

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



## AEROFYTICKÉ A BENTICKÉ SINICE V OKOLÍ KONICKA

Bakalářská práce

Kateřina Páleníčková

Chemie pro víceborové studium

Chemie pro víceborové studium – Biologie

Prezenční forma studia

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

Olomouc 2020

**Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pouze za použití citované literatury a podle pokynů vedoucího práce.

Olomouc 2020

.....  
Kateřina Páleníčková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala Mgr. Petru Dvořákovi, Ph.D. za veškeré rady, postřehy a připomínky. Dále za cenný čas, který mi při vypracovávání bakalářské práce věnoval.

Mé díky také patří i ostatním pracovníkům Algologie na Univerzitě Palackého za veškerou pomoc, a také děkuji za poskytnutí algologické laboratoře, ve které jsem mohla uskutečnit svůj výzkum.

## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Kateřina Páleníčková  
Název práce: Aerofytické a bentické sinice v okolí Konicka  
Typ práce: Bakalářská práce  
Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP  
Vedoucí práce: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.  
Rok obhajoby práce: 2020

## **Abstract:**

V této bakalářské práci jsem provedla studii, která byla zaměřena na druhovou diverzitu sinic sesbíraných na dvou mnou vybraných lokalitách. Byla provedena determinace pomocí světelného mikroskopu a následně izolace vzorků dle standardních metod, které se běžně používají v Algologické laboratoři. Posledním krokem pak byla charakterizace vyizolovaných kmenů sekvencováním 16S rRNA a ITS. Z mé studie je evidentní, že v mém okolí se nacházejí sinice, které jsou popsány a detailně probádané. Mezi ně patří *Microcoleus amoenus*, *Microcoleus vaginatus*, *Laspinema thermale*, *Microcoleus autumnale* a *Ancylothrix terrestris*. Objevila jsem ale i sinice, které pravděpodobně vytvářejí nové neprozkoumané linie, které jsou úzce spjaty se sinicí rodu *Aliterella* a se sinicí rodu *Planktothrix*.

Klíčová slova: druhová diverzita, sběr vzorků, izolace kmenů, sekvencování, taxonomie, Dražanská vrchovina.

Počet stran: 31

Jazyk: Čeština

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Kateřina Páleníčková  
Title of thesis: Aerophytic and benthic cyanobacteria near Konicko  
Type of thesis: Bachelor thesis  
Department: Department of Botany PřF UP  
Supervisor: Mgr. Petr Dvořák, Ph.D.  
The year of presentation: 2020

## **Abstract:**

In this bachelor's thesis, I conducted a study that focused on the species diversity of algae, which was collected in two of my chosen locations. Determination was conducted using a light microscope and then the samples were isolated according to the standard method, which is normally used in the Algological Laboratory. The final step was to characterize the isolated strains by sequencing 16S rRNA and ITS. My study proves that there are algae in the area. This thesis described and studied the algae in detail. These algae include *Microcoleus amoenus*, *Microcoleus vaginatus*, *Laspinema thermale*, *Microcoleus autumnale* and *Ancylothrix terrestris*. However, I also discovered algae that probably form new, unexamined lineaments, which are closed related to algae of the *Aliterella* and *Planktothrix* genera.

Keywords: species diversity, collection of samples, isolation of strains, sequencing, taxonomy, Dražanská vrchovina.

Number of pages: 31

Language: Czech

# Obsah

1	Půdní organismy .....	3
1.1	Procesy ekosystému v půdě.....	3
1.2	Ekologie půdních organismů .....	4
2	Taxonomie a morfologie nalezených sinic ve zkoumané oblasti .....	4
2.1	Taxonomie .....	4
2.2	Nový systém klasifikace sinic.....	5
2.3	Kritéria pro určování sinic .....	5
2.3.1	Rod <i>Oscillatoria</i> .....	6
2.3.2	Rod <i>Phormidium</i> .....	7
2.3.3	Rod <i>Geitlerinema</i> .....	8
3	Materiály a metody .....	11
3.1	Lokality.....	11
3.1.1	Klimatické poměry .....	11
3.1.2	Poměry geologické.....	12
3.2	Sběr vzorků .....	12
3.3	Kultivace.....	13
3.4	Morfologické hodnocení.....	13
3.5	Extrakce DNA a PCR reakce .....	13
3.6	Elektroforéza a purifikace .....	14
3.7	Sekvencování.....	14
3.8	Fylogenetická analýza .....	15
4	Výsledky .....	15
4.1	Identifikace kmenů .....	15
4.2	Fylogenetický strom .....	18
5	Diskuze .....	19
6	Závěr .....	20
7	Didaktická část.....	21

<b>7.1</b>	<b>Pracovní list.....</b>	<b>21</b>
8	Citovaná literatura.....	27
9	Citace obrázků .....	31

## Úvod

Sinice jsou považovány za nejstarší organismy produkující kyslík a mají zásadní roli při formování moderní biosféry (Paerl et al. 2011). Bezesporu jsou tedy nejvýznamnějšími organismy, kteří po velmi dlouhou dobu ovlivňují a nadále i budou zásadně ovlivňovat život na Zemi. Pojem „sinice“ ale není jediným používaným termínem pro tyto organismy, dále se můžeme setkat například s pojmy Cyanobacteria, Cyanophyta, Cyanoprokaryota nebo také blue-green algae (Dvořák et al. 2017).

Fosilní zbytky sinic se datují až 3,5 miliardy let zpět a jejich množení a růst umožnili následný vývoj vyšších rostlin a také život živočichů (Schopf 2000), protože jejich fotosyntetická aktivita změnila dříve bezkyslíkatou atmosféru na prostředí bohaté právě na tento důležitý plyn. Potvrzuje to výzkum Andreye Bekkera (Bekker et al. 2006), který tvrdí, že před 2,45 miliardy let byla úroveň atmosférického tlaku kyslíku extrémně nízká a naopak před 2,32 miliardy let došlo ke značnému vzestupu.

Může se zdát, že v dnešní době jsou nejdominantnějšími autotrofy zástupci podříše Embryophyta, kam řadíme recentní mechorosty, kaprad'orosty a semenné rostliny, Není tomu ale tak. Právě sinice jsou nejhojnějšími a nejsilnějšími primárními producenti (Dvořák et al. 2017) a během fotosyntézy je obvyklým dárcem potřebných elektronů voda (Whitton 2012).

Sinice mají velmi jednoduchou buněčnou stavbu. Jedná se totiž o prokaryota a v jejich nitru nenajdeme žádné jádro, mitochondrie, Golgiho aparát či endoplazmatické retikulum. Nejvíce znatelné jsou v jejich stavbě thylakoidy nesoucí fotosyntetický aparát a obsahující fotosyntetická barviva chlorofyl *a*,  $\alpha$  – karoten i  $\beta$  – karoten. Sinice jsou z velké části polyploidní a jejich genetická informace je uložena v jedné nebo více kruhových molekul DNA. Na povrchu sinic se nachází buněčná stěna, která je značně pevná a tvořena více vrstvami. Zásobní látkou je sinicový škrob a rozmnožují se výhradně nepohlavně (Algologická laboratoř na katedře botaniky PřF JU v Českých Budějovicích, © 2003 – 2020)

Sinice obsahují ve své struktuře několik útvarů, které jsou typické pouze pro ně. Jedná se o aerotopy, heterocyty a akinety. Aerotopy jsou jedinečné svou propustností pro různé plyny a díky nim se mohou sinice pohybovat ve vodním sloupci. Heterocyty slouží pro fixaci vzdušného dusíku a díky akinetám mohou sinice přečkávat nepříznivé podmínky (Algologická laboratoř na katedře botaniky PřF JU v Českých Budějovicích, © 2003 – 2020)



Pozoruhodné je jejich zeměpisné rozšíření. Zahrnuje totiž polární i tropické regiony na severní i na jižní polokouli (Paerl et al. 2011). Vyskytují se ve sladké i slané vodě rozmanité teploty, a dokonce osidlují i suchozemské stanoviště (Dvořák et al. 2017).

Ačkoliv jsou sinice co do existence nezávislé organismy, jsou velice atraktivními partnery v symbiotických vztazích. Sinice mají totiž jednu velkou přednost, a to fixovat vzdušný dusík. Tato skutečnost je obrovskou výhodou pro širokou škálu hostitelů (Rai et al. 2000). Za zmínku stojí například symbióza sinice rodu *Nostoc* a vyšší dvouděložné rostliny rodu *Gunnera*. Ve spojení s pěstováním rýže na Dálném východě má také dlouhou historii symbióza sinice rodu *Anabaena* a vodní vzplývavé kapradiny rodu *Azolla* (Peters et al. 1989).

Velmi dlouhou dobu byly sinice charakterizovány schopností tvořit fykocyanin. Fykocyanin je pigment patřící do skupiny fykobilinů. A právě výskyt vysoké koncentrace této látky vede k namodralému zbarvení organismů, a tedy logicky vysvětluje i pojem „blue-green algae“. Stále více ale vychází na povrch fakt, že některé Prokaryota neobsahují fykobilinové pigmenty, pouze jsou s organismy obsahující fykocyanin v úzkém spojení. Takový je rod *Prochlorococcus*, který kromě chlorofylu *a* tvoří také chlorofyl *b* (Whitton 2012).

Sinice skýtají i stinné stránky. Kromě kyslíku totiž jejich metabolismus vytváří i sekundární látky, ke kterým patří různé alkaloidy a oligopeptidy. Tento samotný fakt by nebyl potíží. Problém ale nastává při přemnožení, kdy dochází ke vzniku tzv. vodních květů, se kterými jde ruku v ruce zvýšená koncentrace právě sekundárních metabolitů, které nazýváme jako cyanotoxiny (Dvořák et al 2017).

Za zmínku stojí nepříznivé účinky sinic, resp. vodního květu, na zdraví člověka. Cyanotoxiny v pitné vodě mohou způsobit hromadné otravy. S otravami jednotlivců se pak setkáváme například v rekreačních rybnících, jezerech atp. Jedná se především o alergické reakce. Pokud dojde k požití či vdechnutí hrozí i neurotoxicita. Falconer (Falconer et al. 2019) ve své práci také zmiňuje existenci důkazů s Číny, které dávají do souvislosti vodní květ v povrchové vodě s rakovinou jater.

Ve skutečnosti, spolu s cyanotoxiny, sinice produkují i mnoho látek atraktivních pro farmaceutický průmysl. Tyto metabolity totiž vykazují kromě antimykotického a antibiotického účinku také imunosupresivní, anti-HIV a protirakovinnou aktivitu. A právě poslední jmenovaný účinek je v dnešní době velmi zkoumán. Sinice by totiž mohly nabízet množství chemických látek pro tvorbu nových protirakovinných léků. Zdá se tedy, že sinice tvoří obrovský potenciál, který navíc ještě zahrnuje další velkou výhodu, a to nízké náklady při jejich kultivaci, a tedy příznivou ekonomiku (Vijayakumar 2015).

# 1 Půdní organismy

Zatímco z fyzikálního a chemického hlediska byla půda široce studována, znalost půdy z biologické stránky docela zaostává. Příčinou může být například fyzická manipulace člověka a s tím spojený fakt, že lidský faktor potlačuje přírodní procesy (Emmerling et al. 2002). V současné době se ale stále častěji setkáváme s posunem k udržitelnosti, zejména pak k udržitelnému zemědělství a lesnictví. Díky tomu ožívá zájem vědců o biodiverzitu půdy (Brussaard et al. 1997).

Půdní organismy hrají ve fungování ekosystému klíčovou roli. Abychom je mohli identifikovat, existují tzv. sféry vlivu půdní bioty neboli SOI. Řadíme sem rozkladače organické hmoty, kořenové systémy a půdní organismy, kteří víří a promíchávají půdu, tzv. bioturbance. Všechny tyto složky pomáhají řídit půdní procesy. Jsou to druhově slabé skupiny, mezi něž patří právě rozkladači organických látek, bioturbátoři. Dále pak fixátory dusíku, specializované bakterie a mykorhizní houby (Brussaard et al. 1997).

Půda pro půdní organismy nevystupuje pouze jako jakési prostředí, ve které mohou žít, ale jsou přímo její součástí (Reto et al. 2014) a velmi intenzivně ovlivňují vlastnosti půdy (hydrologie, aerace a plynné složení), které jsou nezbytné pro primární produkci a rozklad organických zbytků (Brussaard et al. 1997).

## 1.1 Procesy ekosystému v půdě

Mezi nejvýznamnější procesy odehrávající se v půdě je bezpochyby rozklad organické hmoty, kterou zajišťují hlavně bakterie a houby. Nejsou to ale jediné organismy. K tomuto procesu také přispívají půdní bezobratlí (žížaly, roztoči, termiti). Souhrnným názvem jsou to tzv. dekompozitoři. S rozkladem organické hmoty úzce souvisí cyklus živin (Brussaard et al. 1997).

Již zmíněná bioturbance je dalším velmi důležitým procesem. Půdní organismy svým pohybem vytvářejí póry a kanály nejrůznějších velikostí a tím zajišťují transport plynů a vody do půdy (Brussaard et al. 1997).

Potlačení půdních chorob a škůdců je poslední nezbytný proces, který Brussaard ve své práci zmiňuje. Předpokládá se totiž, že nízká diverzita druhů rostlin způsobuje zranitelnost agrosystémů vůči škodlivým půdním organismům. Souvisí s tím fakt, že v zemědělství jsou ohniska škůdců velmi běžná na rozdíl od přírodních ekosystémů.

## 1.2 Ekologie půdních organismů

Velká část ekologie se zabývá studiem šíření organismů v prostředí a odpovídá na otázku, proč se určité druhy vyskytují v jedné oblasti, a ne v jiných (Morris et al. 2007).

Oblast, ve které se daný organismus nachází, se nazývá „stanoviště“. Organismy, kteří žijí na jednom stanovišti, tvoří tzv. „komunitu“ a počet druhů a samotné druhy přítomných organismů se označuje jako „struktura komunity“. Komunity se skládají z populací nebo subpopulací druhů (Morris et al. 2007).

Co se týče fyziologických limitů, uplatňujeme Shelfordův zákon tolerance. Každý druh má unikátní soubor podmínek, za kterých mohou individua, ale i celé populace růst a množit se. Shelfordův zákon tolerance stanovuje rozsah těchto podmínek, za který daný druh nemůže přejít v zájmu jeho přežití. Podmínky, které můžeme sledovat u půdních organismů, jsou zejména teplota, pH či salinita. Zajímavostí je, že všechny organismy mají určitý stupeň tzv. fenotypové plasticity. Jinak řečeno jsou do jisté míry schopni přizpůsobit se prostředí. To znamená, že u mikroorganismů může daná změna stavu rozšířit rozsah přijatelných podmínek (Morris et al. 2007).

V terestrických ekosystémech jsou půdní organismy nepostradatelní v rámci cyklování prvků a stabilizace struktury půdy. Toto cyklování je velmi složitý proces, který zahrnuje širokou škálu metabolických procesů. Většina z nich se děje díky enzymům, které jsou právě půdními organismy produkovány (Emmerling et al. 2002).

Většina půdních organismů získává energii a živiny využíváním hub, bakterií nebo kořenových systémů. Bylo zjištěno, že bezobratlí živíci se detritem rostlin, získávají většinu energie z mikroorganismů osidlující povrch detritu, a nikoliv přímo z detritu. Je také vysoce pravděpodobné, že všechny organismy slouží jako stanoviště pro shromažďování menších organismů, kdy je velmi častý parazitismus (Morris et al. 2007).

Pokud se budeme snažit mikroorganismy zařadit do potravního řetězce, budou obvykle vystupovat jako nediferencovaná biomasa. Může za to pochopitelně jejich obrovská rozmanitost s často neznámou úlohou v potravním řetězci (Morris et al. 2007).

## 2 Taxonomie a morfologie nalezených sinic ve zkoumané oblasti

### 2.1 Taxonomie

Taxonomická klasifikace je jednou ze základních metod, která se používá při hodnocení rozmanitosti všech skupin organismů. Kritéria pro tuto klasifikaci se v průběhu let neustále

mění. Taxonomie byla dříve tvořena jednoduchým umístěním morfologicky podobných skupin k sobě. Dnes je taxonomie hierarchický systém klasifikace, který je hlavně založen na evolučních vztazích a evoluční historii (Komárek et al. 2014).

Sinice jsou velmi náročnou skupinou co do klasifikace. Jejich dlouhou a složitou evoluční historii je obzvláště obtížné rozeznat pouze ze znalosti jejich morfologie (Komárek et al. 2014).

Taxonomický systém sinic se dost radikálně změnil v momentu zavedení elektronových mikroskopů a také genetických a molekulárních metod (Komárek et al. 2014).

## 2.2 Nový systém klasifikace sinic

Nový systém klasifikace sinic je uveden v práci Komárka (Komárek et al. 2014). Sinice zde rozděluje do následujících skupin: Nostocales, Chroococciopsidales, Spirulinales, Pleurocapsales, Chroococcales, Oscillatoriales, Synechococcales, Gloeobacterales a nepojmenovanou skupinu, která zahrnuje dva rody *Rubidibacter* a *Halothece*.

## 2.3 Kritéria pro určování sinic

Pro určování sinic je velmi důležitý světelný mikroskop, díky kterému se v laboratoři zkoumá obsah sebraného vzorku. Kromě sinic se ale můžeme setkat i s další skupinou organismů řadících se do nižších rostlin, a to s řasami. Ty jsou ale až 10x větší než sinice a nemají typické modrozelené zbarvení (Šejnohová & Maršálek 2005).

První podstatný sledovaný znak je typ stélky. Evolučně nejstarší je typ kokální. Sinice s touto stélkou se vyskytují buď jednotlivě nebo v koloniích. U jednotlivých buněk nás zejména zajímá velikost a tvar, u kolonií zase způsob uložení jednotlivých buněk či mocnost slizu. Ze stélky kokální se následně formovaly stélky vláknitého typu, u kterých sledujeme přítomnost či absenci slizových pochev, tvar buněk a způsob jejich propojení. Dále tvar vlákna, popřípadě typ větvení. Právě typ větvení je, co do taxonomie, velice důležitý. Jsou známy dva typy větvení, a to pravé a nepravé. Vývojově původnější je větvení nepravé, které vzniká v místě, kde došlo k přerušení vlákna důsledkem odumření buňky. Vznikající větev pak nese úhel 90° k vláknu původnímu. Větvení pravé je pokročilejší, kdy se v jedné z vegetativních buněk změnila rovina dělení a vznikne nové boční dělení kolmé k původnímu (Šejnohová & Maršálek 2005).

Při určování sinic je také přínosné sledovat biotopy, ze kterých jsou sinice sesbírány. Sinice jsou všude přítomné a biotopy jsou velice různorodé. Jde například o stojaté vody, mokré

skály, vápencové podklady, vlhké půdy, kameny, minerální prameny atd. (Kaštovský et al. 2018).

### 2.3.1 Rod *Oscillatoria*

Řád Oscillatoriales dnes už nezahrnuje vláknité taxony s relativně úzkými trichomy a parientálními thylakoidy, ale takové taxony, které mají komplikovanější cytologii (radiální, fascikulární či nepravidelné uspořádání thylakoidů) (Komárek et al. 2014).

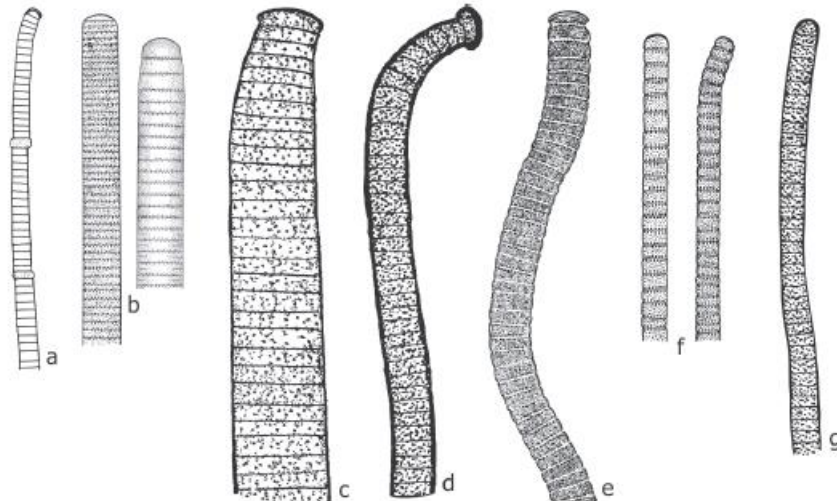
Čeď Oscillatoriaceae obsahuje řadu polyfyletických rodů, mezi něž patří *Lyngbya*, *Phormidium* a *Oscillatoria*). Nejproblematictější je rod *Phormidium*, ale i rod *Oscillatoria* zahrnuje několik nejasností. Například druh *Oscillatoria princeps* nebyl nikdy sekvenován. Další zástupci, kteří sice sekvenováni byli, mají nejasnou mořskou taxonomii a spousta zástupců také postrádá molekulární data (Komárek et al. 2014).

Dle Kaštovského je popis rodu *Oscillatoria* následující:

Vlákna jsou zpravidla poměrně dlouhá, rovná či volně zprohýbaná. K podkladu nejsou přisedlá, bez pochev. Jen velmi zřídka se setkáváme s tenkými bezbarvými až nažloutlými pochvami. Vlákna se nezuzují či zužují v koncových částech, jsou zaškrcovaná či nezaškrcovaná na buněčných přepážkách, jednotlivé nebo nahloučená do skupin a jsou pohyblivá. Buňky jsou válcovité, vždy kratší než delší. Dceřinné buňky nedorostou před následujícím dělením do délky buňky mateřské. Koncové buňky jsou zaoblené, často rozšířené, s kalyptrou nebo se ztlustlou buněčnou stěnou. Rod *Oscillatoria* zahrnuje jak vodní, tak i terestrické zástupce.

Kaštovský dále zmiňuje, že tento rod bude v budoucnu pozměněn a bude vytvořeno několik nových rodů v důsledku polyfyletičnosti této skupiny. Rod *Oscillatoria* bude po upřesnění zahrnovat druhy se šířkou trichomu ve střední části rovnou nebo větší než 22  $\mu\text{m}$  a bude charakterizován dalšími ultrastrukturními a molekulárními znaky.

Řadíme sem druhy jako *Oscillatoria sancta*, *Oscillatoria simplicissima*, *Oscillatoria anguina*, *Oscillatoria proboscidea*, *Oscillatoria princeps*, *Oscillatoria limosa* a *Oscillatoria tenuis* (Kaštovský et al. 2018).



Obrázek 1 - Kresby druhů sinic rodu *Oscillatoria*; a – *O. anquina*, b – *O. limosa*, c – *O. princeps*, d – *O. proboscidea*, e – *O. sancta*, f – *O. tenuis*, g – *O. simplicissima*); délka měřítka 20  $\mu\text{m}$ . (Zdroj: Kaštovský et al. 2018)

### 2.3.2 Rod *Phormidium*

Stejně jako rod *Oscillatoria*, i rod *Phormidium* je zahrnován do řádu Oscillatoriales a čeledi Oscillatoriaceae. Jak už bylo psáno výše, rod *Phormidium* je neproblematičtějším a nejkomplicovanějším případem. To z toho důvodu, že velká část současných druhů rodu *Phormidium* patří do čeledi Microcoleaceae, a to včetně nejběžnějšího druhu *Phormidium autumnale* (Komárek et al. 2014; Strunecký et al. 2013).

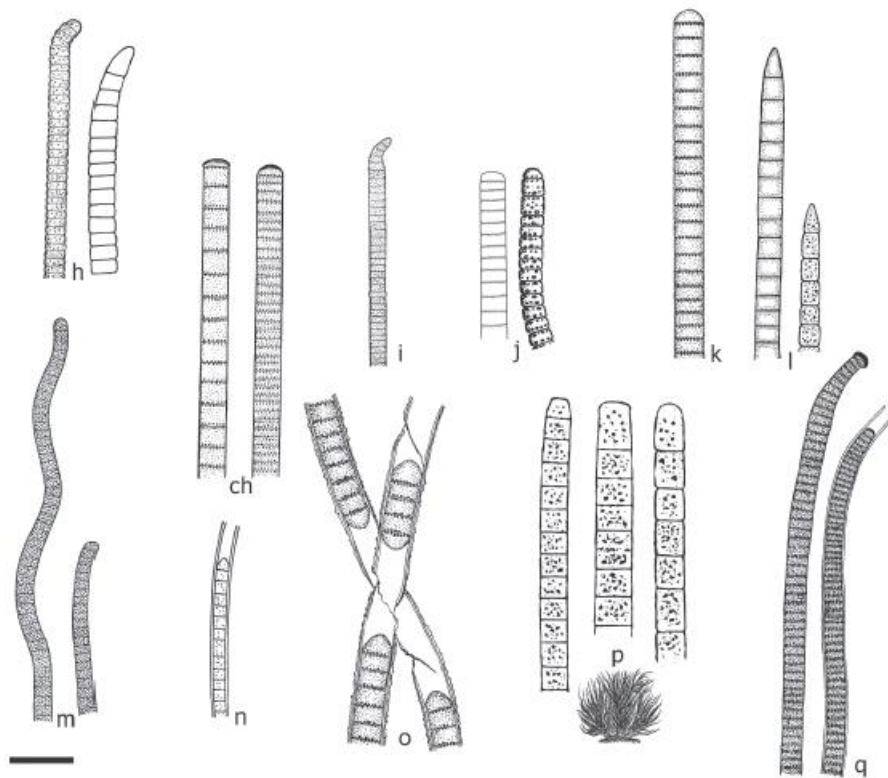
V Atlasu sinic a řas je rod *Phormidium* popsán následovně:

Zpravidla poměrně dlouhá, rovná či volně zprohýbaná, k podkladu nepřisedlá vlákna bez pochev nebo s tenkými bezbarvými až nažloutlými pochvami, nezužující i zužující se v koncových částech, zaškrcovaná či nezaškrcovaná na buněčných přepážkách, jednotlivá či volně nahloučená do skupin. Buňky válcovité, víceméně izodiametrické nebo kratší či delší než široké, výjimečně diskovité. Dceřiné buňky před následujícím dělením dorostou do délky buňky mateřské. Buňky koncové jsou zaoblené či kuželovité, často s kalyptrou nebo se ztlustlou buněčnou stěnou. Rod *Phormidium* zahrnuje vodní i terestrické zástupce.

Stejně jako rod *Oscillatoria*, i rod *Phormidium* v budoucnu projde četnými změnami a bude z tohoto rodu odděleno několik rodů nových (Kaštovský et al. 2018).

Taxonomická revize rodu *Phormidium* je založena na molekulárním sekvencování kombinovaném s definicí odlišných autapomorfních rysů. Bylo definováno již několik rodů, které se od sebe jasně oddělily (např. *Phormidesmis*, *Wilmottia* a další)

Rozlišujeme hned několik druhů. *Phormidium terebriforme*, *Phormidium uncinatum*, *Phormidium irriguum*, *Phormidium breve*, *Phormidium chalybeum*, *Phormidium incrustatum*, *Phormidium tinctorium*, *Phormidium retzii*, *Phormidium stagnium*, *Phormidium tergestinum* a *Phormidium nigrum*. Všechny druhy jsou vyobrazeny níže (Obrázek 2).



Obrázek 2 – Kresby druhů sinic rodu *Phormidium*; h – *Ph. chalybeum*, ch – *Ph. irriguum*, i – *Ph. breve*, j – *P. nigrum*, k – *Ph. tergestinum*, l – *Ph. tinctorium*, m – *Ph. terebriforme*, n – *Ph. incrustatum*, o – *Ph. stagnium*, p – *Ph. retzii*, q – *Ph. uncinatum*, délka měřítka 20  $\mu\text{m}$ . (Zdroj: Kaštovský et al. 2018)

### 2.3.3 Rod *Geitlerinema*

Rod *Geitlerinema* také patří do řádu Oscillatoriales. Nižší taxonomické zařazení je v tomto případě ale jiné a jedná se o čeleď Coleofasciculaceae (Komárek et al. 2014).

V posledním letech byla čeleď Coleofasciculaceae hodně studovaná a největší část této skupiny tvoří nově popsané rody jako *Colefasciculus* a *Anagnostidinema*. Patří sem i taxonomicky problematický rod *Geitlerinema*. U něho se prokázala polyfyletičnost a je potřebná revize (Komárek et al. 2014, Hašler et al. 2012)

Kaštovský zařazuje rod *Geitlerinema* do sinic s jednoduchými vlákny bez heterocytů a akinet a popisuje pouze jeden druh, a to *Geitlerinema splendidum*. Ten líčí následovně:

Dlouhé, rovné, volně zprohýbané či stočené trichomy bez pochev, zužující se v koncových částech, nezaškrcované na buněčných přepážkách, jednotlivé či sdružené do povlaků často tvořících svazečky jednotlivých trichomů. Buňky 2 – 4x delší široké, válcovité, často s oranžovými granulemi na přepážkách, někdy s patrnou chromatoplazmou v okrajové části, široké 1,8 – 3,1  $\mu\text{m}$ . Koncové buňky ohnuté, často prodloužené, ke konci se zužující, zakončené více či méně patrnou hlavičkou či rozšířením. Vyskytuje se na povrchu bahna vodních těles i na dalších ponořených substrátech; hojně.

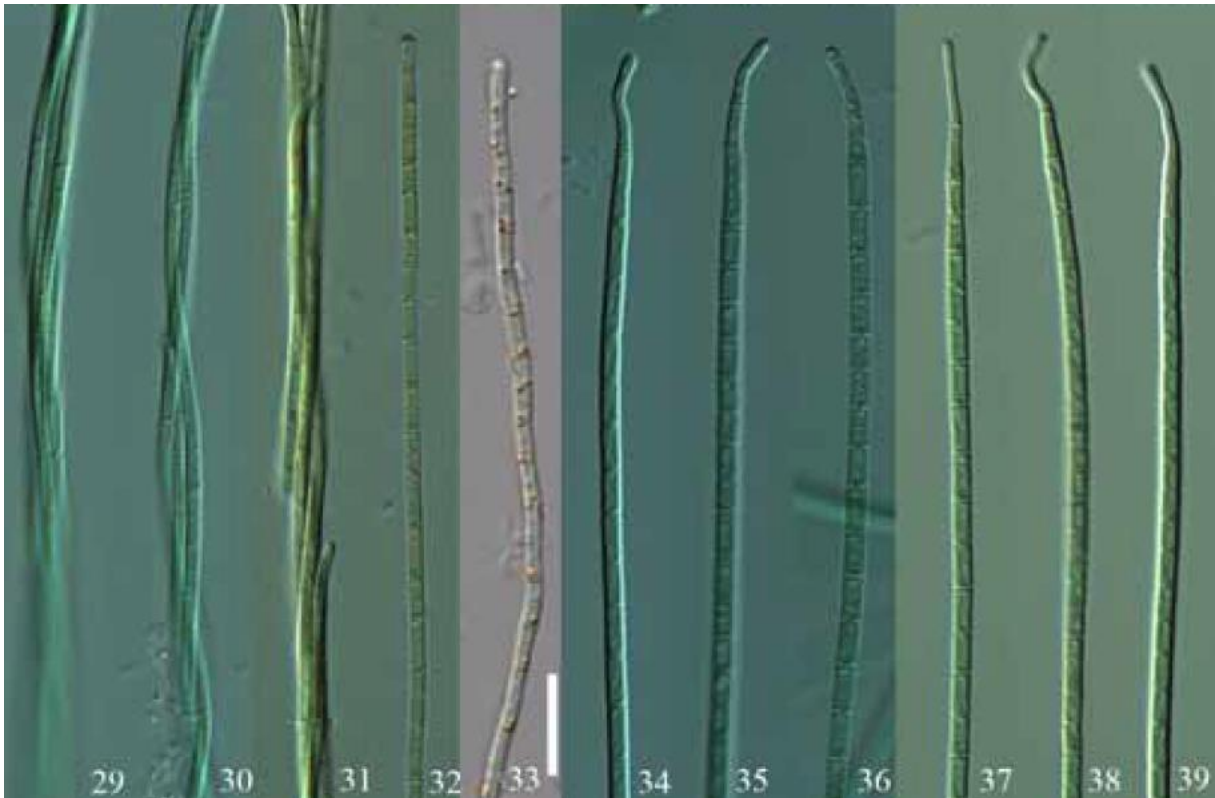
V článku Hašlera se ale setkáváme i s jinými druhy jako *Geitlerinema carotinosum* či *Geitlerinema pseudacutissimum*. Ty vytváří makroskopické/mikroskopické fascikulované kolonie nebo finematy.

Druh *Geitlerinema carotinosum* má zaoblené apikální buňky a jsou zde přítomny příčné stěny s nápadnými karotenoidními granulami. Tyto granula obsahuje i druh *Geitlerinema pseudacutissimum*, ale v mnohem menší míře.

Johansen (Johansen et al. 2017) ve svém článku udává revizi rodu *Geitlerinema*. Jeho revidovaná podoba zahrnuje pouze jeden druh podle morfologické podobnosti s původním popisem, a to *Geitlerinema splendum*. Všechny ostatní sladkovodní druhy byly klasifikovány jako zvláštní taxon. Pro tento druh bylo navrženo jméno *Anagnostidinema*, které bylo vybráno na památku významného specialisty na sinice Konstantina Anagnostidise.



Variabilita těchto druhů je naznačena níže (Obrázek 3)



Obrázek 3 – Vyobrazení variability sinic rodu *Geitlerinema* v mikroskopu. *G. pseudacutissimum* (29 – 32) ); *G. carotinosum* (33); *G. splendidum* (34-39); délka měřítka 10 mm. (Zdroj: Hašler et al. 2012)

## Cíl práce

Sinice obývají všechny habitaty s dostatkem světla. To zahrnuje také terestrické habitaty. Nicméně diverzita aerofytních sinic není příliš probádaná. Tato práce se zaměřuje na sběr aerofytických sinic se zaměřením na půdní sinice v okolí Konicka. Druhová diverzita vzorků bude nejprve determinována pomocí světelné mikroskopie a následně budou izolovány kmeny s použitím standardních metod používaných v Algologické laboratoři. Vyizolované kmeny budou charakterizovány s použitím světelné mikroskopie (morfologická variabilita) a s použitím molekulárních technik jako je sekvencování 16S rRNA a ITS.

## 3 Materiály a metody

### 3.1 Lokality

Oblast, ve které byly sesbírány studované vzorky se nazývá Konická vrchovina. Tato vrchovina je součástí Dražanské vrchoviny, která na západě sousedí s Českou Vysočinou a na východě se Západními Karpaty.

Konická vrchovina je jeden z největších podcelků nacházející se na severovýchodě. Má rozlohu asi 862 km<sup>2</sup> a průměrná nadmořská výška dosahuje výšky 485 m (Mlejnek et al. 2015).

Mlejnek ve své knize také zmiňuje primární krajinný prvek. Ten zde tvoří tzv. planiny, což jsou zarovnané povrchy protávané zvrásněnou horninou spodního karbonu. Klenbovitě prohnutí Konické vrchoviny je způsobeno tlakem Karpat na horninový celek Český masiv a nejvýše postaveným bodem jsou 735 m vysoké Skalky, které se tyčí nad městysem Protivanov (Mlejnek et al. 2015).

Na jihu je Konická vrchovina přerušena kotlinami tektonického původu, které jsou spojeny s údolími Rakoveckého potoka. Směrem severovýchodně od této struktury pak najdeme masiv Velkého a Malého Kosíře. Ten už ale patří do jiného geomorfologického celku, do Zábřežské vrchoviny (Mlejnek et al. 2015).

Dražanská vrchovina se utvářela zejména v období svrchního karbonu. Jde o mohutný tzv. flyšový komplex a dochází zde ke střídání jílovité břidlice s vrstvenou drobou. V jižní části také můžeme najít vložky slepenců (Mlejnek et al. 2015).

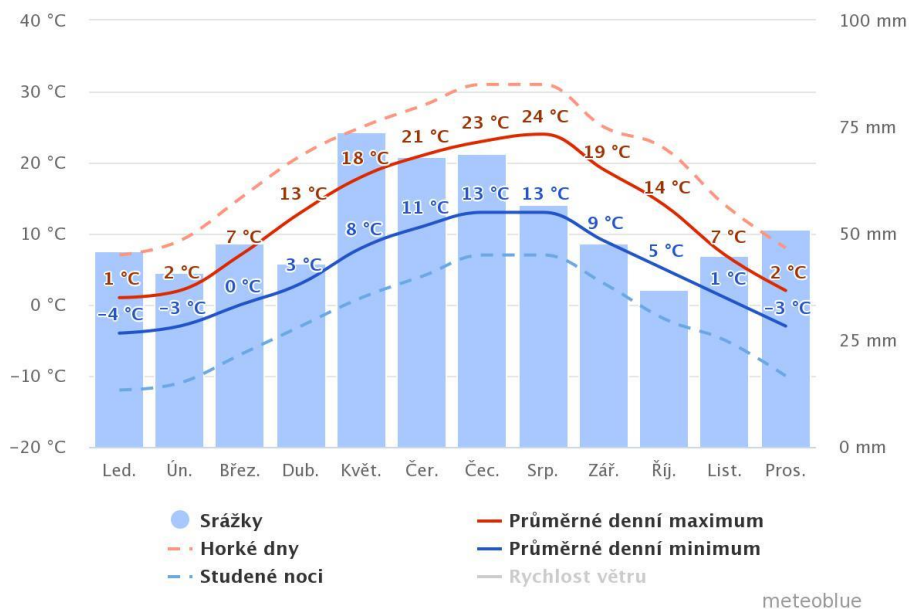
Říční síť Dražanské vrchoviny patří do úmoří Černého moře (Mlejnek et al. 2015) a náleží do povodí řeky Moravy (Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem, © 2020)

#### 3.1.1 Klimatické poměry

Podnebí Dražanské vrchoviny vykazuje jasný gradient od periferie ke středu. Na jihovýchodě se setkáváme s tzv. srážkovým stínem Dražanské vrchoviny a v této oblasti tedy srážky klesají až na 550 mm. Celé území můžeme definovat jako vlhké a pro polohy nacházející se v údolí je také charakteristická teplotní a posléze i vegetační inverze (Quitt 1971).

Podle Quitta je podnebí relativně teplé. Dochází ale k velkým změnám z důvodu členitého terénu.

Srážkoměrná stanice Raková u Konice sesbírала následující data o průměrných denních teplotách a průměrných srážkách ve studované oblasti. Tyto data jsou shrnuty na obrázku (Obrázek 4).



Obrázek 4 – Průměrné srážky a denní teploty ve zkoumané oblasti (Zdroj: Meteoblue © 2006 - 2019)

### 3.1.2 Poměry geologické

Téměř celé území Konické vrchoviny je tvořeno souvrstvím mořského spodního karbonu (břidlice, droby a na jihu také slepence). Pás fylitů, bazik a především vápenců pak najdeme mezi Konicí a Litovlí. Na západě je úzký přerušovaný pás devonských břidlic a vápenců. Co se týče pokryvů, jsou nejdůležitější zejména sprašové hlíny a svahoviny. V nejvyšších oblastech se také ojediněle mohou vyskytovat rašelinné půdy (Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem, © 2020)

## 3.2 Sběr vzorků

Bylo sesbíráno po 10 vzorcích na 2 lokalitách. První lokalitou byla polní cesta u obce Suchdol cca 9 km od města Konice (GPS 49.5524058N, 16.8763047E; označení lokality: A). Druhou lokalitou pak byla opět polní cesta. Tentokrát u Ochozského mlýna v obci Ochoz cca 3,3 od města Konice (GPS 49.5992881N, 16.9297681E; označení lokality: B)

Vzorky jsem sesbírала z kaluží pomocí vydezinfikované lžičky a nožíku a následně jsem tyto vzorky vložila do uzavíratelných zipových sáččích. Ty jsem označila jedinečnými popisy,

kteře posléze usnadnily identifikaci vzorku. Vzorky jsem poté odnesla do algologické laboratoře, kde jsem použila světelný mikroskop pro bližší prozkoumání vzorků.

### **3.3 Kultivace**

Pomocí opálené bakteriologické kličky jsem malé množství vzorku nanasla na 1,5% agar se Z-médiem (Staub 1961) v Petriho miskách. Poté jsem čekala 2-4 dny, dokud se sinice nerozrostly. Následně jsem pomocí bakteriologické jehly sesbírala jednotlivá vlákna sinic a nanasla je jednotlivě do jamek izolačních destiček naplněné Z-médiem. Opět jsem pár dní počkala, dokud se vlákno sinice nerozrostlo. Takto narostlou biomasu jsem uložila do 10 ml zkumavek se zeleným víčkem. Kultivace probíhala při  $22 \pm ^\circ\text{C}$ , osvětlení  $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Perioda světelného režimu 16/8 (16 hodin světlo/8 hodin tma).

Takto bylo kultivováno 20 vzorků ze dvou lokalit. Sekvencování jednoho vzorku z první lokality nevyšlo, proto není tento vzorek v práci dále zmiňován.

### **3.4 Morfologické hodnocení**

Menší množství kultivované biomasy sinice jsem nanasla do kapky vody na podložní sklíčko. S opatrností jsem přiložila sklíčko krycí a pod zvětšením 1000x jsem sinice pozorovala ve světelném mikroskopu (Primo Star), který byl opatřen kamerou (AxioCamERc5s). Pořídila jsem 10 fotografií každého z 20 vzorků a poté jsem provedla 3 měření na každé fotografii pomocí programu AxioVision Rel. 4.8.

Morfologické vlastnosti jsem vyhodnocovala na základě tvaru, délky a šířky buněk. Dále na základě barvy, granul, slizových pochev, kalypter a také podle tvaru terminální buňky.

### **3.5 Extrakce DNA a PCR reakce**

Pro extrakci DNA jsem použila DNeasy UltraClean Microbial Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany). Extrakci jsem provedla podle standardního postupu popsánoho v přiloženém návodu.

Následně jsem s vyextrahovanou DNA provedla PCR reakci pro získání sekvence 16S z celé oblasti 16S-23S ITS. Byla použita reakční směs PSR-Premix, která mimo jiné obsahovala primer 1 (vzad běžící P1: 5'-CTCTGTGTGCCTAGGTATCC-3') a primer 2 (vpřed běžící P2: 5'-GGGAATTTTCCGCAATGGG-3'). Oba primery byly pipetovány v objemu 12,6  $\mu\text{l}$ . Kombinace těchto primerů je publikována v práci Boyera (Boyer et al. 2002). Dále enzym polymeráza (Metgen, Emerald, Tesi, Helsinki, Finland) o objemu 3,36  $\mu\text{l}$ , DNTP o objemu 10,1

μl, pufr o objemu 126 μl, PSA a Mg o objemu 0,5 μl a H<sub>2</sub>O o objemu 457 μl. Použité objemy slouží pro 42 reakcí.

Takto připravenou DNA jsem nejdříve zcentrifugovala a následně vložila do termocykléru (Mastercycler R pro S eppendorf AG, 200-240V, Hamburg, Německo). PCR reakce probíhala za následujících podmínek: počáteční denaturace po dobu 4 minut při 95 °C, následováno 35 cykly denaturace po dobu 30 s při 95 °C, annealing po dobu 30 s při 57 °C. Poté došlo k prodloužení reakce po dobu 110 sekund při teplotě 72 °C a poslední reakce trvala 7 minut při 72 °C.

### **3.6 Elektroforéza a purifikace**

Kvalitu PSR reakce sem ověřila na 1,5 % agarovém gelu s použitím fluorescenčního barviva GelRed Nucleic Acid Stain 10,000X in DMSO (Biotium, Fremont, CA). Markerem relativní molekulové hmotnosti byl použit Hypper Ladder 100 bp. Elektroforéza probíhala 45 minut při 100 V, cca 60 mA podle návodu od GE Jean. Zobrazovacím přístrojem byl transiluminátor UVITEC Cambridge.

PSR produkty jsem přečistila pomocí purifikačního gelu. Použila jsem E.Z.N.A. Cycle Pure Kit (Omega Bio-tec, Norcross, USA) a postupovala jsem přesně podle standardního návodu.

Přečištěné produkty jsem poslala na sekvencování do firmy Macrogen Europe, Holandsko.

### **3.7 Sekvencování**

Pro sekvencování bylo použito dalších dvou primerů, a to P8: 5' AAGGAGGTGATCCAGCCACA-3' a P5: 5'-TGTACACACCGCCCGTC-3' (Boyer et al. 2002). PCR produkt přesahuje předpokládanou délku jednoho sekvencování, proto bylo nutné tyto dva primery přidat.

Sekvence byla sestavena v programu Sequencher 4.10 (Gene Codes Corporation Ann Arbor, MI, USA). Následně jsem manuálně ověřila správnost sekvenčního čtení. Dále jsem pracovala pouze s jednou sekvencí.

### 3.8 Fylogenetická analýza

Pomocí algoritmu Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) jsem v databázi vyhledala nejpodobnější dobře definovanou sekvenci. Následně jsem provedla fylogenetickou analýzu (Multiplate sequence alignment) pomocí algoritmu Muscle (Edgar 2004) s využitím programu Mega X (Kumar 2018). K rekonstrukci fylogeneze jsem použila Maximum likelihood v základním nastavení. Topologii fylogenetického stromu jsem testovala pomocí metody stropování (300 replikací).

## 4 Výsledky

### 4.1 Identifikace kmenů

Ve vzorcích 2A, 4B, 5A, 8A, 9A, 9B a 10A byla identifikována sinice *Microcoleus vaginatus*. Pozorovala jsem tmavá modrozelená vlákna s apikální buňkou, která byla opatřena polokruhovou kalyptrou. Buňky byly širší než delší. Průměrná šířka buňky (dále označováno jako  $\bar{d}$ ) ve vzorku 2A činila  $7,816 \mu\text{m} \pm 0,792248$ . Průměrná délka buňky (dále označováno jako  $\bar{l}$ ) ve vzorku 2A činila  $2,949 \mu\text{m} \pm 0,441258$ . Ve vzorku 4B:  $\bar{d} = 6,138667 \mu\text{m} \pm 0,364771$ ,  $\bar{l} = 3,841333 \mu\text{m} \pm 0,441714$ . Ve vzorku 5A:  $\bar{d} = 6,591333 \mu\text{m} \pm 0,47474$ ,  $\bar{l} = 4,084333 \mu\text{m} \pm 0,532946$ . Ve vzorku 8A:  $\bar{d} = 6,003667 \mu\text{m} \pm 0,571241$ ,  $\bar{l} = 4,092333 \mu\text{m} \pm 0,689153$ . Ve vzorku 9A:  $\bar{d} = 6,797333 \mu\text{m} \pm 0,675514$ ,  $\bar{l} = 4,099667 \mu\text{m} \pm 0,556737$ . Ve vzorku 9B:  $\bar{d} = 6,433333 \mu\text{m} \pm 0,743332$ ,  $\bar{l} = 4,436667 \mu\text{m} \pm 0,719506$ . Ve vzorku 10A:  $\bar{d} = 6,746333 \mu\text{m} \pm 0,844715$ ,  $\bar{l} = 3,953 \mu\text{m} \pm 0,696171$ .

Ve vzorcích 3B, 6B, 1B a 7B byla identifikována sinice *Planktothrix sp.* Vlákna byla modrozelená s postupným zužováním na konci. Koncová buňka často s kalyptrou a buňky širší než delší. Ve vzorku 3B:  $\bar{d} = 4,672 \mu\text{m} \pm 0,390183$ ,  $\bar{l} = 1,757333 \mu\text{m} \pm 0,27064$ . Ve vzorku 6B:  $\bar{d} = 5,049 \mu\text{m} \pm 0,241941$ ,  $\bar{l} = 2,023667 \mu\text{m} \pm 0,27405$ . Ve vzorku 1B:  $\bar{d} = 4,543666 \mu\text{m} \pm 0,425641$ ,  $\bar{l} = 1,952 \mu\text{m} \pm 0,350099$ . Ve vzorku 7B:  $\bar{d} = 4,392 \mu\text{m} \pm 0,229919$ ,  $\bar{l} = 1,886333 \mu\text{m} \pm 0,22794$ .

Ve vzorku 2B byla identifikována sinice *Microcoleus pseudautumnalis*. Vlákna byla jasně zelená, ke konci se nezužovaly, popřípadě mírně zužovaly. Kalyptry nebyly pozorovány. Buňky byly širší než delší.  $\bar{d} = 4,582667 \mu\text{m} \pm 0,380341$ ,  $\bar{l} = 2,014667 \mu\text{m} \pm 0,344613$ .

Ve vzorcích 3A a 8B byla identifikována sinice *Potamosiphon austaliensis*. Pozorovala jsem modrozelená vlákna s buňkami širšími než delšími ke konci nezúženými. Apikální buňky

byly zaoblené bez kalypter. Ve vzorku 3A:  $\bar{d} = 7,076667 \mu\text{m} \pm 0,367057$ ,  $\bar{l} = 2,894583 \mu\text{m} \pm 0,36$ . Ve vzorku 8B:  $\bar{d} = 5,662667 \mu\text{m} \pm 0,377491$ ,  $\bar{l} = 2,625333 \mu\text{m} \pm 0,328062$ .

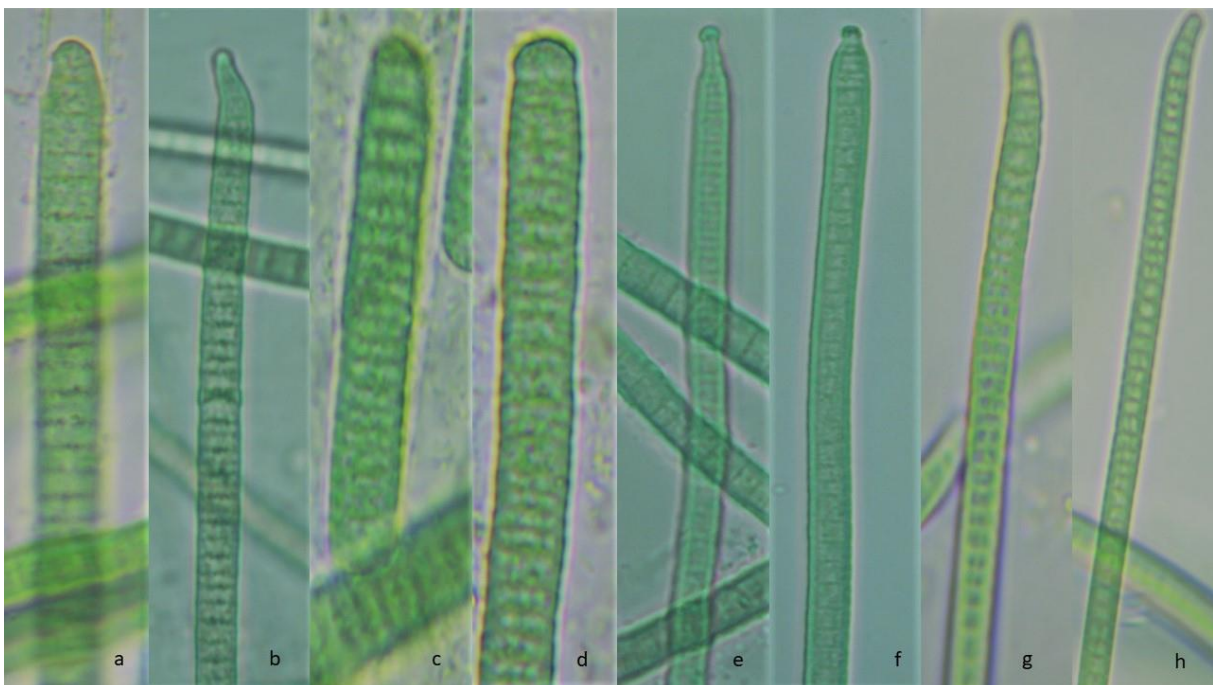
Ve vzorku 5B byla identifikována sinice *Ancylothrix terrestris*. Vlákna byla světle zelená na konci zužující. Buňky širší než delší. Kalyptry nebyly pozorovány.  $\bar{d} = 6,128 \mu\text{m} \pm 0,417998$ ,  $\bar{l} = 2,842 \mu\text{m} \pm 0,402471$ .

Ve vzorku 7A byla identifikována sinice *Laspinema thermale*. Vlákna měla modrozelenou barvu a na konci se rychle zužovala. Kalyptra byla polookrouhlá a buňky širší než delší.  $\bar{d} = 6,288333 \mu\text{m} \pm 0,572737$ ,  $\bar{l} = 3,610333 \mu\text{m} \pm 0,424401$ .

Ve vzorku 10B byla identifikována sinice *Microcoleus anatoxicus*. Pozorovala jsem jasně modrozelená vlákna. Konce se postupně zužovaly. Buňky byly širší než delší.  $\bar{d} = 4,794 \mu\text{m} \pm 0,739146$ ,  $\bar{l} = 2,3 \mu\text{m} \pm 0,266608$ .

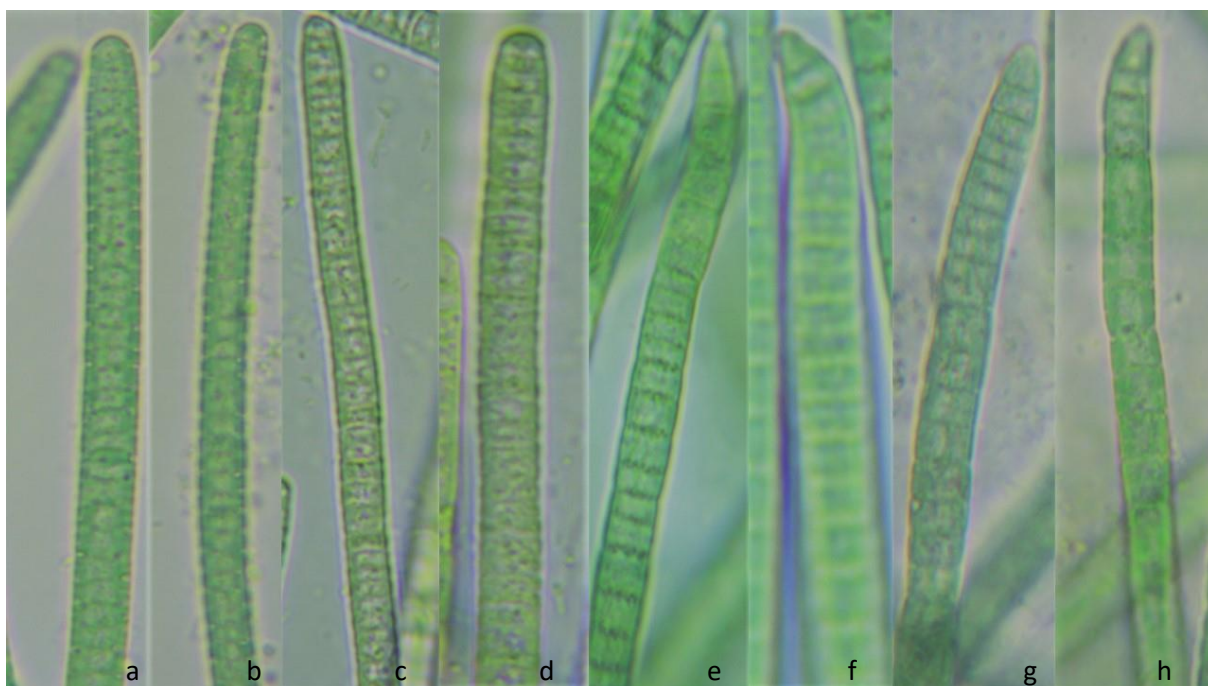
Ve vzorku 4A byla identifikována sinice *Microcoleus autumnalis*. Vlákna byla modrozelená, ke konci se zužovala. Apikální buňky s kalyptrou. Buňky širší než delší.  $\bar{d} = 4,6876628 \mu\text{m} \pm 0,371340$ ,  $\bar{l} = 2,137662 \mu\text{m} \pm 0,336134$ .

Ve vzorku 6A byla identifikována sinice *Aliterella antarctica*. Vlákna byla olivově zelená. Buňky se ke konci vláken zužovaly a apikální buňka byla opatřena polokruhovitou kalyptrou. Buňky širší než delší.  $\bar{d} = 5,327333 \mu\text{m} \pm 0,376527$ ,  $\bar{l} = 3,237333 \mu\text{m} \pm 0,467311$ .



Obrazová tabule 1 – Diverzita druhů sinic na lokalitě A. a,b: *Microcoleus vaginatus* (2A, 5A, 8A, 9A, 10A); c,d: *Potamosiphon austaliensis* (3A); e,f: *Laspinema thermale* (7A); g,h: *Microcoleus autumnalis* (4A)





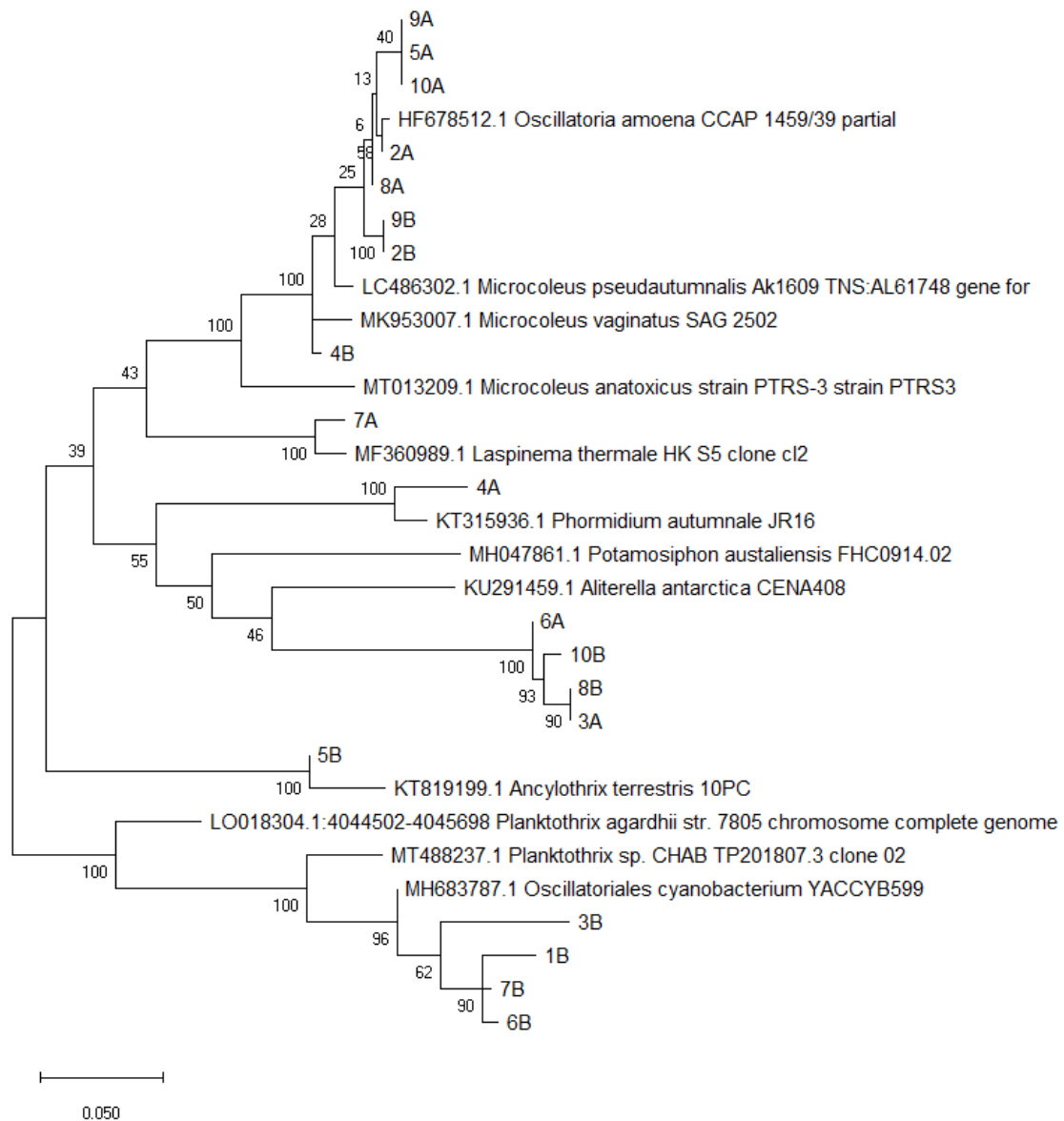
Obrazová tabule 2 – Diverzita druhů sinic na lokalitě B. a, b: *Planktothrix* sp. (3B, 6B, 1B, 7B); c, d: *Microcoleus pseudautumnalis* (2B); e, f: *Microcoleus vaginatus* (4B, 9B); g, h: *Ancylothrix terrestris* (5B)



Obrazová tabule 3 – Diverzita druhů sinic na lokalitě B. a,b: *Potamosiphon austaliensis* (8B); c,d: *Microcoleus anatoxicus* (10B). Diverzita druhů sinic na lokalitě A. e,f: *Aliterella antarctica* (6A)



## 4.2 Fylogenetický strom



Vzorky 9A, 5A, 10A, 2A, 8A, 9B, 2B jsou blíže příbuzné druhu *Microcoleus amoenus*. Vzorek 4B je pravděpodobně *Microcoleus vaginatus*. Vzorek 7A je úzce spojen s *Laspinema thermale*. Vzorek 4A je identifikován jako *Microcoleus autumnale*. Vzorky 6A, 10B, 8B, 3A jsou úzce spojeny se sinicí rodu *Aliterella*, ale není to přesně druh *Aliterella antarctica*. Vzorek 5B je blíže příbuzný druhu *Ancylothrix terrestris* a vzorky 3B, 1B, 7B a 6B jsou příbuzní druhu *Planktothrix agardhii*, ale pravděpodobně se jedná o novou linii.

## 5 Diskuze

Na dvou vybraných lokalitách jsem sesbírala 20 vzorků sinic z kaluží a následně jsem tyto vzorky analyzovala v laboratoři. Jeden ze vzorků nevyšel, kvůli kontaminaci DNA, a proto v této práci není zahrnut. Našla jsem několik známých rodů sinic, mezi které patří *Microcoleus amoenus*, *Microcoleus vaginatus*, *Laspinema thermale*, *Microcoleus autumnale* a *Ancylothrix terrestris*. Také jsem pravděpodobně našla druhy nové, které jsou v příbuzenském vztahu k *Planothrix agardii* a *Aliterella antarctica*, ale patrně tvoří novou neprobádanou linii.

Kmeny 9A, 5A, 10A, 2A, 8A, 9B, 2B a 4B shrnují pozici ve fylogenetickém stromu jako *Microcoleus vaginatus*. Tento druh je dle Kaštovského (Kaštovský et al. 2018) popsán jako modrozelená nebo tmavě zelená vlákna široká (2,5-)3-7(-9)  $\mu\text{m}$ . Buňky kratší než široké, 2-5(-6,7)  $\mu\text{m}$ . Apikální buňka obsahuje polokulovitou či kuželovitou kalyptru. Dle mého zkoumání jsou vlákna tohoto druhu modrozelená s apikální buňkou mající polokruhovitou kalyptru. Průměrná šířka buňky činila 6-7  $\mu\text{m}$  a průměrná délka buňky 3-4  $\mu\text{m}$ , což zapadá do již publikovaných měření.

Kmen 7A shrnuje pozici ve fylogenetickém stromu jako *Laspinema thermale*. Vlákna této sinice jsou rovná a v přirozeném prostředí vytváří bentické porosty. Trichomy 3-4(5)  $\mu\text{m}$  široké, mírně zúžené na příčných stěnách. Buňky vždy kratší než delší, terminální buňka protáhlá, kónická, ohnutá. Šířka buňky se pohybuje okolo 3-4 (5)  $\mu\text{m}$ , délka buňky pak 1-2,4  $\mu\text{m}$ . (Heidari et al. 2018). Tento druh byl původně nalezen na odlišném geografickém i ekologickém místě, a to v termálních pramenech v Íránu. Dle mého zkoumání jsou vlákna sinice *Laspinema thermale* modrozelená, koncové buňky se mírně zužují a apikální buňky jsou opatřeny dobře viditelnou polokruhovou kalyptrou. Průměrná šířka buňky činila 6,3  $\mu\text{m}$ , průměrná délka buňky činila 3,6  $\mu\text{m}$ .

Kmeny 6A, 10B, 8B a 3A tvoří parafyletický klád k druhu *Aliterella antarctica*. Tato sinice je má stélku kokální a patří do řádu *Chroococciopsidales*. Rigonato (Rigato et al. 2016) ve své práci tento druh popisuje následovně: Stélka má kompaktní nepravidelný tvar složený z četných kolonií. Kolonie jsou většinou nepravidelné, někdy zaoblené a proměnlivé co do rozměru a počtu buněk. Sliz je pevný a obklopuje nejen jednotlivé buňky, ale i celé kolonie. Buňky jsou válcovité se zaoblenými konci nebo kulovité či nepravidelné, 3,4-5,8  $\mu\text{m}$  dlouhé 2,5-4,6  $\mu\text{m}$  v průměru. *Aliterella antarctica* byla poprvé nalezena na ornitogenní půdě v blízkosti moře v Admiralty Bay, King George Island. Dle mého zkoumání jsou tyto sinice vláknité. Vlákna jsou zelená s buňkami širšími než delšími a apikální buňky jsou opatřeny polokruhovitou kalyptrou. Průměrná šířka buňky činila 5,3  $\mu\text{m}$  a průměrná délka buňky činila

3,2  $\mu\text{m}$ . Pravděpodobně jde o podobný případ jako rod *Neosynechococcus*, který je také kulovitý a je blízké příbuzný k vláknité sinici rodu *Stenomitos* (Dvořák et al. 2014). Patrně se jedná o nový druh.

Kmen 5B shrnuje pozici ve fylogenetickém stromu jako *Ancylothrix terrestris*. Dle Martinse (Martins et al. 2016) vlákna vytvářejí jasně zelenou kompaktní zamotanou strukturu. Trichomy jsou mírně válcovité, mírně zúžené na příčných stěnách, zeslabené a ohnuté na koncích. Šířka buněk se pohybuje okolo 4-6,5  $\mu\text{m}$  a 2,5-5,5  $\mu\text{m}$  jsou dlouhé. Tato sinice byla poprvé izolována z půdy deciduálního lesa v Brazílii. Dle mého zkoumání jsou vlákna modrozelená na konci zužující a apikální buňky nebyly opatřeny kalyptrou. Průměrná šířka buňky činila 6,1  $\mu\text{m}$  a průměrná délka buňky činila 2,8  $\mu\text{m}$ , což zapadá do již publikovaných měření.

Kmeny 3B, 1B, 7B a 6B jsou parafyletickou skupinou k sinici druhu *Planktothrix agardhii*. Kaštovský (Kaštovský et al. 2018) popisuje tuto sinic jako modrozelená nebo olivově zelená vlákna s aerotopy, která jsou dlouhá až 300  $\mu\text{m}$ . Vlákna se na konci postupně zužují a apikální buňka je často s kalyptrou. Dle mého zkoumání průměrná šířka buněk činila 4-5  $\mu\text{m}$  a průměrná délka buněk činila 1-2  $\mu\text{m}$ . Tento druh jsem našla na jiném ekologickém místě, než popisuje Kaštovský. Ten zmiňuje, že tradičním výskytem *Planktothrix agardhii* jsou mezotrofní až eutrofní nádrže. Dále v mých kmenech nejsou aerotopy a celkově je tato sinice, podle mých fotek ze světelného mikroskopu, více podobná spíše rodu *Phormidium*.

Všechny tyto kmeny se musí ještě dále prostudovat, aby bylo možné vytvořit konečné taxonomické závěry, a to hlavně v případech, kde podotýkám, že se pravděpodobně jedná o nové, doposud neprobádané, druhy sinic.

## 6 Závěr

V této bakalářské práci jsem se zaměřila na druhovou diverzitu, morfologii a taxonomii sinic, které jsem sesbírala na dvou mnou vybraných lokalitách. Následně jsem s použitím standardních metod užívaných v Algologické laboratoři vyhodnotila 20 vzorků (10 vzorků z každé lokality) z morfologického hlediska a poté sem získala sekvenci 16S rRNA a ITS. Posledním krokem byla fylogenetická analýza.

Nalezla jsem pravděpodobně 2 nové linie sinic. Jedna z nich je velmi úzce spjata s kulovitou sinicí rodu *Aliterella* a druhá je příbuzná druhu *Planktothrix agardhii*. Ostatní kmeny jsem dokázala zařadit do konkrétních druhů, a to *Microcoleus amoenus*, *Microcoleus vaginatus*, *Laspinema thermale*, *Microcoleus autumnale* a *Ancylothrix terrestris*.

## 7 Didaktická část

### 7.1 Pracovní list

#### **Téma: Určování sinic dle algoritmu BLAST**

##### Teorie:

Sinice jsou organismy prokaryotní. DNA je tedy volně uloženo v cytoplazmě v podobě jediné kruhovitě uzavřené molekuly, tzv. nukleoid a chybí jadérko i jaderná membrána. Dodatečný genetický materiál se pak nachází v plazmidech, což jsou malé kruhové molekuly DNA schopné replikace. Pod pojmem genom si pak představíme veškerou genetickou informaci, která se v konkrétním organismu nachází. Zahrnuje jak kódující, tak i nekódující sekvence DNA.

Genom sinic je relativně malý, v porovnání s řasami asi desetinásobný. Sinice jsou v zásadě bakterie, takže i velikost jejich genomu je přibližně srovnatelná s dalšími bakteriemi. Velikost genomu sinic se pohybuje od 1,7 miliónu párů bází až po cca 9 miliónů párů bází.

Sekvencování genomu otevřelo novou kapitolu ve výzkumu sinic. V posledních letech se vytvořily kompletní genomové sekvence velkého množství sladkovodních i mořských sinic, což poskytlo dostatek údajů pro systematickou analýzu.

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) je algoritmus, který se používá za účelem srovnání primárních sekvencí nukleotidů DNA z různých sekvencí, popřípadě srovnání primárních sekvencí aminokyselin z různých proteinů. BLAST srovná námi zadanou sekvenci se všemi sekvencemi v databázi.

BLAST je možné využít pro řadu procesů, jako například identifikace druhů, lokalizace domén, stanovování fylogeneze či DNA mapování a porovnávání.

##### Postup:

1. V počítači otevřete prohlížeč a zadejte následující webovou adresu:  
<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
2. Klikněte na: Nucleotide BLAST

NIH U.S. National Library of Medicine NCBI National Center for Biotechnology Information Sign in to NCBI

**BLAST** Home Recent Results Saved Strategies Help


COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation. Get the latest public health information from CDC: <https://www.cdc.gov/coronavirus>. Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>. Find NCBI SARS-CoV-2 literature, sequence, and clinical content: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>.

**Basic Local Alignment Search Tool**

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

**NEWS**  
BLAST+ 2.10.1 is released - Fix for TBLASTN Multi-Threading issue. This version supports pulling databases from our FTP site as well from cloud providers or our BLAST+Docker solution.  
Thu, 18 June 2020 12:00:00 EST [More BLAST news...](#)

**Web BLAST**

 **Nucleotide BLAST**  
nucleotide → nucleotide

**blastx**  
translated nucleotide → protein

**tblastn**  
protein → translated nucleotide

**Protein BLAST**  
protein → protein

- Zadané sekvence nukleotidů (viz Zadání) postupně přepište (zkopírujte z příloženého souboru) do obdélníkového okénka Enter Query Sequence a klikněte na BLAST

blastn blastp blastx tblastn tblastx

BLASTN programs search nucleotide databases

**Enter Query Sequence**

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) [?](#)

[Clear](#) **Query subrange** [?](#)

From

To

Or, upload file  Soubor nevybrán. [?](#)

**Job Title**

Enter a descriptive title for your BLAST search [?](#)

**Align two or more sequences** [?](#)

Somewhat similar sequences (blastn)

Choose a BLAST algorithm [?](#)

**Search database Nucleotide collection (nr)**

Show results in a new window

[+ Algorithm parameters](#)

BLAST is a registered trademark of the National Library of Medicine

4. Po pár sekundách čekání se objeví výsledky. Nejvíce nás zajímá sloupec Per. Ident. Určuje, na kolik procent je zadaná sekvence podobná reálné sekvenci identifikované sinice.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<a href="#">Ancylothrix terrestris 10PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, tRNA-Ile and tRNA-Ala gene, partial sequence</a>	2268	2268	100%	0.0	97.51%	<a href="#">KT819199.1</a>
<a href="#">Ancylothrix terrestris 13PC 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence; and tRNA-Ile and tRNA-Ala gene, partial sequence</a>	2263	2263	100%	0.0	97.44%	<a href="#">KT819202.1</a>
<a href="#">Ancylothrix terrestris 12PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, complete</a>	2047	2047	99%	0.0	94.41%	<a href="#">KT819201.1</a>
<a href="#">Ancylothrix rivularis 7PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, tRNA-Ile and tRNA-Ala gene, partial sequence</a>	2047	2047	99%	0.0	94.64%	<a href="#">KT819196.1</a>
<a href="#">Ancylothrix rivularis 8PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, tRNA-Ile and tRNA-Ala gene, partial sequence</a>	2041	2041	99%	0.0	94.57%	<a href="#">KT819197.1</a>
<a href="#">Ancylothrix rivularis 9PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, tRNA-Ile and tRNA-Ala gene, partial sequence</a>	2039	2039	99%	0.0	94.56%	<a href="#">KT819198.1</a>
<a href="#">Ancylothrix terrestris 11PC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, complete</a>	2002	2142	93%	0.0	98.09%	<a href="#">KT819200.1</a>
<a href="#">Ancylothrix terrestris strain 10PC 16S ribosomal RNA, partial sequence</a>	1989	1989	85%	0.0	98.24%	<a href="#">NR_149292.1</a>
<a href="#">Geitlerinema sp. ISL_2_11 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	1988	1988	88%	0.0	97.04%	<a href="#">KJ219712.1</a>
<a href="#">Uncultured soil bacterium clone B085 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1919	1919	83%	0.0	98.09%	<a href="#">JX489993.1</a>
<a href="#">Ancylothrix rivularis strain 8PC 16S ribosomal RNA, partial sequence</a>	1916	1916	85%	0.0	97.09%	<a href="#">NR_149291.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone SWB0402-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1895	1895	81%	0.0	98.16%	<a href="#">JN398120.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 0m-15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1879	1879	81%	0.0	97.88%	<a href="#">KP745045.1</a>
<a href="#">Ancylothrix sp. UIC_10489 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1773	1773	76%	0.0	98.04%	<a href="#">MT174467.1</a>
<a href="#">Klisinema persicum SHAFa S10 clone c3 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	1740	1740	99%	0.0	90.37%	<a href="#">MF348323.1</a>
<a href="#">Klisinema persicum SHAFa S10 clone c2 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	1735	1735	99%	0.0	90.29%	<a href="#">MF348324.1</a>
<a href="#">Klisinema persicum SHAFa S10 clone c1 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	1735	1735	99%	0.0	90.29%	<a href="#">MF348322.1</a>
<a href="#">Klisinema persicum SHAFa S10 clone c4 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence</a>	1729	1729	99%	0.0	90.22%	<a href="#">MF348325.1</a>

5. Vyberte nejpodobnější dobře definovanou sekvenci a zapište název sinice.

Zadání:

- TGACGGAGCCAGACCGCGTGAGGGRAGAAGGCTCTAGGGTTGTAA  
ACCTCTTTTATCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTGAAGAAAAA  
GCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGAGGC  
AAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGAGTCCGTAGGTGGAAC  
TTCAAGTCCATTGTCAAAGAGCAAAGCTTAACTTTGTAAAGGCAGT  
GGAAACTGAAAATCTAGAGAGGGGCAGGGGCAAAGGGAATTCCTG  
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCG  
AAAGCGCTTTGCTGGGCCATTCTGACACTGAGGGACGAAAGCTAG  
GGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAACGA  
TGGATACTAGGTGTGGCCTGTATCGACCCGGGCCGTGCCGTAGCTA  
ACGCGTTAAGTATCCCGCCTGGGGAGTACGCACGCAAGTGTGAAAC  
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTT  
TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATGTCCA

GAATCCCCTTGAAAGAGGGGAGTGCCTACGGGAAGTGGAAACACAG  
GTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTCCTCAGTTGCCATCATTAAAGTT  
GGGAAGTCTGGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG  
GATGACGTCAAGTCAGCATGCCCTTACGTCCTGGGCGACACACGT  
ACTACAATGGTTCGGGACAGAGGGTAGCCAAGCTGCAAAGTCGAGC  
CAATCCCATAAACCCGGCCCCAGTTCAGATCGCTCTCTGCAACTCG  
AGAGCGTGAAGGAGGAATCGCTAGTAATCGCCGGTCAGCATAACGG  
CGGTGAATCCGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAT  
GGGAGCTGGCTACGCCGAAGTCGTTACTCTAACCCGCAAGGGAGG  
AGGGCGCCGAAGGCAGAGCTGGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAA  
GGTAGCCGTACCGGAAGGTGTGGCTGGATCACCTCCTTAACAAGGA  
GACCTAAAGTGAAAGTAACACCCACAACAACAACCTTTCTCAGACAA  
GGCAGGTCGGTCGAGGAATTTATGAGGCTTTCAAACCTATCAATTGG  
TTCGGAATATGGGCTATTAGCTCAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGA  
TAAGGGTGAGGTCCCTGGTTCAAGTCCAGGATGGCCACCTAACC

2. CCCCATGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGATGAA  
GGCTCTTGGGTTGTAAACCCCTTTTCTCAGGGAAGAAGTTCTGACGG  
TACCTGAGGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT  
AAGACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCG  
TTCGTAGGTGGCTGTTCAAGTCTGCCGTTAAAGACCGGGGCTTAACT  
CCGGAAAACTGTGGAACTGAACAGCTAGAGTATGGTAGGGGTA  
AGGGGAATTCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAG  
AACACCGGTGGCGAAGGCGCCTTACTGGGCCATAACTGACACTGAG  
GGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCCCTGTAGTC  
CTAGCTGTAAACGATGGATACTAGGTGTTGCCCGTATCGACCCGGG  
CAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCTGGGGAGTACGCA  
CGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG  
GTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAG  
GGCTTGACATGTCCAGAATCTCGGGGAAACCTGAGAGTGCCTTCGG  
GAGCTGGAACACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGT  
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTCCTTAGT  
TGCCATCATTAAAGTTGGGCACTTTAGGGAGACTGCCGGTGACAAAC

CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGCCCTTACGTCC  
TGGGCTACACACGTACTACAATGGGAAGGACAGAGGGTAGCAAGC  
GCGCGAGTGCAAGCCAATCCCATAAACCTTTCCTCAGTTCAGATTG  
CAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCA  
GGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG  
CCCGTCACACCATGGAAGTTGGCCATGCCCGAAGTCATTACCCTAA  
CCGCAAGGAAGGGGATGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGTGA  
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGTGGCTGGATCACCTC  
CTTTTAGGGAGACCTGCTCGATTCTCACCGAAACCCAAACATTAATC  
GGGRGAATCAGCTATCCCAAGGTCGTTTCGAGACTAGACAATTTCTG  
GCTTTCAAACTCTTTGTTTCGGTTCAGCATCATGTTT

3. CTAGGTATCCCACCATTCCTCTGTGATGCTTAGGTATCCACCATCAG  
CCCTAATTAGCTTGACCAATTTTTTTGGTTTTTGGTTTTTCTACCTGCT  
CGTTTTAGCTCTCGCTAAAACGGACATTTTTGCTTTTTGTTGCTATGC  
AGTTTTCCAGGTTCCGGGCTGGTCTCATCCCAGCATTCTCTCTGCTTG  
GTTGCAGATAAGGTGCTATGATGCTGACCTAATTTTTGTTTTGTTTC  
CGGTTGGCTGGGAGTCTGTTGGCCAATTGCTGACCTTTTGGCTACTC  
CTGACTTTTTTGGTCAAAGGTGGGCCATCCTGGACTCGAACCAGGGA  
CCTCACCTTATCAGGGGTGCGCTCTAACCACCTGAGCTAATAGCCC  
ATTCCACCCGGACTCAATTATAGTTTGAAAGCCTTTTTCTTTTACCTC  
GTTTCGACCTGAGGATGACTAGCTAGAACTTTTTTGTGTTGAGTTGGTT  
TCTGCAAGCAGGTCTCCCTAAAAAGGAGGTGATCCAGCCACACCTT  
CCGGTACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCCAGTCACCAGCCCCAC  
CTTCGGCGTCCCTCCTCTTTGCAGGTTGGAGTAACGACTTCGGGCAT  
GGCCAGCTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA  
CGTATTCACCGCAGTATGCTGACCTGCGATTACTAGCGATTCCGCCT  
TCACGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCGATCTGAACTGAGCTACGGTTT  
ATGGGATTTCGCTTGTCATTGCTAACTTGCTGCCCTCTGTCCGTCGCA  
TTGTAGTACGTGTGTAGCCCAGGACGTAAGGGGCATGCTGACTTGA  
CGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCTCTAGAG  
TGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAAAACGAGGGTTGCGCTCGTTG  
CGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATG  
CACCACCTGTGTTTCGCGCTCCCGAAGGCACTCCCCCTTCAAGGGG



ATTCGCGACATGTCAAGTCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAA  
TTAAACCACATACTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTT  
GAGTTTCACACTTGCGTGCGTACTCCCCAGGCGGGATACTTAGCGC  
GTTAGCTGCGGCACTAAGAGGGTTCGATACTCTCAACACCTAGTATC  
CATCGTTTACGGCTAGGACTACTGGGGTATCTAATCCCATTTCGCTCC  
CCTAGCTTTCGTCCCTCAGTGTCAGAATTGGTCTAGCAGAGCGCTTT  
CGCCACTGGTGTTCTTCCCGATCTCTACGCATTTACCCGCTACACCG  
GGAATTCCCTCTGCCCCTACCTTTCTCTAGCTGTTTCAGTTTCCACCGC  
CTTTTCACAGTTAAGCTGTGACCTTTGACGACAGACTTGAATCGCCA  
CCTACGGACTCTTTACGCCAATCATTCCGGATAACGCTTGCATCCT  
CCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGATGCTGATTCCCT  
CGTACCGTCATTTTTTTCTTCCCAGAGAAAAGAGGTTTACAACCCAA  
GA

Výsledky:

1. *Ancylothrix terrestris*
2. *Laspinema thermale*
3. *Microcoleus anatoxicus*

Doplňkové otázky:

1. Napište, kde všude se nachází genetická informace sinic a uveďte pojem, kterým se označuje veškerá genetická informace konkrétního organismu.
2. Porovnejte velikost genomu sinic a velikost genomu člověka.
3. Namalujte buňku sinice se všemi organelami a vyznačte nukleoid.
4. Popište jednoduše fungování algoritmu BLAST.

## 8 Citovaná literatura

BEKKER, A., H. D. HOLLAND, P.-L. WANG, D. RUMBLE, H. J. STEIN, J. L. HANNAH, L. L. COETZEE a N. J. BEUKES. Dating the rise of atmospheric oxygen. *Nature*. 2004, 427(6970), 117-120 [cit. 2020-06-29]. ISSN 0028-0836.

BOYER S.L., JOHANSEN J.R., HOWARD G.L. Phylogeny and genetic variance in terrestrial *Microcoleus* (Cyanophyceae) species based on sequence analysis of the 16S rRNA gene and associated 16S-23S ITS region. *J Phycol*. 2002, 38: 1222–1225. [cit. 2020-07-17].

BRUSSAARD, L., BEHAN-PELLETIER V. M., BIGNELL D. E. et al. Biodiversity and ecosystem functioning in soil. In: *Ambio: a Journal of Human Environment* 26(8). Swedish: Springer on behalf of Royal Swedish Academy of Sciences, 1997, 563 – 570. [cit. 2020-06-30]. ISSN 0044-7447.

DVOŘÁK, P., CASAMATTA A. D., HAŠLER P., JAHODÁŘOVÁ E., NORWICH A. R. a POULÍČKOVÁ A. Diversity of the Cyanobacteria. Cham: Springer International Publishing. 2017, 3-46 [cit. 2020-06-29]. ISBN 978-3-319-46259-2

DVOŘÁK, P., F. HINDÁK, P. HAŠLER, A. HINDÁKOVÁ a A. POULÍČKOVÁ. Morphological and molecular studies of *Neosynechococcus sphagnicola*, gen. et sp. nov. (Cyanobacteria, Synechococcales). *Phytotaxa*. 2014, 170(1), 024-034 [cit. 2020-07-30]. ISSN 1179-3163.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 2004, 32(5), 1792-1797 [cit. 2020-07-26].

EMMERLING, Ch., SCHLOTTER M., HARTMANN A. a KANDELER E. Functional diversity of soil organisms - A review of recent research activities in Germany. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2002, 165(4), 408-420. [cit. 2020-06-29]. ISSN 1436-8730

FALCONER, I. R. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*. 2019, 35(sup6), 6-11 [cit. 2020-06-29]. ISSN 0031-8884.

HAŠLER, P., DVOŘÁK P., JOHANSEN J. R., KITNER M., ONDŘEJ V. a POULÍČKOVÁ A. Morphological and molecular study of epipellic filamentous genera *Phormidium*,

Microcoleus and Geitlerinema (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). *Fottea*. 2012, 12(2), 341-356 [cit. 2020-07-08]. ISSN 18025439.

HEIDARI, F., J. ZIMA, H. RIAHI a T. HAUER. New simple trichal cyanobacterial taxa isolated from radioactive thermal springs. *Fottea*. 2018, 18(2), 137-149 [cit. 2020-07-30]. ISSN 18025439.

CHATCHAWAN T., KOMÁREK J., STRUNECKÝ O., ŠMARDA J. a PEERAPORNPIHAL Y. *Oxynema*, a New Genus Separated from the Genus *Phormidium* (Cyanophyta), *Cryptogamie, Algologie*. 2012, 33(1), 41-59. ISSN 0181-1568.

JOHANSEN, J. R.; STRUNECKÝ, O.; BOHUNICKÁ, M.; ČAPKOVÁ, K.; RAABOVÁ, L.; DVOŘÁK, P.; and KOMÁREK, J. A revision of the genus *Geitlerinema* and a description of the genus *Anagnostidinema* gen. nov. (Oscillatoriophycidae, Cyanobacteria). 2017, 17(1), 114-126. ISSN 1805-4927.

KAŠTOVSKÝ, J., HAUER, T., GERIŠ, R., CHATTOVÁ, B., JURÁŇ, J., LEPŠOVÁ-SKÁCELOVÁ, O., PITELKOVÁ, P., PUSZTAI, M., ŠKALLOUD, P., ŠŤASTNÝ, J., ČAPKOVÁ, K., BOHUNICKÁ, M. a MÜHLSTEINOVÁ, R. (2018): *Atlas sinic a řas ČR 1*. powerprint, Praha, 384 s. ISBN 978-80-7568-124-9. [cit. 2020-07-08].

KOMÁREK J., KAŠTOVSKÝ J., MAREŠ J. & JOHANSEN J. R. (2014): Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. – *Preslia* 86: 295–335. [cit. 2020-06-30].

KUMAR, S., G. STECHER, M. LI, Ch. KNYAZ, K. TAMURA a F. U. BATTISTUZZI. *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms*. *Molecular Biology and Evolution*. 2018, 35(6), 1547-1549 [cit. 2020-07-26]. ISSN 0737-4038

MARTINS, M. D., J. RIGONATO, S. R. TABOGA a L. H. Z. BRANCO. Proposal of *Ancylothrix* gen. nov., a new genus of Phormidiaceae (Cyanobacteria, Oscillatoriales) based on a polyphasic approach. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016, 66(6), 2396-2405 [cit. 2020-07-30]. ISSN 1466-5026.

MLEJNEK, O., MĚŘÍNSKÝ, Z. a KLÁPŠTĚ J. *Paleolit východních svahů Dražanské vrchoviny*. Brno: Masarykova univerzita, 2015. *Dissertationes archaeologicae Brunenses/Pragensesque*. ISBN 978-80-210-7818-5.

MORRIS, S. J. a BLACKWOOD Ch.B. THE ECOLOGY OF SOIL ORGANISMS. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. Elsevier. 2007, 195-229 [cit. 2020-06-30]. ISBN 9780125468077.

Oddělení Cyanobacteria | [www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz). Vítejte na stránkách fykologické laboratoře PřF JU | [www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz) [online]. Copyright © 2003 [cit. 08.07.2020]. Dostupné z: <http://www.sinicearasy.cz/134/Cyanobacteria>

PAERL, H. W. a PAUL J. V. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. Water Research. 2012, 46(5), 1349-1363 [cit. 2020-06-29]. ISSN 00431354.

PETERS, G. A. a J. C. MEEKS. The Azolla-Anabaena Symbiosis: Basic Biology. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1989, 40(1), 193-210 [cit. 2020-06-29]. ISSN 1040-2519.

QUITT, E. a Geografický ústav ČSAV (Brno). Klimatické oblasti Československa: Climatic regions of Czechoslovakia. Studia geographica. Brno: Geografický ústav ČSAV. 1971, 73 s.

RAI, A. N., E. SÖDERBÄCK a B. BERGMAN. Tansley Review No. 116. New Phytologist. 2000, 147(3), 449-481 [cit. 2020-06-29]. ISSN 0028646X.

RETO, M.a, C. ALMEIDA, J. ROCHA, B. SEPODES a M. FIGUEIRA. Green Tea (*Camellia sinensis*): Hypocholesterolemic Effects in Humans and Anti-Inflammatory Effects in Animals. Food and Nutrition Sciences. 2014, 05(22), 2185-2194 [cit. 2020-06-30]. ISSN 2157-944X.

RIGONATO, J., W. A. GAMA, D. O. ALVARENGA, L. H. Z. BRANCO, F. P. BRANDINI, D. B. GENUÁRIO a M. F. FIORE. *Aliterella atlantica* gen. nov., sp. nov., and *Aliterella antarctica* sp. nov., novel members of coccoid Cyanobacteria. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2016, 66(8), 2853-2861 [cit. 2020-07-30]. ISSN 1466-5026.

SCHOPF, J. W. The Fossil Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage. WHITTON, Brian A. a Malcolm POTTS, ed. The Ecology of Cyanobacteria. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2002, 13-35 [cit. 2020-06-29]. ISBN 0-7923-4735-8.

STAUB R. Research on physiology of nutrients of the planktonic cyanobacterium *Oscillatoria rubescens*. Schweizerische Zeitschrift Für Hydrologie. 1961, 23: 83–198. [cit. 2020-07-17].

STRUNECKÝ, O., J. KOMÁREK, J. JOHANSEN, A. LUKEŠOVÁ, J. ELSTER a A. POST. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria). *Journal of Phycology*. 2013, 49(6), 1167-1180. [cit. 2020-07-08]. ISSN 00223646.

ŠEJNOHOVÁ, L., MARŠÁLEK B. Pohled do mikroskopického světa sinic. Živa: Rozhled v oboru veškeré přírody. Praha: Středisko společných činností AV ČR, v.v.i., Divize Nakladatelství Academia, 2005, 105-108. [cit. 2020-07-16]. ISSN 0044-4812.

Textové části OPRL – Drahanská vrchovina. <http://www.uhul.cz/> [online]. Copyright © 2020. Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem. [cit. 03.07.2020]. Dostupné z: <http://www.uhul.cz/ke-stazeni/informace-o-lese/textove-casti>

VIJAYAKUMAR, S. a M. MENAKHA. Pharmaceutical applications of cyanobacteria—A review. *Journal of Acute Medicine*. 2015, 5(1), 15-23 [cit. 2020-06-29]. ISSN 22115587.

WHITTON, B. A. a M. POTTS. Introduction to the Cyanobacteria. WHITTON, B. A., ed. *Ecology of Cyanobacteria II*. Dordrecht: Springer Netherlands. 2012, 1-13. [cit. 2020-06-29]. ISBN 978-94-007-3854-6.

## 9 Citace obrázků

HAŠLER, P., DVOŘÁK P., JOHANSEN J. R., KITNER M., ONDŘEJ V. a POULÍČKOVA A. Morphological and molecular study of epipelagic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). *Fottea*. 2012, 12(2), 341-356 [cit. 2020-07-08]. ISSN 18025439.

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

Průměrné srážky a denní teploty ve zkoumané oblasti. Podnebí Raková u Konice [online]. Meteoblue ® Weather close to you, © 2006-2020 [cit. 04.07.2020]. Dostupné z: [https://www.meteoblue.com/cs/po%C4%8Das%C3%AD/historyclimate/climatemodelled/rakov%C3%A1-u-konice\\_%C4%8cesko\\_3067059](https://www.meteoblue.com/cs/po%C4%8Das%C3%AD/historyclimate/climatemodelled/rakov%C3%A1-u-konice_%C4%8cesko_3067059)