

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**PŮDNÍ A BENTICKÉ SINICE V REGIONU  
KOLEM UHERSKÉHO HRADIŠTĚ**

Bakalářská práce

Lenka Kvasnicová

Chemie

Chemie pro víceoborové studium – Biologie

Forma studia: prezenční

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

Olomouc 2021



## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Petra Dvořáka, Ph.D. Veškeré použité podklady, ze kterých jsem čerpala informace, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a citovány v textu.

V Olomouci 2021

Lenka Kvasnicová



## **Poděkování**

Velké poděkování patří Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. za umožnění práce na tomto tématu, za věnovaný čas, předání poznatků a rad pro vypracování této bakalářské práce. Ráda bych také poděkovala Mgr. Svatoplukovi Skoupému za jeho rady, vstřícný přístup a ochotu pomoci. V neposlední řadě děkuji i své rodině za podporu, trpělivost a lásku.



## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Lenka Kvasnicová

Název bakalářské práce: Půdní a bentické sinice v regionu kolem Uherského Hradiště

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP

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

Rok obhajoby bakalářské práce: 2021

## **Abstrakt**

Sinice jsou skupinou ne zcela probádaných organismů, jejichž taxonomie a diverzita je předmětem mnoha prací a diskusí. Bakalářská práce je postavena především na praktické části, která má podhalit diverzitu sinic v regionu kolem Uherského Hradiště. Vzorky použité k praktické části byly sesbírány ze dvou lokalit v regionu kolem Uherského Hradiště. Proběhlo pozorování pod světelným mikroskopem, izolace a determinace kmenů dle obvyklých metod a dále sekvenování 16S-23S ITS, morfologická a fylogenetická analýza. Z mých zjištění vyplývá, že se v regionu Uherského Hradiště nacházejí již popsané druhy sinic *Microcoleus vaginatus* a *Ancylothrix sp.* Byly však nalezeny nové linie sinice rodu *Ancylothrix* a nový rod sinice, který je třeba dále analyzovat.

Klíčová slova: sinice, diverzita, PCR, sekvenování, Hlucký bioregion,  
Dyjsko-moravský bioregion, taxonomie

Počet stran: 51

Počet příloh: 4

Jazyk: český





## **Bibliographical Identification:**

Autor's first name and surname: Lenka Kvasnicová

Title: Soil and benthic cyanobacteria in region near Uherské Hradiště

Department: Department of Botany PřF UP

Supervisor: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.

The year of presentation: 2021

## **Abstract**

Our knowledge of the biology of cyanobacteria is still limited. Their taxonomy and diversity matter of an intensive research. This bachelor thesis is focused on an exploration the diversity of cyanobacteria in the region around Uherské Hradiště. The samples of natural, which were collected from two sites around Uherské Hradiště. I studied cyanobacteria under a light microscope. I isolated and identified the samples using normal methods and sequencing of 16S-23S ITS. My results showed that Uherské Hradiště region is inhabited by cyanobacteria specifically, the genus of *Microcoleus vaginatus* and *Ancylothrix sp.* However, this study also found new cyanobacterial lines of the genus *Ancylothrix*. The study also found a new genus of cyanobacteria, which I cannot named yet. To identify this samples, I will need further research.

Keywords: cyanobacteria, diversity, PCR, sequencing, Hlucký bioregion, Dyje-moravian bioregion, taxonomy

Number of pages: 51

Number of appendices: 4

Language: Czech



## Obsah

<b>1. Úvod .....</b>	<b>13</b>
<b>2. Diverzita sinic.....</b>	<b>14</b>
2.1 Stélky sinic .....	14
2.2 Zbarvení.....	15
2.3 Ekologická diverzita sinic .....	15
2.3.1 Subaeriální sinice .....	16
2.3.2 Sinice semiaridních regionů.....	16
2.3.3 Bentické sinice .....	17
<b>3. Taxonomie sinic .....</b>	<b>19</b>
3.1 Historie taxonomie .....	19
3.2 Charakteristika vybraných rodů sinic.....	20
3.2.1 Rod <i>Microcoleus</i> .....	20
3.2.2 Rod <i>Oscillatoria</i> .....	20
3.2.3 Rod <i>Phormidium</i> .....	21
<b>4. Cíle práce.....</b>	<b>23</b>
<b>5. Charakteristika lokality.....</b>	<b>24</b>
5.1 Hlucký bioregion.....	24
5.2 Dyjsko-moravský bioregion .....	25
<b>6. Materiály a metody.....</b>	<b>26</b>
6.1 Sběr vzorků.....	26
6.2 Kultivace kmenů.....	26
6.3 Morfologické hodnocení .....	27
6.4 Extrakce DNA, PCR reakce .....	27
6.5 Elektroforéza, purifikace a sekvenování .....	28
6.6 Fylogenetická analýza .....	29

<b>7. Výsledky .....</b>	<b>30</b>
7.1 Morfologická analýza a identifikace kmenů .....	30
7.2 Fylogenetický strom .....	35
<b>8. Diskuze.....</b>	<b>37</b>
<b>9. Závěr .....</b>	<b>39</b>
<b>10. Didaktická část.....</b>	<b>40</b>
<b>11. Seznam použité literatury .....</b>	<b>41</b>
<b>12. Seznam příloh .....</b>	<b>51</b>

## 1. Úvod

Sinice jsou nejrozmanitější skupinou gramnegativních prokaryotických organismů (STANIER & COHEN-BAZINE 1977), která byla po dlouhou dobu považována za zvláštní skupinu řas (RIPPKA 1988). Ve své buňce obsahují fotosyntetický aparát, který se molekulárně, strukturně i funkčně podobá chloroplastům dnešních eukaryot (STANIER & COHEN-BAZINE 1977). Obsah a složení fotosyntetických pigmentů v buňce sinic je proměnlivé. Převažujícími pigmenty jsou chlorofyl *a*, karotenoidy a fykobiliproteiny. Některé sinice však mohou obsahovat i chlorofyl *b* či chlorofyl *d* a jejich deriváty (KOMÁREK 2014). Jsou to výjimečné organismy, které provádějí fixaci dusíku paralelně s kyslíkovou fotosyntézou (DÍEZ & ININBERGS 2014), kdy donorem elektronů pro fotosyntézu je voda (WHITTON & POTTS 2012).

Je zřejmé, že sinice sehrály v minulosti důležitou roli v tvorbě kyslíkaté biosféry a v biogeochemických procesech (BLANK 2010). Nejvýznamnější důkazy o přítomnosti sinic pocházejí z fosilních nálezů v Bitter Springs v Austrálii (SCHOPF 1968). Datování vzniku sinic však není dosud známo (BLANK 2010), fosilie z formace Bitter Springs pouze potvrzují biologickou rozmanitost v době pozdní Precambrie (SCHOPF 1968). Odhadovaná doba vzniku sinic je dle Schopfa (2000) 3,5 miliardy let.

Důležitý je také ekologický význam sinic. Patří mezi nejhojnější primární producenty na Zemi (shrnutí v DVOŘÁK et al. 2017). Díky schopnosti vázat dusík napomáhají odumřelé sinice obohatit plodnost stanoviště. Dusíkatá hmota se rozkládá na amoniak, který pak může být transformován na dusičnany pomocí nitrifikačních bakterií (PITOIS et al. 2000). Sinicemi fixované prvky, jako je dusík, ale také uhlík jsou využity v symbiotických vztazích, kdy jsou hlavními hostiteli především mechorosty, cykasy, krytosemenné rostliny, ale i houby a kapradiny (ADAMS & DUGGAN 2008). Mimo primární a sekundární metabolity sinice produkují i chemické látky, které jsou škodlivé pro své okolí, tzv. cyanotoxiny. Tyto toxiny jsou produkovány především v letních měsících, tehdy na hladinách vod vznikají povlaky sinic (DITTMAN et al. 2013). Obohacení vodního stanoviště živinami, speciálně pak dusíkem a fosforem, může vést k eutrofizaci vod. Sinice pak v těchto vodách tvoří květy (PAERL & OTTEN 2013).

## 2. Diverzita sinic

### 2.1 Stélky sinic

Sinice vykazují vysokou diverzitu v morfologii. Vyskytují se ve formách jednobuněčných, mnohobuněčných až po formy vláknité (DVOŘÁK et al. 2017). Kokální sinice se mohou vyskytovat individuálně, v prostorových či lineárních koloniích, jednovrstevných plochých koloniích, mohou být přisedlé k podkladu. Vláknité sinice pak rozlišujeme dle přítomnosti či nepřítomnosti speciálně diferencovaných buněk – akinet a heterocyst. Dále dle polarity vlákna na izopolární, stejně končící i začínající vlákno a heteropolární vlákno, jehož začátek a konec je morfologicky odlišný. Vláknité sinice se mohou dělit, a to stylem pravého či nepravého větvení, které je také jedním ze znaků pro určení sinic (HAUER & KAŠTOVSKÝ 2018). Pravé větvení je způsobeno změnou roviny dělicích se buněk. U nepravého dělení dochází k odumření buňky, které vede k přerušení vlákna.

Vně svých membrán mohou mít sinice obal zvaný glykokalix. Glykokalix se vyskytuje především u koloniálních, ale také vláknitých či početných jednobuněčných sinic a jeho konzistence je slizovitá (CASTENHOLZ et al. 2001).

Speciálně diferencované buňky vláknitých sinic – akinety, slouží jako rezerva předem asimilovaných látek, které sinice využije při stresových či neoptimálních podmínkách (DÍEZ & ININBERGS 2014). Jedná se o klidové spory, které sinice tvoří při nedostatku světla či živin. V akinetách se hromadí látky jako cyanofycin, glykogen, lipidy a karotenoidové pigmenty. Tvorba akinet je dána umístěním dalších speciálně diferencovaných buněk – heterocyst (CASTENHOLZ et al. 2001).

Heterocysty jsou jedinečné buňky vláknitých sinic. Většinou se diferencují z vegetativních buněk ve chvíli, kdy dochází k poklesu kombinovaného anorganického dusíku (zejména amoniaku) v okolí (CASTENHOLZ et al. 2001). Dochází ke změně granulace vegetativní buňky a tvorbě většího počtu stěn buňky, vzniká heterocysta. Změněným thylakoidům chybí fotosystém II, vytváří se anoxické prostředí a začíná fixace dusíku (WOLK et al. 1994). U některých rodů vláknitých sinic se můžeme setkat se zakončením označeným jako kalyptra. Funkce kalyptry u sinic není jistá, nejznámější hypotézy tvrdí, že kalyptra slouží k zavrtávání se do půdy či sedimentu (WHITTON & POTTS 2012).

## 2.2 Zbarvení

Název blue-green algae, často používaný pro pojmenování sinic již naznačuje charakteristickou barvu, ve které se tyto organismy vyskytují. Barva, kterou vidíme je dána složením pigmentů, které jsou rozpustné ve vodě (RIPPKA 1988). Nejčastější modrozelené zbarvení sinic je způsobeno produkcí fykobilinových pigmentů, kdy za modrozelené zbarvení odpovídá fykocyanin, za odstíny červené fykoerythrin (WHITTON & POTTS 2012). Setkat se můžeme i se sinicemi zelenými či olivově zelenými, ale také s jedinci červených, červenofialových až černých odstínů (RIPPKA 1988). Některé kmeny sinic mají schopnost chromatické adaptace, mění obsah a poměry jednotlivých fykobilinových pigmentů v reakci na spektrum světelného záření, které na ně dopadá (shrnuto v KOMÁREK 2014).

## 2.3 Ekologická diverzita sinic

Široká škála druhů sinic má nejspíše kosmopolitní rozšíření, avšak nemáme dostatek způsobů, jak toto tvrzení doložit. Příkladem globálně distribuované sinice je např. *Nostoc commune*, jehož výskyt byl potvrzen v mírném, tropickém i polárním pásu včetně izolovaných ostrovů (přehledně v OREN 2014). Lidská činnost zavedla již spoustu organismů do cizích ekosystémů. Tyto organismy mohou být hrozbou pro biologickou rozmanitost ekosystému (STREFTARIS & ZENETOS, 2006). Metody, které hodnotí dopad cizích druhů rostlin, živočichů a bezobratlých na různá prostředí jsou poměrně dobře vyvinuty (VILÀ et al. 2011). Avšak metody pro zjištění dopadu nově přítomných druhů sinic a řas na ekosystémy jsou málo studovány. Důvodem je i to, že nalezení a vyhodnocení těchto mikroorganismů na nových stanovištích je obtížné (WILK-WOŹNIAK 2016). Sekvenování, jedna z nejspolehlivějších metod pro identifikaci sinic, využívá nejčastěji 16S rRNA genu. Tento lokus může být však příliš krátký nebo málo variabilní pro získání poznatků o rozdílech mezi druhy nebo populacemi. Pokud by analýza byla provedena z dalších částí genomu, byly by tyto rozdíly detekovány. Rozšíření sekvenace o další lokusy se stává více potřebným (DVOŘÁK et al. 2017). Víme, že sinice jsou schopny obsadit slané, brakické i sladké vody a žít v chladných i teplých oblastech. Některé rody se přizpůsobily dokonce životu v horkých pramenech a v pouštích (DIEZ & ININBERGS 2014).

### 2.3.1 Subaeriální sinice

Jedná se o sinice, které se nachází na různých površích (PENTECOST & WHITTON 2012). Petersen (1915) byl prvním, kdo se zmínil o této skupině sinic, které žijí mimo vodní prostředí a definoval je jako organismy, které získávají většinu vody z atmosféry a procházejí častým vysycháním (PETERSEN 1915). Dnes k této skupině řadíme organismy žijící na povrchu či těsně pod povrchem (PENTECOST & WHITTON 2012) a zjišťujeme, že i když tyto sinice byly označeny jako ty, co získávají vodu z atmosféry, tak ve skutečnosti je většina vody získávána v kapalně formě (FRIEDMANN et al. 1980). Dle Schlichtinga (1975) je pro určení druhů důležitý typ substrátu, proto rozdělil organismy dle jejich výskytu na určitým typu substrátu. Definuje tak skupinu např. epifytických řas (SCHLICHTING 1975). Taxonomie subaeriálních sinic je složitá, obzvláště u skupiny Chroococcales a řas, protože se tyto druhy vyznačují podobnou morfologií, a to zeleným zbarvením vláknitých stélek (PENTECOST & WHITTON 2012).

Subaeriální povrchy poskytují místo ke kolonizaci mikrobiálních organismů. Důležitou vlastností je textura povrchu, na němž se mikroby usazují a vytvářejí biofilm (GORBUSHIN 2007). Tyto sinice obývají útesy, jsou endolity, či porůstají horizontální povrchy, které umožňují růst volných kolonií (PENTECOST & WHITTON 2012).

### 2.3.2 Sinice semiaridních regionů

Sinice jsou schopny obývat teplé i suché lokality, kde jsou vystaveny výraznému vodnímu stresu. Sinice se v semiaridních oblastech vyskytují především v biologických krustách, jsou zde hlavními primárními producenty. Ostatní mikroorganismy, které se vyskytují v těchto krustách mají důležitou roli až v pozdějších stádiích vývoje biologické kůry (CHUNXIANG et al. 2012). Krusty obsahují sinice, zelené a hnědé řasy, mechy a lišejníky. Lepivé částice organismů spojují částičky půdy a vytváří se tak souvislá vrstva. Největší vliv na množství sinic v biologických krustách má dostupnost vody. Především srážková frekvence, obsah jílu a fosfátu v půdě, vlhkost půdy a další (ZHAO et al. 2009). V suchých půdách nevykazují sinice dostatečnou variabilitu v morfologii, tudíž je obtížné tyto sinice určovat pouze na základě morfologie (CHUNXIANG et al. 2012). Sinice krust musí být vybaveny mechanismy, které brání před fotoinhibicí, která vede k dehydrataci a rozpadu proteinů (NIYOGI 1999). Tyto mechanismy zahrnují optimalizaci procesu fotosyntézy, mechanismy pro ochranu před UV, tvorbu slizových pochev či pohyb samotných vláken od místa s intenzivním osvětlením (HU & LIU 2003). U rodu



*Microcoleus* bylo pozorováno, že se jednotlivé trichomy nacházejí ve společné slizové pochvě a vinou se napříč horními vrstvami krusty. Když jsou trichomy dostatečně vlhké, vyklouzávají z pochev a vykazují pozitivní fototaxi směrem k povrchu půdy. Po vyschnutí trichomy opouštějí povrch krusty a opět vytvářejí slizové pochvy (BELNAP et al. 2001).

Mezi semiaridní oblasti můžeme zařadit severovýchodní část Itálie, jihoafrické savany, sprašové oblasti v Gansu provincii na severozápadě Číny, ale také české lesní půdy a pole (CHUNXIANG et al. 2012). Na polích bývalého Československa byly nalezeny např. tyto sinice: *Nostoc calcicola*, *Leptolyngbya nostocorum* a *Phormidium autumnale* (LUKEŠOVÁ 1993). Dalšími druhy vyskytujícími se v semiaridních oblastech mohou být např. *Schizothrix telephoroides* nebo *Phormidium africanum* (CHUNXIANG et al. 2012). V jílových a písčitých půdách kolem Xinxiang v Číně byly nalezeny sinice rodu *Dactylococcopsis*, *Fischerella* a *Synechococcus* (LIU et al. 2001). Typickým zástupcem biologických krust je *Microcoleus vaginatus* (BELNAP et al. 2001).

### 2.3.3 Bentické sinice

Epipelické organismy plní důležité ekologické funkce. Sinice a řasy, které se k těmto organismům řadí, žijí na těchto stanovištích ve spojení se substrátem. Tyto rody sinic jsou však na rozdíl od planktonických rodů méně studovány. Sinice těchto stanovišť však vykazují vysokou diverzitu. Bentické sinice nejsou jen primárními producenty, ale také stabilizují sedimenty nebo ovlivňují cyklus živin (POULÍČKOVÁ et al. 2014). Sabater et al. (2003) analyzovali bentické sinice ve španělských řekách. Jejich výsledky poukazují na to, že se sinice vyskytují více v mělkých a pomalu proudících řekách, často v bezprostřední blízkosti přehrad. V době růstu sinic byl proud vody slabší, chemicky byla voda bohatší na fosfor a byla v ní také detekována nízká hladina rozpuštěného anorganického dusíku oproti předchozímu období (SABATER et al. 2003). Zdá se, že distribuce bentických sinic sleduje ekologické podmínky prostředí, ať už pH vody či rychlost toku (POULÍČKOVÁ et al. 2014). Sabater et al. (2003) dále popisuje přítomnost hnědých povlaků na dně koryt řek. Ty byly způsobeny rozsivkami, po nástupu sinic v tocích však tyto povlaky rozsivek mizí. K masivnímu nárůstu sinicových rohoží docházelo od ledna do května, poté se vody oteplily a sinice byly nahrazeny rody zelených řas. V sinicových rohožích byly detekovány především sinice rodu *Oscillatoria*

(SABATER et al. 2003). V jezerech se sinice vyskytují především v rámci fotonické pobřežní zóny, hlubší zóny jsou obsazovány heterotrofy (POULÍČKOVÁ et al. 2014).

### 3. Taxonomie sinic

#### 3.1 Historie taxonomie

Mnoho rodů i druhů sinic prošlo v historii taxonomickou revizí (RIPPKA 1988, KOMÁREK et al. 2014). Prvních 60 let minulého století lze brát za dobu, kdy vyvrcholily studia vedoucí k výčtu a taxonomii sinic. Sinice byly kategorizovány a identifikovány na základě morfologických poznatků a na základě jejich výskytu. U sinic, které byly považovány za jeden taxon byly nalezeny drobné odchylky v morfologii, které vedly k následnému vzniku taxonu nového (ANAND et al. 2019). Mnohé morfologické znaky, jako např. slizová pouzdra či pigmentace, jsou tvořeny sinicemi ve stresových podmínkách, je tedy zřejmé, že je nedostačující kategorizovat sinice pouze na základě morfologie (WHITTON & POTTS 2012).

Dříve byly sinice děleny do tří botanických řádů, jejichž definice a zástupci se měnili s pokrokem zkoumání morfologie a ekologie jednotlivých sinic (DVOŘÁK ET AL. 2015). Geitler (1932) zavedl pro taxonomii sinic tři řády. Sinice rozdělil na kokální druhy, které se rozmnožují binárním dělením (Chroococcales), dále na heteropolární podobu rozmnožování se binárním štěpením (Chamaesiphonales) a nakonec na vláknité druhy (Hormogonales). Další autoři se řídili tímto základním dělením a přidávali své nové třídy a řády s postupným objevováním nových druhů a morfologických poznatků (DVOŘÁK et al. 2015). Od 70. let bylo využíváno bakteriologického přístupu k taxonomii sinic, což bylo velkým zvratem a pokrokem ve studiu sinic. Bylo využíváno poznatků z buněčné reprodukce, diferenciací a molekulárních analýz (STANIER et al. 1977). Nejvýznamnější změnu provedli později Anagnostidis a Komárek (1986, 1988, 1989, 1990), kteří spojili botanický a bakteriologický pohled na taxonomii sinic a vytvořili kategorizaci čtyř tříd: Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales a Stigonematales. Pro taxonomii sinic na vyšší úrovni je však třeba využít dalšího zkoumání, molekulárních analýz genu 16S-23S ITS, zjišťování obsahu chemických látek a dalších. Molekulární analýzy přinesly velké množství poznatků z evoluce a taxonomie sinic. Nicméně je udělaly o dost složitějšími. Ukázalo se, že téměř všechny rody sinic jsou polyfyletické. Je tedy nutno poznatky revidovat, což vede ke vzniku mnoha nových rodů (DVOŘÁK et al. 2015).

## 3.2 Charakteristika vybraných rodů sinic

### 3.2.1 Rod *Microcoleus*

Tento rod sinice spadá do řádu Oscillatoriales (ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988). V současné době je definován jako polyfyletický taxon. Trichomy sinice rodu *Microcoleus* jsou typicky spojovány ve svazky a společně obaleny v pochvě. Trichomy jsou válcovité, konce vláken jsou zúžené a mohou být zakončeny kalyptrou. Vlákna jsou rovná či mírně zprohýbaná, pochva bývá bezbarvá a homogenní (DVOŘÁK et al. 2017).

Rod *Microcoleus* je morfologicky velmi podobný rodu *Phormidium*. Tradičně byly tyto rody děleny podle tvorby pochvy, ale nejedná se o stabilní rys (HAŠLER et al. 2012).

Nejrozšířenějším zástupcem je *Microcoleus vaginatus*. Dle Atlasu sinic České republiky (KAŠTOVSKÝ et al. 2018) je *Microcoleus vaginatus* vláknitá sinice modrozelené barvy. Vykazuje však i olivové, zelené až černé zbarvení. Trichomy jsou uspořádány ve svazcích a uloženy v pochvách. Vlákna jsou široká 2,5 – 9  $\mu\text{m}$ . Na přepážkách se vyskytuje častá granulace. Apikální buňka je obvykle kuželovitá s kalyptrou. Jedná se o aerofytickou sinici, která se vyskytuje ve vodních i na suchozemských stanovištích.

Dalším druhem rodu *Microcoleus* je *Microcoleus autumnalis*, který je od *Microcoleus vaginatus* rozeznatelný pouze s použitím fylogenetických metod. Revizí druhu *Microcoleus chthonoplastes* vznikl nový rod, označený jako *Coleofasciculus* (SIEGISMUND et al. 2008), který je velmi odolný před vysycháním (MOREIRA C. FERNANDES et al. 2021). Do druhu *Microcoleus vaginatus* můžeme zahrnout z 30 druhů rodu *Microcoleus* pouze 7, ostatní se liší a je tedy nutné je umístit do nových rodů (STRUNECKÝ et al. 2013).

### 3.2.2 Rod *Oscillatoria*

Tento rod sinice spadá do řádu Oscillatoriales (ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988). Trichomy sinice rodu *Oscillatoria* jsou dlouhé, mírně zvlněné či rovné. Nikdy se nevětví. Nevyskytují se v pochvách. Tato sinice často vytváří makroskopické polštáře. Buňky jsou diskoidní (DVOŘÁK et al. 2017), vždy kratší než dlouhé (KAŠTOVSKÝ et al. 2018). Koncové buňky bývají zaoblené s koncovou kalyptrou či ztloustlou buněčnou stěnou. Trichomy mohou být zaškrbené. *Oscillatoria* se vyskytuje ve vodním i suchozemském prostředí (KAŠTOVSKÝ et al. 2018). Typickým zástupcem tohoto rodu je *Oscillatoria princeps* (ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988).

Původně definovaná *Oscillatoria* (VAUCHER 1803) je dnes z poloviny taxonomicky přijímána, druhá polovina druhů původního rodu *Oscillatoria* byla definována jako nové druhy bakterií, zelených řas či nové rody sinic, např. *Lyngbya*, *Microcoleus* či *Phormidium* (MÜHLSTEINOVÁ et al. 2018, GUIRY & GUIRY 2018). Po příchodu moderních metod, především díky elektronové mikroskopii došlo k přesunu některých druhů rodu *Oscillatoria* a vznikly nové druhy. Z původního druhu *Oscillatoria agardhii* vznikl rod *Planktothrix* (LYRA et al. 2001), z původní *Oscillatoria redekei* vznikl rod *Limnothrix* (GKELIS et al. 2005) a z *Oscillatoria splendida* se zformoval rod *Geitlerinema* (ANAGNOSTIDIS 1989).

Pro další revize tohoto rodu postrádáme dostatek dat. *Oscillatoria* byla od rodu *Phormidium* a *Lyngbya* odlišována především přítomností pláště, ten však není dostačujícím znakem pro rozlišení a nevypovídá nic o fylogenezi (GEITLER 1932). Nicméně nedávno byla provedena revize rodu *Oscillatoria* a byl stanoven epityp, který významně napomůže budoucím revizím ve zmíněných rodech (MÜHLSTEINOVÁ et al. 2018).

### 3.2.3 Rod *Phormidium*

Tento rod sinice spadá do řádu Oscillatoriales (ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988). Trichomy jsou dlouhé a dosahují šířek 3-11  $\mu\text{m}$ . Pochvy obsahují jediný trichom, jehož buňky jsou izodiametrické nebo kratší než širší. Buňky mohou a nemusí být zaškrčené v místě přepážek. Apikální buňka se vyznačuje zaoblením či zašpičatěním, může obsahovat kalyptru. Tento rod má stále neprozkoumanou druhovou rozmanitost, patří jsem zástupci vodních i terestrických ekosystémů. (DVOŘÁK et al. 2017, KAŠTOVSKÝ et al. 2018).

*Phormidium sensu lato* je polyfyletický a zahrnuje přes 200 druhů. Na základě fylogenetické analýzy provedl Strunecký a kol. (2013) revizi a převedl *Phormidium autunale* do rodu *Microcoleus*. Novým rodem odděleným od *Phormidium* je rod *Wilmottia*. Tato vláknitá sinice se vykazuje nápadnou granulací a zaobleným koncem buňky, thylakoidy jsou nástěnné (STRUNECKÝ et al. 2011). Dále byly díky molekulárním analýzám genových sekvencí 16S rRNA popsány další rody, např. *Oxynema* (CHATCHAWAN et al. 2012), *Kamptonema* (STRUNECKÝ et al. 2014) a další. Rod *Phormidium* jako celek má stále neprozkoumanou biodiverzitu, původně pod tento rod spadal i nyní samostatný rod *Geitlerinema* (DVOŘÁK et al. 2017).

Během studie diverzity *Phormidioideae* v Brazílii byly nalezeny sinice morfologicky podobné rodu *Kamptonema*. Bližší fylogenetické analýzy Martinse et al. (2016) vedly k rozpoznání nového rodu *Ancylothrix*. V rámci tohoto rodu definovali dva druhy – *Ancylothrix terrestris* a *Ancylothrix rivularis* (MARTINS et al. 2016).

## 4. Cíle práce

Sinice jsou primárními producenty vyskytující se v různých biotopech, habitatech, na různých substrátech. Tato práce se zabývá především bentickými a půdními sinicemi. Diverzita sinic stále není dostatečně probádaná, taxonomie těchto sinic je složitá a k přesnému určení rodu je třeba využít molekulárních analýz.

Zkoumanou oblastí je Uherskohradištsko, kde byly vzorky sinic odebrány ze dvou lokalit. Sesbírané kmeny byly izolovány, byla pozorována jejich morfologie světelným mikroskopem. Dále na nich byly provedeny molekulární analýzy, jakou je sekvenace 16S rRNA a ITS. Cílem práce je pomocí těchto metod získat další informace o diverzitě půdních a bentických sinic v okolí Uherského Hradiště a porovnat data obou lokalit.

## 5. Charakteristika lokality

Lokalita sběru vzorků sinic je situována na jihovýchodě České republiky. Region kolem Uherského Hradiště se nachází na pomezí dvou podprovincií. Západokarpatská podprovincie je v regionu kolem Uherského Hradiště zastoupena Hluckým bioregionem. Západní část lokality je Severopanonskou podprovincií, tvoří ji Dyjsko-moravský bioregion. Hranice bioregionů jsou výrazné a jsou dány nivou řeky Moravy. Dyjsko-moravský bioregion je tvořen říčními nivami. Říční niva kolem řeky Moravy tvoří geomorfologickou osu zvanou Dolnomoravský úval (CULEK et al. 2013).

Hranice bioregionů jsou znázorněny v Příloze 1 a v Příloze 2. Obrázek 1 zobrazuje průměrné srážky a teploty naměřené v Uherském Hradišti.

### 5.1 Hlucký bioregion

Hlucký bioregion je tvořen teplou pahorkatinou a rozprostírá se na flyšových slítných horninách, které do bioregionu zasahují ještě z bělokarpatkých celků. Vzácné jsou pak písčité terasy, které jsou kryté sprašovými částčkami a nacházejí se podél nivy Moravy (CULEK et al. 2013). Podle mapy přirozené vegetace je Hlucký bioregion místem výskytu panonských dubohabřin (NEUHÄUSLOVÁ et al. 1998). Převládají listnaté lesy, pole, orné půdy, černozemě s četnými erozemi v suchých obdobích (CULEK et al. 2013). Podnebí regionu je teplé. Četnost srážek řadí Hlucký bioregion k vlhkým bioregionům. Quitt řadí bioregion do skupiny T 2 (QUITT 1971).

Vzorky byly sebrány z povodí řeky Olšavy. Tato řeka byla původně divočí říční řekou na podkladu z písčitých štěrků poslední doby ledové. Její dnešní podoba byla utvářena tisíce let. Vliv na dnešní podobu koryta řeky Olšavy, která se u Kostelan nad Moravou vlévá do řeky Moravy, mělo především nanášení hlín z půdních erozí a činnost člověka (GIRGEL 2018).

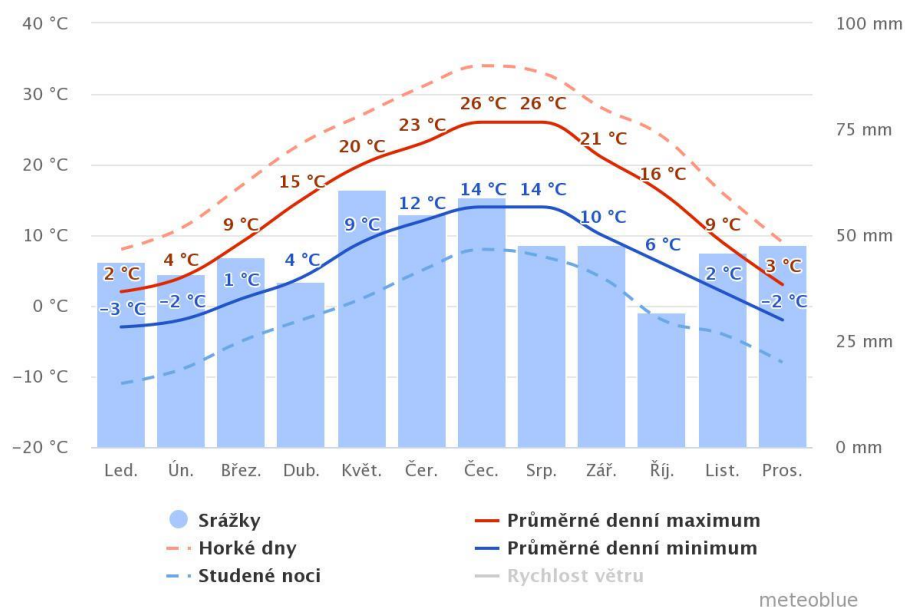


## 5.2 Dyjsko-moravský bioregion

Dyjsko-moravský bioregion je tvořen geomorfologickými osami podél širokých niv řek. Do regionu kolem Uherského Hradiště, kde byl proveden sběr vzorků zasahuje jeho geomorfologická část – Dolnomoravský úval.

Toto území bylo osídleno již dávno v době Velké Moravy. Z této doby zde zůstaly zachovány četné nivní louky a lužní lesy, které dnes mají zhruba stejné zastoupení jako orná půda. Geomorfologie Dyjsko-moravského bioregionu je nivní (CULEK et al. 2013). Podklad Dolnomoravského úvalu je tvořen mořskými a terestrickými neogenními sedimenty, významné jsou i eolické sedimenty. Tento komplex je překryt vrstvou fluviálních sedimentů, především písky a šterky. Významná jsou ložiska ropy a ligninu (HRUBAN 2014). Půdy jsou v místech sběru vzorků zastoupeny především fluvizemí a glejovou fluvizemí (CULEK et al. 2013). Podnebí tohoto regionu je dle Quitta řazeno do skupiny T 4 a patří tak k nejteplejším oblastem České republiky (QUITT 1971).

Vzorky byly sbírány na území lesoparku Kunovský les. Kunovský les je tvořen převážně lesními listnatými porosty typickými pro tzv. tvrdý luh. Vzácný je výskyt sezonních tůní a množství chráněných, vzácných rostlinných i živočišných druhů, např.: pestrokřídlec podražcový, luňák hnědý a další (CENTRÁLA CESTOVNÍHO RUCHU VÝCHODNÍ MORAVY 2000-2021).



Obrázek 1- Průměrné srážky a teploty ve zkoumané oblasti

(Zdroj: Meteoblue © 2006 – 2019)

## 6. Materiály a metody

### 6.1 Sběr vzorků

V rámci regionu kolem Uherského Hradiště byly vybrány dvě lokality, ve kterých proběhl samotný sběr vzorků sinic. První lokalita sběru se nachází v obci Kunovice, v ulici Olšavní (GPS 49.0454317N, 17.4708783E). Za kulturním zařízením Pálenice vede strouha, kudy se do řeky Olšavy, většinou po deštích, vyplavuje voda z nedalekého mokřadu a z polí. U této strouhy byly nalezeny kusy půdy se zeleným povlakem. Z této mokré půdy byly vzorky seškrábány vydesinfikovaným skalpelem a následně vloženy do uzavíratelných sáčků. Byly zde odebrány 2 vzorky. Vzorky z této lokality jsou označeny L1.

Druhý sběr vzorků sinic proběhl na okraji Kunovského lesa, na trase mezi Kunovicemi a Kostelany nad Moravou (GPS 49.0459389N, 17.4262167E). Vzorky byly sebrány z kaluže se zeleným povlakem. Sběr proběhl pomocí vydesinfikovaného nožičku a lžičky. Vzorky byly vloženy do uzavíratelných sáčků. Byly odebrány 3 vzorky, každý z jiné části této kaluže. Vzorky z této lokality jsou označeny L2.

Všechny sáčky se vzorky byly důkladně popsány pro pozdější identifikaci. Vzorky sinic byly následně prohlédnuty pod světelným mikroskopem Primo Star (Zeiss, Oberkochen, Německo) a kultivovány.

### 6.2 Kultivace kmenů

Kultivace kmenů sinic byla provedena v algologické laboratoři. Nejprve bylo připraveno Z-médium dle Stauba (1961). K tomuto médiu byl přidán 1,5% agar, směs byla rozmíchána a sterilizována v autoklávu. Vzniklý roztok byl rozlit do Petriho misek, kde byl ponechán k zatuhnutí do druhého dne.

Na agar byly nanášeny jednotlivé vzorky sinic pomocí sterilizované bakteriologické jehly. Nanesené sinice byly rozetřeny po celé ploše agaru pomocí sterilizované bakteriologické kličky. Sterilizace nástrojů proběhla opalováním nad hořákem. Víčko Petriho misky bylo popsáno, tak aby bylo později možno identifikovat, který vzorek konkrétní Petriho miska obsahovala. Sinice byly na agaru ponechány zhruba 3 dny, aby se rozrostly.

Následně byly sinice z agaru izolovány na jednotlivé kmeny do izolačních destiček. Misky v destičce byly naplněny Z-médiem. Pod binokulární lupou Carl Zeiss

Stemi (Zeiss, Oberkochen, Německo) byly pozorovány kmeny na agaru a pomocí sterilizované bakteriologické jehly byla přenášena jednotlivá vlákna do mističek v izolačních destičkách. Po rozrostení izolovaných kmenů v miskách izolačních destiček byly jednotlivé kmeny z mističek přeneseny do zkumavek o obsahu 10 ml, naplněných Z-médiem. Ve zkumavkách byly sinice ponechány delší dobu, aby se rozrostly.

Kultivováno bylo 10 kmenů pro každou lokalitu, celkem tedy 20 kmenů. Veškeré práce se sinicemi probíhaly ve flow boxu z důvodu zachování sterilního prostředí. Kultivace byla provedena při teplotě  $23 \pm ^\circ\text{C}$ , osvětlení  $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  a za světelného režimu 16 hodin světlo, 8 hodin tma.

### 6.3 Morfologické hodnocení

K morfologickému hodnocení byl použit světelný mikroskop Primo Star (Zeiss, Oberkochen, Německo) s přidruženou kamerou AxioCamERc5s. Ze zkumavky bylo přeneseno malé množství kultury sinic do kapky vody na podložní sklíčko. Na vzorek bylo přiloženo krycí sklíčko. Sinice byly pozorovány pod světelným mikroskopem Primo Star při zvětšení 400x. Pro každý kmen bylo skrze program AxioVision Rel. 4.8 vytvořeno 10 fotografií, na nichž následně proběhla 3 měření. Byla měřena šířka a délka vegetativních buněk vlákna, dále byl stanoven jejich průměr. V rámci morfologických znaků sinic byla pozorována délka a šířka vegetativních buněk vlákna, přítomnost slizové pochvy, barva vlákna a potenciál sinice agregovat se do kolonií. V koncové oblasti vlákna byla pozorována přítomnost kalypter, zda dochází k zužování vlákna a samotná morfologie terminální buňky.

### 6.4 Extrakce DNA, PCR reakce

Extrakce genomické DNA sinic byla provedena pomocí DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Německo). Malé množství kultury sinic bylo přeneseno do mikrozkuvek. Proběhla centrifugace pro odstředění přebytečného media z kultury, následně byla provedena extrakce dle přiloženého postupu. Vyextrahovaná DNA byla použita pro polymerázovou řetězcovou reakci (PCR). Skrze PCR reakci byly amplifikovány geny 16S rRNA a celá oblast 16S-23S ITS. K amplifikaci genů byly použity primery P2 a P1 (P2 vpřed jdoucí 5'-GGGGAATTTTCCGCAATGGG-3' a P1 reverzní 5'-CTCTGTGTGCCTAGGTATCC-3'), použití primerů je dříve publikováno

v práce Boyera (BOYER ET AL. 2002). Tabulka 1 uvádí seznam složek pro jednu PCR reakci spolu s jejich objemy. Pro PCR reakci byl použit EmeraldAMP (Takara Bio Europe SAS, Saint Germain en Laye, France). Samotná PCR reakce byla provedena v termocykleru (Eppendorf Mastercycler, 200-240 V, Hamburg, Německo). Tabulka 2 zobrazuje průběh a podmínky PCR reakce.

*Tabulka 1: Seznam složek potřebných k provedení jedné PCR reakce o celkovém objemu 40  $\mu$ l, objemy jednotlivých složek reakce jsou uvedeny v  $\mu$ l*

Složka PCR reakce	Objem složky ( $\mu$ l)
primer 1	1
primer 2	1
sterilní voda	17,0
EmeraldAMP	20,0
templátová DNA (50ng/ $\mu$ l)	1

*Tabulka 2: Průběh PCR reakce v jednotlivých krocích a za daných podmínek*

Posloupnost procesů PCR	Čas (s)	Teplota ( $^{\circ}$ C)
počáteční denaturace	240	95
35 cyklů denaturace	30	95
annealing	30	57
prodloužení reakce	110	72
dokončovací reakce	420	72

## 6.5 Elektroforéza, purifikace a sekvenování

Kvalita provedení PCR reakce byla po ukončení amplifikace ověřena. K detekci PCR produktu byla použita agarosová gelová elektroforéza. 1,5% agarózový gel byl obarven fluorescenčním barvivem GelRed Nucleic Acid Stain (Biotium, Fremont, USA). Pro elektroforézu byl použit marker relativní molekulové hmotnosti Hypper Ladder 100 bp (Bioline, London, UK). Elektroforéza probíhala při 100 V (60 mA), 45 min. Kvalita PCR reakce byla pozorována na transiluminátoru UVITEC Cambridge. Negativní kontrola proběhla u kmenu L1 II-3B. Proto byl vzorek pro další postupy vyřazen.

PCR produkty byly přečištěny purifikací. Přečištění proběhlo dle návodu firmy

Omega BIO-TEK za použití E.Z.N.A. Cycle Pure Kit (Omega BIO-TEK, Norcross, USA) purifikační soupravy. Purifikované produkty byly odeslány do Nizozemska do firmy Macrogen Europe k sekvenování.

Pro sekvenování byly využity další dva primery, a to primer P8 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCACA-3') a P5 (5'-TGTACACACCGCCCGTC-3') (Boyer et al. 2002). Tyto primery byly použity, aby pokryly celou délku PCR produktu. Konečné sekvence byly sestavovány v programu Sequencher 4.10 (Gene Codes Corporation Ann Arbor, MI, USA). Zde byla ověřena správnost sekvenčního čtení.

## 6.6 Fylogenetická analýza

Algoritmem BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) byly v databázi GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) vyhledány nejshodnější dobře definované sekvence. Sekvence kmenů sinic byly společně se sekvencemi nejpodobnějších kmenů z GenBanku vloženy do programu Mega X (KUMAR 2018), kde byl proveden Multiple sequence alignment pomocí algoritmu MUSCLE (EDGAR 2004). Ke konstrukci fylogenetického stromu, zobrazeného na Obrázku 6, byla použita metoda maximální pravděpodobnosti. Byl použit General Time Reversible model. Topologie fylogenetického stromu byla testována metodou tzv. „bootstrap“ analýzy s 300 replikacemi.

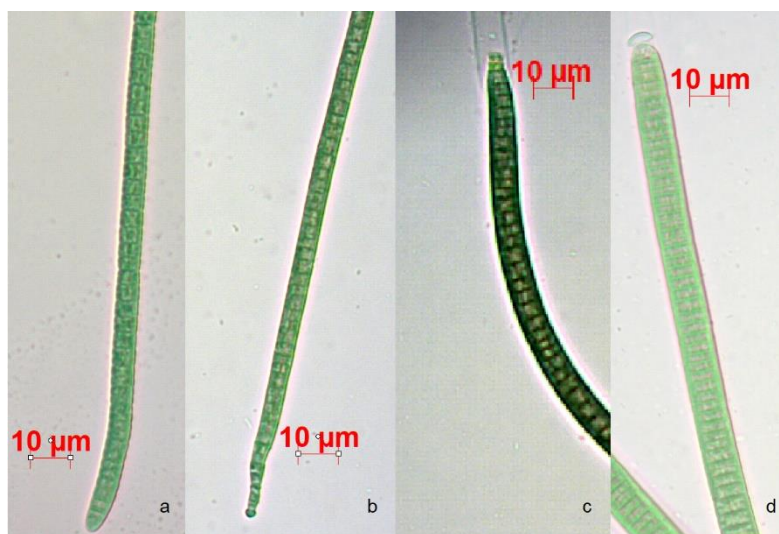
## 7. Výsledky

### 7.1 Morfologická analýza a identifikace kmenů

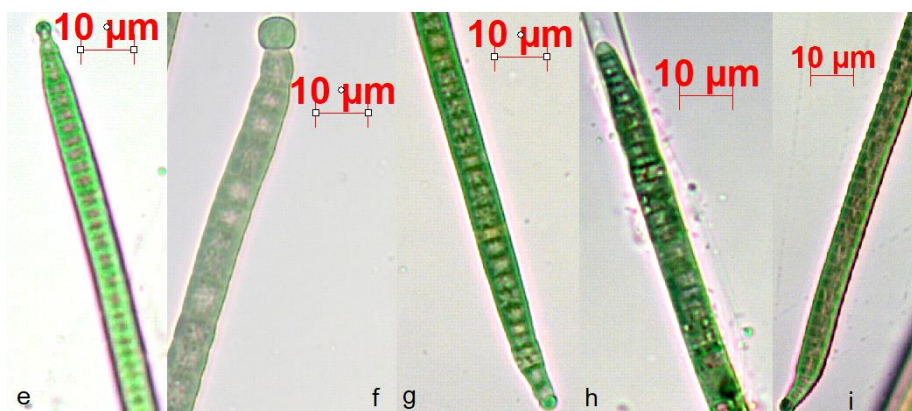
*Microcoleus vaginatus sensu lato* byl pozorován na obou lokalitách, a to konkrétně ve vzorcích L1: II-5B, II-5D, II-3C, I-2C a L2: 12-3C, 12-5C, XII-2C, VIII-2C, XII-3C. Byla pozorována vlákna modrozelená, světle zelená až vlákna tmavších odstínů. U každého kmenu byla pozorována zužující se vlákna. Vlákna všech vzorků byla zakončena kalyptrou, mimo kmen L1 I-2C. U některých kmenů byly pozorovány slizové pochvy, konkrétně u L1 II-5B, L1 II-5D, L1 II-3C, L2 12-5C, L2 XII-2C a L2 XII-3C. Buňky vykazovaly větší šířku než délku. Průměr šířky i délky buněk je uveden v Tabulce 3. U kmenu z lokality L1 II-3C byla pozorována propletená vlákna vyfotografovaná na Obrázku 2. Takto propletených vláken bylo u kmenu pozorováno hned několik. Diverzita druhu *Microcoleus vaginatus sensu lato* zachycená na obou lokalitách je zobrazena na Obrazové tabuli 1 a Obrazové tabuli 2.

Tabulka 3- Průměrná hodnota velikosti šířky a délky buněk jednotlivých kmenů sinice rodu *Microcoleus vaginatus sensu lato*

Kmen	Šířka (μm)	Délka (μm)
L1 I-2C	6,005	2,864
L1 II-5B	5,857	3,367
L1 II-5D	6,670	2,983
L1 II-3C	8,983	3,381
L2 XII-2C	6,774	2,810
L2 XII-3C	8,193	4,708
L2 12-3C	7,137	3,645
L2 12-5C	7,093	2,610
L2 VIII-2C	7,820	3,793



Obrazová tabule 1 - Diverzita druhu *Microcoleus vaginatus sensu lato* na lokalitě 1. L1: a I-2C, b II-5B, c II-5D, d II-3C.



Obrazová tabule 2 - Diverzita druhu *Microcoleus vaginatus sensu lato* na lokalitě 2. L2: e XII-2C, f XII-3C, g 12-3C, h 12-5C, i VIII-2C.



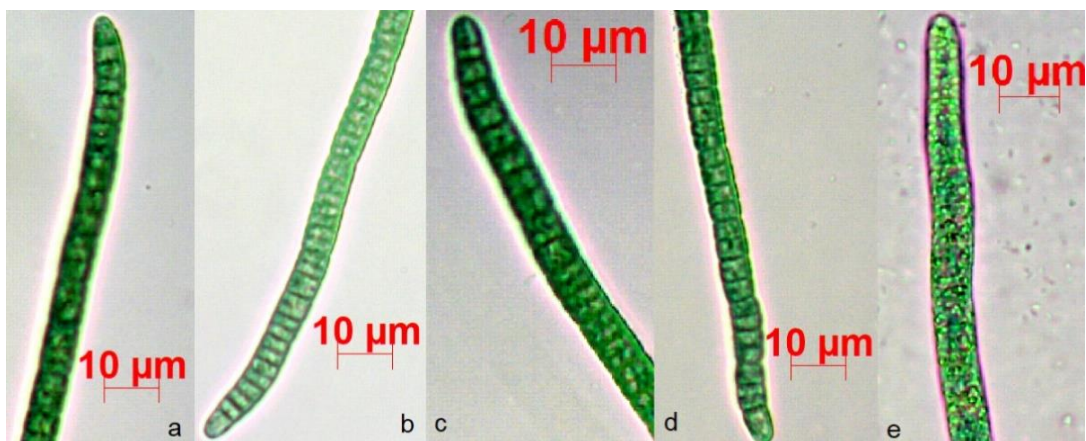
Obrázek 2 – Propletené útvary druhu *Microcoleus vaginatus sensu lato* u kmenu L1 II-3C

*Ancylothrix sp.* je sinice, která byla pozorována ve vzorcích pouze první lokality, konkrétně u L1: 1-5C, I-4C, I-3C, 1-4B a I-5C. Trichomy jsou zbarveny do sytě zelené barvy, konec trichomu je zaoblený. Vlákna jsou rovná či mírně zprohýbaná. U některých vláken bylo pozorováno náhodné zúžení či naopak rozšíření vlákna. Šířka buněk je větší než jejich délka. Průměr šířky i délky buněk jednotlivých kmenů je uveden v Tabulce 4. Vlákna byla bez kalypter. U kmenu L1 I-5C měly buňky silnou granulaci a buněčné přepážky byly ztloustlé. Také se zde vyskytovaly slizové pochvy. Dále byla u kmenu I-4C byla pozorována přítomnost nekrotických buněk, vlákna zde vykazovala také rozdílnou barvu, a to žlutozelenou. Obrazová tabule 3 znázorňuje morfologii pozorovaných vláken.

Tabulka 4 - Průměrná hodnota velikosti šířky a délky buněk jednotlivých kmenů sinice rodu *Ancylothrix sp.*

Kmen	Šířka (μm)	Délka (μm)
L1 I-5C	6,276	2,813
L1 I-3C	6,241	3,538
L1 I-4B	6,389	3,582
L1 I-4C	6,091	4,890
L1 I-5C	7,367	3,502





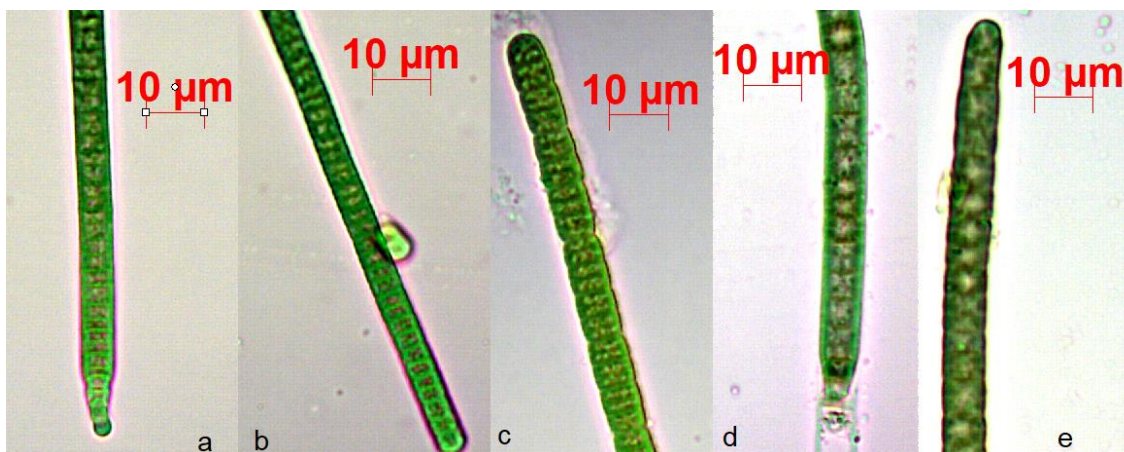
Obrazová tabule 3 - Diverzita rodu *Ancylothrix* na lokalitě 1. L1: a I-5C, b I-4B, c I-3C, d I-4C, e I-5C

Vzorky z druhé lokality, konkrétně L2: 12-4C, VIII-5C, 12-5D, VIII-4C a 12-1C byly identifikovány jako nové, blíže neurčené rody sinic. Z mikroskopického pozorování můžeme říct, že sinice těchto vzorků se nápadně podobají sinici rodu *Microcoleus* sp. Pro bližší určení by bylo třeba dalších analýz. U kmenu VIII-4C byly pozorovány thylakoidy nahloučené na okrajích buněk. U kmenu VIII-5C byly buňky nafouknuté. Kmeny, u nichž byla přítomny kalyptry a slizových pochev jsou L2: 12-1C, VIII-4C, VIII-5C. Tabulka 5 uvádí průměrné šířky a délky buněk, naměřené u těchto sinic. Morfologie pozorovaných vláken je zobrazena v Obrazové tabuli 4.

Veškeré získané morfologické údaje jsou přehledně srovnány v Tabulce 6.

Tabulka 5 – Průměrná hodnota velikosti šířky a délky buněk jednotlivých kmenů sinic nového rodu

Kmen	Šířka (µm)	Délka (µm)
L2 12-1C	5,991	2,755
L2 12-4C	5,714	2,720
L2 12-5D	6,976	2,822
L2 VIII-4C	7,357	3,133
L2 VIII-5C	6,933	3,695

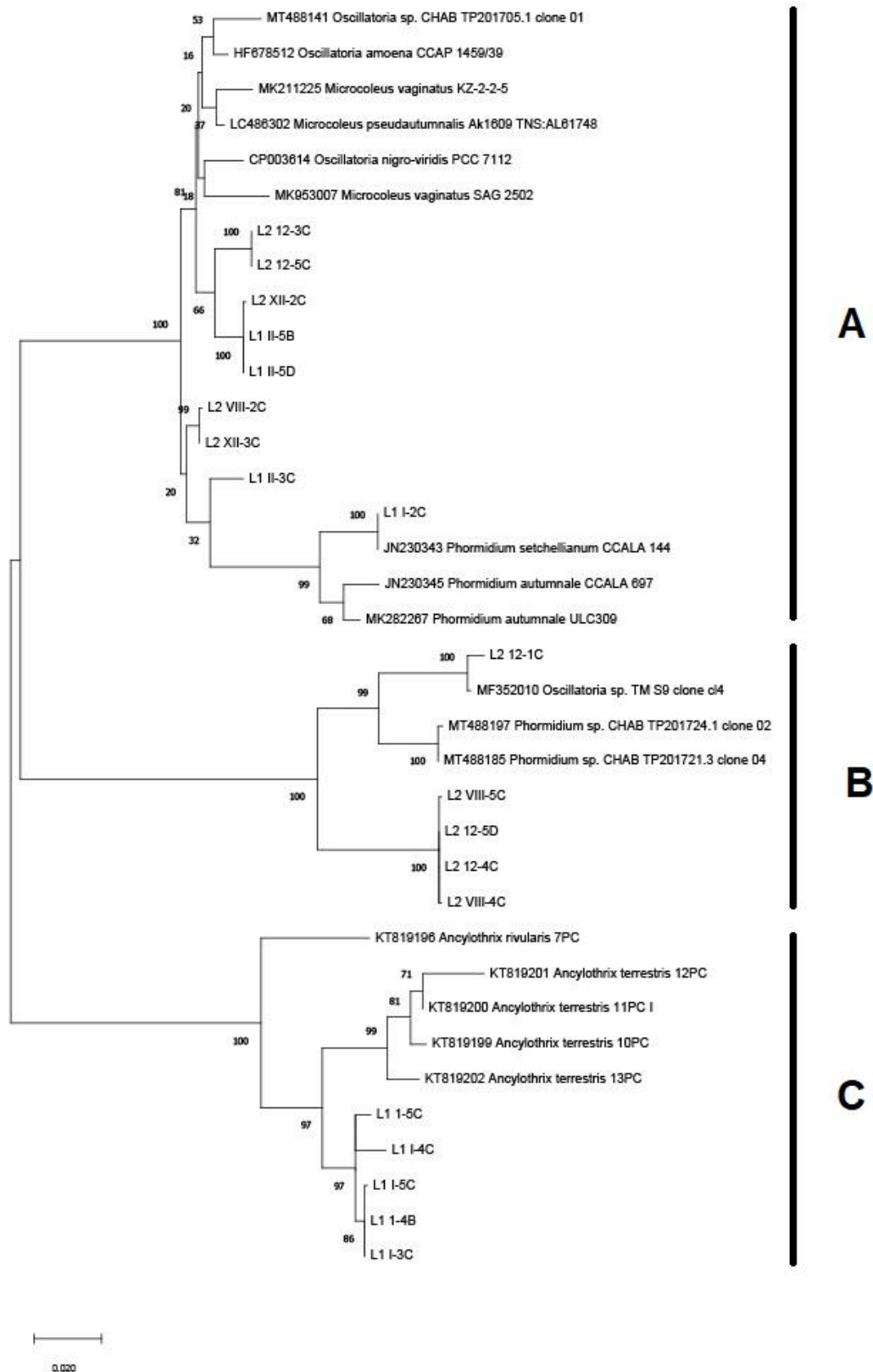


Obrazová tabule 4 - Diverzita nového rodu na lokalitě 2. L2: a 12-1C, b 12-4C, c 12-5D, d VIII-4C, e VIII-5C

Tabulka 6 - Shrnutí morfologických výsledků a identifikace kmenů

Kmen	Rod sinice	Přítomnost kalypter	Přítomnost slizových obalů	Další morfologické znaky
L1 I-5C	<i>Ancylothrix sp.</i>	-	-	zúžení a rozšíření vláken
L1 I-4B	<i>Ancylothrix sp.</i>	-	-	
L1 I-2C	<i>Microcoleus sp.</i>	-	-	
L1 I-3C	<i>Ancylothrix sp.</i>	-	-	zúžení a rozšíření vláken
L1 I-4C	<i>Ancylothrix sp.</i>	-	-	nekrotické buňky, žlutozelená vlákna
L1 I-5C	<i>Ancylothrix sp.</i>	-	+	granulace, ztloustlé buněčné přepážky
L1 II-3B	vzorek nevyšel			
L1 II-5B	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	
L1 II-5D	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	
L1 II-3C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	vlákna tvořící propletené útvary
L2 XII-2C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	
L2 XII-3C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	
L2 12-1C	Nový rod	+	+	
L2 12-3C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	-	
L2 12-4C	Nový rod	-	-	
L2 12-5C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	+	
L2 12-5D	Nový rod	-	+	
L2 VIII-2C	<i>Microcoleus sp.</i>	+	-	černé zbarvení biomasy
L2 VIII-4C	Nový rod	+	+	thylakoidy na okrajích
L2 VIII-5C	Nový rod	+	+	nafouknuté buňky

## 7.2 Fylogenetický strom



Obrázek 3 – Fylogenetický strom vytvořený ze sekvenčních dat metodou maximální pravděpodobnosti za použití modelu General Time Reversible. Bootstrapová podpora je uvedena u jednotlivých nodů. A – *Microcoleus vaginatus* sensu lato, B – nový rod sinice, C – *Ancylothrix* sp.

Horní část fylogenetického stromu, označenou A, můžeme dnes po revizích v taxonomii zařadit k jedné velké skupině označované jako *Microcoleus vaginatus sensu lato*. Do této velké skupiny můžeme zařadit i kmeny z lokality 1, L1: II-5B, II-5D, II-3C, I-2C a z lokality 2, L2: 12-3C, 12-5C, XII-2C, VIII-2C, XII-3C.

Střední část fylogenetického stromu, označená B, patří ke vzorkům z lokality 2, L2: 12-4C, VIII-5C, 12-5D, VIII-4C a 12-1C. Tyto kmeny můžeme definovat jako nový rod, pro jehož bližší určení je třeba dalšího zkoumání. Morfologicky jsou tyto kmeny shodné s *Microcoleus vaginatus*, ten však má ve fylogenetickém stromě jiné postavení.

V závěrečné části fylogenetického stromu, označené C, se nachází sinice rodu *Ancylothrix sp.* Nalezneme zde druhy *Ancylothrix rivularis* nebo *Ancylothrix terrestris*. Kmeny z lokality 1, L1: 1-5C, I-4C, I-3C, 1-4B a I-5C můžeme označit též jako rod *Ancylothrix sp.*, avšak jedná se o novou linii této sinice. Z fylogenetického stromu je zřejmé, že tento druh má s *Ancylothrix terrestris* společného předka. V rámci fylogenetického stromu jsou však tyto dva druhy výrazně odděleny, dělí je velká vzdálenost.

## 8. Diskuze

Na dvou lokalitách v regionu kolem Uherského Hradiště byl proveden sběr vzorků k následné analýze. Vzorky lokality 1 byly sebrány z vlhké půdy, zatímco vzorky z lokality 2 byly sebrány z kaluže. Sekvence jednoho kmene byla neúspěšná, proto není dále zahrnut. Předpokládám, že reakce nevyšla kvůli přítomnosti kontaminace.

Byly nalezeny sinice, které můžeme určit jako druh *Microcoleus vaginatus sensu lato*. *Microcoleus* je definován jako polyfyletický taxon, který zahrnuje velké množství sinic, jejichž taxonomický status bude přehodnocen. Na základě analýz 16S rDNA byla zjištěna podobnost mezi skupinou *Phormidium* VII, který je zastoupen druhem *Phormidium autumnale* (KOMÁREK & ANAGNOSTIDIS 2005) a rodem *Microcoleus* (STRUNECKÝ et al. 2013). Výsledky studie Struneckého (STRUNECKÝ et al. 2013) informují o vzniku *Microcoleus sensu stricto*, jako o skupině obsahující kmeny *Microcoleus vaginatus* společně s *Phormidium autumnale*. Rozdíl je v ekologii obou sinic. Zatímco druh *Phormidium autumnale* je obsažen především v epilitu vodních toků a stojatých vody, *Microcoleus vaginatus* je typicky půdním druhem. *Microcoleus vaginatus sensu lato* byl nalezen na obou mnou zkoumaných lokalitách. Pozorovala jsem modrozelená až zelená vlákna, která se na koncích zužovala. Ne vždy jsem mohla pozorovat vlákna ve společných svazcích obalených pochvou, jako je uváděno v klíči. Kaštovský et al. (2018) uvádí, že kalyptra je kuželovitého či polokruhovitého tvaru. Všechna mnou pozorovaná vlákna měla kalyptru polokruhovitého vzhledu, mimo kmen L1 I-2C, kde kalyptry nebyly pozorovány. Buňky byly vždy kratší než široké. Šířka buněk se pohybovala na horní hranici literaturou udávaných hodnot, u kmenu L1 II-3C dosahovala téměř 9 µm, což je dle Kaštovský et al. (2018) nejvyšší naměřená hodnota. Délka buněk se naopak pohybovala v nižších či středních hodnotách udávaných literaturou. Přehledně jsou naměřené hodnoty uvedeny v Tabulce 3. Kmen L1 I-2C se vymyká morfologii udávané v literatuře u druhu *Microcoleus vaginatus*, nebyly u něj pozorovány ani kalyptry ani slizové pochvy.

Dále byla na první lokalitě identifikována sinice rodu *Ancylothrix*. Tato sinice tvoří nový druh, který je příbuzný druhu *Ancylothrix terrestris*. S *Ancylothrix terrestris* má společného předka, ale rozděluje je velká vzdálenost ve fylogenetickém stromu. *Ancylothrix terrestris* není morfologicky rozlišný od *Ancylothrix rivularis*. Jedná se o druhy vláknitých sinic, které se vyskytují v odstínech jasně až tmavě modrozelené barvy. Trichomy jsou válcovité, ohnuté, u konců se mírně zužují. Slizové pochvy jsou

pozorovatelné jen zřídka. Buňky jsou izodiametrické či mírně kratší než širší, délka buněk činí 2,5 – 6  $\mu\text{m}$ , šířka vlákna se pohybuje od 4 do 7  $\mu\text{m}$  (MARTINS et al. 2016). Mnou pozorovaný nový druh rodu *Ancylothrix* byl jasně modrozelený, některá vlákna se ke konci mírně zužovala, jiná nikoli. Martins et al. (2016) naměřil u sinice *Ancylothrix terrestris* šířku buněk v rozpětí 4,5 – 6,5  $\mu\text{m}$  a délku buněk v rozpětí 2,5 – 5,5  $\mu\text{m}$ . Tyto hodnoty souhlasí s naměřenými hodnotami mnou objeveného druhu *Ancylothrix*. Kalyptry nebyly pozorovány. U některých kmenů bylo pozorováno náhodné zúžení a rozšíření vlákna. Tento jev se vyskytoval náhodně po celé jeho délce. Zúžení či rozšíření bylo vždy přítomno v délce 5-10 buněk. Bylo také pozorováno ohnutí konce vlákna, typické pro *Ancylothrix terrestris*. U kmenu L1 I-5C vykazovaly buňky sytě zelenou barvu a silnou granulaci. U kmenu L1 I-4C byla zjištěna přítomnost nekrotických buněk, které se typicky u druhu *Ancylothrix terrestris* vyskytují (MARTINS et al. 2016). Tyto kmeny byly sebrány z půdy, mezi kmeny z kaluže se tento nový druh rodu *Ancylothrix* neobjevil. Tento nový druh rodu *Ancylothrix* bych označila za kryptický. Jako kryptický druh se označuje takový taxon, který je morfologicky neodlišitelný a může tak způsobovat zmatky v taxonomii. K rozlišení tohoto druhu je třeba využít molekulárních metod (DVOŘÁK et al. 2017).

Na druhé lokalitě byl nalezen nový rod sinice, který je nutno dále prozkoumat. Nebyly identifikovány žádné podobné sekvence v databázi GenBank. Sinice tohoto nového rodu vykazovaly vysokou morfologickou podobnost s druhem *Microcoleus vaginatus*. Tento druh však zaujímá ve fylogenetickém stromě svoji linii. Tyto sinice byly nalezeny pouze na druhé lokalitě čili byly sebrány z kaluže. U některých kmenů byla pozorována přítomnost kalyptry, někdy se vyskytovaly i slizové pochvy. Vlákno kmenu VIII-5C se skládalo z nafouknutých buněk. Je možné, že tyto buňky měly větší turgor vlivem nasávání vody. U kmenu VIII-4C byly thylakoidy nahloučené po stranách buněk. Na základě získaných údajů se domnívám, že by se mohlo jednat o nový rod. Polyfyletické vztahy jsou běžné u mnoha rodů sinic. Příkladem nově vzniklého rodu, odděleného od polyfyletického taxonu, může být *Kamptonema*, která byla oddělena od rodu *Phormidium* (STRUNECKÝ et al. 2014).

## 9. Závěr

Tato bakalářská práce rozšířila naše znalosti o diverzitě sinic v regionu kolem Uherského Hradiště, ale také přinesla nové poznatky z evoluce a taxonomie sinic. Důkazem toho je potenciálně jeden nový rod a jeden nový druh vláknitých sinic.

V rámci bakalářské práce jsem provedla sběr, izolaci, determinaci a molekulární analýzy, které vedly k rozpoznání jednotlivých kmenů a k jejich zařazení v rámci systému sinic. Ve vzorcích byly nalezeny běžné sinice jako je rod *Microcoleus*. Dále jsem pozorovala rod *Ancylothrix*. Byla objevena nová linie rodu *Ancylothrix*, příbuzná druhu *Ancylothrix terrestris*. Morfologicky se zkoumané kmeny nelišily od již popsanych, jedná se tedy o kryptický druh. Důkladná molekulární a morfologická analýza kmenů také naznačuje, že jsem pozorovala sinice nového rodu. Dle morfologické determinace bych tyto sinice zařadila k druhu *Microcoleus vaginatus*, ten má však ve fylogenetickém stromě odlišné umístění. Jedná se tedy pravděpodobně o nový kryptický druh.

## 10. Didaktická část

Na základních a středních školách se žáci setkávají s výukou sinic především na počátcích kapitoly Biologie rostlin. Výrazné nedostatky jsou pozorovány v literatuře týkající se sinic. Učebnice schválené MŠMT neposkytují aktuální znalosti fylogeneze nižších rostlin. Dokonce učebnice vznikající v 21. století poskytují zastaralé informace (KAUFNEROVÁ & VÁGNEROVÁ 2013).

Na základě rámcových vzdělávacích programů (RVP) jsou sinice a řasy na základních školách probírány v rámci vzdělávací oblasti Člověk a příroda, ve vzdělávacím programu Přírodopis. Na středních školách a gymnáziích je to vzdělávací oblast Člověk a příroda a vzdělávací program Biologie. Nutno však zmínit, že problematika sinic je vedle okruhů jako botanika či zoologie zanedbávána. Dále mohou být sinice tématem v programech Enviromentální výchovy (KAUFNEROVÁ & VÁGNEROVÁ 2013).

K této didaktické části jsem vytvořila pracovní list, který se nachází v přílohách této bakalářské práce. Pracovní list se týká sinic a základních pojmů prokaryotické buňky. Tento pracovní list by měl žákům posloužit k ucelení pojmů a poznatků již získaných. Pracovní list je vytvořen ve dvou provedení. Příloha 3: Pracovní list, který je určen žákům a Příloha 4: Pracovní list s řešením, určený ke kontrole výsledků.



## 11. Seznam použité literatury

ADAMS, D. G. & DUGGAN, P. S. Cyanobacteria–bryophyte symbioses. *Journal of Experimental Botany*. 2008, vol. 59, no. 5, 1047-1058 pp.

ANAGNOSTIDIS, K. *Geitlerinema*, a new genus of oscillatoriacean cyanophytes. *Plant Systematics and Evolution*, 1989, vol. 164, 33–46 pp.

ANAGNOSTIDIS, K. & KOMÁREK, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3 — Oscillatoriales. 1988, *Algological Studies*, vol. 50–53, 327–472 pp.

ANAGNOSTIDIS, K. & KOMÁREK, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 5 - Stigonematales. 1990, *Algological Studies*, vol. 59, 1–73 pp.

ANNAND, N., THAJUDDIN, N. & DADHEECH, P. K. Cyanobacterial Taxonomy: Morphometry to Molecular Studies. In: MISCHRA, A. K, TIWARI, D. N. & RAI, A. N. *Cyanobacteria*. Elsevier, 2019, 43-64 pp. ISBN 978-0-12-814667-5.

BELNAP, J., BÜDEL, B. & LANGE, O. L. Biological soil crusts: characteristics and distribution. In: BELNAP, J. & LANGE, O. L. (eds) *Biological soil crusts: structure, function, management*. Springer, Berlin, 2001, 503 pp.

BLANK, C. E. & SÁNCHEZ-BARACALDO, P. Timing of morphological and ecological innovations in the cyanobacteria – a key to understanding the rise in atmospheric oxygen. *Geobiology*. 2010, vol. 8, no. 1, 1-23 pp.

BOYER, S. L., JOHANSEN, J. R. & HOWARD, G. L. Phylogeny and genetic variance in terrestrial *Microcoleus* (Cyanophyceae) species based on sequence analysis of the 16S rRNA gene and associated 16S-23S ITS region. *Journal of Phycology*. 2002, vol. 38, no. 6, 1222-1235 pp.

CASTENHOLZ, R., W., WILMOTTE, A., HERDMAN, M., RIPPKA, R., WATERBURY, J., B., ITEMAN, I. & HOFFMANN, L. Phylum BX. Cyanobacteria. In: BOONE, D., R., CASTENHOLZ, R., W. & GARRITY, G., M. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. New York, NY: Springer New York, 2001, 473-599 pp. ISBN 978-1-4419-3159-7.

CULEK, M., GRULICH, V., LAŠTŮVKA, Z. & DIVÍŠEK, J. Biogeografické regiony České republiky. Brno: Masarykova univerzita, 2013. ISBN 978-80-210-6693-9.

DÍEZ, B. & ININBERGS, K. Ecological importance of cyanobacteria. In: SHARMA, N. K., RAI, A. K. & STAL, L. J. *Cyanobacteria: An Economic Perspective*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2014, 43-65 pp. ISBN 9781118402238.

DITTMAN, E., FEWER, D.P. & NEILAN, B. A. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiology Reviews*. 2013, vol. 37, no. 1, 23-43 pp.

DVOŘÁK, P., CASAMATTA, D. A., HAŠLER, P., JAHODÁŘOVÁ, E., NORWICH, A. R. & POULÍČKOVÁ, A. Diversity of the Cyanobacteria. In: HALLENBECK, P. C. *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes*. Switzerland: pringer International Publishing, 2017, 3-46 pp. ISBN 978-3-319-46259-2.

DVOŘÁK, P., POULÍČKOVÁ, A., HAŠLER, P., BELLI, M., CASAMATTA, D., A. & PAPINI A. Species concepts and speciation factors in cyanobacteria, with connection to the problems of diversity and classification. *Biodiversity and Conservation*. 2015, vol. 24, no. 4, 739-757 pp.

EDGAR, D. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 2004, vol. 32, no. 5, 1792-1797 pp.

FRIEDMANN, E.I., LAROCK, P. A. & BRUNSON, J. O. Adenosine triphosphate (ATP), chlorophyll, and organic nitrogen in endolithic microbial communities and adjacent soils in the dry valleys of southern. Victoria Land, US, 1980, vol. 15, 164-167 pp.

GEITLER, L. Cyanophyceae. In: RABENHORST, L. (ed) *Kryptogamenflora*. 1932, Akademische Verlagsgesellschaft, Lipsko.

GIRGEL, M. Putování za vodou Zlínským krajem. 2018. Zlín: Zlínský kraj, 1. vydání. ISBN 978-80-87833-31-5.

GKELIS, S., RAJANIEMI, P., VARDAKA, E. et al. *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (Cyanobacteria) Strains from Lake Kastoria, Greece Form a Separate Phylogenetic Group. *Microbial Ecology*, 2005, vol. 49, 176–182 pp.

GORBUSHIN, A. A. Life on the rocks. *Environmental Microbiology*. 2007, vol. 9, no. 7, 1613–1631pp.

GUIRY, M. D. & GUIRY, G. M. AlgaeBase. – World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2018, URL: <http://www.algaebase.org>

HAŠLER, P., DVOŘÁK, P., JOHANSEN, J. R., KITNER, M., ONDŘEJ, V. & POULÍČKOVÁ, A. Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). 2012, *Fottea*, vol. 12, 341 - 56 pp.

HAUER, T. & KAŠTOVSKÝ, J. Sinice – Cyanobacteria. In: KAŠTOVSKÝ, J. et al. *Atlas sinic a řas České republiky 1*. České Budějovice, ČR, 2018. ISBN 978-80-7568-071-6.

HU, C. X. & LIU, Y. D. Soil algal biomass and its influential factors in desert soil crusts. 2003c, vol. 23, no. 2, 284–291 pp.

CHATCHAWAN, T., KOMÁREK, J., STRUNECKÝ, O., SMARDA, J. & PEERAPORNPIHAL, Y. *Oxynema*, a new genus separated from the genus *Phormidium* (Cyanophyta). 2012, *Cryptogamie Algologie*, vol. 33, no.1, 41-59 pp.

CHUNXIANG, HU, KUNSHAN GAO & WHITTON, B. A. Semi-arid Regions and Deserts In: WHITTON, B. A. *Ecology of Cyanobacteria II*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, 1-13 pp. ISBN 978-94-007-3854-6.

KAŠTOVSKÝ, J., HAUER, T., GERIŠ, R., CHATTOVÁ, B., JURÁŇ, J., LEPŠOVÁ-SKÁCELOVÁ, O., PITELKOVÁ, P., PUSZTAI, M., ŠKALOUD, P., ŠTASTNÝ, J., ČAPKOVÁ, K., BOHUNICKÁ, M. & MÜHLSTEINOVÁ, R. *Atlas sinic a řas ČR 1*. 2018, powerprint, Praha, 384 s. ISBN 978-80-7568-124-9.

KAUFNEROVÁ, V. & VÁGNEROVÁ, P. Sinice a řasy v učebnicích pro základní a střední školy. 2013, Arnica, 1–2, 9–18 pp. Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota-2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales. 2005, Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 759 pp.

KOMÁREK, J. Modern classification of cyanobacteria. In: SHARMA, N.K., RAI, A. K. & STAL, L. J. *Cyanobacteria: An Economic Perspective*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2014, 21-41 pp. ISBN 9781118402238.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 2 - Chroococcales. 1986, *Algol Stud* vol. 43, 157–226pp.

KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4 - Nostocales. 1989, *Algol Stud* vol. 56, 247–345 pp.

KUMAR, S., STECHER, G., LI, M., KNYAZ, CH. & KOICHIRO, T. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018, vol. 35, no. 6, 1547-1549 pp.

LIU, Y. D., SONG, L. R., SHEN, Y. W., LI, D. H., HU, C. X., HUANG, Z. B., HU, Z. L. & ZHU, Y. Z. Potential of terrestrial microalgae and cyanobacteria in environmental technology. In: KOJIMA, H. & LEE, Y. K. (eds) *Photosynthetic microorganisms in environmental biotechnology*. 2001, Springer, Hong Kong, 195–216, 310 pp.

LUKEŠOVÁ, A. Soil algae in four secondary successional stages on abandoned fields. 1993, *Algological Studies*, vol. 71, 81–102 pp.

LYRA, C., SUOMALAINEN, S., GUGGER, M., VEZIE, C., SUNDMAN, P., PAULIN, L. & SIVONEN, K. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001, vol. 51 no. 2, 513-526 pp.

MARTINS, M. D., RIGONATO, J., TABOGA, S. R. & BRANCO, L. H. Z. Proposal of *Ancylothrix* gen. nov., a new genus of Phormidiaceae (Cyanobacteria, Oscillatoriales) based on a polyphasic approach. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016, vol. 66, no. 6, 2396-2405 pp.

MOREIRA C. FERNANDEZ, V., GIRALDO-SILVA, A., ROUSH, D. & GARCIA-PICHEL, F. Coleofasciculaceae, a monophyletic home for the *Microcoleus steenstrupii* complex and other desiccation-tolerant filamentous cyanobacteria. 2021, *Journal of Phycology*.

MÜHLSTEINOVÁ, R., HAUER, T., DE LEY, P. & PIETRASIAK, N. Seeking the true *Oscillatoria*: a quest for a reliable phylogenetic and taxonomic reference point. 2018, *Preslia*, vol. 90, 151–169 pp.

NEUHÄUSLOVÁ, Z., MORAVEC, J., CHYTRÝ, M., SÁDLO, J., RYBNÍČEK, K., KOLBEK, J. & JIRÁSEK, J. Mapa potenciální přirozené vegetace České republiky 1: 500 000. Botanický ústav AV ČR, Praha. 1997.

NIYOGI, K. K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. 1999, vol. 50, 333–359pp.

OREN, A. Cyanobacteria: biology, ecology and evolution. In: SHARMA, N.K., RAI, A. K. & STAL, L. J. *Cyanobacteria: An Economic Perspective*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2014, 3-21 pp. ISBN 9781118402238.

PAERL, H. W. & OTTEN, T. G. Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*. 2013, vol. 65, no. 4, 995-1010 pp.

PENTECOST, A. & WHITTON, B. A. Subaerial Cyanobacteria. In: WHITTON, B. A. *Ecology of Cyanobacteria II*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, 1-13 pp. ISBN 978-94-007-3854-6.

PETERSEN, J. B. Studier over Danske aërofile alger. 1915, no. 7, vol 12, 272–379pp.

PITTOIS, S., JACKSON, M. H. & WOOD, B. J. B. Problems associated with the presence of cyanobacteria in recreational and drinking waters. *International Journal of Environmental Health Research*. 2000, vol. 10, no. 3, 203-218 pp.

POULÍČKOVÁ, A., DVOŘÁK, P., MAZALOVÁ, P. & HAŠLER, P. Epipellic microphototrophs: an overlooked assemblage in lake ecosystems. *Freshwater Science*. 2014, vol. 33, no.2, 513-523 pp.

QUITT, E. Klimatické oblasti Československa. *Studia Geographica*, 1971, vol 16, 1–74 pp. + přílohy, Brno.

RIPPKA, R. Recognition and identification of cyanobacteria. In: PACKER, L. & GLAZER, A. N. *Methods in Enzymology*. Elsevier, 1988, vol. 167, 28-67 pp.

SABATER, S., VILALTA, E., GAUDES, A., GUASCH, H., MUÑOS, I. & ROMANI, A. Ecological implications of mass growth of benthic cyanobacteria in rivers. *Aquatic Microbial Ecology*. 2003, vol. 32, 175-184 pp.

SIEGESMUND, M. A., JOHANSEN, J. R., KARSTEN, U. & FRIEDL, T. *Coleofasciculus* gen. nov. (Cyanobacteria): Morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* Gomont. *Journal of Phycology*. 2008, vol. 44, no. 6, 1572-1585 pp.

SCHLICHTING, H. E., JR. Some subaerial algae from Ireland. 1975, vol. 10, 257–261pp.

SCHOPF, J. W. Microflora of the Bitter Springs Formation, Late Precambrian, Central Australia. *Journal of Paleontology*. 1968, vol. 42, no. 3, 651-688 pp.

SCHOPF, J. W. The Fossils Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage. In: WHITTON, B. A. *Ecology of Cyanobacteria II*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000, 13-35 pp. ISBN 0-7923-4735-8.

STANIER, R. Y. & COHEN-BAZINE, G. Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology*. 1977, vol. 31, no. 1, 225-274 pp.

STAUB, R. Research on physiology of nutrients the planktonic cyanobacterium *Oscillatoria rubescens*. *Schweizerische Zeitschrift Für Hydrologie*. 1961, vol. 23, 82-198 pp.

STREFTARIS, N. & ZENETOS, A. Alien marine species in the Mediterranean-the 100 'Worst Invasives' and their impact. 2006, *Mediterranean Marine Science* vol. 7, 87–118 pp.

STRUNECKÝ, O., ELSTER, J. & KOMÁREK, J. Taxonomic revision of the freshwater cyanobacterium „*Phormidium*“ *murrayi* = *Wilmottia murrayi*. *Fottea*, 2011, vol. 11. no. 1, 57-71 pp.

STRUNECKÝ, O., KOMÁREK, J., JOHANSEN, J., LUKEŠOVÁ, A., ELSTER, J. & A. POST. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria). *Journal of Phycology*. 2013, vol. 49, no. 6, 1167-1180 pp.

STRUNECKÝ, O., KOMÁREK, J. & ŠMARDA, J. *Kamptonema* (Microcoleaceae, Cyanobacteria), a new genus derived from the polyphyletic *Phormidium* on the basis of combined molecular and cytomorphological markers. *Preslia*. Praha: Česká botanická společnost, 2014, vol. 86, no. 2, 193-208 pp.



VILÀ, M., ESPINAR, J. L., HEJDA, M., HULME, P. E., JAROŠÍK, V., MARON, J. L. & PYŠEK, P. Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. 2011, *Ecology Letters*, vol. 14, 702–708 pp.

WILK-WOŹNIAK, E., SOLARZ, W. & NAJBEREK, K. et al. Alien cyanobacteria: an unsolved part of the “expansion and evolution” jigsaw puzzle?. 2016, *Hydrobiologia* 764, 65–79 pp.

WOLK, C. P., ERNST, A. & ELHAI, J. (1994) Heterocyst Metabolism and Development. In: BRYANT, D. A. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Pokroky ve fotosyntéze, sv. 1. Dordrecht: Springer Netherlands, 1994. ISBN 978-94-011-0227-8.

WHITTON, B. A. & POTTS, M. Introduction to the Cyanobacteria. In: WHITTON, B. A. *Ecology of Cyanobacteria II*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, 1-13 pp. ISBN 978-94-007-3854-6.

ZHAO, J., ZHENG, Y., ZHANG, B., CHEN, Y. & ZHANG, Y. Progress in the study of algae and mosses in biological soil crusts. 2009, vol. 4, no. 2, 143–150 pp.

## INTERNETOVÉ ZDROJE:

CENTRÁLA CESTOVNÍHO RUCHU VÝCHODNÍ MORAVY. 2000-2021. Lesopark Kunovický les (online). Dostupné z: <https://www.vychodni-morava.cz/cil/847>

HRUBAN, R. 2014. Dolnomoravský úval (online). Dostupné z: <http://moravske-karpaty.cz/prirodni-pomery/geomorfologie/dolnomoravsky-uval/>

METEOBLUE. WEATHER CLOSE TO YOU, © 2006-2020. Průměrné srážky a denní teploty ve zkoumané oblasti. Podnebí Uherské Hradiště (online). Dostupné z: [https://www.meteoblue.com/cs/po%C4%8Das%C3%AD/historyclimate/climatemodelled/uhersk%C3%A9-hradi%C5%A1t%C4%9B\\_%C4%8Cesko\\_3063739](https://www.meteoblue.com/cs/po%C4%8Das%C3%AD/historyclimate/climatemodelled/uhersk%C3%A9-hradi%C5%A1t%C4%9B_%C4%8Cesko_3063739)

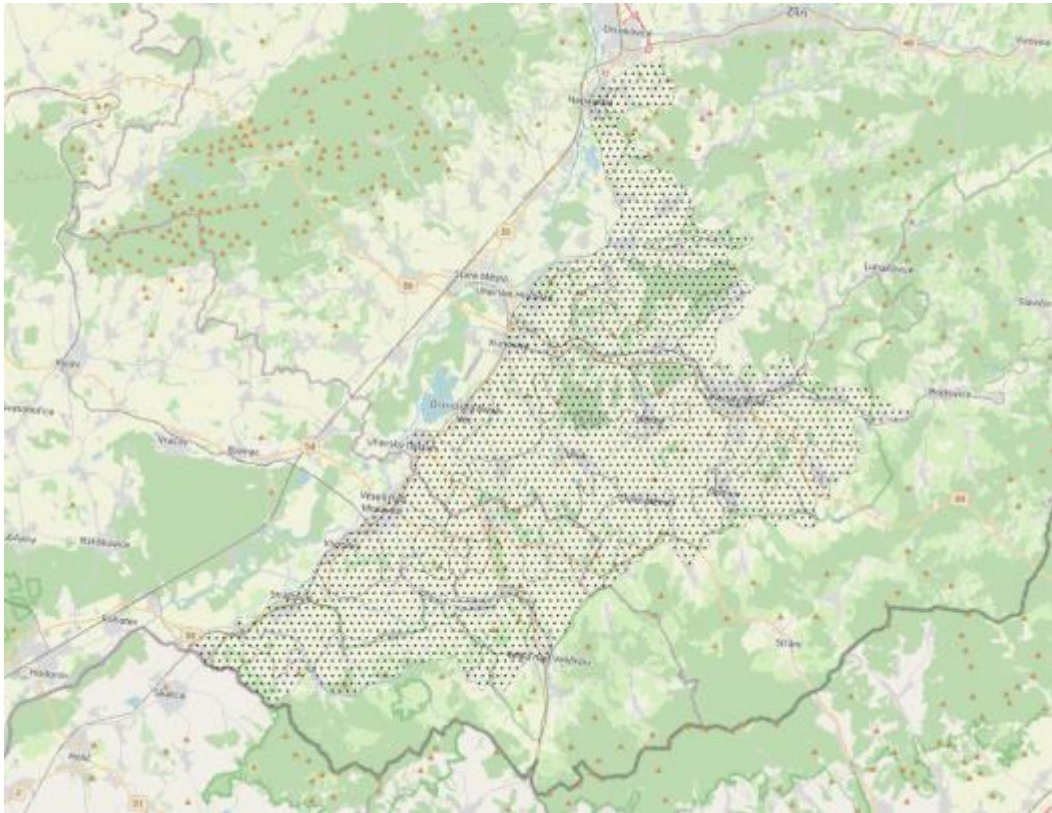
## **12. Seznam příloh**

Příloha 1: Mapa s vymezením hranic Hluckého bioregionu

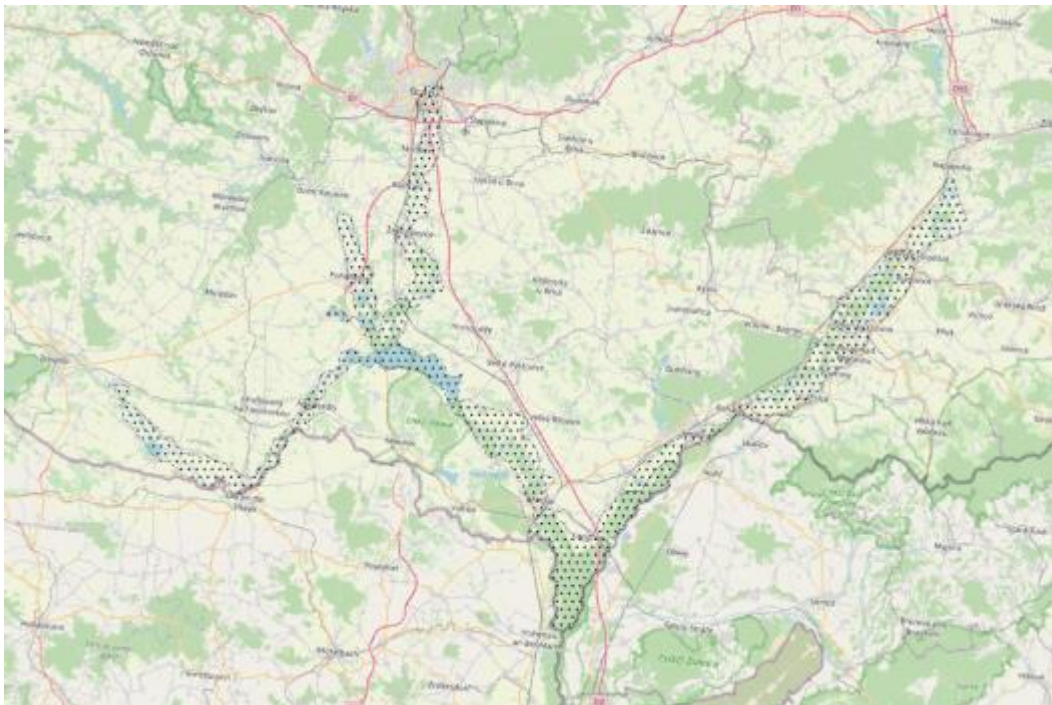
Příloha 2: Mapa s vymezením hranic Dyjsko-moravského bioregionu

Příloha 3: Pracovní list

Příloha 4: Pracovní list s řešením



*Příloha 1- Vymezení hranic Hlučského bioregionu*



*Příloha 2- Vymezení hranic Dyjsko-moravského bioregionu*

# Pracovní list: Sinice a prokaryotická buňka

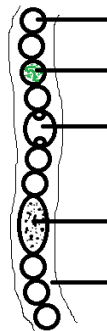
1. Spoj jednotlivé odborné pojmy s jejich vysvětlením:

Akinety	buňka se schopností fixace dusíku
Heterocysty	čepička na koncích vláken sinic
Hormogonie	odumřelá buňka
Nekrotická buňka	klidové stádium za nepříznivých podmínek
Kalyptra	pohyblivá vlákna sloužící k rozmnožování

2. Napiš 5 rozdílů mezi prokaryotickou a eukaryotickou buňkou:

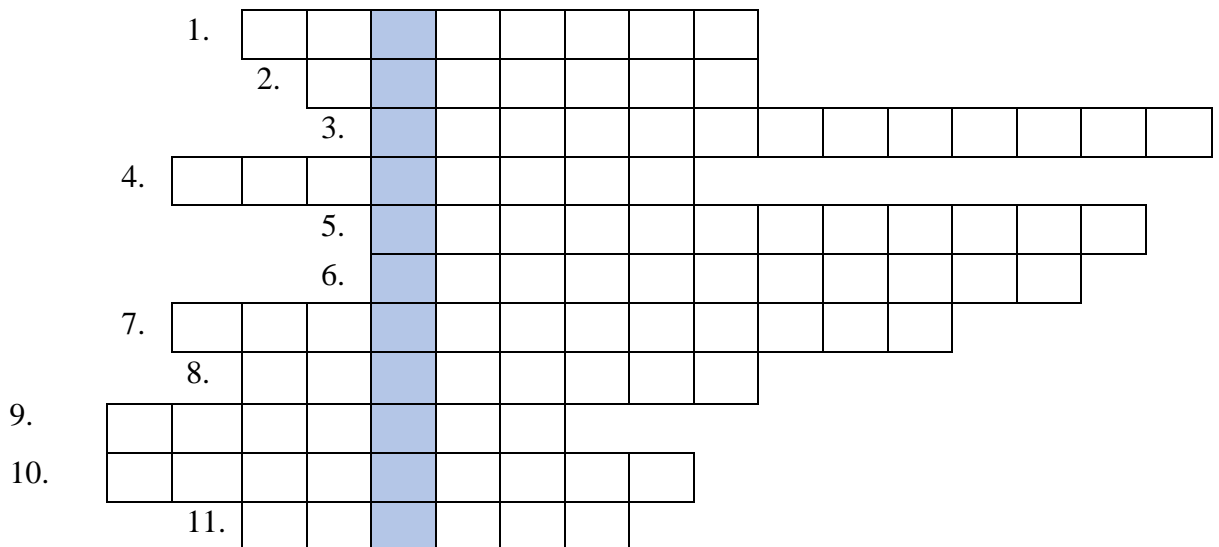
Prokaryotická	Eukaryotická

3. Charakterizuj jednotlivé části sinice v nákresu:



Jedná se o izopolární či heteropolární vlákno?

4. Doplň křížovku:



1 – vztah dvou organismů vedoucí ku prospěchu obou

2 – organela, dochází v ní k proteosyntéze

3 – latinské označení sinic

4 – barvivo, které se vyskytuje v sinicích

5 – latinský název sinice Drkalky

6 – nebezpečné látky, které sinice vypouštějí do vod

7 – proces, který předcházel vzniku chloroplastů

8 – čepička

9 – klidové stádium sinice

10 – sinice využívaná jako doplněk stravy

11 – díky sinicím vznikl tento důležitý prvek

Tajenka: \_\_\_\_\_ je jednou z běžných bentických a půdních sinic vyskytujících se i v České republice.

## Pracovní list: Sinice a prokaryotická buňka - řešení

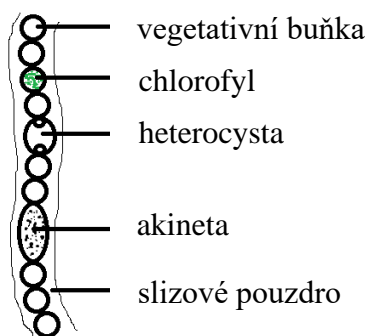
1. Spoj jednotlivé odborné pojmy s jejich vysvětlením:

Akinety	klidové stádium za nepříznivých podmínek
Heterocysty	buňka se schopností fixace dusíku
Hormogonie	pohyblivá vlákna sloužící k rozmnožování
Nekrotická buňka	odumřelá buňka
Kalyptra	čepička na koncích vláken sinic

2. Napiš 5 rozdílů mezi prokaryotickou a eukaryotickou buňkou:

Prokaryotická	Eukaryotická
menší velikost	větší velikost
DNA – kruhovitý nukleoid bez membrány	chromosomy v jádře s dvojitou membránou
málo vnitřních organel	vnitřní organely obklopeny membránou
1 mitochondrie na 1 buňku	více mitochondrií
haploidní	haploidní i diploidní

3. Charakterizuj jednotlivé části sinice v nákresu:



Jedná se o vlákno izopolární

4. Dopln křížovku:

1.	S	Y	M	B	I	Ó	Z	A									
2.	R	I	B	O	S	O	M										
3.	C	Y	A	N	O	B	A	C	T	E	R	I	A				
4.	CH	L	O	R	O	F	Y	L									
5.	O	S	C	I	L	L	A	T	O	R	I	A					
6.	C	Y	A	N	O	T	O	X	I	N	Y						
7.	E	N	D	O	S	Y	M	B	I	Ó	Z	A					
8.	K	A	L	Y	P	T	R	A									
9.	A	K	I	N	E	T	A										
10.	S	P	I	R	U	L	I	N	A								
11.	K	Y	S	L	Í	K											

1 – vztah dvou organismů vedoucí ku prospěchu obou

2 – organela, dochází v ní k proteosyntéze

3 – latinské označení sinic

4 – barvivo, které se vyskytuje v sinicích

5 – latinský název sinice Drkalky

6 – nebezpečné látky, které sinice vypouštějí do vod

7 – proces, který předchází vzniku chloroplastů

8 – čepička

9 – klidové stádium sinice

10 – sinice využívaná jako doplněk stravy

11 – díky sinicím vznikl tento důležitý prvek

Tajenka: Microcoleus je jednou z běžných bentických a půdních sinic vyskytujících se i v České republice.