

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



PERIFYTICKÉ SINICE OKOLÍ VYSOKÉHO MÝTA

Bakalářská práce

Markéta Hušáková

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Forma studia: Prezenční

Olomouc 2013

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s pomocí vedoucího práce pana Doc. RNDr. Petra Hašlera, Ph.D. a použité citované literatury.

V Domoradicích dne 30. 4. 2013

.....

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji svému vedoucímu práce panu Doc. RNDr. Petru Hašlerovi, Ph.D. za to, že mi byl ochotným a trpělivým učitelem při vytváření mé bakalářské práce, děkuji také doktorům Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. a Mgr. Petře Mazalové, Ph.D. za jejich vstřícnost a cenné rady při práci v laboratoři. Dále velmi děkuji svým rodičům Ladislavě a Pavlu Hušákovi za jejich pomoc při dopravě na lokality a obrovskou podporu.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a Příjmení autora: Markéta Hušáková

Název práce: Perifytické sinice okolí Vysokého Mýta

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra botaniky PřF

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

Rok obhajoby: 2013

ABSTRAKT

Perifyton jako společenstvo autotrofních i heterotrofních organismů, žijících na předmětech nebo substrátech ponořených ve vodě zastává důležitou úlohu v primární produkci a regulaci koloběhu živin přes rozhraní sediment-voda ve sladkovodním prostředí. Perifyton je klasifikován na haptobentos, který zahrnuje organismy přichycené k povrchu pevného podkladu a herpobentos, organismy vertikálně migrující v sedimentu nebo žijící na jeho povrchu. Tato práce je zaměřena na studium dvou základních složek perifytonu – epipelon, který je zároveň složkou herpobentosu a epifyton, který patří mezi haptobentos. K tomuto účelu byly sbírány vzorky sedimentů a nárostů sinic na makrofytech během tří ročních období od podzimu roku 2011 do léta roku 2012 celkem na devíti lokalitách v okolí Vysokého Mýta. Vzorky sinic byly kultivovány v tekutém Z médiu nebo na agaru v Petriho miskách při laboratorní teplotě. Dále bylo zjišťováno druhové zastoupení na jednotlivých lokalitách, morfologická variabilita jednotlivých druhů a nakonec byla provedena izolace kmenů. Mezi izolovanými kmeny se nacházela např. *Geitlerinema lemmermannii*, *Phormidium animale* nebo *Pseudanabaena galeata*. Izolované kmeny budou použity k dalšímu studiu, konkrétně molekulární analýze sekvencí DNA a následné fylogenetické analýze vztahů mezi perifytickými sinicemi.

Klíčová slova: sinice, perifyton, epipelon, epifyton, taxonomie, nomenklatura, systém

Počet stran: 67

Počet příloh: 19

Jazyk: Čeština

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Markéta Hušáková

Name of the thesis: Periphytic cyanobacteria near Vysoké Mýto

Type of thesis: Bachelor

Workplace: Botany department, Faculty of Science

Thesis supervisor: Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

Year of defence: 2013

ABSTRACT

Periphyton as a community of autotrophic and heterotrophic organisms living on objects or substrates submerged in water has an important role in the regulation of primary production and nutrient cycling across the sediment-water interface in freshwater environments. Periphyton is classified on haptobentos, which includes organisms attached to the surface of a solid substrate and herpobentos, vertically migrating organisms in sediment or living on its surface. This work is focused on the study of two basic components of periphyton - epipelon, which is also a component of herpobentos and epifyton, one of the haptobentos. For this purpose were collected samples of sediments and cyanobacterial mats on macrophytes in three seasons from autumn 2011 to the summer of 2012 in total of nine locations around the Vysoké Mýto. Cyanobacteria samples were cultured in a liquid Z medium or on agar in Petri dishes at room temperature. It was further investigated species representation in various localities, morphological variability of individual species and eventually were isolated strains. Among the isolated strains were found e.g. *Geitlerinema lemmermannii*, *Phormidium animale* or *Pseudanabaena galeata*. Isolated strains will be used to further study, namely molecular analysis of DNA sequences and subsequent phylogenetic analysis of the relationships between periphytic cyanobacteria.

Keywords: cyanobacteria, periphyton, epipelon, epiphyton, taxonomy, nomenclature, system

Number of pages: 67

Number of appendices: 19

Language: Czech

OBSAH

ÚVOD	10
1. Obecná charakteristika sinic	10
1.1. Specializované struktury	11
1.2. Rozmnožování	12
1.3. Ekologie a adaptabilita sinic	12
1.3.1. Termální sinice, salinita a hodnoty pH	12
1.3.2. Aerofytické a půdní sinice	13
1.3.3. Nadprodukce sinic	13
1.3.4. Vztahy s jinými organismy	14
1.3.5. Sinice jako zdroj potravy	14
2. Charakteristika a klasifikace perifytonu	16
2.1. Charakteristika epipelonu	17
2.1.1. Vertikální distribuce a migrace	18
2.2. Charakteristika epifytonu	19
2.2.1. Epifytická společenstva	19
3. Taxonomie sinic	20
3.1. Historie taxonomie sinic	21
3.1.1. Tradiční přístup („Geitlerův systém“)	21
3.1.2. Ekotypový přístup („Drouetův systém“)	21
3.1.3. Bakteriologický přístup („Stanierův systém“)	22
3.1.4. Současný „polyfázní“ přístup	22
3.2. Nomenklatura	23
3.3. Klasifikace sinic na vyšších taxonomických úrovních	25
3.4. Koncept rodu	26
3.5. Koncept druhu	27
METODY	29
1. Sběr vzorků	29
1.1. Odběr vzorků epipelonu	29
1.2. Odběr vzorků epifytonu	29

2. Zpracování vzorků v laboratoři	29
2.1. Zpracování vzorků epipelonu	29
2.2. Zpracování vzorků epifytonu	30
2.3. Izolace kmenů	30
2.4. Determinace a dokumentace	31
POPIS LOKALIT	31
CÍLE PRÁCE	36
VÝSLEDKY	37
1. Vybrané neizolované druhy	37
1.1. Morfologické hodnocení	37
2. Izolované druhy	38
2.1. Morfologické hodnocení	38
DISKUZE	43
ZÁVĚR	46
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
PŘÍLOHY	53

ÚVOD

1. Obecná charakteristika sinic

Cyanobacteria (syn. Cyanophyta, Cyanoprokaryota) neboli sinice jsou prokaryotní autotrofní organismy s fotosyntézou rostlinného typu, provázenou produkcí kyslíku. Jejich stélky jsou jednobuněčné nebo vláknité, v obou případech mohou žít jednotlivě nebo tvořit kolonie.

Na rozdíl od eukaryotních buněk nemají sinice buněčné jádro ani buněčné organely, tj. chybějí chloroplasty, mitochondrie, diktyozomy (Golgiho tělíska). Sinice nemají mikrotubuly, cytoskelet ani žádný druh bičků. Protoplasma obsahuje kruhovou molekulu DNA a další její možné kopie, ribozomy a další buněčné struktury. Sinice patří mezi gramnegativní bakterie, což znamená, že jejich buňky mají pevnou buněčnou stěnu, která svým složením znemožňuje barvení protoplastu podle K. Gramma. Buněčná stěna je vícevrstevná. Vnější buněčný obal tvoří slizová vrstva (pochva), složená z lipopolysacharidů. Pevná složka buněčné stěny je tvořena peptidoglykanem, hlavně mureinem. V živé buňce sinice můžeme rozlišit výrazně zbarvenou chromoplazmu, kde převažují fotosyntetické membrány (tylakoidy) a ve středové oblasti světleji zbarvenou centroplazmu, kde převládá cytoplazma, DNA, ribozomy a další struktury. Ribozomy sinic jsou menší než u eukaryotních buněk, jejich malá podjednotka obsahuje 16S RNA a velká podjednotka 23S RNA.

Hlavní strukturou fotosyntetického aparátu jsou tylakoidy, které obsahují fotosyntetické pigmenty – chlorofyl *a*, který je u sinic hlavním fotosyntetickým pigmentem, nebo chlorofyly *a+b*, *a+c*, *a+d*. Dále byla u sinic zjištěna barviva: β -karoten, zeaxantin, echinenon, kantaxantin a myxoxantofyl (Kalina & Váňa 2005). Tylakoidy jsou významné také z hlediska taxonomie. Například u řádu Oscillatoriales odpovídá uspořádání tylakoidů obecnému klastrování a následně taxonomické pozici sinic v této skupině. Byly objeveny tři základní typy uspořádání tylakoidů: 1) parietální „nástěnné“ uspořádání charakteristické pro čeledi Pseudanabaenaceae a Schizotrichaceae; 2) radiální „paprsčité“ uspořádání čeledi Borziaceae a Phormidiaceae; 3) a nepravidelné uspořádání čeledi Gomontiellaceae a Oscillatoriaceae (Komárek & Anagnostidis 2005). Povrch tylakoidů kryjí fykobilizomy obsahující fotosyntetické bílkovinné pigmenty – fykobiliproteiny, které umožňují sinicím využít světlo různých vlnových délek i při velmi nízké intenzitě. Jsou to především modrý allofykocyanin, červený fykoerytrin a modrý fykocyanin (Kalina & Váňa 2005), které dávají stélkám sinic jejich typickou modrozelenou nebo sinou barvu (Fott 1966). Pro sinice je

charakteristická rychlá reakce na změnu spektrálního složení světla, popsána jako chromatická adaptace. Zpravidla se jedná o změnu počtu fykocyaninových a fykoerytrinových podjednotek. Allofykocyaninové podjednotky se nemění (Six et al. 2007).

U většiny sinic je hlavní zásobní látkou sinicový škrob. Cyanofycinová zrnka představují dusíkatou zásobní látku tvořenou aminokyselinami argininem a asparaginem. Dále také nalezneme polyfosfátové granule (volutin), které obsahují kondenzované ortofosforečnany. Volutin se v buňkách hromadí v době přebytku fosforečnanů v prostředí a využívá se v období nedostatku. Takto jsou sinice schopné překonávat kritické období vyčerpání fosforečných živin (Kalina & Váňa 2005).

1.1. Specializované struktury

Plynové měchýřky (aerotopy), (Kalina & Váňa 2005) – vyskytují se zpravidla u planktonních sinic (*Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*) a snižují jejich specifickou hmotnost do té míry, že se tyto sinice vznášejí při hladině v podobě vodního květu. Jeví se jako tmavá, světlolomná tělíška nepravidelného tvaru, která vytvářejí membránu, s jejíž pomocí uzavírají plyn (Fott 1966). Aerotopy jsou jedinou známou plynem naplněnou strukturou v živých buňkách (Kalina & Váňa 2005). Charakteristický tvar, velikost a umístění aerotopů (centrální, polární, rozptýlené, nepravidelné, atd.) může být také dodatečným mezidruhovým znakem. Například aerotopy *Trichodesmium thiebautii* mají menší průměr než u jiných sinic. Na druhou stranu, aerotopy těchto druhů jsou rozmístěny po celé buňce, nejen okrajově jako u *T. thiebautii* (Gantt et al. 1984).

Heterocyty (heterocysty), (Kalina & Váňa 2005) – vznikají z vegetativních buněk, od nichž se liší nedostatkem asimilačních pigmentů (jsou světlejší), nepřítomností aerotopů, a zásobních látek (Fott 1966, Kalina & Váňa 2005). Tyto specializované buňky se vytvoří v průběhu asi 24 hodin jako reakce na nízký obsah dusíkatých látek v prostředí. Slouží tedy sinicím k fixaci vzdušného dusíku na amonné sloučeniny. Proces probíhá pomocí enzymu nitrogenázy bez přístupu vzduchu. Vývoj heterocytů startuje autoregulační gen *hetR*.

Akinety (arthrocyty), (Kalina & Váňa 2005) – jsou spory zajišťující přežití nepříznivých podmínek (sucho, zima). Vznikají z buněk vegetativních, jsou obvykle větší, tlustostěnné a naplněné zásobními látkami. Po překonání nepříznivého období klíčí nové vlákno z akinety v podobě hormogonie (Fott 1966). Úlohu akinet ve vývoji populací sinic studoval Baker (1999). Některé akinety mohou klíčit ihned (např. *Anabaena*, *Aphanizomenon*,

Gleotrichia) zatímco jiné klíčí až v následujících letech. Samotné klíčení může být ovlivněno například koncentrací fosfátu (Hašler et al. 2004).

1.2. Rozmnožování

Sinice se rozmnožují nepohlavním způsobem – prostým dělením buněk pomocí příčné přehrádky. Dělení může probíhat pomocí endospor – mateřská buňka se zvětší a dělí se v oblaněné spory, exospor – buňka roste jedním směrem a po protržení vnější membrány se na vrcholu oddělí malé oblaněné buňky (exospory), nebo pomocí hormogonií u sinic s vláknitou stavbou. Hormogonie jsou krátká, pohyblivá vlákna oddělující se od mateřského vlákna pomocí nekrotické buňky, která postupně dorůstají v nová (Fott 1966).

1.3. Ekologie a adaptabilita sinic

Sinice jsou pravděpodobně nejstarší organismy s oxyfototrofním (rostlinným) metabolismem. Avšak, jejich buněčná struktura a typ nepohlavního rozmnožování dokazuje jejich eubakteriální původ. Navzdory jejich dlouhé existenci již od Prekambria, neztratili svoji vitalitu a jsou stále schopné kolonizovat všechny možné biotopy, zahrnující i velmi extrémní prostředí (termální prameny do 80 °C, skály v extrémně horkých nebo chladných pouštích v obou tropických pásmech a Antarktidě, hypersalinní jezera a bažiny, biotopy ve vulkanických oblastech, a další nelítostné habitaty.) Jejich variabilita a diverzita je pravděpodobně spojena s jejich adaptivními vlastnostmi (Komárek 1998).

1.3.1. Termální sinice, salinita a hodnoty pH

Sinice mají schopnost přežít v podmínkách, které jsou často pro eukaryotní organismy nemyslitelné. Jedná se především o oblasti s vulkanickou aktivitou, kde kromě vysoké teploty vody působí vysoká koncentrace rozpuštěných solí a extrémní hodnoty pH. Klasickou lokalitou, kde byl v 19. století popsán první termální druh, *Mastigocladus laminosus*, jsou Karlovy Vary (Kalina & Váňa 2005). Další klasickou lokalitou je Yellowstone národní park v USA, kde probíhá výzkum termálních bakterií a sinic po dlouhá léta (Miller et al. 2006). V přírodě jsou časté lokality s nízkým pH, které může dosahovat hodnoty 0,05. Většinou se opět jedná o vulkanické oblasti a prostředí s vysokou koncentrací kyseliny sírové. Největší druhové pestrosti dosahují sinice při hodnotě pH 4-6 a vyšší. V příliš kyselém prostředí nerostou. Alkalické vody jsou v přírodě vzácnější. Sinice rodu *Leptolyngbya* roste při pH 13,5, což je asi nejvyšší hodnota, při které je život ještě možný (Kalina & Váňa 2005). Sinice dominují také v biotopech s vysokou teplotou a vysokou

koncentrací solí. Jsou to slaná jezera (Castenholz 1960), solární zátoky Mrtvého moře a hypersalinní sirné prameny. Často v nich roste vláknitý druh *Microcoleus chthonoplastes*, který snáší koncentraci 60-130 ‰ (D'Amelio 1987). Osmoregulaci v podmínkách vysoké salinity zajišťují sinice produkcí osmoticky aktivních látek (Kalina & Váňa 2005).

1.3.2. Aerofytické a půdní sinice

V terestrických podmínkách se můžeme setkat se sinicemi na kamenitém substrátu (aerofytická společenstva), zejména se jedná o vlhké skály, jeskyně, zdi chrámů, sochy a kašny. Nárosty na skalách tvoří barevné povlaky od modrozelené, hnědé až po černou, které jsou nejčastěji tvořeny sinicemi *Gloeocapsa*, *Scytonema*, *Stigonema*. Na kyselějších podkladech roste sinice rodu *Stigonema*, alkalické substráty jsou porostlé rodem *Aphanocapsa*. Sinice se vyskytují také v půdě, kde převažují kosmopolitně rozšířené rody: *Phormidium*, *Microcoleus*, *Nostoc*. V tropech jsou více zastoupeny sinice rodu *Schizothrix*, *Scytonema* a *Hapalosiphon* (Pouličková 2011). Sinice často dominují také v chladném polárním prostředí, kde nemají konkurenci jiných fotoautotrofů. Rostou mezi krystaly ledu na ledovém štítu Grónska, v tundře a v polárních půdách jsou hlavním zdrojem dusíku a uhlíku v letních měsících (Kalina & Váňa 2005). V antarktidě a také v pouštích vytvářejí společně s řasami povrchové krusty. V krustách dominují sinice odolné proti vysychání, které jsou schopny využít k růstu krátkou periodu vlhka mezi dlouhými obdobími sucha. Půdní krusty, které byly 4 roky suché, se stanou po dešti aktivními během 24 hodin. Některé sinice byly oživeny z herbářových položek po 70 letech. Nejčastějšími druhy jsou *Nostoc muscorum*, *Schizothrix calcicola*, *Microcoleus vaginatus* (Pouličková 2011).

1.3.3. Nadprodukce sinic

Tvorba vodního květu neboli nadprodukce sinic (Pouličková 2011), je výsledkem přemnožení určité skupiny sinic ve vodách s nadbytkem dusíkatých a fosforečnanových živin (Kalina & Váňa 2005). Projevuje se shromažďováním biomasy sinic na povrchu eutrofních vod. V mírném pásu jsou vodní květy obvyklé v létě, v tropech to může být permanentní stav (*Arthrospira* dříve *Spirulina*, jezero Čad), (Pouličková 2011). Společenstvo vodního květu tvoří hlavně planktonní druhy rodu *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* aj (Kalina & Váňa 2005). Výskyt vodního květu je regulován řadou faktorů. Sinice se obvykle rozvíjí při teplotě nad 20 °C a nízkém poměru N:P. Jsou náročnější na fosfor, protože dusík mohou fixovat ze vzduchu. Sinicové vodní květy jsou nebezpečné svými toxiny – hepatotoxiny, neurotoxiny, embryotoxiny (Pouličková 2011), a jejich odstranění je velmi

obtížné vzhledem ke schopnosti sinic adaptovat se na změněné podmínky. Ani infekce cyanofágem nepřinesla žádoucí efekt (Kalina & Váňa 2005). První izolace viru sinic (cyanofága) byla provedena roku 1963 a návrh jeho potenciálního využití pro biokontrolu sinic byl navržen ještě před tím, než byly tyto viry objeveny. Cyanofág byl nazván LPP-1 protože lyzoval sinice rodu *Lyngbya*, *Plectonema* a *Phormidium* (Sigeo et al. 1999).

1.3.4. Vztahy s jinými organismy

Ze všech fotoautotrofních mikroorganismů jsou sinice nejčastější složkou symbiotických interakcí. Ve vnitrobuněčných nebo jiných symbiózách poskytují sinice svému hostiteli především dusíkaté živiny, pomáhají také s fixací oxidu uhličitého (Kalina & Váňa 2005). Specifickým prostředím jsou stélky mechorostů v mokřadech a rašeliništích. Epibryon tvoří sinice *Aphanocapsa*, *Aphanotheceae*, *Lyngbya* a *Oscillatoria*. Endofyton roste mezi buňkami jiných rostlin nebo v dutinách uvnitř rostlin (Pouličková 2011). Vodní kapradina *Azolla* obsahuje ve svých pletivech sinici (Kalina & Váňa 2005) *Trichormus* (Pouličková 2011). U cykasů žije symbiotický *Nostoc* v kořenech a u rodu *Gunnera* v žlaznatém pletivu na řapících listů (Kalina & Váňa 2005). K endosymbiontům patří také cyanely (Pouličková 2011), primitivní plastidy s mureinovou stěnou a redukovaným genomem. Cyanely obsahuje kořenonožec *Paulinella chromatophora* a řasy skupiny Glaucophyta (Kalina & Váňa 2005). Několik studií se zabývá myšlenkou, zdali jsou cyanely endosymbiotické sinice nebo fotosyntetické organely. Studie (Nakayama & Ishida 2009) tvrdí, že cyanely jsou skutečně fotosyntetické organely, které ztratily většinu svého genomu, resp. došlo k přesunu genů do jádra „hostitele“. Toto bylo prokázáno objevením fotosyntetických genů v jádře „hostitele“. Sinice mohou také vykazovat vztahy s některými obratlovci. Např. bylo zjištěno, že koljuška tříostná (*Gasterosteus aculeatus*) používá toxické sinice jako úkryt a chemickou obranu proti predátorům (Engström-Öst et al. 2006).

1.3.5. Sinice jako zdroj potravy

Sinice jsou napadány mnoha mikroorganismy, jako jsou bakterie, viry, prvoci, Actinomycetes a Chytridiomycetes. Jedním z predátorů je améba *Acanthamoeba castellanii*, která požírá sinice za optimálních podmínek nenasytně a encystuje se v případě, že je cyanobakteriální potrava vyčerpána. *Acanthamoeba* například může napadat a pohlcovat celé jednobuněčné sinice *Gloeocapsa alpicola*, vláknité *Anabaena flos-aquae* po částech a následně je stráví ve vakuolách. Obecně jednobuněčné sinice jsou náchylnější k predaci než vláknité s výjimkou *A. flos-aquae*. Například vláknitá a větvená *Tolypothrix tenuis*

a pohyblivá *Oscillatoria tenuis* nejsou amébami pohlcovány a také heterocyty a akinety odolávají strávení (Wright et al. 1981). Dále byly objeveny gramnegativní bakterie schopné tvořit kolonie, které lyzují buňky sinic pomocí enzymů podobných lysozymu a čerpají z nich živiny. Obzvláště efektivní je *Myxococcus fulvus* kmen BGO2, který významně redukuje hustotu populace sinice rodu *Phormidium luridum* v laboratorních podmínkách. Zda by myxobakterie mohly být použity jako prostředky pro biokontrolu vodního květu, je předmětem diskuzí. Aby byla predace sinic myxobakteriemi účinná (lýze dostatečná), je třeba určité prahové hustoty populace myxobakterií. V přírodě však této hustoty myxobakterie nedosahují, což může být způsobeno nedostatkem anorganických látek ve vodním prostředí (Fraleigh & Burnham 1988). Bakteriální predátoři používají dva hlavní mechanismy k zabití kořisti. První mechanismus používá *Bdellovibrio* sp. a *Daptobacter* sp., kteří proniknou do buněčné stěny kořisti a množí se v periplasmě nebo cytoplasmě a ničí tak buňky zevnitř. Ostatní predátoři jsou extracelulární, zabíjejí svou kořist pomocí chemických látek nebo enzymů. Tento mechanismus používají Myxobacteria, *Cytophaga* sp., *Herpetosiphon* sp., *Ensifer* sp., *Vampirococcus* sp., *Vampirovibrio* sp. a *Cupriavidus* sp. (Rashidan & Bird 2001). Zásadní vliv na redukci populace fytoplanktonu mají také prvoci. Sinice poskytují vhodný zdroj potravy především pro několik prvoků jako je: obrvená *Nassula tumida*, bičíkovec *Ochromonas* sp. a améba *Nuclearia delicatula*. *N. delicatula* požívá sinice *Oscillatoria* sp. a *Anabaena* sp., ale ne *Microcystis aeruginosa*, což může být způsobeno její toxicitou (Sigeo et al. 1999). Dalším predátorem sinic je perloočka *Daphnia* sp., která požívá koloniální formy sinic (Christoffersen et al. 1993), ale přítomnost toxických sinic je stresový faktor, který nepříznivě ovlivňuje přežití, růst a reprodukci *Daphnia* sp. Např. v přítomnosti sinice *Microcystis* sp. vykazuje *Daphnia* sp. vyšší mortalitu (Walls et al. 1997). Studie provedená na buchankách (Copepoda) ukázala, že po požití toxických sinic vykazují nízkou produkci vajíček a nižší úspěšnost při líhnutí. Naopak rezistence k toxinům byla již dříve prokázána u perloočky *Bosmina longirostris* a *Moina macrocopa* a vířníka *Brachionus calyciflorus*. Koryš *Mysis mixta* požívá jak toxické tak netoxické sinice, dává však přednost netoxickým. Studie nezaznamenaly vliv toxických sinic na jeho mortalitu, což naznačuje, že by *Mysis mixta* mohl být tolerantní vůči toxinům sinic (Engström et al. 2001).

2. Charakteristika a klasifikace perifytonu

Perifyton je společenstvo organismů (zahrnuje producenty, konzumenty i destruenty), (Pouličková 2011), autotrofních i heterotrofních (Pouličková et al. 2008), které žijí na předmětech nebo substrátech ponořených ve vodě. Substráty mohou být organické nebo anorganické, živé i neživé (Wetzel 1983).

Perifyton můžeme klasifikovat podle růstových forem na haptobentos – organismy přichycené k povrchu nebo žijící uvnitř pevného podkladu; a herpobentos – organismy migrující vertikálně v sedimentu nebo žijící na jeho povrchu. Haptobentos dělíme dále podle substrátu na epiliton a endoliton – organismy žijící na povrchu nebo uvnitř kamenů (např. endolitická sinice rodu *Gloeocapsa*); epifyton, epixylon a endofyton – organismy žijící na povrchu vodních rostlin, dřeva nebo uvnitř rostlin (zástupce endofytonu, sinice rodu *Nostoc*) a epipsamon – organismy žijící na povrchu zrnek písku. Herpobentos dělíme na epipelon a endopelon – organismy žijící na povrchu nebo uvnitř jemných sedimentů dna a endopsamon – organismy žijící na povrchu nebo uvnitř písčitých sedimentů (např. sinice rodu *Chroococcus* nebo *Phormidium*), (Pouličková 2011). Některé organismy žijí v rámci bentosu a vodního sloupce. Migrují mezi oběma typy prostředí v závislosti na řadě faktorů, zahrnující životní cyklus a citlivost k promíchávání. Tyto organismy mohou být klasifikovány jako meroplankton, tychoplankton nebo metaphyton. Meroplanktonická migrace je řízena preferenční pozicí organismů, např. denní (diurnální) migrace a vyhýbání se spásání (Pouličková et al. 2008). Meroplanktonní druhy jako např. *Microcystis* tráví část života v sedimentu (Pouličková 2011). Tychoplanktonní distribuce je náhodná, tj. vedená narušujícími vlivy (Pouličková et al. 2008), např. turbulencemi, v jejichž důsledku jsou nepohyblivé druhy tychoplanktonu časté jak v bentosu tak volné vodě, např. rod *Komvophoron* (Pouličková 2011). Metafytonní distribuce je silně spojená s okyselením (acidifikace), které může ovlivnit strukturu společenstva řas potlačením vláknitých sinic a upřednostněním zelených řas (Pouličková et al. 2008). Metafyton je závislý na litorálu, jsou to vláknité nebo koloniální řasy bez adaptací na přichycení (Pouličková 2011).

Perifyton, typický pro mělké vody jezer a potoků (Bellinger & Sigeo 2010), může být využit vzhledem k přisedlému způsobu života perifytických organismů k popisu stavu kvality vody a jako indikátor jejích změn (Lakatos 1991).

2.1. Charakteristika epipelonu

Studiem ekologie epipelických sinic a řas, které žijí v asociaci s jemnozrnnými substráty v rámci sladkovodních stanovišť, se jako první zabýval Round (1953), (Hašler & Poulíčková 2010).

Na rozdíl od mořských organismů, sladkovodní epipelon žije v relativně malých, uzavřených biotopech (jezera nebo rybníky obklopené terestrickými ekosystémy). To má za následek řadu adaptací ve vývoji, které mu slouží k usnadnění rozšíření (např. větrem nebo živočišným přemístěním) a umožňuje rozmnožování a přežití v nepříznivých a extrémních podmínkách. Pohyblivost se zdá být běžným znakem autochtonních epipelických sinic a řas, umožňující jim migraci svisle v sedimentu. Sliz, důležitý pro pohyblivost a ochranu, je vylučován v jejich vegetativní (Cyanophyta) a reprodukční (Euglenophyta, Bacillariophyceae) fázi. Ačkoliv terminologie odděluje epipelické sinice a řasy do epi- a endopelonu, je jasné, že takové hranice nemohou existovat v přirozených biotopech. Navíc, současné vzorkovací metody jsou nedostatečné pro přesné oddělení epipelických a endopelických organismů v prostředí bahnitého organického sedimentu, a to je dále komplikováno skutečností, že sediment je často složen ze směsi písčitých, kamenných a hlinitých částic. Nakonec, proměnlivé míchání povrchových sedimentů (např. pomocí větru nebo biologicky indukovaného míchání) má za následek velmi heterogenní rozdělení řas (jak vertikálně tak horizontálně) v rámci povrchových sedimentů (Poulíčková et al. 2008).

Epipelické sinice a řasy vykovávají řadu ekosystémových funkcí. Podílejí se na biostabilizaci sedimentů, regulaci benticko-pelagického koloběhu živin (přes rozhraní sediment-voda) a primární produkci (Hašler et al. 2008). Faktory regulující složení a biomasu epipelického společenstva jsou např. reprodukční strategie, narušení stanoviště, predanční tlak, omezené zdroje, odolnost, symbióza a parazitismus. Ekologické dopady parazitismu a spásání jsou podobné v tom, že mění početnost a skladbu populací řas. Přestože viry a bakterie mohou infikovat řasy, houby a houbám podobné organismy (Oomycetes, Chromista), se zdají být nejvíce úspěšnými parazity jednobuněčných epipelických řas. Spásání epipelonu může záviset na rozměrech buněk. To je výsledkem dvou obecných jevů: 1) menší řasy rostou rychleji než větší a 2) zooplankton přednostně spásá menší než větší řasy. Spásání epipelonu organismy v rámci vyšší trofické úrovně může být pozorováno např. při využívání epipelických řas pulci. Hillebrand (2005) provedla průzkum dostupné literatury ve snaze objasnit úlohu spásání v utváření perifytonu a pozorovala interakci mezi světlem a predančním tlakem, kde více (častěji) spásané řasy, neboli řasy s vyšší mírou spásání dávali přednost vysokým světelným

podmínkám. Složení společenstva bylo ovlivněno kompromisem mezi adaptacemi asimilovat sluneční záření a vyhnout se požití přirozenými predátory (grazers), (Pouličková et al. 2008).

2.1.1. Vertikální distribuce a migrace

Jen málo studií posuzuje fotosyntetickou výkonnost epipelonu, která se mění s hloubkou ve sladkovodních sedimentech. Jednou z výjimek je fotosyntetická ozářenost měřená (v mikroměřítku) spolu se stanovením světelného klimatu. Existují početné zprávy o životaschopných buňkách mikroskopických řas ve větších hloubkách pod povrchem sedimentu (pozorovány až několik desítek centimetrů v afotických sedimentech) v mnoha různých biotopech (Hašler et al. 2004). Podobně, zvýšená koncentrace chlorofylu *a* je často pozorována v hloubkách větších, než je horních pár milimetrů. To je způsobeno především distribučními procesy jiných než fototakticky pohybujících se buněk, působící přemístění epipelonu v sedimentu a s největší pravděpodobností je to výsledek promíchávání sedimentu a mechanismů usazování. Životaschopné epipelické buňky byly také nalezeny v podzemních vodách pod aktivními toky kam pronikly infiltrací (Pouličková et al. 2008).

Migrace epipelonu v povrchových sedimentech je dynamický proces, a obecně se myslí, že je řízen požadavky na výživu a světlo, a často zahrnuje rozmístění řas po prudkém poklesu rozpuštěných rostlinných živin a kyslíku. Tato migrace byla pozorována s následnými cirkadiánními nebo denními rytmy, kde řasy migrují vertikálně přes povrchové sedimenty a v noci se vracejí k povrchu sedimentu kvůli fotosyntéze za denního světla. Výsledky některých laboratorních experimentů s epipelonem navrhují endogenní rytmy, jako vertikálně-migrační rytmy ke kterým dochází také za stálého osvětlení a stálé tmy. Vertikální migrace je spojena, jak s pozitivní (tj. zajištění vyšších světelných podmínek) tak s negativní (tj. vyhnout se vysokému ozáření a následné fotoinhibici) fototaktickou strategií. Kolísání mezi pohybovými strategiemi pravděpodobně poskytuje specifickou selekční výhodu, pokud jde o prostorovou polohu v rámci rozhraní sediment-voda a pravděpodobně také přispívá k větší diverzitě společenstev sinic a řas pozorovaných v mělkých sedimentech (Pouličková et al. 2008).

Rozšíření jednotlivých druhů epipelonu je pravděpodobně ovlivněno mnoha enviromentálními faktory jako je teplota, světelné záření, koncentrace kyslíku, pH, struktura sedimentu a chemické složení. Autochtonní sestava epipelonu typicky zahrnuje 20 - 80 % vláknitých motilních sinic, během některých ročních období, obzvláště rod *Komvophoron*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Geitlerinema* a *Pseudanabaena* (Hašler et al. 2012).

2.2. Charakteristika epifytonu

Epifytické řasy a sinice jsou běžné v mnoha mělkých řekách a stojatých vodách připojené k rostlinným povrchům (Bellinger & Sigeo 2010). Sinice mohou růst epifyticky na ponořených listech, stoncích a kořenech plovoucích makrofyt (Mohamed & Al Shehri 2010), (vyšších rostlin) nebo na jiných řasách (Bellinger & Sigeo 2010).

Několik druhů sinic roste epifyticky na mechu, kůře stromů, ponořených kořenech a stoncích rýže v zaplavených polích, na spodní straně listu *Lemna* sp., na kmenech, větvích a listech mangrovů (Aguiar et al. 2008), např. na ponořeném kořenovém systému *Rhizophora* sp. jsou běžné epifytické sinice rodu *Lyngbya*, *Polysiphonia* a *Oscillatoria* (Seckbach 2007). Epifytické sinice mohou růst také na vnějším povrchu lišejníků, pro které jsou přidavným zdrojem živin (Seckbach & Oren 2010). Tato spojení jsou také vzájemně prospěšná v tom, že sinice poskytují fixovaný dusík hostiteli, zatímco hostitel slouží jako upevňovací substrát (podklad) pro sinici (Aguiar et al. 2008).

2.2.1. Epifytická společenstva

Přichycení k jiným řasám jako je *Cladophora* sp., se obzvláště uplatňuje v částech jezer a řek, kde makrofyta chybí. Omezená plocha *Cladophora* sp. nepodporuje hustá společenstva perifytonu, ale ponořené povrchy vyšších rostlin (makrofyt) ano. Například ponořené stonky *Phragmites* sp. mají rozsáhlé společenstvo připojených sinic (*Phormidium* sp.), *Poa* sp. (*Gomphonema* sp.) a přisedlé (*Rhoicosphenia* sp.) rozsivky (Bellinger & Sigeo 2010). Většina makrofyt nese perifyton, ale některá více než jiná. Sítina (*Juncus* sp.) většinou neporůstá perifytonem, výjimkou jsou jen starší stonky. Rákos (*Phragmites* sp.) a orobinec (*Typha* sp.) jsou porostlé vždy, starší stonky častěji než mladší (Wetzel 1983). *Elodea canadensis* je primárně kolonizován přisedlými bakteriemi, několika roztroušenými rozsivkami a až poté epifytickými řasami a sinicemi. Zatímco porost sinic zůstává stabilní, relativní podíl zelených řas a rozsivek se stářím rostliny vzrůstá (Paterson & Wright 1986). Ekologický vliv epifytických řas byl zkoumán zejména u mořských trav v brakickém a mořském prostředí. Studie podle Kitting et al. (1984), například ukázaly, že epifytické řasy jsou primárním základem potravního řetězce v Mexickém zálivu, řasy s vyšší produktivitou než trávy byly přednostně spásány bezobratlými herbivory (Bellinger & Sigeo 2010). Přestože jsou důležité ve vodním ekosystému, mohou epifytické sinice ovlivňovat růst vodních rostlin prostřednictvím toxinů. Navíc, produkce toxinů epifytickými sinicemi ovlivňuje nejen vodní rostliny, ale může představovat riziko pro všechny úrovně vodních potravních řetězců.

Současné studie zkoumají hepatotoxin microcystin (MCYST) potencionálně produkovaný epifytickými sinicemi na ponořených makrofytech ve sladkovodních jezerech a rybnících jako přínos k poznání toxických epifytických sinic (Mohamed & Al Shehri 2010). Různí autoři analyzovali epifytické populace také ve vztahu ke kvalitě vody. Tyto sinice a řasy jsou užitečné zejména v souvislosti se sledováním lokálního stavu vody, např. lokální nahromadění toxických těžkých kovů (Bellinger & Sigeo 2010). Některé sinice mohou být užitečné také pro farmaceutický průmysl. Debromoaplysiatoxin extrahovaný z *Lyngbya* sp. vykazuje účinek proti leukémii, sulfolipidy získané z *Oscillatoria* sp. vykazují antivirovou aktivitu na virus AIDS a extrakt z *Phormidium* sp. působí proti hepatitidě typu B (Nagarkar 2001).

Ve velkých jezerech, pohyb vody omezuje růst epifytonu. Konkurence mezi ponořenými makrofyty a epifytonem o světlo (Asaeda et al. 2004), CO₂ a živiny je nejvyšší na chráněných (krytých) místech, zatímco pohyb vody limituje růst epifytonu mechanicky na nechráněných místech (Laugaste & Lessok 2004). Při konkurenci mezi makrofyty a epifytonem se může také uplatňovat alelopatie. *Elodea canadensis* inhibuje růst epifytonu a fytoplanktonu pomocí alelopatických látek vylučovaných do okolního prostředí. Pro zakořeněné ponořené makrofyty, ikdyž obecně přizpůsobené zhoršeným světelným podmínkám, může být alelopatie efektivní strategií, proti zastínění epifytonem nebo fytoplanktonem. Několik studií ukazuje, že sinice jsou zvláště citlivé na alelopatické látky, jejichž vliv by mohl snížit hojnost některých druhů, obzvláště v epifytických biofilmech (Erhard & Gross 2006).

Mezi další rody epifytických sinic patří *Chroococcus*, *Leptolyngbya*, *Calothrix*, *Leibleinia*, *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Spirulina* (Kumar et al. 2011).

3. Taxonomie sinic

Taxonomická klasifikace je metoda, která slouží k rozpoznávání a registraci světové diverzity organismů v kontextu kontinuálních změn znalostí o evolučních (genetických) a ekologických vztazích a fenotypových rozdílech (Komárek 2010a). Pojmenování taxonů je stále jediným způsobem jak uspořádat systém, žádná jiná dostupná metoda není zatím praktičtější pro determinaci a porovnávání taxonů jak v terénu, tak v experimentálním výzkumu. Klasifikace musí být však průběžně měněna a upravována podle aktuálně dostupných dat (Hoffmann et al. 2005).

3.1. Historie taxonomie sinic

Sinice patří mezi několik málo fotoautotrofních skupin, pro které Mezinárodní kód botanické nomenklatury určil výchozí publikace. Jsou to monografie Borneta a Flahaulta (1886) a Gomonta (1892). Jména sinic v nich uvedená mají prioritu a musí být respektována všemi pozdějšími autory. Možnost stanovit výchozí publikace svědčí o tom, že sinice byly před více než sto lety dobře definovanou skupinou (Kalina & Váňa 2005). Tradiční klasifikační systém sinic založený na těchto monografiích později upravili a shrnuli autoři: Geitler (1932), Elenkin (1936-1949), Hollerbach et al. (1953), Desikachary (1959), Starmach (1966), Burrell (1970) a Kondrateva (1975) podle tehdy dostupných informací (Anagnostidis & Komárek 1985).

3.1.1. Tradiční přístup („Geitlerův systém“)

Tradiční systém sinic je založen hlavně na morfologických a buněčných, méně pak na ekofyziologických znacích (Anagnostidis & Komárek 1985). Komplexní klasifikaci založenou na morfologických znacích sinic jako první vytvořil Geitler (1932). Rozlišoval 1300 druhů, 145 rodů, 20 čeledí a 3 řády (Nagarkar 2001). Jeho publikace se staly základem pro studium a determinaci sinic v celém světě. Geitler považoval sinice za primitivní rostliny (Kalina & Váňa 2005).

3.1.2. Ekotypový přístup („Drouetův systém“)

Další klasifikační systém založený na morfologických znacích a pracích Drouet & Daily (1956) a Drouet (1968, 1973, 1978, 1981). Drouet vytvořil svůj systém na základě morfologických znaků z herbářových druhů. Drouetova základní myšlenka říkala, že každá sinice má jeden genotyp a mnoho fenotypů nebo ekotypů (ekologických růstových forem). Podle Droueta, pokud jsou všechny fenotypy nebo ekotypy podmíněny stejnými ekologickými podmínkami, tak spadají do jednoho fenotypu. Na tomto základě provedl Drouet radikální redukci přes 2000 druhů pojmenovaných podle „Geitlerova systému“ do pouhých 62 druhů (Anagnostidis & Komárek 1985, Nagarkar 2001). Vzhledem k nomenklatorické jednoduchosti Drouetova řešení, měl jeho systém velkou popularitu obzvláště mezi experimentálními pracovníky v USA, ale nikdy nebyl v běžné míře přijat algology. Existence geneticky stálých druhů s úzkou genetickou variací byla dokázána později experimentálně a bylo objeveno, že Drouetova interpretace neodpovídá diverzitě sinic

v přírodě nebo v kulturách. Proto tento klasifikační systém nemohl být přijat (Anagnostidis & Komárek 1985).

3.1.3. Bakteriologický přístup („Stanierův systém“)

Zásadní práci o sinicích jako o fotosyntetických bakteriích publikovali roku 1962 Stanier a van den Niel (Kalina & Váňa 2005). Buněčná struktura sinic vykazuje jak bakteriální tak rostlinné znaky. Nejdůležitější „bakteriální“ znaky jsou absence jádra a plastidů a struktura buněčné stěny. Hlavní „rostlinné“ znaky jsou přítomnost chlorofylu *a*, struktura tylakoidů a jejich funkce jako primárních producentů v přírodě. Stanier et al. (1971, 1978), Rippka et al. (1979), Rippka & Cohen-Bazire (1983) a další použili kmen jako základní jednotku taxonomie sinic stejně tak jako se používá v bakteriologické praxi a doporučili přijetí bakteriologického Kódu nomenklatury pro sinice. Jejich systém byl založen výhradně na vyhodnocování několika morfologických, fyziologických, cytologických a biochemických znaků axenických (bez přítomnosti dalších forem života) kmenů. Tento návrh se stal brzy populární mezi experimentálními vědci. Nějakou dobu následovaly diskuze o rostlinné nebo bakteriální povaze sinic. Kultury sinic jsou velmi užitečné pro taxonomii jako doplňkový zdroj informace a jako způsob jak získat dobře definovaný a homogenní materiál pro řešení zvláštních problémů. Avšak mohou být jen stěží základem pro typizaci taxonu. Data uvedená v algologických a bakteriologických dokumentech a způsob práce (s přirozenými populacemi i čistými kulturami) tedy nejsou rozporuplné, ale doplňující (Anagnostidis & Komárek 1985).

3.1.4. Současný „polyfázní“ přístup

Před morfologickými znaky, na kterých je založena klasifikace sinic v tradičním „botanickém“ stejně tak jako v „bakteriologickém“ systému, může být použita rekonstrukce fylogeneze, která má objasnit, které morfologické znaky jsou homologní. Zřetelně odlišné struktury mohou mít společný původ, ale také podobné struktury mohou mít původ odlišný. Obecná morfologie nemusí nutně znamenat společný původ. V průběhu posledních tří desetiletí, molekulární techniky zavedly nové přístupy k fylogenezi a taxonomii sinic, které poprvé umožnily testování fylogenetických hypotéz (Hoffmann et al. 2005). Willmotte (1994) shrnula dosavadní poznatky o molekulární evoluci a taxonomii sinic a navrhla použít sekvenování intronového úseku rRNA lokalizovaného mezi 16S a 23S RNA (Kalina & Váňa 2005). Současný a také nejprogresivnější systém využívá tzv. „polyfázní“ přístup, který kombinuje morfologické, molekulární, ultrastrukturální, ekofyziologické a biochemické

znaky (Sciuto et al. 2012). Molekulární (fylogenetická) data, sekvenování nukleových kyselin kmenů jsou bezpochyby základem současné taxonomie sinic, ale správný fylogenetický systém nemůže být postaven bez kombinace genetických dat s poznatky („klasického“ systému) z předchozích 150 let výzkumu diverzity sinic. Kombinace jak molekulárních tak morfologických přístupů pro moderní taxonomii sinic je nezbytná a klasifikace sinic musí být upravena na základě studií, které zahrnují molekulární data. „Polyfázní“ vyhodnocení diverzity je někdy těžké, ale pouze tento kombinovaný metodický přístup může poskytnout revidovaný a logický klasifikační systém (Komárek 2006).

Nejkompletnější systém sinic, který je v současné době k dispozici, je založen na analýze sekvencí genu 16S rRNA, který kóduje malou podjednotku ribozomu. Pomocí této metody bylo vyřešeno mnoho taxonomických problémů jako např. vztahy mezi kmeny *Pseudanabaena* sp. nebo mezi rodem *Arthrospira* a *Spirulina*. V ostatních případech jsou další sekvence 16S rRNA nezbytné pro získání jasného obrazu (Wilmotte 2004, Nelissen et al. 1994). Použití genu 16S rRNA je vhodné pouze u dobře se odštěpujících druhů a pro obecné umístění taxonu. Další genetické markery jsou v současné době zkoumány jako například ITS region (Internal Transcribed Spacer), který leží mezi genem 16S rRNA a 23S rRNA (Perkerson et al. 2011).

3.2. Nomenklatura

Výchozím bodem pro nomenklaturu rostlin je Linnéovo dílo *Species plantarum* (1753) s výjimkou několika kryptogamních skupin, jejichž míra znalosti byla v době Linného velmi nízká. Linnéovo *Species plantarum*, je stále oficiálním výchozím bodem pro nevláknité sinice ačkoliv o nich v této slavné knize není ani zmínka (Anagnostidis & Komárek 1985). Použití Linnéovy binomické nomenklatury je stále zcela nezbytné pro charakteristiku a pochopení celé (jak přírodní tak experimentálně kultivované) diverzity sinic. Žádný jiný vyhovující systém neexistuje (Komárek 2010a).

Oddělení sinice má dva platné vědecké názvy. Název Cyanophyta je vytvořen podle nomenklatorických pravidel botanického Kódu, název Cyanobacteria odpovídá Kódu bakteriologickému. Kromě těchto jmen se v novější literatuře objevuje jméno Cyanoprokaryota (Kalina & Váňa 2005).

Sinice byly tradičně identifikovány Kódem botanické nomenklatury, ale protože byla zdůrazněna jejich bakteriologická podstata, tak se začalo intenzivně podporovat použití bakteriologického Kódu. Vzhledem k tomu že, nomenklatorická komise nenavrhl žádný

kompromis ani nepřišla s novým návrhem, mnoho autorů tak používá kombinované pokyny a doporučení obou Kódů pro popis nových taxonů. Avšak, nové taxony ukazují, že není respektován ani jeden z Kódů. Tyto taxony se často objevují v experimentálně orientovaných článcích. Takové studie mají někdy vysokou vědeckou hodnotu, ale ignorace formálních taxonomických pravidel výrazně znehodnocuje tyto výzkumy a vytváří mnoho nejasností.

V posledních několika letech je úsilí nomenklatoriků vkládáno do pokusu o vytvoření jednotného nomenklatorického systému pro všechny skupiny organismů, ale myšlenka vytvoření zvláštních nomenklatorických pravidel pro sinice (při dodržení požadavků jak bakteriologického tak botanického Kódu) se zdá být logičtější a praktičtější. V souladu s tímto závěrem, byl uveden speciální nomenklatorický průvodce od Mezinárodní asociace pro Cyanophyta/Cyanobacteria Systematické a ekologické sympozium (IAC) v roce 1989. Bohužel byl odmítnut odborníky na nomenklaturu z obou komunit, a proto není zatím využíván odborníky na taxonomii sinic. V zásadě není žádný dobrý důvod proč nepřijmout další vhodný systém pro registraci taxonů sinic založený na číslování nebo jiném kódování. Ale to je možné pouze v případě, že bude tento systém alespoň tak vyhovující jako tradiční systém názvů a použitelný pro celou diverzitu sinic jak z přírodních stanovišť, tak z kultur. Tento systém by také měl mít využití pro všechny uživatele klasifikačního systému sinic, hlavně pro ekology. V případě, že by takový systém byl navržen, mohl by být přijat, ale musel by přinést zlepšení ve všech ohledech, hlavně ve znalosti diverzity sinic. Nejruznější čipy a molekulární matice pro přesné kódování genotypů sinic se budou jistě stále více využívat. Avšak, výměna současného nomenklatorického systému za nevhodný systém, který by nevyjadřoval celkovou diverzitu sinic, by byla předčasná a nezodpovědná. Dobrým příkladem je problematika kmenů PCC 6803 a PCC 6308 rodu *Synechocystis*. Kmen PCC 6803 "*Synechocystis* sp." je jedním z hlavních experimentálních kmenů v současnosti. Byl to také první kmen, u něhož byl popsán celý genom. Kmen PCC 6803 skutečně odpovídá velmi blízkému typovému druhu rodu *Synechocystis* (*S. aquatilis*) s využitím všech znaků. Rod *Synechocystis* představuje jasně oddělený genetický klastr s charakteristickou morfologií a cytologií. Problémem je, že v Bergey's manuálu byl označen kmen PCC 6308 a ne kmen PCC 6803 jako typový pro *Synechocystis*. A tento kmen je velmi vzdálen od typického kmenu PCC 6803 *Synechocystis*, který se vyskytuje v jiném uspořádání jak geneticky tak morfologicko-cytologicky. Kmen *Synechocystis* musí být proto stanoven správně jako PCC 6803. Správná taxonomie a označení kmenů bez pomoci binomické nomenklatury je stále téměř nemožné.

Nomenklaturní praxe je také spojována s problémem libovolného použití názvů v experimentálních pracích. Řada modelových kmenů je označena zcela libovolně, bohužel dokonce i ty z nich, které již byly sekvenovány. Chybné názvy jsou stále často používány v Databázi Sekvencí (GenBank) stejně tak jako v biochemických a molekulárních studiích. Taxonomické metody se vyvíjejí a taxonom musí průběžně aktualizovat použití nejmodernějších metod. Tato praxe má za následek mnoho nezbytných nomenklaturních změn, které jsou nedílnou a nepostradatelnou součástí moderní taxonomické práce a ideálně by měly být použity na všechny kmenové názvy a experimentální studie. Ale neexistuje žádný úřední orgán, který by mohl provádět takové změny a experimentální pracovníci takové úpravy zcela podceňují (např. *Anacystis nidulans* = *Synechococcus nidulans*, *Anabaena variabilis* = *Trichormus variabilis*). Neznalost oprav a využití upravených a platných názvů je stejná chyba jako použití chybných chemických nebo fyzikálních symbolů nebo použití zastaralých metod (Komárek 2010a).

3.3. Klasifikace sinic na vyšších taxonomických úrovních

Od poslední velké revize klasifikace všech sinic se nahromadilo mnoho nových dat, obzvláště z molekulárních studií a studií elektronové mikroskopie. Obecný tvar publikovaných fylogenetických stromů sinic, založený na datech sekvenování RNA, naznačuje ranou explozivní evoluční radiaci sinic. Téměř všechny existující klasifikační systémy jsou postaveny na základních rozdílech mezi kokálními (jednobuněčnými) a vláknitými formami. Od prvního kompletního zpracování sinic byly rozlišeny dvě hlavní evoluční linie: 1) kokální formy klasifikované jako samostatný řád Chroococcales nebo v několika řádech podle typu buněčného dělení (např. podle Geitlera 1932, 1942 řády Chroococcales, Dermocarpales, Pleurocapsales); 2) vláknité formy klasifikované v samostatné skupině (podle Geitlera 1932, 1942 Hormogonales) nebo v několika řádech (podle Anagnostidis & Komárek 1988, 1990 Nostocales, Stigonematales, Oscillatoriales), (Hoffmann et al. 2005). Podle molekulární analýzy založené na různých genech (např. 16S rRNA, nifH, gyrB gen), jsou všechny taxony (řád Nostocales), které tvoří heterocyty monofyletické (Hoffmann et al. 2005, Komárek 2010b). Naproti tomu kokální a jednoduché vláknité formy bez další buněčné diferenciaci (heterocyty, akinety) vykazují polyfyletismus a náleží tedy k několika různým evolučním liniím. Z toho vyplývá, že na rozdíl od vláknitých sinic tvořících heterocyty nebo kokálních sinic, pocházejí všechny dosud studované sinice s heterocyty ze společného předka, což bylo potvrzeno podobným uspořádáním tylakoidů u všech heterocytozních sinic. Schopnost vytvářet heterocyty je tedy evidentně důležitým

fylogenetickým znakem. Tradičně se rozlišují dva řády heterocytozních sinic: Nostocales a Stigonematales. Několik studií ukazuje, že kokální rod *Chroococidiopsis* je nejbližší existující příbuzný taxon k heterocytozním sinicím (Hoffmann et al. 2005).

3.4. Koncept rodu

Sekvenování genu 16S rRNA potvrdilo existenci několika dobře morfologicky definovaných tradičních rodů, jako jsou například rody: *Microcystis*, *Planktothrix*, *Tychonema*, *Microcoleus*, *Arthrospira*, *Cylindrospermum*. Současné výsledky však ukazují, že většina velkých tradičních rodů je heterogenní a to i když je jejich rozpoznání podpořeno molekulární analýzou. Morfologicky podobé formy, klasifikované do jednoho rodu podle tradičních znaků, se mohou objevit ve fylogenetickém stromu ve vzdálených pozicích. Tato situace vyžaduje klasifikaci těchto shluků jako nové rody a nastala u většiny tradičních rodů jako je: *Aphanothece*, *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Chroococcus*, *Limnothrix*, *Phormidium*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Stigonema* a další. Zásadní je nyní přehodnocení jejich diagnostických fenotypových znaků. Dobrým příkladem tohoto přehodnocení jsou planktonní sladkovodní heterocytozní sinice z tradičních rodů *Anabaena* a *Aphanizomenon*. Je žádoucí oddělit typický klastř rodu *Anabaena* s bentickými druhy bez aerotopů, které vytvářejí porosty od druhů planktonních s aerotopy. Bylo také prokázáno, že v blízkosti planktonních druhů rodu *Anabaena* leží klastř tradičního rodu *Aphanizomenon*. Kromě toho byly oba rody, jak planktonní *Anabaena*, tak *Aphanizomenon* prokázány jako heterogenní a byly rozděleny do několika subklastřů, které jsou rozšířeny mezi různými skupinami planktonního *Anabaena/Aphanizomenon* komplexu. Pro nové taxony, získané pomocí molekulární analýzy, musí být nalezeny nové morfologické znaky. To je dále komplikováno faktem, že gen 16S rRNA představuje pouze část celého genomu a stabilní morfologické znaky, které byly tradičně používány pro rozlišení rodů, ještě nebyly důkladně prozkoumány.

Dalším problémem v taxonomii rodů sinic je nerespektování pravidel typizace. Pokud je použita molekulární analýza jako rozhodující při oddělení rodu tak mnoho heterogenních rodů musí být rozděleno do nových rodových jednotek. Názvy rodů, musí být však spojeny pouze s těmi klastry, které obsahují odpovídající typový rod a další klastry musí být přejmenovány a nově typizovány. Tento postup obvykle není dodržován a dochází tak k mnoha nedorozuměním (Komárek 2006). Příkladem je opět rozdělení rodu *Anabaena* do dvou rodů. Genetický rozdíl mezi planktonními a bentickými druhy rodu *Anabaena* je tak velký, že musí být tyto dva klastry klasifikovány jako samostatné rody. Název „*Anabaena*“ musí být přijat pouze pro klastř, který obsahuje bentický druh *Anabaena oscillarioides*, který

je typovým druhem rodu *Anabaena*. Klastř planktonních druhů musí být přejmenován jako rod *Dolichospermum* s typovým druhem *Dolichospermum flos-aquae* (Wacklin et al. 2009).

Současná taxonomie rodů sinic by měla být bezesporu založena na sekvenování genu 16S rRNA. Jako kritérium pro oddělení rodových klastřů byl na základě molekulární analýzy navržen limit 95% genetické podobnosti. Z posledních několika let používání vyplývá, že kombinace molekulární separace rodů (právě na základě 95% limitu genetické podobnosti) s alespoň jedním diakritickým cytomorfoloogickým autapomorfním znakem, je nejlepší způsob jak definovat rod (Komárek 2010a). Limit 95 % je vhodná hodnota, ale pokud se hodnota podobnosti blíží 95%, měla by být rozhodující přítomnost jasného fenotypového rozdílu nebo jiný znak (např. biochemický, ekofyziologický). Existuje také několik klastřů, které by měly být odděleny jako samostatné rody podle molekulární analýzy, ale nebyly pro ně stanoveny diagnostické morfoloogické znaky. V takových taxonech je nezbytné přehodnotit morfoloogické a cytoloogické znaky (Komárek 2006).

3.5. Koncept druhu

Morfoloogická diferenciacie sinic je mnohem větší než u jiných bakteriálních skupin, vymezení druhu je tak problematické. Bioloogická rozmanitost sinic je větší než se původně předpokládalo. Mnoho druhů bylo popsáno pouze na základě morfoloogických znaků. Rozpoznání jejich široké diverzity vedlo k tendenci některých autorů zařazovat podobné typy do velkých taxonoogických jednotek na úrovni rodu nebo druhu. Tento „Drouetův koncept“ však nebyl v souladu s variabilitou a ekoloogií sinic v přírodních biotopech a byl definitivně překonán molekulárními metodami (Komárek 2006). Zatímco sekvenování genu 16S rRNA může sloužit jako standardní genetický přístup, jímž se vymezují rody sinic, tak pro vymezení druhů je tato metoda problematická. To je komplikováno hlavě tím, že sinice mohou vytvářet různé morfotypy a ekotypy (neboli morphospecies a ecospecies) v rámci různých rodů na různých typech stanovišť (Komárek 2010a). Takové typy mohou být považovány za speciální „druhy“. Ve většině případů nejsou tyto druhy podpořeny molekulární analýzou nebo jen nepřesvědčivě. Jsou však důležité pro ekoloogické hodnocení a vzhledem k tomu že v různých ekosystémech přetrvávají stabilně, měly by být nějakým způsobem klasifikovány (Komárek 2006). Všechny populace sinic se neustále vyvíjí. Horizontální výměna genetického materiálu a rychlá adaptace na měnící se podmínky prostředí jsou výsledkem různé speciace, což výrazně komplikuje nalezení jedinečného kritéria pro vymezení druhů. Příkladem různé speciace může být vytváření barevných typů sinic, kdy několik generací

produkuje různě barevné mutanty (zelené, olivově zelené, oranžovo-žluté, červené apod.) v jedné populaci, které mohou žít stabilně na různých stanovištích nebo v kulturách. Klasifikace takových typů není jasná. Podobná situace byla zjištěna u *Limnothrix*, *Planktothrix*, oceánských *Synechococcus* a *Prochlorococcus* (Komárek 2010a). Někdy jsou takto stabilní barevní mutanti klasifikováni tradičně jako druhy např. zeleně zbarvená *Planktothrix agardhii* a *P. rubescens* s červeným pigmentem (Christiansen et al. 2006).

Různé genetické klastry oddělené metodou sekvenování genu 16S rRNA mohou obsahovat morfologicky velmi podobné druhy, které se liší pouze ekologicky nebo mohou být jen stěží rozlišeny na základě rozdílů ve fenotypu. Takové druhy, obvykle označované jako kryptické druhy (neboli cryptospecies) se nedají identifikovat podle morfologických znaků (někdy pouze jako ekologické druhy), ale pouze na základě molekulární analýzy. Jejich stav také vyžaduje další diskuzi taxonomické klasifikace (Komárek 2010a). Může například nastat situace, kdy mezi různými morfotypy klasifikovanými tradičně v jednom rodu, budou velké genetické rozdíly (někdy větší než 95 %), ale jejich morfologie jim neumožní rozdělení do různých rodů (Komárek 2006, Komárek 2010a). Takovým příkladem je halotolerantní a euryhalinní rod *Halospirulina*, který byl popsán jako samostatný rod i přes velkou morfologickou podobnost s jinými typy rodu *Spirulina* (Nübel et al. 2000). Typový druh rodu *Halospirulina* (*H. tapeticola*) se neliší fenotypově od *Spirulina subsalsa*. Oddělení takových rodů se může zdát nadbytečné, protože se nedají v přírodě identifikovat bez molekulární analýzy, nicméně jsou důležité pro porozumění diverzitě sinic a měly by být v systému registrovány (Komárek 2006, Komárek 2010a).

Kategorie „druh“ je pro diverzitu sinic pod úrovní rodu potřebná, ale její koncept nebo definice může být stanovena jen na základě dohody různých kritérií v různých rodech. Nejvhodnější současná definice druhu u sinic je následující: „Skupina populací (a kmenů), které náleží jednomu genotypu (rodu), charakterizované stabilními fenotypovými znaky (znaky, které jsou definovatelné a rozpoznatelné s různou mírou variability), mající stejné ekologické nároky a vyskytující se opakovaně (v čase) v různých ekologicky podobných lokalitách (Komárek 2010a).

METODY

1. Sběr vzorků

Sběr vzorků proběhl na lokalitách v okolí Vysokého Mýta ve východních Čechách v průběhu tří ročních období – jaro, léto, podzim v období od 16. října 2011 – 27. července 2012. Jarní vzorky byly odebrány v měsíci květnu, letní v červenci a podzimní v měsíci říjnu. Současně byly na každé lokalitě v jednotlivých ročních obdobích měřeny základní parametry prostředí (teplota, pH, konduktivita), (pH metr Combo, HANNA). Z každé lokality byly odebrány dva typy vzorků:

1.1. Odběr vzorků epipelonu

Odběr vzorků epipelonu proběhl pomocí naběráku zhotoveného z 2 m dlouhé kovové tyče, na jejímž konci byla připevněna kovová nádoba o objemu cca 0,5 l. Pomocí pomalého tahu kovové nádoby po dně byla odebrána pouze 1-2 cm silná vrstva jemného povrchového sedimentu dna. Sediment byl přenesen do plastové lahve označené popisem lokality o objemu 0,5 l přičemž bylo dbáno na to, aby lahev obsahovala polovinu až třičtvrtě sedimentu a zbylý objem tvořila voda.

1.2. Odběr vzorků epifytonu

Vzorek epifytonu tvořila část vodní rostliny (makrofyta) s viditelným nárůstem sinic a řas. Většinou se jednalo o starší listy rákosu obecného (*Phragmites australis*) či orobince širokolistého (*Typha latifolia*). Části rostlin byly uloženy do popsaných umělohmotných lahvíček o objemu 100 ml a byla k nim přidána voda z dané lokality.

2. Zpracování vzorků v laboratoři

2.1. Zpracování vzorků epipelonu

V algologické laboratoři byl vzorek epipelonu – sediment, přemístěn do plastových vaniček, kde byl ponechán alespoň 4 hodiny. Během této doby došlo k sedimentaci kalu a poté byla pomocí membránové vývěvy odstraněna přebytečná voda. Na povrch sedimentu byla umístěna bavlněná látka a na ni krycí sklíčka. Takto připravené vaničky byly umístěny do kultivačního boxu, na jedné straně podloženy (např. víčkem lahve) tak, aby vanička tvořila

nakloněnou rovinu. Kultivační box měl teplotní režim 14-16 °C s vnitřním světlem od 7:00 do 19:00 h. V důsledku kladné fototaxe, migrují sinice a řasy k povrchu sedimentu, kde se zachytávají na bavlněné látce a rovněž ulpívají na krycích sklíčkách, která pak slouží k pozorování. Takto připravené vzorky byly ponechány přibližně 3 dny v klidu a poté byly připraveny k pozorování.

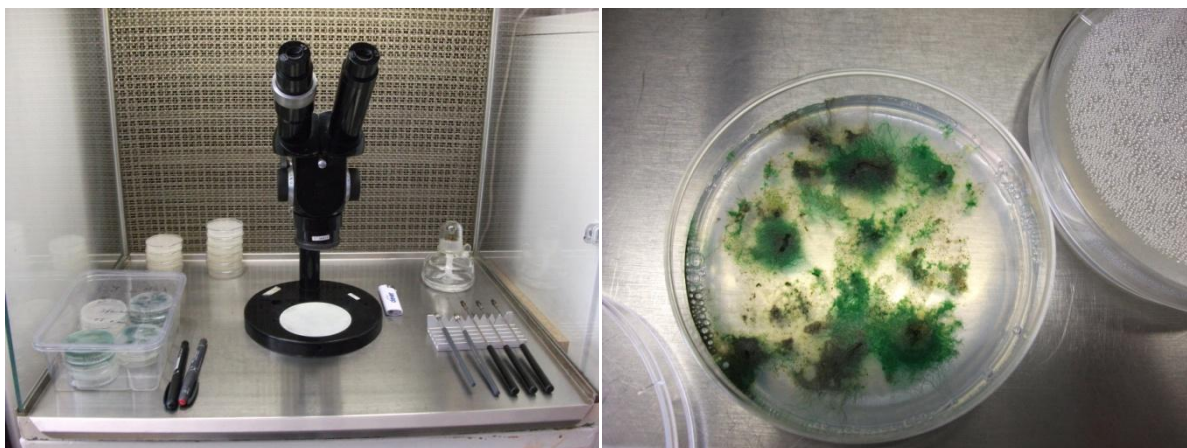
Přibližně po 3 dnech byly sklíčka přemístěny do Petriho misek s kultivačním Z (Zehnder) médiem, kde byly nadále ponechány cca 3 týdny za účelem rozmnožení sinic pro další studium. Misky byly umístěny na dobře osvětlené místo v laboratoři a kultivace probíhala tedy při pokojové teplotě. Po 3 týdnech byla narostlá biomasa sinic přemístěna pomocí vysterilizovaných jehel na agarové plotny.

2.2. Zpracování vzorků epifytonu

Vzorky epifytonu byly zpracovány následujícím způsobem: nárost sinic a řas byl pomocí pinzety vysterilizované nad kahanem odebrán z části listu (makrofyt), popř. byl odebrán nárost i s malou částí listu a přemístěn do Petriho misky, která obsahovala tekuté kultivační Z médium a vatu. Odebraný nárost (či část listu) byl pokládán na vatu. Epifytické sinice a řasy rostou na vodních rostlinách (makrofytech), v laboratorních podmínkách sloužila místo makrofyt právě vata, která tvořila podklad pro epifyton. Petriho misky, utěsněné parafilmem byly ponechány v klidu na dostatečně osvětleném místě při pokojové teplotě přibližně 3 týdny. Během této doby došlo k osídlení vaty sinicemi a řasami a vzorek byl připraven k pozorování. Po 3 týdnech byla narostlá biomasa sinic přemístěna pomocí vysterilizovaných jehel na agarové plotny.

2.3. Izolace kmenů

Části biomasy sinic byly přenášeny z agarové plotny na další pomocí vysterilizovaných jehel a binokulární lupy ve flow boxu. Opakováním tohoto postupu byly izolovány kmeny, které byly v konečné fázi přemístěny do Petriho misek s tekutým Z médiem a po ověření čistoty pomocí inverzního mikroskopu (Axiovert 40C, Zeiss) byly kmeny přemístěny do vysterilizovaných Erlenmayerových baněk s tekutým Z médiem o objemu 90 ml. Erlenmayerovy baňky byly umístěny do kultivačního boxu, kde byly kultivovány několik měsíců do té doby, než se vytvořil dostatek biomasy sinic potřebný pro molekulární analýzu.



Obrázek č. 1: Izolace kmenů

2.4. Determinace a dokumentace

Determinace sinic byla provedena pomocí světelného mikroskopu (Primo Star, Zeiss) a literatury Komárek & Anagnostidis 1998, 2005. Morfologická variabilita sinic byla dokumentována za pomoci mikroměřítka. Další dokumentace byla provedena pomocí digitálního fotoaparátu (Fujifilm 10.2 mega pixels) a mikroskopu (Primo Star, Zeiss) propojeného s programem Micrometrics.

POPIS LOKALIT

Město Vysoké Mýto (Obr. 1)

Město Vysoké Mýto leží v nadmořské výšce 289 m n. m. a je součástí regionu Českomoravské pomezí ve východních Čechách v Pardubickém kraji a okresu Ústí nad Orlicí. Vysoké Mýto má 12 634 obyvatel a bylo založeno králem Přemyslem Otakarem II. ve 13. století. V okolí Vysokého Mýta bylo vybráno 9 následujících lokalit.

Rybník Chobot – Vysoké Mýto (Obr. 2)

Chovný rybník s rozlohou 49 ha, patří k soustavě Zálešsko – Vračovických rybníků, které jsou chráněným územím a významným krajinným prvkem s hnízdištěm vodního ptactva (Infocentrum Vysoké Mýto 2013). Byl vybudován roku 1962 na Betlémském potoce v povodí řeky Loučná a z velké části s výjimkou jihu je obklopen lesy (Wikipedie – rybník Chobot 2013). Rybník je přetřhovaně lemován porostem rákosu obecného (*Phragmites australis*).

Rybník Domoradice (Obr. 3)

Chovný rybník o rozloze 7772 m² (Český úřad zeměměřický a katastrální 2013), situovaný v dolní části Domoradic je z poloviny obklopen lesem, který stoupá do prudkého svahu a je napájen říčkou Svařenkou. Ve středu a na kraji rybníka se nachází okrsky orobince širokolistého (*Typha latifolia*).

Rybník Sedlec-Vraclav (Obr. 4)

Malý rybník s rozlohou 1241 m², který slouží jako nádrž pro zachytávání vody z polí, se nachází na samém kraji obce. Není chovný. Téměř ze všech stran je roztroušeně obklopen keři a stromy. Povrch vodní hladiny je v letních měsících zcela pokryt okřehkem (*Lemna* sp.). Na kraji rybníku rostě přibližně 5 rostlin orobince širokolistého (*Typha latifolia*).

Rybník Javorníček (Obr. 5)

Chovný rybník s rozlohou 2075 m² (Český úřad zeměměřický a katastrální 2013), ze všech stran obklopen keři a lesem. V zadní části rybníku hustý porost rákosu obecného (*Phragmites australis*).

Tůň Javorníček (Obr. 6)

Vodní plocha s rozlohou přibližně 50 m², kterou tvoří voda pocházející z polí. Tůň se nachází vedle lesa a nerostou v ní žádné vodní rostliny. Tůň je hluboká přibližně 40 cm, obsahuje značné množství opadaného listí a větví.

Rybník Svařeň (Obr. 7)

Bývalý rybník o rozloze 514 m² (Český úřad zeměměřický a katastrální 2013), je dnes spíše mokřadním stanovištěm. Není chovný. Vodní plocha je výrazně zarostlá travinami a dalšími rostlinami. Je situován za obcí Svařeň a ze všech stran obklopen lesem.

Rybník Voletice (Obr. 8)

Chovný rybník o rozloze 10 ha (Rybáři Luže 2013), napájený říčkou Novohradkou je z poloviny obklopen stromy. U břehu roste rákos obecný (*Phragmites australis*) a orobinec širokolistý (*Typha latifolia*).

Rybníky Zálší (Obr. 9, 10)

Dva chovné rybníky v obci Zálší, z nichž větší rybník je nazýván „Velký zálešský rybník“ (Obr. 10) o rozloze 55,91 ha a menší rybník zvaný „Lačnov“ (Obr. 9) s rozlohou 15,72 ha (Obec Zálší 2013), jsou odděleny silnicí. Rybníky jsou z poloviny obklopeny lesem. Vegetaci tvoří v obou rybnících rákos obecný (*Phragmites australis*) rostoucí roztroušeně podél břehu. Rybníky patří do soustavy Zálešsko-Vračovických rybníků, které jsou významným krajinným prvkem s hnízdištěm vodního ptactva: husa velká, rákosník velký, polák malý, lžičák pestrý, labuť velká. V rybnících a na mokřinách kolem nich roste: šáchor hnědý, kamyšník přímořský, blatěnka vodní, ostřice česká (Východní Čechy – info. 2013).

Tabulka č. 1: Teplota vody na jednotlivých lokalitách v měsících odběru vzorků [°C]

Lokalita	Říjen 2011	Květen 2012	Červenec 2012
1. Rybník Chobot – Vysoké Mýto	10,5	18,2	25,1
2. Rybník Domoradice	10,6	15,3	18,7
3. Rybník Sedlec-Vraclav	9,5	14,4	20,9
4. Rybník Javorníček	9,8	12,9	21,4
5. Tůň Javorníček	8,3	14,2	17,6
6. Rybník Svařeň	10,6	11,7	19,1
7. Rybník Voletice	10,5	17,5	22,1
8. Rybník Zálší – „Lačnov“	10,4	16,9	26,1
9. Rybník Zálší – „Velký zálešský“	10,1	16,0	25,3

Tabulka č. 2: Naměřené hodnoty pH v měsících odběru vzorků

Lokalita	Říjen 2011	Květen 2012	Červenec 2012
1. Rybník Chobot – Vysoké Mýto	8,23	8,30	8,90
2. Rybník Domoradice	7,97	8,40	10,60
3. Rybník Sedlec-Vraclav	7,11	8,05	7,70
4. Rybník Javorníček	8,34	8,40	8,70
5. Tůň Javorníček	7,70	8,40	7,80
6. Rybník Svařeň	8,58	8,45	8,70
7. Rybník Voletice	8,50	8,70	9,20
8. Rybník Zálší – „Lačnov“	8,10	8,50	8,20
9. Rybník Zálší – „Velký zálešský“	8,24	8,40	9,70

Tabulka č. 3: Naměřené hodnoty konduktivity v měsících odběru vzorků [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]

Lokalita	Říjen 2011	Květen 2012	Červenec 2012
1. Rybník Chobot – Vysoké Mýto	434	420	397
2. Rybník Domoradice	645	535	370
3. Rybník Sedlec-Vraclav	798	404	646
4. Rybník Javorníček	654	633	504
5. Tůň Javorníček	325	285	176
6. Rybník Svařeň	637	605	515
7. Rybník Voletice	347	265	296
8. Rybník Zálší – „Lačnov“	412	411	334
9. Rybník Zálší – „Velký zálešský“	406	404	266

Tabulka č. 4: Charakter sedimentů na jednotlivých lokalitách

Lokalita	Charakter sedimentu
1. Rybník Chobot – Vysoké Mýto	tmavý, hnědo-zelený sediment, hlinito-písčité s org. materiálem
2. Rybník Domoradice	tmavě hnědý hlinitý sediment
3. Rybník Sedlec-Vraclav	světle hnědý hlinito-písčité sediment
4. Rybník Javorníček	tmavý, hlinito-písčité sediment s org. materiálem
5. Tůň Javorníček	černý sediment, hlinitý s množstvím org. materiálu
6. Rybník Svařeň	hnědý, hlinitý sediment s org. Materiálem
7. Rybník Voletice	světlý písčité sediment
8. Rybník Zálší – „Lačnov“	tmavě hnědý, hlinitý sediment s org. materiálem
9. Rybník Zálší – „Velký zálešský“	tmavě hnědý, hlinitý sediment s org. materiálem

CÍLE PRÁCE

Bakalářská práce sleduje tři po sobě jdoucí kroky, které zahrnují teoretickou a praktickou část:

1. Vytvořit literární rešerši z problematiky biologie perifytických sinic.
2. Sběr vzorků na vybraných lokalitách v okolí Vysokého Mýta.
3. Laboratorní zpracování vzorků – kultivace, determinace a následná izolace kmenových kultur.

VÝSLEDKY

1. Vybrané neizolované druhy

1.1. Morfologické hodnocení:

Komvophoron constrictum (Obr. 11/5)

Šířka buněk 3-5 μm , délka buněk 4-6 μm . Vlákna zaškrcovaná (Obr. 11/5C), vyskytují se samostatně, jsou motilní. Buňky delší než širší, zaoblené, cylindrické, uprostřed zaškrčené. Zbarvení modrozelené, zelené. V rozích buněk přítomna černá granula. Zelené pásy podél buněk, ve středu světlejší pás. Apikální buňka zaoblená. Nalezen ve vzorcích epipelonu na lokalitách: rybníky Zálší – „Velký zálešský rybník“ a „Lačnov“, Vysoké Mýto – rybník Chobot, rybník Voletice.

Komvophoron hindakii (Obr. 11/1-3)

Šířka buněk 7,5 μm , délka buněk 5-6 μm . Vlákna zaškrcovaná, vyskytují se samostatně, jsou motilní, buňky kubické až kulaté s důlky (Obr. 11/2A). Cytoplasma granulovaná, zbarvení modrozelené, zelené. Apikální buňka zaoblená, obvykle delší než širší. Nalezen ve vzorcích epipelonu na lokalitách: rybníky Zálší – „Velký zálešský rybník“ a „Lačnov“.

Komvophoron schmidlei (Obr. 11/4)

Šířka buněk 7 μm , délka buněk 4-5 μm . Vlákna zaškrcovaná, vyskytují se samostatně, jsou motilní, buňky zploštělé, oválné. Cytoplasma granulovaná, zbarvení modrozelené, zelené. Apikální buňka zaoblená až kuželovitá (Obr. 11/4B), delší než ostatní buňky. Nalezen ve vzorcích epipelonu na lokalitách: rybníky Zálší – „Velký zálešský rybník“ a „Lačnov“.

Oscillatoria limosa (Obr. 12/1-3)

Šířka buněk variabilní 14-20 μm , délka buněk 2-4 μm . Vlákna rovná, motilní, vyskytující se samostatně, buňky ploché, zbarvení hnědé až hnědozelené, apikální buňka zaoblená, bez kalyptry, cytoplasma granulovaná. Nalezena ve vzorcích epipelonu na lokalitách: rybník Javorníček, Zálší – „Velký zálešský rybník“ a Javorníček - tůň.

Oscillatoria sancta (Obr. 12/4)

Šířka buněk 20 μm , délka buněk 3-4 μm . Vlákná rovná, ke konci zahlá, mírně zaškrcovaná (Obr. 12/4A), motilní, modrozelená až šedozeleá, vyskytují se samostatně. Buňky ploché, kratší než širší, apikální buňka zaoblená s kalyptrou (Obr. 12/4B). Nalezena ve vzorcích epipelonu na lokalitě: Javorníček – tůň.

Trichormus variabilis (Obr. 13/1-3)

Šířka buněk 5 μm , délka buněk 4-5 μm . Vlákná rovná nebo zahnutá, vyskytují se samostatně. Buňky kubické až cylindrické, zaoblené, zaškrcované, zbarvení modrozelené až zelené. Apikální buňka delší než ostatní buňky, zaoblená, kuželovitá. Akinety protáhlé a zaoblené. Heterocyty oválné (Obr. 13/1-3B). Jedná se o apoheterocytický typ sinice, kdy akinety (Obr. 13/1,3A) vznikají ve vzdálenosti několika buněk od heterocytu na rozdíl od paraheterocytických sinic (např. *Anabaena* sp.), kdy akinety vznikají (většinou) těsně u heterocytů. V případě, že ještě nejsou vyvinuty heterocyty, je možná záměna s druhem *Komvophoron schmidlei*, který však heterocyty netvoří. Je tedy nutné posuzovat celou populaci, nikoliv pouze na základě několika málo vláken. *Trichormus variabilis* byl nalezen ve vzorcích epipelonu i epifytonu na lokalitě: Vysoké Mýto – rybník Chobot.

2. Izolované druhy

2.1. Morfologické hodnocení:

Geitlerinema amphibium (Obr. 14/4-8)

Šířka buněk 2 μm , délka buněk 3-4 μm . Vlákná rovná, tenká, zbarvení modrozelené. Buňky delší než širší, cylindrické, více méně stejně dlouhé, granula na koncích buněk orientována naproti sobě a oddělena přepážkou (Obr. 14/4B). Apikální buňka rovná, zaoblená. Nalezena ve vzorcích epifytonu na lokalitě: Vysoké Mýto – rybník Chobot.

Geitlerinema lemmermannii (Obr. 14/1-3)

Šířka buněk 2 μm , délka buněk 4 μm . Vlákná rovná, tenká, ke konci se zužující, konec vlákna zahlý, velmi pohyblivá, kývavý pohyb ze strany na stranu. Zbarvení modrozelené. Buňky výrazně delší než širší, více méně stejné délky, přítomna granula.

Apikální buňka delší než ostatní buňky, postupně se zužující, zahlá (Obr. 14/1A). Nalezena ve vzorcích epifytonu na lokalitě: rybník Javorníček, rybník Domoradice.

Geitlerinema splendium (Obr. 14/9-11)

Šířka buněk 2-2,5 μm , délka buněk 3-4 μm . Vlákná rovná, motilní, ke konci postupně se zužující, zbarvení modrozelené. Buňky cylindrické, apikální buňka výrazně zúžená a delší než ostatní buňky (Obr. 14/9C). Nalezeno ve vzorku epipelonu na lokalitě: rybník Javorníček.

Phormidium amoenum (Obr. 15/4-6)

Šířka buněk 4 μm , délka buněk 3 μm . Vlákná rovná, ke konci se zužující a ohnutá, zbarvení zelené až modrozelené. Slizové pochvy chybí. Apikální buňka zakulacená a mírně rozšířená (Obr. 15/4B). Nalezeno ve vzorcích epifytonu na lokalitách: rybník Javorníček, rybník Voletice.

Phormidium animale (Obr. 15/1-3)

Šířka buněk 3-5 μm , délka buněk 2 μm . Vlákná rovná, ke konci zahnutá a zužující se, motilní, modrozelená až zelená. Buňky kratší než širší, apikální buňka postupně se zužující (Obr. 15/1A). Nalezeno ve vzorcích epifytonu na lokalitě: Zálší – rybník „Lačnov“.

Phormidium autumnale (Obr. 16)

Šířka buněk 4-6 μm , délka buněk 3-4 μm . Vlákná rovná, ke konci se zužující, se slizovými pochvami, motilní, zbarvení hnědé až hnědozelené. Buňky více méně izodiametrické nebo kratší než širší, cytoplasma granulovaná. Apikální buňka postupně se zužující s kalyptrou (Obr. 16/A), která je zaoblená. Nalezeno ve vzorcích epipelonu a epifytonu na lokalitách: rybník Svařeň, Zálší – „Velký zálešský rybník“, rybník Domoradice, rybník Chobot – Vysoké Mýto.

Phormidium cf. tergestinum (Obr. 17/1-3)

Šířka buněk 8-9 μm , délka buněk 2 μm . Vlákná rovná, mírně zaškrcovaná, zbarvení zelené až tmavě zelené, konce se nezužují. Buňky ploché, výrazně kratší než širší. Apikální buňka tupě zaoblená. Nalezeno ve vzorcích epifytonu na lokalitě: rybník Javorníček.

Phormidium formosum (Obr. 18/4-6)

Šířka buněk 5 μm , délka buněk 4-5 μm . Vlákná rovná, zaškrcovaná (Obr. 18/6B), ke konci se zužující, zbarvení zelené, šedo zelené, motilní. Četná granula, buňky téměř izodiametrické, apikální buňka zúžená, kónická. Nalezeno ve vzorku epipelonu na lokalitě: rybník Svařeň.

Phormidium sp. (Obr. 17/4-9)

Šířka buněk 5-6 μm , délka buněk 4-5 μm . Vlákná rovná ke konci se většina vláken zužuje náhle, ale některá i postupně, zbarvení od světle zelené po tmavě zelenou, motilní. Apikální buňka zaoblená, kryta „čepičkou“ ze slizu (Obr. 17/7,9A). Slizové pochvy a granula přítomny. Izolovaný kmen se podobá *Phormidium favosum* nebo se může jednat o *Phormidium autumnale*, které je známo svou velkou variabilitou, konečné určení poskytne až molekulární analýza. Nalezeno ve vzorku epipelonu na lokalitě: rybník Sedlec-Vraclav.

Phormidium terebriforme (Obr. 18/1-3)

Šířka buněk 4 μm , délka buněk 3 μm . Vlákná rovná, ke konci ohnutá (Obr. 18/1A), motilní, zbarvení modrozelené, přítomny slizové pochvy. Buňky kratší než širší až izodiametrické. Apikální buňka zaoblená. Nalezeno ve vzorku epipelonu na lokalitě: rybník Javorníček.

Pseudanabaena catenata (Obr. 19/8-9)

Šířka buněk 1,8-2 μm , délka buněk 3-4 μm . Vlákná rovná, zaškrcovaná, ke konci se nezužují, motilní, zbarvení olivově zelené. Buňky delší než širší, cylindrické, apikální buňka zakulacená, neliší se od ostatních buněk. Nalezeno ve vzorku epifytonu na lokalitě: rybník Voletice.

Pseudanabaena galeata (Obr. 19/1-7)

Šířka buněk 2 μm , délka buněk 2-4 μm . Vlákná rovná, silně zaškrcovaná, zbarvení modrozelené až zelené. Buňky nestejně dlouhé, kubické až cylindrické, apikální buňka někdy kuželovitě zakončená. Nalezeno ve vzorcích epipelonu a epifytonu na lokalitě: rybník Sedlec-Vraclav, Zálší - „Velký zálešský rybník“.

Tabulka č. 5: Seznam nalezených sinic na jednotlivých lokalitách

(1. - Rybník Chobot – Vysoké Mýto, 2. - Rybník Domoradice, 3. - Rybník Sedlec-Vraclav, 4. - Rybník Javorníček, 5. - Tůň Javorníček, 6. - Rybník Svařeň, 7. - Rybník Voletice, 8. - Rybník Zálší – „Lačnov“, 9. - Rybník Zálší – „Velký zálešský“)

Druh	Číslo lokality									\sum_A
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	
<i>Aphanocapsa</i> sp.	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
<i>Calothrix</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	+	-	2
<i>Coelomon pusillum</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	-	2
<i>Cylindrospermum</i> sp.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1
<i>Geitlerinema amphibium</i> *	+*	-	+	-	+	-	-	+*	+	5
<i>Geitlerinema carotinosum</i>	-	+	-	-	-	-	+	-	-	2
<i>Geitlerinema lemmermannii</i> *	-	+*	-	+*	-	-	-	-	-	2
<i>Geitlerinema pseudacutissimum</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Geitlerinema splendidum</i> *	+	-	-	+*	-	-	+	-	-	3
<i>Heteroleibleinia</i> sp.	+	-	-	-	-	+	+	-	+	4
<i>Chamaecalyx</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Chroococcus</i> sp.	+	-	-	+	-	+	-	-	-	3
<i>Jaaginema</i> sp.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1
<i>Komvophoron constrictum</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	+	6
<i>Komvophoron hindakii</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	2
<i>Komvophoron schmidlei</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	2
<i>Leptolyngbya</i> sp.	-	+	+	-	-	-	+	-	-	3
<i>Leibleinia epiphytica</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Merismopedia glauca</i>	+	-	-	-	-	+	-	+	+	4
<i>Microcystis</i> sp.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1
<i>Oscillatoria limosa</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	+	3
<i>Oscillatoria sancta</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1
<i>Phormidium amoenum</i> *	-	-	-	+*	-	-	+*	-	-	2
<i>Phormidium animale</i> *	-	-	-	+	-	+	-	+*	+	4
<i>Phormidium autumnale</i> *	+*	+*	+	-	-	+*	-	+	+*	6

<i>Phormidium cf. tergestinum</i> *	-	-	-	+*	-	-	-	-	-	1
<i>Phormidium formosum</i> *	-	+	-	+	-	+*	-	-	+	4
<i>Phormidium sp.</i> *	-	-	+*	-	-	-	-	-	-	1
<i>Phormidium terebriforme</i> *	-	-	-	+*	-	-	-	-	-	1
<i>Phormidium tergestinum</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	5
<i>Plectonema sp.</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Pseudanabaena catenata</i> *	-	+	+	-	-	+	+*	-	-	4
<i>Pseudanabaena galeata</i> *	+	-	+*	+	+	+	-	-	+*	6
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	4
<i>Spirulina cf. major</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Spirulina cf. meneghiniana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1
<i>Synechococcus sp.</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
<i>Trichormus variabilis</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
\sum B	17	11	8	12	9	9	7	9	13	

+přítomnost druhu na dané lokalitě

-nepřítomnost druhu na dané lokalitě

\sum Asuma výskytu jednotlivých druhů

\sum Bsuma všech druhů na jednotlivých lokalitách

*kmenová kultura

+*kmenová kultura izolována z dané lokality

DISKUZE

Během tří ročních období byly na jednotlivých lokalitách měřeny základní parametry vodního prostředí – teplota, pH a konduktivita. Teplota se v rámci různých ročních období na jednotlivých lokalitách lišila, což bylo způsobeno různou orientací vodních ploch nebo např. zastíněním vodní plochy lesem apod. a také různou dobou měření během dne. Podle Pouličková (2011) je optimální teplota vody pro rozvoj sinic 20 °C. Studie Round (1961), uvádí, že ve většině jezer začínají růst sinice již v únoru při teplotě kolem 4 °C, dostatečném množství živin a zvyšující se intenzitě slunečního záření. Počátek růstu sinic je pravděpodobně dán určitou prahovou hodnotou intenzity slunečního záření a teploty vody. Maximální růst sinic probíhá v letních měsících a je podpořen právě vyšší teplotou vody, což potvrzuje i studie Špačková et al. (2009), některé druhy sinic však mohou být přítomny po celý rok, zatímco jiné se mohou vyskytovat jen v určitých měsících. *Komvophoron constrictum* se vyskytoval od března do listopadu a v mých vzorcích byl přítomen od května do října. *Komvophoron hindakii* se podle této studie vyskytoval pouze v měsíci listopadu, v případě mých vzorků byl přítomen od května do října a *Komvophoron schmidlei* od července do října. *Oscillatoria limosa* se vyskytovala od července do listopadu, v mých vzorcích od května do října a *Oscillatoria sancta* pouze v měsíci říjnu. *Trichormus variabilis* byl zaznamenán pouze v měsíci červenci. *Geitlerinema amphibium* byla přítomna podle studie od března do srpna, v mých vzorcích od května do července, *Geitlerinema lemmermannii* byla zaznamenána pouze v květnu a *Geitlerinema splendidum* od července do října. Studie zaznamenala široké období výskytu druhu *Pseudanabaena catenana* od března do listopadu, což odpovídá mým záznamům, druh *Pseudanabaena galeata* byl také přítomen ve všech obdobích sběru. Studie uvádí výskyt druhu *Phormidium tergestinum* od března do listopadu kromě měsíce září, v mých vzorcích se vyskytl po celé období sběru – od května do října. *Phormidium terebriforme* bylo přítomno od září do listopadu, v mých vzorcích zaznamenáno v říjnu. Výskyt druhu *Phormidium formosum* jsem zaznamenala po celé období sběru, *Phormidium animale* od července do října, *Phormidium autumnale* se vyskytovalo ve většině vzorků v říjnu, ale zaznamenáno bylo také v květnu a *Phormidium amoenum* pouze v říjnu. Podle Round (1961) však nemusí nastávat období maximálního růstu sinic jen v pozdním létě. Na některých lokalitách může docházet k výraznějšímu nárůstu bentických sinic na jaře, přelomu období jara a léta nebo také na podzim. Podzimní maximum růstu sinic může být spojeno s uvolněním organických látek ze zbytků vodních krytosemenných rostlin.

Hodnoty pH se pohybovaly od pH mírně zásaditého (7,11) po zcela zásadité (10,60). Podle Pouličková et al. (2008) se ve vodách s neutrálním až zásaditým pH objevují hlavně sinice rodu *Komvophoron*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* a *Oscillatoria*, tyto rody sinic kromě rodu *Oscillatoria* byly v mých vzorcích rovněž hojně zastoupeny. Celková hodnota pH stoupala s narůstající teplotou prostředí od října do července, což bylo pravděpodobně způsobeno větším množstvím vegetace a fytoplanktonu v letních měsících oproti podzimním měsícům. Větší množství vegetace a fytoplanktonu pak spotřebovávalo za letního dne (v důsledku vyšší teploty a více světla probíhá fotosyntéza intenzivněji) více CO₂, který se jinak ve vodě mění na slabou kyselinu uhličitou a okyseluje tak vodní prostředí. Výsledkem tedy bylo zásaditější pH v letních měsících, které je podle Kalina & Váňa (2005) preferováno většinou druhů sinic.

Hodnoty konduktivity byly na jednotlivých lokalitách poměrně rozkolísané, avšak převažoval trend snižování hodnot konduktivity od října do července. Tento jev je spojen s vyčerpáváním živin. Při tvorbě velkého množství biomasy dochází k velké spotřebě živin, v důsledku tohoto jevu se hodnota konduktivity snižuje. Nejnížší průměrná hodnota konduktivity byla naměřena na lokalitě: Javorníček – tůň, kde byla v červenci 2012 naměřena i celkově nejnižší konduktivita o hodnotě 176 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Naopak nejvyšší průměrnou konduktivitu vykazovala lokalita: rybník Sedlec-Vraclav, kde byla naměřena také celkově nejvyšší konduktivita v měsíci říjnu 2011 o hodnotě 798 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Tato lokalita měla charakter eutrofních vod více než ostatní, což pravděpodobně způsobilo tuto vyšší hodnotu konduktivity.

Studie provedená Hašler et al. (2008), uvádí vyšší biodiverzitu sinic na hlinito-písčitých sedimentech než na uniformních substrátech (pouze písčité nebo hlinitý sediment). Z mých údajů o početnosti druhů na jednotlivých lokalitách a charakteru sedimentů vyplývá, že většina epipelických sinic preferuje hlinité až hlinito-písčité substráty s organickým materiálem než striktně písčité, jelikož právě nejnižší zastoupení druhů (7 druhů sinic) bylo na jediné lokalitě s písčitým substrátem: rybník Voletice. Hašler et al. (2012) uvádí výskyt druhu *Geitlerinema carotinosum* na písčitých substrátech, což odpovídá i mému zjištění tohoto druhu na lokalitě: rybník Voletice. Avšak, studie uvádí výskyt druhu *Geitlerinema splendidum* na hlinitých až hlinito-písčitých substrátech, tento druh se v mých vzorcích vyskytl rovněž na lokalitě: rybník Voletice se striktně písčitým substrátem. Na lokalitě Zálší – „Velký zálešský rybník“ byly nalezeny dva méně obvyklé druhy sinic *Komvophoron hindakii* a *Komvophoron schmidlei*, podle Hašler & Pouličková (2010), dosud nebyly tyto druhy ve

východních Čechách nalezeny. Jedná se tedy o první lokalitu ve východních Čechách s prokázaným výskytem těchto dvou druhů sinic.

ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce jsem prostudovala společenstvo perifytických sinic, konkrétně dvě jeho složky – epipelon a epifyton, celkem na devíti lokalitách v okolí Vysokého Mýta. Vzorky jsem sbírala během tří ročních období od podzimu roku 2011 do léta roku 2012. Celkem jsem determinovala 38 taxonů sinic, z nichž se v epipelону vyskytovalo 14 druhů, v epifytonu 10 druhů a oba typy prostředí preferovalo 14 druhů sinic. Kategorie jsou tedy více méně vyvážené, avšak epipelické sinice měly větší zastoupení než epifytické. Mezi druhy striktně epipelickými se vyskytovaly např.: *Komvophoron constrictum*, *K. hindakii* a *K. schmidlei* nebo také *Oscillatoria limosa* a *O. sancta*. Druhy striktně epifytické byly zastoupeny sinicemi: *Leibleinia epiphytica*, *Geitlerinema lemmermannii*, *Geitlerinema pseudacutissimum* nebo také rodem *Chroococcus* a *Heteroleibleinia*. Naopak oba typy prostředí preferovala většina sinic rodu *Phormidium* jako např.: *Phormidium animale*, *P. autumnale*, *P. tergestinum* nebo také *Pseudanabaena galeata* a *P. catenata*. V mých vzorcích značně převažovaly druhy vláknité nad kokálnými a také druhy bez heterocytů a akinet, výjimku tvoří např. kokální sinice rodu *Synechococcus* nebo nostokální sinice *Trichormus variabilis*. Nejčastějšími druhy byly: *Pseudanabaena galeata*, *Komvophoron constrictum* a *Phormidium autumnale*. Každý z těchto tří druhů se vyskytl na šesti lokalitách. Lokalitou s největším druhovým zastoupením (celkem 17 druhů sinic) byla lokalita: rybník Chobot – Vysoké Mýto a lokalita: rybník Zálší – „Velký zálešský rybník“ (celkem 13 druhů sinic). „Velký zálešský rybník“ byl nejzajímavější lokalitou z důvodu nalezení dvou méně obvyklých druhů – *Komvophoron hindakii* a *Komvophoron schmidlei*. Izolovala jsem doposud celkem 12 kmenových kultur sinic, mezi nimiž jsou např.: *Geitlerinema amphibium*, *G. lemmermannii*, *Phormidium animale*, *P. autumnale* nebo *Pseudanabaena galeata* a *P. catenata*. Izolované kmeny využiji ve fylogenetické analýze vztahů mezi perifytickými sinicemi, což bude předmětem navazující magisterské práce.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

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

Anagnostidis, K. & Komárek, J. (1985): Modern approach to the classification system of cyanophytes 1 – Introduction. – *Algological Studies* 38/39: 291-302.

Asaeda, T., Sultana, M., Manatunge, J. & Fujino, T. (2004): The effect of epiphytic algae on the growth and production of *Potamogeton perfoliatus* L. in two light conditions. – *Environmental and Experimental Botany* 52: 225-238.

Bellinger, E-G. & Sigeo, C-D. (2010): *Freshwater Algae: identification and use as bioindicators*. – Wiley-Blackwell, Hoboken, 271 pp.

Castenholz, R-W. (1960): Seasonal changes in the attached algae of freshwater and saline lakes in the lower Grand Coulee, Washington. – *Limnology and Oceanography* 5(1): 1-28.

Český úřad zeměměřický a katastrální. [Online]. © 2013. Praha: [cit. 22. 2. 2013]. Dostupné z: <http://www.cuzk.cz/>

D'Amelio, D-E., Cohen, Y. & Des Marais, D-J. (1987): Association of a new type of gliding, filamentous, purple phototrophic bacterium inside bundles of *Microcoleus chthonoplastes* in hypersaline cyanobacterial mats. – *Archives of Microbiology* 147(3): 213-220.

Engström, J., Viherluoto, M. & Viitasalo, M. (2001): Effects of toxic and non-toxic cyanobacteria on grazing, zooplanktivory and survival of the mysid shrimp *Mysis mixta*. – *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 257: 269-280.

Engström-Öst, J., Karjalainen, M. & Viitasalo, M. (2006): Feeding and refuge use by small fish in the presence of cyanobacteria blooms. – *Environmental Biology of Fishes* 76: 109-117.

Erhard, D. & Gross, E-M. (2006): Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. – *Aquatic Botany* 85(3): 203-211.

- Fott, B. (1967): *Sinice a řasy*. – Academia, Praha, 517 pp.
- Fraleigh, C-P. & Burnham, C-J. (1988): Myxococcal predation on cyanobacterial populations: Nutrient effects. – *Limnology and Oceanography* 33(3): 476-483.
- Gantt, E., Ohki, K. & Fujita, Y. (1984): *Trichodesmium thiebautii*; structure of a nitrogen-fixing marine blue-green alga (Cyanophyta). – *Protoplasma* 119(3): 188-196.
- Hašler, P., Pouličková, A. & Lysáková, M. (2004): The survival and vitality of cyanobacteria and algae in fishpond bottom sediments. – *Czech Phycology* 4: 133-144.
- Hašler, P., Štěpánková, J., Špačková, J., Neustupa, J., Kitner, M., Hekera, P., Veselá, J., Burian, J. & Pouličková, A. (2008): Epipellic cyanobacteria and algae: a case study from Czech ponds. – *Fottea* 8(2): 133-146.
- Hašler, P. & Pouličková, A. (2010): Diversity, taxonomy and autecology of autochthonous epipellic cyanobacteria of the genus *Komvophoron* (Borziaceae, Oscillatoriales): a study on populations from the Czech Republic and British Isles. – *Biologia* 65(1): 7-16.
- Hašler, P., Dvořák, P., Johansen, J-R., Kitner, M., Ondřej, V. & Pouličková, A. (2012): Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). – *Fottea* 12(2): 341-356.
- Hillebrand, H. (2005): Light regime and consumer control of autotrophic biomass. – *Journal of Ecology* 93(4): 758-769.
- Hoffmann, L., Komárek, J. & Kaštovský, J. (2005): System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state in 2004. – *Algological Studies* 117: 95-115.
- Christiansen, G., Kurmayer, R., Liu, Q. & Börner, T. (2006): Transposons Inactivate Biosynthesis of the Nonribosomal Peptide Microcystin in Naturally Occurring *Planktothrix* spp. – *Applied and Environmental Microbiology* 72(1): 117-123.

Christoffersen, K., Riemann, B., Klysner, A. & Sondergaard, M. (1993): Potential Role of Fish Predation and Natural Populations of Zooplankton in Structuring a Plankton Community in Eutrophic Lake Water. – *Limnology and Oceanography* 38(3): 561-573.

Infocentrum Vysoké Mýto. [Online]. © 2013. Vysoké Mýto: [cit. 20.2 2013]. Dostupné z: <http://infocentrum.vysoke-myto.cz/tipy-na-vylet/>

Kalina, T. & Váňa, J. (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. – Karolinum, Praha, 606 pp.

Kitting, Ch-L., Fly, B. & Morgan, D-M. (1984): Detection of inconspicuous epiphytic algae supporting food webs in seagrass meadows. – *Oecologia* 62(2): 145-149.

Komárek, J. (2006): Cyanobacterial Taxonomy: Current Problems and Prospects for the Integration of Traditional and Molecular Approaches. – *Algae* 21(4): 349-375.

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

Komárek, J. (2010b): Modern taxonomic revision of planktic nostocacean cyanobacteria: a short review of genera. – *Hydrobiologia* 639(1): 231-243.

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

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

Kumar, M., Gupta, K-R., Bhatt, A-B. & Tiwari, C-S. (2011): Epiphytic cyanobacterial diversity in the sub-Himalayan belt of Garhwal region of Uttarakhand, India. – *Journal of Plant Science* 8: 77-89.

Lakatos, G. (1991): Structural characterization of periphyton in Kis-Balaton protecting system. – BFB-Bericht 77: 147-156.

Laugaste, R. & Lessok, K. (2004): Planktonic algae and epiphyton of the littoral in Lake Peipsi, Estonia. – Limnologica 34: 90-97.

Mapy. [Online]. © 2013. Okolí Vysokého Mýta: [cit. 23.2 2013]. Dostupné z: www.mapy.cz

Miller, R-S., Purugganan, D-M. & Curtis, E-S. (2006): Molecular Population Genetics and Phenotypic Diversification of Two Populations of the Thermophilic Cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. – Applied and Environmental Microbiology 72(4): 2793-2800.

Mohamed, A-Z. & Al Shehri, A-M. (2010): Microcystin production in epiphytic cyanobacteria on submerged macrophytes. – Toxicon 55(7): 1346-1352.

Nagarkar, S. (2001): The pitfalls of using different classification systems to quantify biodiversity of cyanobacteria: A case study from Hong Kong rocky shores. – In: Chen, F. & Jiang, Y. (eds.): Algae and their Biological Potencial. - Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 320 pp.

Nakayama, T. & Ishida, K. (2009): Another acquisition of a primary photosynthetic organelle is underway in *Paulinella chromatophora*. – Current Biology 19(7): R284-R285.

Nelissen, B., Wilmotte, A., Neefs, J-M. & De Wachter, R. (1994): Phylogenetic Relationships Among Filamentous Helical Cyanobacteria Investigated on the Basis of 16S Ribosomal RNA Gene Sequence Analysis. – Systematic and Applied Microbiology 17(2): 206-210.

Nübel, U., Garcia-Pichel, F. & Muyzer, G. (2000): The halotolerance and phylogeny of cyanobacteria with tightly coiled trichomes (*Spirulina* Turpin) and the description of *Halospirulina tapeticola* gen. nov., sp. nov. - International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 50: 1265-1277.

Obec Zálší. [Online]. © 2013. Zálší: [cit. 22.2 2013]. Dostupné z: <http://www.obeczalsi.cz/>

Paterson, D-M. & Wright, J-L-S. (1986): The Epiphyllous Algal Colonization of *Elodea canadensis* Michx.: Community Structure and Development. – New Phytologist 103(4): 809-819.

Perkerson, B-R., Johansen, J-R., Kováčik, L., Brand, J., Kaštovský, J. & Casamatta, A-D. (2011): A Unique Pseudanabaenalean (Cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. based on morphological and molecular data. – *Journal of Phycology* 47: 1397–1412.

Pouličková, A. (2011): *Základy ekologie sinic a řas*. – Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 91 pp.

Pouličková, A., Hašler, P., Lysáková, M. & Spears, B. (2008): The ecology of freshwater epipelagic algae: an update. – *Phycologia* 47(5): 437-450.

Rashidan, K-K. & Bird, D-F. (2001): Role of Predatory Bacteria in the Termination of a Cyanobacterial Bloom. – *Microbial Ecology* 41: 97-105.

Round, E-F. (1961): Studies on Bottom-Living Algae in Some of the English Lake District: Part V. The Seasonal Cycles of the Cyanophyceae. – *The Journal of Ecology* 49(1): 31-38.

Rybáři Luže. [Online]. © 2013. Luže: [cit. 22.2 2013]. Dostupné z: <http://www.rybariluze.cz/>

Sciuto, K., Andreoli, C., Rascio, N., La Rocca, N. & Moro, I. (2012): Polyphasic approach and typification of selected *Phormidium* strains (Cyanobacteria). – *Cladistics* 28: 357-374.

Seckbach, J. (2007): *Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology: Algae and cyanobacteria in extreme environments*. – Springer, Dordrecht, 811 pp.

Seckbach, J. & Oren, A. (2010): *Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology: Microbial Mats – Modern and Ancient Microorganisms in Stratified Systems*. – Springer, Dordrecht, 606 pp.

Sigeo, C-D., Glenn, R., Andrews, J-M., Bellinger, E-G., Butler, D-R., Epton, A-H-S. & Hendry, D-R. (1999): Biological control of cyanobacteria: principles and possibilities. – *Hydrobiologia* 395/396: 161-172.

Six, Ch., Thomas, J-C., Garczarek, L., Ostrowski, M., Dufresne, A., Blot, N., J Scanlan, D. & Partensky, F. (2007): Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. – *Genome Biology* 8(12): R259.

Špačková, J., Hašler, P., Štěpánková, J. & Pouličková, A. (2009): Seasonal succession of epipellic algae: a case study on a mesotrophic pond in a temperate climate. – *Fottea* 9(1): 121-133.

Východní Čechy – info. [Online]. © 2013. [cit. 20.2 2013]. Dostupné z: <http://www.vychodni-cechy.info/zalsi/>

Wacklin, P., Hoffmann, L. & Komárek, J. (2009): Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet et Flahault) comb. nova. – *Fottea* 9(1): 59-64.

Walls, M., Laurén-Maatta, C., Ketola, M., Ohra-Aho, P., Reinikainen, M. & Repka, S. (1997): Phenotypic plasticity of *Daphnia* life history traits: the roles of predation, food level and toxic cyanobacteria. - *Freshwater Biology* 38: 353-364.

Wetzel, G-R. (1983): *Periphyton of freshwater ecosystems*. – Dr W. Junk Publishers, Boston, 339 pp.

Wikipedie – rybník Chobot. [Online]. © 2013. [cit. 20.2 2013]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Chobot_

Wilmotte, A. (2004): *Molecular Evolution and Taxonomy of the Cyanobacteria*. - *The Molecular Biology of Cyanobacteria* 1: 1-25.

Wright, J-L-S., Redhead, K. & Maudsley, H. (1981): *Acanthamoeba castellanii*, a Predator of Cyanobacteria. – *Journal of General Microbiology* 125: 293-300.

PŘÍLOHY

Seznam příloh:

Příloha č. 1: Mapa okolí Vysokého Mýta s vyznačenými lokalitami

Příloha č. 2: Fotografie lokality – rybník Chobot – Vysoké Mýto

Příloha č. 3: Fotografie lokality – rybník Domoradice

Příloha č. 4: Fotografie lokality – rybník Sedlec-Vraclav

Příloha č. 5: Fotografie lokality – rybník Javorníček

Příloha č. 6: Fotografie lokality – tůň Javorníček

Příloha č. 7: Fotografie lokality – rybník Svařeň

Příloha č. 8: Fotografie lokality – rybník Voletice

Příloha č. 9: Fotografie lokality – rybník „Lačnov“ - Zálší

Příloha č. 10: Fotografie lokality – „Velký zálešský rybník“ - Zálší

Příloha č. 11: Obrazová tabule rodu *Komvophoron*, fotografie vzorků z přírody

Příloha č. 12: Obrazová tabule rodu *Oscillatoria*, fotografie vzorků z přírody

Příloha č. 13: Obrazová tabule druhu *Trichormus variabilis*, fotografie vzorků z přírody

Příloha č. 14: Obrazová tabule rodu *Geitlerinema*, fotografie kmenových kultur

Příloha č. 15: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur

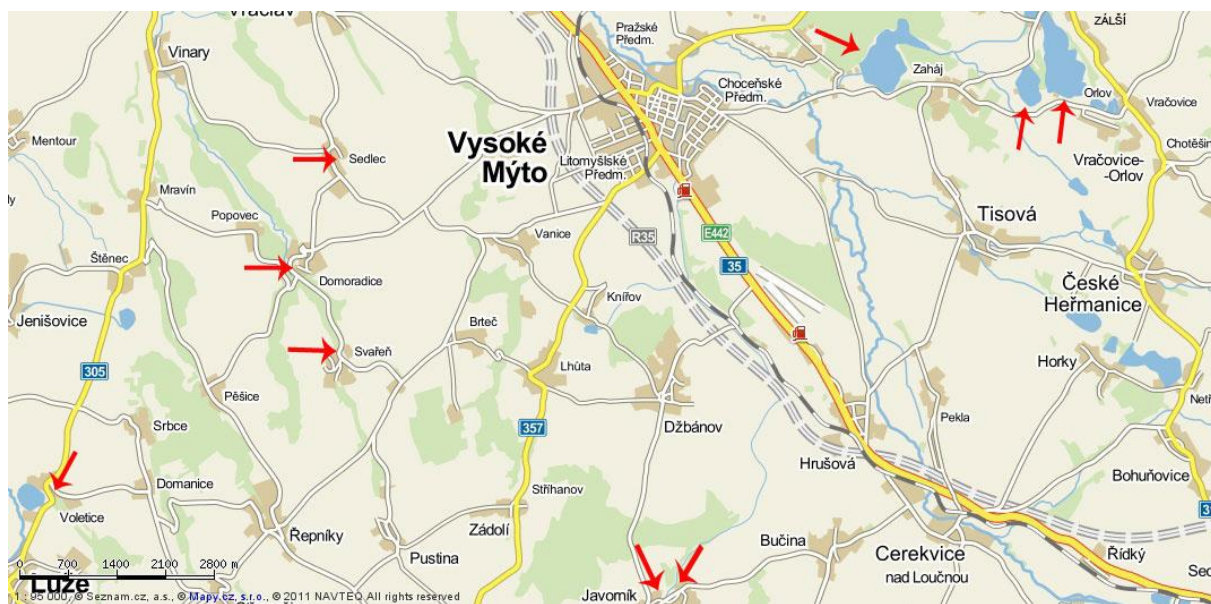
Příloha č. 16: Obrazová tabule druhu *Phormidium autumnale*, fotografie kmenových kultur

Příloha č. 17: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur

Příloha č. 18: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur

Příloha č. 19: Obrazová tabule rodu *Pseudanabaena*, fotografie kmenových kultur

Příloha č. 1: Mapa okolí Vysokého Mýta s vyznačenými lokalitami

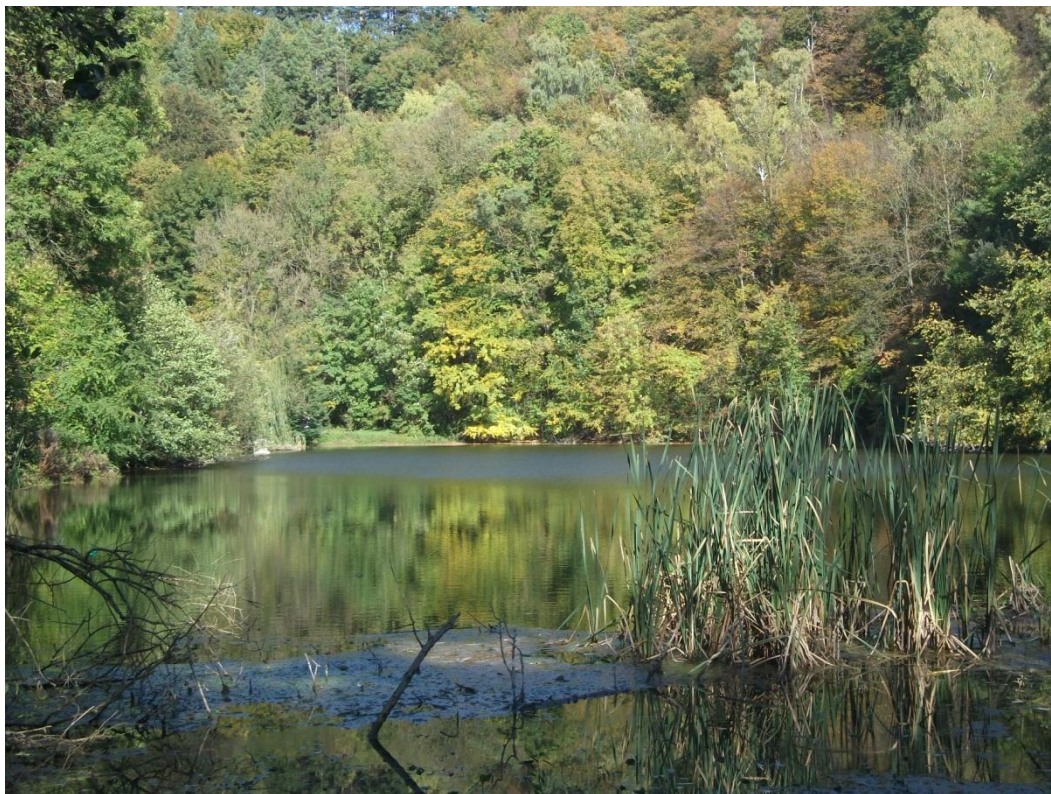


zdroj: www.mapy.cz

Příloha č. 2: Fotografie lokality – rybník Chobot – Vysoké Mýto



Příloha č. 3: Fotografie lokality – rybník Domoradice



Příloha č. 4: Fotografie lokality – rybník Sedlec-Vraclav



Příloha č. 5: Fotografie lokality – rybník Javorníček



Příloha č. 6: Fotografie lokality – tůň Javorníček



Příloha č. 7: Fotografie lokality – rybník Svařeň



Příloha č. 8: Fotografie lokality – rybník Voletice



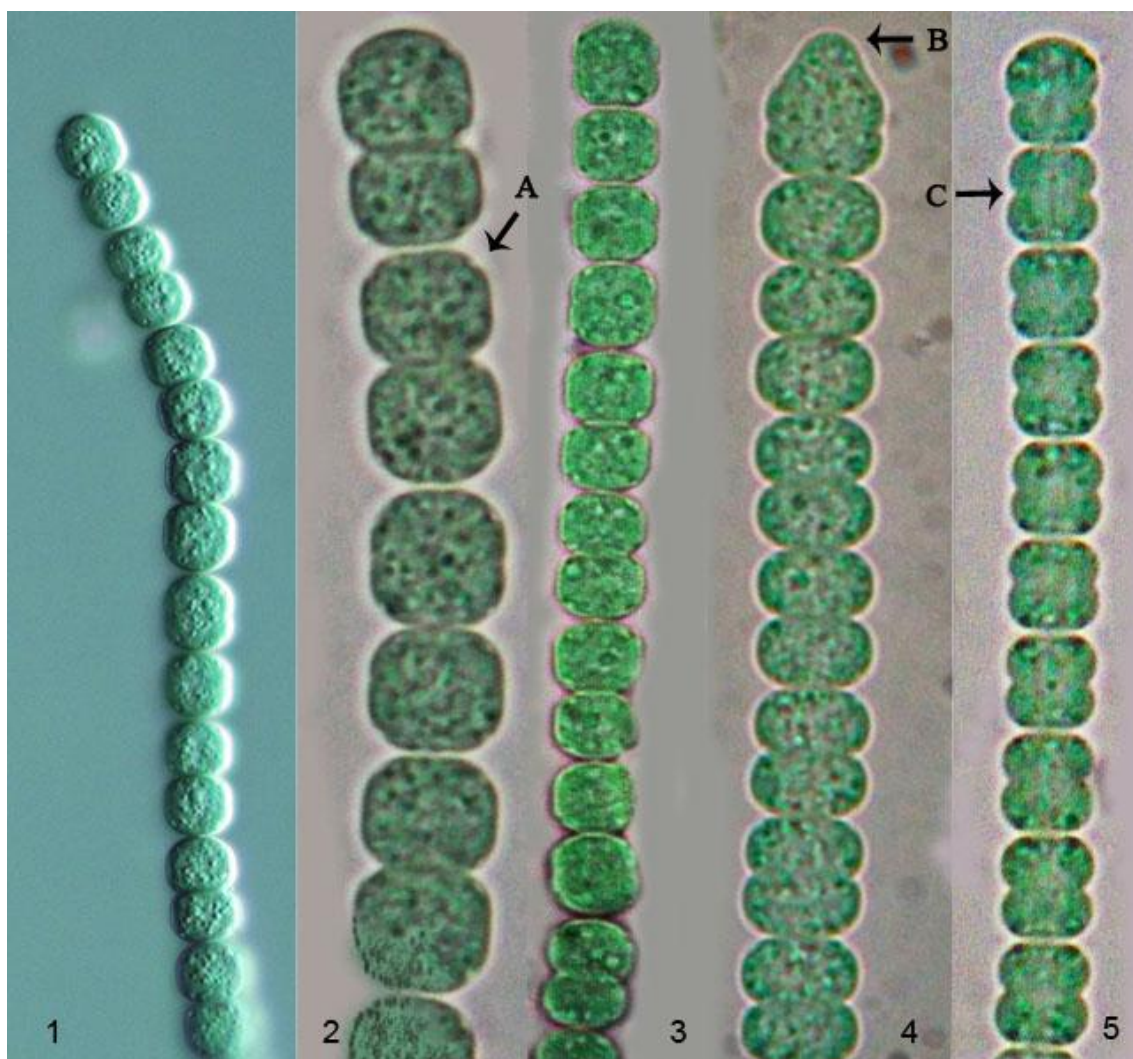
Příloha č. 9: Fotografie lokality – rybník „Lačnov“ – Zálší



Příloha č. 10: Fotografie lokality – „Velký zálešský rybník“ – Zálší

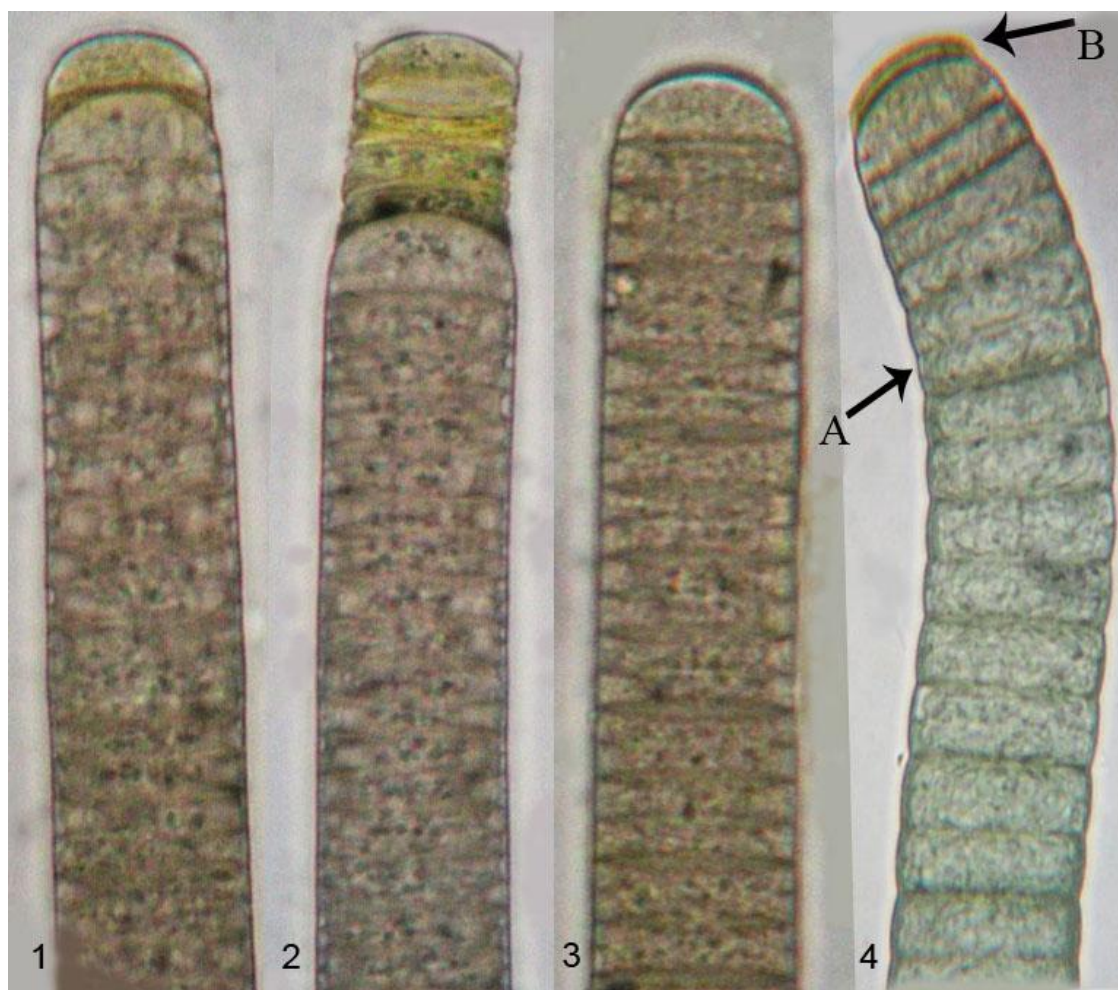


Příloha č. 11: Obrazová tabule rodu *Komvophoron*, fotografie vzorků z přírody



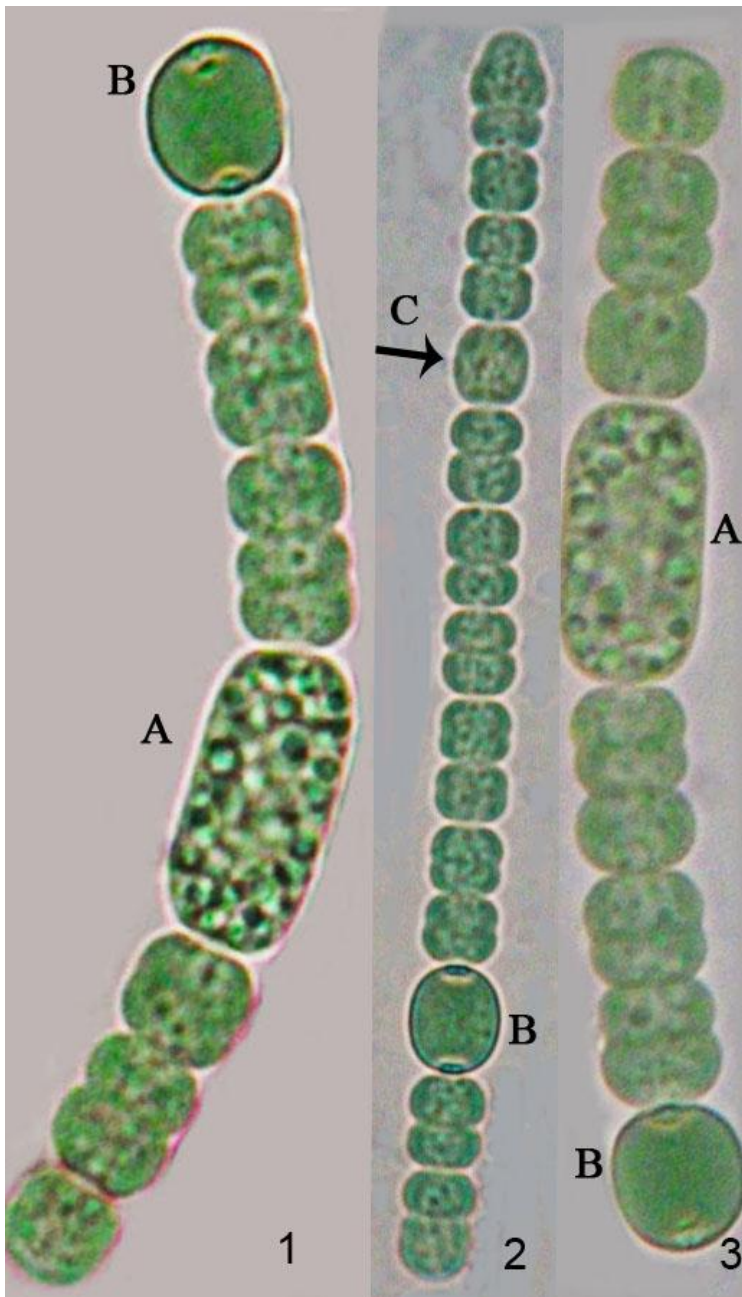
Komvophoron hindakii, (A) důlky v rozích buněk, lokalita: rybník Zálší – „Velký zálešský rybník“, foto č. 1: Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D. (1-3), *Komvophoron schmidlei*, (B) apikální buňka výrazně kuželovitá, lokalita: rybník Zálší – „Lačnov“ (4), *Komvophoron constrictum*, (C) zaškrcování buněk, lokalita: rybník Zálší – „Lačnov“ (5)

Příloha č. 12: Obrazová tabule rodu *Oscillatoria*, fotografie vzorků z přírody



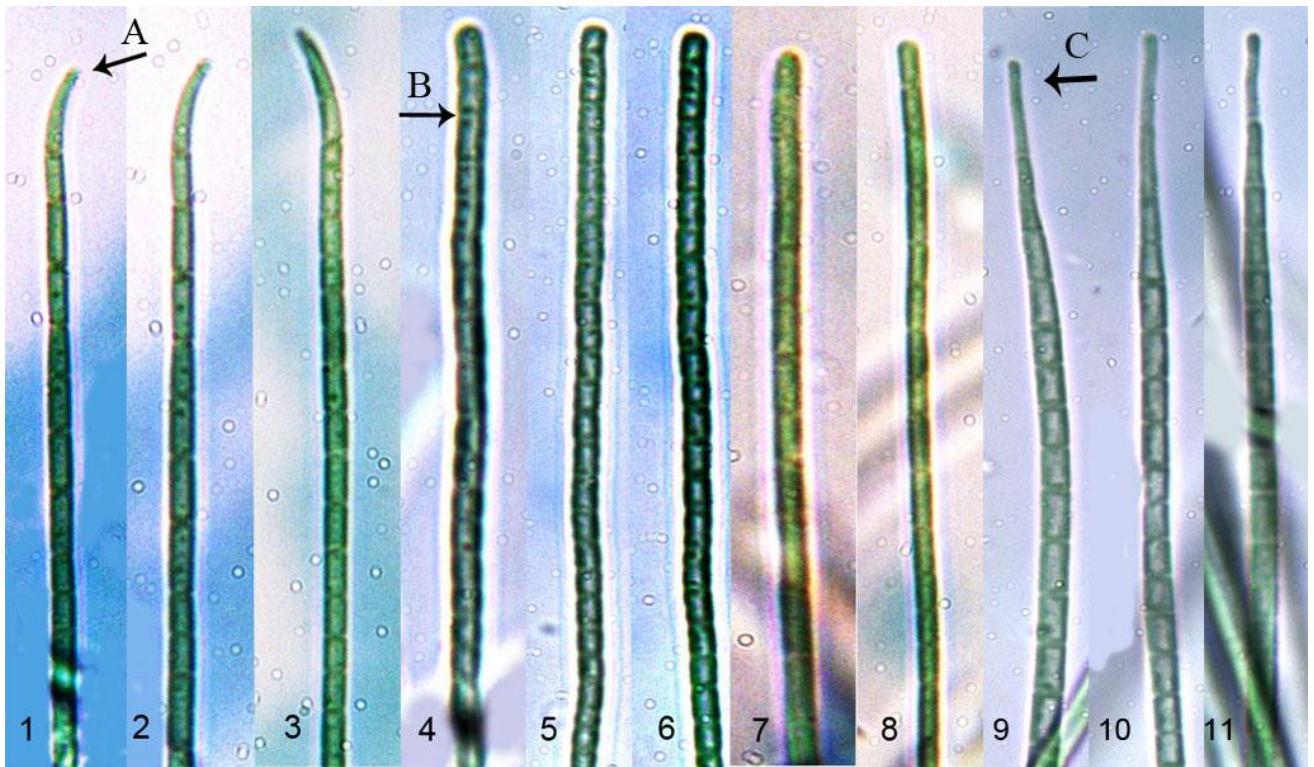
Oscillatoria limosa, lokalita: tůň Javorníček (1-3), *Oscillatoria sancta*, (A) vlákno zaškrcované, (B) kalyptra, lokalita: tůň Javorníček (4)

Příloha č. 13: Obrazová tabule druhu *Trichormus variabilis*, fotografie vzorků z přírody



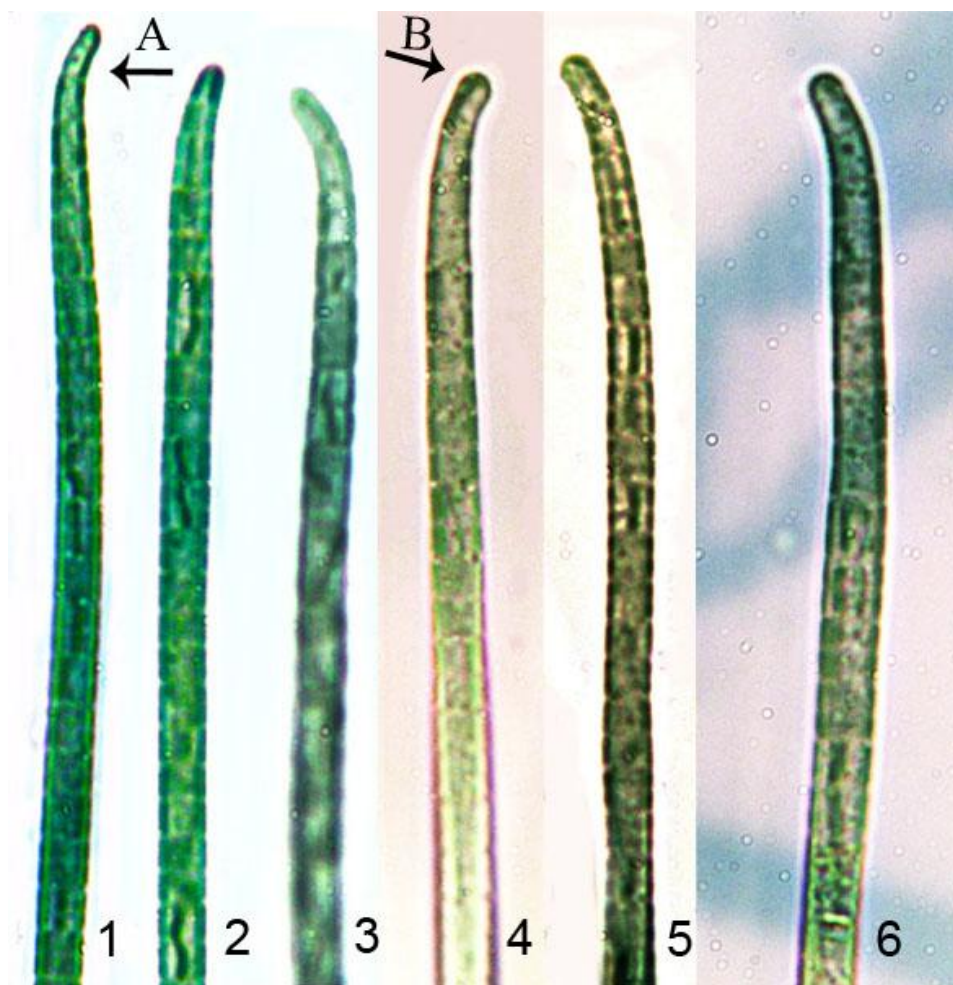
Trichormus variabilis, (A) akineta, (B) heterocyt, (C) formující se heterocyt, lokalita: rybník Chobot – Vysoké Mýto (1-3)

Příloha č. 14: Obrazová tabule rodu *Geitlerinema*, fotografie kmenových kultur



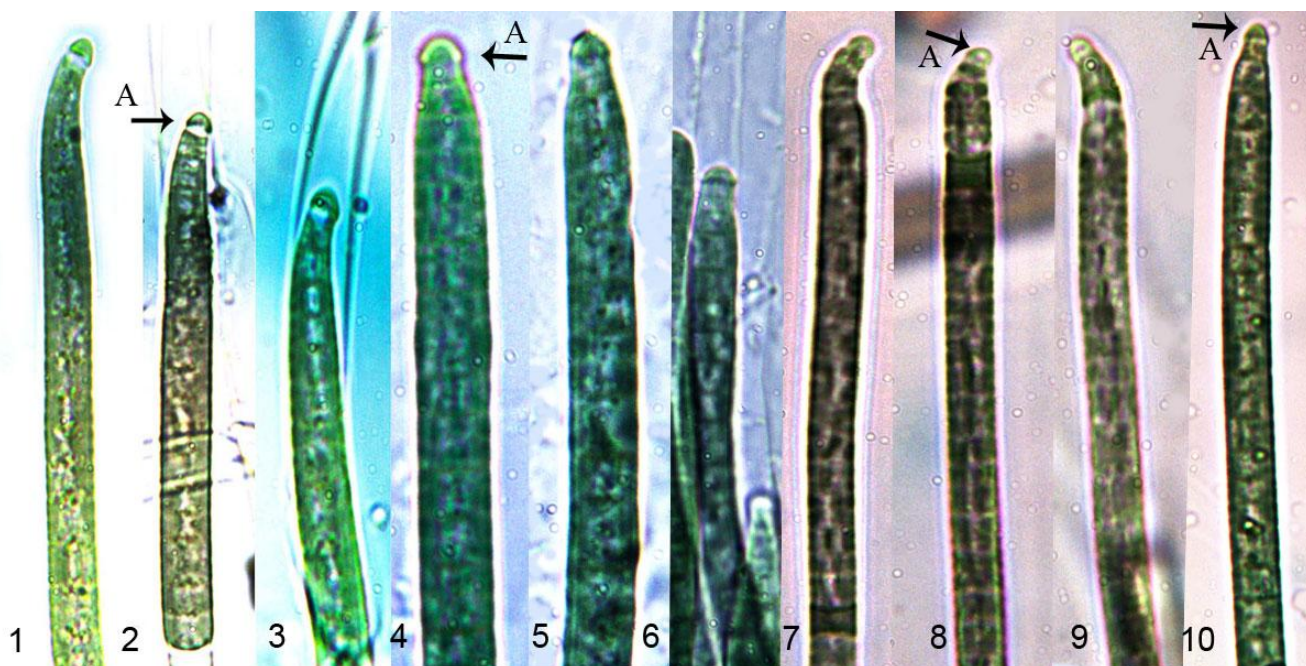
Geitlerinema lemmermannii, (A) apikální buňka zúžená a zahlá, lokalita: rybník Javorníček (1-2), rybník Domoradice (3), *Geitlerinema amphibium*, (B) granula naproti sobě oddělena přepážkou, lokalita: Vysoké Mýto – rybník Chobot (4-6), rybník Zálší – „Lačnov“ (7-8), *Geitlerinema splendidum*, (C) apikální buňka výrazně zúžená, lokalita: rybník Javorníček (9-11)

Příloha č. 15: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur



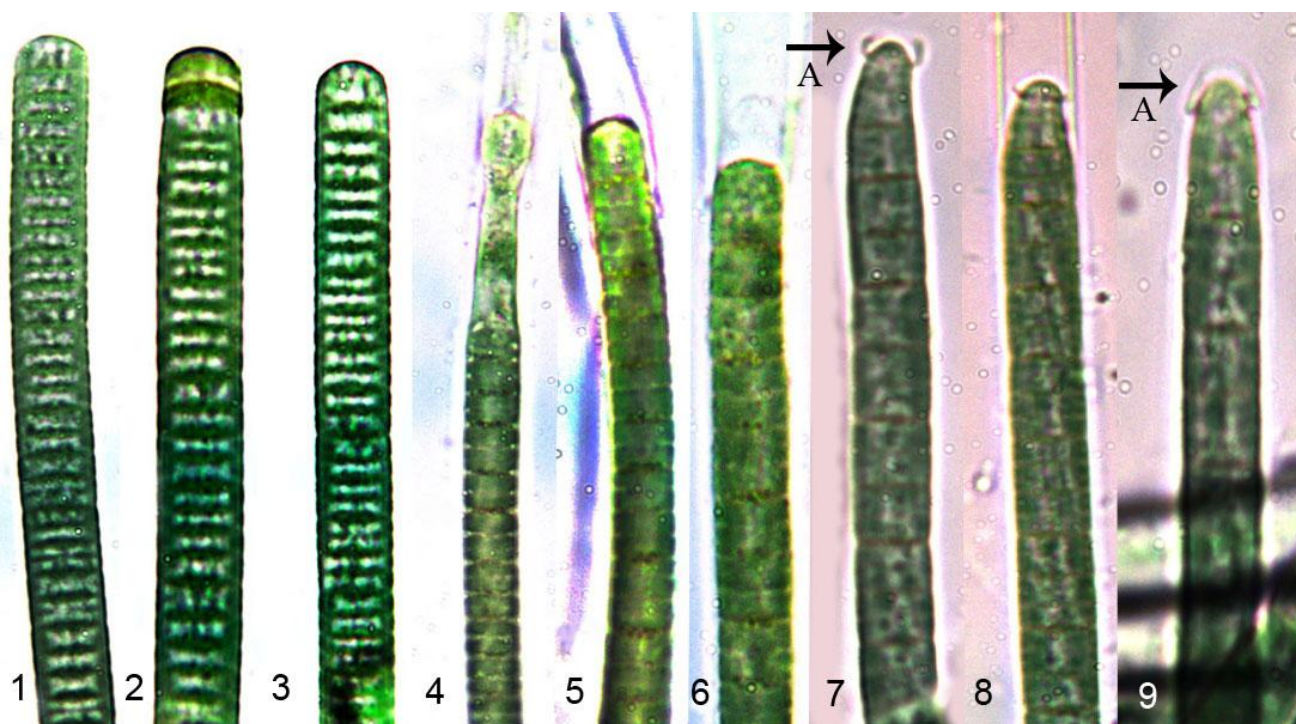
Phormidium animale, (A) konec vlákna postupně se zužující, lokalita: rybník Zálší – „Lačnov“ (1-3), *Phormidium amoenum*, (B) apikální buňka mírně rozšířená, lokalita: rybník Javorníček (4-5), rybník Voletice (6)

Příloha č. 16: Obrazová tabule druhu *Phormidium autumnale*, fotografie kmenových kultur



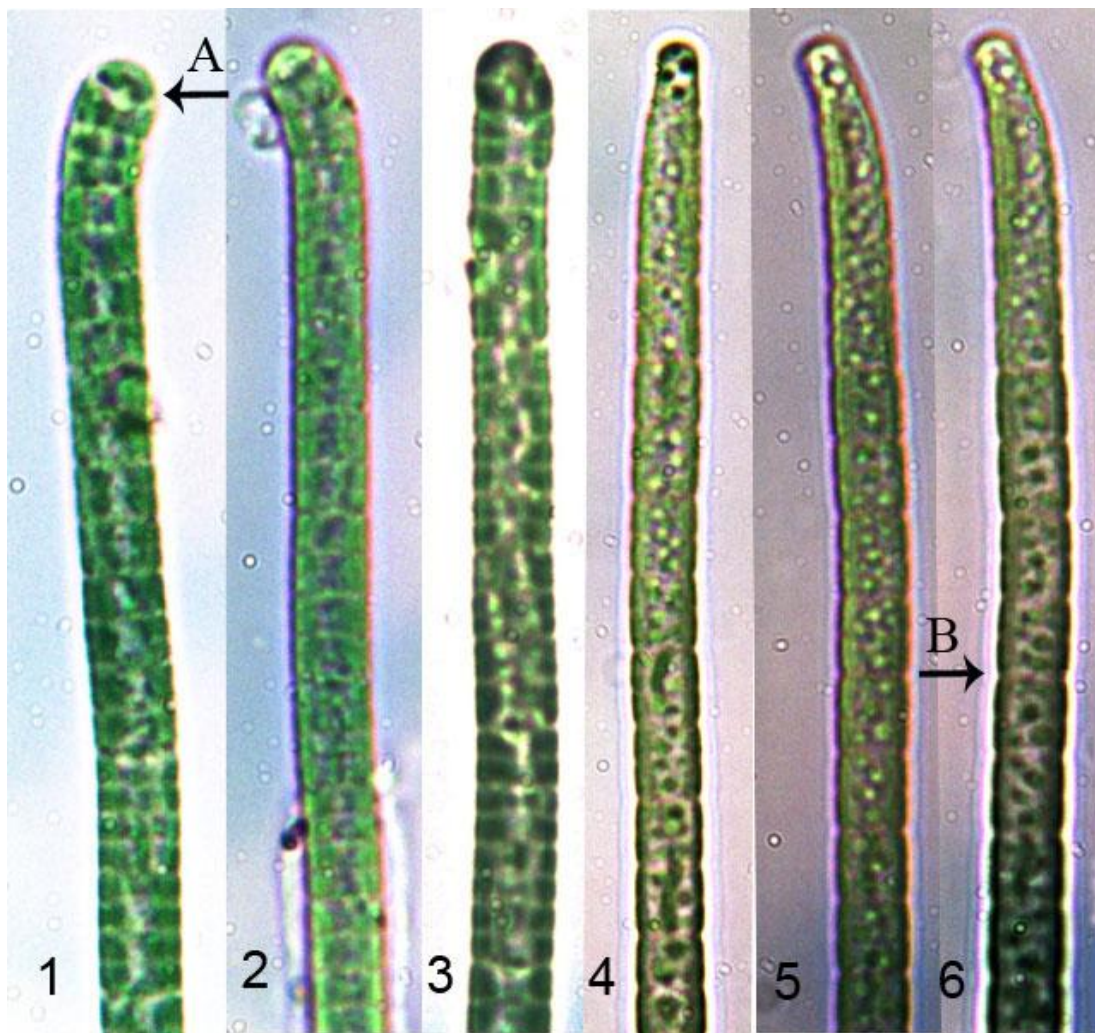
Phormidium autumnale, (A) kalyptra, lokalita: rybník Svareň (1-3), rybník Zálší – „Velký zálešský rybník“ (4-6), rybník Chobot – Vysoké Mýto (7-9), rybník Domoradice (10)

Příloha č. 17: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur



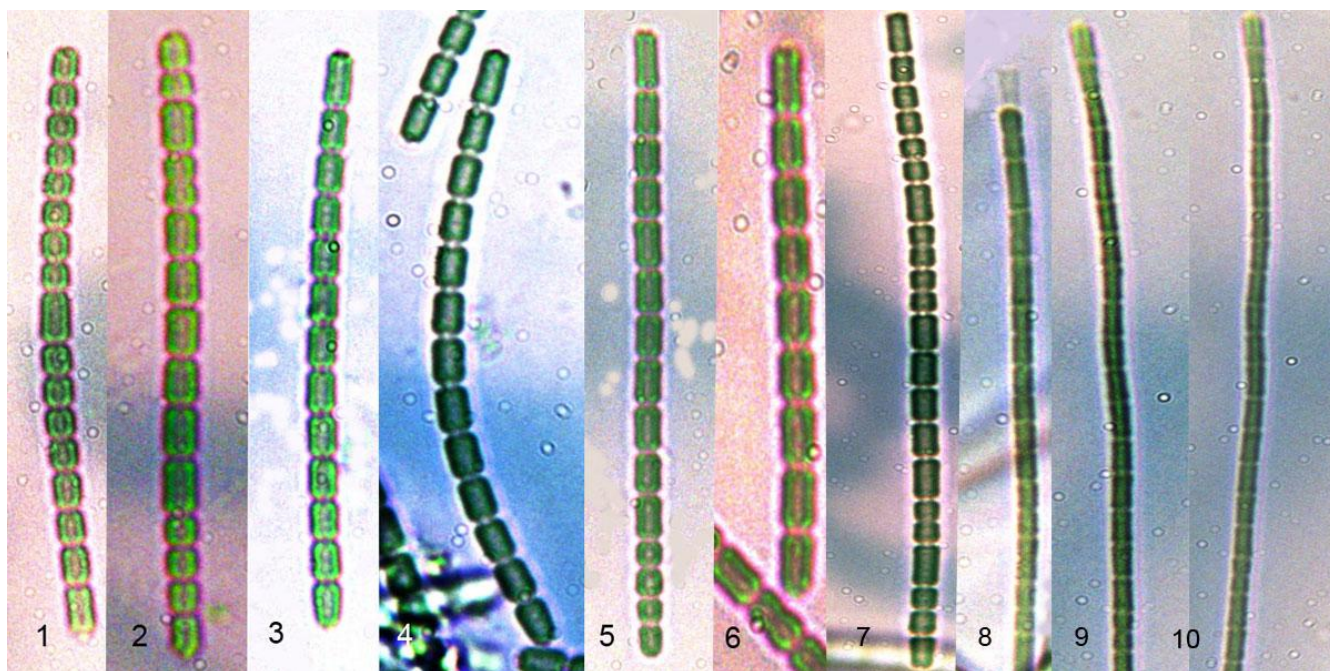
Phormidium cf. *tergestinum*, lokalita: rybník Javorníček (1-3), *Phormidium* sp., (A) průhledná „čepička“ z utrženého slizu, lokalita: rybník Sedlec-Vraclav (4-9)

Příloha č. 18: Obrazová tabule rodu *Phormidium*, fotografie kmenových kultur



Phormidium terebriforme, (A) vlákno ke konci ohnuté, lokalita: rybník Javorníček (1-3),
Phormidium formosum, (B) vlákna zaškrcovaná, lokalita: rybník Svařeň (4-6)

Příloha č. 19: Obrazová tabule rodu *Pseudanabaena*, fotografie kmenových kultur



Pseudanabaena galeata, lokalita: rybník Sedlec-Vraclav (**1-4, 6**), rybník Zálší – „Velký zálešský rybník“ (**5, 7**), *Pseudanabaena catenata*, lokalita: rybník Voletice (**8-10**)