

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Vliv environmentálních charakteristik prostředí na
druhovou distribuci rodu *Daphnia* v arktických
jezerech**

Bakalářská práce

Jindřiška Bušková

RNDr. Miloslav Devetter, PhD., ÚPBB BC AV ČR

České Budějovice

2023

Bušková J., 2022: Vliv environmentálních charakteristik prostředí na klonální distribuci rodu *Daphnia* v arktických jezerech. [The influence of environmental characteristics of arctic lakes on the species distribution of *Daphnia* Bc. Thesis, in Czech.] – 40p., Faculty of science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Cladocerans from the species complex *Daphnia pulex* are relatively common in Arctic freshwater lakes, however, total species diversity is low. The studied lakes differ in their age, origin, degree of freezing, presence of a predator and nutrients. Several species from the haplotype composition of the *Daphnia pulex* are cryptic, and without DNA analysis, they can not be morphologically determined. This work, performing mtDNA barcoding, analyzed the species diversity of populations of *Daphnia* and its dependency on specific environmental conditions.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

Místo, datum

.....

Podpis studenta

.....

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své rodině a nejbližším, že chovali až posvátnou úctu k tomu, když jsem slavnostně prohlásila že “jdu psát” a plně můj klid respektovali nejenom tehdy, nýbrž po celé mé dosavadní studium. Dále bych chtěla především poděkovat svému školiteli RNDr. Miloslavu Devetterovi, PhD. za jeho vedení, ale hlavně za motivaci ke studiu a možnost nahlédnutí do světa vědy. Nesmím opomenout ani na Mgr. Michalu Tůmovou, PhD. za její korekci a cenné rady.

Obsah

1. Obecný úvod.....	1
1.1.Arktida	1
1.1.1. Arktické regiony a jejich klima.....	2
1.1.2. Arktické sladké vody.....	4
1.1.2.1. Typy arktických jezer.....	4
1.2.Popis řádu Cladocera se zaměřením na rod <i>Daphnia</i>	6
1.2.1. Morfologie a anatomie.....	6
1.2.2. Rozmnožování a životní cyklus <i>Daphnia</i>	7
1.2.3. Ekologie.....	8
1.2.4. Taxonomie rodu <i>Daphnia</i>	9
1.3.Ekologie perlooček rodu <i>Daphnia</i> v Arktických jezerech.....	14
1.3.1. Druhová distribuce <i>Daphnia</i> v polárním pásu.....	16
2. Jezera studovaných vzorků.....	18
3. Vlastní experiment.....	20
3.1.Cíl.....	20
3.2.Vzorkování.....	20
3.3.Metodika analýzy DNA.....	21
3.3.1. Izolace, PCR.....	21
3.3.2. DNA Barcoding (COI).....	22
3.3.3. mtDNA.....	22
3.4.Výsledky.....	23
4. Diskuse.....	23
5. Závěr	26
6. Seznam zdrojů.....	27

1. Obecný úvod

Všechna arktická jezera se svým vznikem, zeměpisnou polohou, a především stářím liší. To jsou základní abiotické charakteristiky, od kterých se odvíjí další jako trofie, promrzání, a přítomnost přítoku. Jednotlivé rozdíly mezi jezery mají obecně dopad na vyskytující se společenstva živých organismů. Ta se ale dají relativně dobře pozorovat v jezerech arktických oblastí, jelikož jsou zde abiotické i biotické podmínky do značné míry redukované a není komplikované z nich vyvodit obecné trendy. Tato práce se zabývá druhovou distribucí perlooček rodu *Daphnia* právě v těchto jezerech, která navíc nejsou zasažená jakoukoli lidskou činností.

I před plným vývojem analýz DNA bylo známo, že komplex druhů *Daphnia pulex* má široké geografické rozšíření. Po provedení analýz se komplex rozpadl na 3 hlavní skupiny (*pulex*, *pulicaria*, *tenebrosa*) (Colbourne & Hebert, 1996). Je tudíž důvod se domnívat, že specifický druh bude mít do určité míry preference na konkrétní podmínky jezera.

Literární rešerše si klade za cíl charakterizovat arktickou krajinu a jezera v ní se zaměřením na Svalbard, odkud pochází vzorky pro navazující studium. Dále se zabývá obecným popisem perlooček, jejich ekologií především v arktických oblastech a fylogenezí komplexu druhů *Daphnia pulex*.

Navazující genetická analýza vlastních vzorků ze Svalbardu by měla potvrdit či vyvrátit hypotézy o preferencích určitých biotopů specifickými druhy z distribuce *Daphnia pulex*.

1.1. Arktida

Podle neměnné zeměpisné definice je Arktida souhrnný název pro region kolem severního pólu nad 66° rovnoběžkou. Určení hranice na základě průměrné letní teploty nepřesahující 10 °C, hranice tajgy a tundry, nebo mořského zalednění je pro ekologické studie přesnější, v čase se ale neustále proměňuje. Arktidu rozdělujeme na 5 bioklimatických subzón na přechodu od relativně produktivního biomu tundry až po polární poušť (Jónsdóttir, 2005).

Biom tundra, charakteristický pro arktické oblasti, je jeden z nejrecentnějších na planetě, jelikož vznikl až během poslední doby ledové zhruba před 10 000 lety. Suchozemská vegetace zahrnuje především traviny, byliny, malé keře, mechy a lišejníky, ale zcela postrádá stromy. Ve vodách tvoří primární produkci řasy a sinice. Druhová diverzita fauny je také velmi nízká, z obratlovců zcela chybí skupina plazů a obojživelníků. Můžeme

narazit ale na řadu endemických druhů. Právě díky těmto biotickým podmínkám je studium ekologických vztahů mezi organismy do značné míry zjednodušené.

K rozklíčování preferencí druhu určitého prostředí přispívají extrémní abiotické podmínky jako nedostatek živin, přísun sluneční energie a extrémně nízké teploty. Některé části Arktidy jsou trvale pod mořským nebo pevninským ledovcem, jiné pouze přechodně. To je jedním z důvodů, proč se v arktických oblastech vyskytuje velké množství jezer. Dalším důvodem je dynamika permafrostu. Za permafrost se označuje horní vrstva půdy, která do určité míry zůstává trvale zamrzlá. S příchodem léta začne permafrost odshora povolovat, a na povrchu se přechodně utváří jezera a mokřady poskytující příznivější podmínky pro život. Členitost krajiny, kde nejsou ledovce, je silně ovlivněna právě tímto odtáváním a zamrzáním permafrostu, jehož mocnost činí stovky metrů až jeden kilometr (Stonehouse, 1989).

1.1.1. Arktické regiony a jejich klima

V Arktidě jsou dlouhé mrazivé zimy s polárními nocemi, které střídají krátká letní období, trvající maximálně 4 měsíce v roce, a polární dny, kdy naopak slunce nezapadá. Atmosférická cirkulace v arktických pásmech je silně ovlivněna systémy nízkého a vysokého tlaku ve středních zeměpisných šířkách, které řídí transport tepla a vlhkosti a výrazně zde ovlivňují zimní teploty (Hanssen-Bauer *et al.*, 2019). Srážkový úhrn je nízký, převážně v podobě sněhu, v některých oblastech můžeme mluvit i o polárních pouštích. Z dlouhodobých meteorologických měření vyplývá, že arktické oblasti patří za poslední 3 dekády mezi nejrychleji oteplující se na planetě (Abbasi, 2006; Salomon *et al.*, 2007) a celkové klima se zde znatelně proměňuje (Morison *et al.*, 2000). Následuje krátký popis hlavních faktorů ovlivňujících klima částí Arktidy napříč zeměmi, ve kterých někdy byl veden planktonní výzkum. Konkrétní průměrné teploty jsou relevantní srovnávat pouze pro určitá místa, a ne obecně pro jednotlivé země, například ve stejné zeměpisné poloze, proto nejsou uváděny.

Svalbard

Souostroví Svalbard je pod vlivem Islandského systému nízkého tlaku. Jeho pobřeží navíc omývá Západní Špicberský proud což má za důsledek mírnější, až o 20 °C vyšší zimní teploty, a vlhčí klima, než je tomu ve stejných zeměpisných šířkách jinde (Walczowski & Piechura, 2011; Hanssen-Bauer *et al.*, 2019). Nejnížší teploty jsou měřeny v zimě v horských a ledovcových oblastech na severu Svalbardu a na severo-východním pobřeží

(Østby *et al.*, 2017). V těchto oblastech je mnohem větší koncentrace ledu na moři i pevnině (Przybylak, 2012), což je ovlivněno druhým oceánským proudem – Arktickým východním (Ślubowska *et al.*, 2005). Naopak k teplejším oblastem Svalbardu patří jihozápadní části souostroví, kde je vliv zmíněného Špicberského proudu největší (Østby *et al.*, 2017). Průměrné roční teploty se ale i tak pohybují nízko kolem -4.4 °C , letní dosahují 5 °C (Ingolfsson, 2004). Hydrologické poměry ve vztahu k sezónním srážkám jsou nejslabší na počátku léta a nejsilnější na podzim (Dobler *et al.*, 2019). Od 60.let minulého století je pozorován strmý nárůst průměrných teplot o 0.5 °C za dekádu⁻¹, což jej činí nejrychlejším oteplováním v Evropě (Førland *et al.*, 2011).

Severní Amerika

V Severní Americe nalezneme arktické oblasti na severu Aljašky a ve velké části Kanady. Oblasti jsou pod vlivem Beaufortského systému vysokého tlaku ze středních zeměpisných šířek, který silně ovlivňuje teplotu nízký přísun srážek v zimě (Hanssen-Bauer *et al.*, 2019).

Sibiř

Kontinentální oblast Sibiře je ovlivňována Sibiřským systémem vysokého tlaku, který v zimě přináší nízké teploty a malé množství srážek (Hanssen-Bauer *et al.*, 2019). Subarktické klima na Sibiři je v důsledku kontinentality velmi variabilní v porovnání se Svalbardem. Polární léto zde může trvat pouze jeden měsíc v roce, směrem na jih v obydlenějších částech maximálně čtyři měsíce. Průměrná roční teplota se pohybuje podobně jako v dalších oblastech tundry, letní a zimní maxima mají ale mnohem větší teplotní rozsah. Nejvyšší naměřené teploty v létě dosahují 30 °C , zimní pak mohou klesnout až na rekordních -69.8 °C . Roční srážkový úhrn je nízký, nepřesahující 500 ml ročně.

Grónsko

Největší ostrov na světě, Grónsko, se nachází v arktickém pásu mezi 59° a 83° severní šířky. Je omýván ze severu Arktickým oceánem, na východě Grónským mořem s chladnými proudy, jihovýchodu Atlantickým oceánem s teplým Golským proudem, jihozápadě Davisovou úžinou, západě Baffinovým zálivem a na severozápadu Lincolnovým mořem. Na jihu a v příbřeží Atlantského oceánu je klima mírnější, postupem na sever, který ovládá polární den a noc, se stává klima typicky arktickým. Přibližně 80% plochy pokrývá ledovec. Teploty dosahují v závislosti na sezóně $-69,6\text{ °C}$ až 10 °C (Cappelen, 2001).

1.1.2. Arktické sladké vody

Na severní polokouli zůstalo po posledním velkém zalednění množství jezer. Tato jezera a další typy stojatých vod na dočasných mokřadních pláních jsou klíčovou složkou tundry. Mokřady vznikají saturací vody z tajícího ledovce a sněhu do horní aktivní vrstvy permafrostu. Tok podzemní vody je ovlivněn geologickým podložím, vrstvou půdy a především permafrostu (Vincent & Laybourn-Parry, 2008).

Mezi hlavní primární producenty biomasy arktických jezer patří řasy a sinice, makrofyta se vyskytují ojediněle. Často to jsou hnědé řasy rozsivky, zlativky Chrysophyceae a zelené řasy skrytěnky Cryptophyceae (Sheath, 1986). Nad nimi jsou v potravní síti planktonní konzumenti – dravci a filtrátoři, jako buchanky (Copepoda) nebo perloočky (Cladocera) a vířníci (Rotifera). Nejvíce v arktických jezerech dominují právě perloočky rodu *Daphnia* (Hebert & Hann, 1986).

1.1.2.1. Typy arktických jezer

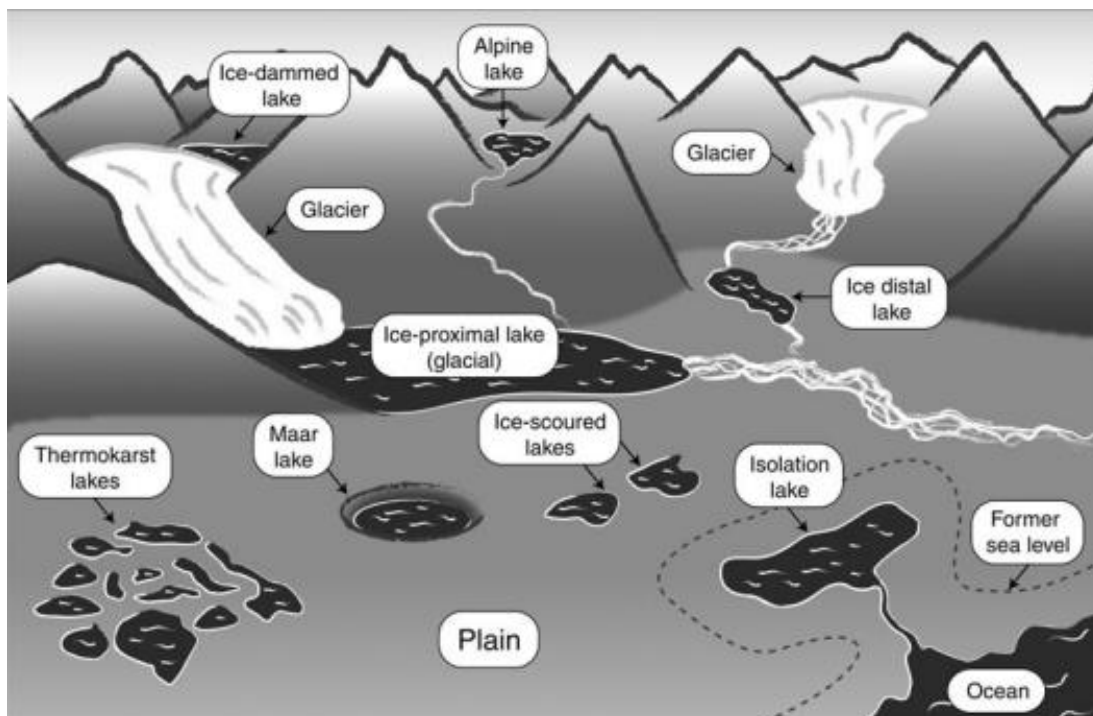
Mezi jednotlivými jezery jsou velmi znatelné rozdíly ovlivněné geologickým podložím, mikroklimatem a dalšími faktory. Většina arktických jezer jsou ledovcového původu, anebo ta mladší vznikají táním horních vrstev permafrostu (Vincent & Laybourn-Parry, 2008). Specifický způsob, jakým vznikla jednotlivá jezera, se ale vždy liší.

Kalff (2002) v knížce *Limnology* uvádí, že v důsledku ledovcové aktivity vznikají 4 základní typy jezer. První typ je formovaný ledovou bariérou. Jedná se o menší jezera známá jako proglaciální (Obr. 1 Ice-proximal lake), která vznikla před čelem ledovce, jenž většinou přímo vytváří část břehové linie a zamezuje přirozenému odtoku. Druhý typ jezer vznikl formováním krajiny ledovcem při zalednění a na konci doby ledové, když ustupoval (Obr. 1 Alpine lake). Třetí typ jezer tvoří pozůstatky bloků ledovce po ústupu (Obr. 1 Ice-scoured lakes), zároveň bývají hlubší, jejich povodí není rozsáhlé. Jezera druhého a třetího typu dominují bývalým zaledněným pláním Severní Ameriky a Eurasie. Čtvrtý typ vzniká kombinací ledovcové aktivity s dalšími procesy (Kalff, 2002). Kniha se zabývá ale pouze hlavními typy sladkých vod na planetě a na arktická jezera se nezaměřuje.

Oproti tomu o něco novější kniha vydaná v roce 2008 ve spolupráci Vincent & Laybourn-Parry se přímo zabývá polárními jezery a řekami a uvádí mnohem více typů jezer dle vzniku (viz Obr. 1). Uvádí například i jezera která vznikla nedávným roztátím

ledovce (Obr. 1 Ice distal lake). Taková jezera nemají plně vyvinutý systém přítoku a odtoku a často opět zanikají, pokud nejsou kontinuálně napájeny ledovcem.

Menší jezera při pobřeží moře mají vyšší salinitu a často jsou obývány migrujícím ptactvem. Tato eutrofizovaná jezera bohatá na živiny můžeme nazývat i jako guanotrofní. Dalšími stanovišti mohou být mělká jezírka v tundře která vznikla na povrchu táním permafrostu (Obr. 1 Thermokarst lakes) a morénová jezírka před ledovcem, která nepřesahují hloubku 50 cm (Hessen, 2002).



Obr. 1 Schematické shrnutí možností vzniku jezer v ledovcových oblastech podle Vincent & Laybourn-Parry (2008). Legenda: Ice-proximal lake (glacial) = proglaciální jezero;

Ice-scoured lakes = pozůstatky bloků ledovce;

Maar lake = formované vulkanickou explozí a naplněné srážkami nebo podzemní vodou;

Thermokarst lakes = jezera vzniklá táním permafrostu;

Isolation lake = terasovité, pozůstatek na bývalé hladině úrovně moře;

Ice distal lake = vznik nedávným roztátím ledovce;

Alpine lake = formované předchozí ledovcovou aktivitou a dalšími geologickými procesy;

Ice-dammed lake = velké množství stojaté vody v, na, pod nebo na okraji ledovce vlivem jeho tání.

1.2. Popis řádu Cladocera se zaměřením na rod *Daphnia*

Cladocera, Diplostraca neboli perloočky jsou řád téměř výhradně sladkovodních korýšů drobnějšího vzrůstu, patřící do třídy Branchiopoda (lupenonožci). Perloočky jsou klíčovými organismy v potravní síti sladkovodních jezer a nádrží nejen v mírném pásu, ale i Arktidě.

1.2.1. Morfologie a anatomie

Lupenonožce obecně morfologicky charakterizuje více či méně článkované tělo kryté exoskeletem – chitinózním štítem na jedné straně, nebo dvouchlopňovou skořápkou. Na hlavě mají dospělci vyvinuté složené oči, k tomu jedno oko naupliové zvané ocellus, antenuly, antény a tři páry ústních okončin, vyvinuta jsou pouze jednoduchá kusadla bez makadel. Na trupu se vyskytuje variabilní počet párů nožek, minimálně však čtyři, bez pravých kloubů s žaberními přívěsky a setami.

Základní části těla jsou u různých řádů lupenonožců různě odlišeny. U perlooček rodu *Daphnia*, kterými se tato práce zabývá, je volná pouze hlava, trup s šesti páry listovitých nožek je ukryt v dlouchlopňové skořápce inkrustované uhličitanem vápenatým, článkování není dost dobře zřetelné. Na těle se vyskytuje řada pokožkových útvarů jako například hroty na skořápce (odtud pochází česká nomenklatura pro *Daphnia* – hrotnatky), trny, drápky a ostny (na postabdomenu důležité pro druhové rozlišení), nebo háčky na anténách samečků (Šrámek-Hušek *et al.*, 1962). Velikost dospělců perlooček rodu *Daphnia* je podmíněna fyziologickými a především ekologickými charakteristikami (Havel, 2009), rozsah je ale od 0,2 do 6mm.

Jejich vnější morfologie se může vlivem různých faktorů, například přítomností predátora, zásadně měnit. Tento jev je studován již od konce 19.st, kdy Zacharias (1894) popsal změny jako protažení helmy a abdominálního hrotu u *Daphnia cucullata*. Různé projevy fenotypové plasticity v reakci na podmínky vnějšího prostředí jsou dány genotypem (Bradshaw, 1965).

Endoskelet je vazivový, vylučovaný svalstvem. Nejdůležitější je břišní lamela táhnoucí se podél osy těla a sloužící k úponu dorsoventrálního svalstva, mimo-to mají i svalstvo hlavy, končetin a svalstvo útrobní. Trávicí soustavu tvoří jednoduchá trubice procházející tělem

s hepatopankreatickými přívěsky, ale bez pravého žaludku, která ústí řítí (anus) na postabdmenu. Vylučovací soustava má vyústění na hlavě u larev i dospělců. U obou se ale lehce liší. Soustava cévní je lakunární – otevřená se srdcem s ostiemi na hřbetě a hemolymfou. Výměnu dýchacích plynů zajišťují žábry na bocích nožek, alternativně využívají i dýchání střevní nebo povrchem těla. Při hypoxii čili nedostatku kyslíku ve vodě se aktivují globinové geny produkující hemoglobin, aby se vázalo více. Výsledkem je růžové až červené zbarvení jedinců.

Typ nervové soustavy je žebříčkový, složený z velké mozkové zauzliny s výběžky k očím a tykadélkům, a dvou břišních pruhů s ganglii propojených komisurami v jednotlivých člancích. Složené oko je konkrétně u rodu *Daphnia* složeno z 22 omatidií (Wagler, 1927). Chemoreceptorické ústrojí perlooček pro chuť a čich je ve formě svazku dutých smyslových tyčinek na konci tykadélek a jejich počet je druhově specifický. Samce odlišují od samic sekundární pohlavní znaky – žlázy a orgány ležící po stranách trávicí trubice. Samci jsou menší, zato ale s delšími antenulami a modifikovaným postabdmenem, na kterém vyúsťují chámovody. Samičky mají tzv. komůrku, umístěnou na dorsální straně pod karapaxem, ve které mají chráněná vajíčka (Šrámek-Hušek *et al.*, 1962).

1.2.2. Rozmnožování a životní cyklus *Daphnia*

Perloočky rodu *Daphnia* jsou specifické pro svou schopnost nepohlavního rozmnožování – obligátní nebo také cyklickou partenogenezi, kterou střídají s rozmnožováním pohlavním. Tento způsob střídání strategií rozmnožování se nazývá heterogonie. Při partenogenetickém rozmnožování, probíhajícím za optimálních abiotických podmínek, vznikají ve velkých počtech pouze samičky, klony svých matek (Hebert & Ward, 1972). Za zhoršených podmínek – nedostatku potravy, snížených teplotách, znečištění, zkrácení fotoperiody atd., se z vajíček začnou líhnout i samci, kteří se pak páří se samičkami. Pohlaví je u nich určeno prostředím (Banta & Brown, 1929).

Pohlavně vzniká jeden pár trvalých vajíček, uschovaných v tlustostěnném chitinózním útvaru na dorzální straně pod karapaxem, zvané eřipium. Samička, tento často i více pigmentovaný útvar, svléká společně s karapaxem. Takto dokáže vajíčka přečkat i nepříznivá suchá a chladná období v sedimentu vodních útvarů až do líhnutí. Celý tento proces umožňuje perloočkám kolonizaci nových stanovišť a zároveň vytvořit silnou populaci (Hiruta & Tochinai, 2014). Ve vyšších zeměpisných šířkách a nadmořských výškách

ale obvykle pohlavní rozmnožování ustupuje a populace mohou být výhradně partenogenetické (Schrader, 1925; Zaffagnini & Sabelli, 1972; Hebert & Crease, 1980). Vývoj je vždy přímý, juvenilové se podobají dospělým perloočkám. Délka života perloočky může být od 10 až do 100 dní, pokud se vyskytují ve vodě s příznivými podmínkami a bez predátorů. Za tu dobu projdou 10 až 20 fázemi instarů, kdy karapax shazují a dorůstá jim nový už pod tím starým a jejich velikost se zvětšuje skokově.

1.2.3. Ekologie

Zástupce řádu Cladocera nalézáme ve vnitrozemských povrchových eutrofních a oligotrofních sladkých vodách různě hlubokých jezer, velkých řek ale i dočasných vodních útvech na všech kontinentech kromě Antarktidy. Tedy v pelagiálu, litorálu i bentických zónách, kde se živí filtrací nanoplanktonu souhrnně nazývaného seston (Crowley, 1973). Seston tvoří disociované organické částice ve vodě jako řasy, organický detrit, bakterie a další mikrozooplankton (Moss, 1970). Konkrétně druhy *D. pulex*, *D. longispina*, *D. middendoriana*, které se běžně vyskytují v arktických sladkovodních jezerech, dokážou být relativně efektivní ve filtraci bakterií (Monakov & Sorokin, 1961; Lampert, 1974; Peterson *et al.*, 1978). Proto je označení perlooček jako herbivorních živočichů nepřesné, jelikož filtrace není selektivní pouze na řasy (Lampert, 2006). U výše zmíněných druhů z distribuce rodu *Daphnia*, který prodělal rychlou evoluci (Colbourne *et al.*, 1998) může jít o jednu z jejich adaptací na podmínky prostředí jako může být i v Arktidě, kde není dostatek potravy.

Perloočky tvoří tak významnou složku potravní sítě ve sladkých vodách, že jsou označovány jako klíčové druhy. Často patří mezi nejhojnější organismy ve vodním sloupci jezer a rybníků. Ve vodním prostředí se pohybují za pomoci antén, avšak jejich pohyb je spíše pasivní, neboť jsou unášeny. Alternativně jsou adaptovány na bentické prostředí. Proto se moc nevyskytují ve vodách s rychlým proudem. Zástupci řádu *Daphnia* obývají především pelagiál, svrchní prosvětlenější část vodního sloupce, který je bohatší na fytoplankton, kde tvoří jedny z hlavních filtrátorů celého ekosystému. Můžou být natolik efektivní filtrátoři za určitých podmínek, že v temperátních jezerech na konci jara vzniká období čiré vody téměř bez fytoplanktonu. Abundance fytoplanktonu později stoupá až s rostoucí predací perlooček rybami nebo bezobratlými predátory. Únik před predací znakoplavkami (*Notonecta*) nebo komářními larvami (*Chaoborus*) může být v čase vytvořením trvalých vajíček, vertikální migrací v závislosti na denní době nebo změnou morfologie schránek (Kalff, 2002).

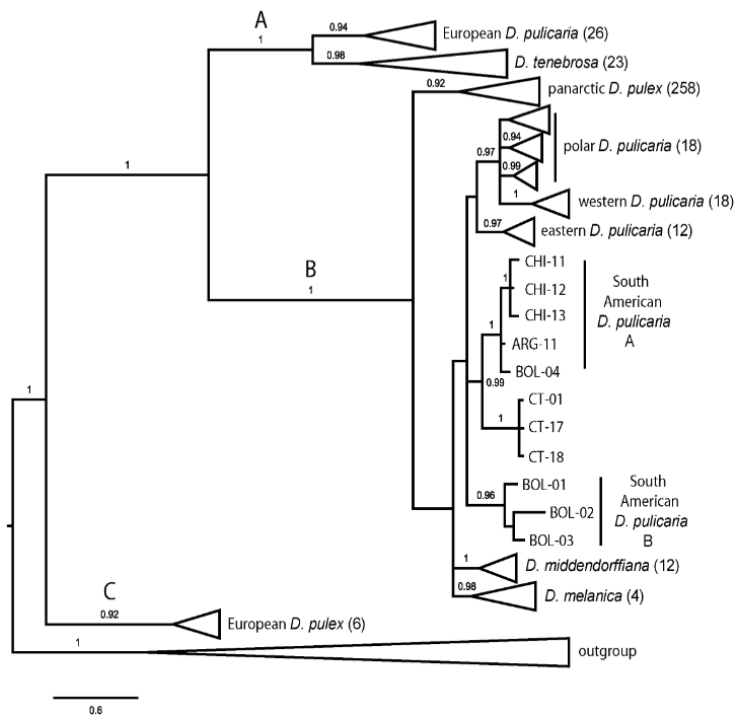
Rod *Daphnia* se skládá ale z velkého počtu druhů a odpovídají tomu i mírně odlišné životní strategie a rozdíly obývaného vodního prostředí, proto se u nich jednotlivé adaptace dají dobře studovat a porovnávat (Lampert, 2011).

1.2.4. Taxonomie rodu *Daphnia*

Řád *Cladocera* celkově zahrnuje asi 620 druhů. V současnosti se ale odhaduje, že je jich 2 – 4x více, jelikož se do nedávna určovali pouze na základě morfologických charakteristik. Ukazuje se ale, že řada druhů je kryptická (Forró *et al.*, 2008). To, že je druh kryptický znamená, že jsou v něm zahrnuty 2, často i více, blízkce příbuzných druhů, protože jsou právě pouze na základě morfologických znaků téměř nerozlišitelné.

Perloočky rodu *Daphnia* pocházejí z čeledi Daphniidae, do které spadá i *Daphnia pulex*, široký komplex morfologicky podobných druhů s rozšířením po celé holoarktidě. Tento komplex byl předmětem již mnoha fylogenetických studií (Colbourne & Hebert, 1996; Dufresne & Hebert, 1997; Colbourne *et al.*, 1998; Weider *et al.*, 1999a; Mergeay *et al.* 2008; Adamowicz *et al.*, 2009; Vergilino *et al.* 2011; Crease *et al.*, 2012; Marková *et al.*, 2013; Miner *et al.*, 2013, Alfnes *et al.*, 2016; Ye *et al.*, 2022), které se ve svých závěrech o druhové distribuci a divergenci mírně liší, což je zapříčiněno použitím různých metodik, datových souborů, nebo studiím populací z odlišných jezer a s různými mutačními rychlostmi. Bylo dokázáno, že komplex vznikl alopatickou speciací (Cristescu *et al.* 2012; Marková *et al.*, 2013). Alopatická speciace probíhá, v okamžiku, kdy se původní populace stanou zeměpisně izolované a každá se začne vyvíjet odděleně bez jakéhokoli genetického toku mezi nimi. Tyto hypotézy poukazují na to, že především geografická izolace je hlavní silou mitochondriální diverzifikace (Ye *et al.*, 2022).

Dodnes se souhrnně používá název *D. pulex* ve studiích nezabývajících se podrobnou fylogenezí těchto druhů, přesto že obsahuje nejméně 3 hlavní skupiny: *pulex*, *pulicaria*, *tenebrosa*, a 12 linií (jedna ve skupině *pulex*, devět ve skupině *pulicaria* a 2 ve skupině *tenebrosa* (Colbourne & Hebert 1996; Petrusek *et al.*, 2009; Crease *et al.*, 2012). Recentnější mitochondriální fylogenetický strom studovaných populací napříč třemi kontinenty podle Ye *et al.* (2022) potvrzuje nejméně tři linie: severoamerická *D. pulex* a *D. pulicaria*, evropská *D. pulex*, a Asijská *D. pulex*. asijská *D. pulex* je nezávislá skupina v porovnání s ostatními *D. pulex*. Následuje popis druhů nejčastěji se vyskytujících v arktickém pásu.

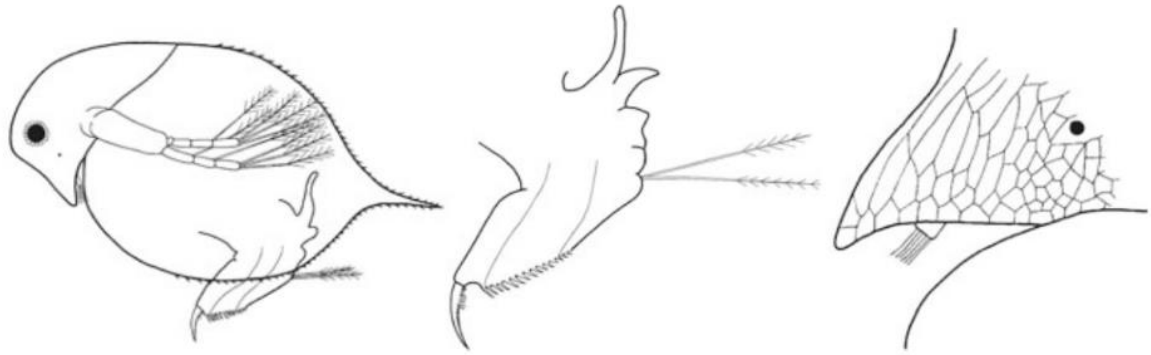


Obr. 2 Fylogenetický strom Crease *et al.* (2012)

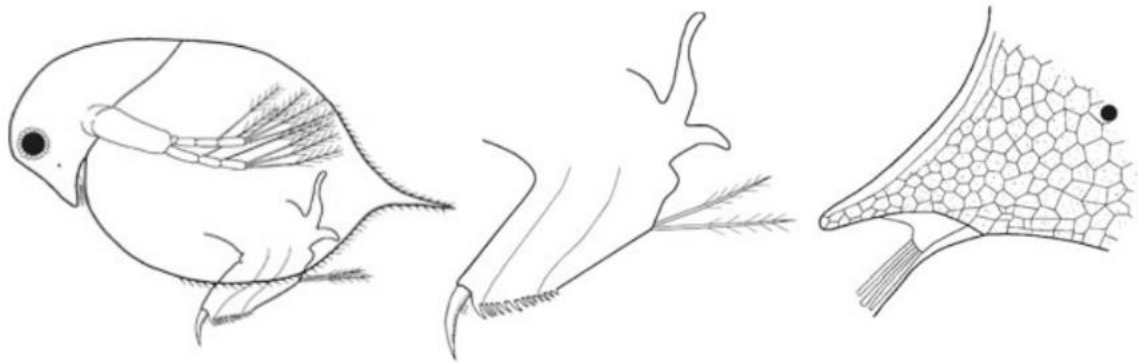
Výchozí fylogenetický strom komplexu *Daphnia pulex*, převzato ze studie od Crease *et al.* z roku 2012, která se zabývala jeho distribucí napříč kontinenty.

Skupiny *Daphnia pulex* a *Daphnia pulicaria*

Morfologicky nelze jedince těchto druhů téměř vůbec odlišit, obzvláště ty z populací na Svalbardu. Obrázky 3 a 4 založené na středoevropských vzorcích jsou uvedeny pouze pro bližší představu dokazující jejich podobnost a proč jsou potřeba genetické analýzy. Dichotomický klíč Kořínek (2005, úprava 2011, nepublikováno) určující české druhy perlooček také shodně s Rybak & Błędzki (2010) uvádí, že *Daphnia pulex* se vyznačuje políčkováním hlavy mezi naupliovým okem a koncem rostra stejnoosými polygony, zatímco druhy z komplexu *D. Pulicaria* protáhlými. Celkově bývá tvar rostra u *D. pulicaria* více protáhlý a zašpičatělý, na reálných zafixovaných vzorcích ale rozdíly nejsou vždy znatelné. *D. pulex* nikdy není pigmentována, u pulicaria a dalších druhů je pigmentování možné, ale nevyskytuje se vždy.



Obr. 3 Evropská linie *Daphnia pulicaria* podle Forbes (1893), převzato z určovacího klíče Rybak & Błędzki (2010).



Obr. 4 *Daphnia pulex* podle Leydig (1860), převzato z určovacího klíče Rybak & Błędzki (2010).

Komplexy *Daphnia pulex s.l.* a *D. pulicaria s.l.* jsou často zastoupeny právě ve vyšších zeměpisných šířkách. Předpokládá se, že se vyvinuli od společného předka sympatrickou speciací (Marková *et al.*, 2013). To znamená, že se nové druhy vyvinuly v rámci původního, ale specializovaly se ve stejné geografické lokalitě na mírně odlišná prostředí. Oba jsou ekologicky odlišné druhy (Omilian & Lynch, 2009; Cristescu *et al.*, 2012).

Teorii podporuje fakt, že *D. pulex* se vyskytuje spíše v mělkých dočasných vodních útvech bez ryb a *D. pulicaria* v hlubších jezerech a přehradách (Cristescu *et al.*, 2012; Dudycha & Tessier, 1999; Dudycha, 2004). Mezi adaptace na odlišná prostředí patří tolerance vyšších teplot, rychlejší růst a pohlavní dospělost *D. pulex*. *D. pulicaria* má naopak

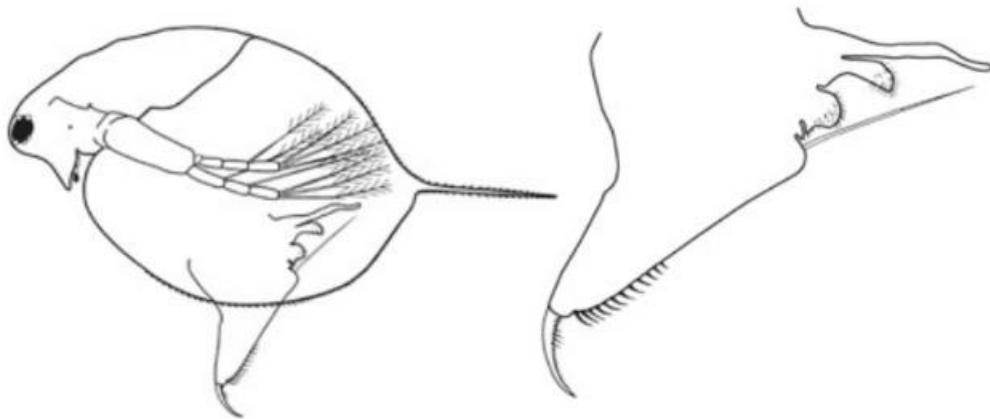
delší životní cyklus, pomalejší metabolismus a je méně náročná na živiny (Dudycha & Tessier, 1999; Hrbáčková-Esslová, 1963; Hrbáček, 1977; Dudycha, 2003).

Evropská *D. pulex* je sesterskou linií pro všechny severoamerické *D. pulicaria* i *D. pulex* (Colbourne *et al.*, 1998; Crease *et al.*, 2012). Severoamerická *D. pulex* a *D. pulicaria* jsou sesterské linie na jaderné úrovni (Ye *et al.*, 2021), mitochondriální haplotypy jsou ale propletené, což vysvětluje nesoulad s fylogenetickými stromy založenými na mitochondriálních genech (Marková *et al.*, 2013; Ye *et al.*, 2021). Úroveň toku genů mezi severoamerickými *D. pulex* a *pulicaria* dosahuje dokonce 42 % v rámci jaderného genomu *D. pulex* (Ye *et al.*, 2022).

Na základě vztahů mtDNA se považuje evropská *D. pulicaria* za odlišný druh od příbuzného amerického protějšku. Přesto sdílí stejnou alelu F pro laktát dehydrogenázu (Ldh), která, jak se předpokládá, hraje roli při adaptaci na jezera v Severní Americe. Stejnou alelu si nese ale i holoarktická *D. tenebrosa* (Marková *et al.*, 2013). Jak je vidět problematika s těmito komplexy druhů je značně složitá a různé morfologické a fyziologické vlastnosti se mohou prolínat.

Druh *Daphnia middendorffiana* a skupina *Daphnia tenebrosa*

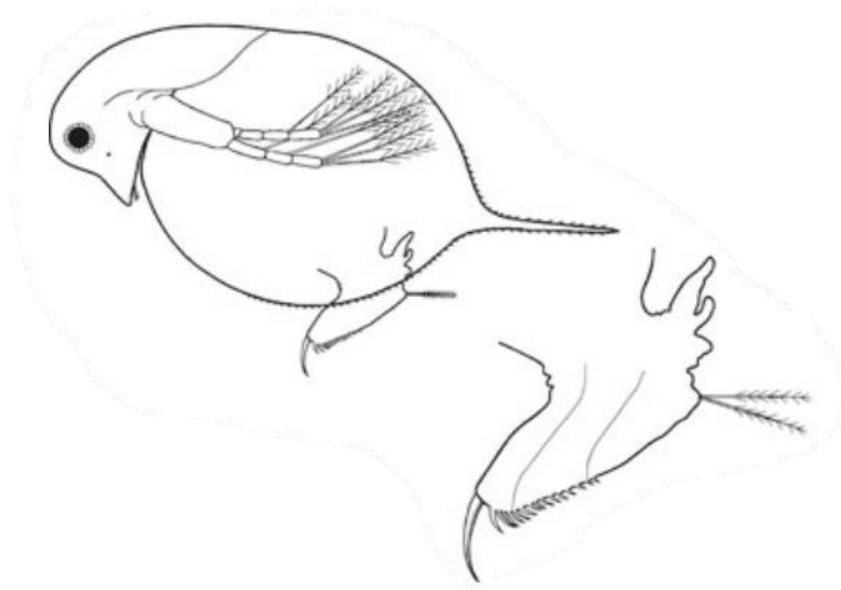
Tyto druhy jsou považovány za endemické pro Arktidu (Beaton & Hebert, 1988). Další zajímavostí je, že společně s některými liniemi z komplexů *D. pulex* a *pulicaria* jsou jediné se schopností rozmnožovat se výhradně asexuálně (Colbourne *et al.*, 1998). *Daphnia middendorffiana* také nelze zcela jednoznačně odlišit od již zmíněných druhů, drobné znaky jako ne tak pravidelně oblý tvar dorsální strany karapaxu, výrůstky na zadní straně postabdomenu viz (Obr. 5) a pigmentace nemusí být vždy spolehlivé znaky, obzvláště u juvenilních jedinců (Hebert & McWalter, 1983). *D. tenebrosa* také bývá často pigmentovaná, je to adaptace na prostředí mělkých jezer, kde je radiace vyšší (Dufresne & Hebert, 1995). Pigmentace jedince chrání před UV zářením (Hebert & McWalter, 1983).



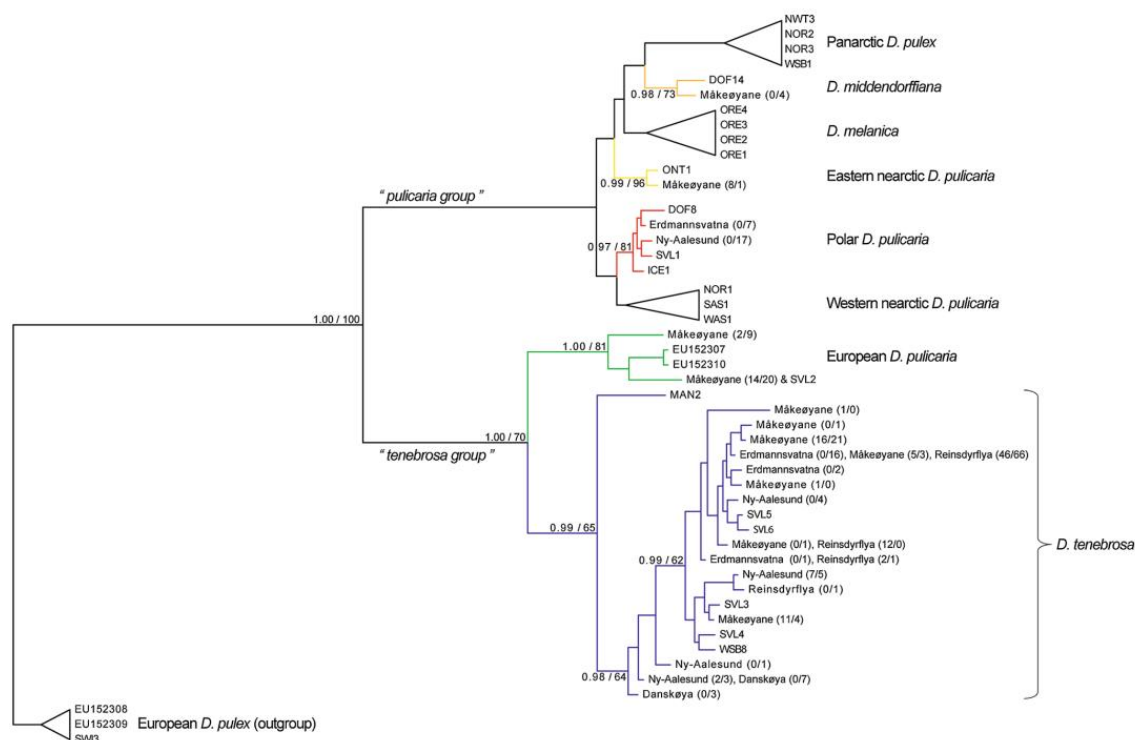
Obr. 5 *Daphnia middendorffiana* podle Fisher (1851), převzato z určovacího klíče Rybak & Błędzki (2010).

Komplex *Daphnia longispina*

Rozeznatelná je již ale *Daphnia longispina*, která se vyznačuje furkálním drápkem zcela bez štětin a protaženým trnem na karapaxu. Kořínek (2005, úprava 2011, nepublikováno) uvádí jako další znaky nízkou hlavu s vrcholem nad složeným okem, optický váček dotýkající se vrcholu, ploché první anteny. Mimo jiné že jsou často nalézány i hybridní druhy s *D. cucullata* a *galeata*. *D. longispina* se ve vysoké Arktidě vyskytuje pouze ve větších a hlubších jezerech, na menší jezírka s proměňujícími se těžkými podmínkami není pravděpodobně dost dobře adaptovaná (Hessen, 2002).



Obr. 6 *Daphnia longispina*, převzato z určovacího klíče Rybak & Błędzki (2010).



Obr. 7 Alfnes *et al.* 2015

Obrázek je převzatý ze studie od Alfnes *et al.* z roku 2015, která se zabývala druhovou distribucí z komplexu *Daphnia pulex* přímo na Svalbardu v severnějších oblastech, než ze kterých pochází vzorky z této bakalářské práce.

1.3. Ekologie perlooček rodu *Daphnia* v Arktických jezerech

Nepříznivé klimatické podmínky Arktidy, krátká vegetační doba a zejména nedostatek živin mají dopad na potravní sítě tím, že jsou značně redukovány a zjednodušené, jak již bylo zmíněno. V polárních oblastech tundry se setkáme pouze s omezeným počtem druhů perlooček, protože se zvyšující se nadmořskou výškou obecně klesá druhová diverzita organismů (Fischer, 1960; MacArthur, 1972; Schall & Pianka, 1978). Perloočky z rodu *Daphnia* jsou oportunistické druhy, flexibilně reagující na změny environmentálních podmínek (Lampert, 2011), pochopitelně ale vždy s určitým zpožděním (Kalff, 2002), a se schopností obývat i nově vzniklé efemerní útvary díky trvalým vajíčkům a dalším přizpůsobením.

Nicméně nízké teploty a další ztížené podmínky pro život v Arktidě s sebou přináší hned několik omezení pro vývoj jedinců, které perloočky efektivně překonaly. Druhová

diverzita sice není velká, ale skrývá v sobě mnoho ekotypů a genetické diverzity, jenž jim pomáhá kompenzovat všechna omezení (Jónsdóttir, 2005). Při nízkých teplotách mají obecně buňky zhoršenou schopnost proteosyntézy, perloočky se ale přizpůsobily polyploidizací – jejich buňky obsahují více než jeden chromozomální pár. To jim zajistilo zvýšený obsah RNA, díky které mohou kumulovat své zásoby fosforu a efektivně je ukládat pro pozdější potřeby (Van Geest *et al.*, 2010). Díky tomu se paradoxně i vyvíjí a dospívají rychleji než jejich diploidní protějšky z mírného pásu (Dufresne & Hebert, 1998). Je to i další faktor proč právě v těchto nehostinných krajinách perloočky r. *Daphnia* dorůstají v průměru do větších velikostí. Pravděpodobně polyploidie u arktických perlooček z komplexu *D. pulex* vznikla po vzájemných kříženích mezi geneticky odlišnými populacemi (Dufresne & Hebert, 1995).

Mimo jiné si arktické perloočky vyvinuly schopnost tvorby trvalých vajíček bez toho, aniž by se sexuálně rozmnožovaly. Můžou být výhradně partenogenetické, počet potomků je ale menší než u perlooček v mírném pásu (Hebert & Crease, 1980; Hebert & McWalter, 1983; Weider *et al.*, 1987). Alozymová variace asexuálních perlooček *D. pulex* v nízké Arktidě má okolo 1–3 klonů na jezero (Hebert, 1987). Oproti tomu v temperátu je průměrně 2–4 klonů na jezero (Hebert & Crease, 1983). Alozymová neboli také proteinová variace se běžně využívá právě k popisu genetické variability mezi jedinci v dané populaci, vedle modernějších analýz DNA (Martiny, 2001).

Jelikož jsou mladá arktická jezera ve většině případů bez ryb, stává se největším predátorem perlooček v mělkých jezerech právě listonoh *Lepidurus arcticus*. Listonozi jsou primárně bentičtí korýši, živící se sedimentem, ve vodním sloupci se dokáží pohybovat a lovit kořist jako jsou buchanky a perloočky pouze omezeně. Nedokáží být efektivním predátorem v celém vodním sloupci, proto se v hlubších jezerech nevyskytují. V takových jezerech perloočky dorůstají až do velikostí až 1,5 cm. Bylo dokázáno, že listonozi preferují menší kořist (Arnold, 1966). Důvod pro toto predační chování listonohů je pomalejší rychlost pohybu menších perlooček a jejich snadnější zpracování (Miller & Hobbie, 1980). Reakční odpovědí v prostředích, kde se sice listonoh vyskytuje, ale jeho predační tlak není tak velký, že by zlikvidoval populaci perlooček je skokový růst perlooček (Arnold, 1966).

Pokud je predační tlak zapříčiněn rybami, fenotypová odpověď je opačná. Potvrzujícím je pokus prováděný v alpínských jezerech bez ryb v Sierra Nevada v USA, kdy do vody byly vysazeny místní druhy lososovitých ryb a později byly pozorovány fenotypové změny zmenšením velikosti a snížením počtu vajíček *D. melanica* (Latta *et al.*, 2007).

Dalším potencionálním predátorem druhu *Daphnia pulex* v arktických jezerech může být dravý druh buchanky (Copepoda) *Heterocope septentrionalis*. Ačkoli vliv tohoto predátora není jednoznačný, protože například *D. middendorffiana* kolonizovala jezera bez výskytu *H. septentrionalis* hůře nebo vůbec, což naznačuje existenci nepopsaných interakcí mezi těmito druhy. Ale i odpověď *D. pulex* na predanční tlak se odvíjí od druhu predátora, který je přítomen a predanční tlak vyvíjí. V jezerech, kde se bezobratlí predátoři nevyskytují jednoznačně převládá *D. pulex* nad *D. middendorffiana* (Dzialowski & O'Brien, 2004; O'Brien & Luecke 2011).

1.3.1. Druhová distribuce *Daphnia* v polárním pásu

Svalbard

Studie prováděná na souostroví Svalbard (Špicberky) z roku 2016 zabývající se druhovou distribucí širokého komplexu *D. pulex* uvádí složení zde nejčastějších linií v přibližném poměru: *D. tenebrosa* 75 %, evropská *D. pulicaria* 14 %, *D. middendorffiana* 11 % a v malém množství panarctická *D. pulex*, *D. melanica*, polární *D. pulicaria* a východní i západní nepolární *D. pulicaria* (viz obr. 7) (Alfsnes *et al.*, 2016). Výskyt nepolární *D. pulicaria* studie dává do souvislosti s migračními trasami ptáků, kteří je mohou přenášet (Figuerola, 2005; Alfsnes *et al.*, 2016). *Daphnia middendorffiana* a polární *D. pulicaria* byly v minulosti pozorovány na Svalbardu, obě linie mají výskyt i na západu v Kanadě a Grónsku. Pouze polární *D. pulicaria* byla pozorována výhradně v Norsku (Alfsnes *et al.*, 2016).

Výzkum byl prováděn se vzorky z jezer, která se lišila obsahem živin ve vodě, početností a druhovou diverzitou migrujících ptáků. Vodní ptactvo, nejčastěji husa krátkozobá (*Anser brachyrhynchus* Baillon) a berneška bělolící (*Branta leucopsis* Bechstein), svým vylučováním obohacovalo vodu o dusík a fosfor, a tím ji mírně eutrofizovalo. Jezera v blízkosti mořské zátoky Hudson Bay, ze kterých se vzorky odebíraly, měla salinitu vyšší než vnitrozemská. Jezera měla společné to, že byla mělká, hloubka nepřesahovala 2 m, a v zimě promrzala celá.

Severní Amerika

Mapování planktonu v 49 jezerech na jiho-východě Kanady v přímořské provincii Nova Scotia v Kanadě ukázalo, že se zde obecně vyskytují spíše menší druhy *Eubosmina longispina* a větší druhy perlooček *Daphnia* nejsou tak časté. Předpokládanou příčinou je predanční tlak dalších bezobratlých živočichů a ryb (Korosi & Smol, 2011). O něco starší a rozsáhlejší

průzkum 121 jezer prováděný Weider & Hobaek (2003), zabývající se klonální diverzitou z komplexu *Daphnia pulex* v arktických ostrovních částech Kanady čítal stejné skupiny jako na Svalbardu: *Daphnia pulicaria*, *D. middendoriana* a *D. tenebrosa*. Přičemž druhové zastoupení potvrzovalo to samé, co Weider *et al.*, (1999). Skupina *D. pulicaria* zahrnovala 3 odlišné linie severoamerické *D. pulicaria*, panarktický druh *D. pulex*. Do skupiny *D. tenebrosa* byl zařazen druh *D. tenebrosa* a jeho linie a evropská *D. pulicaria*. Jezera přímo ve studii specifikována nebyla, ale autoři dávají druhovou distribuci do souvislosti s glaciálními refugii a poukazují na možný vliv klimatických faktorů na jako je kratší sezóna vhodná k růstu a rozmnožování a chladnější průměrné roční teploty. Ledovec ostrovy odkryl před 10 000 lety, to znamená, že žádné jezero zde nebude většího stáří a jsou také relativně mladá (Steig *et al.*, 1998).

Ve studii vedené O'Brien & Luecke v jezerní oblasti Toolik na severu Aljašky byly zmiňovány druhy *D. middendoriana* a *D. pulex* (O'Brien & Luecke 2011). Jezera v této oblasti vznikla po ustupujícím ledovci v Pleistocénu. Přímo jezero Toolik je hluboké až 23 m a staré mezi 11 až 13 tisíci lety (Hamilton 2003).

Grónsko

V roce 2001 vyšla studie zabývající se distribucí perlooček v Grónsku, vzorky zahrnující 14 druhů perlooček byly sbírány v 56 oligotrofních arktických jezerech. Komplex *Daphnia pulex*, nalézán na severo-východní i západní části ostrova převážně v pelagiálu hlubokých i mělkých jezer vždy bez ryb, byl ale pokládán za 1 druh (Lauridsen *et al.*, 2001).

Jezera ze studie se nacházela v severo-východní a západní příbřežní části ostrova a byla rozdělena do 4 skupin dle hloubky pod a nad 7 m, s rybami a bez nich. V jezerech se vyskytovaly 2 druhy bezobratlých predátorů – dravý potápník (*Colymbetes dolobratus*) v některých jezerních lokalitách na západě a listonoh (*Lepidurus arcticus*) ve všech severo-východních lokalitách bez ryb. Pouze v 21 jezerech rostla makrofyta, podle studie ale na distribuci perlooček vliv neměla (Lauridsen *et al.*, 2001). Studie Christoffersen 2001 zabývající se predací listonohů, nerozlišovala mezi konkrétními druhy perlooček *Daphnia pulex*, zmiňují ale, že perloočky byly vždy pigmentovány. To znamená, že přímo druh *D. pulex* to pravděpodobně nebyl.

Sibiř

Jako na jiných územích, i na Sibiři je pozorována vysoká diverzita v rámci druhu *Daphnia pulex* (Weider & Hobæk, 1997). V západní části Ruska se stejně jako v Kanadě vyskytují převážně 2 skupiny – *D. pulicaria* a *tenebrosa* téměř totožného druhového složení (Weider *et al.*, 1999).

Mimo druhy z komplexu *Daphnia pulex* se ve vysoké Arktidě nachází i další druhy perlooček jako je *Macrothrix hirsuticornis*, *Chydorus spaericus*, *Acroperus harpae* nebo *Alona guttata* (Husmann *et al.*, 1978). Tyto druhy jsou spíše bentické a tím že nejsou tak často ve vzorcích z planktonní sítě vhodné pro pelagiální části jezer, není jim věnována velká pozornost.

2. Jezera studovaných vzorků

Tab. 1: Přehled jezer studovaných vzorků ze Svalbardu a jejich charakteristiky

	TYP JEZERA	STÁŘÍ	PROMRZÁ	HLUBOKÉ	SEZONNÍ	KOMPLEX	LEPIDURUS ARCTICUS
HORBY	1	100	asi ano	ne	ne	<i>D. pulex pulicaria</i>	ne
MORÉNA	morénové						
BRU KAR 1	morénové	100	asi ano	ne	ne	<i>D. pulex pulicaria</i>	ne
BRU KAR 2	morénové	100	asi ano	Ne	ne	<i>D. pulex pulicaria</i>	ne
EBBA 1	mořská terasa	1000	ano	ne	ano	<i>D. pulex pulicaria</i>	ano
SCOTTEHYTA	mořská terasa	1000	ano	ne	ano	<i>D. pulex pulicaria</i>	ano
PYR DOL	ledovcové	10000	ne	ano	ne		ano
BLUE LAKE	ledovcové	10000	ne	ano	ne	<i>D. pulex pulicaria</i> ; <i>D. longispina</i>	ano
HUSÍ	mořská	1000	ano	ne	ano	<i>D. pulex pulicaria</i>	ano
OSTROVY	terasa						

Tab. 1. uvádí základní informace o studovaných jezerech, které jsou stěžejní pro porovnávání druhové distribuce perlooček rodu *Daphnia*.



Obr.8



Obr.9

Na obrázku číslo 8 a 9 je mapa souostroví Svalbard (Špicberk) s přiblížením na zátoku Petuniabukta z oficiální stránky <https://toposvalbard.npolar.no> [21.3.2023].

Všechna jezera, ze kterých vzorky zooplanktonu pochází, se nachází v okolí zátoky Petuniabukta. Zajímavá jsou tím, že jsou v různých fázích geologické sukcese (Zwoliński *et al.*, 2007), mají různé zdroje vody, podloží, intenzitu biogenních procesů, chemismus (Stankowska, 1989) a jsou různě daleko od moře. Také je rozdíl v hloubce promrzání jezer, většina začíná zamrzat v září. Hladina vody se mění vlivem evaporace, přidáním se k podzemní vodě nebo prosakováním (Zwoliński *et al.*, 2007).

Jezera a mokřiny tak mladé jako Scottehytta, vznikají rychlým táním ledu v poslední době pod vlivem oteplování (Woo & Young, 2006). Taková jezera jsou velmi mělká a také rychle zanikají odtokem nebo vsakem do tajícího permafrostu. Vliv má i sezónnost, spousta jezer na vyvýšených mořských terasách se objevují pouze na 3–4 měsíce v roce v období od června do září (Zwoliński *et al.*, 2007).

Na východním pobřeží zátoky Petuniabukta v ústí údolí Ebbadalen se formují mořská terasovitá jezírka jako samotné Ebba už od pozdního Pleistocénu (Salvigsen, 1984; Ladvik *et al.*, 1987), z toho vyplývá, že některá mohou být 10 000 let stará. Obecně jsou mělká, dno tvoří permafrost a rašelinný sediment, místy začíná se utvářet i půda (Zwoliński *et al.*, 2007).

3. Vlastní experiment

3.1. Cíl

Práce si klade za cíl porovnání přítomnosti druhů rodu *Daphnia* určených pomocí DNA barcodingu s environmentálními vlastnostmi jezer. Arktická jezera, jak již bylo zmíněno jsou historicky mladá a vždy čistá, ve svých charakteristikách se ale značně liší (viz tab. 1).

Hlavní otázka

Jsou míra predace, trofie, morfologie jezera a další faktory určující pro přítomnost konkrétních druhů *Daphnia* v arktickém jezeře?

Hypotézy

- Druhové složení perlooček rodu *Daphnia* se v závislosti na stáří jezera liší;
- predanční tlak působí na druhové složení perlooček rodu *Daphnia*;
- druhové složení perlooček rodu *Daphnia* se liší v jezerech oligotrofních a eutrofních;
- druhové složení se liší podle toho, jestli jezero promrzá zcela nebo jen částečně;
- druhové složení se liší v závislosti na tom, zda jezero vzniká pouze sezónně.

3.2. Vzorkování

Analýza staví na vzorcích odebraných v letech 2014–2019 z jezer na Špicberkách (viz tab. 1), které byly zakonzervované v ethanolu. Dle morfologických znaků byli jedinci rozřídění a taxonomicky zařazeni pod zvětšením 40–100× na stereomikroskopu a mikroskopu. Určovalo se především dle morfologických znaků na postabdomenu. Po určení byl každý jedinec vložen do Eppendorfovy zkumavky s ethanolovým roztokem a zamrazen pro pozdější genetický rozbor na Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR (IAPG) v Liběchově.



Obr. 10 Vlastní fotografie, předpoklad *Daphnia pulicaria*

3.3. Metodika analýzy DNA

3.3.1. Izolace, PCR

Rozmražené vzorky v roztoku ethanolu se v otevřených Eppendorfových zkumavkách vložily do specializované centrifugy (Biotech – Speed vac), kde se pod mrazem a tlakem tekutina odpařila po 2 hodinách. Vzorky se následně sušily v termobloku půl hodiny při 55 °C. Při izolaci DNA z tkáně perlooček se používala souprava Dnase Blood Tissue Kit. Do každého z vysušených vzorků bylo přidáno 180 µl pufru ATL a 20 µl proteinázy K. Po promíchání na vortexu se vzorky inkubovaly při 55 °C do druhého dne. K rozpuštěným vzorkům bylo přidáno 200 µl pufru AL a po promíchání byly inkubovány 10 minut při 70 °C. Poté bylo přidáno do každé zkumavky 200 µl 100 % ethanolu a opět promícháno. Následně se připravily kolonky s Eppendorfovými zkumavkami, pro odstředění vedlejších produktů, vzorky do nich byly přepipetovány a vloženy do centrifugy nastavené na 8000 otáček a 22 °C na 1 minutu. Kolonky s produktem byly přemístěny do nové Eppendorfovy zkumavky. Ke všem vzorkům bylo přidáno 500 µl, pufru AW 1, znova se vložily do již nastavené centrifugy na 1 minutu. Do kolonek v opět nové odpadní zkumavce bylo napipetováno 500 µl pufru AW 2. Centrifuga byla nastavena na 13000 otáček, 22 °C, a 3 minuty se vzorky v kolonkách centrifugovaly před přenesením do 1,5 ml klasické Eppendorfovy zkumavky. Do kolonek bylo přidáno 120 µl pufru AE přehřátého na 70 °C ve 2 krocích v časovém

rozmezí 20 min. pro lepší rozpustnost. Po dalších 20 minutách rozpuštění byly kolonky zasazené v Eppendorfových zkumavkách stočené, tak že vyizolovaná DNA zůstala ve zkumavce pro další užití. Finální produkt již nebylo třeba čistit a mohlo se přejít k PCR. Mimo samotné vzorky byl vždy připraven jeden čistý (blank – $B_{izolace}$) vzorek bez DNA.

Před PCR byl namíchán základní mix PPP, H₂O pr.L a pr.H a byl rozpipetován do stripu po 22 μ l. Poté byly do označených kolonek na stripu napipetovány 3 μ l odpovídajícího vzorku DNA a 3 μ l čistého vzorku $B_{izolace}$. Současně byl vytvořen čistý (blank – B_{PCR}) vzorek. Takto připravené vzorky byly vloženy na 2,5 hodiny do přístroje na PCR (Biorad – cykler).

Kontrolní elektroforéza se prováděla až následně po PCR aby koncentrace DNA byla vyšší a viditelnost úseků DNA požadované délky, byla lepší. 5 μ l z každého PCR produktu bylo pipetováno přímo na připravený gel, barvivo v sobě již z předchozí přípravy obsahovalo. Vedle do drážek bylo napipetováno také 5 μ l kontrolního ladderu.

3.3.2. DNA barcoding (COI)

Pro bioidentifikaci jednotlivých druhů v prostředí se mimo klasické morfologické přístupy využívá sekvenování DNA. DNA barcoding je nízkonákladový a spolehlivý způsob určování díky analýze DNA. K rozpoznávání slouží krátké standardizované genové regiony, pro živočichy konkrétně mitochondriální gen cytochrom *c* oxidáza I (COI). (Hebert *et al.*, 2003; Savolainen *et al.*, 2005). Tyto sekvence specifické pro každý druh jsou pak ukládány v elektronických databázích barcodů jako třeba The Barcode of Life Data System (BOLD), kde jsou volně poskytovány vědcům napříč světem (Ratnasingham & Hebert, 2006). Výhodou mtDNA barcodingu oproti klasickému morfologickému přístupu je přesné určení jedinců do druhu navzdory různému stáří, pohlaví a stupni vývoje, nebo rozpoznání i kryptických druhů, které mají na první pohled nerozlišitelný fenotyp (Hebert *et al.*, 2004), jako je to právě u komplexu druhů *Daphnia pulex*. Využití mtDNA jako markeru má další využití ve fylogeografii, fylogenetice a populační genetice (Avisé *et al.*, 1987; Moritz *et al.*, 1987; Avisé, 2004).

3.3.3. mtDNA

Napříč populacemi i mezi jedinci jednotlivých druhů se liší živočichové především svou mitochondriální DNA (mtDNA) (Ye *et al.*, 2022). Mitochondriální geny přítomné v každé buňce těla jsou děděny maternálně (Ankel-Simons, 1996). Její zkoumání obecně u zvířat

je výhodné z hlediska malého počtu rekombinací (Berlin *et al.*, 2004), což má za důsledek konzervaci genů specifických pro každý druh. Navíc nám mtDNA poskytuje vhled do buněčných i evolučních procesů, nejenom perlooček rodu *Daphnia*. Ale však bylo zjištěno, že i na úrovni mitochondriální DNA jsou rekombinace i u živočišných druhů jako *Daphnia* (Ye *et al.*, 2022). Celý genom rodu *Daphnia* sice byl publikován již v roce 2011 (Colbourne *et al.*, 2011), nicméně i v současnosti je stále nedostatek dat které by vysvětlovaly evoluční vývoj a proces hybridizace a těmto dějům nerozumíme dostatečně (Ye *et al.*, 2022).

3.4. Výsledky

Z důvodu nastalých problémů při provádění namnožení DNA pomocí PCR jednotlivých určených jedinců perlooček *Daphnia* nebylo, bohužel, možné provést sekvenaci stěžejní pro získání dat pro analýzy, na relevantními výsledky tudíž bude potřeba více času. Na experiment byl získán grant ve výši 28 000 Kč od Studentské grantové agentury (SGA) PřF JU, na jehož obhajobě v prosinci 2023 – lednu 2024 budou výsledky prezentovány. Poznatky následně budou použity jako výchozí pro podrobnější navazující magisterskou práci.

4. Diskuse

Pomalá rychlost morfologické evoluce v porovnání s rychlostí genetických adaptací na různá prostředí u čeledi perlooček Daphniidae způsobil značný chaos v taxonomii (Colbourne *et al.*, 1998), která se v posledních dekáдах intenzivně za pomoci genetických analýz studuje. Genom rodu *Daphnia* byl sice již publikován v roce 2011 (Colbourne *et al.*, 2011), nicméně stále není dostatek dat nejenom z arktických regionů s výskytem komplexu *Daphnia pulex*, a procesy diversifikace stále nejsou dostatečně objasněny (Ye *et al.*, 2022). Identifikace haplotypů mtDNA nebo alozymové variace poskytují pouze omezené informace o klonální diverzitě, a využití dalších molekulárních mikrosatelitů by stále mohlo odhalit ještě větší diverzitu (Alfnes *et al.*, 2016).

Zatím se téměř žádná studie se nezabývá komplexním definováním abiotických i biotických podmínek vodních prostředí, ve kterých se jednotlivé formy druhu *Daphnia pulex* vyskytují, což by poskytlo vysvětlení různých adaptací konkrétních druhů a jejich preferencí určitých prostředí.

Na existující trendy v druhové distribuci v arktických jezerech poukazovaly především studie zabývající se vztahem predátor – perloočka. Že má predátor přímý vliv na planktonní společenstvo, které reguluje je nezpochybnitelné. Dopady se ale v závislosti na druhu predátora výrazně liší. Bylo pozorováno, že v jezerech s rybí obsádkou je planktonní skladba odlišná, perloočky rodu *Daphnia* se zde téměř nevyskytují. Místo nich jsou pozorovány menší druhy, například z rodu *Bosmina* (Korosi & Smol, 2011). Důvodem je větší průměrná velikost než ostatních druhů perlooček, jež *Daphnie* činí výhodnou kořistí pro planktivorní ryby (Brooks & Dodson, 1965). Dalším důvodem je, že perloočky z linie *Daphnia pulicaria*, *tenebrosa* a *middendoriana* mají často karapax pigmentovaný melaninem, který je sice chrání před UV zářením, pro predátory se stávají ale viditelnější (Hebert & McWalter, 1983).

Antipredační odpověď v jezerech s výskytem listonoha se však zcela liší – perloočky dorůstají naopak do mnohem větších rozměrů (Arnold, 1966). V roce 2011 byl v jezerní oblasti Toolik na Aljašce proveden manipulační experiment s běžně vyskytujícími se druhy *D. middendoriana* a *D. pulex*. Ze závěru vyplývalo, že *D. middendoriana* se nevyskytuje v hojném počtu v jezírkách společně s *D. pulex*, pokud není přítomen predátor, který by populace *D. pulex* reguloval (Dzialowskik & O'Brien, 2004; O'Brien & Luecke, 2011). Z toho vyplývá že i konkrétní druh bezobratlého predátora má specifický vliv na druhové složení perlooček z širokého komplexu *D. pulex*.

O rozdílu v planktonním složení mezi jezery, která promrzají a která ne, nemůžeme s jistotou nic říci, stejně tak o tom, jestli se druhové složení liší v závislosti na tom, zda jezero vzniká pouze sezónně, jelikož zatím nejsou provedené žádné studie. Zcela promrzají většinou jezera mělká, kde je pozorován četnější výskyt druhu *Daphnia pulex* oproti *D. middendoriana*. (Dzialowskik & O'Brien, 2004). Na druhou stranu, Alfsnes *et al.* (2016) zaznamenal všechny druhy běžně se vyskytující na Svalbardu, přestože jím pozorovaná jezera kompletně promrzala. Proto nejspíše promrzání vliv na distribuci perlooček mít nebude. Všechny druhy přečkávají zimy v podobě trvalých vajíček v sedimentu pravděpodobně s podobnou šancí na vylíhnutí.

Zato složení populací v oligotrofních a eutrofních jezerech je dost odlišné. Většina arktických jezer je oligotrofní – živinově chudá. Eutrofní jezera bývají většinou ta staršího původu. Dusík, fosfor a další látky nahromaděné splachem opadu a odumřelé organické hmoty v sedimentu se v jezeře postupně časem hromadí. V arktických podmínkách mohou být jezera eutrofizována také produkcí exkrementů velkými hejny hnízdícího ptactva. Další způsob nemusí být na první pohled tak zřejmý, ale i arktická jezera, která se nachází v krajinách

nedotčených lidskou aktivitou jsou obohacovány o živiny z atmosférické depozice, které přináší drážky. Dostáváme se tak k dalšímu globálnímu problému, jakým je dopad lidských aktivit nejen na oteplování ale i živinové poměry v přírodě (Schindler *et al.*, 1974; Ayala-Borda *et al.*, 2021). Závislost distribuce druhů *Daphnia pulex* na živinových poměrech není zatím v literatuře doložena, ale u jiných druhů jsou odlišné živinové preference známe. Pro příklad, druhy perlooček preferující nízký obsah živin jsou *Daphnia pulicaria*, *D. dentifera*, *Acroperus harpae*, *Alonella nana*, *A. excisa*, *Chydorus piger* a *Eubosmina*. Naopak *Chydorus brevilabris*, *Daphnia ambigua*, *D. pulex* a *Graptoleberis testudinaria* preferují eutrofní lokality (Bos & Cumming, 2003). Na základě toho můžeme očekávat určitou variabilitu v trofických preferencích i u komplexu ekologických druhů *D. pulex* v širším pojetí.

Dopady globální změny klimatu jsou v polárních oblastech, a zvláště na Špicberkách výraznější než v jiných zeměpisných šířkách (Morison *et al.*, 2000; Walsh *et al.*, 2011). V důsledku těchto změn se dají předpokládat i změny v druhové distribuci rodu *Daphnia* (Walsh *et al.*, 2011). Kvůli vyšším teplotám se bude pravděpodobně měnit hloubka promrzání jezer (Lougheed *et al.*, 2011), a invazivní druhy budou lépe přežívat, například komáři z čeledi Chironomidae nebo různá makrofyta (Smol *et al.*, 2005; Lougheed *et al.*, 2011), které mohou pozměnit strukturu prostředí i chod potravních sítí. Změnami malého i velkého hydrologického cyklu se bude měnit vysychavost jezer (Loaiciga *et al.*, 1996), přičemž některé druhy jsou svými adaptacemi přizpůsobeny na vysychající jezera, zatímco jiné na trvale zavodnělá prostředí. Složení populací v jezerech v blízkosti pobřeží, která mají přirozeně vyšší salinitu než vnitrozemská, se může výrazně změnit v důsledku rostoucí koncentrace solí. Podobně je tomu s koncentracemi i jiných živin, které se budou zvyšovat (Lougheed *et al.*, 2011).

5. Závěr

Jelikož je rod perlooček *Daphnia* považován za jeden z modelových organismů, zdá se být v porovnání s jinými relativně dobře prostudovaný. Ve studiích z posledních let zabývajících se především jejich genetickou diverzitou v Arktidě ale chybí souvislost s informacemi o jejich prostředí. Vzhledem k rychlosti oteplování v arktických oblastech se stávají místní ekosystémy dobrým modelem pro výzkum dopadů globálních změn na ekosystémové struktury. Proto je stěžejní propojit současné poznatky biotickými i abiotickými podmínkami a prohloubit je za účelem získání kompletních dat pro relevantní porovnávání změn do budoucna. Tato práce se zabývala základním shrnutím těchto podmínek a stěžejní literatury k tématu tak, aby na výzkum mohla být navázána experimentální část provádějící mtDNA barcoding.

6. Seznam zdrojů

1. Adamowicz, S. J., Petrusek, A., Colbourne, J. K., Hebert, P. D., & Witt, J. D. (2009). The scale of divergence: a phylogenetic appraisal of intercontinental allopatric speciation in a passively dispersed freshwater zooplankton genus. *Molecular phylogenetics and evolution*, 50(3), 423-436.
2. Alexander, L. V. Abbasi, DR 2006. Americans and climate change: Closing the gap between science and action. In A Synthesis of Insights and Recommendations from the 2005 Yale F&ES Conference on Climate Change. New Haven, Connecticut: Yale University Press.(ACIA) Arctic Climate Impact Assessment. 2004. Impacts of a Warming Arctic: Arctic Climate Impact Assessment, Overview Report. Cambridge University Press. Available for download at.
3. Alfsnes, K., Hobæk, A., Weider, L. J., & Hessen, D. O. (2016). Birds, nutrients, and climate change: mtDNA haplotype diversity of Arctic *Daphnia* on Svalbard revisited. *Polar Biology*, 39(8), 1425-1437.
4. Ankel-Simons, F., & Cummins, J. M. (1996). Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: implications for theories on human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(24), 13859-13863.
5. Arnold, G. P. (1966). Observations on *Lepidurus arcticus* (Pallas)(Crustacea, Notostraca) in east Greenland. *Annals and magazine of natural history*, 9(106-108), 599-617.
6. Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., ... & Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 489-522.
7. Ayala-Borda, P., Lovejoy, C., Power, M., & Rautio, M. (2021). Evidence of eutrophication in Arctic lakes. *Arctic Science*, 7(4), 859-871.
8. Banta, A. M., & Brown, L. A. (1929). Control of sex in Cladocera. III. Localization of the critical period for control of sex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 15(2), 71-81.
9. Beaton, M. J., & Hebert, P. D. (1988). Geographical parthenogenesis and polyploidy in *Daphnia pulex*. *The American Naturalist*, 132(6), 837-845.
10. Berlin, S., Smith, N. G., & Ellegren, H. (2004). Do avian mitochondria recombine?. *Journal of Molecular Evolution*, 58(2), 163-167.

11. Bos, D. G., & Cumming, B. F. (2003). Sedimentary cladoceran remains and their relationship to nutrients and other limnological variables in 53 lakes from British Columbia, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(10), 1177-1189.
12. Bradshaw, A. D. 1965: Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv Genet* 13: 115-155.
13. Brooks, J. L., & Dodson, S. I. (1965). Predation, Body Size, and Composition of Plankton: The effect of a marine planktivore on lake plankton illustrates theory of size, competition, and predation. *Science*, 150(3692), 28-35.
14. Vincent, W. F., & Laybourn-Parry, J. (Eds.). (2008). *Polar lakes and rivers: limnology of Arctic and Antarctic aquatic ecosystems*. Oxford university press.
15. Christoffersen, K. (2001). Predation on *Daphnia pulex* by *Lepidurus arcticus*. *Hydrobiologia*, 442, 223-229.
16. Colbourne, J. K., & Hebert, P. D. (1996). The systematics of North American *Daphnia* (Crustacea: Anomopoda): a molecular phylogenetic approach. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1337), 349-360.
17. Colbourne, J. K., Crease, T. J., Weider, L. J., Hebert, P. D., Duferesne, F., & Hobaek, A. (1998). Phylogenetics and evolution of a circumarctic species complex (Cladocera: *Daphnia pulex*). *Biological journal of the Linnean Society*, 65(3), 347-365.
18. Colbourne, J. K., Pfrender, M. E., Gilbert, D., Thomas, W. K., Tucker, A., Oakley, T. H., ... & Boore, J. L. (2011). The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. *Science*, 331(6017), 555-561.
19. Crease, T. J., Omilian, A. R., Costanzo, K. S., & Taylor, D. J. (2012). Transcontinental phylogeography of the *Daphnia pulex* species complex.
20. Crowley, P. H. (1973). FILTERING RATE INHIBITION OF *DAPHNIA PULEX* IN WINTERGREEN LAKE WATER 1, 2. *Limnology and oceanography*, 18(3), 394-402.
21. Cristescu, M. E., Constantin, A., Bock, D. G., Caceres, C. E., & Crease, T. J. (2012). Speciation with gene flow and the genetics of habitat transitions. *Molecular ecology*, 21(6), 1411-1422.
22. Davidson, T. A., Sayer, C. D., Perrow, M., Bramm, M., & Jeppesen, E. (2010). The simultaneous inference of zooplanktivorous fish and macrophyte density from sub-

- fossil cladoceran assemblages: a multivariate regression tree approach. *Freshwater Biology*, 55(3), 546-564.
23. Dobler, A., Førland, E. J., & Isaksen, K. (2019). Present and future heavy rainfall statistics for Svalbard. *Background—Report for Climate in Svalbard, 2100*.
 24. Dudycha, J. L., & Tessier, A. J. (1999). Natural genetic variation of life span, reproduction, and juvenile growth in *Daphnia*. *Evolution*, 53(6), 1744-1756.
 25. Dudycha, J. L. (2003). A multi-environment comparison of senescence between sister species of *Daphnia*. *Oecologia*, 135(4), 555-563.
 26. Dudycha, J. L. (2004). Mortality dynamics of *Daphnia* in contrasting habitats and their role in ecological divergence. *Freshwater Biology*, 49(5), 505-514.
 27. Dufresne, F., & Hebert, P. D. (1995). Polyploidy and clonal diversity in an arctic cladoceran. *Heredity*, 75(1), 45-53.
 28. Dufresne, F., & Hebert, P. D. (1997). Pleistocene glaciations and polyphyletic origins of polyploidy in an arctic cladoceran. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1379), 201-206.
 29. Dufresne, F., & Hebert, P. D. (1998). Temperature-related differences in life-history characteristics between diploid and polyploid clones of the *Daphnia pulex* complex. *Ecoscience*, 5(4), 433-437
 30. Dzialowski, A. R., & John O'Brien, W. (2004). Is competition important to arctic zooplankton community structure?. *Freshwater Biology*, 49(9), 1103-1111.
 31. Figuerola, J., Green, A. J., & Michot, T. C. (2005). Invertebrate eggs can fly: evidence of waterfowl-mediated gene flow in aquatic invertebrates. *The American Naturalist*, 165(2), 274-280.
 32. Fischer, A. G. (1960). Latitudinal variations in organic diversity. *Evolution*, 14(1), 64-81.
 33. Førland, E. J., Benestad, R., Hanssen-Bauer, I., Haugen, J. E., & Skaugen, T. E. (2011). Temperature and precipitation development at Svalbard 1900–2100. *Advances in Meteorology*, 2011.
 34. Forró, L., Korovchinsky, N.M., Kotov, A.A., Petrusek, A. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. Springer Science + Business Media B.V. 2007.

35. Hamilton, T. D. (2003). *Glacial geology of the Toolik Lake and upper Kuparuk River regions*. University of Alaska. Institute of Arctic Biology.
36. Hanssen-Bauer, I., Førland, E. J., Hisdal, H., Mayer, S., Sandø, A. B., & Sorteberg, A. (2019). Climate in Svalbard 2100. *A knowledge base for climate adaptation*.
37. Havel, J.E., (2009). Cladocera. In G. E. Likens (Ed.), *Encyclopedia of inland waters* (pp. 611–622). Academic Press.
38. Hebert, P. D. N., & Ward, R. D. (1972). Inheritance during parthenogenesis in *Daphnia magna*. *Genetics*, 71(4), 639-642.
39. Hebert, P. D., & Crease, T. J. (1980). Clonal coexistence in *Daphnia pulex* (Leydig): another planktonic paradox. *Science*, 207(4437), 1363-1365.
40. Hebert, P. D. (1981). Obligate asexuality in *Daphnia*. *The American Naturalist*, 117(5), 784-789.
41. Hebert, P. D. N., and McWalter, D B. 1983. Cuticular pigmentation in arctic *Daphnia*: adaptive diversification of asexual lineages? *Am Nat*, 111, 286–291.
42. Hebert, P. D., & Crease, T. (1983). Clonal diversity in populations of *Daphnia pulex* reproducing by obligate parthenogenesis. *Heredity*, 51(1), 353-369.
43. Hebert, P. D., & Hann, B. J. (1986). Patterns in the composition of arctic tundra pond microcrustacean communities. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(7), 1416-1425.
44. Hebert, P. D. N. (1987). Genotypic characteristics of cyclic parthenogens and their obligately asexual derivatives. *The evolution of sex and its consequences*, 175-195.
45. Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
46. Hebert, P. D., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H., & Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(41), 14812-14817.
47. Hessen, D. O. (2002). UV radiation and arctic freshwater zooplankton. *UV radiation and Arctic Ecosystems*, 157-184.
48. Hiruta, C., & Tochinai, S. (2014). Formation and structure of the ephippium (resting egg case) in relation to molting and egg laying in the water flea *Daphnia pulex* De Geer (Cladocera: Daphniidae). *Journal of Morphology*, 275(7), 760-767.

49. Hrbáček, J. (1977). Competition and predation in relation to species composition of freshwater zooplankton, mainly Cladocera. *Aquatic microbial communities*, 305, 353.
50. Hrbáčková-Esslová, M. (1963). The development of three species of *Daphnia* in the surface water of the Slapy Reservoir. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 48(2), 325-333.
51. Husmann, S., Jacobi, H. U., Meijering, M. P., & Reise, B. (1978). Distribution and ecology of Svalbard's Cladocera: With 2 figures in the text. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 20(4), 2452-2456.
52. Ingolfsson, O. (2004). Outline of the geography and geology of Svalbard. University of Iceland and UNIS.
53. Ives, J. D., & Barry, R. G. (Eds.). (2019). *Arctic and alpine environments* (Vol. 6). Routledge.
54. Jónsdóttir, I. S. (2005, November). Terrestrial ecosystems on Svalbard: heterogeneity, complexity and fragility from an Arctic island perspective. In *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* (pp. 155-165). Royal Irish Academy.
55. Kalff, J. (2002). *Limnology: inland water ecosystems* Prentice–Hall. *Upper Saddle River, New Jersey*.
56. Korosi, J. B., & Smol, J. P. (2011). Distribution of cladoceran assemblages across environmental gradients in Nova Scotia (Canada) lakes. *Hydrobiologia*, 663, 83-99.
57. Landvik, J. Y., Landvik, J. Y., & Salvigsen, O. (1987). The Late Weichselian and Holocene shoreline displacement on the west-central coast of Svalbard. *Polar Research*, 5(1), 29-44.
58. Latta, L. C., Bakelar, J. W., Knapp, R. A., & Pfrender, M. E. (2007). Rapid evolution in response to introduced predators II: the contribution of adaptive plasticity. *BMC evolutionary biology*, 7, 1-9.
59. Lampert, W. (1974). A method for determining food selection by zooplankton 1, 2. *Limnology and Oceanography*, 19(6), 995-998.
60. Lampert, W. 2006. *Daphnia*: Model herbivore, predator and prey. *Pol J Ecol* 54: 607-620.
61. Lampert, W. 2011. *Daphnia*: Development of a model organism in ecology and evolution. In: Kinne O. (Ed.), *Excellence in ecology*, Book 21. International Ecology Institute, Oldendorf/Luhe: 250 pp.

62. Lauridsen, T., Jeppesen, E., Landkildehus, F., & Søndergaard, M. (2001). Horizontal distribution of cladocerans in arctic Greenland lakes—impact of macrophytes and fish. *Hydrobiologia*, *442*, 107-116.
63. Loaiciga, H. A., Valdes, J. B., Vogel, R., Garvey, J., & Schwarz, H. (1996). Global warming and the hydrologic cycle. *Journal of hydrology*, *174*(1-2), 83-127.
64. Lougheed, V. L., Butler, M. G., McEwen, D. C., & Hobbie, J. E. (2011). Changes in tundra pond limnology: Re-sampling Alaskan ponds after 40 years. *Ambio*, *40*, 589-599.
65. MacArthur, R. H. (1972). Geographical ecology—Harper and Row. *New York*.
66. Marková, S., Dufresne, F., Rees, D. J., Černý, M., & Kotlík, P. (2007). Cryptic intercontinental colonization in water fleas *Daphnia pulicaria* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *44*(1), 42-52.
67. Marková, S., Dufresne, F., Manca, M., & Kotlík, P. (2013). Mitochondrial capture misleads about ecological speciation in the *Daphnia pulex* complex. *PLoS One*, *8*(7), e69497.
68. Martiny, J. B. (2001). Population Diversity, Overview.
69. Mergeay, J., Aguilera, X., Declerck, S., Petrusek, A., Huyse, T., & De Meester, L. U. C. (2008). The genetic legacy of polyploid Bolivian *Daphnia*: the tropical Andes as a source for the North and South American *D. pulicaria* complex. *Molecular Ecology*, *17*(7), 1789-1800.
70. Miller, M. C., & Hobbie, J. E. (1980). Tadpole shrimp. *Ecosystems of the World*, 323-339.
71. Miner, B. E., De Meester, L., Pfrender, M. E., Lampert, W., & Hairston Jr, N. G. (2012). Linking genes to communities and ecosystems: *Daphnia* as an ecogenomic model. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *279*(1735), 1873-1882.
72. Monakov, A. V., & Sorokin, Y. I. (1961). Quantitative data on the feeding of *Daphnia*. *Trudy Instituta Biologii Vodokhranilish*, *4*, 251-261.
73. Morison, J., Aagaard, K., & Steele, M. (2000). Recent environmental changes in the Arctic: A review. *Arctic*, 359-371.

74. Moritz, C. T. E. D., Dowling, T. E., & Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 269-292.
75. Moss, B. (1970). Seston Composition in Two Freshwater Pools. *Limnology and Oceanography*, 15(4), 504-513.
76. O'Brien, W. J., & Luecke, C. (2011). Zooplankton community structure in arctic ponds: shifts related to pond size. *Arctic*, 483-487.
77. Omilian, A. R., & Lynch, M. (2009). Patterns of intraspecific DNA variation in the *Daphnia* nuclear genome. *Genetics*, 182(1), 325-336.
78. Østby, T. I., Schuler, T. V., Hagen, J. O., Hock, R., Kohler, J., & Reijmer, C. H. (2017). Diagnosing the decline in climatic mass balance of glaciers in Svalbard over 1957–2014. *The Cryosphere*, 11(1), 191-215.
79. Peterson, B. J., Hobbie, J. E., & Haney, J. F. (1978). *Daphnia* grazing on natural bacteria 1. *Limnology and Oceanography*, 23(5), 1039-1044.
80. Przybylak, R., Arażny, A., Kejna, M., & Maszewski, R. (2012). *Topoclimatic diversity in Forlandsundet region (NW Spitsbergen) in global warming conditions*. Oficyna Wydawnicza "Turpress".
81. Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364.
82. Rybak, J. I., & Błędzki, L. A. (2010). Freshwater planktonic crustaceans. *Publisher Warsaw University, Warsaw*, 366.
83. Sægrov, H., Hobæk, A., & L'Abée-Lund, J. H. (1996). Vulnerability of melanic *Daphnia* to brown trout predation. *Journal of plankton research*, 18(11), 2113-2118.
84. Salvigsen, O. (1984). Occurrence of pumice on raised beaches and Holocene shoreline displacement in the inner Isfjorden area, Svalbard. *Polar Research*, 2(1), 107-113.
85. Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., & Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811.
86. Seda, J., & Petrusek, A. (2011). *Daphnia* as a model organism in limnology and aquatic biology: some aspects of its reproduction and development. *Journal of Limnology*, 70(2), 335.

87. Schall, J. J., & Pianka, E. R. (1978). Geographical trends in numbers of species. *Science*, 201(4357), 679-686.
88. Schindler, D. W., Kalff, J., Welch, H. E., Brunskill, G. J., Kling, H., & Kritsch, N. (1974). Eutrophication in the High Arctic—Meretta Lake, Cornwallis Island (75 N Lat.). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 31(5), 647-662.
89. Schrader, F. (1925). The cytology of pseudosexual eggs in a species of.
90. Sheath, R. G. (1986). Seasonality of phytoplankton in northern tundra ponds. *Hydrobiologia*, 138, 75-83.
91. Ślubowska, M. A., Koç, N., Rasmussen, T. L., & Klitgaard-Kristensen, D. (2005). Changes in the flow of Atlantic water into the Arctic Ocean since the last deglaciation: evidence from the northern Svalbard continental margin, 80 N. *Paleoceanography*, 20(4).
92. Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Averyt, K., & Marquis, M. (Eds.). (2007). *Climate change 2007-the physical science basis: Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC* (Vol. 4). Cambridge university press.
93. Šrámek-Hušek, R., Brtek, J., & Straškraba, M. (1962). *Fauna ČSSR.: Lupenonožci-Branchiopoda*. ČSAV.
94. Stankowska, A. (1989). Hydrochemistry of water basins on raised marine terraces in the lower part of Ebbadalen, Billeljorden, central Spitsbergen. *Polish Polar Research*, 10(3), 465-473.
95. Steig, E. J., Wolfe, A. P., & Miller, G. H. (1998). Wisconsinan refugia and the glacial history of eastern Baffin Island, Arctic Canada: coupled evidence from cosmogenic isotopes and lake sediments. *Geology*, 26(9), 835-838.
96. Stonehouse, B. (1989). *Polar ecology* (p. 222). Glasgow: Blackie.
97. Van Geest, G. J., Sachse, R., Brehm, M., Van Donk, E., & Hessen, D. O. (2010). Maximizing growth rate at low temperatures: RNA: DNA allocation strategies and life history traits of Arctic and temperate *Daphnia*. *Polar biology*, 33, 1255-1262.
98. Vergilino, R., Markova, S., Ventura, M., Manca, M., & Dufresne, F. (2011). Reticulate evolution of the *Daphnia pulex* complex as revealed by nuclear markers. *Molecular Ecology*, 20(6), 1191-1207.
99. Vincent, W. F., & Laybourn-Parry, J. (Eds.). (2008). *Polar lakes and rivers: limnology of Arctic and Antarctic aquatic ecosystems*. Oxford university press.

100. Wagler, E. (1927). Über die, Schwebefortsätze “der Daphnien. *Zool. Anz*, 74, 284-302.
101. Walczowski, W., & Piechura, J. (2011). Influence of the West Spitsbergen Current on the local climate. *International journal of climatology*, 31(7), 1088-1093.
102. Walsh, J. E., Overland, J. E., Groisman, P. Y., & Rudolf, B. (2011). Ongoing climate change in the Arctic. *Ambio* 40 (S1): 6–16.
103. Weider, L. J., Beaton, M. J., & Hebert, P. D. (1987). Clonal diversity in high-Arctic populations of *Daphnia pulex*, a polyploid apomictic complex. *Evolution*, 41(6), 1335-1346.
104. Weider, L. J., & Hobæk, A. (1997). Postglacial dispersal, glacial refugia, and clonal structure in Russian/Siberian populations of the arctic *Daphnia pulex* complex. *Heredity*, 78(4), 363-372.
105. Weider, L. J., Hobaek, A., Colbourne, J. K., Crease, T. J., Dufresne, F., & Hebert, P. D. (1999). Holarctic phylogeography of an asexual species complex I. Mitochondrial DNA variation in arctic *Daphnia*. *Evolution*, 53(3), 777-792.
106. Weider, L. J., & Hobæk, A. (2003). Glacial refugia, haplotype distributions, and clonal richness of the *Daphnia pulex* complex in arctic Canada. *Molecular Ecology*, 12(2), 463-473.
107. Woo, M. K., & Young, K. L. (2006). High Arctic wetlands: their occurrence, hydrological characteristics and sustainability. *Journal of Hydrology*, 320(3-4), 432-450.
108. Ye, Z., Williams, E., Zhao, C., Burns, C. W., & Lynch, M. (2021). The rapid, mass invasion of New Zealand by North American *Daphnia* “*pulex*”. *Limnology and Oceanography*, 66(7), 2672-2683.
109. Ye, Z., Zhao, C., Raborn, R. T., Lin, M., Wei, W., Hao, Y., & Lynch, M. (2022). Genetic Diversity, Heteroplasmy, and Recombination in Mitochondrial Genomes of *Daphnia pulex*, *Daphnia pulicaria*, and *Daphnia obtusa*. *Molecular biology and evolution*, 39(4), msac059.
110. Zacharias, O. 1894 Beobachten am Plankton des Grossen Plöner See. *Forsch Ber Biol Stn Pön* 2: 91-137
111. Zaffagnini, F., & Sabelli, B. (1972). Karyologic observations on the maturation of the summer and winter eggs of *Daphnia pulex* and *Daphnia middendorffiana*. *Chromosoma*, 36(2), 193-203.

112. Zwoliński, Z., Rachlewicz, G., Mazurek, M., & Paluszkiewicz, R. (2007). The geocological model for small tundra lakes, Spitsbergen. *Landform Analysis*, 5.

Internetové zdroje:

Norwegian Polar Institute n.d. [TopoSvalbard - Norsk Polarinstitutt \(npolar.no\)](https://www.npolar.no/) [21.3.2023]