

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Fylogeneze a morfologie kosmopolitní sinice rodu

Microcoleus

Bakalářská práce

Miriam Konderlová

Biologie pro vzdělávání

Biologie pro vzdělávání / Matematika pro vzdělávání (BIma-Mmi)

Prezenční forma studia

Vedoucí práce:

doc. Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.

Olomouc 2022

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Fylogeneze a morfologie kosmopolitní sinice rodu *Microcoleus*“ vypracovala samostatně pod vedením doc. Mgr. Petra Dvořáka, Ph.D., za použití elektronických a bibliografických zdrojů uvedených v této práci.

V Olomouci dne:

Podpis:

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě děkuji doc. Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a postřehy při zpracování bakalářské práce. Dále děkuji také dalším pracovníkům Algologie na Univerzitě Palackého v Olomouci za pomoc a poskytnutí algologické laboratoře.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora:	Miriam Konderlová
Název práce:	Fylogeneze a morfologie kosmopolitní sinice rodu <i>Microcoleus</i>
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra botaniky
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.
Rok obhajoby:	2022

ABSTRAKT

Sinice jsou prastaré prokaryotické organismy vyskytující se po celém světě, kde také zaujímají významnou roli v mnoha oblastech. Tradičně je taxonomie založena na morfologii, ale s příchodem genetických informací se ukázala jako neplatná. Genetická variabilita je mnohem větší než morfologická. Rod *Microcoleus* je kosmopolitní vláknitá půdní sinice. Taxonomie tohoto rodu je problematická a prochází mnoha změnami. Cílem této práce bylo přinést nové poznatky do taxonomie tohoto rodu s použitím 43 kmenů, které byly získány z pěti kontinentů. Na základě genetické analýzy genu 16S rRNA bylo sestaveno 11 skupin, z nichž 10 je přiřazeno do již existujících druhů a 1 je potenciálně novým druhem.

Klíčová slova:	<i>Microcoleus</i> , taxonomie, morfologie, fylogeneze
Počet stran:	45
Počet příloh:	1
Jazyk:	Čeština

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Miriam Konderlová
Name of the thesis: Phylogeny and morphology of the cosmopolitan cyanobacterium *Microcoleus* sp.
Type of thesis: Bachelor
Workplace: Botany department
Thesis supervisor: doc. Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.
Year of defence: 2022

ABSTRAKT

Cyanobacteria are ancient prokaryotic organisms found throughout the world, where they also play an important role in many areas. Traditionally, taxonomy is based on morphology, but with the advent of genetic information, this has been shown to be invalid. Genetic variability is much greater than morphological. The genus *Microcoleus* is a cosmopolitan filamentous soil cyanobacterium. The taxonomy of this genus is problematic and undergoes many changes. The aim of this work was to bring new knowledge to the taxonomy of this genus using 43 strains that were obtained from five continents. Based on the genetic analysis of the 16S rRNA gene, 11 groups were compiled, which of 10 are assigned to existing species and 1 is a potentially new species.

Keywords: *Microcoleus*, taxonomy, morphology, phylogeny
Number of pages: 45
Number of appendices: 1
Language: Czech

Obsah

1. ÚVOD	8
1.1 Taxonomie	9
1.1.1 Vznik Taxonomie	9
1.1.2 Taxonomie sinic a její základní pojmy	9
1.1.3 Druhové koncepty a polyfázický přístup	10
1.1.4 Nový systém klasifikace sinic	11
1.1.5 Současné taxonomické problémy	11
1.1.6 Současně platná definice rodů	12
1.2 Ekologie půdních sinic	13
1.2.1 Faktory prostředí:	13
1.2.2 Vztah genetické rozmanitosti, ekologie a geografie	14
1.3 <i>Microcoleus</i> sp.	16
1.3.1 Zařazení do vyšších taxonomických jednotek	16
1.3.2 Taxonomická historie rodu <i>Microcoleus</i>	16
1.3.3 Ekologická charakterizace	18
1.3.4 Morfologické znaky	19
2. Cíle práce	21
3. Materiály a metody	22
3.1 Lokality	22
3.2 Podmínky kultivace	24
3.3 Morfologická část	24
3.4 Genetická část	24
3.5 Fylogenetické hodnocení	24
4. Výsledky	25
4.1 Fylogenetický strom na základě počtu 43 kmenů	25
4.2 Morfologická analýza	26
5. Diskuse	33
6. Závěr	35
7. Literatura	36
8. Citace obrázků	41
9. Přílohy	42
9. 1 Didaktická část: Myšlenková mapa	42

9.2 Praktická ukázka	43
9.3 Závěr	44
9.4 Zdroje k didaktické části	45

1. ÚVOD

Sinice jsou prastaré prokaryotické organismy vyskytující se globálně ve všech zeměpisných šířkách a nadmořských výškách. V rámci svého globálního rozšíření vytvářejí symbiotické vztahy s dalšími organismy, např: rostliny, houby, řasy apod. Schopnost fotosyntetické aktivity, kdy uvolňují vzdušný kyslík, jim umožňuje zastupovat několik významných rolí. V rámci evoluce se podílejí na vzniku aerobního způsobu života (Bekker et al. 2014). Následně při procesu označovaném jako endosymbiotická teorie vzniká semiautonomní organela eukaryotických buněk, chloroplast (McFadden 1999).

Některé sinice vylučují sekundární metabolity a cyanotoxiny, které mohou být jak škodlivé, tak i velmi přínosné (Dittmann et al. 2013). Mezi sekundární metabolity patří antibakteriální sloučeniny, siderofory a toxiny, které perspektivně můžou být lékem na závažné nemoci, jako je například rakovina (Singh et al. 2011). Tyto látky slouží k přežití a pravděpodobně vznikají při reakci na stres. Mezi stresové situace patří predace/pastva, UV záření, omezenost živin atd. Tyto sinice se nacházejí ve sladkovodních systémech a vytváří velké nárosty, kde se vyskytují v toxické i netoxické formě (Dvořák et al. 2017, Tee et al. 2021).

Například některé druhy *Microcoleus* sp. produkují anatoxin-a (Heath et al. 2016), který v minulosti zapříčinil úmrtí zvířat v mnoha zemích Evropy i Severní Ameriky. Některé nárosty obsahují pouze netoxické sinice, avšak v každém nárostu s toxickými sinicemi se nacházejí i ty netoxické. Příčina není objasněna, ale může být částečně vysvětlena závislostí toxických kmenů na těch netoxických z důvodu ztráty specifických metabolitů (thyamin a další metabolity potřebné při stresových situacích) (Wood et al. 2012). Tyto sinice se liší v požadavcích na živiny. Toxické kmeny se množí v prostředí bohatém na dusík, netoxické kmeny se lépe přizpůsobují změnám koncentrace dusíku v prostředí. Tato koexistence je výhodná pro obě strany (Tee et al. 2021).

Mezi další významné role sinic patří alternativní zdroj energie, použití v čistírnách odpadních vod, při degradaci ropy, hnojení či jako potrava pro zvířata i lidi (*Limnospira*; Nowicka-Krawczyk et al. 2019). Sinice mají význam i při eutrofizaci, kdy vytváří květy, které také vylučují toxiny a mají negativní dopad na životní prostředí, rybolov, rekreační vodní stanoviště a degradaci pitné vody (Dvořák et al. 2017, Hu et al. 2012).

1.1 Taxonomie

1.1.1 Vznik Taxonomie

Biologická rozmanitost organismů je obrovská a k její orientaci nám slouží taxonomická klasifikace. Za otce taxonomie je považován Carl Linné, jelikož zavedl binomickou nomenklaturu, kdy každý organismus je pojmenován dvojslovným názvem pomocí druhového a rodového jména. Tento systém byl zpočátku umělý a nevyhovoval skutečným vztahům, jelikož byly organismy řazeny do hierarchického uspořádání taxonů pouze na základě morfologických podobností a odlišností. Klasifikace se dále rozvíjela tak aby odrážela evoluční vztahy a nebyla v rozporu s přibývajícími fylogenetickými důkazy (Komárek et al. 2014).

1.1.2 Taxonomie sinic a její základní pojmy

Sinice byly zpočátku kategorizovány na základě morfologických vlastností, mezi které patří; typ stélky (kokální, trichální), rozměry buněk, polarita, barva, přítomnost specializovaných buněk (heterocyty, akinety) a další. Klasifikační systém sinic se neustále vyvíjel a s příchodem elektronové mikroskopie, molekulárních a genetických metod se taxonomie sinic přesunula do třech různých směrů. Jedna skupina výzkumníků se snažila systém zjednodušit zmenšením počtu taxonů (Drouet 1968), druhá skupina naopak rozdělovala jednotlivé taxony ve snaze dosáhnout monofylie (Johansen a Casamatta 2005) a třetí skupina hájila cestu opatrnosti a získávání dalších molekulárních dat (Hoffmann 2005, Komárek et al. 2014).

Druhový koncept je soubor kritérií pro teoretické definování druhu, která mají být platná jak pro rozpoznání stávajících, tak pro definování nových druhů. Druhový koncept platný pro eukaryoty však není platný pro prokaryotické organismy z důvodu asexuálního množení a vytváření obrovských populací. Druhový koncept je odlišný od definice druhu, která slouží k praktické identifikaci. Zároveň rozlišujeme druhy definované pouze pomocí genetických dat; tzv. genospecies, a také druhy definované pouze na základě morfologických dat; tzv. morfospecies (Dvořák et al. 2015).

V rámci taxonomie sinic panuje určitý odpor vůči popisování nových druhů, jelikož existuje mnoho nedostatečně popsaných rodů. Rody jsou však monofyletické skupiny druhů. Vědecká komunita se doposud neshodla na univerzálním druhovém konceptu pro sinice nebo na kritériích pro uznání nových druhů (Johansen a Casamatta 2005).

1.1.3 Druhové koncepty a polyfázický přístup

Fenetický druhový koncept spoléhající pouze na morfologickou podobnost nebere v potaz genomickou diverzitu, která je mnohem větší. Koncept biologických druhů (Mayr 1957) zastávající reprodukční izolovanost od ostatních skupin, se pro asexuální organismy často nepoužívá (Johansen a Casamatta 2005). Nicméně se v posledních desetiletích ukázalo, že u prokaryot dochází k čilé a promiskuitní výměně genů pomocí rekombinace. Také o sinicích tedy můžeme uvažovat jako o „kvazisexuálních“ organismech a k identifikaci druhů použít biologický druhový koncept (Bobay a Ochman 2017).

Koncept evolučních druhů vymezuje druh jako zvláštní entitu odlišnou od ostatních v čase a prostoru (Simpson 1950). Tedy evoluční druh je izolovanou populací s vyvinutými genetickými odlišnostmi, tudíž tento koncept není příliš využitelný pro asexuální sinice. Zároveň v tomto konceptu je hlavním problémem určení kritérií potřebných pro určení biologicky zajímavého druhu (Johansen a Casamatta 2005).

Koncept ekotypických druhů (Cohan 2001) se nedávno vyvinul z konceptu evolučních druhů a konceptu koheze (Templeton 1989). Základní charakteristikou je ekotyp jako výsledek ekologické niky. Soudržnou silou zde působí periodická selekce, která má být obdobou reprodukční soudržnosti u předchozího konceptu. Tento koncept je využitelný, avšak existuje příliš mnoho nezávislých linií s vlastní evoluční historií na to, aby byly všechny tyto skupiny uznány (Johansen a Casamatta 2005).

Fylogenetický druhový koncept (Mishler a Theriot 2000) určuje druhy jako nejmenší monofyletické skupiny hodné taxonomického uznání. Monofyletický taxon se vyznačuje apomorfií, odvozeným znakem, vyskytující se pouze u daného druhu. Tento koncept však skrývá problematiku přiměřeného kritéria pro určení skupiny hodné taxonomického uznání (Johansen a Casamatta 2005).

Koncept apomorfních (monofyletických) druhů vychází z předchozího konceptu upraveným pro prokaryotické organismy. Zde je hlavním problémem odvozenost již popsaných znaků a také problematika přiřazování významnosti dané apomorfii. Přesto tento koncept je nejperspektivnější pro sinice (Johansen a Casamatta 2005).

Každý z uvedených i neuvedených konceptů má své klady a zápory, tudíž cesta za nalezením teoreticky i prakticky vhodného konceptu není stále u konce. V posledních letech se rozvinul tzv. polyfázický přístup, který zkoumá druhy na základě morfologických, genetických i ekologických dat. Tento přístup se zdá být nejvhodnější

a ve vědeckých pracích je využíván společně s monofyletickým druhovým konceptem (Johansen a Casamatta 2005).

1.1.4 Nový systém klasifikace sinic

V článku Komárek et al. 2014 uvádí moderní rozdělení sinic do osmi řádů: Gloeobacterales, Synechococcales, Spirulinales, Pleurocapsales, Chroococcales, Chroococcidiopsidales, Oscillatoriales, Nostocales. Tento systém vyšších taxonomických hodností byl určen na základě fylogeneze a morfologie. Klasifikace se bude neustále měnit, jelikož závisí na revizi obsahovaných rodů a druhů, která má před sebou ještě dlouhou cestu (Komárek et al. 2014).

1.1.5 Současné taxonomické problémy

V současné době největším problémem taxonomie sinic jsou polyfyletické skupiny a kryptické druhy, které vznikají na základě mnohem větší rozmanitosti genetických než fenotypových znaků. Předpokládá se, že v každém rodu se kryptické druhy vyskytují (Komárek et al. 2014, Dvořák et al. 2015).

Problémem taxonomie jsou tedy tradiční morfologické rody, které jsou sice zřetelně odlišitelné, avšak chybí molekulární data (kryptické rody). Tyto rody jsou většinou polyfyletické a vyžadují doplnění těchto dat a následnou revizi. U některých těchto morfologicky odlišných rodů se analýzou získaných molekulárních dat zjistilo, že jsou si velice podobné, a proto je potřeba dané genetické rozdíly nalézt (Komárek et al. 2014).

Existuje mnoho morfologicky identických druhů, které nemají stejnou evoluční historii, tomuto jevu se říká konvergentní evoluční událost. Tento trend je u sinic poměrně častý, například mnohobuněčnost se vyvíjela několikrát nezávisle na sobě. Kromě opakovatelné konvergence mohou být polyfyletické rody a kryptické druhy způsobené také morfologickou identifikací. Jak již bylo zmíněno morfologie sinic vykazuje mnohem menší pestrost než molekulární markery, proto při taxonomické revizi by měly tyto charakteristiky zastupovat mnohem větší roli. Tato skutečnost však neznamená opomenutí dosud používaných metod. Současně nejvhodnější postup na práci s taxonomií je použití polyfázického přístupu. (Johansen a Casamatta 2005, Dvořák et al. 2015).

V poslední řadě současným problémem je samotná aplikace sinic v praxi, kdy nové taxonomické poznatky jsou přijímány zpožděně (Komárek et al. 2014). Společně

s nejasným přístupem k druhovým konceptům a neschopností pěstovat většinu sinic je fylogenetická rekonstrukce občas velmi tvrdým oříškem (Dvořák et al. 2017).

1.1.6 Současně platná definice rodů

Na základě nejnovějších objevů v rámci taxonomie sinic byl stanoven koncept obsahující tři skupiny kritérií pro uznání stávajících či popsání nových rodů. První je zřetelná fylogenetická pozice postavená na sekvenci genu 16S rRNA, která vykazuje 95% a menší podobnost se sesterskými skupinami druhů v jiném rodu. Druhým pravidlem je morfologické rozlišení od geneticky podobných skupin (entit) vyznačující se charakteristickou apomorfií či jinou biologickou specifikací (výskyt heterocytů, akinet, typ dělení). Společná ekologická nika je poslední skupinou kritérií, např. sladkovodní, mořské, půdní, planktické, aerofytické, pouštní či termální typ stanoviště. Právoplatný rod se tedy vyznačuje jedinečnou kombinací molekulárních, morfologických a ekologických charakteristik (Komárek et al. 2014).

1.2 Ekologie půdních sinic

V rámci polyfázického přístupu je nedílnou součástí ekologie daného kmene. Sinice zastávají několik důležitých rolí v rámci ekosystémů, proto distribuční, ekologické vzorce a faktory prostředí hrají významnou roli při fylogenetických analýzách. Sinice mají obdivuhodnou schopnost přebývat na okraji vyhynutí či přežití. Díky vyvinutým strategiím jsou schopny kolonizovat nehostinná stanoviště. Dané strategie pomáhají sinicím splýnout s prostředím a využít ho ve svůj prospěch nebo dokonce změnit jeho vlastnosti na vhodnější pro život. Například jsou schopny ovlivnit pórovitost půdy pro lepší hospodaření s vodou nebo pomocí slizové pochvy se lehce přichytit k povrchu hornin (Wynn-Williams 2000).

1.2.1 Faktory prostředí:

Voda je prvořadým faktorem důležitým pro přežití zejména v pouštní oblasti. Pouštní oblasti jsou jak horkého, tak studeného charakteru. Reakce na vodní stres se u mnoha prokaryot liší a může se perspektivně jednat o vlastnost hodnou taxonomického rozlišení druhů. Strategie na obranu proti vysychání je umožněna tolerancí velmi nízkého vodního potenciálu (Potts a Friedmann 1981). Počáteční reakcí na dehydrataci je produkce osmoprotektantů, které brání organismus vůči snížení vodního potenciálu v okolí. Tyto látky se hromadí ve vysokých koncentracích bez dopadu na metabolickou aktivitu. Mezi tyto látky patří trehalóza, sacharóza a glukosyl glycerol (Reed et al. 1984). Při kombinaci stresorů vysychání a hypersolných podmínek dochází k produkci glycin betainu (Warr et al. 1988). Celý proces je popsán pod názvem „hypotéza náhrady vody“ (Crowe et al. 1992). V chladných pouštních oblastech jsou navíc produkovány kryoprotektanty (Montiel a Cowan 1993) na ochranu před chladem (Wynn-Williams 2000).

Trehalóza zastává také velkou funkci při nedostatku vody v membráně. K tomuto dochází až při vstupu do spícího stádia, ve kterém organismy přečkávají nepříznivé podmínky a čekají na opětovnou rehydrataci a obnovení metabolické dráhy (Crowe et al. 1992). Pro aktivaci pouštních krust mnohdy stačí pouhé kapky rosy (Lange et al. 1992). Organismy přizpůsobené na život v extrémních suchých oblastech jsou schopny rychlé reakce na malý příjem vody. V některých případech dokonce pravidelná dehydratace a rehydratace je klíčová pro další rozvoj dané populace. Voda v extrémních stanovištích je dodávána pomocí deště, sněhu, kondenzace anebo vodní páry (Wynn-Williams 2000).

Světlo a teplota jsou dalšími důležitými faktory pro růst a produktivitu sinic. Kvůli přechodu bodu mrazu je úloha teploty úzce spojena s vodou. Intenzita světla působí na výkonnost fotosyntézy, která také závisí na přítomné vodě. V přítomnosti kapalné vody je fotosyntéza 19x výkonnější než ve vysušeném stavu (Vestal 1988). Neodmyslitelnou součástí fotosyntézy jsou pigmenty. Hlavním fotosyntetickým pigmentem je chlorofyl-a a pomocnými pigmenty jsou xantofyly a karotenoidy, karotenoidy plní i ochrannou funkci před UV zářením. U pouštních druhů byly vyvinuty speciální pigmenty pohlcující UV záření (Garcia-Pichel et al. 1993). Mezi tyto pigmenty patří scytonemin a MAA (aminokyselina podobná mykosporinu) (Wynn-Williams 2000).

Jednotlivé mechanismy na ochranu před světlem se liší v různých vrstvách půdních krust. Důležitým mechanismem je růst v krátkodobém horizontu při dostatečném zásobení vodou a zadržení metabolické aktivity při dehydrataci. Jedním z dalších mechanismů je pohyb od světla a UV záření směrem do hloubky půdních krust (Garcia-Pichel a Pringault 2001, Hu et al. 2012).

Stresový faktor soli a vody má negativní dopad na růst a fotosyntetické zotavení. Stejně jako u vodních mechanismů dochází k produkci trehalózy pro vyrovnání osmotického tlaku. Poprvé se také objevují morfologické vlastnosti v rámci obranných mechanismů, kdy kulovité buňky lépe reagují na stres vyvolaný vodou a solí (Obana et al. 2007, Hu et al. 2012).

Mezi další faktory patří oxid uhličitý, živiny a větrné podmínky. Oxid uhličitý je klíčový pro efektivitu fotosyntézy a mezi hlavní živiny považujeme dusík N, fosfor P, železo Fe, hořčík Mg a další. Vítr na první pohled může sloužit k rozptylu sinic, avšak v mnoha písčitých půdách mají sinice naopak stabilizační charakter (Booth 1941). Tento objev je velice významný pro zamezení rozšiřování pouští a polopouští. Problémem uplatnění tohoto objevu spočívá ve výskytu několika druhů najednou, a tím je přínos jednotlivých druhů na stabilizaci půdy nejasný (Hu et al. 2012).

1.2.2 Vztah genetické rozmanitosti, ekologie a geografie

Mikroorganismy byly považovány za tak malé a snadno šířitelné, že nebyly brány v úvahu bariéry disperze v rámci celého světa. Tato skutečnost je shrnuta do Baas-Beckingova principu: „všechno je všude, ale životní prostředí si vybírá“. Uvedený princip je ukázán pouze na základě morfologických dat, molekulární data nebyla zahrnuta. Dvořák et al. (2012) dokázal platnost rozptylových bariér na kontinentální úrovni. Další rozptylové bariéry nebyly dostatečně prokázány, což může být způsobeno nedostatkem

dat či přílišnou složitostí distribuce a diverzifikace (Dvořák et al. 2012, Stanojković et al. 2022).

Klimatické podmínky a geografická vzdálenost mají vliv na distribuci a diverzifikaci sinic. Změnou těchto podmínek dochází ke změně struktury společenstva, četnosti jednotlivých organismů a rychlosti růstu. Na speciaci, vzniku nových druhů, se podílí izolace, selekce, šíření, genetický drift a mutace. Mikroorganismy projevují mnohem větší schopnost šíření, která může probíhat pomocí atmosféry, zvířat či lidského úsilí. Evoluce prokaryotických organismů je způsobena mimo jiné i vysokou adaptabilitou, malou velikostí jedinců a schopností vytvářet klidové fáze (Dvořák et al. 2012, Stanojković et al. 2022).

Na genetickou rozmanitost působí tedy environmentální podmínky: teplota, srážky, složení půdy a typ krusty. Například u kosmopolitně rozšířených sinic *Raphidiopsis raciborski* a *Microcystis aeruginosa* byly zjištěny pozoruhodné vzorce diverzifikace. Tyto dva druhy vykazují nejvyšší genetickou rozmanitost v tropických oblastech. Klima mělo vliv na genetickou rozmanitost u obou druhů, ale u *Raphidiopsis raciborski* byl vliv výraznější, dokonce vyjadřoval vztah vzhledem k zeměpisné šířce výskytu dané populace. S rostoucí geografickou vzdáleností klesala genetická podobnost, a tedy izolace dle vzdáleností má významný vliv na speciaci (Ribeiro et al. 2020). Změna klimatu výrazně ovlivňuje distribuci a rozmanitost sinic (Stanojković et al. 2022).

Význam vztahu mezi jednotlivými druhovými znaky a evoluční příbuzností je udáván pomocí fylogenetického signálu. Dříve byl tento signál použit u sinic pouze na základě morfologických, fyziologických dat a některých faktorů prostředí (teplota povrchu/moře, živiny, pH). Toto měřítko slouží k ukázání vztahu mezi ekologií a distribucí prokaryotických organismů. Signifikantní fylogenetický signál pro všechny měřené proměnné precipitace a teploty ukázal významný vliv daných faktorů na diverzifikaci druhů v rodu *Microcoleus* (Stanojković et al. 2022).

1.3 *Microcoleus* sp.

1.3.1 Zařazení do vyšších taxonomických jednotek

Rod *Microcoleus* Desmazieres ex Gomont 1892 patří do polyfyletického řádu *Oscillatoriales* popsáném v Gomont 1892. Původně bylo popsáno 15 rodů, nyní obsahuje 47 rodů. Základní charakteristikou jsou vláknité taxony s úzkými trichomy, parietálními nebo nepravidelně uspořádanými thylakoidy. Do tohoto řádu momentálně spadá i jeden kokoidní rod *Cyanothece*, který tvoří určitý mezistupeň od *Chroococcales* (Komárek et al. 2014).

Největší podskupinou řádu *Oscillatoriales* je čeleď *Microcoleaceae*. Mnoho obsahovaných rodů je popsáno podle moderních kritérií jako monofyletické skupiny. Jiné skupiny však tuto charakteristiku postrádají nebo dokonce byly na základě dostupných dat prohlášeny za polyfyletické, například rod *Geitlerinema* (Hašler et al. 2012) a tradiční rod *Phormidium* (Komárek a Anagnostidis 2005). Byly jasně prokázány úzké vztahy mezi jednou částí tradičního rodu *Phormidium* k rodu *Microcoleus*, tato problematika je dále řešena v následující podkapitole. Čeleď *Microcoleaceae* zahrnuje velký počet mořských, sladkovodních, bentických, pelagických, perifytických i půdních sinic (Strunecký et al. 2013, Komárek et al. 2014).

Jako první *Microcoleus* popsal Gomont v roce 1892, nejnovější studie tento rod považují za kosmopolitní, polyfyletický a vyžaduje taxonomickou revizi. Jako typový druh je dán *Microcoleus vaginatus*, který dominuje ve většině půdních krust (Hašler et al. 2012, Hu et al. 2012, Komárek et al. 2014).

1.3.2 Taxonomická historie rodu *Microcoleus*

V revizi Komárek a Anagnostidis (2005) představili taxonomii neheterocytárních vláknitých sinic na základě morfologických kritérií. Zde je rod *Microcoleus* řazen do čeledě *Phormidiaceae* Komárek a Anagnostidis 1998 a podčeledě *Microcoleoideae* Hansgirg 1892. Původně půdní druh *Microcoleus vaginatus* je popsán jako potenciálně kosmopolitní. V článku Hašler et al. (2012) je toto tvrzení dokázáno. Taxonomická revize Komárek et al. (2014) uvádí rod *Microcoleus* v rámci nově definované čeledě *Microcoleaceae* (Komárek a Anagnostidis 2005, Hašler et al. 2012, Komárek et al. 2014).

Hašler et al. (2012) studoval rozsáhlý počet epipelických sinic *Geitlerinema*, *Microcoleus* a *Phormidium*. Molekulární analýza genu 16S rRNA u některých kmenů obsahovala část 11 párů bází (Siegesmund et al. 2008), které jsou typickým znakem pro

Microcoleus vaginatus. Tento rod pravděpodobně obsahuje více druhů, které doposud nebyly určeny a popsány. Výsledky tohoto výzkumu také naznačily možný výskyt kryptických druhů, které nejsou odlišitelné na základě genu 16S rRNA. Také byla opět zaznamenána morfologická, ekologická i molekulární příbuznost mezi *Microcoleus vaginatus* a *Phormidium autumnale*. Jedním z mála odlišujících znaků je výskyt nápadných granulí na příčných stěnách a celkově širších vláken u *M. vaginatus* (Siegesmund et al. 2008). Tento problém je dále řešen v následujícím odstavci (Hašler et al. 2012, Dvořák et al. 2017).

Strunecký et al. (2013) revidoval *Microcoleus vaginatus* a *Phormidium autumnale* na základě počtu 92 kmenů s použitím morfologických i molekulárních metod. Problém podobnosti mnoha znaků mezi těmito druhy byl zaznamenán již u Komárek a Anagnostidis (2005). Výsledkem výzkumu je přenesení *Phormidia autumnale* do *Microcoleus sensu stricto*. Dalším důležitým zjištěním je malá příbuznost mezi typovými druhy rodů *Phormidium* a *Microcoleus*, čili veškeré druhy příbuzné k rodu *Microcoleus* nemohou patřit do *Phormidium*. V této studii byla opět ověřena polyfylie rodu *Microcoleus*, která na vyřešení pravděpodobně vyžaduje více genetických znaků než jen 16S rRNA. Jako poslední výsledky ukázaly velkou morfologickou variabilitu druhu *Microcoleus vaginatus* a uznává, že všechny kmeny náležící do tohoto druhu nejspíše vytvářejí druhový komplex (Strunecký et al. 2013). Toto zjištění je hlavním předmětem této práce.

Revizí *Microcoleus chthonoplastes* byl na základě molekulárních, morfologických a ekologických dat vytvořen rod *Coleofasciculus*. Základní charakteristikou je výskyt několika trichomů v jedné nelamelární a bezbarvé pochvě. Trichomy jsou na konci nezužující, zaoblené a bez kalyptry. Typickým ekologickým stanovištěm je litorál brakických či mořských vod (Siegesmund et al. 2008, Dvořák et al. 2017).

V úvodu jsou zmíněny toxické a netoxické druhy sinic. Tato zvláštnost byla detekována u sinic rodu *Microcoleus* a vysvětluje odlišné typy evolucí. Toxické kmeny se vyvíjely pomocí strategie produkce anatoxinů na úkor jejího růstu a zefektivnění genomu, který takhle nabývá menších rozměrů. Netoxické kmeny mívají větší genom a díky tomu si mohou vytvořit určité specifické metabolity potřebné k životu nebo látky na pomoc se solným stresem. Tyto rozdílné strategie vytvořily jedinečné pouto, bez kterého toxické kmeny nemohou žít samostatně (Tee et al. 2021).

Celkově z 30 popsaných druhů pouze 7 vykazuje jasnou příbuznost k *Microcoleus vaginatus* (*M. amplus*, *M. acremannii*, *M. antarcticus*, *M. baicalensis*, *M. rushforthii*, *M. subandinus* a *M. Terrestris*). Zbývající druhy mají zúžené křížové stěny, koncové buňky delší než širší a nemají kalyptru. Existuje také několik druhů odlišných od obou morfologických typů. Z důvodu ustanovení *Microcoleus vaginatus* jako typový druh, musí být nepřibuzné druhy přemístěny do již popsaných nebo nových rodů (Strunecký et al. 2013).

V nejnovějším článku Stanojković et al. (2022) uvádí počet 13 různých linií druhu *Microcoleus vaginatus*, kdy některé dokonce představovaly potencionálně nové druhy. Druhovú variabilitu tedy stále není dostatečně prozkoumána a vyžaduje revizi na základě většího počtu kmenů a dat (Stanojković et al. 2022).



Obrázek 1 Mikrofotografie kmene M2 B5.

1.3.3 Ekologická charakterizace

Zpočátku byla celkově ekologie sinic opomíjená, nebyly uvažovány rozptylové bariéry ani jiné ekologické vlivy na speciaci. *Microcoleus vaginatus* zpočátku vykazoval specifickou ekologii pouze v rámci půdního společenství, následně byla jeho ekologie rozšířena o extrémní stanoviště (horké a studené pouště), kde hraje důležitou roli při biogeochemickém cyklu a stabilizaci písčité půdy svými polysacharidy. Nyní je

považován za kosmopolitní druh obývající převážně bentické a subaerofytické lokality (Garcia-Pichel et al., 1996, Dvořák et al. 2012, Hašler et al. 2012, Stanojković et al. 2022).

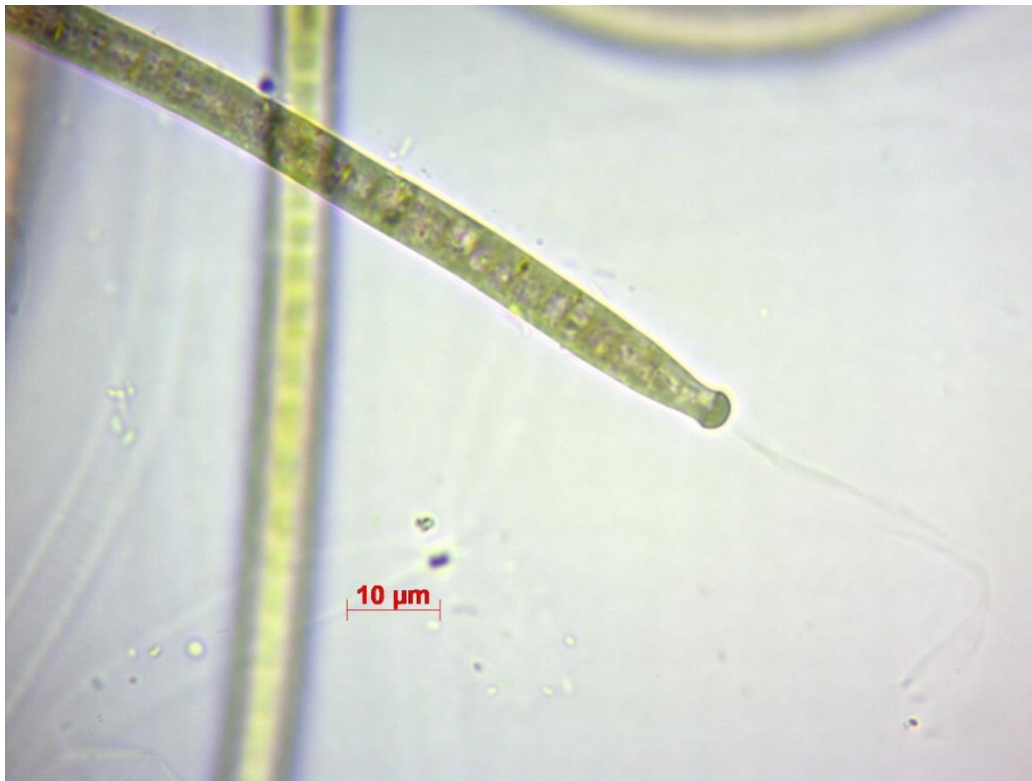
Dvořák et al. (2012) zkoumal globální rozšíření druhu *Microcoleus vaginatus* ve smyslu prostorové a časové charakterizace, aby ověřil a našel prostorové a evoluční bariéry šíření v kontinentálním měřítku mezi Evropou, Severní Amerikou a Asií. Molekulární výsledky viditelně rozlišily kmeny z Evropy od těch z Asie a Severní Ameriky. Izolovanost nebyla úplná, byly detekovány přechodné kmeny. Provázanost výsledků mezi Asií a Severní Amerikou je mimo jiné způsobena pravidelnými proudy prachu mezi pouštěmi. Mezi hlavní speciální mechanismy jsou považovány periodický výběr, horizontální přenos genů a homologní rekombinace. Alopatrie (geografická izolace) kvůli svému dočasnému charakteru je považována za důležitý faktor, ale nikoliv za rozhodující (Dvořák et al. 2012).

Na diverzifikaci se významně podílí klimatické podmínky, kdy konkrétně teplota a srážky výrazně ovlivňují společenstva s převažujícím výskytem *Microcolea*. Jednotlivé kmeny se také shlukují dle příslušnosti k dané evoluční linii a mají shodné teplotní a srážkové požadavky. Změna klimatu může viditelně ovlivnit nejen strukturu těchto biotopů, ale také vzorce rozmanitosti druhu *Microcoleus vaginatus* (Stanojković et al. 2022).

1.3.4 Morfologické znaky

Jedním ze základních morfologických znaků je výskyt většího počtu vláken v jedné společné pochvě. V rámci revizní studie bylo zjištěno, že tento znak je dán ekologicky a v novodobé taxonomii se nejedná o diagnostický znak (Strunecký et al. 2013). Jednotlivé trichomy jsou válcovitého tvaru se zúženými či rovnými konci a možným výskytem terminální kalyptry. Počet kalypter je menší u rychle rostoucí populace. Buňky jsou kratší než širší nebo víceméně pravidelného tvaru o průměru 4-10 μm (Strunecký et al. 2013). Slizová pochva je tenká, bezbarvá, pevná nebo rozptýlená. Buňky mají jasnou, tmavou nebo šedavě zelenou barvu, která může být v některých případech i nažloutlá, nahnědlá či načervenalá. Tento znak závisí na poloze daného vlákna v populaci, různé barevné variace byly detekovány i u jednoho trichomu. Vlákno se rozpadá nekrotickými buňkami. Populace vytváří tenké, želatinové a celistvé nárosty na podkladu nebo lanové struktury (Komárek a Anagnostidis 2005, Strunecký et al. 2013).

Dceřiné buňky rostou do velikosti mateřské buňky, poté nastává dělení buněk. Nepravidelně fascikulované thylakoidy, postupné dělení a vložka 11 bp v 16S rRNA jsou charakteristickými rysy pro rod *Microcoleus* (Strunecký et al. 2013).



Obrázek 2 Mikrofotografie kmene F6 B4.

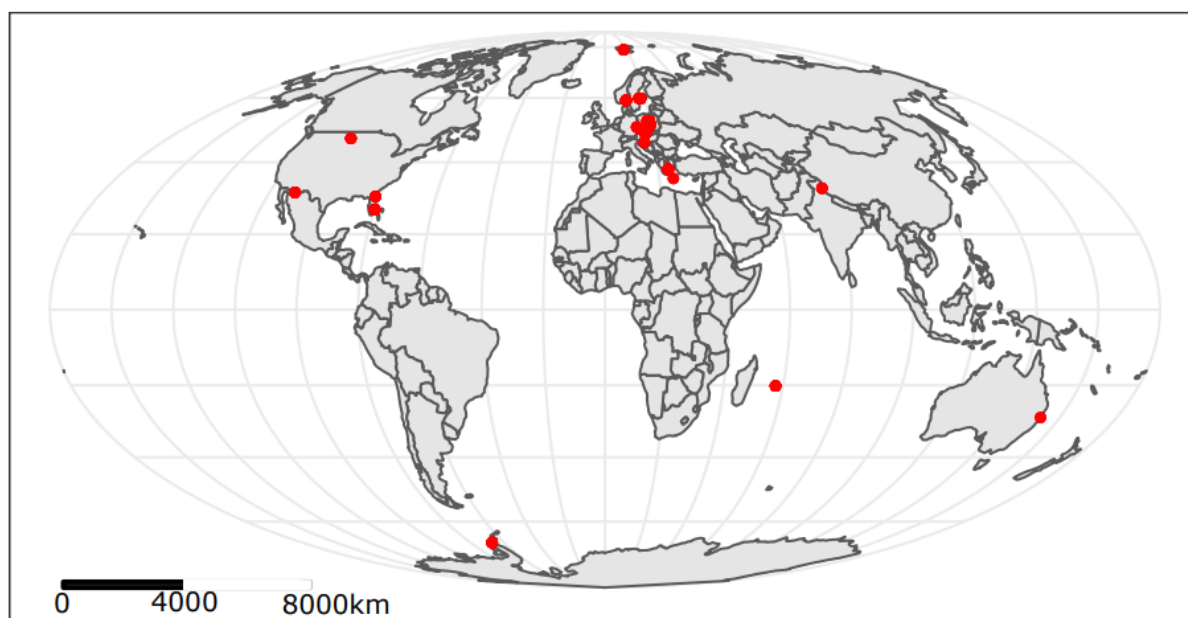
2. Cíle práce

Cílem této práce je přinést nové poznatky z taxonomie rodu *Microcoleus*. Morfologická variabilita 43 kmenů bude zkoumána pomocí světelné mikroskopie a genetická část bude zkoumána použitím sekvencování 16S rRNA a ITS.

3. Materiály a metody

3.1 Lokality

Sinice rodu *Microcoleus* je kosmopolitně rozšířená. Jednotlivé populace jsou ovlivněné přímo svým prostředím (Hašler et al. 2012), proto vzorky pro tuto práci pochází z různých koutů světa z rozličných stanovišť. Původně nejspíše pochází *Microcoleus* z půd Evropy (Stanojković et al. 2022), avšak dále se rozšířil na všechny kontinenty, a i na různé typy stanovišť. Pro tuto práci byly použity kmeny, jež jsou součástí velké kulturní sbírky, která byla započata roku 2019 a nachází se na Katedře botaniky Univerzity Palackého v Olomouci (Stanojković et al. 2022). Tato sbírka obsahuje 495 klonálních kultur a pro tuto práci byl použit výběr 43 kmenů. Lokality všech těchto vzorků znázorňuje mapa na následujícím obrázku č. 3.



Obrázek 3 Mollweideova projekce mapy odběrových míst *Microcolea* spp. (Stanojković et al. 2022).

Následující tabulka ukazuje jednotlivé použité kmeny v závislosti na jejich poloze a charakteristice daného stanoviště.

Tabulka 1 Soupis použitých kmenů, jejich poloha a popis stanoviště

Kmen	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Lokalita	Země
A2 C2	-67,13342	-67,49444	mechová vegetace	Antarktida
A2 C5	-67,13342	-67,49444	mechová vegetace	Antarktida
A2 D5	-67,13342	-67,49444	mechová vegetace	Antarktida
A6 C5	-67,14156	-67,49562	mechová vegetace	Antarktida
ARI1 B5	-110,9076	31,41316	půda	USA
AT3 A2	23,747791	37,93935	půda	Řecko
AT8 A3	23,723819	37,94242	půda	Řecko

AT8 B1	23,723819	37,94242	půda	Řecko
AT9b C2	23,72647	37,93584	půda	Řecko
AT9b C3	23,72647	37,93584	půda	Řecko
AT9b C4	23,72647	37,93584	půda	Řecko
B4 C1	16,901246	48,6607	louže	Rakousko
B5 D4	16,905379	48,64534	louže	Rakousko
3-18 C1	17,2644258	49,5770106	louže	Česká republika
CZ3 B2	15,258152	49,93385	půda	Česká republika
D2 b6	15,258152	49,93385	půda	Česká republika
F10 A2	-80,06007	26,69013	půda	USA
F10 B5	-80,06007	26,69013	půda	USA
F4 D5	-81,50619	30,26645	půda	USA
F6 B3	-81,50619	30,26645	půda	USA
F6 B4	-81,50619	30,26645	půda	USA
F8 C1	-80,06007	26,69013	půda	USA
F8 D1	-80,06007	26,69013	půda	USA
K4 B3	17,453765	49,27483	půda	USA
LAD1 D5	78,26165	32,59576	půda	Indie
M2 B5	57,507761	-20,15665	louže	Mauritius
MON1 C5	-104,6913	47,07719	půda	USA
N3 A4	10,395506	59,06783	půda	Norsko
N9 A2	10,401542	59,26936	louže	Norsko
N9 B1	10,401542	59,26936	louže	Norsko
Pol8 C1	19,622162	52,45965	půda	Polsko
POL12 B3	19,707491	51,35447	půda	Polsko
Pol17 C6	19,105952	50,81183	půda	Polsko
POL12 B4	19,707491	51,35447	půda	Polsko
Pol14 D6	19,714972	51,30731	půda	Polsko
Pol17 C2	19,105952	50,81183	půda	Polsko
S13 B4	17,044925	59,893	půda	Švédsko
S36a B3	17,65673	59,83863	půda	Švédsko
S36b A3	17,65673	59,83863	půda	Švédsko
SVA1 B3	15,08025	77,04529	půda	Špicberky
T3 D1	17,379167	49,31109	louže	Česká republika
W1 18aA5	17,608435	59,81458	půda	Švédsko
Z1 C4	15,924869	45,78339	louže	Chorvatsko

Vzorky pocházejí ze tří typů stanovišť: nejčastěji půdy, louže a také mechu. Pár kmenů pochází ze studenější oblasti např. Antarktidy, Švédska, Norska a Špicberků. Nejčastější zastoupení je v proměnlivém podnebí Evropy a Severní Ameriky v rámci zemí Polska, České republiky, Rakouska a USA. Významné zastoupení mají také kmeny z teplejších oblastí jako jsou Řecko, Mauritius a Indie. Tento rod je kosmopolitně rozšířen nejen v rámci zeměpisné délky a šířky, ale také nadmořské výšky, proto jednotlivé kmeny se vyskytují v přímořských, nížinných i horských oblastech.

3.2 Podmínky kultivace

Jednotlivé kmeny jsou uschovávány v tekutém Z-médiu při teplotách 22 ± 1 °C, osvětlení $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ a s periodou světelného režimu 12/12 (světlo/tma) (Stanojković et al. 2022).

3.3 Morfologická část

Část kultivovaného vzorku společně s médiem Z byl v laminárním boxu nanesen na podložní sklíčko a přikryt krycím sklíčkem. Dále pod zvětšením 1000x byl vzorek zkoumán světelným mikroskopem (Zeiss Primo Star) s kamerou (AxioCamERc5s). Jednotlivé pozorované morfologické vlastnosti jsou: barva, přítomnost a viditelnost slizové pochvy, kalyptra, tvary terminálních buněk. Celkově bylo zhotoveno 30 různých mikrofotografií na jeden kmen. V každé mikrofotografii byla změřena šířka a délka libovolné buňky pomocí programu AxioVision Rel. 4.8.

3.4 Genetická část

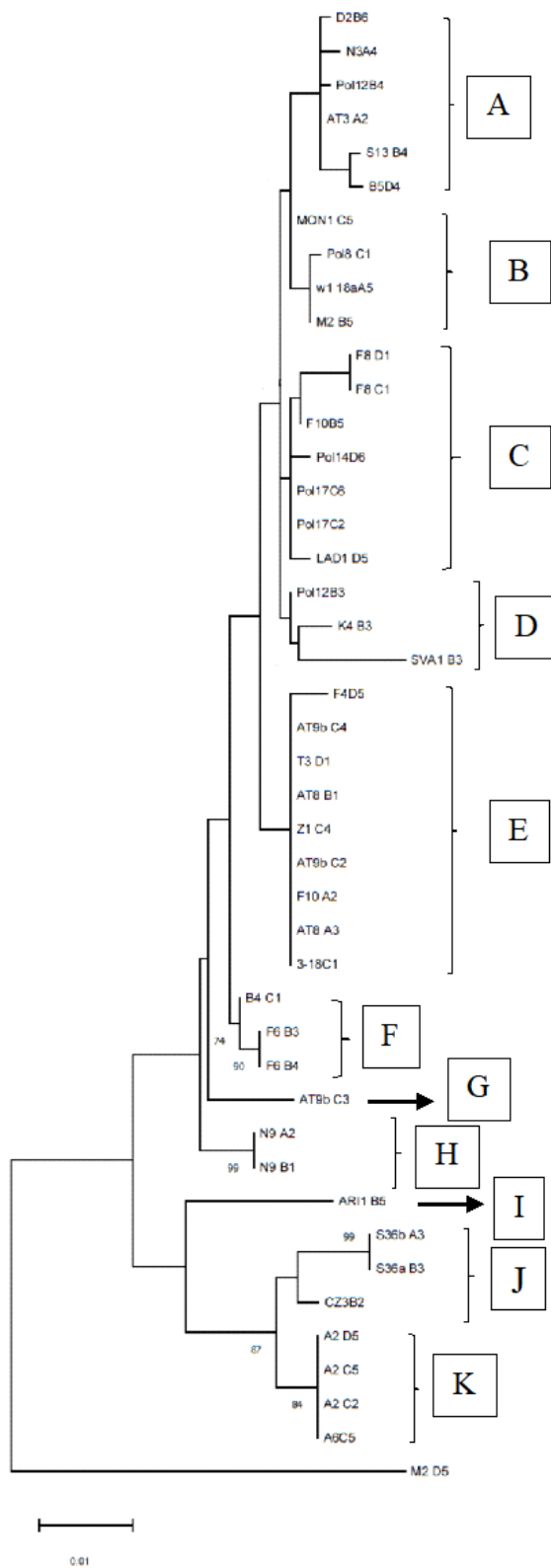
Jednotlivé kmeny jsou součástí velké kolektivní sbírky a jejich genomy jsou volně přístupné v GenBank. Popis sběru, kultivace, extrakce DNA, PCR amplifikace genu 16S rRNA a jeho sekvencování je popsáno v článku Stanojković et al. 2022. Na PCR amplifikaci byly použity primery P1 (5'-CTCTGTGTGCCTAGGTATCC-3') a P2 (5'-GGGGAATTTCCGCAATGGG-3'), na 40 μl PCR reakce bylo 17 μl sterilní vody, 1 μl každého primeru, 1 μl DNA šablony ($50 \text{ ng}\mu\text{l}^{-1}$) a 20 μl EmeraldAmp Max HS PCR Master Mix. Pro sekvencování produktů byly navíc využity primery P5 (5'-TGTACACACACCGCCCGTG-3') a P8 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCACA-3') (Hašler et al. 2012; Stanojković et al. 2022).

3.5 Fylogenetické hodnocení

Fylogenetická analýza byla provedena pomocí programu Mega X. (Kumar et al. 2018) za použití Maximum Likelihood v základním nastavení, modelem GTR+I+G a multiple sequence alignment s použitým algoritmem Muscle (Edgar 2004). Topologie fylogenetického stromu je testována pomocí metody bootstrapu s počtem 200 replikací. Na základě tohoto fylogenetického stromu byly následně sestaveny obrazové tabule daných kmenů.

4. Výsledky

4.1 Fylogenetický strom na základě počtu 43 kmenů

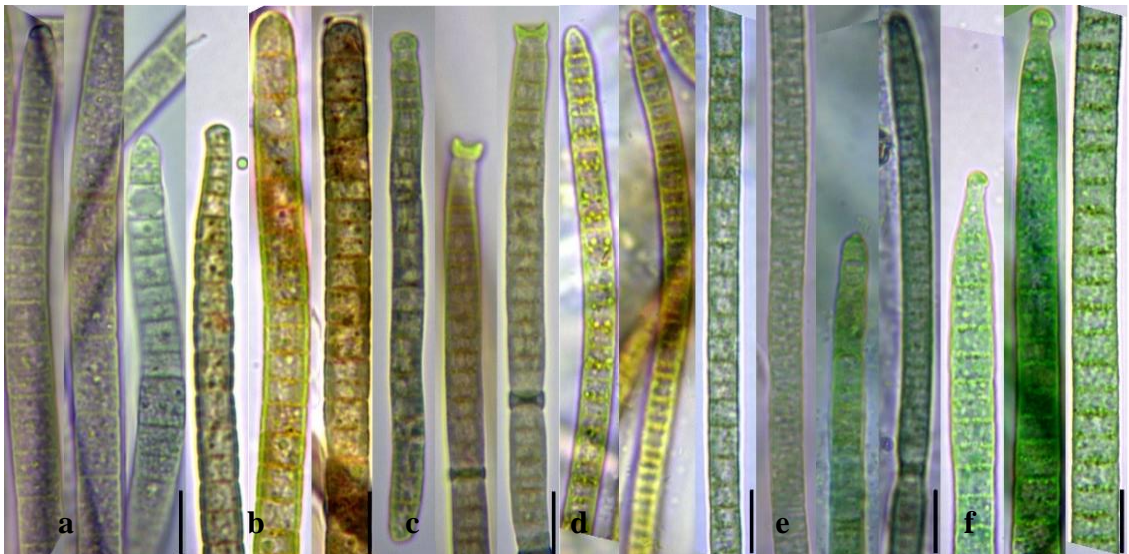


Obrázek 4 Fylogenetické vztahy kmenů *Microcoleus vaginatus* použitých v této práci. Analýza je založená na sekvenci genu 16S rRNA, a výsledky jsou na základě metody bootstrapu s počtem 200 replikací.

Na základě genetické analýzy genu 16S rRNA bylo 43 kmenů rozděleno do 11 skupin. Dvě skupiny jsou zastoupeny jediným členem, jedná se o skupinu G, zastoupenou kmenem AT9b C3, a skupinu I, zastoupenou kmenem Ari1 B5. Největší skupina E je zastoupena devíti kmeny. Většina skupin vykazuje malou bootstrapovou hodnotu, kromě skupin F, H, K, které mají tuto hodnotu větší než 70. Kmen F má bootstrapovou hodnotu větší než 70 u dvou kmenů ze tří (Kmeny S36b A3 a S36a B3).

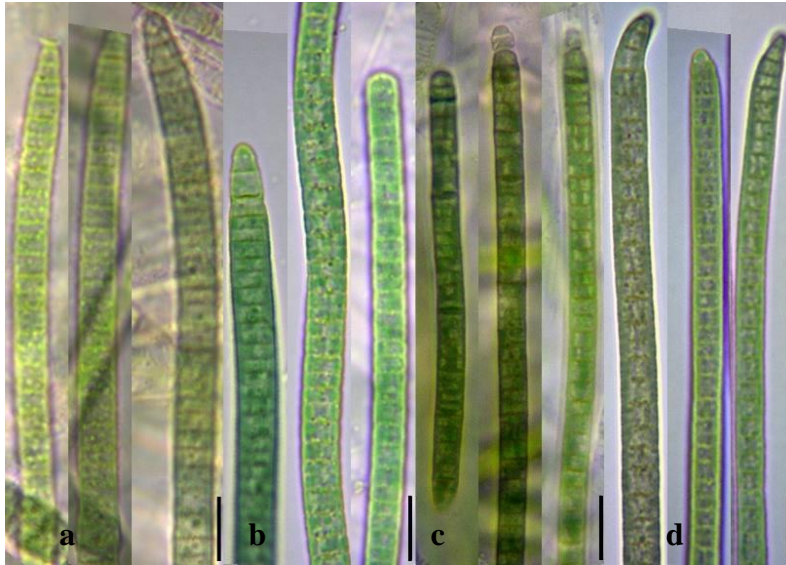
4.2 Morfologická analýza

Jednotlivé kmeny byly rozděleny do 11 skupin na základě genetické příbuznosti.



Obrázek 5 Obrazová tabule skupiny A, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení: a-D2 B6, b-N3 A4, c-Pol12 B4, d-At3 A2, e-S13 B4, f-B5 D4.

Kmeny ve skupině A mají průměrnou velikost šířky buněk mezi 5-7 μm a délky 4 μm . Tyto velikosti byly naměřeny menší u kmene S13 B4, tedy šířka 4,83 μm , délka 1,83 μm a jejich rozdíl 2,99 μm . Průměrný rozdíl šířky a délky je mezi 3-4 μm , jedině u At3 A2 je kolem 2 μm . Počet kalypter na 50 vláken je mezi 25-30, u B5 D4 jich bylo napočítáno 39, u N3 A4 nebyla zpozorována ani jedna. Slizová pochva je detekována u všech kmenů a v některých případech dokonce měřitelným způsobem. Barva kmenů se odlišuje. Vlákná kmenů D2 B6, N3 A4, Pol12 B4 jsou hnědozelené a vlákná kmenů At3 A2, S13 B4, B5 D4 jsou jen zelené. Zúžení je u všech kmenů postupné v rozmezí 4-6 buněk, kromě B5 D4, kde zúžení je náhlé a zřetelné. Nekrotické buňky jsou přítomny u všech kmenů.

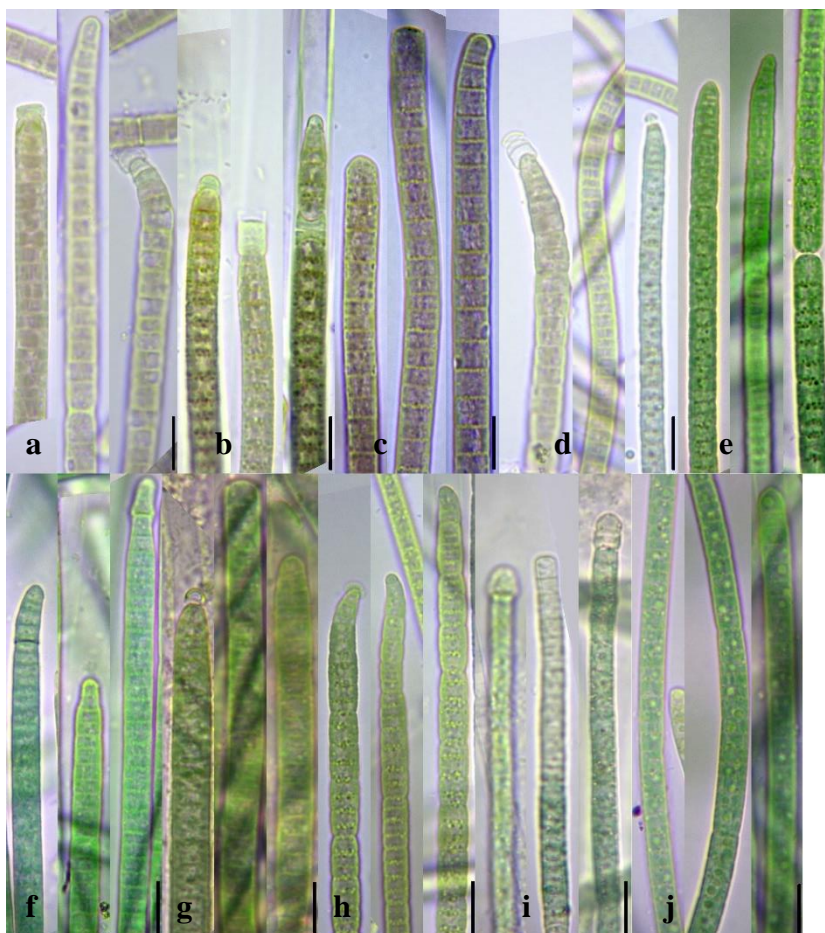


Obrázek 6 Obrazová tabule skupiny B, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení: a-Mon1 C5, b-Pol8 C1, c-W1 18a A5, d-M2 B5.

Kmeny skupiny B viditelně patří do stejného druhu. Šířka buněk je u všech mezi 4-6 μm , délka je mezi 2-3 μm a jejich rozdíl je průměrně 2-3 μm . Počet kalypter na 50 vláken je nadpoloviční. Zúžení na konci je velmi krátké, lehké, v rozmezí 0-2 buněk. Nekrotické buňky se vyskytuje u všech členů skupiny. Barva je u všech kmenů velmi podobná.

Kmeny skupiny C mají průměrné hodnoty šířky buněk 5-6 μm , délky 2-3 μm a jejich rozdíl 2-3 μm . Z těchto hodnot vybočují kmeny F8 C1 a Lad1 D5, které mají průměrnou šířku 6,74 a 6,75 μm , délku mají stejnou jako ostatní kmeny, tudíž mají rozdíl šířky a délky větší, kolem 3,54 a 4,35 μm . Oba kmeny mají výraznější slizovou pochvu a také nadpoloviční většinu počtu kalypter, zatím co ostatní kmeny této skupiny mají méně výraznou pochvu a počet kalypter mnohem menší. Zúžení na konci vlákna je u všech většinou v rozmezí 2-4 buněk a je pozvolné nebo méně výrazné. Nekrotické buňky byly zpozorovány u všech členů této skupiny, kromě kmene Pol17 C6. Barva jednotlivých vláken se poměrně liší, první tři kmeny jsou nahnědlé, ale ostatní sytě zelené.

Kmeny skupiny D mají průměrné hodnoty šířky buněk 5 μm , délky 2-3 μm a jejich rozdíl 2-3 μm . Počet kalypter na 50 vláken je kolem 20, slizová pochva je detekována u všech kmenů skupiny a zúžení je zdlouhavé na 3-6 buňkách, kromě kmene K4 B3, kde zužující buňky nebyly zpozorovány. Nekrotické buňky se vyskytovaly u všech kmenů této skupiny. Barva je stejná u všech kmenů.



Obrázek 7 Obrazová tabule skupin C a D, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení (Sk. C) a-F8 D1, b-F8 C1, c-F10 B5, d-Pol14 D6, e-Pol17 C6, f-Pol17 C2, g-Lad1 D5, (Sk. D) h-Pol12 B3, i-K4 B3, j-Sval B3.

Tabulka 2 Základní morfologické charakteristiky u kmenů skupin A, B, C a D.

Název kmenu	Průměrná šířka buněk (μm)	Průměrná délka buněk (μm)	Průměrný rozdíl šířky a délky (μm)	Počet kalypter na 50 vláken	Slizová pochva	Počet zužujících buněk na konci
Skupina A						
D2 B6	7,46	3,93	3,53	27	ano	5
N3 A4	6,87	3,57	3,32	0	ano	6
Pol12 B4	5,73	3,1	2,63	26	ano	2
At3 A2	5,09	3,34	1,72	30	ano	3
S13 B4	4,83	1,83	2,99	25	výrazná	2-3
B5 D4	7,29	3,97	3,32	39	ano	4-5
Skupina B						
Mon1 C5	6,35	2,98	3,37	26	ano	2-4
Pol8 C1	5,84	2,95	2,89	23	výrazná	2-4
W1 18aA5	4,66	2,16	2,5	32	výrazná	0-2
M2 B5	4,99	2,64	2,37	42	ano	2
Skupina C						
F8 D1	5,68	3,96	1,72	10	ano	3

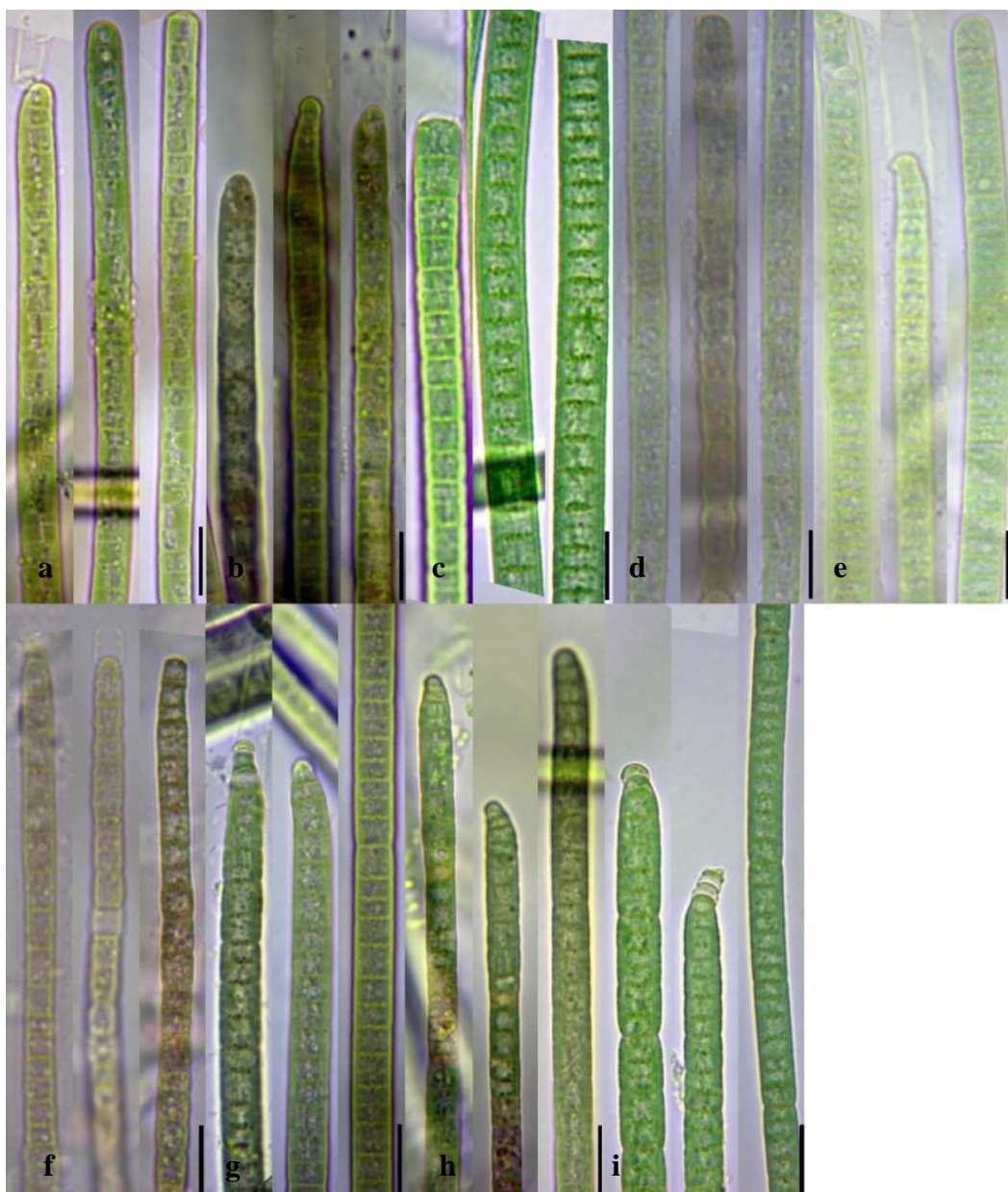
F8 C1	6,74	3,2	3,54	46	výrazná	4
F10 B5	6,34	3,74	2,55	14	ano	4
Pol14 D6	4,61	2,6	2,03	9	ano	4-5
Pol17 C6	5,53	2,73	2,8	18	ano	2-3
Pol17 C2	5,3	3,53	1,77	23	ano	2-3
Lad1 D5	6,75	2,4	4,35	30	výrazná	5-6
Skupina D						
Pol12 B3	5,02	2,94	2,08	22	ano	6-7
K4 B3	4,7	2,14	2,56	20	ano	0
Sva1 B3	5,23	3,03	2,2	18	ano	3-5

Tabulka 3 Základní morfologické charakteristiky u kmenů skupin E, F G, H, I, J a K.

Název kmenu	Průměrná šířka buněk	Průměrná délka buněk	Průměrný rozdíl šířky a délky	Počet kalypter na 50 vláken	Slizová pochva	Počet zužujících buněk na konci
Skupina E						
F4 D5	5,56	2,91	2,65	7	ano	2
At9b C4	5,66	3,59	2,08	44	ano	2-4
T3 D1	6,91	3,69	3,22	38	ano	4-6
At8 B1	5,62	2,85	2,77	22	výrazná	2-3
Z1 C4	6,11	2,77	3,34	27	výrazná	3
At9b C2	4,37	3,95	0,78	38	výrazná	4
F10 A2	6,15	3,11	3,04	45	výrazná	4
At8 A3	5,33	3,15	2,18	22	ano	3
3-18 C1	6,03	2,88	3,16	35	ano	5
Skupina F						
B4 C1	6,52	4,3	2,21	32	výrazná	5
F6 B3	5,34	3,75	1,6	16	ano	3-8
F6 B4	5,98	3,28	2,7	28	ano	4
Skupina G						
At9b C3	5,58	3,15	2,43	39	ano	3-4
Skupina H						
N9 A2	5,72	2,9	2,83	26	výrazná	3
N9 B1	6,52	3,18	3,34	29	výrazná	0
Skupina I						
Ari1 B5	8,13	3,78	4,35	21	výrazná	2
Skupina J						
S36b A3	5,46	3,13	2,34	21	výrazná	2-3, 1x 12
S36a B3	6,18	3,62	2,59	9	ano	3
C23 B2	6,14	3,35	2,79	13	výrazná	3
Skupina K						
A2 D5	4,73	2,36	2,37	5	ano	2-3
A2 C5	5,7	3,53	2,17	18	ano	3
A2 C2	6,02	3,48	2,54	26	výrazná	3-6

A6 C5	6,07	2,96	3,11	13	výrazná	2-4
-------	------	------	------	----	---------	-----

Kmeny skupiny E jsou ve všech pozorovaných znacích poměrně monotónní. Průměrná šířka buněk je 5-6 μm , délka 2-3 μm a jejich rozdíl také 2-3 μm . Kmen At9b C2 má průměrný rozdíl šířky a délky pod 1 μm , tato skutečnost však může být způsobena rostoucí populací. U tohoto kmene totiž délka převyšovala nad šířkou v mnoha buňkách, v jednom případě dokonce o 1,5 μm . Výjimkou je kmen F4 D5, který má pouhých 7 kalypter na 50 vláken, ostatní kmeny skupiny jich mají nadpoloviční většinu. Zúžení je pozvolné v rozmezí 2-4 buněk a nekrotická buňka je zpozorována u všech kmenů skupiny, vyjma kmenů F4 D5 a C1 3-18. Slizová pochva se rovněž nachází u každého kmene a barva je jasně zelená u všech kmenů.

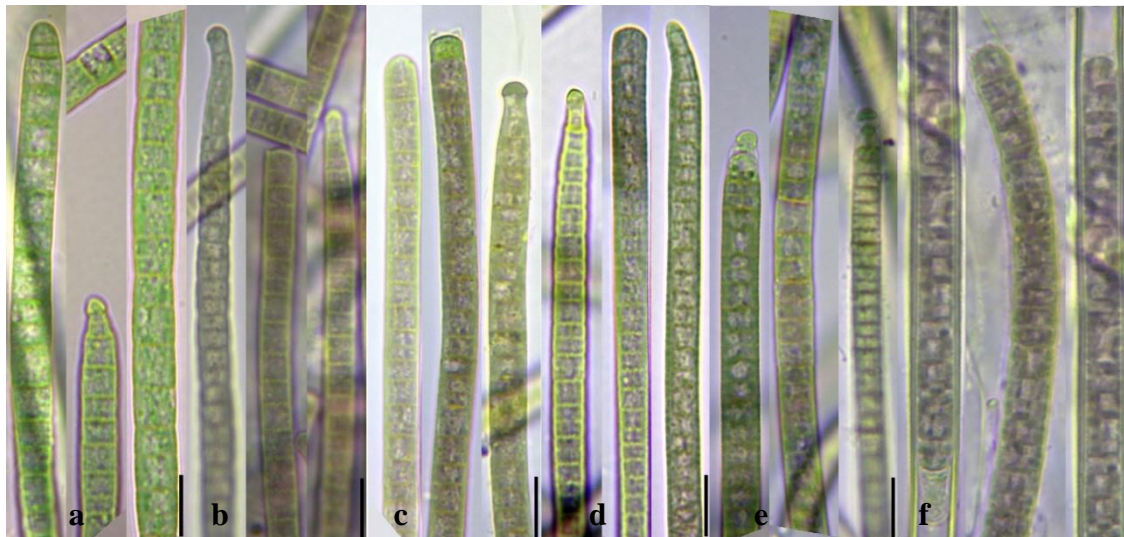


Obrázek 8 Obrazová tabule skupiny E, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení: a-F4 D5, b-At9b C4, c-T3 D1, d-At8 B1, e-Z1 C4, f-At9b C2, g-F10 A2, h-At8 A3, i-3-18 C1.

Kmeny skupiny F jsou také ve všech pozorovaných znacích poměrně stejnorodé. Průměrná šířka buněk je 6 μm , délka 4 μm a jejich rozdíl 2 μm . Počet kalypter je kolem 20-30 na 50 vláken a zúžení je poměrně výrazné a náhlé v rozmezí 3-5 buněk. Nekrotické buňky byly zpozorovány u všech kmenů s výjimkou kmene B4 C1, tato skutečnost lze ale jednoduše vysvětlit stejně jako v předchozím případě. Kmen B4 C1 se také odlišuje svou barvou, kdy tento kmen je nazelenalý a ostatní jsou nahnědlí.

Skupina G je zastoupena jediným kmenem At9b C3. Průměrná šířka je 5,58 μm , délka 3,15 μm a jejich rozdíl 2,43 μm . Počet kalypter je nadpoloviční, má slizovou pochvu a zúžení je velmi výrazné na 3-4 koncových buňkách. U tohoto kmene nebyly zpozorovány nekrotické buňky. Barva je hnědozelená.

Skupina H je zastoupena pouze dvěma kmeny, které na první pohled jsou celkem odlišné. Šířku mají kolem 6 μm , délku 3 μm a rozdíl šířky a délky kolem 3 μm . Oba mají také počet kalypter kolem poloviny z 50 vláken a mají výraznou slizovou pochvu. Odlišnost spočívá v organizaci zúžení vlákna. Kmen N9 A2 má zúžení pozvolné, nevýrazné na 3 koncových buňkách, zatím co kmen N9 B1 zúžení nemá. Celkově je také kmen N9 A2 trošku, ale měřitelně menší. Barva je u N9 A2 více do zelena. U obou kmenů byly nekrotické buňky zpozorovány.

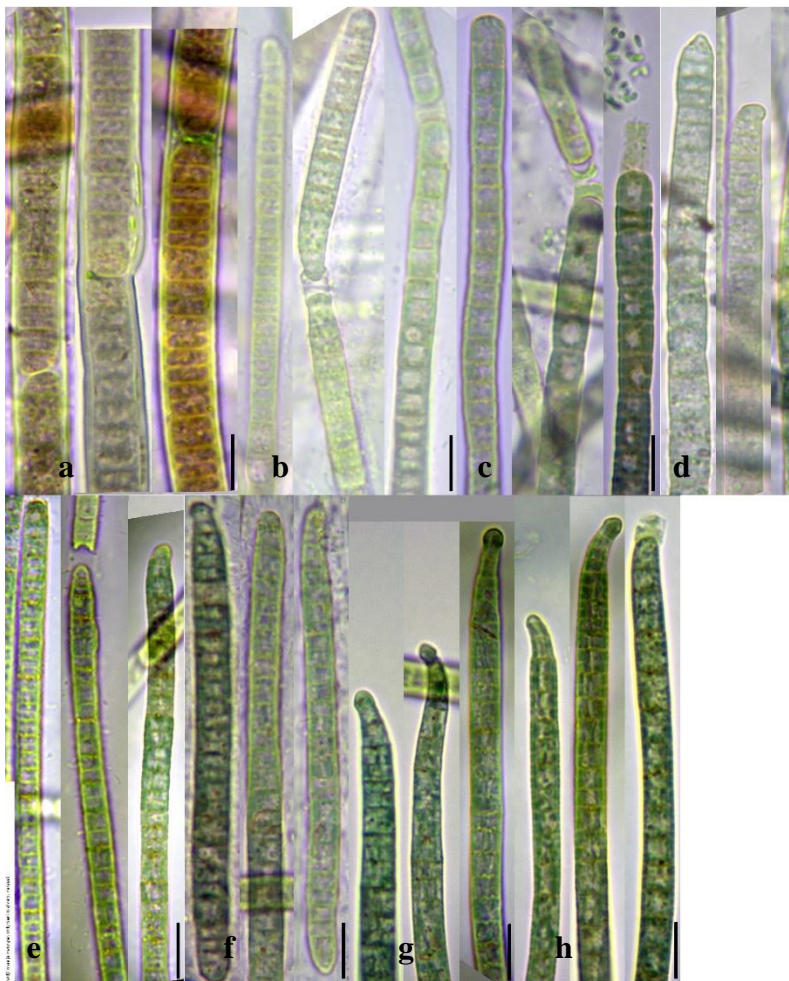


Obrázek 9 Obrazová tabule skupin F, G, a H, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení: (Sk. F) a-B4 C1, b-F6 B3, c-F6 B4, (Sk. G) d-At9b C3, (Sk. H) e-N9 A2, f-N9 B1.

Skupina I je také zastoupena jediným kmenem Ari1 B5, průměrná šířka je 8,13 μm , délka 3,78 μm a jejich rozdíl 4,35 μm . Počet kalypter je 21, má výraznou slizovou pochvu a zúžení je nevýrazné na 2 koncových buňkách nebo žádné. U tohoto kmene byly zpozorovány nekrotické buňky. Barva je hnědozelená.

Kmeny skupina J mají průměrnou šířku buněk 6 μm , délku 3 μm a jejich rozdíl je 2-3 μm . Počet kalypter se pohybuje ve spodní polovině z celkového množství 50 vláken a slizová pochva je poměrně výrazná. Zúžení je nevýrazné a velmi krátké na 2-3 buňkách. U kmene S36b A3 bylo zpozorováno jedno vlákno s 12 zužujícími se buňkami. U všech kmenů skupiny byly detekovány nekrotické buňky. Barva je stejná, nazelenalá.

Poslední skupina K má u všech kmenů výraznou a v mnoha případech měřitelnou slizovou pochvu. Průměrná šířka buněk je 5-6 μm , délka 2,5-3,5 μm a jejich rozdíl je 2-3 μm . Počet kalypter se pohybuje ve spodní polovině z celkového množství 50 vláken. Zúžení je zdlouhavé a výrazné na 2-4 buňkách. Nekrotické buňky byly zpozorovány u A2 D5 a A2 C5, naopak nebyly u A2 C2 a A6 C5. Barva je stejná, sytě zelená.



Obrázek 10 Obrazová tabule skupin I, J a K, každý kmen je zastoupen vždy třemi trichomy. Značení: (Sk. I) a-Ari1 B5, (Sk. J) b-S36b A3, c-S36a B3, d-CZ3 B2, (Sk. K) e-A2 D5, f-A2 C5, g-A2 C2, h-A6 C5.

5. Diskuse

Základními morfologickými znaky pro rozeznávání sinic rodu *Microcoleus* je výskyt několika vláken v jedné společné bezbarvé slizové pochvě, přítomnost kalyptry a velikost buněk, které jsou kratší než širší. Tyto morfologické znaky jsou velmi podobné sinicím z rodu *Phormidium*, které však více vláken v jedné pochvě nemají. V člancích Hašler et al. (2012) a Strunecký et al. (2013) dokázali úzkou příbuznost a morfologickou složitost mezi těmito rody. Strunecký et al. (2013) navrhl převod některých druhů rodu *Phormidium* (skupiny VII), tato skutečnost se týká: *P. amoenum*, *P. autumnale*, *P. favosum*, *P. fonticolum*, *P. setchellianum*, *P. vulgare*, a dalších, které jsou nově označovány pod rodovým názvem *Microcoleus*.

Z celkového počtu 43 kmenů bylo na základě genetické analýzy genu 16S rRNA sestaveno 11 skupin, i když v práci Struneckého et al. (2013) jich identifikovali pouze šest. Některé pozorované znaky (počet kalypter, nekrotické buňky, barva atd.) jsou lehce ovlivnitelné prostředím, mým zásahem při tvorbě preparátu a mnoha dalšími faktory. Například odlišná barva kmenů jedné skupiny může být zapříčiněna způsobem a fází kultivace.

Skupina A je poměrně nesourodá, avšak na základě své morfologie byly všechny kmeny klasifikovány jako *Microcoleus vaginatus*. Skupina B je naopak morfologicky velmi podobná a vykazuje stejné znaky jako *Phormidium autumnale*. Skupina C na základě své morfologie vykazuje podobné znaky jako *Microcoleus vaginatus*, ale potencionálně se může jednat o nový druh. Skupina D je ve svých znacích monotónní a velmi podobná *Phormidium setchellianum*, ale má kratší buňky a jinou barvu. Skupina D má šířku 2-3 μm a sytě zelenou barvu, zatím co Komárek a Anagnostidis (2005) uvádí šířku 3-6 μm a barvu světle fialovou až načervenalou. Skupina E také vykazuje morfologickou příbuznost u všech kmenů a zároveň byly detekovány znaky, které jsou stejně jako u *Phormidium fonticolum*.

Dalším sourodým souborem je skupina F, která na základě svých znaků byla rozpoznána jako *Phormidium favosum*, i když Komárek a Anagnostidis (2005) uvádí modrozelenou barvu a některé kmeny této skupiny vykazují zelenohnědou barvu. Skupina G, zastoupená jediným kmenem, je morfologicky příbuzná k *Phormidium vulgare*. Skupina H je sice zastoupena pouze dvěma kmeny, avšak ve své morfologii vykazují určité rozličenosti, společně by mohly patřit do *Phormidium lucidum*. Další skupina I, zastoupena jediným kmenem, je morfologicky rozpoznána jako

Phormidium subfuscum. Skupina J na základě svých stejných morfologických vlastností je zařazena jako *Phormidium uncinatum*. Poslední skupina K je ve svých znacích poměrně stejnorodá a může být považována za *Phormidium amoenum*, i když Komárek a Anagnostidis (2005) uvádí šířku 2,5-5 µm a naměřené hodnoty těchto kmenů je mezi 5-6 µm.

Skupina VIII rodu *Phormidium* nebyla do výzkumu v článku Strunecký et al. (2013) zahrnuta, ale naše výsledky ukázaly příbuznost *Phormidium uncinatum* a *Phormidium subfuscum* k rodu *Microcoleus*. Zároveň jsme opět ověřili platnou příbuznost mezi rody *Phormidium* a *Microcoleus*.

6. Závěr

Na základě genetické analýzy genu 16S rRNA bylo 43 kmenů rozřazeno do 11 skupin a následně morfologicky srovnáno s druhy v Komárek a Anagnostidis (2005) a Strunecký et al. (2013). Výsledky ukázaly, že mnoho geneticky příbuzných druhů je morfologicky odlišných. Z celkových 11 skupin bylo 10 zařazeno do již existujících druhů, skupina C nebyla zařazena a potencionálně se jedná o nový druh.

Tato problematika vyžaduje dalšího zkoumání na základě většího množství kmenů, aby rod *Microcoleus* mohl být považován za monofyletický.

7. Literatura

- Bekker, A., Holland, H. D., Wang, P-L. et al. (2004): *Dating the Rise of Atmospheric Oxygen*. *Nature*, 427: 117-120. 10.1038/nature02260
- Bobay, L. M., Ochman, H. (2017): *Biological Species Are Universal across Life's Domains*. *Genome Biology and Evolution*, 9(3): 491-501. 10.1093/gbe/evx026
- Booth, W. E. (1941): *Regeneration of Abandoned Fields in Kansas and Oklahoma*. *The American Journal of Botany*, 28:415-422.
- Cohan, F. M. (2001): *Bacterial Species and speciation*. *Systematic Biology*, 50(4): 513-524. 10.1080/10635150118398
- Crowe, L. M., Crowe, J. H. (1992): *Anhydrobiosis: A Strategy for Survival*. *Advances in Space Research*, 12(4): 239-247. 10.1016/0273-1177(92)90178-z
- Dittmann, E., Fewer, D. P., Neilan, B. A. (2013): *Cyanobacterial Toxins: Biosynthetic Routes and Revolutionary Roots*. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(1): 23-43. 10.1111/j.1574-6976.2012.12000.x
- Drouet, F. (1968): *Revision of the Classification of the Oscillatoriaceae*. *Academy of National Sciences, Philadelphia*.
- Dvořák, P., Hašler, P., Poulíčková, A. (2012): *Phylogeography of the Microcoleus vaginatus (Cyanobacteria) from Three Continents - A Spatial and Temporal Characterization*. *Plos One*, 7(6): e40153. 10.1371/journal.pone.0040153
- Dvořák, P., Poulíčková, A., Hašler, P. et al. (2015): *Species Concepts and Speciation Factors in Cyanobacteria with Connection to the Problems of Diversity and Classification*. *Biodiversity and Conservation*, 24: 739-757. 10.1007/s10531-015-0888-6
- Dvořák, P., Casamatta, D. A., Hašler, P. et al. (2017): *Diversity of Cyanobacteria*. *Modern topics in the Phototrophic Prokaryotes*, 1: 3-46. 10.1007/978-3-319-46261-5_1
- Edgar, R.C. (2004): *MUSCLE: Multiple Sequence Alignment with high Accuracy and high Throughput*. *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792-1797. 10.1093/nar/gkh340
- Garcia-Pichel, F., Prufert-Bebout, L., Muyzer, G. (1996): *Phenotypic and Phylogenetic analyses show Microcoleus chthonoplastes to be a Cosmopolitan Cyanobacterium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9): 3284-3291. 10.1128/aem.62.9.3284-3291.1996
- Garcia-Pichel, F., Castenholz, R. W. (1993): *Occurrence of UV-absorbing, Mycosporine-Like Compounds among Cyanobacterial Isolates and an Estimate of their*

- Screening Capacity*. Applied and Environmental Microbiology, 59(1): 163-169. 10.1128/aem.59.1.163-169.1993
- Garcia-Pichel, F., Pringault, O. (2001): *Cyanobacteria Track Water in Desert Soils*. Nature, 413(6854): 380-381. 10.1038/35096640
- Hašler, P., Dvořák, P., Johansen, J.R. et al. (2012): *Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera Phormidium, Microcoleus and Geitlerinema (Oscillatoriales, Cyanophyta/ Cyanobacteria)*. Frontiers in Ecology and Evolution, 12(2): 341-356. 10.5507/fot.2012.024
- Heath, M., Wood, S. A., Young, R. G., Ryan, K. G. (2016): *The Role of Nitrogen and Phosphorus in Regulating Phormidium sp. (cyanobacteria) Growth and Anatoxin Production*. FEMS Microbiology Ecology, 92(3): fiw021. 10.1093/femsec/fiw021.
- Hoffmann, L. (2005): *Nomenclature of Cyanophyta/Cyanobacteria: round table on the unification of the nomenclature under the Botanical and Bacteriological Codes*. Algological Studies, 117(1): 13-29. 10.1127/1864-1318/2005/0117-0013
- Hu, C., Gao, K., Whitton, B.A. (2012): *Semi-arid Regions and Deserts*. In: Whitton, B. (eds.): *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer, Dordrecht. 10.1007/978-94-007-3855-3_12
- Johansen, J. R., Casamatta, D. A. (2005): *Recognizing Cyanobacterial Diversity through Adoption of a New Species Paradigm*. Algological Studies, 117(1): 71–93. 10.1127/1864-1318/2005/0117-0071
- Komárek, J., Anagnostidis, K. (2005): *Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales*. In: Büdel, B., Gärdner, G., Krienitz, L. & Schagerl, M. (eds.): *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Elsevier, Mnichov, 19(2): 759.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., Johansen, J. R. (2014): *Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014 using a Polyphasic Approach*. Preslia 86(4): 295-335.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018): *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms*. Molecular Biology and Evolution, 35(6): 1547-1549. 10.1093/molbev/msy096
- Lange, O. L., Kidron, G. J., Budel, B., Meyer, A., Kilian, E., Abelovich, A. (1992): *Taxonomic Composition and Photosynthetic Characteristics of the "Biological Crusts" Covering Sand Dunes in the Western Negev Desert*. Functional Ecology, 6: 519-527.

- Mareš, J. (2018): *Multilocus and SSU rRNA Gene Phylogenetic Analyses of available Cyanobacterial Genomes, and their Relation to the current Taxonomic System*. *Hydrobiologia*, 811: 19-34. 10.1007/s10750-017-3373-2
- Mayr, E. (1957): *Species Concepts and Definitions*. In: Mayr, E. (eds.): *The species problem*. American Association for the Advancement of Science, pp. 1-22.
- McFadden, G. I. (1999): *Endosymbiosis and Evolution of the Plant Cell*. *Current Opinion in Plant Biology*, 2(6): 513-519. 10.1016/S1369-5266(99)00025-4
- Mishler, B. D., Theriot, E. C. (2000): *The Phylogenetic Species Concept*. In: Wheeler, Q. D., Meier, R. (eds.): *Species Concepts and Phylogenetic Theory*. Columbia University Press, New York, p. 44-54.
- Montiel, P. O., Cowan, D. A. (1993): *The Possible Role of Soluble Carbohydrates and Polyols as Cryoprotectants in Antarctic Plants*. In: Heywood, R. B. (eds.): *University research in Antarctica 1989-92*. British Antarctic Survey Special Topic Award, Cambridge, 2: 119-125.
- Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., Hauer, T. (2019): *Detailed characterization of the Arthrospira type species separating commercially grown taxa into the new genus Limnospira (Cyanobacteria)*. *Scientific Reports*, 9: 694. 10.1038/s41598-018-36831-0
- Obana, S., Miyamoto, K., Morita, S., Ohmori, M. (2007): *Effect of Nostoc sp. on Soil Characteristics, Plant Growth and nutrient uptake*. *Journal of Applied Phycology*, 19(6): 641-646. 10.1007/s10811-007-9193-4
- Páleníčková, K. (2020): *Aerofytické a bentické sinice v okolí Konicka: Bakalářská práce*. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.
- Potts, M. Friedmann, E. I. (1981): *Effects of Water Stress on Cryptoendolithic Cyanobacteria from Hot Desert Rocks*. *Archives of Microbiology*, 130: 267-271. 10.1007/BF00425938
- Reed, R. H., Richardson, D. L., Warr, S. R. C., Stewart, W. D. P. (1984): *Carbohydrate Accumulation and Osmotic Stress in Cyanobacteria*. *Journal of General Microbiology*, 130: 1-4. 10.1099/00221287-130-1-1
- Ribeiro, K. P., Ferrero, A. P., Duarte, L., Turchetto-Zolet A. C., Crossetti, L. O. (2020): *Comparative Phylogeography of two Free-living Cosmopolitan Cyanobacteria: Insights on Biogeographic and Latitudinal Distribution*. *Journal of Biogeography*, 47(5): 1106-1118. 10.1111/jbi.13785

- Siegesmund, M.A., Johansen, J. R., Karsten, U., Friedl, T. (2008): *Coleofasciculus* Gen. Nov. (Cyanobacteria): Morphological and Molecular Criteria for Revision of the genus *Microcoleus* Gomont. Journal of Phycology, 44(6): 1572-1585. 10.1111/j.1529-8817.2008.00604.x
- Simpson, G. G. (1953): *The major features of evolution*. Columbia University Press, New York.
- Singh, R. K., Tiwari, S. P., Rai, A. K. et al. (2011): *Cyanobacteria: an Emerging Source for Drug Discovery*. The Journal of Antibiotics, 64(6): 401-412. 10.1038/ja.2011.21
- Stanojković, A., Skoupy, S., Hašler, P., Pouličková, A., Dvořák, P. (2022): *Geography and Climate Drive the Distribution and Diversification of the Cosmopolitan Cyanobacterium Microcoleus (Oscillatoriales, Cyanobacteria)*. European Journal of Phycology, 1-10. 10.1080/09670262.2021.2007420
- Strunectý, O., Komárek, J., Johansen, J. et al. (2013): *Molecular and Morphological Criteria for Revision of the Genus Microcoleus (Oscillatoriales, Cyanobacteria)*. Journal of Phycology, 49: 1167-1180. 10.1111/jpy.12128
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar S. (2021): *MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11*. Molecular Biology and Evolution, 38(7): 3022-3027. 10.1093/molbev/msab120
- Tee, H. S., Wood, S. A., Bouma-Gregson, K., Lear, G., Handley, K. M. (2021): *Genome Streamlining, Plasticity, and Metabolic Versatility Distinguish Co-Occurring Toxic and Nontoxic Cyanobacterial Strains of Microcoleus*. mBio, 12: e02235-21. 10.1128/mBio.02235-21.
- Templeton, A. R. (1989): *The Meaning of Species and Speciation: A Genetic Perspective*. In: Otte, D., Endler, J. A. (eds.): *Speciation and its Consequences*. Sinauer Associates, p. 3-27.
- Vestal, J. R. (1988): *Carbon Metabolism in the Cryptoendolithic Microbiota from the Antarctic Desert*. Applied and Environmental Microbiology, 54(4): 960-965. 10.1128/aem.54.4.960-965.1988
- Warr, S. R. C., Reed, R. H., Stewart, W. D. P. (1988): *The Compatibility of Osmotica in Cyanobacteria*. Plant, Cell and Environment, 11: 137-142. 10.1111/1365-3040.ep11604910

- Wood, S. A., Smith, F. M. J., Heath, M. W., Palfroy, T., et al. (2012): *Within-Mat Variability in Anatoxin-a and Homoanatoxin-a Production among Benthic Phormidium (Cyanobacteria) Strains*. *Toxins (Basel)*, 4: 900–912. 10.3390/toxins4100900
- Wynn-Williams, D. D. (2000): *Cyanobacteria in deserts - life at the limit?* In: Whitton, B. A., Potts, M. (eds.): *The Ecology of Cyanobacteria*. Netherlands, Kluwer, 341-366. 10.1007/0-306-46855-7_13

8. Citace obrázků

Stanojković, A., Skoupý, S., Hašler, P., Pouličková, A., Dvořák, P. (2022): *Geography and Climate Drive the Distribution and Diversification of the Cosmopolitan Cyanobacterium Microcoleus (Oscillatoriales, Cyanobacteria)*. *European Journal of Phycology*, 1-10. 10.1080/09670262.2021.2007420

9. Přílohy

9.1 Didaktická část: Myšlenková mapa

9.1.1 Teoretický úvod

Kanadský psycholog Tony Buzan vymyslel grafickou vizualizaci myšlenek, nápadů a poznámek, která vede k lepšímu ponaučení, souvislostem a organizaci myšlenek. Tato metoda se nazývá mentální mapa a slouží k zefektivnění plánování úkolů, napomáhá k zorientování se v tématu nebo také může být využita jako způsob brainstormingu. Základním rysem je použití obou mozkových hemisfér najednou. Praktické využití mentální mapy je v rámci projektů v práci, ve škole i v osobním životě (plánování oslav apod.). Díky mentální mapě můžeme získat nadhled a zároveň si uvědomit dílčí vztahy (Buzan 2014).

9.1.2 Základy vytváření myšlenkových map

Myšlenková mapa dle T. Buzana má 7 základních kroků. Prvním krokem je do středu čistého papíru vyjádřit hlavní téma dané myšlenkové mapy (např. oslava narozenin, pracovní pohovor, výběr tématu seminární práce atd.). Druhým a třetím krokem je dané téma znázornit pomocí barevného obrázku, při tomto kroku se zapojuje naše představivost. K tomuto centrálnímu obrázku se připojují nejprve všechny hlavní větve, až potom na ně navazují větve dalších úrovní. Pátým krokem je kreslit větve pomocí křivek, nikoliv rovnými čarami. Předposledním krokem je vyjádření každé větve jen pomocí jednoslovného názvu nebo jednoduchého slovního spojení vystihující podstatu dané větve. Posledním krokem je neustálé přidávání obrázku, bez nich je mapa také efektivní, ale nevyužívá tolik naší představivost (Buzan 2014).

Kromě papíru existují i softwary na vytváření map, např. FreeMind, Freeplane, MindMeister, Mind42 a pro mobilní telefony iMind Map, Thinking Space nebo Mind Map Memo. Mnoho z těchto softwarů je zpoplatněných, avšak jsou k dispozici i neplacené omezené verze. Tvorba myšlenkových map je možná i pomocí internetových stránek, xmind.net, bubbl.us, mindup.com nebo coggle.it (Matýsová 2009).

9.1.3 Realizace ve výuce

V rámci výuky je vhodným nástrojem pro vizualizaci sestavení pojmové mapy. Postup je stejný jako u myšlenkové mapy, jen se postupuje na základě pojmů daného tématu. Do středu je uveden hlavní dílčí celek (např. fotosyntéza), který je následně rozvíjen o hlavní větve (např. odpovědi na otázky: kdo, co, kdy, kde, proč, jak) a dále

o vedlejší větve. Ideální je znázornění každého pojmu pomocí jednoslovného názvu doplněným o barevný obrázek. Jednotlivé pojmy se uvádí v geometrických útvarech, obdélník, elipsa, kruh (Mareš 2011). Pojmy jsou uváděny dle hierarchického systému, kdy obecné pojmy jsou na hlavních větvích a jejich dílčí a vysvětlující pojmy jsou uváděny na vedlejší větve (Vaňková 2014).

9.2 Praktická ukázka

Předmět: Biologie

Téma: Fotosyntéza

Zadání: Vytvoř na zadané téma myšlenkovou mapu.

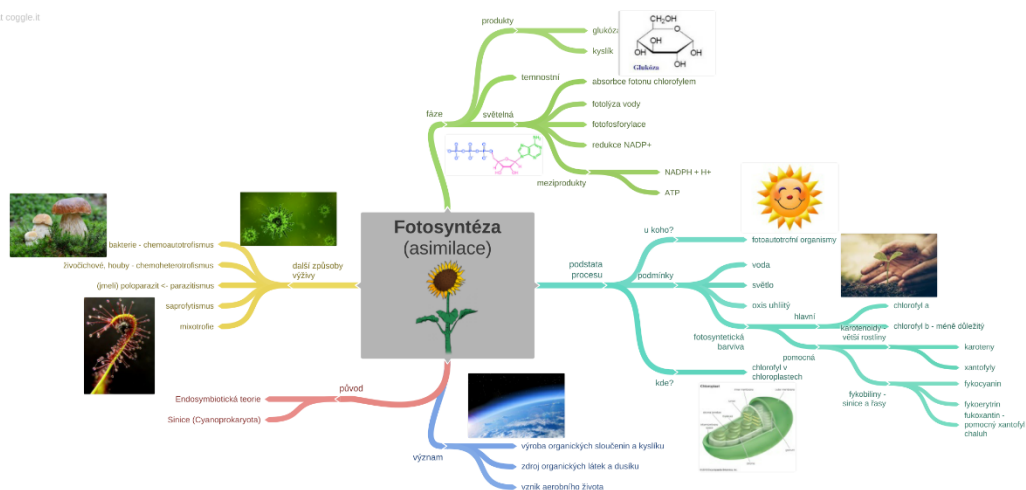
Pomůcky: Bílý papír, malovací a psací potřeby (pastelky, fixy apod.) nebo počítač a vytvořený účet na dané stránce pro tvorbu map (např. coggle.it).

Postup:

1. Dprostřed volné plochy vepiš název zadaného tématu.
2. Toto téma znázorni obrázkem, nápis tématu můžeš zakomponovat do obrázku.
3. Na obrázek použij barvy, čím víc, tím líp.
4. Obkresli tento obrázek tak, aby vznikl geometrický útvar, a z něj na různé strany nakresli hlavní větve (můžeš se řídit otázkami: Kdo?, Co?, Kdy?, Kde?, Proč?, Jak?). Po nakreslení hlavních větví přikresli větve dalších řádů, dokud se nedostaneš k dílčím základním pojmům.
5. Tyto větve znázorni křivkami, ne rovnými čarami.
6. Na každou větev napiš jednoslovný název či sousloví vyjadřující podstatu dané větve (např. morfologie, význam, podmínky apod.).
7. Řid' se pravidlem, že obrázků a barev není nikdy dost. Každá větev může mít svou barvu, která se bude postupně ztmavovat/zesvětlovat s dalšími přidanými větvemi. Nezapomeň každý pojem obkreslit, abys na něj mohl navázat další větve.

Vypracování:

Pro zpracování tématu fotosyntéza jsem využila stránku coggle.it, která má bezplatné, omezené využití a lehké použití. Tvorba pojmové mapy je velice intuitivní, jednotlivé větve jsem mohla upravit dle tvaru i barvy a obrázky se vkládají také velice snadno.



Hodnocení a použití ve výuce:

Tato pojmová mapa ukazuje přehled základních a obecných pojmů k tematickému celku Fotosyntéza. Díky této mapě si mohou žáci uvědomit vztahy mezi jednotlivými pojmy a vidět toto téma z větší perspektivy. Dále při zpracování jsou rozvíjeny kognitivní funkce, které jsou při normální výuce často opomíjeny nebo se soustředí na specifický předmět. Mezi tyto dovednosti patří představivost, vizuální učení, zpřehlednění a propojení širokých témat. Myšlenková mapa může působit jako ukázka jednoho ze stylů učení (další styly učení: nahrávání vlastního čtení učiva a následný poslech, čtení nahlas apod.).

Tento úkol se dá zakomponovat do výuky jako dobrovolný úkol před písemkou nebo jako opakovací aktivita v hodině. Dále může být zahrnuta do výkladu učiva v rámci úvodu do nového tematického celku jako propojení daných témat nebo i vědních oborů (Např. Fotosyntéza a chemie). Myšlenková mapa může být v upravené verzi (vymazané některé pojmy) také součástí testu či zkoušení.

9.3 Závěr

Na základě myšlenkové mapy si žáci mohou ověřit znalost pojmů, uvědomit si vzájemné souvislosti a dokázat rozeznat hlavní a dílčí pojmy. Žáci, kteří si nechtějí kreslit, mohou využít elektronického zpracování. Tato metoda je využitelná při výuce v mnoha směrech a její použití závisí pouze na představivosti a ochotnosti učitele.

9.4 Zdroje k didaktické části

Vaňková, P. (2014): *Pojmové mapy ve vzdělávání*. 1. vydání, Praha, Karolinum. ISBN 978-80-7290-650-5

Mareš, J. (2011): *Učení a subjektivní mapy pojmů*. Pedagogika LXI, p. 215–247. ISSN 2336-2189 [online].

Svobodová, C. (2018): *Projektová výuka, pojmové mapy a didaktické hry v biologii rostlin na střední škole: Bakalářské práce*. Univerzita Palackého v Olomouci, Katedra botaniky.

Buzan, T. (2014): *Mentální mapování*. 2. vydání, Praha. ISBN 978-80-262-0520-3

Matýsová, T. (2009): *Implementace nástrojů vizualizace informací jako součást kurzů informační gramotnosti: diplomová práce*. Masarykova univerzita v Brně, Filozofická fakulta, Ústav české literatury a knihovnictví.