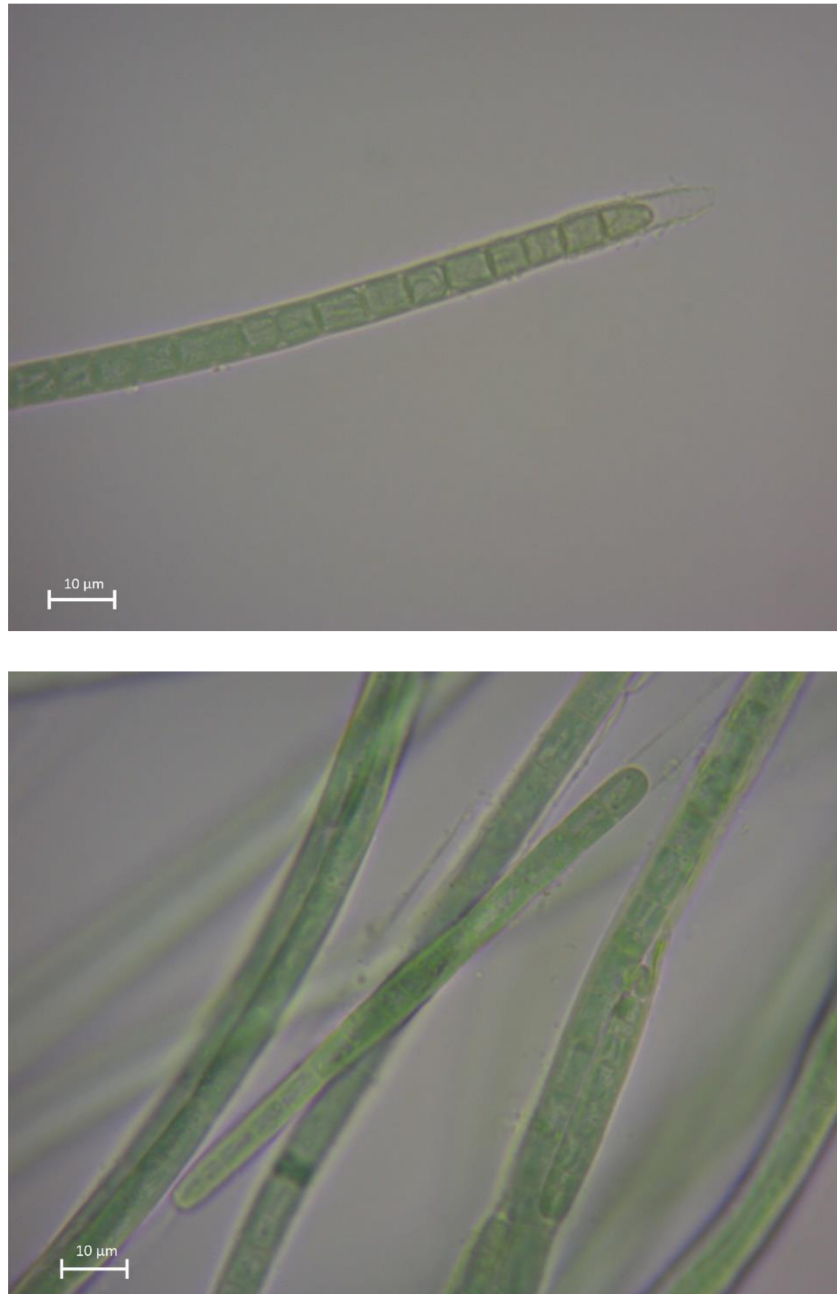
Vlákna tohoto kmene jsou protáhlá, světle zelená s množstvím nekridických buněk a výraznými slizovými pochvami. Apikální buňky jsou zaoblené, bez kalyptry. Šířka a délka buněk byla v tomto případě značně rozdílná. Průměrná délka buněk byla 1,61 μm a průměrná šířka buněk 6,15 μm . Směrodatná odchylka šířky buněk byla 1,16 μm a směrodatná odchylka délky buněk 0,32 μm .



Obr. č. 5: Mikrofotografie kmene KR-D6

LAD2-A3

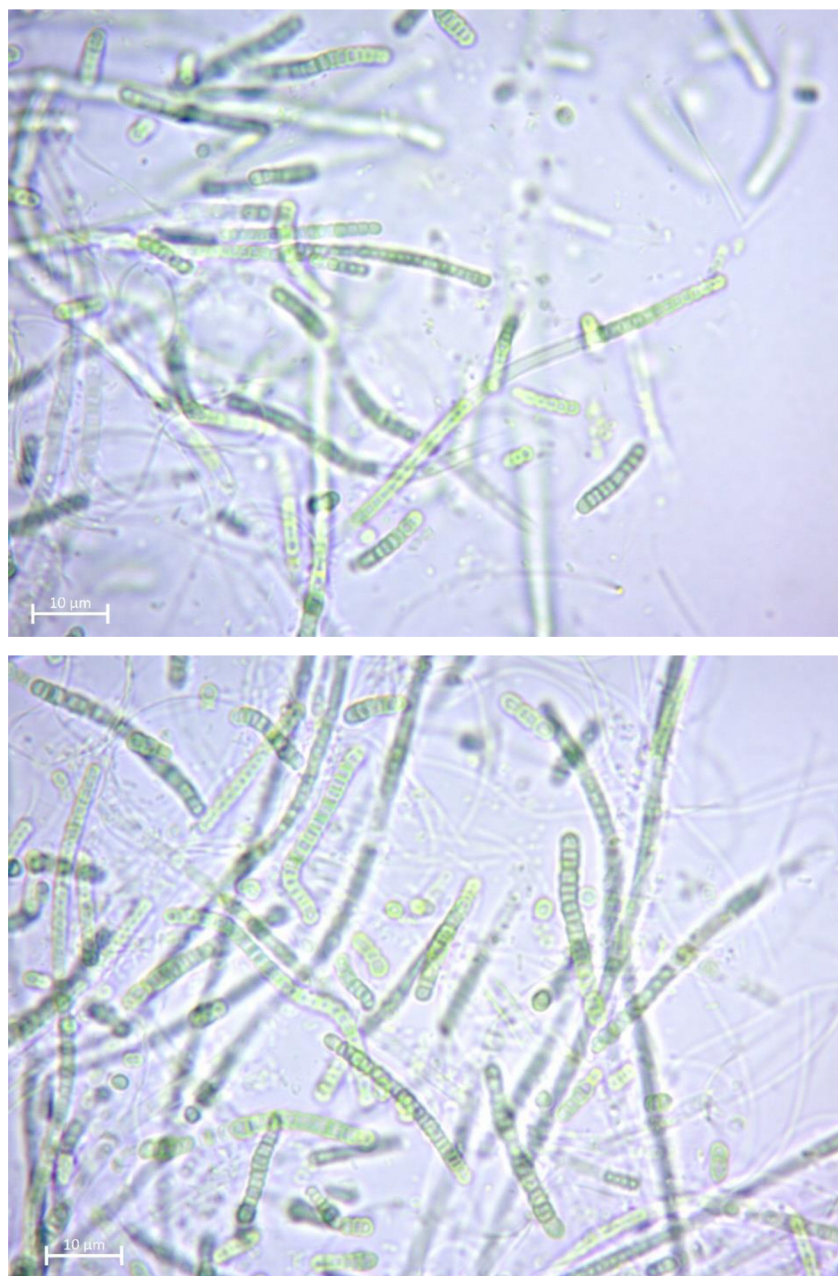
Vlákný tohoto kmene byla protáhlá, nehomogenní, většinou nekřidické se světle zelenou barvou, bez většího množství gran. Průměrná šířka činila 4,04 μm a směrodatná odchylka 0,5 μm , průměrná délka pak činila 5,76 μm se směrodatnou odchylkou 1,13 μm .



Obr. č. 6: Mikrofotografie kmene LAD2-A3

LAD2-B1

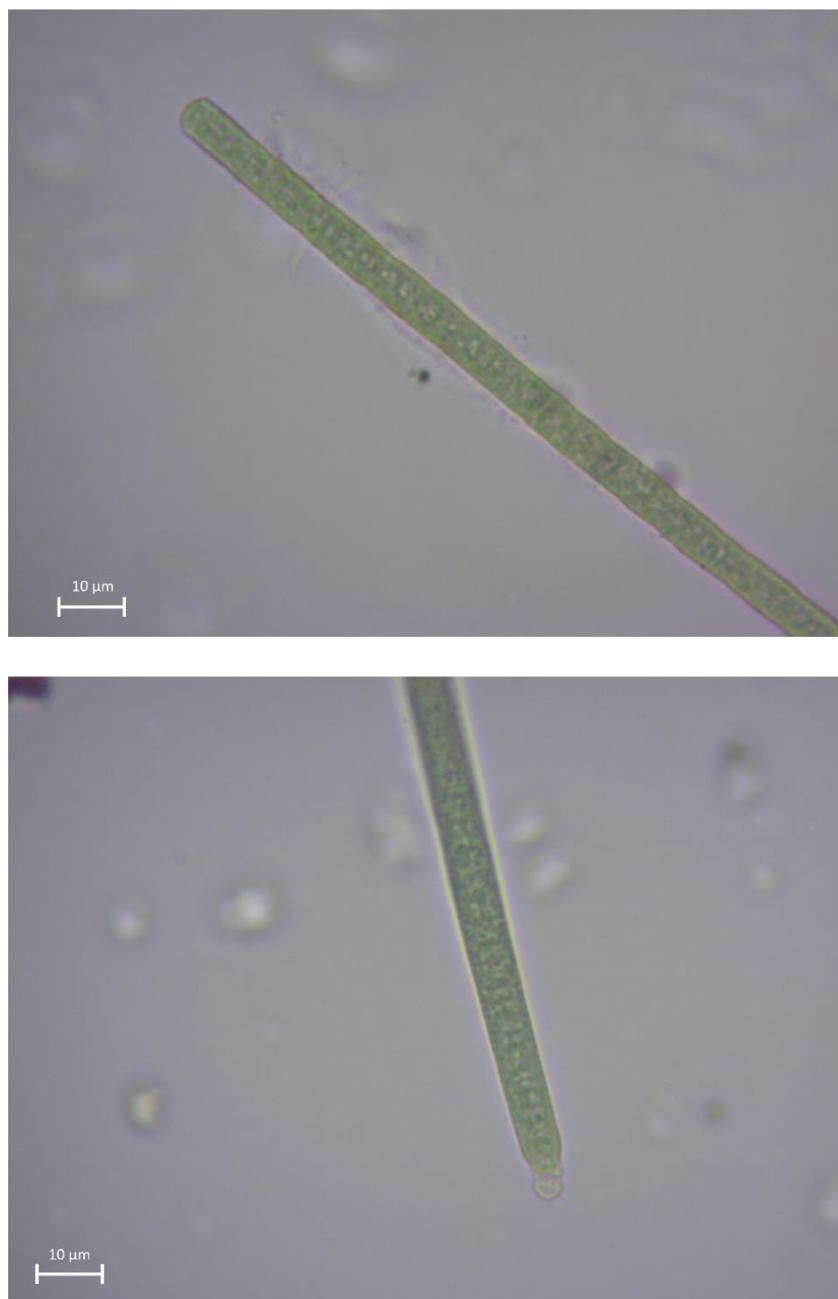
Obsah vláken homogenní, bez výrazných gran, velmi dobře rozpoznatelná pod světelným mikroskopem. Jednotlivé buňky dobře rozeznatelné od ostatních se světle zelenou barvou. Průměrná délka činila 1,13 μm a průměrná šířka 1,82 μm . Směrodatná odchylka obou proměnných se výrazně neodlišovala. V případě šířky činila směrodatná odchylka 0,32 μm a u délky 0,31 μm .



Obr. č. 7: Mikrofotografie kmene LAD2-B1

M2-D2

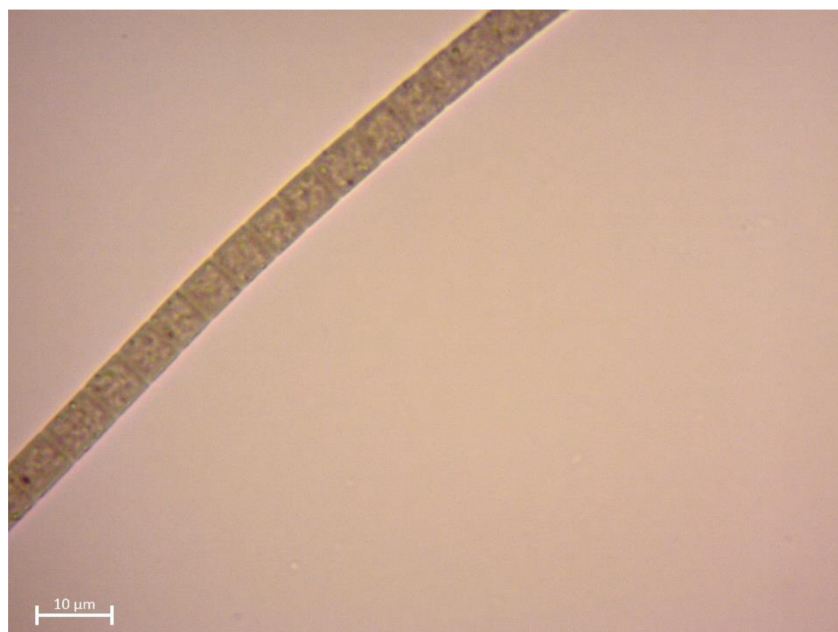
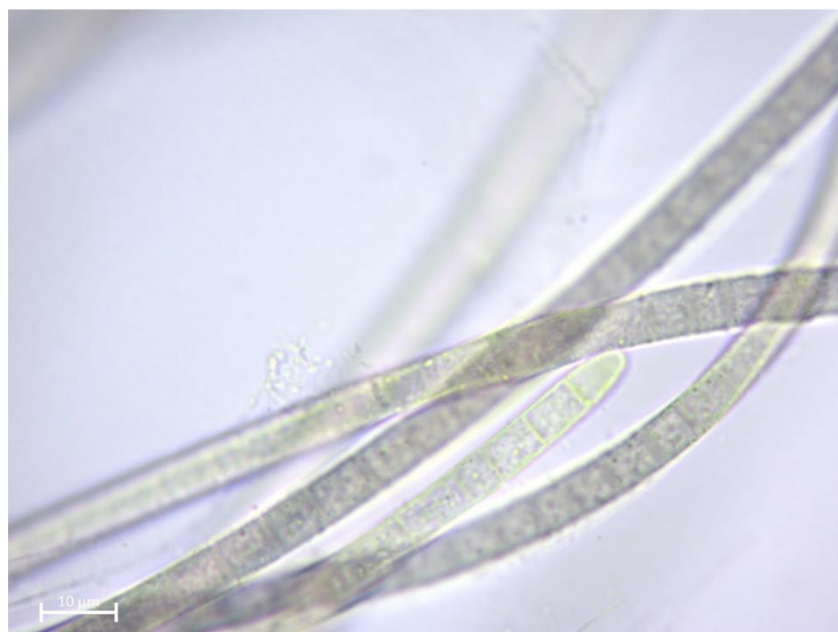
Zástupci tohoto kmene byly velmi obtížní na pozorování pod mikroskopem. Na protáhlém vlákně se na apikálním konci buňka zužuje a lze pozorovat kalyptru. Protáhlé, homogenní vlákna s tmavě zelenou barvou. Kmen se značně lišil v šířce i délce. Průměrná šířka buněk činila $5,18 \mu\text{m}$ a směrodatná odchylka $0,49 \mu\text{m}$. Vzorek dosáhl průměrné délky $2,24 \mu\text{m}$ se směrodatnou odchylkou $0,55 \mu\text{m}$.



Obr. č. 8: Mikrofotografie kmene M2-D2

M6-A1

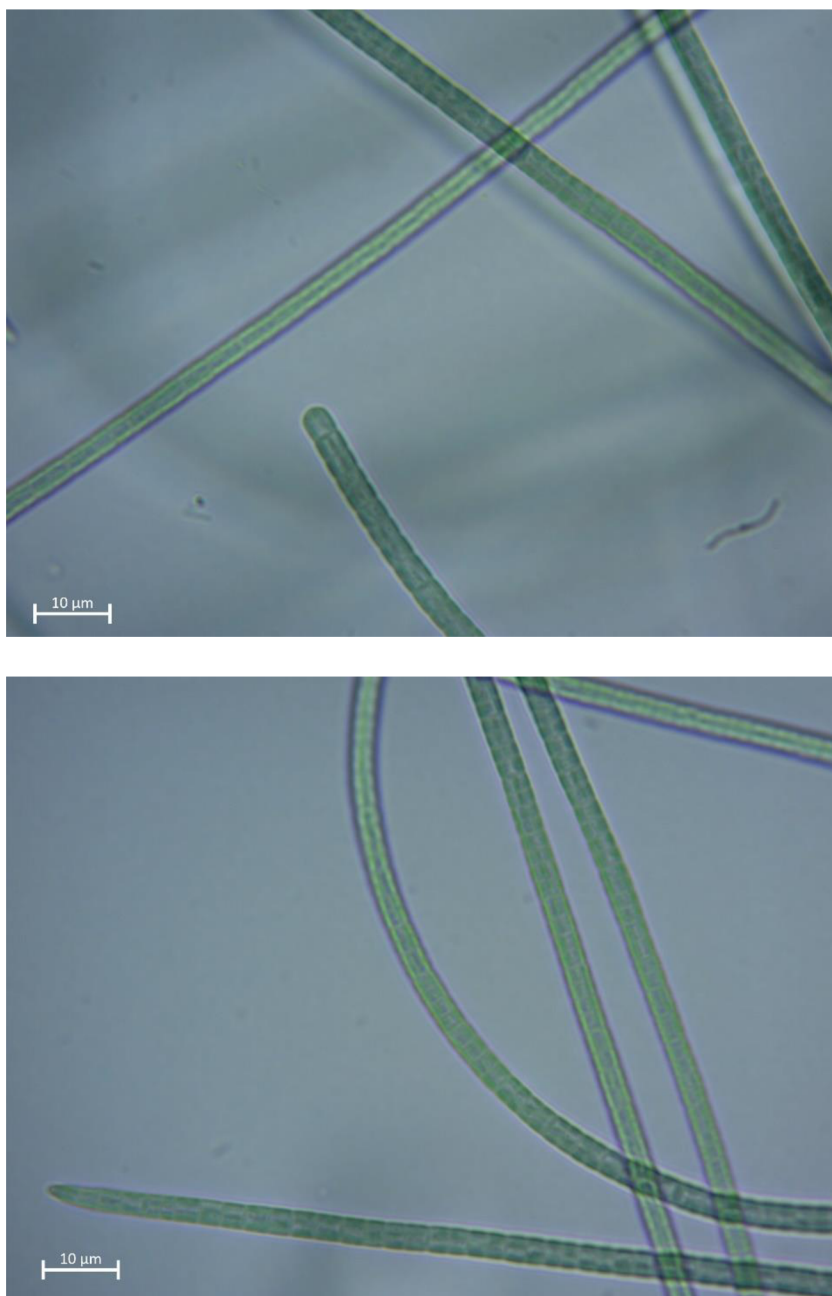
Vlákna protáhlá, apikální buňky se na svém konci zužují s výskytem kalyptry. Jednotlivé buňky homogenní, dobře odlišitelné od zbytku s tmavě zelenou barvou, značný výskyt buněk nekridických. Průměrná naměřená délka činila 6,87 μm a průměrná šířka 5,76 μm . Směrodatné odchylky se v tomto případě značně lišily. Směrodatná odchylka délky byla 1,11 μm a směrodatná odchylka šířky zase 0,37 μm .



Obr. č. 9: Mikrofotografie kmene M6-A1

M6-D4

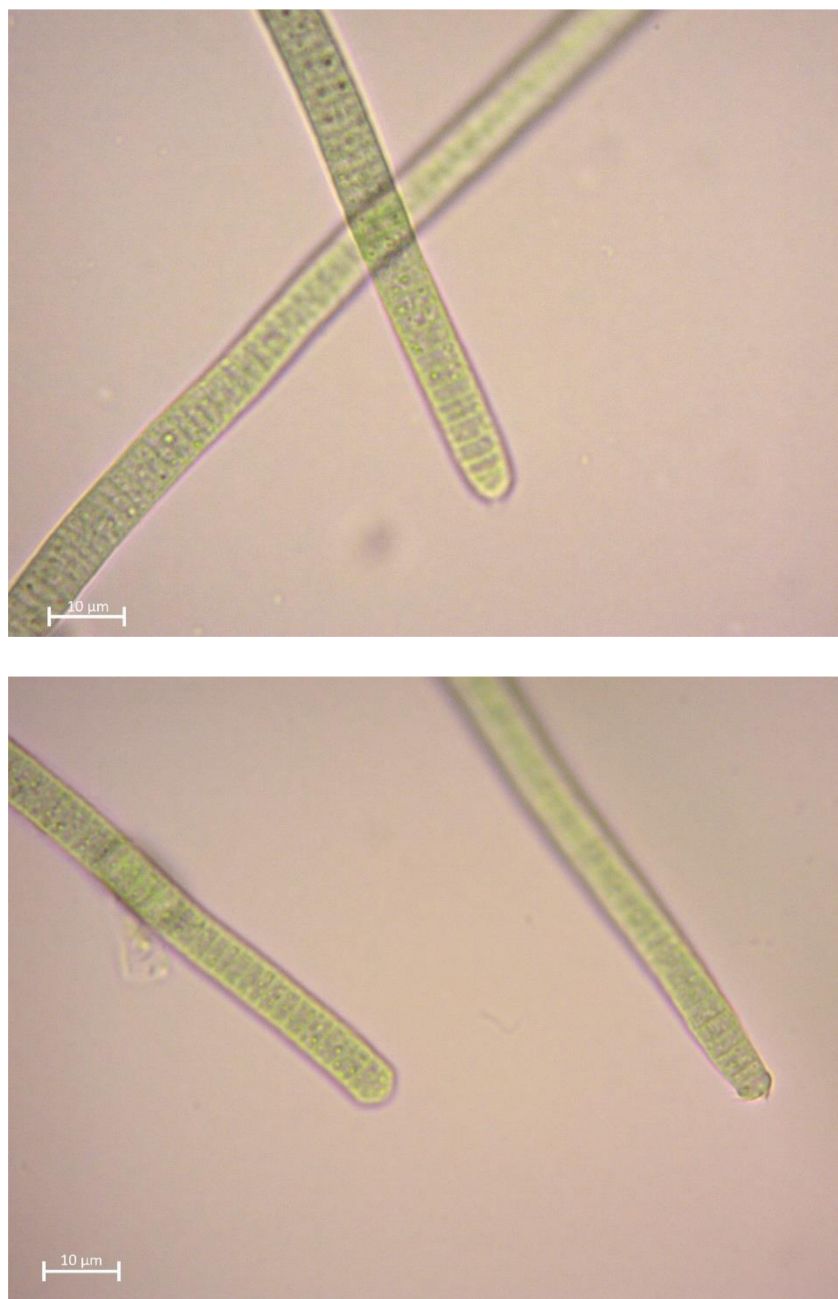
Vlákna protáhlá, apikální buňky zaoblené, až zašpičatělé s kalyptrou na jejich konci. Jednotlivé buňky homogenní, dobře odlišitelné, bez výrazných gran se světle zelenou barvou. Průměrná šířka buněk činila 3,12 μm a směrodatná odchylky z šířky buněk byla 0,33 μm . Průměrná délka buněk byla stanovena na 2,54 μm se směrodatnou odchylkou 0,48 μm . Slizová pochva nevýrazná.



Obr. č. 10: Mikrofotografie kmene M6-D4

MON1-C2(2)

Vlákna tohoto kmene jsou protáhlá, se slizovou pochvou. Apikální buňky zaoblené, místy s výskytem kalyptry. Jednotlivé buňky homogenní, světle zelené a dobře odlišitelné, s výskytem gran. U tohoto kmene byla stanovena průměrná délka buněk na 2,27 μm se směrodatnou odchylkou činící 0,52 μm . Průměrná šířka buněk dosahovala 6,39 μm se směrodatnou odchylkou 0,67 μm .



Obr. č. 11: Mikrofotografie kmene MON1-C2(2)

N3-A1

U vláken tohoto kmene byl pozorován protáhlý tvar, apikální buňky protáhlé, bez jasné kalyptry. Průměrná šířka a délka buněk a jejich směrodatné odchylky se značně lišily. Průměrná šířka buněk byla stanovena na $1,71 \mu\text{m}$ a průměrná délka buněk činila $4,12 \mu\text{m}$. Směrodatná odchylka délky buněk činila $1,44 \mu\text{m}$ a šířky $0,22 \mu\text{m}$.



Obr. č. 12: Mikrofotografie kmene N3-A1

N3-A3

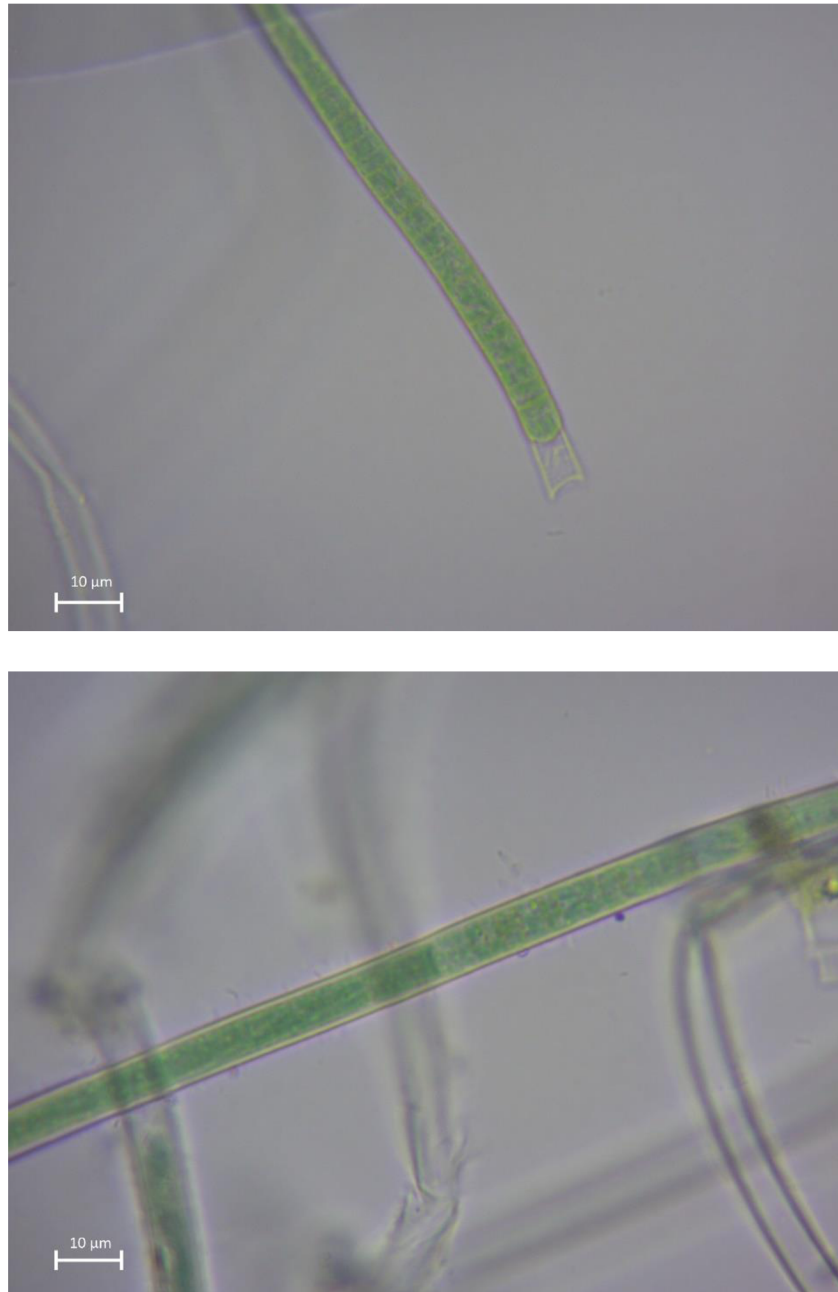
Vlákna tohoto kmene jsou protáhlá, na apikálních koncích se zužující a zahnutá, místy výskyt kalyptry. Jednotlivé buňky hůře odlišitelné, homogenní s modrozelenou barvou, bez výrazných gran. Průměrná délka buněk u tohoto kmene dosáhla 3,52 μm a směrodatná odchylka 0,71 μm . Oproti tomu průměrná šířka dosáhla 4,78 μm a směrodatná odchylka činila 0,37 μm .



Obr. č. 13: Mikrofotografie kmene N3-A3

POL1-C2

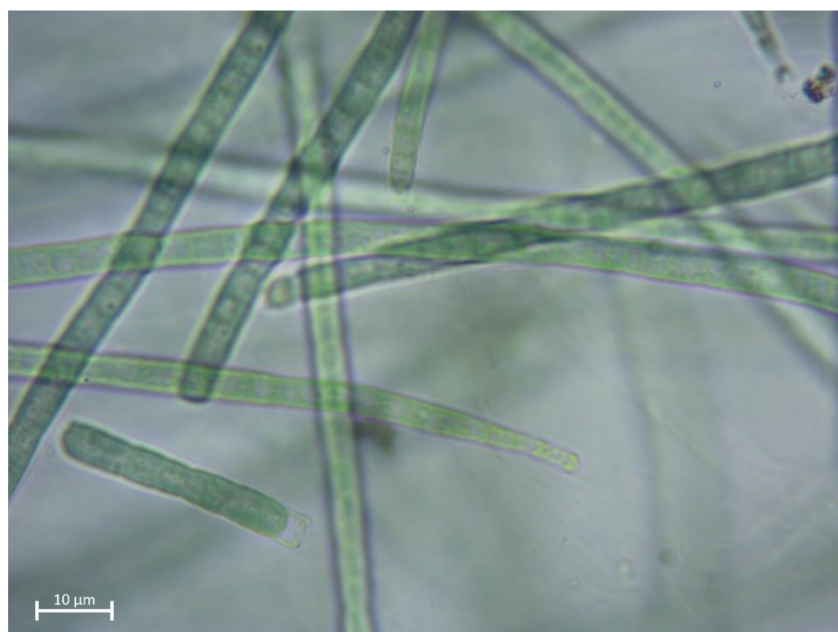
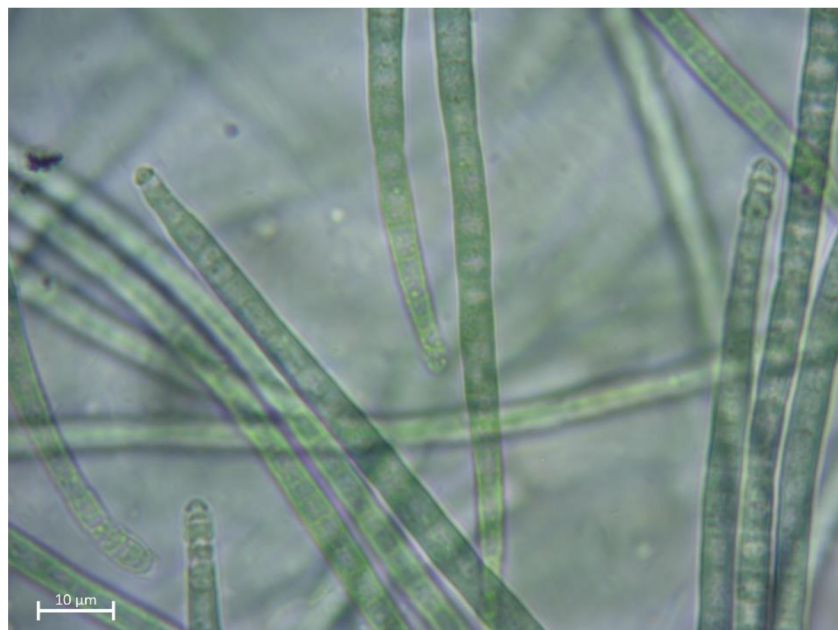
Vlákna tohoto kmene jsou protáhlá, homogenní, světle zelená s množstvím nekritických buněk. Průměrná délka buněk u tohoto kmene činila 3,61 μm a průměrné šířky naopak 5,32 μm . Směrodatná odchylka délky byla stanovena na 0,99 μm a šířky 0,73 μm .



Obr. č. 14: Mikrofotografie kmene POL1-C2

POL5-A5

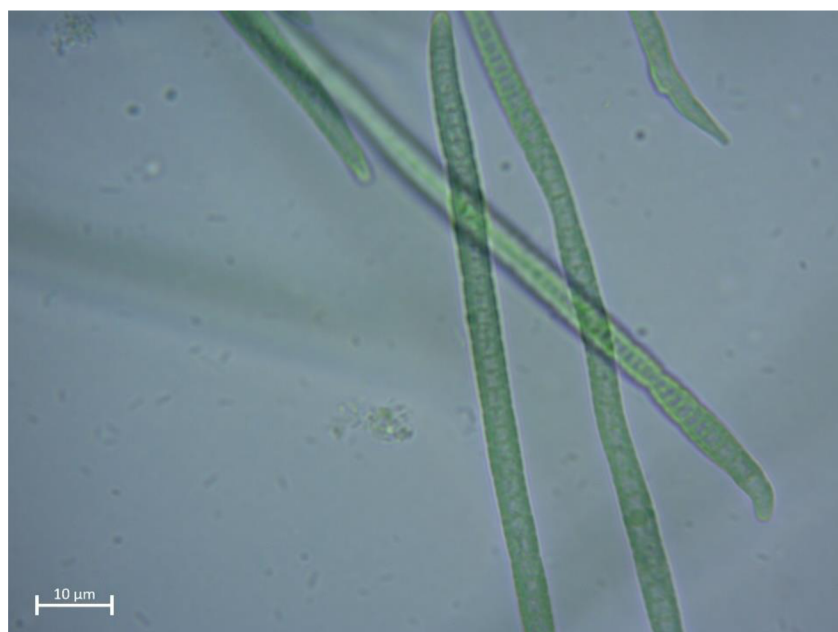
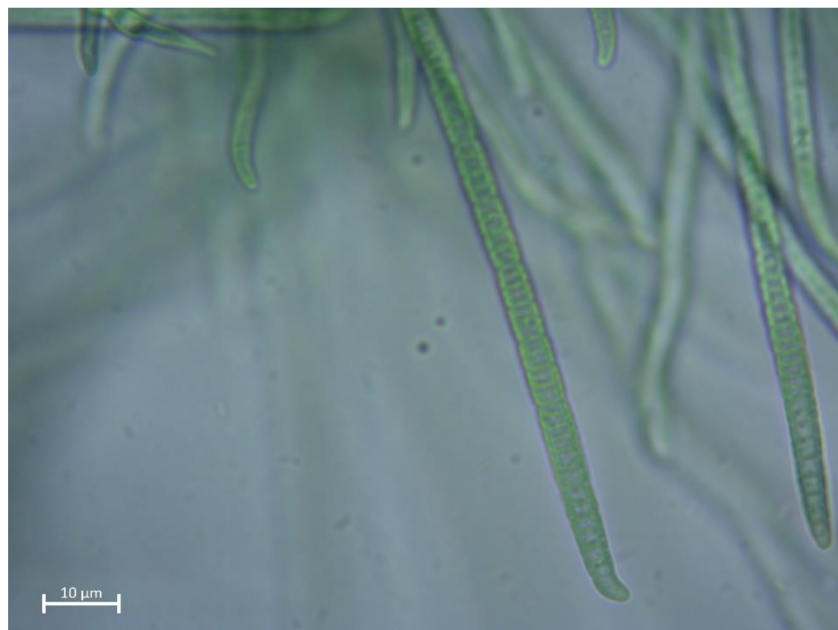
Vlákna sinic protáhlá, světle zelená. Jednotlivá vlákna dobře odlišitelná, homogenní. Apikální buňky zúžené s kalyptrou na konci, častý výskyt gran. Průměrná délka buněk dosáhla 3,57 μm a průměrná šířka 3,88 μm . dále byla vypočtena směrodatná odchylka, která u délky dosáhla 0,76 μm a u šířky 0,65 μm .



Obr. č. 15: Mikrofotografie kmene POL5-A5

POL13-B3

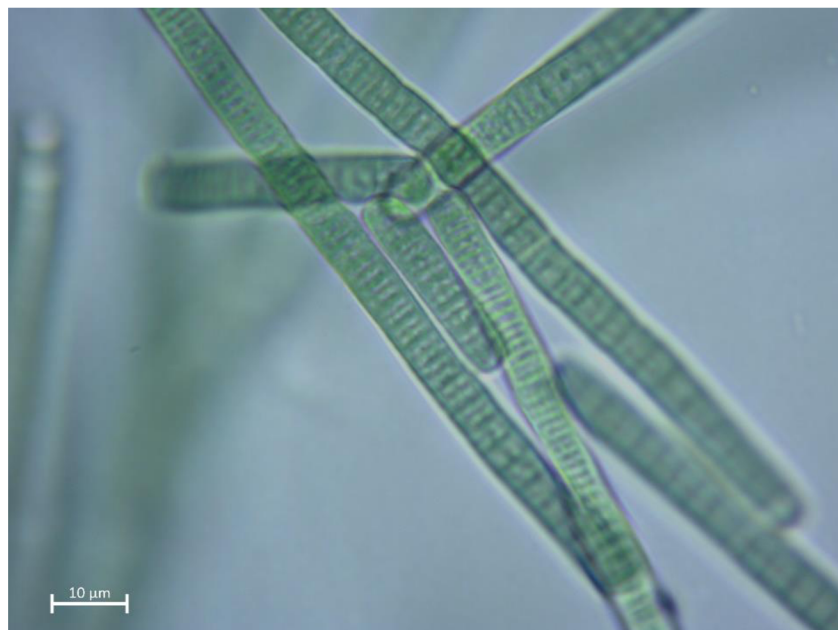
Vlákna protáhlá, světlezelená, výrazně se zužující směrem k apikální buňce. Apikální buňky s polokruhovitou kalyptrou. Jednotlivé buňky homogenní, dobře odlišitelné od ostatních, bez výrazných gran. Průměrná šířka činila 3,33 μm a délka 1,98 μm . Směrodatná odchylka šířky činila 0,56 μm a délky 0,34 μm .



Obr. č. 16: Mikrofotografie kmene POL13-B3

S23-D3

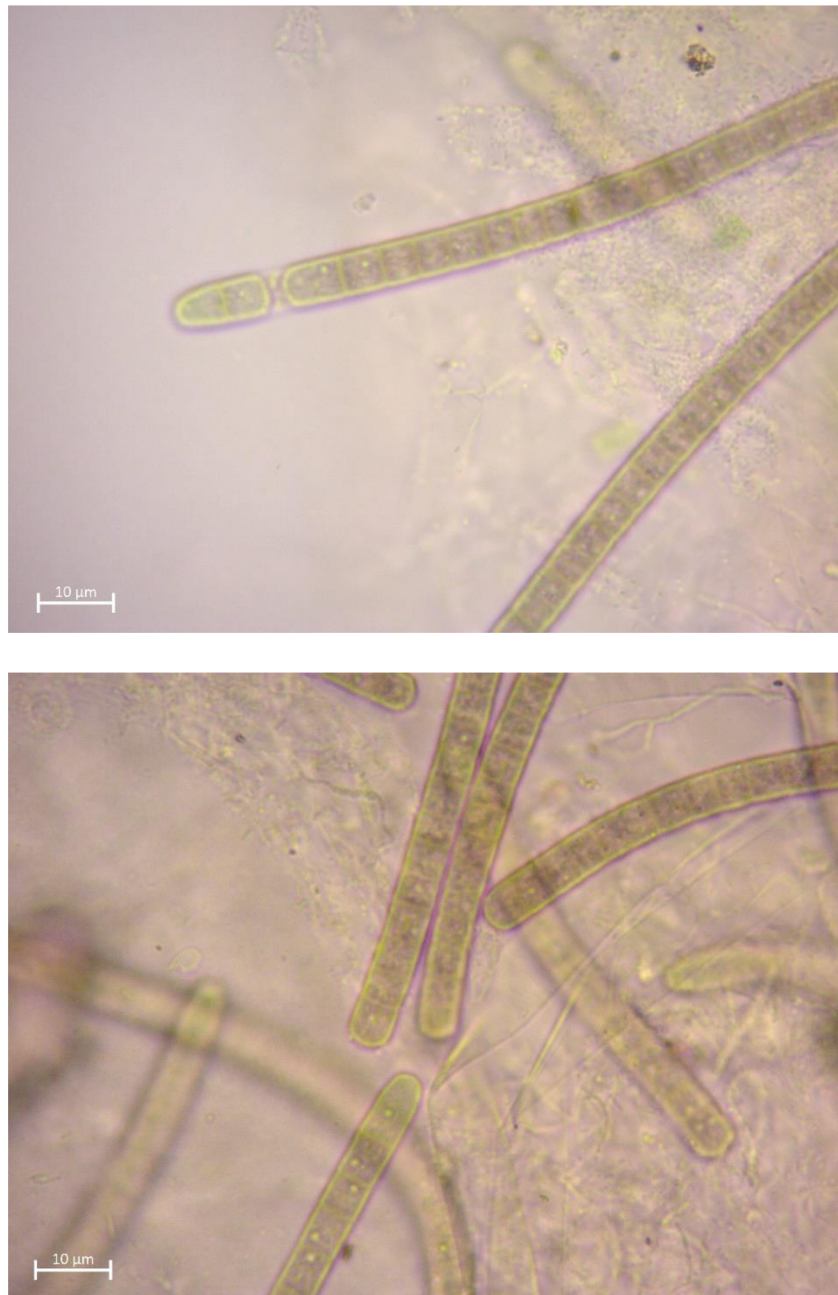
Apikální buňky tohoto kmene jsou zaoblené s absencí kalyptry, modrozelené barvy. Jednotlivé buňky dobře odlišitelné, bez výrazných gran. Délka a šířka se značně odlišovala. Průměrná délka činila 1,79 μm a její směrodatná odchylka 0,33 μm . Průměrná šířka činila 5,51 μm a její směrodatná odchylka 0,68 μm .



Obr. č. 17: Mikrofotografie kmene S23-D3

S29 C1

U kmene s provizorním označením S29 C1 jsem naměřil šířku průměrnou šířku buněk 5,74 μm a směrodatnou odchylkou 0,35 μm . Průměrná délka buněk byla 5,21 μm a směrodatná odchylka činila 1,15 μm . Ve vzorku se nacházelo mnoho nekridických buněk. Vnitřní prostor buněk v podstatě homogenní s množstvím drobných gran. Apikální buňky zaoblené. Barva buněk světle zelená.

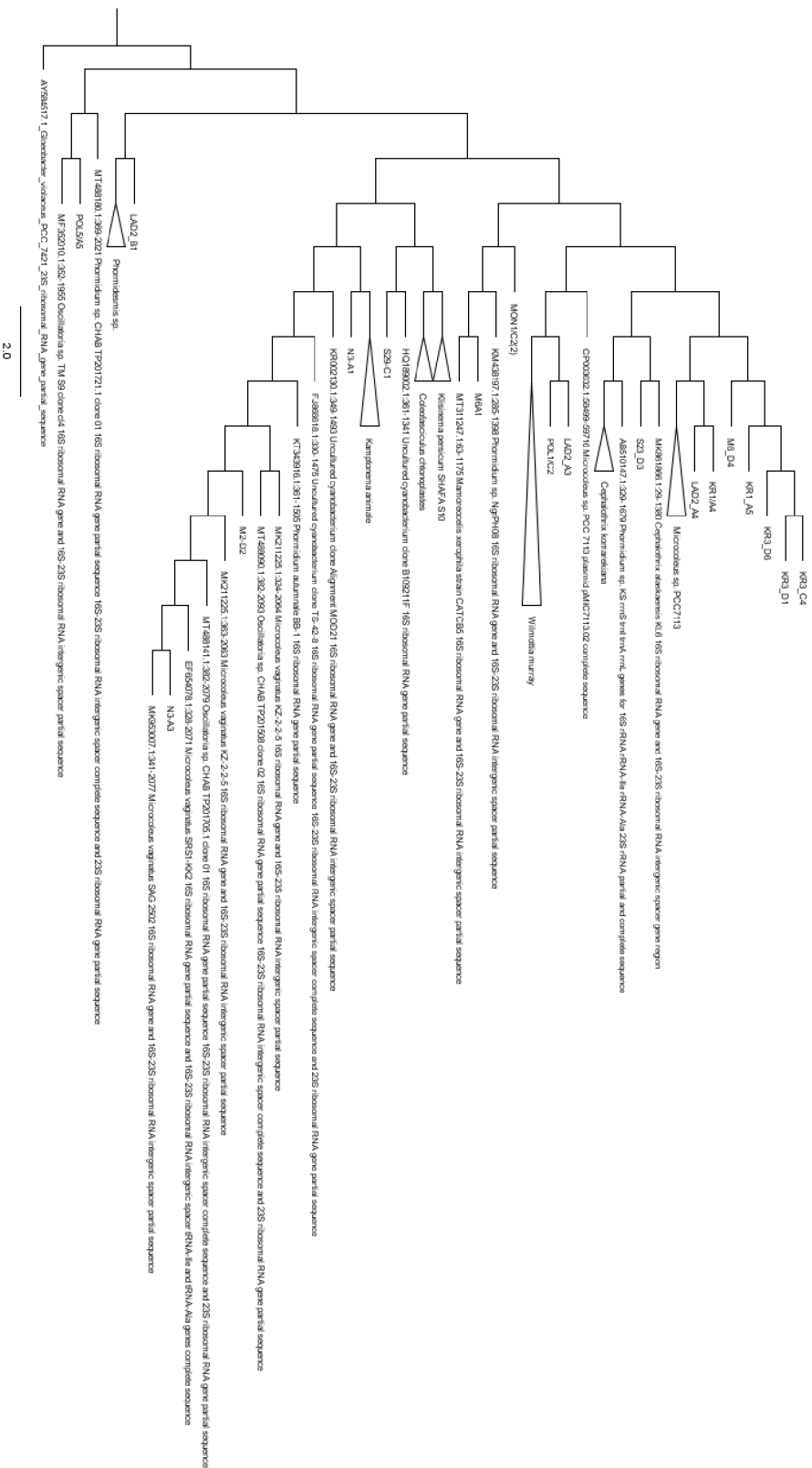


Obr. č. 18: Mikrofotografie vzorku S29-C1

7.2 Fylogenetická analýza

Fylogenetický strom byl zrekonstruován na základě 16S rRNA v programu MEGA X a následně upraven v programu Fig Tree.

Z (obr. č. 18) je patrné, že vzorek LAD2-B1 je podle genetické analýzy nejbližší příbuzný rodu *Phormidesmis* sp., se kterým tvoří dobře definovanou sesterskou větev. Vzorek POL5-A5 představuje blízkého příbuzného s rodem *Oscillatoriales*. Podle genetické analýzy spadají vzorky N3-A3 a M2-D2 do rodu *Microcoleus senu stricto* a jsou blízce příbuzné *Microcoleus vaginatus*. Kmen S29-C1 je příbuzný nekultivované sinice, která nese v databázi NCBI označení HQ189002. Tyto dva vzorky tvoří dobře definovanou sesterskou větev rodům *Klisinema* a *Coleofasciculus*. Vzorek M6-A1 tvoří podle genetické analýzy stejnou fylogenetickou větev, jako *Marmoreocelis xerophila*, se kterým nejspíš sdílí společného předka. Vzorek MON1-C2(2) je blízký příbuzný s rodem *Phormidium* sp. NgrPHO8 (KM4381197). Jedná se o dobře definovanou větev, sesterskou s *Marmoreocelis xerophila* a M6-A1. Vzorky LAD2-A3 a POL1-C2 tvoří dobře definovanou sesterskou větev k rodu *Willmotia*. Vzorek S23-D3 je geneticky nejbližší příbuzný s *Cephalothrix alaskaensis*, se kterým tvoří sesterskou větev s *Phormidium* sp. KS (AB510147.1:329-169) a *Cephalothrix komarekina*. Vzorky KR3-D1 a KR1-A5 tvoří výraznou samostatnou větev, příbuznou větví nesoucí kmeny KR1/A4 a LAD2/A4 a jsou podle genetické analýzy nejbližší příbuzné s *Microcoleus* sp.PCC7113.



Obr. č. 19: Fylogenetický strom (pozn. kompletní fylogenetický strom se nachází v přílohách)

8 Diskuze

Na sedmi vybraných geografických lokalitách v různých klimatických pásmech, s odlišnými srážkovými úhrny a rozdílnými půdními typy byly sesbírány půdní sinice. Tyto vzorky byly následně zanalyzovány v laboratoři. Ze značného množství vzorků se bohužel několik nepodařilo dlouhodobě uchovat v kultuře (jednalo se o vzorky M6-D4, KR3-D6, KR3-C4, KR1-A4 a LAD2-A4). U těchto vzorků se podařilo získat 16S rRNA, tudíž byly zahrnuty do fylogenetického stromu, ale v rámci morfologické analýzy nebyly hodnoceny. Ve vzorcích byly zahrnuty známé rody, jako *Microcoleus* sp., *Phormidium* sp., *Kamptonema* sp. a *Marmoreocelis* sp., *Wilmottia*, *Oscillatoriales*. S největší pravděpodobností jsem také popsal druhy nové, které jsou v příbuzenském vztahu s *Mammoreocelis xerophila*, *Wilmottia* sp., popřípadě s druhy, které již osekvenované jsou, ale nebyl pro ně určen název a morfologické hodnocení.

Kmeny M2-D2 a N3-A1 zahrnují ve fylogenetickém stromu stejnou pozici, jako *Microcoleus sencu stricto*. Tento druh je charakteristický tmavě zelenými až modrými, izodiametrickými buňkami, které jsou výjimečně kratší, než širší, průměrně 4-10 μm dlouhými. Apikální buňka obsahuje polokulovitou až kuželovitou kalyptru s přítomností slizových obalů (Strunecký a kol., 2013). Z provedeného zkoumání jsou vzorky modrozelené až tmavě zelené s kalyptrou. Průměrná délka vorku N3-A3 činila 3,52 μm a šířka 4,78 μm , což zapadá do již zaznamenaného měření. Průměrná šířka vzorku M2-D2 činila 5,18 μm a průměrná délka činila 2,24 μm .

Kmeny LAD2-B1 a N3-A3 jsou podle fylogenetického stromu nejbližší příbuzní k rodu *Phormidium sencu stricto*. Tento rod je temně zelený až modrý, s buňkami 3-10 μm širokými. Jsou zpravidla bez pochev, nebo s tenkými bezbarvými až nažloutlými pochvami. Buňky víceméně izodiametrické nebo kratší či delší než široké (Strunecký a kol., 2014) Vzorek LAD2-B1 měl buňky izodiametrické, průměrně 1,13 μm dlouhé a 1,83 μm široké), světle zelené, bez kalyptry, což neodpovídá popisu *Phormidium sencu stricto*. Průměrná šířka buněk vzorku N3-A1 činila 1,71 μm a délka 4,12 μm , tmavě zelené barvy a při pozorování nebyla zaznamenána přítomnost kalyptry.

Vzorek MON1/C2(2) je podle fylogenetické analýzy nejbližší příbuzný *Phormidium* sp. Ngr Ph08 (KM4381197). Z historického hlediska je rod *Phormidium* skupinou, do které byly řazeny vláknité sinice s obdobnou morfologií. Rod *Phormidium* je charakteristický temně zelenou až modrou barvou vláken s buňkami 3-10 μm širokými. Kmen MON1/C2(2) by

odpovídal popisu, jelikož dosahuje podobných velikostí (průměrná délka byla stanovena na 4,12 a 6,39 μm) i barvy. Jelikož je kmen MON1-C2(2) blízký příbuzný kmeni *Phormidium* sp. Ngr Ph08, který nespadá rodu *Phormidium sensu stricto*, je velice pravděpodobné, že se jedná o nový druh v rámci nového rodu.

Vzorek POL5-A5 je příbuzný rodu *Oscillatoria*. Liší se však morfologicky i délkou buněk. Je velice pravděpodobné, že tento druh do rodu *Oscillatoria* nepatří, jelikož druh, se kterým je zkoumaný vzorek porovnán, byl pravděpodobně nesprávně identifikovaný kmen. Vzorek POL5-A5 má buňky dlouhé 3,57 μm a široké 3,88 μm s častým výskytem gran, kalyptry a světle zelenou barvou. Oproti tomu rod *Oscillatoriales* mají buňky široké 7-36 μm , světle až tmavě zelené barvy, bez pochev či zřídka s tenkými bezbarvými až nažloutlými pochvami. Koncové buňky zaoblené, často rozšířené, s kalyptrou (Kaštanovský a kol., 2008). Podle morfologické a fylogenetické analýzy by se mohlo jednat o nový druh, ale bude potřeba další studium.

U kmene M6-A1 byla pozorována světle zelená barva s průměrnou délkou buněk 6,89 μm a šířkou 5,76 μm , bez kalyptry a slizových obalů a tmavě zelené barvy. Podle fylogenetického stromu je nejbližší příbuzný druh *Marmoreocelis xerophila*. Šířka buněk u *Marmoreocelis xerophila* dosahuje 6,8-8,0 μm a délka buněk 6,0-7,2 μm . Buňky modrozelené až tmavě zelené. Apikální buňky kuželovité zaoblené, bez kalyptry (N.M. Machando-de-Lima a Branco, 2020). Morfologicky se zkoumaný vzorek s *Marmoreocelis xerophila* značně liší. Pravděpodobně se jedná o zcela nový druh v rámci již popsaneho rodu *Marmoreocelis*, ale bude potřeba další studie.

Vzorek S29-C1 je příbuzný vzorku nekultivované sinice, která nese v databázi NCBI označení HQ189002. Tyto dva vzorky pak tvoří dobře definovanou sesterskou větev rodům *Klisinema* a *Coleofasciculus*. Morfologicky se vzorek S29-C1 odlišuje od *Klisinema* a *Coleofasciculus*. Rod *Klisinema* má modro zelené buňky, široké 3-5 μm , přibližně izodiametrické, obsah buňky homogenní, mírně granulovaný, bez slizového obalu (Heidari a Hauer, 2018). Buňky rodu *Coleofasciculus* jsou 2-5-5 μm široké a 4-14 μm dlouhé, modro zelené až tmavě modro zelené, bez kalyptry (Siegesmund a kol., 2008). U vorku S29-C1 nabývaly buňky průměrné šířky 5,75 μm a průměrné délky 5,21 μm , vnitřní prostor homogenní, s množstvím gran. Je pravděpodobné, že se jedná o nový rod sinic, ale bude potřeba další studium.

Vzorky LAD2-A3 a POL1-C2 jsou zjevně dva nové druhy, spadající do zcela nového rodu. Fylogeneticky jsou nejbližší příbuzní *Wilmottia sp.*. Buňky *Wilmottia sp.* jsou ± izodiametrické s velikostí (2)3,2-6,3 μm, s širokou slizovou pochvou a nabývají modro zelené barvy. Na konci se nenachází kalyptra (Strunecký a kol., 2011). U vzorku LAD2-A3 dosáhla průměrná délka buněk 5,76 μm a průměrná šířka 4,04 μm. Kmen POL1-C2 dosáhl podobné velikosti buněk (průměrná šířka činila 5,32 μm a průměrná délka 3,61 μm).

Šířka buněk u kmene S29-D3 dosáhla hodnoty 5,51 μm a délka buněk činila 1,79 μm. Podle fylogenetického stromu je tento kmen nejbližší příbuzný k *Cephalothryx sp.* Rovněž tvoří sesterský klad s *Phormidium senu stricto*. *Cephalothrix sp.* má buňky širší, než delší (průměrná délka činí 2,6 μm a průměrná šířka 5,2 μm) s velkými apikálními buňkami s občasným výskytem kónické kalyptry s fakultativními aerotopy. Velikostně i morfologií by tedy zkoumaný vzorek odpovídal fylogenetickému přiřazení k *Cephalothryx*. Rozdílnost je rovněž v barvě, která je u vzorku S29-D3 světle zelená a u *Cephalothryx sp.* tmavě zelená. Shodná je absence kalyptry u obou kladů. Je pravděpodobné, že se jedná o nový druh v rámci již popsaného kmene *Cephalothrix*. K této teorii je však potřeba další studie.

Kmeny KR1-A5, KR3-C4, KR3-D1, KR3-D6, M6-D4, KR1-A4 a LAD2-A4 tvoří výraznou samostatnou větev, příbuznou s *Microcoleus sp.* PCC7113. Kmen *Microcoleus sp.* PCC7113 tvoří samostatnou větev, která nespádá do *Microcoleus senu stricto* (Strunecký a kol., 2013) a s velikou pravděpodobností se jedná o zcela nové rody. Bohužel se většina těchto vzorků nepodařilo správně kultivovat, s výjimkou vzorků KR3-D1 a KR1-A5, a tudíž nebyla provedena morfologická analýza. Příbuznost u vzorků, které se nepodařilo uchovat v kultuře je analyzována pouze na základě 16S rRNA. Buňky kmene KR3-D1 měly mohutnou slizovou pochvu se značným množstvím gran a nekrídických buněk, tmavě zelené barvy. Průměrná délka činila 2,03 μm a průměrná šířka 6,43 μm. U vzorku s provizorním označením KR1-A5 dosahovala průměrná délka 1,91 μm a průměrná šířka činila 5,94 μm. Vlákna byla protáhlá se světlezelenou barvou se značným množstvím gran po celé délce vlákna. Z již známých měření jsou buňky rodu *Microcoleus sp.* PCC7113 charakteristické tmavě zelenými až modrými, zpravidla izodiametrickými buňkami, výjimečně kraší, než delší s průměrnou délkou 4-10 μm. Na apikální buňce se nachází polokulovitá až kuželovitá kalyptra s přítomností slizových obalů. Je tedy pravděpodobné, že se jedná o nový rod a druhy. Bohužel se většina těchto kmenů nepodařila uchovat v kultuře, tudíž nebyla provedena morfologická analýza. K potvrzení však bude potřeba další studium.

9 Závěr

Na území Polska, Švédska, Norska, Kréty a Mauriciu, Indie a Montany (USA) probíhal sběr půdních sinic. Tyto vzorky byly následně vyizolované, nafocené a alespoň částečně určeny na úroveň druhu. Ve výsledku bylo vyizolovány rody *Oscillatoria*, *Microcoleus*, *Phormidium*, *Wilmottia* a *Cephalothrix*.

Byla vypracovaná literární rešerše, která pomocí poznatků a výsledků prací z celého světa stručně charakterizuje vláknité sinice. Dále byla popsána role půdních organismů, ke kterým sinice bezesporu patří a plní zde roli primárních producentů. Také byla zmíněna aktuální klasifikace sinic, jejich využití a ekologie.

Ke každému vyizolovanému kmenů byla provedena morfologická a fylogenetická analýza. Z výsledků lze konstatovat, že diverzita sinic je ve zkoumaných oblastech poměrně bohatá. Pravděpodobně byly objeveny nové druhy i rody sinic, jejich přesné určení však bude vyžadovat další studium. Pokud by se jednalo o nové druhy či rody, znamenalo by to další důkaz, že mnoho vláknitých sinic stále čeká na objevení.

Seznam zkratk

MISS - Microbially induced sedimentary structures (Mikrobiálně indukované sedimentární struktury)

TEM – Transmission electron microscope (Transmisní elektronový mikroskop)

SEM – Scanning electron microscope (Rastrovací elektronový mikroskop)

EPS – Extracellular polymeric substance (Extracelulární polymerní látky)

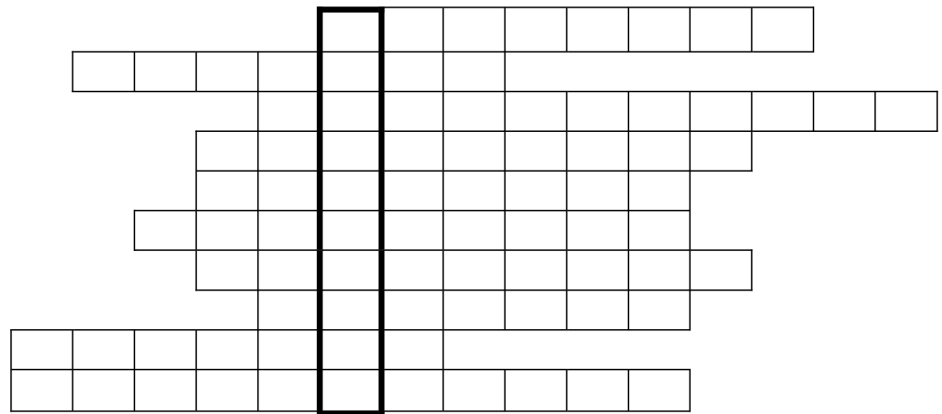
ICBN - International Code of Botanical Nomenclature (Mezinárodní kód botanické nomenklatury)

ICNB – International Code of Nomenclature of Bacteria (Mezinárodní bakteriologický kód)

WGS - Whole Genome Shotgun Sequencing (Celogenomové náhodné sekvenování)

10 Didaktická část

Sinice bezesporu patří mezi nejvýznamnější organismy na Zemi. Nacházejí se všude kolem nás a většina lidí si ani neuvědomuje jejich přítomnost a jejich existence je lidem neznámá. Zejména na školách je jejich výuka podhodnocena a nevěnuje se jim tolik pozornosti, kolik si zaslouží. V rámci mé práce jsem vytvořil didaktickou tajenku, ve které se nacházejí základní pojmy, které souvisí s problematikou sinic. Cílem tohoto úkolu je doplnit do prázdných polí pojmy týkající se problematiky sinic a vyřešit tím tajenku.



- 1) Organismy vznášející se volně ve vodním sloupci
- 2) Jak se nazývá dělení u sinic
- 3) Proces, při kterém rostliny a sinice produkují kyslík
- 4) Přístroj určený k pozorování sinic
- 5) Název sinice vstupující do symbiózy s kapradinou a nachází uplatnění při pěstování rýže
- 6) Název sinice nacházející široké uplatnění v biotechnologii a výrobě léčiv
- 7) Membrány s uloženým fotosyntetickým aparátem
- 8) Typ stélky
- 9) Spory sloužící k přežití nepříznivých podmínek
- 10) Fosilní útvary, které byly vytvořeny činností sinic.

Sinice ředíme mezi _____

11 Literatura

ABED R. M., S. DOBRESTOV a K. SUDESH, 2008. Application of cyanobacteria in biotechnology. *Applied Microbiology* [online]. **106**, 1-12. Dostupné z: doi: 10.1007/s00253-011-3394-0

ADAMS D. G. a P. S. DUGGAN, 2008. Cyanobacteria-bryophyte symbioses. *Journal of Experimental Biology* [online]. **59**(5), 1047-1058. Dostupné z: bot 59:1047-1058. doi: 10.1093/jxb/ern005

ADAMS D., B. BERGMAN a S. NIERZWICKI-BAUER, 2013. *Cyanobacterial-plant symbioses* [online]. **1**, 359-400. ISBN: 978-3-642-30193-3. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-642-30194-0_17

AMEZKETA E., 1999. Soil aggregate stability: a review. *Journal of Sustainable Agriculture* [online]. **14**, 83-151. Dostupné z: http://dx.doi.org/10.1300/J064v14n02_08

AMMAN R. I., W. LUDWIG a K-H SCHLEIFER, 1995. Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. *Microbiological Reviews* [online]. **59**(1), 143–169. ISSN 00180777. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/mr.59.1.143-169.1995>

BADGER M.R. a G.D. PRICE, 2003. CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *Journal of Experimental Botany* [online] **54**(383), 609-622. Dostupné z: DOI: 10.1093/jxb/erg076

BAROT S., M. BLOUIN, S. FONTAINE, P JOUQUET, J. C LATA a J. MATHIEU, 2007. A tale of four stories: Sil ekology, theory, evolution and the publication systém. *Plos ONE* [online]. **2**(11). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0001248

BEKKER, A, HD HOLLAND, WANG-P, 2004. Dating the rise of of atmospheric oxygen. *Natura* [online]. **427**, 117-120. Dostupné z: doi:10.1038/nature02260

BERGMAN B., C JOHANSON a E. SÖDERBÄCK, 2002. *Nostoc-Gunnera* symbiosys. *New Phytologist* [online]. **122**(3), 379-400, dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb00067.x>

BHAYA D., A. R. GROSSMAN a A-S STENOUE, 2007. Population level functional diversity in a microbial community revealed by comparative genomic and metagenomic analyses. *The ISME Journal* [online]. **1**, 703-713. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.46>

BILLI D., M. BAQUÉ, C. VERSEUX, L. ROTHSCHILD, J. P. de VERA, 2017. Adaption of Microbial Life to Environmental Extremes. *Desert cyanobacteria: potential for space and earth applications*. [online]. 133-146, ISBN 978-3-319-48327-6. Dostupné z: DOI 10.1007/978-3-319-48327-6_6

BONKOWSKI M., C. VILLENAVE a B. GRIFFITHS, 2009. Rhizosphere fauna: the functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant Soil* [online]. **321**, 213–233. Dostupné z: doi: 10.1007/s11104-009-0013-2

BORATYN G.M., J. THIERRY-MIEG, D. THIERRY-MIEG a T. L. MADDEN, 2019. Magic-BLAST, an accurate RNA-seq aligner for long and short reads. *BMC Bioinformatic* [online]. **20**(405). Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12859-019-2996-x>

BOSAK T., A. H. KNOLL a A. P. PETROFF, 2013. The meaning of stromatolites. *Annual Review of Earth Planet Science* [online]. **41**, 21-44. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-042711-105327>

BOSAK T., B. LIANG, M. S. SIM a A. P. PETROFF, 2006. Morphological record of oxygenic photosynthesis in conical stromatolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **106**, 10939-10943. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.0900885106>

BROUWER P., A. BRÄUTIGAM a KÜLAHOGLU, 2014. *Azolla* domestication towards a biobased economy. *New Phytologist* [online]. **202**, 1069-1082. Dostupné z: doi:10.1111/nph.12708

BROWN G., I. BAROIS, P. LAVELLE, 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional

domains. *European Journal of Soil Biology* [online]. **36**(3), 177-198. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(00\)01062-1](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(00)01062-1)

BRUSSAARD L., V. M. BEHAN-PELLETIER, D. E. BIGNELL, 1997. Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Springer on Behalf of Royal Swedish Academy of Sciences* [online]. **26**(8), 563-570. ISSN 0044-7447. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/4314670>

CASAMATTA D.A., M.L. VIS, R.G. SHEATH, 2003. Cryptic species in cyanobacterial systematics: a case study of *Phormidium retzii* (*Oscillatoriales*) using 16S rDNA and RAPD analyses. *Aquatic Botany* [online]. **77**(4), 295-309. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2003.08.005>

CASTENHOLZ R. W., T. B. NORRIS, 2005. Revisionary concepts of species in the Cyanobacteria and their applications. *Algological Studies* [online]. **117**, 53-69. Dostupné z: DOI: [10.1127/1864-1318/2005/0117-0053](https://doi.org/10.1127/1864-1318/2005/0117-0053)

CASTENHOLZ W. R., 1988. Culturing Methods for Cyanobacteria. *Methods in Enzymology* [online]. **167**, 68–93. ISSN 15577988. Dostupné z: doi:10.1016/0076- 6879(88)67006-6

CASTENHOLZ W. R., 2001. Cyanobacteria, Berge's Manual. Systematical Bacteriology [online]. **437**, 473-599. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_27.

CERQUIERA T., D. PINHO, H. FROUFE, R. S. SANTOS, R. BETTENCOURT, C. EGAS, 2017. Sediment microbial diversity of three deep-sea hydrothermal vents southwest of the Azores. *Microbial Ecology* [online]. **74**(2), 332-349. Dostupné z: DOI: [10.1007 / s00248-017-0943-9](https://doi.org/10.1007/s00248-017-0943-9)

CODD G. A., C. J. WARD a S. G. BELL, 1997. Cyanobacterial toxins: occurrence, modes of action, health effect and exposure routes. *Arch Toxicol Suppl* [online]. **19**, 399-410. Dostupné z: doi: 10.1016/j.chemosphere .2013.07.056

COHAN F. M. a E. B. PERRY, 2007. A systematics for discovering the fundamental units of bacterial diversity. *Current Biology* [online]. **17**(10), R376-R386. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.03.032>

COHAN M. F., 2001. Bacterial species and speciation. *Systematic Biology* [online]. **50**, 513-524. Dostupné z: DOI: [10.1080 / 10635150118398](https://doi.org/10.1080 / 10635150118398)

- COHAN M. F., 2002. What are bacterial species? *Annual review of microbiology* [online]. **56**, 457-487. Dostupné z: DOI: [10.1146/annurev.micro.56.012302.160634](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160634)
- CORNELISSEN J. H. C. a M. H. LANG, 2007. Comparative cryptogam ecology: a review of bryophyte and lichen traits that drive biogeochemistry. *Annals of Botany* [online]. **99**(5), 987-1001. Dostupné z: doi:10.1093/aob/mcm030
- CURREN E. a S. C. Y. LEONG, 2020. Natural and anthropogenic dispersal of cyanobacteria: a review. *Hydrobiologia* [online]. **847**, 2801-2822. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04286-y>
- CURREN E., S. LEONG, 2018. New records of benthic coastal cyanobacteria observed from the Southern Islands of Singapore. *Algological Studies* [online]. **154**, 93-112. Dostupné z: DOI: [10.1127 / algol_stud / 2018/0302](https://doi.org/10.1127/algol_stud/2018/0302)
- DAUBIN V., M. GOUY a G. PERRIERE, 2002. A phylogenomic approach to bacterial phylogeny: evidence of a core of genes sharing a common history. *Genome Research* [online]. **12**(7), 1080-1090. Dostupné z: DOI: [10.1101/gr.187002](https://doi.org/10.1101/gr.187002)
- DAVID A. L. a ALM J. E., 2011. Rapid evolutionary innovation during an Archean genetic expansion. *Nature* [online]. **496**, 93-93. Dostupné z: doi:10.1038/nature09649
- DITTMAN E., D. P. GEWER a B. A. NEILAN, 2013. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbial Review* [online]. **37**, 23-43. Dostupné z: [10.1111/j.1574-6976.2012.12000.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.12000.x)
- DITTMANN E., M. GUGGER a K. SIVONEN, 2015. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of cyanobacteria. *Trends Microbiol* [online]. **23**(10), 642-652. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2015.07.008
- DOBLIN A. M., K. COYNE, J. RINTA-KANTO, S. W. WILHEM, F. C. DOBBS, 2007. Dynamics and short-term survival of toxic cyanobacteria species in ballast water from NOBOB vessels transiting the Great Lakes-implication for HAB invasion. *Harmful Algae* [online]. **6**(4), 519-530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.05.007>
- DOBROVOLNÁ V., 1996. *Školní atlas světa*. 6. vyd. Praha: Kartografie. 8-10. ISBN 80-7011-375-8.

DVOŘÁK P., D. A. CASAMATTA, P. HAŠLER, V. ONDŘEJ, A. POULÍČKOVÁ a R. SANGERS, 2014. *Synechococcus*: 3 billion years of global dominance. *Molecular Ecology* [online]. **23**(22), 5538-5551. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/mec.12948>

DVOŘÁK P., P. HAŠLER a A. POLÍČKOVÁ, 2012. Phylogeography of the *Microcoleus vaginatus* (cyanobacteria) from three continents—a spatial and temporal characterization. *PLOS ONE* [online]. **7**(6). Dostupné z: doi: [10.1371/journal.pone.0040153](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040153)

EDGAR R. C., 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* [online]. **32**(5), 1792–1797. ISSN 03051048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkh340

ENGELMANN T. W., 1883. Bakterie fotometricum. *Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* [online]. **30**, 95-124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01674325>

EVARD C. a C. VAN HOVE, 2004. Taxonomy of the American *Azolla* species (Azollaceae): A Critical Review. *Systematics and Geographics of Plant* [online]. **74**(2), 301-318. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/3668500>

FAIST M. A., J. E. HERRICK, J. BELNAP, J. W. VAN ZEE a N. N. BARGER, 2017. Biological soil crust and disturbance controls on surface hydrology in semi-arid ekosystém. *Ecosphere* [online]. **8**(3). Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ecs2.1691>

FALCÓN L. I., S. MAGALLÓN a A. CASTILLO. D, 2010. Dating the cyanobacterial ancestor of the chloroplast. *ISME* [online]. **4**, 777-783. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.2>

FRANZLUEBBERS A. J., 2002. Water infiltration and soil structure related to organic matter and its stratification with depth. *Soil and Tillage Research* [online]. **66**, 197-205. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(02\)00027-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(02)00027-2)

GEVERS D., F. M. COHAN, J. G. LAWRENCE, B. G. SPRATT, T. COENYE, E. J. FEIL, E. STACKEBRANDT, Y. V. PEER, P. VANDAMME a F. L. THOMPSON, 2005. Re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **3**, 733-739. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1236>

GIOVANNONI S. J., S. TURNER, G. J. OLSEN, S. BARNS, D. J. LANE a N. R. PACE, 1988. Evolutionary relationships among cyanobacteria and green chloroplasts. *Journal Bacteriology* [online]. **170**, 3584-3592. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jb.170.8.3584-3592.1988>.

GREMBERGHE I., F. LELIAERT, J. MERGEAY, P. VANORMELINGEN, K. GUCHT, A. E. DEBEER, G. LACEROT, L. MEESTER, W a W. VYVERMAN, 2011. Lack of phylogeographic structure in the freshwater cyanobactrium *Microcystis aeruginosa* suggests global dispersal. *PLOS ONE* [online]. **6**(5), Dostupné z: doi: [10.1371/journal.pone.0019561](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019561)

GUAVERA R., J. J. ARMESTO a M. CARU, 2002. Genetic diversity of *Nostoc* microsymbionts from *Gunnera tinctoria* revealed by PCR-STR fingerprinting. *Microbial Ecology* [online]. **44**, 127-136. Dostupné z: doi:10.1007/s00248-002-1019-y

GUIRY M. D., 2012. How many species of algae are there? *Perspective* [online]. **48**(5), 1057-1063. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x>

GUIRY M.D. a G.M. GUIRY, 2015. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway [online]. Dostupné z: <http://www.algeabase.org>;

HANAGE W. P., C FRASHER a B. G. SPRATT, 2005. Fuzzy species among recombinogenic bacteria. *BMC Biology* [online]. **3**(6). Dostupné z: DOI: 10.1186 / 1741-7007-3-6

HAŠLER P., P. DVOŘÁK, J. J. JOHANSEN , M. KITNER, V. ONDŘEJ a A. POULÍČKOVÁ, 2012. Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (*Oscillatoriales*, *Cyanophyta/Cyanobacteria*). *Fottea* [online]. **12**(2), 341–356. Dostupné z: DOI: 10.5507/fot.2012.024

HEIDARI F., J. ZIMA, H. RAIHI a T. HAUER, 2018. New simple trichal cyanobacterial taxa isolated from radioactive thermal springs. *Fottea* [online]. **18**(2), 137-149. Dostupné z: DOI: 10.5507/fot.2017.024

HIDALGO-RUZ V., L. GUTOW, R. THOMPSON, M. THIEL, 2013. HOFMANN H.J., 1976. Precambrian mikroflóra, belcher islands, Canada: significance and systematics. *Journal of Paleontology* [online]. **50**(6), 1040-1073. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/1303547>

HOWARD A. M., L. SHAMSEER a H. E. SCHELLHORN. Phylogenetic analysis and molecular signatures defining a monophyletic clade of heterocystous cyanobacteria and

identifying its closest relatives. *Photosynth Res* [online]. **122**, 171-185. Dostupné z: doi: 10.1007/s11120-014-0020-x

CHORUS I. a J. BERTRAM, 1999. Toxic Cyanobacteria in Water. *Journal of Applied Phycology* [online]. **11**(595). Dostupné z: <https://doi.org/10.1023/A:1008198707856>

CHRISTIANSEN K. A., P. BELLINGER a F. JANSSENS, 2009. Collembola: (Springtails, Snow Fleas. *Encyclopedia of Insects* [online]. 203-210. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374144-8.00064-3

J. M. TIEDAJE a A. RAMETTE, 2007. Multivariate analyses in microbial biology. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. **62**(2), 142-160. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00375.x>

JEGOU D., S. SCHRANDER, H. DIESTEL a D. CLUZEAU, 2001. Morphological, physical and biochemical characteristics of burrow walls formed by earthworms. *Applied Soil Ecology* [online]. **17**(2), 165-174. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00136-0](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00136-0)

JENKINS, P. A., 1991. Mycobacteria in the environment. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*. (20). ISSN 02674440.

JOHANSON C., S. NIERZWICKI-BAUER a B. BERGMAN, 1994. Reconstruction of the *Gunnera manicata* linden symbiosis: cyanobacterial specificity. *New Phytologist* [online]. **126**, 643-652. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb0260.x

JUNGBLUT D., C. LOVEJOY a W. F. VINCENT, 2010. Global distribution of cyanobacterial ecotypes in the cold biosphere. *Microbial Population and Community Ecology* [online]. **4**, 191-202. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.113>

KAŠTOVSKÝ J., T. HAUER, R. GERIŠ, B. CHATTOVÁ, J. JURÁŇ, O. LEPŠOVÁ-SKÁCELOVÁ, P. PITELKOVÁ, M. PUZSTAI, P. ŠKALOUD, J. ŠŤASTNÝ, K. ČAPKOVÁ, M. BOHUNICKÁ a R. MÜHLSTEINOVÁ, 2018. Atlas sinic a řas České republiky 1. 1. svazek. ISBN 9788075680716.

KAY B. D., 1998. Soil structure and organic carbon: a review. *Soil Processes and the Carbon Cycle*. **1**, 169-197. ISBN 9780203739273

KHAN Z., P. BHADOURI a P. C. BISEN, 2005. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Current Pharmaceutical Biotechnology* [online]. **6**, 373-379. Dostupné z: doi: 10.3923/ijp.2016.36.51

KIEM R. a E. KANDELER, 1997. Stabilization of aggregates by the microbial biomass as affected by soil texture and type. *Applied Soil Ecology* [online]. **5**(3), 221-230. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00132-1](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00132-1)

KIM M., H. S. OH, S. C. PARK a J. CHUN, 2014. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol* [online]. **64**(2), 346-351. Dostupné z: doi: 10.1099/ijms.0.059774-0.

KOEPPEL A. F., J. O. WERTHEIM, L. BARONE, N. GENTILE, D. KRIZANC a F. M. COHAN, 2013. Speedy speciation in bacterial microcosm: new species can arise as frequently as adaptations within a species. *Microbial Population and Community Ecology* [online]. **7**, 1080-1091. Dostupné z: DOI: [10.1038/ismej.2013.3](https://doi.org/10.1038/ismej.2013.3)

KOMÁREK J. a K. ANAGNOSTIDIS, 1998. Cyanoprokaryota 2. Teil *Oscillatoriales*. In: Ettl H, Gärtner G, Heynig H a kol. (eds) Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1. Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, Germany, pp 1-548

KOMÁREK J., 2013. Cyanoprokaryota. 3. Heterocytous genera. In: Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, Schagerl M (eds) Süßwasserflora von Mitteleuropa/Freshwater flora of Central Europe. Springer Spektrum, Berlin/Heidelberg/Germany, pp 1-1130

KOMÁREK J., 2018. Delimitation of the family *Oscillatoriaceae* (Cyanobacteria) according to the modern polyphasic approach (introductory review). *Brazilian Journal of Botany* [online]. **41**, 449-456. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40415-017-0415-y>

KONSTANTINIDIS K. T., A. RAMETTE a J. M. TIEDJE, 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [online]. **361**, 1929-1940. Dostupné z: DOI: [10.1098/rstb.2006.1920](https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1920)

KOPAC S., Z. WANG, J. WIEDENBECK, J. SHERRY, M. WU a F. M. COHAN, 2014. Genomic heterogeneity and ecological speciation within one subspecies *Bacillus subtilis*.

Applied and Environmental Microbiology [online]. **80**(16), 4842-4853. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.00576-14>

KUMAR K., R. A. MELLA-HERRERA a J. W. GOLDEN, 2010. Cyanobacterial heterocysts. *Cold Springs Harb Perspect Biol* [online]. **2**(4). Dostupné z: DOI: [10,1101 / cshperspect.a000315](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000315)

KUMAR S., G. STECHER, M. LI, CH. KNYAZ a K. TAMURA, 2018. Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* [online]. **35**(6), 1547–1549. ISSN 15371719. Dostupné z: doi:10.1093/molbev/msy096

LEWANDOWSKA A.U., WILCZEWSKA S.S. a D. WOZNICZKA, 2017. Identification of cyanobacteria and microalgae in aerosols of various sizes in the air over the Southern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* [online]. **125**(1-2), 30-38. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.064>

LEWIS L. A., 2017. Hold the salt: freshwater origin of primary plastids. *Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am* [online]. **114**, 9759-9760. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.1712956114>

LIENGEN T., 1999. Environmental factors influencing the nitrogen fixation activity of free-living terrestrial cyanobacteria from a high arctic area. *Canadian Journal of Microbiology* [online]. **45**(7): 573–581. Dostupné z: <https://doi.org/10.1139/w99-040>

LINDO Z., M. C. NILSSON a M. C. GUNDALE, 2013. Bryophyte-cyanobacteria associations as regulators of the northern latitude carbon balance in response to global change. *Glob Chang Biol* [online]. **19**, 2022-2035. Dostupné z: doi: 10.1111/gcb.12175

LOSOS B. a kol., 1985. Ekologie živočichů. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 1. svazek. 187-194. ISBN: 9788021005181

LŮCKING R., M. DAL-FORNO a M. SIKAROODI, 2014. A single macrolichen constitutes hundreds of unrecorganized species. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. **111**, 11091-11096. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1403517111

MACHANDO DE LIMA N. M. a L. H. Z. BRONCO, 2020. Biological soil crusts: new genera and species of Cyanobacteria from Brazilian semi-arid regions. *Phytotaxa* [online]. **470**(4), 263-281. Dostupné z: DOI: [10.11646/PHYTOTAXA.472.3.10](https://doi.org/10.11646/PHYTOTAXA.472.3.10)

Mann D.G. a Evans, K.M., 2008. Molecular genetics and the neglected art of diatomics, In: J. Lewis and J. Broadie (eds.) *Unravelling the Algae, the Past, the Present and Future*. Elsevier, London, pp. 231–265. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9780849379901.ch13>

MAREŠ J., Y. LARA, a I. DADÁKOVÁ, 2015. Phylogenetic analysis of cultivation-resistant terrestrial cyanobacteria with massive sheaths (*Stigonema* spp. And *Petalonema* alatum, Nostocales, Cyanobacteria) using single-cell and filament sequencing of environmental samples. *Journal of Phycology* [online]. **51**(2), 288-297. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jpy.12273>

MAZARD S., M. OSTROWSKI, F. PARTENSKY a D. J. SCANLAN, 2012. Multi-locus sequence analysis, taxonomic resolution and biogeography of marine *Synechococcus*. *Environmental Microbiology* [online]. **14**(2), 372-386. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02514.x>

MEEKS J. C., CAMPBELL E. L., SUMMERS M. L. a F.C. WONG, 2002. Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Archives of Microbiology* [online]. **178**, 395-403. Dostupné z: DOI 10.1007/s00203-002-0476-5

MES T. H., 2008. Microbial diversity—insights from population genetics. *Environmental Microbiology* [online]. **10**(1), 251–264. Dostupné z: DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01449.x

Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology* [online]. **46**(6): 3060–3075. Dostupné z: DOI: [10.1021/es2031505](https://doi.org/10.1021/es2031505)

MILLER K.R., J.S. JACOB, T. BURGER-WIERSMA, H.C. MATTHIJS, 1988. Supramolecular structure of the thylakoid membrane of *Prochlorothrix hollandica*: a chlorophyll b-containing prokaryote. *Journal of Cell Science* [online]. **91**(4), 577-586. Dostupné z: PMID: 3255758

- MILLER S. R., A. R. GROSSMAN a A. S. STENOUE, 2007. Phylogeography of the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **73**(15), 4751-4759. Dostupné z: DOI: 10.1128 / aem.02945-06
- MULLER D. B., C. VOGEL, Y. BAI a J. A. VORHOLT, 2016. The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. *Annual Review of Genetics* [online]. **50**, 211-234. Dostupné z: 10.1146/annurev-genet-120215-034952
- MULVENNA V., K. DALE, B. PRIESTLY, U. MUELLER, A. HUMPAGE, G. ALLINSON, G. SHAW a I. FALCONER. Health Risk Assessment for Cyanobacterial Toxins in Seafood. *Int. J. Environ. Res. Public Health* [online]. **9**(3), 807-820. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijerph9030807>
- MUR L.R., H.J. GONS a L. V. LIERE, 1979. Some experiments on the competition between a green alga and a cyanobacterium. *Microbiology Letters* [online]. **1**(6), 335-338. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1977.tb00646.x>
- NABOUT J. C., R. B. SILVA a F. M. CERNEIRO, 2013. How many species of cyanobacteria are there? Using a Discovery curve to to predict the species number. *Biodiversity Conservation* [online]. **22**, 2907-2918. Dostupné z: DOI: [10.1007/s10531-013-0561-x](https://doi.org/10.1007/s10531-013-0561-x)
- NAKLEH L., 2013. Computational approaches to species phylogeny inference and gene tree reconciliation. *Trends in Ecology & Evolution* [online]. **28**(12), 681-736. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.09.004>
- NARECHANIA A., R. H. BAKER, R. SIT, S. O. KOLOKOTRONSIS, R. DESALLE a P. J. PLANT, 2011. Random addition concatenation analysis: a novel approach to the exploration of phylogenomic signal reveals strong agreement between core and shell genomic partitions in the cyanobacteria. *Genome Biol Evol* [online]. **4**(1), 30-43. Dostupné z: doi:10.1093/gbe/evr121
- NILSON M., B. BERHMAN a U. RASMUSSEN, 2000. Cyanobacterial diversity in geographically related and distant host plants of the genus *Gunnera*. *Arch microbiol* [online]. **173**, 97-102. Dostupné z: doi:10.1007/s002039900112
- NOFFKE N., T. GERDES, T. KLENKE a W. E. KRUMBEIN, 2001. Microbially induced sedimentary structures - a new category within the classification of primary sedimentary

structures – discussion. *Sedimentary research* [online]. **72**(4), 587-588. Dostupné z: <https://doi.org/10.1306/101401720587>

NOVICHKOV P. S., M. V. OMELCHENKO, M. S. GELFAND, A. A. MIRONOV, Y. I. WOLF a E. V. KOONIN, 2004. Genome-wide molecular clock and horizontal gene transfer in bacterial evolution. *Journal Bacteriol* [online]. **186**, 6575-6585. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JB.186.19.6575-6585.2004>

NOWACK S., M. T. OLSEN a G. A. SCHAIBLE, 2015. The molecular dimension of microbial species: 2. *Synechococcus* strains representative of putative ecotypes inhabiting different depths in the Mushroom Spring microbial mat exhibit different adaptive and acclimative responses to light. *Front Microbiol* [online]. **6**(626). Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2015.00623

OKSAKEN I., J. JOKELA a D. P. FEWER, 2004. Discovery of rare and highly toxic microcystins from lichen associated cyanobacterium *Nostoc* sp. *Applied Environmental Microbiology* [online]. **70**, 5756-5763. dostupné z: doi: 10.1128/AEM.70.10.5756-5753.2004

OLSEN M. T., S. NOWACK a J. M. WOOD, 2015. The molecular dimension of microbial species: 2. *Synechococcus* strains representative of putative ecotypes inhabiting different depths in the Mushroom Spring microbial mat exhibit different adaptive and acclimative responses to light. *Frontiers in Microbiology* [online]. **6**(604). Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2015.00604

OSBOURNE B. a B. BERGMAN, 2009. Why does *Gunnera* do it and other angiosperms don't? an evolutionary perspective on the *Gunnera-Nostoc* symbiosis. *Prokaryotic symbionts in plants* [online]. 207-224. Dostupné z: doi: 10.1007/7171_2007_116

OSORIO-SANTOS K., N. PIETRASIAK, M. BOHUNICKÁ, L. H. MISCOE, L. KOVÁČIK, M. P. MARTIN a J. R. JOHANSEN, 2014. Seven new species of *Oculatella* (Pseudoanabaenales, Cyanobacteria). *European Journal of Phycology* [online]. **49**(4), 450-470. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09670262.2014.976843>

PATHAK J., R. RAJNEESH, A. S. SONKER, V.K. KANNAUJIYA a R.P. SINHA, 2017. Cyanobacterial extracellular polysaccharide sheath pigment, scytonemin: A novel multipurpose pharmacophore. *Marine Glycobiology* [online]. **1**(3), 323-337. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/309666820_Cyanobacterial_extracellular_polysaccharide_sheath_pigment_scytonemin_A_novel_multipurpose_pharmacophore

- PESSI I., Y. LARA, B. DURIEU, P. C. MAALOUF, E. VERLEYEN a A. WILMOTTE, 2018. Community structure and distribution of benthic cyanobacteria in Antarctic lacustrine microbial mats. *Microbiology Ecology* [online]. **94**(5), Dostupné z: DOI: [10.1093/femsec/fiy042](https://doi.org/10.1093/femsec/fiy042)
- POLZ F. M., E. J. ALM a W. P. HANAGE, 2013. Horizontal gene transfer and the evolution of bacterial and archeal population structure. *Trends Genet* [online]. (29)3, 170-175. Dostupné z: DOI: [10.1016/j.tig.2012.12.006](https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.12.006)
- RAMBAUT A., 2016. FigTree. *Molecular Evolution, Phylogenetics and Epidemiology* [online]. [cit. 2021-25-06]. Dostupné z: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- REED R.H. a W. D. P. STEWART, 1985. Osmotic adjustment and organic solute accumulation in unicellular cyanobacteria from freshwater and marine habitats. *Marine Biology* [online]. **88**(1), 1-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF00393037>
- REJMÁNKOVÁ E., J. KOMÁREK aj. KOMÁRKOVÁ, 2004. Cyanobacteria—a neglected component of biodiversity: patterns of species diversity in inland marshes of northern Belize. *Diversity and Distribution* [online]. **10**(3), 189-199. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2004.00077.x>
- RICHTER M. a R. ROSELLO'-MO'RA, 2009. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proc Natl Acad Sci USA* [online]. **45**(106), 19126-19131. Dostupné z: [doi:10.1073/pnas.0906412106](https://doi.org/10.1073/pnas.0906412106)
- RIKKINEN J., 2002. Cyanolichens: an evolutionary overview. *Cyanobacteria in Symbiosis* [online]. **1**, 73-96. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/0-306-48005-0_4
- RIPPKA R., 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in Enzymology* [online]. **167**, 3-27. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)67004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67004-2)
- RIPPKA, R., J. DERUELLES a J. B. WATERBURY, 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* [online]. **111**(1), 1–61. ISSN 00221287. Dostupné z: [doi:10.1099/00221287-111-1-1](https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1)
- RODRIGUEZ-VALERA F., A. B. MARTIN-CUADRADO, B. RODRIGUEZ-BRITO, L. PASIC, T. F. THINGSTAD, F. ROHWER a A. MIRA, 2009. Explaining microbial population genomics through phage predation. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **7**, 828-836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/npre.2009.3489.1>

ROSYPAL S., 2003. Nový přehled biologie. 1. vyd. Praha: Scientia, 797. ISBN 80-7183-268-5.

ŘEHÁKOVÁ K., J. R. JOHANSEN a D.A. CASAMATTA, 2007. Morphological and molecular characterization of selected desert soil cyanobacteria: Three species new to science including *Mojovia pulchra* gen. *Phycologia* [online]. **46**(5), 481-502. Dostupné z: doi: 10.2216/06-92.1

SAGAN L., 1967. On the origin of mitosing cells. *Journal of Theoretical Biology* [online]. **14**, 225-274. Dostupné z [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(67\)90079-3](https://doi.org/10.1016/0022-5193(67)90079-3)

SHARMA N. K. a S. SINGH, 2010. Differential aerosolization of algal and cyanobacterial particles in the atmosphere. *Indian Journal of Microbiology* [online]. **50**(4), 468-473. Dostupné z: DOI: [10.1007/s12088-011-0146-x](https://doi.org/10.1007/s12088-011-0146-x)

SHI T. a P.G. FALKOWSKI, 2008. Genome evolution in cyanobacteria: The stable core and the variable shell. *Proc Natl Acad Sci USA* [online]. **105**(7), 2510-2515. Dostupné z: DOI: [10.1073/pnas.0711165105](https://doi.org/10.1073/pnas.0711165105)

SHISHIDO T. K., U. KAASALAINEN a D. P. FEWER, 2013. Convergent evolution of [D-Leucine1] microcystin-LR in taxonomically disparate cyanobacteria. *BMC Ecology and Evolution* [online]. **13**(86). Dostupné z: DOI: [10,1186 / 1471-2148-13-86](https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-86)

SIEGESMUND M. A., J. R. JOHANSEN, U. KARSTEN a T. FRIEDL, 2008. *Coleofasciculus* gen. nov. (Cyanobacteria): morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* Gomont. *Journal of Phycology* [online]. **44**, 1572-1585. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00604.x>

SINGH R. K., S. P. TIWARI, A. K. RAI a T. M. MOHAPATRA, 2011. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. *The Journal of Antibiotics* [online]. **64**, 401-412. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ja.2011.21>

SLOTZNICK S. P. a W. W. FISHER, 2016. Examining archean methanotrophy. *Earth Planet* [online]. **441**, 52-59. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2016.02.013>

SOLHEIM B., A. ENDAL a H. VIGSTAD, 1996. Nitrogen fixation in arctic vegetation and soil from Svalbard. *Polar Biology* [online]. **16**, 35-40. Dostupné z: doi:10.1007/BF02388733

SOUSAARI E. P., R. P., REID, P. E. PLAYFORD, J. S. FOSTER, J. STOLZ, G. CASABURI, P. HAGAN, V. CHIRAYATH, I MACINTYRE, N. PLANAVSKY a G. P. EBERLI, 2016. New multi-scale perspectives on the stromatolites of Shark Bay. *Nature* [online]. **6**(20557). Dostupné z: doi:10.1038/srep20557

STANLEY J. T., 2006. The bacterial species dilemma and the genomic–phylogenetic species concept. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* [online]. **361**(1475), 1899-1909. Dostupné z: DOI: 10.1098/rstb.2006.1914

STAUB R., 1961. Ernährungsphysiologisch-autökologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* DC. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*. **23**(1). 82-198. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02505618>

STRUNECKÝ O., J. ELSTER aj. KOMÁREK, 2011. Taxonomic revision of the freshwater cyanobacterium “*Phormidium*“ *murrai* = *Wilmottia murrai*. *Fottea* [online]. **11**(1), 57-71. Dostupné z: DOI: 10.5507/fot.2011.007

STRUNECKÝ O., J. KOMÁREK, J. JOHANSEN, A. LUKEŠOVÁ aj. ELSTER, 2013. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (*Oscillatoriales*, Cyanobacteria). *Journal of Phycology* [online]. **49**(6), 1167-1180. Dostupné z: DOI: [10.1111/jpy.12128](https://doi.org/10.1111/jpy.12128)

SULLIVAN M. B., K. H. HUANG a J. C. IGNACIO-ESPINOZA, 2010. Genomic analysis of oceanic cyanobacterial myoviruses compared with T4-like myoviruses from diverse hosts and environments. *Environmental Microbiology* [online]. **12**(11), 3035-3056. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02280.x

ŠMARDÁ J., D. Šmajš, J. KOMRSKA a V. KRYZÁNEK, 2002. S-layers on cell walls of cyanobacteria. *Micron* [online]. **33**(3), 257-77. Dostupné z: DOI: [10.1016 / s0968-4328 \(01\) 00031-2](https://doi.org/10.1016/S0968-4328(01)00031-2)

TERNAN J. L., A. G. ELMES a R. HARTLEY, 1996. Aggregate stability of soils in central Spain and the role of land management. *Earth Surface Processes and Landforms* [online]. **21**(2), 181-193. Dostupné z: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9837\(199602\)21:2<181::AID-ESP622>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9837(199602)21:2<181::AID-ESP622>3.0.CO;2-7)

- TESSON S. V., C. A. Skjøth, T. Š. TEMKIV a J. LÖNDAHL, 2016. Airborne microalgae: insights, opportunities, and challenges. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. **82**(7), 1978–1991. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.03333-15>
- TISDALL J. M. a J. M. OADES, 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science* [online]. **33**(2), 141-163. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x>
- VAN LIERE L. a L. R. MUR, 1979. Decay of *Oscillatoria agardhi* Gomont. *Hydrobiological Bulletin* [online]. **13**, 56-60. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02260309>
- VELASQUEZ G. T., 1939. On the viability of algae obtained from the digestive tract of the gizzard shad, *Dorosoma cepedianum*. *The Michigan Daily* [online]. **22**(2), 376-412. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/2420316>
- VINCENT W. F., 2007. Cold tolerance in cyanobacteria and life in the cryo-sphere. *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments* [online]. **11**, 289-304. Dostupné z: DOI: 10.1007/978-1-4020-6112-7_15
- WINSOME, T. a J. G. McCOLL, 1998. Changes in chemistry and aggregation of a California forest soil worked by the earthworm *Argilophilus papillifer* Eisen (Megascolecidae). *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **30**(13), 1677-1687. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00262-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00262-9)
- WOESE C. R., O. KANDLER a M. L. WHEELIS, 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. **87**, 4576-4579. Dostupné z: doi: 10.1073/pnas.87.12.4576.
- YARZA P., P. YILMAZ, E. PRUESSE, F. O. GLÖCKER, W. LUDWIG, K. H. SCHLEIFER, W. B. WHITMAN, J. EUZÉBY, R. AMANN a R. ROSSELÓ-MÓRA, 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured Bacteria and Archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Biology* [online]. **12**, 635-645. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>
- ZHENG Q., J. NIANZHI, R. ZHANG, J. WEI a F. ZHANG, 2014. The evolutionary divergence of psbA gene in *Synechococcus* and their myoviruses in the East china Sea. *Plos one* [online] **9**(1). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0086644