

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA PEDAGOGICKÁ

CENTRUM BIOLOGIE, GEOVĚD A ENVIGOGIKY

**FENOTYPOVÁ PLASTICITA ZELENÉ ŘASY *DESMODESMUS*
COMMUNIS VYVOLANÁ ZMĚNAMI PH, TEPLoty A
MNOŽSTVÍM ŽIVIN V PROSTŘEDÍ**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Bc. Michaela Bučková

Učitelství pro 2. stupeň ZŠ, obor Bi-VkZ

Vedoucí práce: Mgr. Veronika Kaufnerová

Plzeň, 2013

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

Plzeň, 28. června 2013

.....
Michaela Bučková

Tímto bych chtěla poděkovat všem, kteří mi pomáhali s vypracováním mé diplomové práce.

Největší díky patří vedoucí práce Mgr. Veronice Kaufnerové za přátelské jednání, pomoc při práci, neustále dobrou náladu, ale také za trpělivost a ochotu.

Z celého srdce bych chtěla také poděkovat svojí rodině a příteli, jak za finanční pomoc, tak také oporu a trpělivost při zpracování.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým přátelům a kamarádům za psychickou podporu.

OBSAH

1 ÚVOD	- 6 -
2 LITERÁRNÍ REŠERŠE	- 7 -
2.1. FENOTYPOVÁ PLASTICITA A HISTORIE JEJÍHO VÝZKUMU	- 7 -
2.1.1 <i>Reakční norma</i>	- 9 -
2.1.2 <i>Podněty vyvolávající fenotypovou plasticitu</i>	- 9 -
2.2. FENOTYPOVÁ PLASTICITA A ZKOUMANÉ ORGANISMY	- 10 -
2.2.1 <i>Fenotypová plasticita u řas</i>	- 11 -
2.2.2 <i>Cévnaté rostliny</i>	- 13 -
2.2.3 <i>Živočichové</i>	- 15 -
2.3. <i>DESMODESMUS COMMUNIS</i>	- 18 -
2.3.1 <i>Morfologie Desmodesmus communis</i>	- 18 -
2.3.2 <i>Morfologické vymezení zkoumaného rodu</i>	- 19 -
2.4. ABIOTICKÉ FAKTORY – pH, TEPLOTA A ŽIVINY	- 19 -
2.4.1 <i>Vliv změny pH prostředí na fenotyp</i>	- 19 -
2.4.2 <i>Vliv změny teploty na fenotyp řas</i>	- 21 -
2.4.3 <i>Vliv změny dostupnosti dusíku v prostředí na fenotyp řas</i>	- 22 -
2.5. RŮST ŘAS V ZÁVISLOSTI NA ABIOTICKÝCH PODMÍNKÁCH	- 23 -
3 METODIKA	- 25 -
3.1. ODBĚR VZORKŮ	- 25 -
3.2. IZOLACE A KULTIVACE <i>DESMODESMUS COMMUNIS</i>	- 25 -
3.2.1 <i>Příprava BBM živného media</i>	- 26 -
3.3. ÚPRAVA KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ PRO STANOVENÉ POKUSY	- 26 -
3.3.1 <i>Úprava pH kultivačního média (2N BBM)</i>	- 26 -
3.3.2 <i>Teplota</i>	- 27 -
3.3.3 <i>Využitelné formy dusíku</i>	- 27 -
3.4. MĚŘENÍ ROZMĚRŮ BUNĚK A CENOBIÍ	- 27 -
3.5. HYPOTÉZY PRÁCE	- 28 -
3.5.1 <i>pH</i>	- 29 -
3.5.2 <i>Teplota</i>	- 29 -
3.5.3 <i>Živiny – dusík</i>	- 30 -
4 VÝSLEDKY	- 32 -
4.1. ROZMĚRY BUNĚK A CENOBIÍ DRUHU <i>DESMODESMUS COMMUNIS</i>	- 32 -
4.2. REAKCE ZELENÝCH ŘAS NA ZMĚNU MNOŽSTVÍ DUSÍKU V PROSTŘEDÍ	- 32 -
4.3. REAKCE ZELENÝCH ŘAS NA ZMĚNU TEPLoty V PROSTŘEDÍ	- 35 -
4.4. REAKCE ZELENÝCH ŘAS NA ZMĚNY HODNOT pH V PROSTŘEDÍ	- 39 -
5 DISKUZE	- 41 -
5.1. ŽIVINY – DUSÍK	- 41 -
5.1.1 <i>Vzájemné srovnání kultur pěstovaných ve 2N BBM a 3N BBM</i>	- 42 -
5.1.2 <i>Vzájemné srovnání kultur pěstovaných ve 2N BBM a 0,5N BBM</i>	- 49 -
5.2. TEPLOTA	- 57 -
5.2.1 <i>Vzájemné srovnání kultur pěstovaných 22 °C versus 5 °C</i>	- 57 -
5.3. pH	- 66 -
5.3.1 <i>Vzájemné srovnání kultur pěstovaných při pH 6,9 versus pH 5</i>	- 67 -
5.4. SROVNÁNÍ ZAZNAMENANÝCH FENOTYPŮ S POPSANÝMI DRUHY R. <i>DESMODESMUS</i>	- 73 -
6 ZÁVĚR	- 75 -
7 RESUMÉ	- 77 -
8 LITERATURA	- 78 -

1 Úvod

Pro svoji diplomovou práci jsem si vybrala studium fenotypové plasticity zelené řasy *Desmodesmus communis* HEGEWALD jako reakci na změnu abiotických faktorů (množství dostupných živin, teploty, pH) v životním prostředí. Vzhledem k tomu, že jsem zpracovávala téma z algologie již ve své bakalářské práci, je mi tato tematika velice blízká. Nyní jsem se však zaměřila na sledování fenotypového projevu buněk řas ve vztahu k různým podmínkám v prostředí.

Sladkovodní a terestrické řasy jsou velmi malé organismy, jejichž velikost se obvykle pohybuje v řádech mikrometrů (μm). Laická veřejnost ani netuší, kde všude se s nimi může setkat a čeho všeho jsou tyto, mnohdy okem neviditelné, organismy schopny. V této diplomové práci jsem zkoumala morfologické a fenotypové reakce řas na změny podmínek v jejich životním prostředí. Některé řasy jsou totiž schopny změnit tvar, velikost či objem, nebo dokonce vytvořit ostny v závislosti na různých podmínkách a vlivech prostředí.

1.1 Cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda a jakým způsobem reaguje izolát zelené řasy *Desmodesmus communis* na změny hodnot pH, teploty a množství živin v prostředí. Součástí této práce je potvrdit nebo vyvrátit předem stanovené hypotézy, týkající se možných reakcí těchto řas na různé podmínky prostředí. Ty byly stanoveny před začátkem samotného výzkumu v souladu se známými studii fenotypové plasticity u řas.

2 Literární rešerše

2.1. Fenotypová plasticita a historie jejího výzkumu

Definice fenotypové plasticity vznikaly již velice brzy. Jednu z prvních publikovaných definic fenotypové plasticity vytvořil BRADSHAW (1965). Poté přicházelo mnoho dalších definic tohoto pojmu, kdy nominální hodnota těchto definic byla velice podobná, ale lišily se v několika málo detailech.

K nejstarším patří definice SCHEINERA (1993): plasticitou je dle autora chápána změna fenotypu daného genotypu vlivem prostředí, kdy je jednotlivec ovlivňován okolním prostředím. Ač tato definice patří k těm starším, od novodobých definic se příliš neliší a podstata je obdobná. „*Schopnost organismu rozvíjet určitý genotyp v závislosti na podmínkách prostředí, kdy by tato schopnost měla být obvykle adaptivní*“, tak definoval fenotypovou plasticitu významný americký biolog FUTUYMA (1998) ve svém díle Evoluční biologie. V roce 2001 byla fenotypová plasticita definována také jako schopnost organismu vytvořit různé fenotypy v závislosti na životním prostředí (AGRAWAL 2001).

Velice významnou osobností z hlediska zkoumání fenotypové plasticity je italský biolog Massimo Pigliucci, který sepsal mnoho publikací o fenotypové plasticitě. Jeho definice plasticity je také jedna z nejpoužívanějších a nejcitovanějších ve všech vědeckých publikacích. PIGLIUCCI (2001) definoval fenotypovou plasticitu jako vlastnost daného genotypu produkovat různé fenotypy v reakci na různé podmínky prostředí. Jinou podobu definice najdeme u autorů SCHLICHTING et SMITH (2002), kteří fenotypovou plasticitu definují jako jakoukoli změnu v charakteristice organismu, která je odpovědí na signál životního prostředí.

WEST – EBERHARD (2003) popsala, ve svém díle Vývojová plasticita a evoluce, fenotypovou plasticitu jako na podmínky citlivý rozvoj nebo schopnost organismu reagovat na změny životního prostředí, zejména změnou podoby, stavu, pohybu ale také míry aktivity. Dále pak DEWITT et SCHEINER (2004) definovali fenotypovou plasticitu jako výraz fenotypu v závislosti na podmínkách prostředí nebo také jako tvorbu alternativních fenotypů daného genotypu v závislosti na ekologických podmínkách.

Jednu z nejnovějších definic fenotypové plasticity sepsali FREEMAN et HERRON (2007) ve znění: „Fenotypová plasticita je variace fenotypu daného genotypu vzniklá na základě změn životního prostředí“.

Fenotypová plasticita je tedy schopnost daného genotypu, produkovat různé fenotypy v reakci na různé podmínky životního prostředí. I přes tuto zdánlivě jednoduchou definici, je problematika fenotypové plasticity velice náročná. Při jejím studiu může snadno dojít k záměně dvou zcela odlišných pojmů: genotypu a prostředí. Je těžké určit, do jaké míry byl nově vzniklý genotyp indukován genovými mutacemi nebo vznikl na základě proměnlivých podmínek prostředí. Studium fenotypové plasticity je stejně staré, jako sama myšlenka genotypu, ale získalo dostatečnou pozornost až v první polovině 20. století (PIGLIUCCI 2001).

Jak již bylo řečeno, studium fenotypové plasticity není otázkou posledních let, touto problematikou se vědci aktivně zabývají téměř od roku 1980. V těchto letech vznikala řada zemědělské literatury, která ovšem neřešila, odkud a proč se plasticita bere, ale jejím hlavním zájmem bylo, jak plasticitu odstranit. Díky tomu, že se vědci zaměřili na interakci genotypu a prostředí došlo k masivní produkci vědeckých článků, zabývajících se touto problematikou např.: PETROV et PETROSOV 1980, MATSUDA 1982, TURKINGTON 1983, SCHEINER et GOODNIGHT 1984, VIA 1984, CAVICCHI et al. 1985, MEYER 1987, SCHLICHTING et LEVIN 1988, GREENE 1989, WEIS et GORMAN 1990, HÄDER et HANSEL 1991, SCHMITT et al. 1992, ANDERSSON et WIDEN 1993, DAY et al. 1994, CHEPLICK 1995, WINN 1996, JASIEŃSKI et al. 1997, PIGLIUCCI et BYRD 1998, THOMPSON 1999. Tyto články daly vznik mnoha recenzím: BRADSHOW 1965, SCHLICHTING 1986, SULTAN 1987, WEST-EBERHARD 1989, THOMPSON 1991, SCHEINER 1993, SCHLICHTING et PIGLIUCCI 1995, VIA et al. 1995, PIGLIUCCI 1996. Bylo také sepsáno mnoho článků, které se zaměřily na modelování vývoje fenotypové plasticity: VIA et LANDE 1985, GAVRILETS 1986, STEARNS et KOELLA 1986, LORENZI et al. 1989, DE JONG 1990a,b, VAN TIENDEREN 1991, GOMULKIEWICZ et KIRKPATRICK 1992, GAVRILETS et SCHEINER 1993, BERRIGAN et KOELLA 1994, VAN TIENDEREN et KOELEWIJN 1994, DE JONG 1994, SIBLY 1995, PIGLIUCCI 1996, ZHIVOTOVSKY et al. 1996, SCHEINER 1998; PIGLIUCCI 2001.

Vědci se již po několik let snaží pochopit vztah mezi genotypem a fenotypem. Pochopení tohoto vztahu je zásadní pro fenotypovou plasticitu a myšlenku tzv. „reakční normy“ (PIGLIUCCI 2001).

2.1.1 Reakční norma

Již více než před sto lety navrhl WOLTERECK (1909) myšlenku reakční normy, jako základního nástroje fenotypové plasticity. Tato myšlenka zůstala spát v odlehlých koutech teorie evoluční biologie a teprve nedávno se dostala do centra pozornosti. Jednoduše řečeno, reakční norma je funkce prostředí, ve kterém se daný genotyp nachází a umožňuje produkci fenotypů tímto genotypem (PIGLIUCCI 2001). Jinak také, reakční norma je vymezení hranice každého genotypu, ve které je schopen reagovat na podněty prostředí. Konkrétní variantu určité vlastnosti v rámci této hranice určuje prostředí. Maximální dosažitelnou úroveň jednotlivé vlastnosti určuje právě reakční norma. Ta je dosažena jen pokud vlivy prostředí působí optimálně (PROKOPCOVÁ 2008). Reakční norma tedy srovnává průměrné fenotypové vlastnosti vyjádřené jedním genotypem v rámci dvou nebo více podmínek životního prostředí (DE KROON et al. 2005).

2.1.2 Podněty vyvolávající fenotypovou plasticitu

Fenotypová plasticita může vzniknout na základě podnětů a stimulů životního prostředí. Mezi nejdůležitější faktory životního prostředí patří teplota nebo množství kyslíku, které přímo narušuje homeostázu životního prostředí organismů. Naproti tomu organismy vyvíjejí specifické mechanismy a adaptivně reagují na určité podněty, které předpovídají změnu životního prostředí. Proto jsou podněty považovány za specifické environmentální signály, které předpovídají změnu životního prostředí a vyvolávají adaptivní plasticitu (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

Podněty mohou být pro jedince neškodné (např. fotoperioda), ale mohou mu také škodit (např. toxiny, vysoká teplota). Nicméně hranice mezi těmito dvěma typy podnětů jsou velice neostré. Stejný faktor životního prostředí jako je teplota, může současně zahájit vysoce adaptivní reakce, ale také může vytvořit škodlivé fyziologické narušení jedince (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

Obecně je známo, že se organismy snaží vyvinout mechanismy, které by jim pomohly odhalit a dostatečně reagovat na podněty a signály, které přesně předpoví změny v životním prostředí (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

Některé plastické odpovědi mohou být vysoce specifické a reagují na konkrétní podněty nebo reakce. Například některé rostliny vlastní receptory, reagující na bílkoviny,

tím zjišťují přítomnost jejich přirozeného nepřítele v prostředí. Tuto reakci lze dobře sledovat na obilí, kdy reaguje na sliny mladých housenek nikoli starých, plastová odpověď se tedy vytvoří pouze jako reakce na přítomnost mladých housenek. Také stromy jilmu produkují těkavé látky atraktivní pro vaječné parazitoidy, v reakci na kladení vajíček býložravých brouků. V návaznosti na požáry reagují kobylky na změněnou kvalitu světla a adaptivně mění svoje zbarvení až téměř na černou barvu. Jiné druhy kobylek nereagují na intenzitu osvětlení, ale změni barvu v reakci na teplotu, vlhkost, dostupnost potravy (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009). U některých mšic je křídlatá forma hmyzu vyvolána jakoukoli kombinací fotoperiody, výživy nebo přítomností přirozeného nepřítele.

Učení je obecná forma plasticity, která může reagovat na různé podmínky životního prostředí a produkuje velké množství plastických odpovědí. Podobně změny v růstu a vývoji jsou plastické a souvisí s mnoha faktory životního prostředí (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

2.2 Fenotypová plasticita a zkoumané organismy

Již dříve bylo vědci dokázáno, že mnoho organismů v přírodě je schopno reagovat na změny podmínek prostředí. Nejvíce zkoumanou skupinou organismů jsou v této oblasti rostliny. V zorném úhlu studia fenotypové plasticity zůstávají také bezobratlí živočichové. Jejich reakce na podmínky prostředí jsou neustále podrobovány výzkumům. Ani řasy nezůstaly tohoto tématu ušetřeny a v posledních letech je prováděno stále více výzkumů na možné plastické reakce řas (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

Různá prostředí přímo vyvolávají změny v chování jedince, v morfologii a fyziologii. Tyto změny se souhrnně nazývají fenotypovou plasticitou a mohou být rozhodující pro přežití těchto jedinců v nově obydleném prostředí. Jedinci, kteří vykazují plastickou odpověď, mají vyšší životní fitness než jedinci, kteří tuto odpověď nemají. Ta se vyvinula v důsledku proměnlivých podmínek a zkušeností z rodného prostředí (PRICE et al. 2003).

Fenotypová plasticita je v přírodě hojně rozšířena. Rozdíly mezi blízce příbuznými druhy a populacemi mají často jak genetické, tak plastické komponenty (PRICE et al. 2003).

2.2.1 Fenotypová plasticita u řas

Fenotypová plasticita byla prokázána u mnoha zástupců nepříbuzných skupin řas neohledě na cesty jejich evolučního vývoje (JOJMSTONE 1978, FRANCKE 1982, LEWIS et al. 1987, OYIEKE 1994, NEUSTUPA et HODAČ 2005, LUO et al. 2006, STEWART 2006, NEUSTUPA et al. 2008, VANORMELINGEN et al. 2008, ENRÍQUEZ et al. 2009, ŠKALOUDOVÁ 2009, ČERNÁ et NEUSTUPA 2010, NĚMCOVÁ et al. 2010, POCOOCK et al. 2011, SOLARI et al. 2011). Celosvětový nárůst počtu článků zabývajících se studiem změny fenotypu řasových organismů byl v období osmdesátých a devadesátých let min. století (JOJMSTONE 1978, FRANCKE 1982, LEWIS et al. 1987, SANGREN 1988, EGAN et TRAINOR 1990, EGAN et TRAINOR 1991, LÄMPERT et al. 1994, OYIEKE 1994, TRAINOR 1998, MORALES et TRAINOR 1999). Tyto publikace prezentují zejména změny fenotypů za změn konkrétních vnějších podmínek v laboratořích. Většinou se jedná o změny jednoho z mnoha faktorů (sledování účinku 1 druhu predátora, nedostatek konkrétních látek v živném médiu nebo naopak nadbytek nežádoucích látek v prostředí). JOJMSTONE (1978) sledoval fenotypovou plasticitu řasy rodu *Draparnaldia* v reakci na změnu délky světlé části dne, světelné intenzity a teploty, EGAN et TRAINOR (1990) studovali fenotypový projev v rámci reakce *S. communis* ve vztahu k *S. komarekii*, LÄMPERT et al. (1994) zkoumali fenotypový projev zelené řasy *Scenedemus acutus* v reakci na přítomnost predátora *Daphnia* v prostředí. Bylo zjištěno, že druh *Scenedemus obliquus* reaguje na změnu metabolismu uhlíku, jak uvádí LIU et al. (2010), fenotypová plasticita vytvořena na základě změny teploty v prostředí byla prozkoumána u druhu *Micrasterias rotata* autory NEUSTUPA et al. (2008), AKTAN et al. (2009) se zabývali zkoumáním fenotypové plasticity jako odpovědi řas na změnu dynamiky živin v prostředí vodní nádrže v Itálii, PEÑA-CASTRO et al. (2004) popsali fenotypovou plasticitu u druhu *Scenedesmus incrassatulus* v reakci na přítomnost těžkých kovů v prostředí. Komplexní studium změn vícero podmínek najednou lze v laboratoři provádět bohužel jen v omezené míře (zkřížené gradienty), a tak dosud neznáme fenotypové reakce organismů na široké spektrum změn vnějšího prostředí, které jsou v přírodě zcela normální.

Jednou z nejprozkoumanějších skupin řas z hlediska této problematiky jsou zelené řasy (zástupci Chlorophyta) a to patrně proto, že se jedná o organismy běžně se vyskytující ve sladkovodních biotopech. Studiem fenotypu těchto řas, zejména pak studiem rodu *Desmodesmus* (pozn. všichni zástupci, kteří jsou dnes považováni za druhy rodu *Scenedesmus*, *Desmodesmus* a *Acutodesmus* byli v dřívějších publikacích označovány

souhrnně jako *Scenedesmus*, v té době ještě nebyla známa fylogeneze tohoto rodu) se zabývali zejména algologové Trainor, Egan, Morales, Lüring, ale i mnoho dalších (např. JOJMSTONE 1978, EGAN et TRAINOR 1990, EGAN et TRAINOR 1991, TRAINOR 1998, MORALES et TRAINOR 1999, LÜRLING 2002, ZACHLEDER et al. 2002, LÜRLING 2003, PEÑA-CASTRO et al. 2004, AKTAN et al. 2009, LIU et al. 2010, POCOCK et al. 2011).

Jak uvádějí PEÑA-CASTRO et al. (2004) rod *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) je schopen plastické reakce na nejrůznější podmínky prostředí, např. dostupnost živin (EGAN et TRAINOR 1989), přítomnost splaškových polutantů (TRAINOR et al. 1976), dále reaguje změnou fenotypu na tlak pastvy a na teplotu životního prostředí (LÜRLING et VAN DONK 1999), také salinita prostředí vyvolává změny fenotypu (RUSELL et VELTKAMP 1996). Tato schopnost rozvíjet fenotypovou plasticitu jako odpověď na měnící se podmínky prostředí jim umožnila vyskytovat se v klidných sladkovodních nádržích (TRAINOR 1998), tak v antropogenně narušených ekosystémech (TRAINOR et al. 1976, WHITTON 1980, MONTEIRO et al. 1995).

Fenotypová plasticita vyvolaná u *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) může být také odpovědí na stres z výskytu těžkých kovů v prostředí. Například ve studii ekologického vlivu důlních odpadních vod na sladkovodní populace řas MONTEIRO et al. (1995) zjistili, že *S. armatus* byl dominantní druh, dokud se nezvýšila koncentrace těžkých kovů v prostředí, poté byl výrazně potlačen růst dalších řas. WHITTON (1980) také zjistil, že na místech znečištěných zinkem a dalšími těžkými kovy byly dominantní jednobuněčné formy rodu *Scenedesmus* (*Desmodesmus*). Těžké kovy jsou znečišťující látky, kterým je nyní věnována velká pozornost, protože dochází k jejich masivnímu uvolňování do prostředí zejména z odvětví průmyslu (FARGAŠOVÁ et al. 1999, VOLTERRA et CONTI 2000).

Dle LÜRLINGA (2003) se zástupci rodu *Scenedesmus*, resp. *Desmodesmus* vyznačují vysokou mírou flexibility, což jim umožňuje kosmopolitní rozšíření a přežití i velmi nepříznivých podmínek prostředí. Zejména právě podmínky prostředí určují, které fenotypy budou vyprodukovány. Predační tlak ze strany zooplanktonů je jedna z nejvíce podněcujících podmínek ke tvorbě nového, pro dané podmínky vhodného, fenotypu. Morfologická odpověď je v tomto případě tvořena v závislosti na přítomnosti chemických látek produkovaných právě zooplanktonem. Jako reakci na nebezpečí predace vytváří *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) více-buněčná cenobia, nejčastěji 8-buněčná, která navíc zvětšují své rozměry. Zmenší se poměr mezi velikostí cenobia a velikostí těla predátora, tím je tedy zvýšena odolnost této řasy proti spásání. Další výzkumy prokázaly, že indukovaná tvorba více-buněčných kolonií je typická spíše pro rod *Acutodesmus* (dříve

Scenedesmus), který nemá ostny, než pro rod *Desmodesmus* s ostny. V důsledku tvorby více-buněčných cenobií, dochází u těchto organismů k poklesu ve vodním sloupci více, než při vytváření 1-buněčných cenobií nebo cenobií s více ostny. Vzrostla tedy rychlost poklesu ve vodním sloupci se zvětšující se velikostí cenobia. *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) vykazuje tedy vyšší sedimentační činnost v přítomnosti zooplanktonu, než v jeho nepřítomnosti.

Fenotypová plasticita není omezena pouze na skupinu Scenedesmaceae, byla pozorována také u mnoha jiných zástupců fytoplanktonu. Fenotypovou plasticitu u Chrysophytes zkoumal SANDGREN (1988), zelené řasy, sinice a rozsivky podrobili výzkumu TRAINOR et al. (1971). Ani skupina Dinophyta nebyla zkoumáním fenotypové plasticity ušetřena. U rodu *Ceratium* došlo v závislosti na změně podmínek prostředí ke změně délky a počtu trnů, není však jasné, zda tato odpověď vznikla jako reakce na přítomnost pasoucího se zooplanktonu nebo zcela jiného faktoru v prostředí (HUTCHINSON 1967). Pasoucí se prvoci způsobili, že jednobuněčná řasa rodu *Chlorella* se přeskupila do 8-buněčné kolonie (BORAAS et al. 1998), zatímco *Chlamydomonas* vytvářela palmelová stádia jako reakci na přítomnost zooplanktonu v prostředí (MIKHEEVA et KRUCHKOVA 1980). Zdá se, že fenomén tvorby kolonií v důsledku zvýšeného tlaku pastvy nepostihuje pouze rod *Scenedesmus* (*Desmodesmus*), kolonie tvoří také rod *Coelastrum* (LÜRLING 1999, VAN DONK et al. 1999) a *Actinastrum* (YASUMOTO et al. 2000).

JOJNSTONE (1978) napsal jeden z nejstarších vědeckých článků, zabývající se fenotypovou plasticitou řas a to zejména řasou rodu *Draparnaldia*, patřící do skupiny Chlorophyta. Autoři popsali morfologické odezvy na změny těchto podmínek: délka světlé části dne, intenzita osvětlení, ale také na jeden z nejzákladnějších limitujících faktorů a to teplotu. Také výraz fenotypu byl těmito faktory výrazně pozměněn.

Díky genetickému sledování přírodních populací a jejich reakcí na změnu prostředí existuje stále více důkazů, že fenotypová plasticita není jen otázkou řasové flóry, ale nachází se i u mnoha jiných organismů (kap. 2.2.2, 2.2.3, VANORMELINGEN et al. 2008).

2.2.2 Cévnaté rostliny

Nejvíce je problematika fenotypové plasticity zkoumána u rostlin. Rostliny jsou pro tyto studie vhodným materiálem, protože umí rychle a snadno vytvořit replikáty genotypu a mohou být pěstovány v různých experimentálních podmínkách (SULTAN 2003). Studium

fenotypové plasticity u rostlin se zabývali např. SULTAN 1995, SULTAN 2003, DE KROON et al. 2005.

Fenotypovou plasticitu rodu *Piper* zkoumali NICOTRA et al. (1997), autoři ZANGERL et BAZZAZ (1983) zkoumali fenotypový projev rodu *Polygonum*, fenotypovou plasticitou škarďy střešní (*Crepis tectorum*) se zabývali ANDERSSON et SHAW (1994).

Rostliny vyjadřují svoji plasticitu zejména změnou velikosti a struktury orgánů. Příkladem může být změna velikosti listů v různých světelných podmínkách. Když nastane nevyhnutelné snížení intenzity osvětlení, dojde k redukci počtu listů a rostlina se adaptuje na nízkou intenzitu osvětlení tak, že zbylé listy zvětší co nejvíce svoji plochu, aby zvětšily plochu pro příjem světla. Zajímavý jev byl objeven u dvou druhů rodu *Polygonum*, které se lišily v odpovědi na intenzitu osvětlení. Druh *Polygonum hydropiper* byl v přírodě vytlačen ze stinných míst a díky tomu došlo ke zmenšení velikosti listů až o 40% ve srovnání s druhy rostoucími na plném osvětlení. Na rozdíl druh *Polygonum persicaria* udržoval stále stejnou velikost listů při různé intenzitě osvětlení (SULTAN 2003).

DE KROON et al. (2005) se domnívají, že růst a vývoj, ale také ekologické nároky rostlin a s tím spojená fenotypová plasticita probíhají na úrovni modulu (= repetitivní funkční celky vyšších rostlin vzniklé během ontogenetického vývoje; funkční podjednotka rostlin). Velikost rostlin je podle těchto autorů zásadní vlastnost, která určuje pravděpodobnost a průměrný stupeň změny v biotických a abiotických podmínkách v různorodém prostředí. Fenotypová plasticita se v tomto případě projevuje na úrovni modulu, podjednotky rostliny.

Tvar rostliny je v ranných fázích života zcela odlišný od tvaru dospělé rostliny. Vnitřní, přeprogramované změny mezi částmi rostlinného těla jsou nazývány allometrické změny. Ty se vyskytují zejména v nepřítomnosti variace životního prostředí. Allometrické variace jsou tedy dynamickým evolučním znakem, který se vyvinul pod tlakem přirozeného výběru, neměl by proto být považován za součást fenotypové plasticity (DE KROON et al. 2005).

Nadzemní a podzemní moduly rostlin mohou reagovat plasticky na změny podmínek, se kterými se setkávají. Z toho vyplývá, že moduly vnímají podmínky životního prostředí, ty zpracovávají a vytvoří příslušnou indukovanou odpověď. Příkladem modulární plasticity může být stimulace větvení kořene rostliny v místě s vysokým obsahem živin (DE KROON et al. 2005).

Lokalizované modulární reakce byly pozorovány také u stromů. Na dobře osluněných větvích se tvořily větší a delší pupeny než na větvích, které byly na

zastíněných místech. To má za následek známé asymetrie korun stromů na okrajích lesa. Větve stromů, které jsou zastíněné, mohou vyvinout listy s morfologickými a fyziologickými vlastnostmi, které zlepšují zachycování světla a průběh fotosyntézy za špatných světelných podmínek (DE KROON et al. 2005).

DE KROON et al. (2005) ve svém výzkumu zjistili souvislosti mezi růstem stonku či kmene a intenzitou červeného spektra viditelného světla. Rostlina *Trifolium repens* byla pěstována ve stínu a poté byla osvětlena malými diodami s červeným světlem. Protože rostlina žila v zastíněném prostředí, vytvořila si dlouhé řapíky, aby mohla lépe absorbovat sluneční záření. Po provedení tohoto pokusu, došlo ke zkrácení délky řapíku (DE KROON et al. 2005).

2.2.3 Živočichové

Fenotypová plasticita se samozřejmě zkoumá také u živočichů, jak bezobratlých (např. BRAKEFIELD et REITSMA 1991, CHIPPENDALE et al. 1997, AYRINHAC et al. 2004), tak také obratlovců (např. PRICE et al. 2003, NUSSEY et al. 2005, DAVERAT et al. 2006, CHARMANTIER et al. 2008). V průběhu minulých let vznikalo nespočet studií týkajících se fenotypové plasticity různých skupin živočichů. Příkladem mohou být výzkumy fenotypové plasticity u obojživelníků (DENVER 1997, RELYEA 2002), plazů (FORD et SEIGEL 1989, JORDAN et SNELL 2002), ptáků (PRICE et al. 2003), mořských a sladkovodních bezobratlých, hmyzu (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009), ale také savců (HOPPELER et FLÜCK 2002, RAMM et STOCKLEY 2008). Vědci potvrdili, že plastické reakce vzniklé v různých prostředích, mohou vytvořit velmi specifické vývojové, fyziologické a reprodukční úpravy, které zvýhodňují organismus v daném prostředí (SULTAN 2003).

Fenotypovou plasticitou u hmyzu se zabývali WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN (2009). Fenotypová plasticita se neprojevuje pouze změnou morfologie, v rámci plastické reakce může dojít ke změně jak biochemie, fyziologie, chování, tak také životního cyklu. Proto tak různé jevy jako reakce na tepelný šok, diapauza, aklimatizace, imunologie, učení a imprinting, homeostáza, hybridizace, mechanismy obrany vyvolané přítomností dravce, ale také životním prostředím vyvolané transkripce a translace jsou nyní často analyzovány z hlediska fenotypové plasticity (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009). Změna životního prostředí obvykle nezpůsobí jednu změnu, ale několik změn. Mění soubory závislých ale i nezávislých znaků, které se pohybují na různých úrovních biologické organizace.

Příkladem nám může být polyfenismus kobylek. Fenotypy jedinců žijících osamoceně se liší od fenotypů jedinců společenských v chování, morfologii, výběru potravy, barvě těla, exprese genu, výživě a fyziologii, metabolismu, imunitních reakcích, produkci feromonů, reprodukci a také v dlouhověkosti. Vývojově evolučním problémem je integrace více plasticit do fungujícího jedince s vysokým fitness (WHITMAN et ANANTHAKRISHNAN 2009).

Ve studii autorů PRICE et al. (2003) se setkáváme s plastickými rysy u ptáků, které se vyvinuly na základě genetické asimilace. V této studii bylo zjištěno, že karotenoidy mají odpovědnost za červené, oranžové a žluté zbarvení ptáků. Karotenoidy byly také nalezeny v sítnicích těchto živočichů. Strava nezahrnující tyto látky pak vedla k jejich nepřítomnosti v sítnici oka, jak bylo prokázáno a studováno u mladých křepelek. Karotenoidy si ptáci neumí sami syntetizovat, proto jsou odkázáni na jejich příjem s potravou. Strava bez karotenoidů vede u těchto živočichů k nevýraznému zbarvení peří. Kvantitativní rozdíly ve zbarvení peří souvisely se stravovacím režimem. Ti, kteří s potravou přijímali více karotenoidů, byli pestřeji zbarveni na rozdíl od těch, kteří přijímali karotenoidů málo. Přítomnost karotenoidů v potravě a jejich následné ukládání v peří vedlo ke genetické evoluci. Proto jsou karotenoidy u mnoha druhů modifikovány ihned po požití a díky tomu dochází k přeměně žlutého zbarvení na červené. Chovatelské pokusy a analýzy hybridů prokázaly genetické rozdíly mezi druhy a populacemi v množství, barvě a umístění karotenoidů uložených v peří (PRICE et al. 2003).

U několika druhů ptáků je karotenoid rhodoxantin ukládán přímo do peří bez biochemické modifikace. Brkoslav cedrový (*Bombycilla cedrorum*) je charakteristický světle žlutě zbarvenou špičkou ocásku, nicméně v posledních 30ti letech bylo v Severní Americe objeveno mnoho jedinců, kteří mají špičky ocásků zbarveny oranžově v důsledku požití bobulí zimolézu *Lonicera morrowi*, který obsahuje již zmíněný rhodoxantin. Byly zde nalezeny i 3 jiné rody (vrabec - *Passer*, bramborníček - *Saxicola*, pěnice - *Sylvia*), u kterých bylo žluté zbarvení peří postupně nahrazováno oranžovou barvou (PRICE et al. 2003).

Je ovšem nutné určit, do jaké míry je změna zbarvení u ptáků řízena plasticitou (požitím různých druhů a různého množství karotenoidů) nebo je dáno genetickou mutací. Existuje mnoho druhů ptáků, kteří požili karotenoidy, ale barva jejich peří se nezměnila. Je tedy možné, že toto zbarvení je výsledkem mutace. Nutno poznamenat, že mnoho milionů kanárků a andulek bylo uvrženo do zajetí a červeně zbarvené peří, založené na mutaci,

nebylo nikdy zaznamenáno u obou druhů, i když blízcí příbuzní obou druhů mají červenou barvu ve svém peří (PRICE et al. 2003).

Autoři RAMM et STOCKLEY (2008) se ve své studii zabývali plasticitou savčích spermií v závislosti na sociálních zkušenostech. Teorie konkurence spermií předpovídá, že samci by měli uvážlivě investovat svůj ejakulát v závislosti na promiskuitě samice. Samci by si tedy měli vybírat co nejméně promiskuitní partnerky, aby jejich ejakulát nepřišel na zmar. Také se předpokládá, že tam, kde je vysoká a častá konkurence spermií, dojde ke zvýšení investic do produkce spermií a s tím souvisí také zvětšení varlat. Tato teorie konkurence spermií byla zkoumána na myši domácí (*Mus musculus*), která je pro tento pokus ideálním modelovým organismem. Samec myši domácí je pravidelně vystaven riziku konkurence spermií, protože samice rády a často vyhledávají samce k exteriorní kopulaci. Bylo zjištěno, že investice do ejakulátu jsou vyšší než investování do pářícího úsilí. Teorie také předpokládá, že zvýšení investic do produkce spermií bude probíhat na úkor vlastností, které fungují při získávání partnerky ke kopulaci. Jedna z vlastností u myši domácí je pachové značení, je to velmi nákladné chování, které přispívá k úspěchu samce při páření, ale také při obraně svého teritoria. Pokud tedy dojde ke kompromisu mezi investicemi do ejakulátu a pářícím chováním, pak by se dala očekávat negativní korelace mezi investicí do výroby spermií a investicí do pachového značení. Výzkumem bylo prokázáno, že samci v teritoriu s vysokou kopulační konkurencí investují do produkce spermií více než samci, kde je malá kopulační konkurence (RAMM et STOCKLEY 2008).

DENVER (1997) se zabýval fenotypovou plasticitou pulců obojživelníků. Obojživelníci vykazují mezi sebou značné rozdíly jak mezidruhově, tak také uvnitř jednoho druhu. Centrální charakteristikou životního cyklu obojživelníků je trvání larválního období a načasování metamorfózy. Toto načasování je ovlivněno geneticky, ale také environmentálními faktory. V konečném důsledku je vyjádřeno prostřednictvím změn v činnosti několika žláz s vnitřní sekrecí. Druhy, žijící v lokalitách, které jsou stálé a předvídatelné, mají obecně delší larvální období, zatímco druhy, které obývají prostředí s nepředvídatelnými a měnícími se podmínkami, mají toto období kratší, tedy mají rychlejší růst a vývoj. Plasticita např. umožňuje druhům chovaným v pouštních podmínkách individuální prodloužení larválního období a tím dosažení maximální velikosti potřebné pro metamorfózu. Ne vždy je tato vlastnost výhodná. Autor se v této studii zaměřuje zejména na biochemické a fyziologické mechanismy, které zprostředkovávají reakci organismu na podmínky prostředí (DENVER 1997).

Různé kombinace biotických a abiotických faktorů ovlivňují nejen vývoj obojživelníků, ale také jejich růst. Mezi biotické faktory patří dostupnost živin, vnitrodruhové vztahy, konkurence, kvalita potravy, ale také predace. Abiotické faktory působící na obojživelníky jsou zejména teplota, fotoperioda a množství vody. Účinky faktorů životního prostředí se mohou lišit v závislosti na konkrétní fázi růstu a vývoje organismu. Např. stejný faktor může působit inhibičně na růst organismu, pokud se nachází v larválním období nebo může stimulovat rozvoj, pokud je přítomen v průběhu prometamorfózy (fáze růstu, kdy se začíná tvořit štítná žláza; DENVER 1997).

Výzkumy dokázaly, že obojživelníci žijící v nepředvídatelných podmínkách dokáží urychlit průběh metamorfózy v důsledku vysychání rybníka. Zatímco druhy žijící ve stálých podmínkách tuto schopnost neovládají. Konkrétně, *Bufo americanus*, chovaný v dočasných rybnících, byl schopen urychlit metamorfózu v reakci na vysoušení rybníka. Kdežto *Rana utricularia*, chovaný v trvalejších vodách, nebyl schopen metamorfózu urychlit. Pravděpodobně se tato vlastnost vyvinula během ontogeneze v závislosti na přírodním výběru, ale je to pouze domněnka (DENVER 1997).

Další podmínka, která může vyvolat fenotypovou plasticitu u obojživelníků je teplota vody. Teplota prostředí pozitivně koreluje s rychlostí metamorfózy a růstu. V polních pokusech NEWMAN (1989) zjistil, že teplota mělkých rybníků byla při vysoušení zvýšena o několik stupňů oproti hlubšímu rybníku. Pokud je tedy rychlejší metamorfóza vyvolána vysycháním rybníka, je tedy poháněna i zvýšenou teplotou rybníka. Pak může být fenotypová plasticita důsledkem nevyhnutelného, neadaptivního účinku životního prostředí spíše než výsledkem přírodního výběru (DENVER 1997).

2.3 *Desmodesmus communis*

2.3.1 Morfologie *Desmodesmus communis*

Mezi hlavní diagnostické znaky tohoto druhu patří 4-ostná cenobia, absence žeber a slizu, ale také je zde odlišná vnější vrstva buněčné stěny mezi póly buněk, jak uvádí HINDÁK (1990). Je to jeden z nejčastěji se vyskytujících druhů rodů *Desmodesmus* v eutrofických vodách. Často, avšak nesprávně, bývá zaměňován s 4-ostnými druhy *D. intermedius*, *D. armatus* a *D. spinosus*. Vzhledem k tomu, že tyto druhy netvoří žádné další apikální trny ani žebra, rozdíly jsou pouze ve velikosti a tvaru buněk (HINDÁK 1990).

2.3.2 Morfologické vymezení zkoumaného rodu

Stavba rodu *Scenedesmus* a *Desmodesmus*

Rod *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) je druhově velice bohatý, uvádí se, že zahrnuje až 150 druhů (KAŠTOVSKÝ et HAUER 2003). Je bohatě zastoupen zejména v planktonu sladkovodních nádrží.

Buňky jsou válcovité, na koncích bývají zaoblené, oválné nebo vřetenovité. Jsou uspořádány do cenobií. Při pohledu shora, jsou cenobia prohnuta do oblouku. Počet buněk v cenobiu závisí na rychlosti dělení, nejčastěji je cenobium tvořeno 4 buňkami, zřídka i 2-, 8, 16 ale i 32 buňkami. Buněčná stěna tohoto druhu se pod světelným mikroskopem jeví jako hladká, někdy s podélnými žebry, drobnými trny nebo různě dlouhými ostny na vnějších buňkách. Autoři FRIEDL et HEGEWALD (1999) přepracovali taxonomii čeledi *Scenedesmaceae* a oddělili nový druh *Desmodesmus*. Rod *Desmodesmus* a *Scenedesmus* se liší zejména přítomností ostnů, ale také tvarem jednotlivých buněk (KAŠTOVSKÝ et HAUER 2003).

2.4 Abiotické faktory – pH, teplota a živiny

Životní prostředí je charakterizováno chemickými a fyzikálními parametry, ty se souhrnně označují jako abiotická složka prostředí. Složka, kterou představují samotné organismy, se nazývá biotická. Tyto dvě složky dohromady tvoří ekosystém (AMBROŽOVÁ 2004).

2.4.1 Vliv změny pH prostředí na fenotyp

Většina kultivovaných řas snáší pH od 7 do 9. Optimální pH se pro ně pohybuje v rozmezí od 8,2–8,7. Při pěstování řasových kultur v laboratorních podmínkách může ovšem dojít ke kompletnímu kolapsu pěstované kultury a to v důsledku narušení buněčných procesů. Kultura pak nebude schopna udržet přijatelné pH (LAVENS et SORGELOOS 1996).

Je vědecky ověřeno, že zelené řasy reagují plastickou odpovědí na změny hodnot pH v prostředí. ČERNÁ et NEUSTUPA (2010) zkoumali morfologické variace spojené se změnou pH u dvou acidofilních druhů Desmidiales (Zygnematophyceae, Charophyta). U obou druhů byl zaznamenán významný vliv na morfologii buněk v důsledku změny pH.

Autoři podrobili studované kmeny krásivek změnám pH v rozsahu od 3,5 do 6,5. U zkoumaného druhu *Staurastrum hirsutum* byly změny související s pH doprovázeny zmenšením velikosti buněk, kultivovaných při vyšším pH (kolem 6–6,5; ČERNÁ et NEUSTUPA 2010). Pro tento druh je uváděno optimální pH pro život právě kolem hodnoty 6,5 (LENZENWEGER 1996, JOHN et WILLIAMSON 2009). V rámci pokusu tedy nedošlo k vystavení zmíněného druhu extrémně nízkým hodnotám pH. Druhý zkoumaný druh *Euastrum binale* var. *gutwinskii* nezměnil velikost buněk, ale došlo ke změně tvaru buněk a došlo také k prohlubování zářezů mezi buňkami v podmínkách s vyšším pH (ČERNÁ et NEUSTUPA 2010). Tato varieta je, co se týče nároků na prostředí, acidofilní (JOHN et WILLIAMSON 2009). To znamená, že vytvořené podmínky nebyly pro tento druh extrémní. Velmi kyselé pH může být pro buňky řas škodlivé, protože oslabuje vodíkové vazby mezi celulózními pláty v buněčných stěnách. Kromě toho mohou buňky podléhat stresu, ve snaze udržet neutrální pH v cytoplazmě buňky, protože dochází k průniku iontů H^+ přes jejich plazmatickou membránu. Proto bylo navrženo několik fyziologických adaptivních mechanismů řas žijících v podmínkách s nízkým pH: snaha řas udržovat pozitivní membránový potenciál a pozitivní náboj mimo plazmatickou membránu, dále tendence snižovat propustnost protonů přes membránu a udržet tak jejich aktivní odčerpávání. Obecně platí, že buňky řas by měly mít nízké poměry S/V (S/V ratio; kde S = buněčný povrch, V = objem buňky), aby minimalizovaly stres, vyplývající z pronikání iontů H^+ do buňky. Některé kmeny řas dokáží zjednodušit svoji morfologii v následující generaci, aby se adaptivně manipulovalo s S/V poměrem. Krásivky mají morfologicky poměrně komplikované buňky a oproti ostatním mají poměrně vysoký S/V poměr. Tato vlastnost však byla považována za výhodnou v oligotrofních vodách, kdy došlo k maximalizaci plochy pro čerpání živin. Nicméně mnoho krásivek obývá oligotrofní vody s nízkým pH a tak je jejich S/V poměr malý, zatímco krásivky obývající lokality s vyšším pH mají S/V poměr vyšší. V extrémně kyselém prostředí může pH sloužit jako faktor proměnlivého tvaru buněk. Druhy s nízkým S/V poměrem mohou mít vyšší fitness v podmínkách s nižším pH, protože se snižuje jejich povrch a dochází tak ke snížené expozici v kyselém prostředí. Nicméně, pH přírodních lokalit se liší z důvodu různých biotických a abiotických procesů. Fotosyntéza a dýchání řas a dalších fotosyntetických organismů způsobuje denní změny pH vody, dostupnosti kyslíku a uhlíku. Během dýchání se CO_2 uvolňuje do vody, což způsobuje pokles pH. Naopak, během fotosyntézy je CO_2 využíván fotosyntetickými organismy, a pH se zvyšuje. Hodnoty pH se však mohou lišit i v rámci

jedné lokality. Závísí to na vlhkosti a provzdušňovacích režimech, ale také na typu mikrohabitatu (ČERNÁ et NEUSTUPA 2010).

2.4.2 Vliv změny teploty na fenotyp řas

Základním abiotickým faktorem, který ovlivňuje veškerý život na Zemi, je teplota. Teplota může stimulovat nebo inhibovat růst, měnit morfologii organismu, jeho metabolismus. Teplotní rozmezí, které organismus nepoškozuje a umožňuje mu optimální růst, se nazývá biokinetické rozmezí teplot (AMBROŽOVÁ 2004).

Optimální teploty pro kultury fytoplanktonu jsou mezi 20 a 24 °C, může se to ovšem lišit v závislosti na složení kultivačního média a typu kmene, který je kultivován. Kultivované druhy řas nejčastěji tolerují teploty pohybující se v rozmezí 16–27 °C. Při teplotách nižších než 16 °C dojde ke zpomalení růstu, zatímco vyšší teploty kolem 35 °C jsou pro mnoho druhů smrtelné. V případě potřeby je možno řasové kultury chladit proudem vody, který pustíme po povrchu kultivační nádoby. V jiném případě můžeme kulturu ochladit vzduchem z chladících klimatizačních zařízení (EWINGS 2010).

Již několika autory bylo prokázáno, že vlivem teploty dochází ke snížení velikosti těla, také v důsledku fenotypové plasticity. ATKINSON et al. (2003) navrhli model, založený na analýze literárních dat pokrývajících širokou škálu vodních organismů. Bylo zjištěno, že dojde přibližně k 2,5% snížení velikosti buňky při navýšení teploty o 1 °C. To, že díky teplotě dochází ke snižování velikosti buněk, bylo vysvětlováno buď vyššími životními nároky v populacích, nebo adaptací na usnadnění příjmu živin z prostředí, jejichž dostupnost je se zvýšenou teplotou snížena.

Jak uvádí POLÁČKOVÁ (2010), mnoho výzkumů z poslední doby dokumentuje vliv velikosti druhu na jeho fyziologii a ekologii. Protože právě teplota reguluje velikost buněk, ovlivňuje tím jak fyziologické procesy, tak ekologii druhu. Čím větší je velikost buněk, tím více dochází k poklesu metabolismu na jednotku objemu. Toto pravidlo se označuje jako „metabolická teorie“ a s největší pravděpodobností platí pro všechny organismy na Zemi (BRAUER et al. 2009). S rychlostí metabolismu a velikostí buňky je také spojena růstová rychlost. Ta s rostoucí velikostí buňky klesá (FINKEL et al. 2010). Větší buňky jsou také znevýhodněny svým nižším S/V poměrem při příjmu potravy. Svůj tvar mohou upravit protažením nebo vytvořením záhybů či výběžků (LICHTMAN et al. 2010).

Často je zkoumána fenotypová plasticita řas v závislosti na teplotě prostředí. Např. studie NEUSTUPY et al. (2008) byla zaměřena na fenotypovou plasticitu druhu *Micrasterias rotata* v závislosti na změně teploty v prostředí. Tyto buňky byly pěstovány v laboratorních podmínkách při teplotách 10, 15, 20, 25 a 30 °C. Již po dvou týdnech došlo k tvarovým změnám v důsledku rostoucí teploty prostředí. U buněk, kultivovaných při nižších teplotách, došlo k prodloužení apikálního laloku, hlubokým zářezům mezi laloky a lalůčky a také v isthmu. Naopak s rostoucí teplotou docházelo ke zkracování apikálního laloku, zmenšování zářezů mezi laloky a lalůčky. Když došlo k porovnání kultivovaných a přírodních buněk, bylo zjištěno, že přírodní vzorky jsou nejvíce podobné buňkám pěstovaným při 10–15 °C. Největší roli v morfogenezi hrají zejména noční a ranní teploty, kdy dochází k dělení buněk. Při teplotách kolem 30 °C bylo nalezeno několik teratogenních forem v důsledku stresu z vysoké teploty.

Teplotou vyvolaná fenotypová plasticita byla prozkoumána u *Scenedesmus (Desmodesmus) communis*, který byl považován za poměrně stálý a neměnný druh. Organismus byl ve studii TRAINORA (1992) kultivován při teplotě 10 a 22 °C, kdy při teplotě 10 °C bylo tempo růstu výrazně nižší. Při této teplotě tvořil *S. communis* 8-buněčná cenobia s více trny spíše než typická 4-buněčná cenobia se čtyřmi trny.

2.4.3 Vliv změny dostupnosti dusíku v prostředí na fenotyp řas

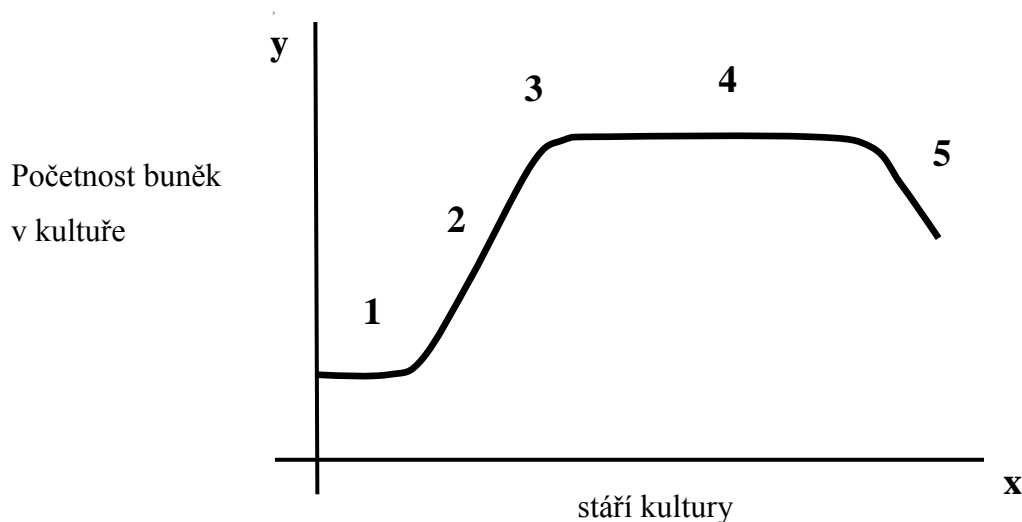
Spolu s uhlíkem, vodíkem a kyslíkem patří právě dusík k hlavním biogenním prvkům. Dusík se nachází ve velkém množství v atmosféře (79%), avšak většina živých organismů ho nedokáže v této formě využít. Organismy obecně využívají dusík buď v podobě anorganické (amoniak, dusitany, dusičnany) nebo organické (močovina). Proto, aby organismy mohly fixovat vzdušný dusík, musejí obsahovat enzym – nitrogenázu (LELLÁK et KUBÍČEK 1992). Dusík je velice důležitý prvek pro všechny živé organismy. Je základní součástí protoplazmy buněk, ale je také nedílnou součástí všech bílkovin a DNA (SHAW et al. 2003).

Živiny jsou pro řasovou flóru velice důležité, nejen že limitují její růst, ale mohou být leckdy odpovědné za plastické odpovědi v reakci na nadbytek/nedostatek těchto živin v prostředí. Živiny ovlivňují nejen četnost fytoplanktonu a jeho růst, ale i morfologickou strukturu (AKTAN et al. 2009).

2.5 Růst řas v závislosti na abiotických podmínkách

Všechny organismy na Zemi vykazují růst – tj. zvětšování velikosti těla v závislosti na podmínkách prostředí. Některé organismy jsou velice malé a pouhým okem neviditelné, jako např. řasy a bakterie, na druhé straně existují organismy, které dosahují obrovských rozměrů, jako např. slon, gorila, ale také člověk, je ve srovnání s velikostí řas, gigantickým tvorem.

Řasové kultury však vykazují charakteristický typ růstu, který lze znázornit tzv. růstovou křivkou (Obr. 1). Růstová křivka řas je tvořena 5ti fázemi, které znázorňují růst řasové populace a její následné odumírání. V každé fázi dochází ke zcela jiným procesům a podle této křivky, lze velmi dobře poznat, v jaké růstové fázi se kultura právě nachází. Ne vždy organismus projde všemi pěti fázemi, někdy může určitá fáze chybět nebo je tak krátká, že ji nestihneme zaregistrovat (FOGG et THAKE 1987).



Obr. 1: Křivka růstu jednobuněčné řasy v kultuře s omezeným objemem = **růstová křivka**: (1) Lag fáze; (2) exponenciální fáze; (3) fáze zpomaleného růstu; (4) stacionární fáze; (5) fáze zrychleného odumírání (smrt). Upraveno podle ROSYPALA et al. (2003).

Na Obr. 1 je znázorněna již zmíněná růstová křivka, která byla popsána u řas. Dělí se do pěti fází, které trvají různě dlouhou dobu, v závislosti na vnějších podmínkách prostředí a zdatnosti jedinců řasové populace. Zvýšením počtu buněk v naočkované kultuře dochází k charakteristickému průběhu růstu, který je znázorněn na Obr. 1. Tento proces má

5 fázi, první fáze se nazývá tzv. **Lag fáze** nebo jinak také fáze indukční, v této fázi není zřejmé zvýšení počtu buněk. Buňky se adaptují na nové prostředí, staré buňky odumírají a nové se prozatím netvoří. Druhá fáze se nazývá **exponenciální**, v této fázi dochází k větší produkci jedinců, kteří jsou schopni růstu – míra skutečného růstu tedy zrychluje. V této fázi tedy dochází k rychlému nárůstu počtu buněk, množství odumírajících buněk je v této fázi minimální. Třetí fáze je **fáze zpomaleného růstu** buněk. Protože nerovnovážený růst nemůže pokračovat do nekonečna, dříve nebo později, musí dojít ke zpomalení exponenciální fáze a tím ke zpomalení růstu kultury. Nastává tedy fáze, kdy růst poklesá nebo dokonce zcela mizí. Může to být způsobeno několika faktory: a) vyčerpáním živin, b) rychlostí dodávek oxidu uhličitého nebo kyslíku, c) střídáním pH kultivačního média, d) snížením světelné intenzity samozastíněním, e) autoinhibicí. Čtvrtá fáze je **fáze stacionární**, v této fázi zůstávají mobilní jedinci víceméně stabilní. Počet nově vzniklých buněk se dostal na stejnou hranici jako počet odumírajících buněk. Poslední fáze růstu je tzv. **fáze odumírání** (smrti). Odumírání buněk převažuje nad nově vzniklými buňkami a celá kultura pomalu odumírá (FOGG et THAKE 1987).

3 Metodika

3.1 Odběr vzorků

Vzorky fytoplanktonu byly odebrány v říjnu 2011 v Kamenném rybníce ležícím na území Plzně. Vzorky byly odebírány do plastových lahvíček pomocí planktonní sítě s velikostí ok 40 μm . Následně byly vzorky uloženy do klimatizačního boxu v algologické laboratoři v Centru biologie, geověd a envigogiky, Západočeské univerzity v Plzni.

3.2 Izolace a kultivace *Desmodesmus communis*

Postupů, jak izolovat kmeny sinic a řas, je mnoho, záleží na velikosti a vlastnostech izolovaných kmenů (KŘÍSA et PRÁŠIL 1989). Principem izolace je zachycení jediné buňky/cenobia, které se bude dále množit nepohlavní cestou ve vhodném živném médiu. Tento jedinec musí být viditelně vitální a schopný dalšího rozmnožování nepohlavní cestou (tvorba autospor či jiných typů nepohlavních buněk). Pouze takto bude vytvořena jednodruhovná, geneticky čistá linie.

Odebrané přírodní vzorky byly pozorovány pod světelným mikroskopem Olympus CX 31. Vybraný jedinec (druhu *Desmodesmus communis*) byl zachycen sterilní skleněnou mikropipetou a následně přenášen přes 7 kapek (nasáváním z jedné kapky a vypouštěním do následující kapky) sterilizovaného živného média, dokud nedošlo k jeho odizolování od ostatních zástupců fytoplanktonu a jiných možných kontaminant. Následně byl tento jedinec vložen do zkumavky obsahující sterilní kultivační médium 2N BBM (Příloha 1), vhodné pro kultivaci zelených řas. Tato zkumavka byla překryta zátkou z alobalu, aby nedošlo ke kontaminaci během růstu kultury. Zástupci byli vyizolováni v listopadu 2011. Zkumavky s jednotlivými zástupci byly vystaveny dennímu světlu a kultivovány při pokojové teplotě (cca 20–24 °C). Kultura *Desmodesmus communis* byla udržována pravidelným přeočkováváním do nových živných médií a byla zařazena do sbírky sinic a řas Oddělení biologie, CBG, FPE v Plzni (Příloha 5, Obr. A).

K determinaci odebraných vzorků byla použita určovací literatura KOMÁREK et FOTT (1983), HINDÁK (1990), JOHN et WILLIAMSON (2009), JOHN et al. (2011).

3.2.1 Příprava BBM živného média

Řasové kultury byly pěstovány v živném 2N BBM médiu (Příloha 3, Obr. B). Toto médium je svým složením vhodné pro kultivaci jak terestrických, tak vodních druhů řas. BBM = Bold's Basal/Bristol Medium, jinak také Boldovo médium (BBM) má charakteristické složení, které musí být striktně dodrženo při výrobě v laboratorních podmínkách. Boldovo médium bylo připravováno dle postupu (ŠKALOUDEK 2010, Příloha 1). Kultivační média byla sterilizována v parním sterilizátoru Tuttnauer 3850M po dobu 60 min., za tlaku 1,7 bar a při teplotě 121 °C. Sterilizované roztoky byly uskladněny v klimatizačním boxu.

3.3 Úprava kultivačních médií pro stanovené pokusy

3.3.1 Úprava pH kultivačního média (2N BBM)

Již dříve bylo prokázáno, že zelené řasy reagují plastickou odpovědí na změny pH v prostředí (kap. 2.4.1). V této studii bylo zjišťováno, jak reaguje monospecifická řasová kultura na posun pH kultivačního média do kyselé oblasti (simulace změny výkyvu pH prostředí v laboratorních podmínkách) na kmeni *Desmodesmus communis*. Tento druh běžně rostoucí za podmínek mírně kyselých až (a to především) alkalických (HINDÁK 1990).

K požadovaným úpravám pH živného média pro ověření hypotézy v kapitole 3.5.1 bylo využito základní BBM médium (postup přípravy viz kap. 3.2.1 a Příloha 1). Kyselé pH se v laboratorních podmínkách připravuje přidáním 25% kyseliny chlorovodíkové, naopak zásadité pH vytvoříme přidáním hydroxidu sodného do živného média (ČERNÁ et NEUSTUPA 2010). Pro účely pokusu bylo vytvořeno médium s hodnotou pH $5 \pm 0,1$.

Ke snížení pH byla použita zředěná 35% kyselina chlorovodíková. Ředění provedeno v poměru 1:10 s destilovanou vodou. Výsledkem bylo vytvoření 3,18% kyseliny chlorovodíkové. Pokud byl přikapáváním HCl do základního 2N BBM vytvořen roztok o větší kyselosti, než bylo požadováno, upravila se kyselost přidáním roztoku NaOH (na 100 ml destilované vody bylo přidáno 0,06 g NaOH).

Do takto upraveného kultivačního média byla poté naočkována kultura zelené řasy *Desmodesmus communis*. Pokusy s pH byly prováděny v lednu 2013.

3.3.2 Teplota

Teplota hraje významnou roli při tvorbě plastické odpovědi. S rostoucí teplotou velikost buněk klesá a také dochází k rozpadu cenobií (NEUSTUPA et al. 2008).

Pro studium závislosti fenotypové plasticity na teplotě byly kmeny podrobeny kultivaci za běžných teplot v laboratoři (kolem 22 °C) a kultivaci v chladných podmínkách v klimatizačním boxu (teplota kolem 5 °C). Kultury zelených řas byly očkované do předem připravených Erlenmeyerových baněk, které obsahovaly běžné kultivační médium 2N BBM, které vhodně nahrazuje podmínky pro růst řas.

Kmen *Desmodesmus communis* byl naočkován do celkem 4 Erlenmeyerových baněk (2 opakování při každé sledované teplotě). Poté byly dvě baňky uloženy do klimatizačního boxu, kde byla naměřena teplota 5 °C, stejně tak byly dvě baňky ponechány v laboratorních podmínkách, vystaveny slunečnímu svitu při teplotě kolem 22 °C. Pozorování kultur v různých teplotních podmínkách probíhalo v červnu a červenci 2012.

3.3.3 Využitelné formy dusíku

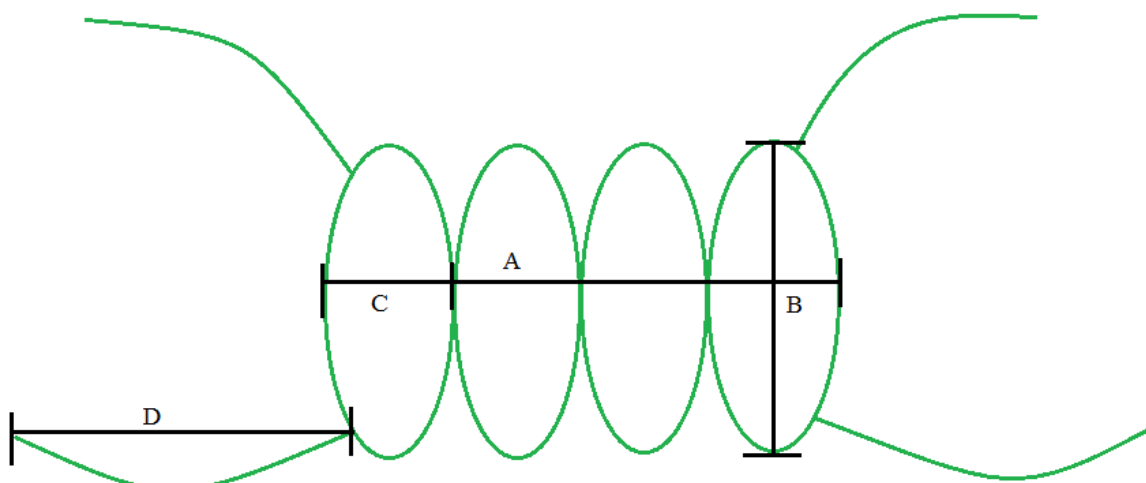
Kultury byly pěstovány ve standardním kultivačním médiu 2N BBM, které obsahovalo dvojnásobné množství NaNO_3 (20 ml) oproti původnímu návodu podle ŠKALOUDA (2010), Příloha 1. Pro vytvoření různých podmínek s menším a větším množstvím dusíku, bylo připraveno médium 0,5N BBM, do kterého bylo přidáno pouze 5 ml NaNO_3 . V těchto podmínkách se předpokládá nedostatek využitelných forem dusíku pro optimální růst řas. Dále bylo vytvořeno kultivační médium s vyšším obsahem dusíku (3N BBM médium) s 30 ml NaNO_3 . V tomto médiu se předpokládá nadbytek využitelných forem dusíku pro růst a život řas (Příloha 3, Obr. A).

Kultura druhu *Desmodesmus communis* byla naočkována celkem do 4 Erlenmeyerových baněk. Vždy byla kultura naočkována do jedné baňky s množstvím dusíku 0,5N BBM + opakování, taktéž pro 3N BBM + opakování. Kultivace kmenů v těchto podmínkách probíhala v dubnu a květnu 2012.

3.4 Měření rozměrů buněk a cenobií

Pěstované kultury byly pravidelně pozorovány světelným mikroskopem Olympus BX 51 a snímky byly pořizovány digitální kamerou Olympus DP 72.

Na cenobiích *Desmodesmus communis* byla měřena šířka a délka buněk, délka cenobia a délka ostnů, Obr. 2. Vždy bylo vyfotografováno a změřeno 30 náhodně vybraných cenobií. Naměřené hodnoty byly pro daný rozměr zprůměrnovány (pro každou kontrolu samostatně) a jsou uvedeny v Příloze 2, Tab. A–J. Z těchto dat byly pro přehlednost vytvořeny grafy (Obr. 6, 7, 9, 10, 13), které ukazují, zda se rozměry cenobia měnily kontinuálně, nebo docházelo ke změně pouze některé části cenobia.



Obr. 2: Sledované rozměry u druhu *Desmodesmus communis*; A – délka cenobia, B – délka buňky, C – šířka buňky, D – délka jednoho ostnu

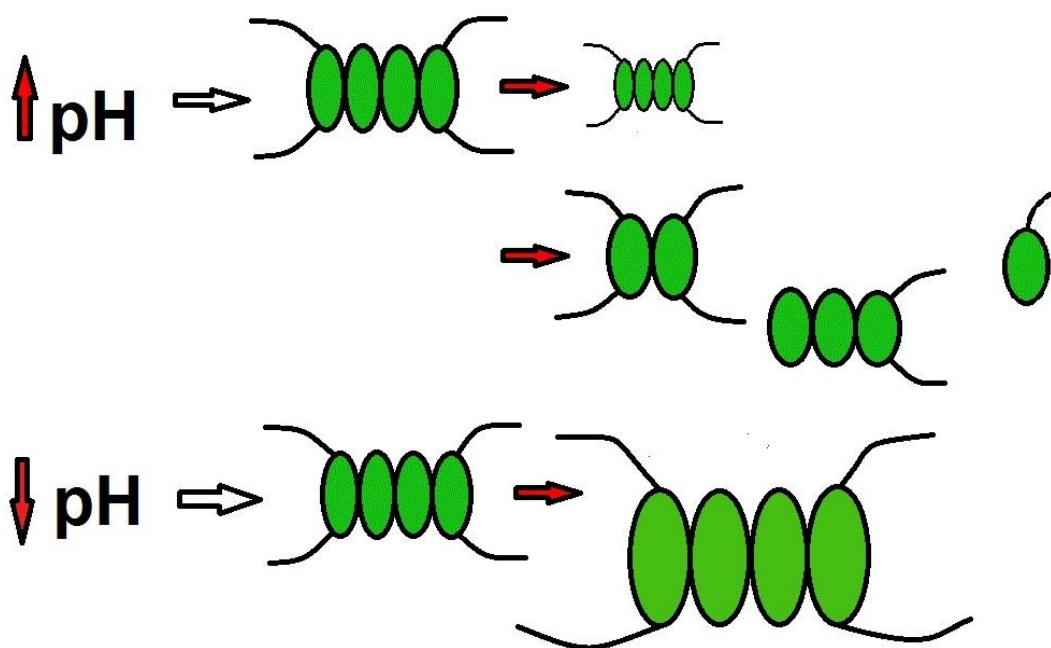
3.5 Hypotézy práce

Tato studie se zabývá vznikem plastických odpovědí buněk v závislosti na změně abiotických podmínek – pH, teploty, množství dusíku v prostředí. Existuje řada vědeckých článků, zabývajících se právě touto problematikou. Vliv teploty na plastickou odpověď zelených řas zkoumal NEUSTUPA et al. (2008) a také TRAINOR (1992). S pH související změny zkoumali ČERNÁ et NEUSTUPA (2010). Závislost fenotypové plasticity na množství živin popsali RHEE (1978) a AKTAN et al. (2009). Na základě těchto studií, byly stanoveny hypotézy pro laboratorní pokusy.

3.5.1 pH

Při vyšším pH v prostředí dochází u některých druhů ke snižování velikosti buněk. Někdy nedojde ke změně velikosti, ale může dojít ke změně tvaru buňky (Obr. 3, ČERNÁ et NEUSTUPA 2010).

Hypotéza: s rostoucím pH se zmenšuje velikost buněk. Naopak při nižších hodnotách pH se zvětšuje velikost buněk. Při změně pH může dojít ke změně tvaru buňky.



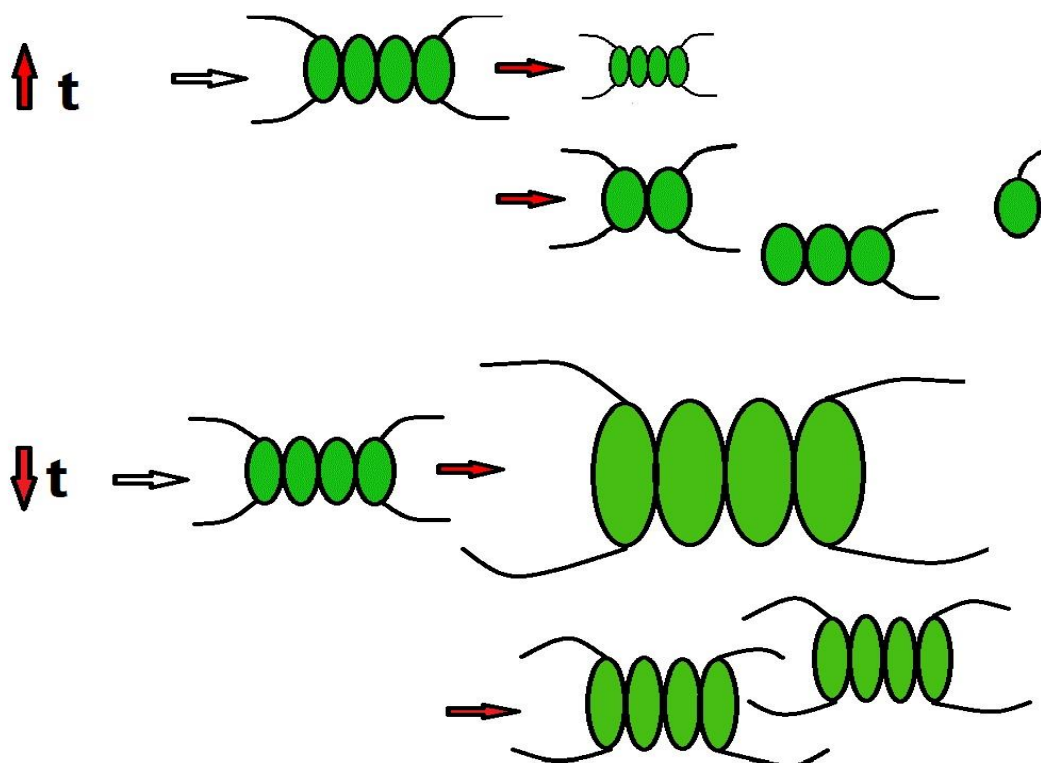
Obr. 3: Schématické znázornění stanovené hypotézy - pH

3.5.2 Teplota

Dle ATKINSONA (2003) dochází ke snížení velikosti buněk o 2,5 % při navýšení teploty o 1 °C. Z toho plyne, že nízké až subletální teploty zvětšují velikost buněk.

TRAINOR (1992) uvádí, že při teplotě kolem 10 °C dochází k tvorbě spíše více-buněčných cenobií s více trny, než 4-buněčných cenobií se 4 trny.

Hypotéza: při vyšší teplotě dojde ke zmenšování velikosti buněk a zmenšování velikosti cenobií nebo dokonce dojde k jejich rozpadu. Naopak při nízkých teplotách se zvětšuje velikost buněk a hojně se tvoří cenobia (Obr. 4).



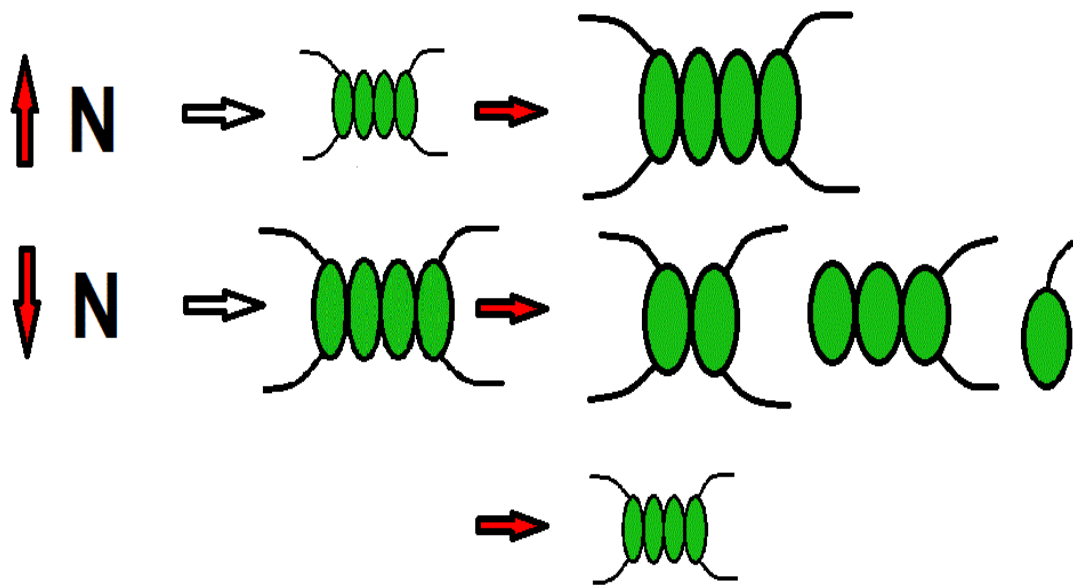
Obr. 4: Schématické znázornění stanovené hypotézy – teplota

3.5.3 Živiny – dusík

Řada studií prokázala, že pro optimální růst řas ve vodních nádržích je důležitý poměr mezi dusíkem a fosforem. Ten by měl být v ideálním případě 16:1 (N:P). Oba tyto prvky jsou tedy pro růst řas limitujícím faktorem (SHAW et al. 2003). Autoři IRWIN et al. (2006) popsali model omezení velikosti buněk v závislosti na klesání ve vodním sloupci. Bylo prokázáno, že řasy zvětšují svůj rozměr při nadbytku živin do té doby, dokud nedojde k znevýhodnění ve vodním sloupci a poklesu pod hranici eufotické zóny (IRWIN et al. 2006).

Na základě těchto informací byla stanovena hypotéza, vycházející z obecně platných zákonů přírody, ale také ověřených fakt, že řasy potřebují ke svému růstu zejména dusík.

Hypotéza: s rostoucím množstvím využitelných forem dusíku v prostředí se velikost buněk zvětšuje a tvoří se cenobia. S malým množstvím využitelných forem dusíku v prostředí se velikost buněk zmenšuje a dochází k rozpadu cenobia z důvodu nedostatku živin v prostředí (Obr. 5).



Obr. 5: Schématické znázornění stanovené hypotézy – dusík

4 Výsledky

4.1 Rozměry buněk a cenobií druhu *Desmodesmus communis*

Tato studie je zaměřena na fenotypovou plasticitu zeleně řasy *Desmodesmus communis*. Nejčastějším projevem fenotypové plasticity u zelených řas je tvorba nebo naopak rozpad cenobií, tvorba nebo zánik ostnů, ale také samozřejmě zvětšování nebo zmenšování rozměrů jednotlivých buněk. Pro zřetelnost a přehlednost byly rozměry buněk/cenobií zaznamenány do tabulek (Příloha 2, Tab. A–J). Pro zpřehlednění výsledků výzkumu byly vytvořeny grafy (Obr. 6, 7, 9, 10, 13), ze kterých je zřejmé, zda se zvětšovala či zmenšovala pouze určitá část cenobia nebo docházelo ke změně celého cenobia kontinuálně.

Základní kultura *Desmodesmus communis* kultivovaná za laboratorních podmínek (viz. kapitoly 3.3.1, 3.3.2 a 3.3.3) měla rozměry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách):

- a) 2-buněčná cenobia – A: 11,31–13,52 μm , B: 13,15–14,92 μm , C: 5,37–6,77 μm
a D: 9,81–10,8 μm ;
- b) 4-buněčná cenobia – A: 20,68–22,33 μm , B: 13,00–14,68 μm , C: 4,68–5,10 μm
a D: 11,00–11,44 μm

Fenotyp nebyl extrémně odlišný od popisu v kapitole 2.3.2. Tvořila se 2-, 4- či 8-buněčná cenobia se 4 apikálními ostny (Příloha 5, Obr. B, C, D) bez dalších struktur (žeber či slizu) viditelných ve světelném mikroskopu.

4.2 Reakce zelených řas na změnu množství dusíku v prostředí

Kultura byla pravidelně pozorována po 48 – 72 hodinách. Viditelné změny v morfologii a fenotypu se objevily po 7 dnech od naočkování kultury do média s různým množstvím využitelných forem dusíku v prostředí.

Z provedených měření je zřejmé, že buňky i cenobia se zvětšovaly kontinuálně, nedocházelo tedy ke zvětšování pouze některé části cenobia. Na Obr. 6 jsou zobrazeny hodnoty jednotlivých měřených rozměrů buněk/cenobií v médiu se sníženým množstvím využitelných forem dusíku v prostředí (0,5N BBM). V porovnání s Obr. 7, kde jsou naopak

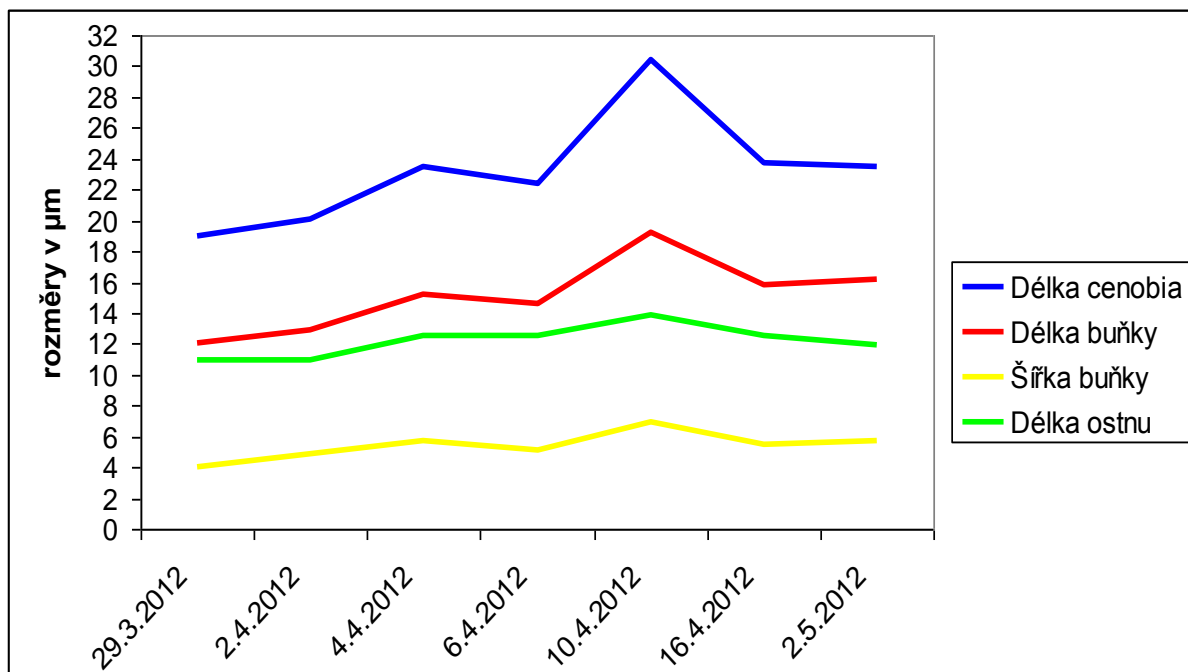
tyto hodnoty měřeny v médiu s vyšším množstvím využitelných forem dusíku v prostředí (3N BBM), je viditelné, že ke zvětšování rozměrů cenobia docházelo více v médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku (0,5N BBM).

V médiu 0,5N BBM došlo ke zvětšování velikosti buněk a cenobií, více se zde tvořila 8-buněčná cenobia a také co se týče fenoplasticity, došlo v tomto médiu ke vzniku více morfotypů (Obr. 8) ve srovnání s médiem 3N BBM, kde projev fenotypové plasticity nebyl zřetelný. Také ve srovnání s 2N BBM, jako základním kultivačním médiem, jevílo 0,5N BBM změny ve velikosti buněk/cenobií, ale také fenotypu.

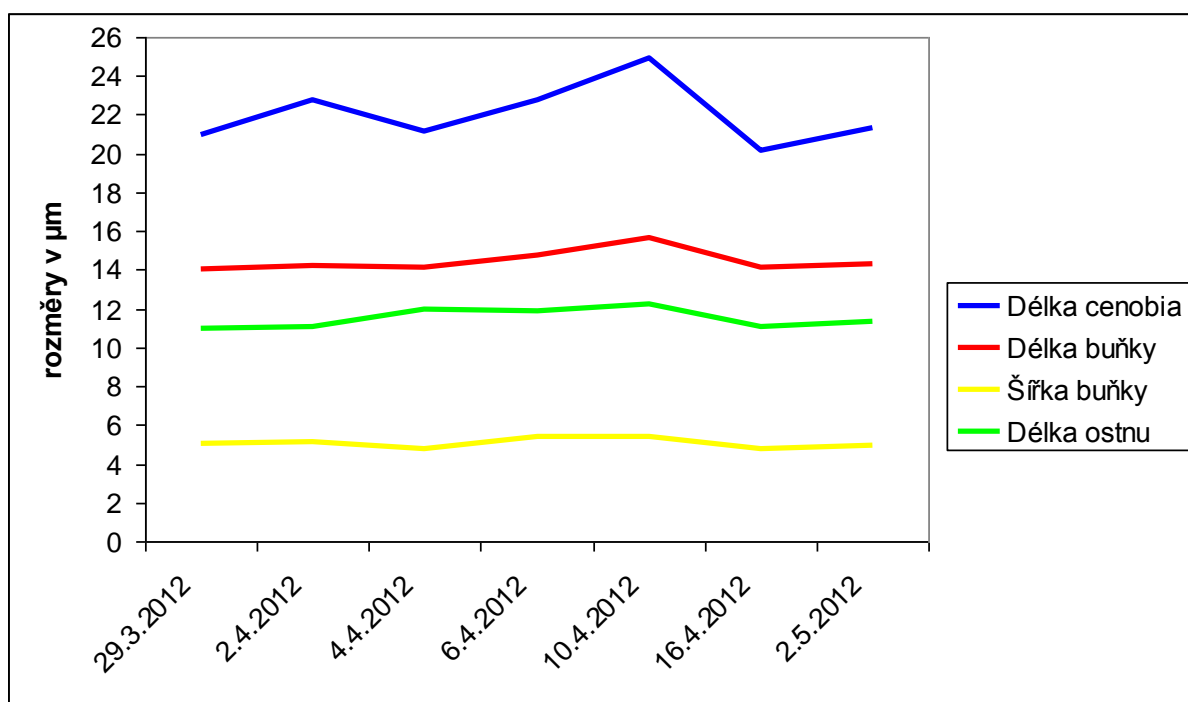
V médiu 3N BBM došlo díky zvýšenému množství využitelných forem dusíku ke změnám velikosti buněk/cenobií, ke změně fenotypu nikoli.

Při tomto pokusu docházelo k tvorbě 2-, 4- i 8-buněčných cenobií, jak je zřejmé z grafů (Příloha 4, Obr. A, B). Jak v médiu 3N BBM, tak také v médiu 0,5N BBM dominovala 4-buněčná cenobia. Podíl 2- a 8-buněčných cenobií se v obou médiích zřetelně lišil. V 3N BBM se 2-buněčná cenobia vyskytovala nejvíce 29.3.2012 a 6.4.2012, kdy poměr těchto cenobií v médiu dosahoval téměř 40 %. Tvorba 8-buněčných cenobií ve 3N BBM byla pouze sporadická, v datech 10.4.2012 a 16.4.2012 byla tato cenobia zastoupena ve vzorku maximálním podílem 3–5 %.

Zatímco v médiu 0,5N BBM se 2-buněčná cenobia vyskytovala v menší míře, ve dni 2.4.2012 (po 6 dnech kultivace) dosáhla tato cenobia nejvyššího poměru zastoupení ve vzorku a to činilo zhruba 30 %, v ostatních dnech byl výskyt těchto cenobií nižší. 8-buněčných cenobií bylo v tomto médiu tvořeno více, než tomu bylo v médiu 3N BBM. Tato 8-buněčná cenobia byla nalezena celkem při 5 kontrolách ze 7 provedených. Poměrné zastoupení ve vzorku se lišilo od 3 % dne 2.5.2012 (pozn. po 36 dnech kultivace) do zhruba 20 % dne 10.4.2012 (pozn. po 14 dnech kultivace).

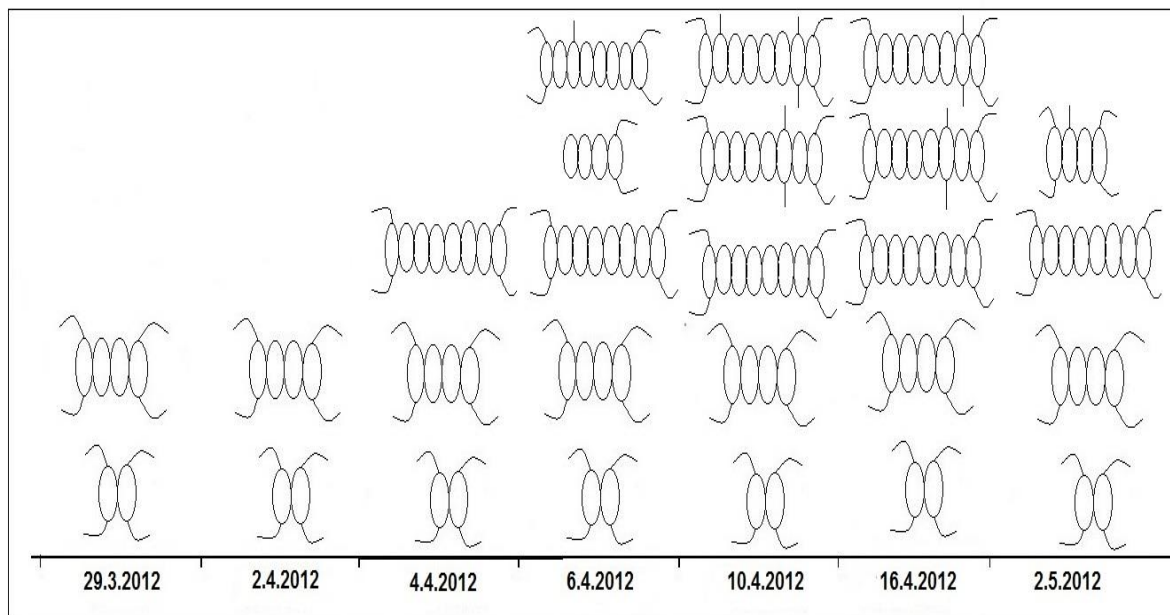


Obr. 6: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* (4-buněčné cenobium) kultivovaného za sníženého obsahu využitelného dusíku v prostředí (0,5N BBM). Na ose x jsou vynesena data pozorování změn v kultuře. K naočkování kultury k pokusu došlo 27.3.2012



Obr. 7: Rozměry *Desmodesmus communis* (4-buněčné cenobium) kultivovaného v živném médiu s nadbytkem využitelných forem dusíku (3N BBM). Na ose x jsou vynesena data pozorování změn v kultuře. K naočkování kultury k pokusu došlo 27.3.2012

Obr. 8 znázorňuje morfotypy, které byly vytvořeny v reakci na změnu množství využitelného dusíku v prostředí. Ke změně fenotypu a rozměrů buněk/cenobia (Příloha 2, Tab. B, D, E) docházelo zejména v 0,5N BBM.



Obr. 8: Morfologické projevy druhu *Desmodesmus communis* vytvořené v reakci na různé množství využitelného dusíku v prostředí (zejména 0,5N BBM), kdy byla pozorována změna fenotypu po 10 dnech od naočkování kultury, při jednotlivých kontrolách bylo nalezeno více fenotypů najednou

4.3 Reakce zelených řas na změnu teploty v prostředí

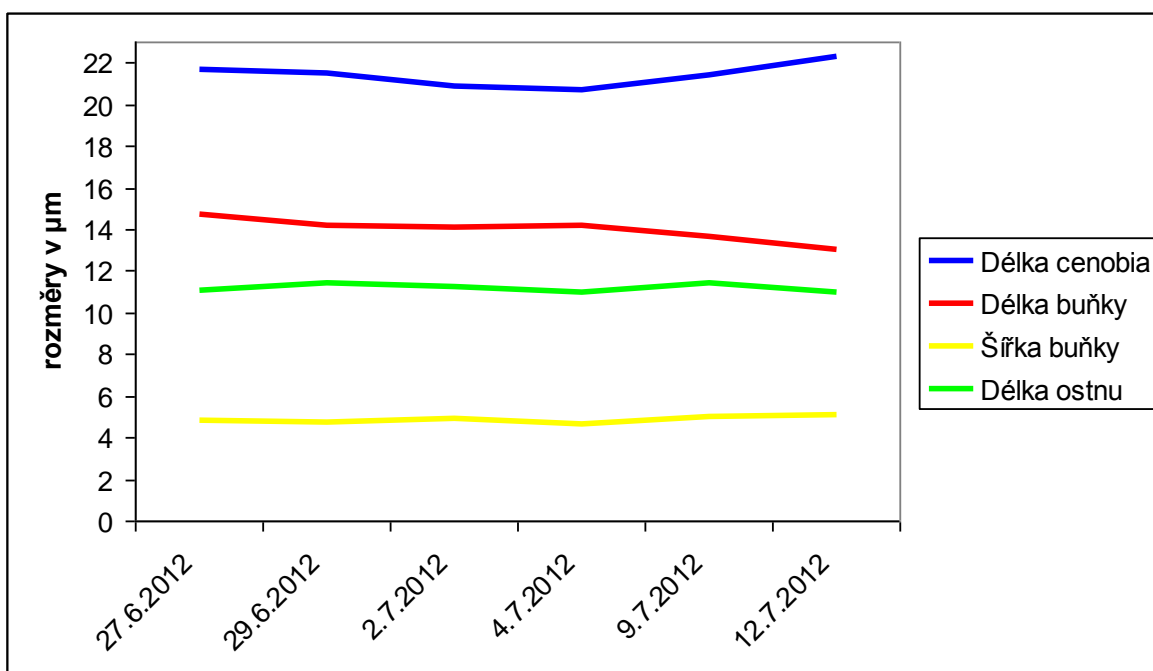
Kultura byla pravidelně pozorována po 48 – 72 hodinách. Viditelné změny v morfologii a fenotypu se objevily již po 2 dnech od naočkování kultury do médií s různými teplotami prostředí.

Reakce izolátu *Desmodesmus communis* na sníženou teplotu prostředí nebyly příliš výrazné. Velikost se zvětšovala nebo zmenšovala kontinuálně, obdobně jako tomu bylo v prostředí s různým množstvím využitelného dusíku. Z Obr. 9 a 10 je patrné, že větších rozměrů dosáhly buňky a cenobia v klimatizačním boxu, tedy v prostředí se sníženou teplotou prostředí (5 °C). Tyto rozdíly ovšem nebyly nijak zásadní. V datech mezi 4.7. a 9.7.2012 (po 10 - 15 dnech kultivace) došlo v médiu, které bylo vystaveno běžným kultivačním teplotám (22 °C) k mírnému zmenšování velikosti buněk v cenobiu, naopak

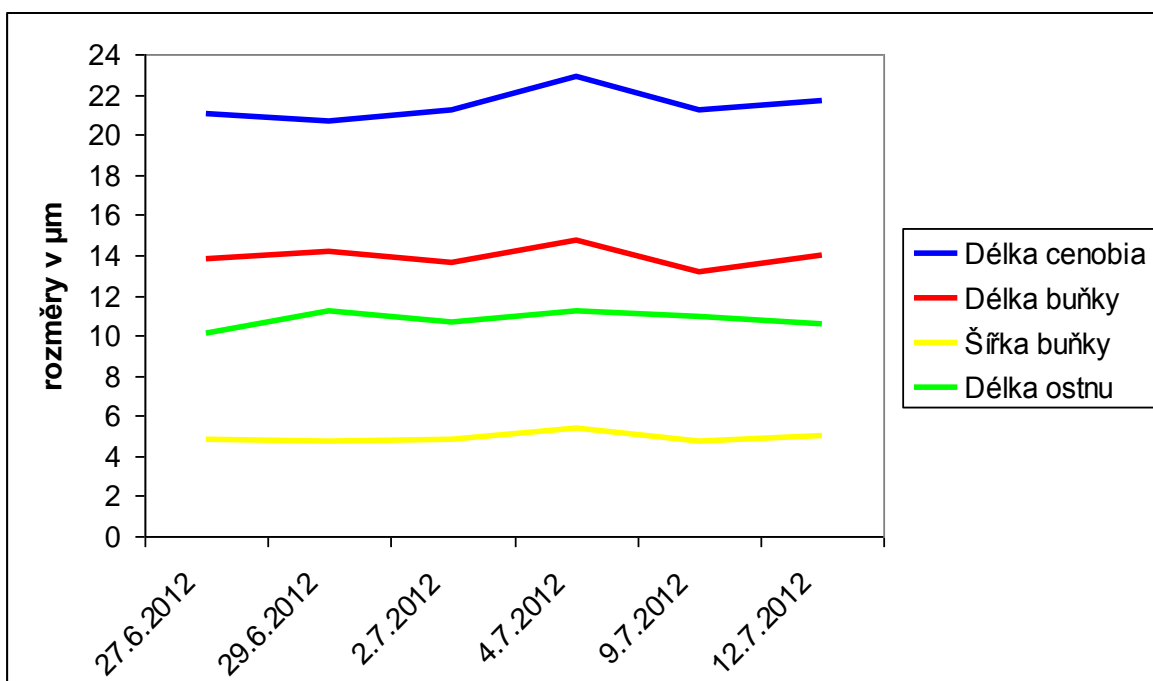
v médiu, které bylo umístěno v klimatizačním boxu, došlo k mírnému zvětšování rozměrů. V chladnějším prostředí (5 °C) došlo ke zvětšování velikosti buněk a cenobií a hojně se tvořila 4-buněčná cenobia, 2-buněčná cenobia se zde vyskytovala v menší míře., Zatímco v teplejším prostředí dosahovaly buňky a cenobia menších rozměrů a byl zde hojnější výskyt 2-buněčných cenobií ve srovnání s médiem o nižší teplotě. Nedochovalo zde ovšem k rozpadu cenobií.

V rámci tohoto pokusu došlo ke tvorbě 2-, 4- i 8-buněčných cenobií, jak ukazují grafy (Příloha 4, Obr. C, D). Za snížené teploty v klimatizačním boxu (5 °C) dominovala 4-buněčná cenobia, která měla dne 9.7.2012 ve vzorku 100% zastoupení. Výskyt 2-buněčných cenobií nebyl zanedbatelný, zejména ve dnech 27.6. a 29.6.2012 byla ve vzorku zastoupena ze 45 – 70 %. Při této teplotě byla tvorba 8-buněčných cenobií spíše výjimečná, ve vzorku byla nalezena pouze dne 2.7.2012 a to v zastoupení 4–5 % z celkového počtu cenobií.

Neméně jinak tomu bylo při běžné kultivační teplotě (22 °C). I zde byla dominantní 4-buněčná cenobia, ovšem 2-buněčná cenobia se zde vyskytovala více než hojně. Ve dnech 29.6., 2.7., 9.7. a 12.7.2012 tvořila tato cenobia alespoň 50% zastoupení jednotlivých cenobií ve vzorku. Dne 12.7.2012 dokonce dominovala a to se zastoupením 65 %. Stejně jako za snížené teploty i zde byl výskyt 8-buněčných cenobií omezený. Byla nalezena pouze dne 4.7.2012 s procentuelním zastoupením pouze 3 %.

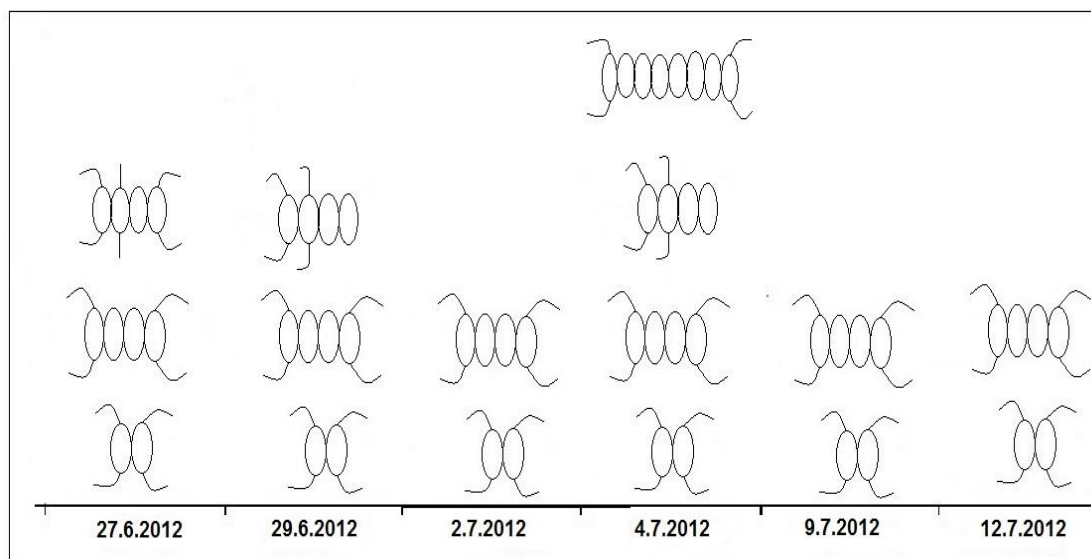


Obr. 9: Rozměry *Desmodesmus communis* (4-buněčné cenobium) kultivovaného při laboratorní teplotě (22 °C). Na ose x jsou vynesena data pozorování změn v kultuře. K naočkování kultury k pokusu došlo 25.6.2012

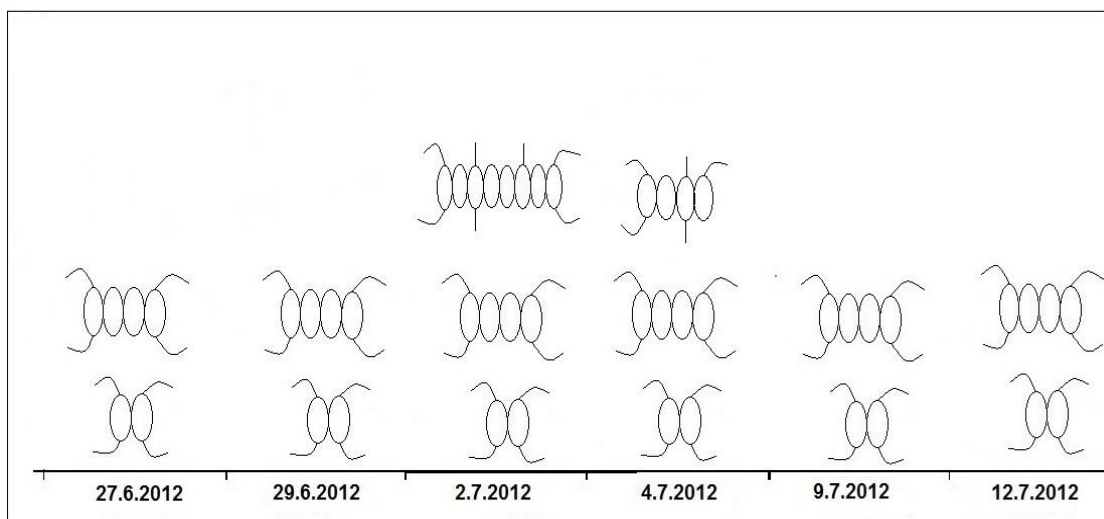


Obr. 10: Rozměry *Desmodesmus communis* (4-buněčné cenobium) v reakci na sníženou teplotu prostředí (5 °C). Na ose x jsou vynesena data pozorování změn v kultuře. K naočkování kultury k pokusu došlo 25.6.2012

Teplota, jako významný faktor prostředí, nevytvářela příliš mnoho plastických odpovědí. Zaznamenané změny fenotypu jsou znázorněny na Obr. 11 a 12.



Obr. 11: Morfotypy *Desmodesmus communis* vytvořené v reakci na proměnnou teplotu prostředí (fenotypové projevy při laboratorní teplotě kolem 22 °C), změna fenotypu byla pozorována již 2 dny po naočkování kultur, dominance jednoho nového fenotypu při kontrole



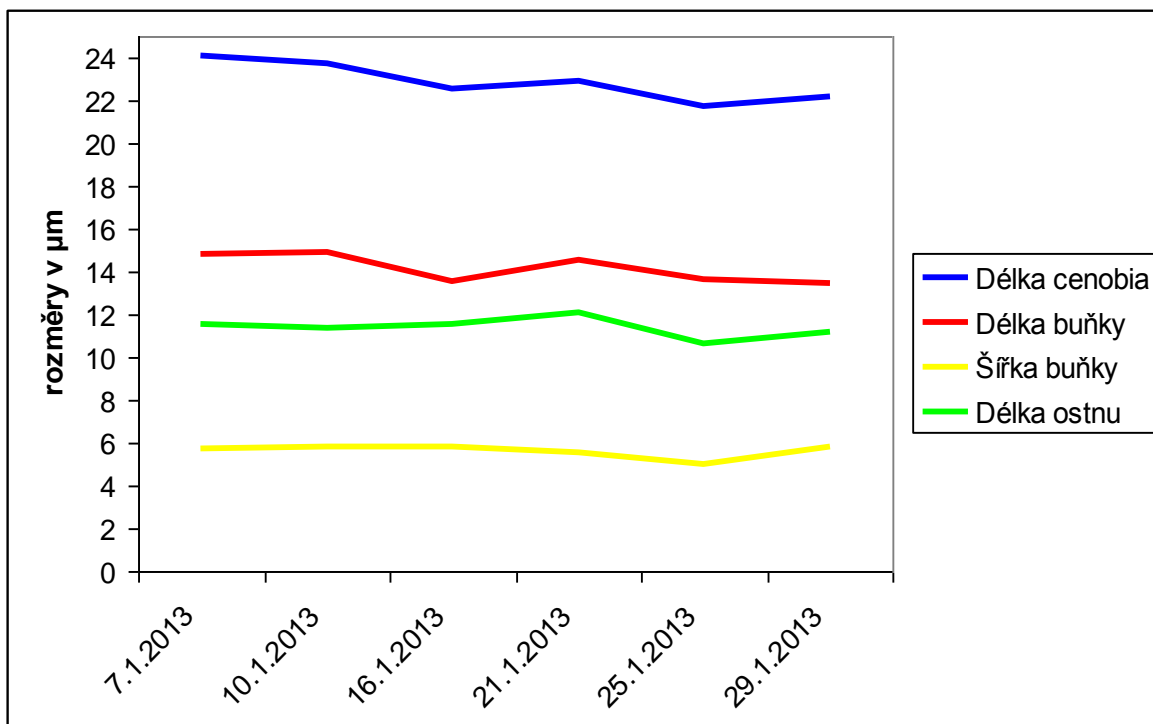
Obr. 12: Morfotypy *Desmodesmus communis* vytvořené v reakci na sníženou teplotu prostředí (fenotypové projevy při laboratorní teplotě kolem 5 °C), změna fenotypu byla pozorována 7 dní po naočkování kultur, spíše dominance jednoho nově vytvořeného fenotypu

4.4 Reakce zelených řas na změny hodnot pH v prostředí

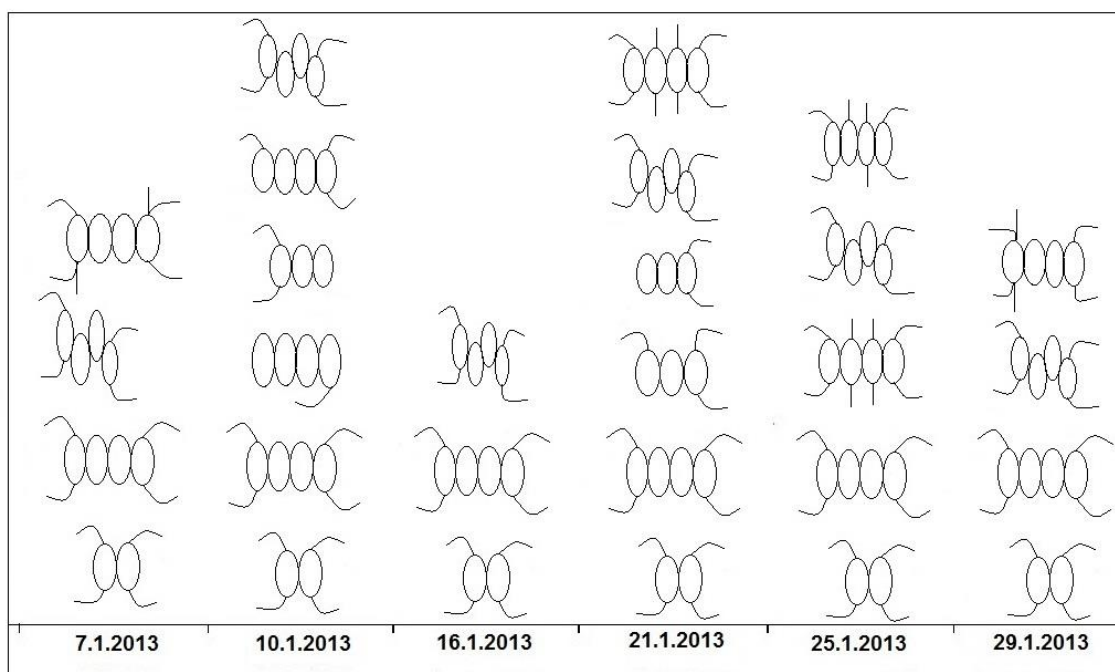
Kultura byla pravidelně pozorována po 72 – 96 hodinách. Viditelné změny v morfologii a fenotypu se objevily po 3 dnech od naočkování kultury do médií se sníženou hodnotou pH ($5 \pm 0,1$), kdy za běžných kultivačních podmínek byla hodnota pH 6,9.

Při změně hodnot pH nedosahovaly buňky ani cenobia markantně odlišných velikostí ve srovnání s předchozími pokusy (dusík, teplota, Obr. 13). Došlo zde však k výrazné změně fenotypu, jak ukazuje Obr. 14. V rámci pokusu došlo ke změně fenotypu, rozměry buněk a cenobií se během kultivace zmenšovaly, jak vyplývá z tabulek v Příloze 2 (Tab. I a J). Tvar buněk se změnil z kulovitěho na protáhlý, kapičkovitý (Příloha 6, Obr. B).

V pokusu se změnou pH vytvářel kmen pouze 2- a 4-buněčná cenobia (Příloha 4, Obr. E). Převažující formou zde byla opět 4-buněčná cenobia, která se dne 7.1.2013 vyskytovala se zhruba 70% zastoupením ve vzorku. Poté zastoupení 4-buněčných cenobií klesalo. V ostatních dnech, kdy nedominovalo 4-buněčné cenobium, byl poměr 2- a 4-buněčných cenobií téměř vždy kolem 50 %.



Obr. 13: Rozměry *Desmodesmus communis* (4-buněčné cenobium) v reakci na snížené hodnoty pH v prostředí ($5 \pm 0,1$). Na ose x jsou vynesena data pozorování změn v kultuře. K naočkování kultury k pokusu došlo 4.1.2013



Obr. 14: Morfotypy izolátu *Desmodesmus communis* vytvořené v reakci na snížené hodnoty pH v prostředí (při pH $5 \pm 0,1$), změny fenotypu byly pozorovány 3 dny po naočkování kultury do média, spíše se při kontrole vyskytovalo více fenotypů najednou

5 Diskuze

Cílem celé práce bylo zjistit, zda a jakým způsobem reaguje zelená řasa *Desmodesmus communis* na změny podmínek ve svém životním prostředí. Kmen byl vystaven podmínkám s různým množstvím využitelných forem dusíku a to tak, že bylo v laboratorních podmínkách vytvořeno živné médium se sníženým obsahem využitelných forem dusíku a médium s nadbytkem dusičnanů. Dále byl živný roztok (2N BBM) vystaven změně teploty a pomocí HCl bylo dosaženo změny pH kultivačního roztoku.

Všechny tyto změny mohou v přírodě nastat zcela běžně, je tedy nutné zjistit, zda se změny podmínek prostředí podepsaly na morfologii či fenoplasticitě zkoumaného druhu v laboratorních podmínkách. HEGEWALD (1977) popsal *Desmodesmus/Scenedesmus communis* jako fenotypově stabilní druh.

5.1 Živiny – dusík

Již dříve vědci zjistili, že ideálním kultivačním médiem pro růst řas v laboratorních podmínkách je Boldovo bazální médium. Do tohoto média je za normálních podmínek přidáno takové množství dusičnanu (NaNO_3), aby simulovalo skutečné životní prostředí řas. Bylo zjištěno, že pro optimální růst a život zelených řas je nejvhodnější přidat do 1000 ml kultivačního média 20 ml NaNO_3 (Příloha 1, 2N BBM). V průběhu pokusů byly porovnávány rozměry buněk základní kultury pěstované za laboratorních podmínek ve 2N BBM s buňkami rostoucími v podmínkách ochuzeného (0,5N BBM) či obohaceného (3N BBM) kultivačního roztoku.

Za běžných kultivačních podmínek ve 2N BBM médiu nebyly pozorovány změny fenotypu. Ve vzorcích se vyskytovala pouze 2-, 4- a 8-buněčná cenobia se 4 apikálními ostny (Příloha 5, Obr. B, C, D). V těchto formách se v přírodě druh *Desmodesmus communis* běžně vyskytuje. Pokud dojde ke změně podmínek prostředí, dochází ke změnám velikostí buněk/cenobia či ostnů, nebo dokonce ke změně fenotypu. V běžném kultivačním médiu (2N BBM) nebyly projevy plasticity pozorovány. Nabízí se tedy otázka, zda při změně množství využitelných forem dusíku v prostředí nastanou změny morfologie a (následně) fenotypu.

Desmodesmus communis kultivovaný v médiu s vyšším množstvím využitelného dusíku (3N BBM) tvořil pouze 2- a 4-buněčná cenobia. Zajímavé je, že v médiu se sníženým množstvím dusíku v prostředí (0,5N BBM) tvořil jak 2- a 4-buněčná cenobia, tak také 8-buněčná cenobia.

5.1.1 Vzájemné srovnání kultur pěstovaných ve 2N BBM a 3N BBM

a) 4-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Desmodesmus communis se v běžném kultivačním médiu (2N BBM) vyskytoval v těchto rozměrech (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách) – A: 20,68–22,33 μm ; B: 13,00–14,68 μm ; C: 4,68–5,10 μm ; D: 11,00–11,44 μm (Příloha 2, Tab. F), kdy A značí délku celého cenobia, rozměr B značí délku buňky, C charakterizuje šířku buňky a D značí hodnotu pro délku ostnu (kap. 3.4, Obr. 2).

Co se týče délky cenobia (A), v běžném kultivačním médiu se délka 4-buněčného cenobia pohybovala v průměru mezi 20,68–22,33 μm . V médiu, kde bylo více využitelného dusíku, se délka cenobia v průměru pohybovala od 20,16–24,96 μm . Oproti běžnému kultivačnímu médiu je zde tedy zřejmý mírný nárůst maximální průměrné délky cenobia, tedy změna morfologie buněk. V rámci kultury ve 3N BBM se délka cenobia v průběhu růstu zvyšovala, po dosažení vrcholu růstu kultury, který nastal po 14 dnech od naočkování, došlo opět ke zmenšování délky cenobia. Tyto hodnoty byly naměřeny v průběhu prováděných kontrol kultury a je zřejmé, že velikost cenobia nestoupala závratnou rychlostí, naopak, docházelo k postupnému mírnému nárůstu délky cenobia. Tento mírný nárůst vykazovaly také ostatní sledované hodnoty ve 3N BBM – délka buňky, šířka buňky a délka ostnu. Opět tyto hodnoty stoupaly postupně, kdy došly po 14 dnech sledování svého vrcholu, a poté začaly rozměry opět mírně klesat.

Délka buňky (B) se v běžném kultivačním médiu pohybovala okolo hodnoty 13,00–14,68 μm . V médiu se zvýšeným množstvím využitelného dusíku se délka buňky pohybovala mezi 14–15,67 μm . Opět nejvyšší hodnoty bylo dosaženo po 14 dnech růstu kultury. Hodnoty opět nerostly skokem, docházelo k postupnému zvětšování rozměrů

a poté opět ke klesání. Ve srovnání s 2N BBM médiem tedy došlo k nárůstu minimálních a maximálních průměrných hodnot délky buňky o cca 1 μm .

Šířka buňky (C) dosahovala v kultivačním médiu 2N BBM průměrné velikost 4,68–5,10 μm . V kultivačním médiu 3N BBM bylo dosaženo obdobné minimální průměrné hodnoty a zde se šířka buňky pohybovala mezi 4,78–5,43 μm . Je zde tedy drobný nárůst šířky buňky oproti běžnému kultivačnímu médiu. Nejvyšší průměrné hodnoty šířky buňky byly rámci 2N a 3N BBM podobné, kdy ve 3N BBM byla naměřena vyšší maximální hodnota než ve 2N BBM. V médiu 3N BBM rozměry dosahovaly vyšších hodnot častěji než ve 2N BBM, kde mj. byla minimální i maximální průměrná hodnota menší než tyto průměrné hodnoty v médiu 3N BBM. V rámci pěstované kultury byl i zde vykazován trend zvětšování buněk do vrcholné fáze a poté mírný pokles velikostí.

Délka ostnu (D), tedy poslední sledovaný rozměr, dosahovala v běžném kultivačním médiu (2N BBM) průměrného rozměru 11,00–11,44 μm . V médiu 3N BBM se hodnoty délky ostnu pohybovaly v rozmezí 11,00–12,26 μm . Zde je znatelná tendence nárůstu maximální průměrné délky ostnu téměř o 1 μm oproti běžnému médiu (2N BBM). Nejnižší průměrné hodnoty jsou stejné (11 μm). V průběhu kultivace došlo i v délce ostnu k postupnému zvětšování rozměru, tento trend dosáhl svého vrcholu po 14 dnech od počátku kultivace, a poté se délka ostnu opět mírně zmenšovala.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

Dále jsou pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 17–28 μm , B: 12–17 μm , C: 4–6 μm , D 9–16 μm
- b) médium s přidaným dusíkem (3N BBM) – A: 15–29 μm , B: 9–19 μm , C: 3–8 μm , D: 9–15 μm
 - o V kultuře, pěstované za běžných laboratorních podmínek (2N BBM, 22 °C), byla nejmenší změřená délka cenobia (A) 17 μm . V médiu s přidaným množstvím využitelného dusíku (3N BBM) se tento rozměr pohyboval ve svých minimech kolem hodnoty 15 μm . V obou mediích (2N i 3N BBM) byla nejmenší naměřená hodnota rozměru A téměř srovnatelná, o trochu menší ve 3N BBM. Důvodem může

být rozdílnost období kultivace, kdy ve 2N BBM byla kultura pěstována v letních měsících, avšak 3N BBM médium bylo pokusu vystaveno již dříve, na přelomu března a dubna a i to může být odůvodněním, pro menší minimální hodnotu rozměru A. Přesně naopak je tomu u maximální reálné hodnoty rozměru A, která byla naměřena v médiu 2N BBM = 28 μm a maximální reálná hodnota stejného rozměru v médiu 3N BBM dosahovala dokonce 29 μm . O 1 μm byla tedy překonání maximální naměřená hodnota rozměru A ve 2M BBM médiu. Tyto údaje ovšem nepotvrzují výše uvedenou domněnku, nižší minimální hodnota tedy není pravděpodobně způsobena rozdílností období kultivace.

- Co se týká maximálních a minimálních reálných hodnot rozměru B, i zde jsou jisté rozdílnost v porovnání obou médií (2N a 3N BBM). V běžném kultivačním médiu byla minimální naměřená velikost rozměru B stanovena na 12 μm . Jinak tomu bylo v médiu 3N BBM. Zde byla tato hodnota podstatně nižší, pouhých 9 μm . Opět vykazuje 3N BBM médium trend nižších minimálních hodnot. I zde může být důvodem pomalejší růst kultury za jarních měsíců, kdy byl experiment se 3N BBM médiem prováděn. Stejný trend jako rozměr A vykazoval i rozměr B. I zde byla vyšší maximální reálná hodnota naměřena v médiu s vyšším množstvím využitelného dusíku (3N BBM). Velikostí rozměru 19 μm přesáhla maximální naměřenou hodnotu rozměru B o celé 2 μm , zde byla tedy tento rozměr ve své maximální velikosti 17 μm .
- Stejně tak byla sledovaná nejmenší a největší reálná šířka buňky (rozměr C). Minimálních hodnot v médiu 2N BBM dosahoval tento rozměr velikosti 4 μm . Ani zde nebyla minimální hodnota tohoto rozměru ve 3N BBM médiu vyšší. Zde vykazovala minimální hodnotu pouhé 3 μm . I v tomto případě by důvodem mohlo být rozdílné období provádění pokusů a sledování. Obdobný fenomén jako u předchozích maximálních rozměrů A a B se objevil i tady. Cenobia nalezena v běžném kultivačním médiu dosáhla nižší maximální reálné hodnoty šířky buňky – 6 μm . V médiu s přidaným dusíkem byla nalezená maximální šířka buňky dokonce 8 μm . Opět je zde zřetelně vyšší maximální hodnota rozměru ve 3N BBM.
- Rozměr D, tedy délka ostnu, dosahoval v rámci obou médií stejné minimální hodnoty a to 9 μm . V rámci pokusu nedocházelo k promíchávání kultur a cenobia

neměla tedy důvod k radikální změně délky ostnu, je to ovšem pouze domněnka. Maximální hodnota rozměru D už se ovšem lišila. Zde nebyl zachován trend vyšší maximální hodnoty ve 3N BBM médiu, zde je tomu naopak. Největší maximální hodnota tohoto rozměru byla naměřena za běžných laboratorních podmínek a dosáhla délky 16 μm . V médiu s více dusíkem to bylo 15 μm . Je velmi diskutabilní, proč zrovna zde, nedošlo k typickému zvětšování rozměru, jako tomu bylo u předchozích rozměrů.

- Z těchto údajů je jasné, že vyšších maximálních hodnot bylo až na délku trnu dosaženo v médiu 3N BBM, což by potvrdzovalo stanovenou hypotézu.

Z těchto údajů tedy vyplývá, že zelená řasa *Desmodesmus communis* zvětšovala svoje rozměry v důsledku zvýšeného množství využitelného dusíku v kultivačním médiu, tedy v životním prostředí, jak vůči běžnému médiu (2N BBM), tak také v průběhu kultivace. Stejně tak bylo ve 3N BBM médiu dosaženo vyšších maximálních reálných hodnot měřených rozměrů, až na délku ostnu. Je zde tedy zřejmá změna morfologie buněk/cenobií, avšak ke změně fenotypu 4-buněčného cenobia zde nedocházelo, čímž se toto médium liší od běžného kultivačního média, kde došlo ke změně fenotypu v průběhu kultivace a byly vytvořeny 2 nové fenotypy, jak uvádí Obr. 11.

b) 2-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

V obou kultivačních médiích, jak 2N BBM tak 3N BBM, byla nalezena 2-buněčná cenobia se 4 apikálními ostny. Tato cenobia se v běžném kultivačním médiu (2N BBM) nacházela s rozměry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách): A: 11,31–13,52 μm ; B: 13,15–14,92 μm ; C: 5,37–6,77 μm a D: 9,81–10,80 μm . Z rozměrů je patrné, že délka buňky (B) se ve srovnání se 4-buněčným cenobiem pohybovala téměř ve stejném rozmezí a naopak šířka buňky (C) se v některých případech zvětšila až o 1 μm . V kultivačním médiu 3N BBM se 2-buněčná cenobia vyskytovala v omezené míře, ze 7 kontrol nebyla ve 3 kontrolách (4.4.2012, 10.4.2012, 2.5.2012) vůbec nalezena.

Délka cenobia (A) rostoucího v kultivačním médiu 2N BBM byla v průměru od 11,31–13,52 μm , v médiu 3N BBM se délka cenobia pohybovala v průměru mezi 11–13 μm (= nejmenší a nejvyšší průměrná hodnota ze všech kontrolních měření). Je zde tedy znatelný mírný nárůst délky cenobia ve 2N BBM, tedy rozšíření buněk cenobia oproti cenobiím pozorovaným ve 3N BBM médiu. V rámci kultivace ve 3N BBM se délka buňky extrémně neměnila, v průměru se stále pohybovala kolem 11 μm .

Délka buňky (B) ve 2N BBM médiu byla větší než délka cenobia, to znamená, že cenobium bylo vyšší než širší. Velikost délky buňky byla mezi 13,15–14,92 μm . V médiu 3N BBM dosahovala délka cenobia hodnot od 11–13 μm a délka buňky se pohybovala v rozmezí hodnot 11,38–13,00 μm (tzn. délka a šířka cenobia byly srovnatelné). Ovšem v průběhu sledování zde délka buňky vykazovala více změn rozměrů, než tomu bylo u délky cenobia. Délka buňky ve 3N BBM médiu povětšinou dosahovala větších rozměrů než délka cenobia při jednotlivých kontrolách. Zde tedy bylo cenobium také vyšší než širší. Oproti 2N BBM je viditelný pokles délky buňky, v extrémních případech dosahovala délka buňky téměř o 2 μm menších rozměrů. Je zde tedy zřejmá změna morfologie v rámci sledované kultury.

Šířka buňky (C), jako nejmenší měřený rozměr, se v běžném kultivačním médiu pohybovala kolem od 5,37–6,77 μm . V médiu s vyšším množstvím využitelného dusíku se šířka buňky cenobia pohybovala v rozmezí 5,33–6,00 μm . Cenobia nalezena v 2N BBM médiu vykazovala více vysokých hodnot, než jak tomu bylo v médiu 3N BBM. Nejvyšší naměřený rozměr byl sledován právě ve 2N BBM médiu. Tato skutečnost však není překvapivá, vyplývá to již z posouzení vzájemné změny mezi délkou cenobia, která je vlastně přibližně součtem šířek obou buněk. Pokud tedy rostla délka cenobia, došlo také ke zvětšování šířky buněk.

Délky ostnu (D) se v běžném kultivačním médiu pohybovaly kolem průměrných hodnot 9,81–10,80 μm . Podobných hodnot bylo dosahováno také ve 3N BBM médiu, kde na začátku pozorování se délka ostnu lišila o více než půl mikrometru oproti délce ostnu ve 2N BBM, poté ovšem došlo k jejímu mírnému nárůstu. Na konci sledování dosahovala délka ostnu ve 3N BBM hodnoty i 10,4 μm , což značí přiblížení nejvyšší naměřené hodnotě v médiu 2N BBM, ale také nárůst rozměru oproti začátku růstu kultury 3N BBM.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

Dále jsou pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 9–16 μm , B: 11–18 μm , C: 4–8 μm , D: 7–12 μm
- b) médium 3N BBM – A: 9–13 μm , B: 8–16 μm , C: 4–7 μm , D: 8–12 μm
 - Stejně jako u 4-buněčných cenobií i zde jsou minimální a maximální hodnoty daného rozměru mírně odlišné ve 2N a ve 3N BBM. Rozměr A, který značí délku cenobia, dosahoval ve 2N BBM minimální hodnoty 9 μm a stejné minimální hodnoty bylo dosaženo také v rámci 3N BBM média. Zde tedy 3N BBM médium nevykazovalo pomalejší růst, jako tomu bylo u 4-buněčných cenobií. Maximální reálná délka cenobia ve 2N BBM médiu byla 16 μm . Médium se zvýšeným množstvím dusíku ovšemjevilo opačný charakter, než jak tomu bylo u 4-buněčných cenobií. Zde byla maximální hodnota rozměru A menší a dosahovala pouze 13 μm .
 - Cenobia ve 2N BBM médiu vykazovala minimální délku buňky (B) 11 μm . Zde ovšem nebyla tato hodnota stejná pro obě média, jako tomu bylo u rozměru A. V médiu s vyšším množstvím dusíku byla minimální délka buňky pouhých 8 μm , což je o 3 μm méně než v médiu 2N BBM. Větší maximální délka buňky byla opět zaznamenána ve 2N BBM médiu, kde dosáhla hodnoty až 18 μm , zatímco v médiu 3N BBM to bylo pouze 16 μm . Stejně jako u předchozího rozměru A i zde jsou rozměry 2-buněčného cenobia ve 3N BBM médiu menší než ve 2N BBM.
 - Šířka buňky (C) ve 2N BBM dosahovala ve své minimální hodnoty 4 μm , stejné hodnoty bylo dosaženo také ve 3N BBM. Byla zde tedy stejná minimální reálná šířka buňky. Maximální hodnoty ve 2N BBM dosáhla šířka buňky rozměrem 8 μm . Stejný trend jako u předchozích rozměrů (A i B) byl potvrzen i zde. Ve 3N BBM médiu byla opět maximální nalezená šířka buňky menší než maximální šířka buňky ve 2N BBM, dosahovala o 1 μm menší hodnoty, tedy 7 μm .

- Rozměr D, tedy délka ostnu, byl u 4-buněčných cenobií poměrně nekonstantní a nejevil stejný trend, jako ostatní sledované rozměry. U 2-buněčných cenobií byla minimální hodnota délky ostnu v běžném kultivačním médiu 7 μm a v médiu s vyšším množstvím dusíku jen o 1 μm vyšší, tedy 8 μm . Minimální reálné hodnoty byly tedy téměř shodné. Překvapivě byly shodné i maximální naměřené hodnoty délky ostnu. Jak u 2N tak také u 3N BBM dosahovala délka ostnu svého maxima při hodnotě 12 μm . Opět rozměr D jako jediný, nejevil stejný trend jako předchozí rozměry a vykazuje mírnou odlišnost, stejně jako tomu bylo u 4-buněčných cenobií.

Z průměrných hodnot je zřejmé, že 2-buněčná cenobia nalezená v obohaceném kultivačním médiu (3N BBM), jsou drobnější a menší než cenobia vytvořená v médiu s nižším množstvím dostupného dusíku (2N BBM). Zvláště viditelné je to v porovnání délky cenobia, resp. šířky buněk cenobií. Cenobia nalezená ve 2N BBM dosahovala vyšších maximálních i minimálních hodnot. Cenobia sledovaná ve 3N BBM médiu jevila nekontinuální trend růstu rozměrů a tyto rozměry vykazovaly výkyvy maximálních a minimálních hodnot. Když byla sledována nevyšší průměrná hodnota délky cenobia, byla zároveň pozorována také nejmenší průměrná délka ostnu.

Co se týká maximálních a minimálních reálných hodnot daných rozměrů, bylo v rámci 2N a 3N BBM nalezeny odlišnosti od průměrných hodnot. Jak je uvedeno výše 2-buněčná cenobia ve 3N BBM médiu nedosahovala nejvyšších maximálních hodnot, ty byly nalezeny u cenobií ve 2N BBM médiu. Naopak tomu bylo u 4-buněčných cenobií, která vykazovala vyšší maximální hodnoty rozměrů ve 3N BBM médiu oproti 2N BBM. Z těchto údajů je zřejmé, že 4-buněčná cenobia byla schopna lépe čerpat dostupný dusík a zvětšovat svoje rozměry, kdežto 2-buněčná cenobia tuto schopnost nemají. Je to ovšem pouze domněnka. Na cenobia mohl působit též jiný faktor, který nebyl současně s dusíkem sledován a právě ten může být odpovědný za tyto změny morfologie.

Co se týče fenotypového projevu, jak ve 2N tak také ve 3N BBM médiu nebyla pozorována změna fenotypu v rámci 2-buněčných cenobií. Docházelo pouze ke změně morfologie buněk a cenobií, fenotyp zůstal zachován.

5.1.2 Vzájemné srovnání kultur pěstovaných ve 2N BBM a 0,5N BBM

a) 4-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Jak již bylo řečeno, druh *Desmodesmus communis* se v běžném kultivačním médiu nacházel v rozměrech (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách): A: 20,68–22,33 μm ; B: 13,0–14,68 μm ; C: 4,68–5,1 μm ; D: 11,0–11,44 μm . Pokusem bylo prokázáno, že tento druh v médiu se zvýšeným množstvím dusíku (3N BBM) zmenšil svoje rozměry. Dojde tedy v kultivačním médiu s nižším množstvím dusíku ke zmenšování rozměrů, jak předpovídá hypotéza (kap. 3.5.3) nebo budou rozměry cenobií podobné rozměrům v běžném kultivačním prostředí? Již z hypotézy vyplývá, že při menším množství využitelných forem dusíku v prostředí by se měly buňky cenobia zmenšovat a celkově by mělo dojít k rozpadu těchto cenobií na méněbuněčná cenobia.

V kultivačním médiu 2N BBM byly naměřeny průměrné hodnoty délky cenobia (A) od 20,68 do 22,33 μm . V kultivačním médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku (0,5N BBM) se hodnoty délky cenobia pohybovaly v rozmezí 19–30,38 μm . Pouze na začátku růstu kultury dosahovala délka cenobia tak malých rozměrů, jako dosahovala nejnižší naměřená hodnota v běžném kultivačním médiu. Je zde zřejmý nárůst velikosti cenobia oproti cenobiím kultivovaným za běžných podmínek (2N BBM). Délka cenobia se zvětšovala s růstem kultury, od hodnot 19 μm na začátku růstu, až na hodnotu 30,38 μm při vrcholu růstu kultury, poté došlo opět ke zmenšování tohoto rozměru, ale ne drasticky, na konci růstové fáze dosahovala délka cenobia v 0,5N BBM rozměrů 23,44 μm , což je stále více než maximální naměřená hodnota tohoto rozměru ve 2N BBM. Je zde tedy více než zřejmý nárůst délky cenobia i oproti 3N BBM médiu, kde byla nejvyšší hodnota délky cenobia 24,96 μm .

Délka buňky (B) v běžném médiu dosahovala průměrně hodnot od 13,00 do 14,68 μm . V kultivačním médiu 0,5N BBM byla hodnota kolem 12 μm naměřena na počátku růstu kultury, poté došlo ke zvětšení délky buňky až do velikosti 19,17 μm , poté délka buňky klesala, ale opět ne rapidně, na konci růstové fáze byla délka buňky 16,14 μm , což je opět více než maximální délka buňky ve 2N BBM. Došlo zde tedy k výraznému nárůstu velikosti délky buňky, v extrémních hodnotách téměř o 4 μm v porovnání s délkou buňky

v běžném kultivačním médiu. Nárůst velikosti byl zřetelný i v rámci kmene kultivovaného v 0,5N BBM, zde se rozměry zvětšovaly s růstem kultury a poté opět vykazovaly mírný pokles.

Šířka buňky (C) v běžném médiu byla zprůměrována na hodnoty 4,68–5,10 μm . V médiu 0,5N BBM se hodnoty šířky buňky pohybovaly od 4 μm do 6,97 μm . Lze tedy říci, že na počátku růstu kultury byla šířka buňky o cca 0,5 μm menší než šířka buňky v běžném kultivačním médiu, poté ovšem přišel výrazný nárůst šířky buňky a to až na hodnotu 6,97 μm , což je nárůst téměř o 2 μm oproti běžnému kultivačnímu médiu, tak také oproti počátku růstu kultury média 0,5N BBM. Zvětšení šířky buněk se nezdá být tak rapidní jako nárůst délky buňky. Důležité je, že dochází ke stálému zvětšování všech rozměrů a cenobium tedy mění svoji velikost kontinuálně.

Posledním sledovaným rozměrem je vždy délka ostnu (D). V běžném kultivačním médiu byly jeho průměrné hodnoty 11,00–11,44 μm . V 0,5N BBM se hodnoty pohybovaly od 10,92 do 13,93 μm . Patrný je nárůst délky ostnu téměř o cca 2,5 μm v porovnání s běžným kultivačním médiem. V rámci kultivace rostla délka ostnu také, vrcholu dosáhla, stejně jako ostatní rozměry, po 14 dnech od naočkování kultury. Po tomto období došlo k mírnému poklesu délky trnu, ale i všech ostatních sledovaných rozměrů.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

Dále jsou pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 17–28 μm , B: 12–17 μm , C: 4–6 μm , D: 9–16 μm
- b) médium s nižším množstvím dusíku (0,5 N BBM) – A: 16–38 μm , B: 11–23 μm , C: 3–9 μm , D: 8–18 μm
 - o Rozměr A, tedy délka cenobia, se ve svých minimálních hodnotách výrazně nelišil v médiích 2N a 0,5N BBM. Ve 2N BBM médiu nabyl tento rozměr minimální velikosti 17 μm a v médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku to bylo 16 μm . Velký rozdíl je ovšem patrný u maximálních hodnot délky cenobia. V běžném kultivačním médiu byla maximální hodnota tohoto rozměru 28 μm ,

avšak v médiu 0,5N BBM bylo maximum ještě o celých 10 μm vyšší, dosáhlo tedy 38 μm . Tento markantní nárůst zavrhuje hypotézu a nabízí otázky, proč se rozměry zvětšovaly rapidněji v médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku.

- Délka buňky (B) dosáhla minima své reálné hodnoty ve 2N BBM médiu číslem 12 μm . V médiu 0,5N BBM to bylo ještě o 1 μm méně, tedy 11 μm . Maximální reálná hodnota délky buňky byla ve 2N BBM médiu 17 μm . I zde se projevil výrazný nárůst maximální hodnoty délky buňky cenobií v médiu se sníženým množstvím využitelných forem dusíku. V médiu 0,5N BBM se maximální délka buňky vyšplhala k hodnotě 23 μm , což je 6 μm více než maximum tohoto rozměru v médiu 2N BBM. I zde je tedy výrazný posun velikosti v médiu s malým množstvím dusíku.
- Co se týká šířky buňky (C), minimální naměřené hodnoty byly téměř shodné pro obě cenobia. Ve 2N BBM to byly 4 μm a v 0,5N BBM pouhé 3 μm . Maximální hodnoty se opět rapidně lišily, ale vykazovaly stejný trend jako u výše popsaných rozměrů (A a B). Maximální šířka buňky cenobia v běžném kultivačním médiu byla 6 μm . Ovšem v médiu 0,5N BBM byla tato hodnota znatelně vyšší, stejně jako maxima ostatních rozměrů. V médiu se sníženým množstvím využitelných forem dusíku (0,5N BBM) se šířka buňky vyšplhala až k hodnotě 9 μm . Tím předčila maximum ve 2N BBM o celé 3 μm .
- Délka ostnu, tedy rozměr D, dosahovala minimální délky ve 2N BBM hodnoty 9 μm . Stejně jako předchozích rozměrů i zde jsou minimální hodnoty rozměru v 0,5N BBM obdobné, tedy 8 μm . Rozdíl nastává v rámci maximálních hodnot naměřených délek ostnů v mediích 2N a 3N BBM. Rozdíly zde nejsou tak markantní, jako tomu bylo u výše uvedených rozměrů. Ve 2N BBM bylo maximum délky ostnu 16 μm , v médiu s nižším množstvím dusíku (0,5N BBM) byla tato hodnota ještě o 2 μm vyšší, tedy 18 μm . Opět je velmi diskutabilní, proč délka ostnu nejeví extrémní změny, stejně jako tomu bylo v rámci média 3N BBM, kdy délka ostnu (D) vykazovala odlišné trendy od ostatních rozměrů (A, B, C).
- Projevy fenotypu se liší v obou mediích. Ve 2N BBM byly vytvořeny 2 nové fenotypy, v médiu 0,5N BBM také 2, ovšem ani jeden z nich nevykazoval shodu

a tyto projevy fenotypu byly zcela odlišné, jak je možné posoudit z Obr. 8 a 11. Změny fenotypu vytvořené v 0,5N BBM je možno také vidět v Příloze 6, Obr. C a D.

Není možné si nepovšimnout, že rozměry buněk a cenobií (průměrné i reálná maxima a minima) v 0,5N BBM jsou větší než rozměry v 2N BBM, ale také než ve 3N BBM, kde bylo využitelných forem dusíku nadbytek a byl zde podle hypotézy předpokládán větší nárůst rozměrů. Tento fakt je překvapivý, ale vzhledem k tomu, že fenotypově plasticita v přírodě vzniká jako multifaktoriální jev, je toto možné. V laboratorních podmínkách byl zkoumán pouze vliv dusíku, který se nezdá být hlavní faktorem ovlivňujícím projev fenotypu a morfologie. Tento jev může být vytvořen v důsledku jiného faktoru, který ovšem nebyl sledován v rámci tohoto experimentu.

b) 2-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Cenobia 2-buněčná byla vytvořena jak ve 2N BBM médiu, tak také v médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku (0,5N BBM).

Cenobia 2-buněčná se v běžném kultivačním médiu nacházela s rozměry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách): A: 11,31–13,52 μm ; B: 13,15–14,92 μm ; C: 5,37–6,77 μm a D: 9,81–10,8 μm . Ani v 0,5N BBM nebylo zastoupení 2-buněčných cenobií konstantní ve všech kontrolách, opět nebyla tato cenobia nalezena ve 3 kontrolách ze 7 provedených. (4.4., 10.4., 2.5.2012).

U 4-buněčných cenobií vykazovalo médium 2N BBM oproti médiu 0,5N BBM značné rozdíly, zejména ve velikosti buněk a cenobií. Tento trend se uplatnil také u 2-buněčných cenobií, kde došlo k mírnému nárůstu všech měřených hodnot v rámci 0,5N BBM.

Délka cenobia (A) v běžném médiu dosahovala průměrných hodnot 11,31–13,52 μm . V médiu s menším množstvím využitelných forem dusíku délka cenobia začínala na 11,56 μm a kulminovala na hodnotě téměř 16 μm . Nárůst délky cenobia je zde značný v porovnání s délkou cenobia v médiu 2N BBM. V rámci kultivace nedocházelo ke změně

délky cenobia lineárně. Někdy se délka cenobia zmenšovala, jindy rostla. Nárůstem délky cenobia by mělo dojít také k nárůstu šířky buňky.

Délka buňky (B) v běžném médiu dosahovala v průměru hodnot od 13,15–14,92 μm . Minimální i maximální průměrná hodnota délky buňky byla v 0,5N BBM obdobná. Zde se hodnoty délky buňky pohybovaly v rozmezí od 13 do 15 μm . Délka buňky v rámci kultivačního média zvětšovala svůj rozměr lineárně (když pomineme nejvyšší rozměr na počátku sledování) – tato vysoká počáteční hodnota může být jen zkrácení díky nízké početnosti 2-buněčných cenobií v kultuře, která měla větší rozměry. Maximální průměrná hodnota byla změřena ve 0,5N BBM médiu. Maximální průměrná hodnota délky buňky ve 2N BBM byla velmi podobná, lišila se jen o několik málo setin mikrometrů.

Šířka buňky (C) ve 2N BBM vykazovala průměrné hodnoty kolem 5,37 až 6,77 μm . Jak se zvětšuje délka cenobia, měla by se zvětšovat také šířka cenobia. Tento trend je zde zachován, hodnoty šířky cenobia se v 0,5N BBM pohybovaly od 5,44 do hodnoty 7 μm . To značí mírný nárůst šířky cenobia oproti běžnému kultivačnímu médiu. I zde je růst šířky buňky v rámci média nejednotný. Délka cenobia měnila rozměry různě, délka buňky vykazovala nárůst a oproti tomu šířka buňky vykazovala v rámci média spíše pokles velikosti.

Průměrná délka trnu (D) ve 2N BBM nedosahovala nijak závratných hodnot, pohybovala se kolem hodnoty 9,81 až 10,8 μm . V 0,5N BBM došlo k nárůstu minimální hodnoty délky trnu o téměř 0,2 μm , hodnoty se zde pohybovaly od 10 do 11,06 μm . U tohoto rozměru došlo k navyšování velikosti v rámci růstu kultury kontinuálně. Maximální průměrné hodnoty byly opět v obou médiích obdobné, o několik desetín mikrometrů více vykazovala maximální délka trnu ve 0,5N BBM, rozdíl je ovšem minimální oproti médiu 2N BBM.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

Dále jsou pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 9–16 μm , B: 11–8 μm , C: 4–8 μm , D: 7–12 μm

b) médium s nižším množstvím využitelných forem dusíku (0,5 N BBM) – A: 10–14 μm , B: 9–15 μm , C: 4–7 μm , D: 9–13 μm

- Rozměr A (délka cenobia) se ve své minimální hodnotě nacházel v běžném kultivačním médiu v rozměru 9 μm , v médiu s nižším množstvím dusíku byla minimální velikost tohoto rozměru obdobná a dosahovala 10 μm . Nastala zde ovšem změna oproti 4-buněčným cenobiím kultivovaným za těchto podmínek (0,5N BBM). Zde 2-buněčná cenobia nevykazují značný nárůst maximální hodnoty délky cenobia, v běžném médiu byla tato maximální hodnota 16 μm , zatímco v médiu 0,5N BBM to bylo pouze 14 μm .
- Délka buňky (B) vykazovala minimální naměřenou hodnotu v běžném kultivačním médiu 11 μm . V médiu se sníženým množstvím dusíku to bylo méně, pouhých 9 μm . I toto může být způsobeno pomalejším růstem kultury, neboť oba pokusy byly prováděny v jiném období, jak je uvedeno výše u pokusu 3N BBM. Maximální délka buňky byla ve 2N BBM médiu 18 μm , zatímco v médiu 0,5N BBM jen 15 μm .
- Co se týká rozměru C (šířka buňky) i zde byl předchozí trend zachován. Minimální hodnota šířky buňky byla pro obě média (2N a 0,5N BBM) shodná a to 4 μm . Lišila se ovšem opět maximální naměřená hodnota tohoto rozměru. Vyššího maxima bylo opět i zde dosaženo v běžném médiu, hodnota byla 8 μm . V médiu s nižším množstvím využitelných forem dusíku byla tato hodnota nižší a to 7 μm .
- Rozměr D, tedy délka ostnu, nabýval své minimální hodnoty ve 2N BBM nižší než tomu bylo u 0,5N BBM. V běžném médiu byla minimální hodnota sledovaného rozměru 7 μm , zatímco v médiu 0,5N BBM to bylo 9 μm . Už dříve ostny jevíly nejednotný trend s ostatními měřenými rozměry (A, B, C). Maximální délka ostnu ve 2N BBM médiu byla 12 μm . V médiu ochuzeném o dusík byl nalezen maximální rozměr o 1 μm větší a zde byla naměřena maximální délka ostnu 13 μm .
- U 4-buněčných cenobií v tomto mediu došlo k výraznému zvětšení zejména maximálních reálných hodnot ve srovnání s médiem 2N BBM. Tento trend se ovšem u 2-buněčných cenobií nepotvrdil a jejich maximální naměřené rozměry

(kromě ostnu) byly menší než maximální získané rozměry z média 2N BBM. Podobný jev vykazovala také 2-buněčná cenobia ve 3N BBM médiu, která opět nenásledovala trend zvětšování či zmenšování rozměrů 4-buněčných cenobií. I zde tedy 2-buněčná cenobia vykazují nejednotnost v reakci na médium s nižším množstvím využitelných forem dusíku. I přesto jsou ve svých průměrných hodnotách větší než cenobia z běžného kultivačního média.

Stejně jako u 4-buněčných cenobií, dochází i zde k rapidnímu nárůstu průměrných rozměrů v médiu s menším množstvím využitelných forem dusíku. Zde se ovšem růst rozměrů nejeví tak jednotvárný, jako tomu bylo u 4-buněčných cenobií. Co se týká projevu fenotypu, ani v 0,5N ani ve 2N BBM médiu nebyla pozorována změna fenotypu u 2-buněčných cenobií. Byla nalezena pouze změna morfologie buněk a cenobií.

c) 8-buněčná cenobia

V kultivačním médiu se sníženým množstvím využitelného dusíku (0,5 BBM) docházelo ke tvorbě také 8-buněčných cenobií. Rozměry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách) těchto cenobií nabývaly těchto průměrných hodnot: A: 42,67–59,67 μm ; B: 11–18,3 μm ; C: 5–7,67 μm ; D: 9–15 μm . Rozměry cenobií se zvětšovaly, jak kultura rostla. V období kulminace růstu (po 14 dnech od naočkování) bylo změřeno největší cenobium s rozměry A: 59,67 μm , B: 18,3 μm , C: 7,67 μm a D: 15 μm .

I zde jsou uvedeny minimální a maximální reálné hodnoty naměřených rozměrů A až D i přesto, že je nelze s žádným jiným médiem či pokusem porovnat. Médium s nižším množstvím využitelných forem dusíku (0,5N BBM) – A 37–60 μm , B 12–18 μm , C 4–8 μm , D 8–16 μm .

Porovnání velikosti rozměrů 8-buněčného cenobia vytvořeného v 0,5N BBM s ostatními médii není možné. V kultivačních mediích 2N BBM a 3N BBM nebyla žádná 8-buněčná cenobia nalezena.

Dle hypotézy by se však 8-buněčná cenobia měla tvořit zejména tam, kde je více využitelných forem dusíku, přednostně tedy ve 3N BBM a 2N BBM (bylo zde nalezeno pouze několik málo jedinců), nikoli právě v 0,5N BBM, kde byla nalezena.

Nutno dodat, že právě 8-buněčná cenobia vykazovala změnu fenotypu. Došlo zde k zmnožení počtu ostnů, jak je zřejmé z Přílohy 6, Obr. C a D.

Shrnutí

Při tomto pokusu docházelo ve vytvořených médiích (0,5N BBM a 3N BBM) zejména ke změně velikosti buněk/cenobií, fenotypu již méně. V 0,5N BBM byla vytvořena cenobia větších rozměrů než ve 2N BBM, ale také než ve 3N BBM, což naprosto zavrhuje stanovenou hypotézu. Dle stanovené hypotézy (kap. 3.5.3) by se buňky a cenobia měla v tomto médiu (0,5N BBM) rozpadat a zmenšovat svoji velikost. Ani zmenšení velikosti a ani rozpad na méněbuněčné útvary zde nebyl pozorována, zastoupení 2-buněčných cenobií zde bylo oproti 3N BBM zanedbatelné. Tato hypotéza nebyla provedením pokusu potvrzena, neboť v médiu 0,5N BBM došlo ke zvětšování velikosti buněk a cenobií, více se zde tvořila 8-buněčná cenobia a také co se týče fenoplasticity, došlo v tomto médiu ke vzniku více morfotypů (Obr. 8). Důležitým faktem je, že jak v 0,5N BBM, tak také ve 3N BBM se velikosti buněk a cenobií převážně zvětšovaly, výjimku tvoří pouze 2-buněčná cenobia kultivována v médiu 3N BBM, která se v porovnání se základní kulturou 2N BBM zmenšovala.

K výrazné změně fenotypu docházelo více v médiu s nižším množstvím využitelného dusíku spíše, než v médiu, kde byl nadbytek využitelných forem dusíku pro řasy. Změna fenotypu byla v tomto pokusu zaznamenána po 7 dnech od naočkování kultury. Během sledování bylo pozorováno i více nových fenotypů v rámci jedné kontroly, jak tomu bylo např. v datech 6.4., 10.4. a 16.4.2012. V dalších dnech kontroly (4.4. a 2.5.2012) byl ve vzorku nalezen pouze jeden nový fenotyp oproti původní kultuře 2N BBM. V datech 29.3. a 2.4.2012 nebyly žádné změny fenotypu pozorovány, lze to přisoudit časovému úseku, který byl zřejmě příliš krátký na vytvoření nových fenotypů v závislosti na změně podmínek v prostředí, uběhlo totiž jen pár dní od naočkování kultury (27.3.2012).

Díky těmto výsledkům je pravděpodobné, že množství využitelných forem dusíku v prostředí není zásadní faktor, který ovlivňuje plastické reakce řas, konkrétně sledovaného izolátu *Desmodesmus communis*. Reakce řas na změnu množství využitelného dusíku v prostředí je různá, roli mohou hrát i jiné faktory prostředí. Plasticita je většinou spíše multifaktoriálního charakteru, nikoli pouze výsadou jedné podmínky prostředí a pravděpodobně nedostatek/nadbytek dusíku v prostředí nevytváří zásadní tlak na změnu tvaru, jak je dokázáno např. pro kairomony produkované zooplanktonem (LÄMPERT et al. 1994) či jiné další faktory.

5.2 Teplota

Teplota je základní limitující faktor všech živých organismů. Ani u řas tomu není jinak. Teploty, při kterých jsou řasy kultivovány, se pohybují nejčastěji mezi 20–24 °C. Při experimentu byly řasy kultivovány při laboratorní teplotě 22 °C, ale také při teplotě nižší, pouhých 5 °C. Za těchto podmínek tvořil *Desmodesmus communis* 2-, 4- a 8-buněčná cenobia.

5.2.1 Vzájemné srovnání kultur pěstovaných 22 °C versus 5 °C

a) 4-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Nejčastěji byla za obou podmínek nacházena právě 4-buněčná cenobia. Rozměry cenobií, která se vyskytovala v médiu při teplotě 22 °C, se zásadně neliší od cenobií, která se vyskytovala v médiu s teplotou 5 °C. V průměru se hodnoty liší někdy o desetiny mikrometrů, jen výjimečně o celé mikrometry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách).

Například délka cenobia (A) se při běžné kultivační teplotě 22 °C pohybovala mezi 20,68–22,33 μm, v médiu, které bylo vystaveno poklesu teploty v klimatizačním boxu, byla délka cenobia 20,63–22,88 μm. Z těchto údajů je zřejmé, že velikosti cenobií v obou teplotních podmínkách se opravdu mnoho nelišily. Důležité je tedy porovnat i ostatní sledované rozměry, zda v některých podmínkách nedošlo např. k nárůstu pouze některé z částí cenobia. Průměrná délka cenobia za běžné teploty vykazovala v rámci média nejednotnost při změně rozměrů. Na počátku dosahovala délka cenobia větších rozměrů, poté mírně klesala a opět stoupala až k nejvyšší naměřené hodnotě (Příloha 2, Tab. F). Při poslední kontrole byla naměřena největší hodnota tohoto rozměru a to 22,33 μm. V médiu s nižší teplotou byla změna velikostí spíše lineární a došlo k růstu rozměrů v rámci kultury. Maximální délky dosahovalo cenobium po 9 dnech od naočkování, poté došlo k mírnému poklesu velikosti.

Co se týče délky buňky (B), ta v médiu, které bylo vystaveno teplotě 22 °C, nepřesahovala hodnoty 14,68 μm. Naopak nejmenší naměřená délka buňky byla 13,0 μm.

Kultura, která byla pro tento pokus uložena do klimatizačního boxu, vytvořila cenobia, která měla délku buňky mezi hodnotami 13,13–14,76 μm . Opět i u tohoto zkoumaného rozměru, nedošlo v různých teplotních podmínkách k výraznému rozdílu velikostí struktur. Ty se lišily o pouhé desítky mikrometrů. Při běžné pokojové teplotě vykazovala délka buňky pokles velikosti. V médiu v klimatizačním boxu byl tento rozměr proměnlivý, nejevil výrazný nárůst ani zmenšení velikosti.

Šířka buňky (C) v médiu vystavenému běžným kultivačním teplotám, dosahovala v průběhu sledování hodnot 4,68–5,1 μm . V porovnání s kulturou pěstovanou za nízkých teplot, kde se tyto hodnoty pohybovaly mezi 4,71–5,36 μm , je zřejmé mírné zvětšení šířky buňky v médiu s nižší teplotou, tento trend také podporuje stanovená hypotéza (kap. 3.5.2). Nárůst se zdá být mírný, avšak došlo ke zvětšení šířky téměř o 0,3 μm , což na tak malý rozměr, není zanedbatelné. Je důležité ještě říci, že hodnoty jsou průměrné, to znamená, že někdy se ve vzorku mohli vyskytovat také jedinci, kteří měli šířku buňky zásadně větší, avšak v porovnání a v součtu s ostatními nalezenými jedinci, dosahovala jejich šířka těla malého významu a v průměrné hodnotě se téměř neprojevila. Při běžné kultivační teplotě jevíla šířka buňky rostoucí tendence, délka buňky tedy klesala, naopak šířka buňky zde zvětšovala své rozměry. Cenobia byla tedy spíše širší než delší. V médiu, které bylo uloženo v lednici, vykazovala šířka buňky opět proměnlivé hodnoty, nedošlo zde k výraznému poklesu ani nárůstu velikosti.

Poslední sledovaný rozměr je délka ostnu (D). V kultuře pěstované za laboratorní teploty, tedy tam, kde se teplota pohybovala kolem hodnot, příznivých pro růst řas, délka ostnu dosahovala hodnot od 11,0–11,44 μm . V kultuře, která bylo uložené v chladu, byly naměřené délky ostnu mezi hodnotami 10,14–11,24 μm . To naprosto neodpovídá trendu, který započal zvětšením šířky buňky a koreloval se stanovenou hypotézou. Zde je zřejmé zmenšení délky ostnu oproti médiu s vyšší teplotou (22 °C), kdy rozdíl v délce ostnu dosahoval na počátku růstu kultury téměř 1 μm . Tento rozdíl může být zapříčiněn pomalejším tempem růstu kultury v lednici, kde byla teplota snížena a nebyl zde ani nadbytek světla pro růst řas. Ale i přesto v kulminační fázi růstu nedosáhly tyto ostny svojí velikostí rozměrů ostnů kultury pěstované za laboratorních podmínek (vyšší teplota).

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

I zde jsou dále pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 17–28 µm, B: 12–17 µm, C: 4–6 µm, D: 9–16 µm
- b) médium se sníženou teplotou (5 °C) – A: 16–28 µm, B: 11–17 µm, C: 4–7 µm, D: 7–13 µm

- Délka cenobia (A) vykazovala svoji minimální hodnotu v běžném médiu 17 µm, za snížené teploty to bylo o 1 µm méně, tedy 16 µm. Obě minimální hodnoty jsou velmi podobné, téměř shodné. Maxima délky cenobia byla shodná pro obě teplotní podmínky. Jak v médiu s běžnou teplotou (22 °C), tak i za snížené teploty (5 °C) byla maximální naměřená délka cenobia 28 µm. Stejně jako ukázaly průměrné hodnoty výše, ani zde není markantní rozdíl ve velikosti rozměrů.
- Rozměr B, tedy délka buňky, byla při své minimální hodnotě za běžných kultivačních podmínek 12 µm. Za snížené teploty v prostředí byla tato hodnota opět o něco menší, pouze 11 µm. I zde jsou minimální hodnoty téměř srovnatelné. Délka buňky v maximech sahala za běžné teploty k hodnotě 17 µm, stejně tomu bylo za snížené teploty, také 17 µm. Ani zde není pozorována rapidní odlišnost v minimech a maximech naměřených hodnot.
- U šířky buňky (C) jsou minima získaných hodnot opět stejná a to 4 µm. Největší šířka buňky za běžné teploty byla 6 µm, za snížené teploty to bylo opět o pouhý 1 µm více a to 7 µm. I zde je zřejmá podobnost v získaných hodnotách. Ani u tohoto rozměru není trend extrémní odlišnosti rozměru v rámci 22 °C a 5 °C.
- Délka ostnu (D) bývá často rozměr, který nevykazuje stejné trendy jako předchozí rozměry (A, B, C). I zde se toto pravidlo potvrdilo. Minimální hodnoty délky trnu se liší. Za běžné teploty byla minimální délka ostnu 9 µm, zatímco za snížené teploty to bylo jen 7 µm. Ani maxima nebyla shodná či totožná. Za běžné teploty

byla maximální délka ostnu 16 μm , za snížené teploty prostředí byla tato hodnota nižší o 3 μm , tedy 13 μm .

- Projevy fenotypu zde byly pozorovány, ovšem ani v jednom případě nebyly srovnatelné. Za běžných podmínek kultivace došlo k tvorbě 2 nových fenotypů (Obr. 11), za snížené teploty byly vytvořeny taktéž 2 nové fenotypy, ale pouze jeden v rámci 4-buněčného cenobia (Obr. 12). I přesto nebyla nalezena shoda ve tvorbě ostnů, ty byly v nových fenotypech rozmístěny odlišně. Změna fenotypu je zřejmá také z Přílohy 5, Obr. E.

Na základě těchto údajů je možné říci, že změna teplot v životním prostředí druhu *Desmodesmus communis*, nepůsobila extrémní změny morfologie ani fenotypu u 4-buněčných cenobií. Je jasné, že hypotéza byla částečně potvrzena, přesto, že rozdíly ve velikosti jednotlivých buněk a cenobií nebyly markantní, většinou se zde jevil trend zvětšování velikost spíše v médiu se sníženou teplotou, nežli za vyšších teplot, jak stanovuje hypotéza. Z Přílohy 2, Tab. F vyplývá, že v některých obdobích nejevil *Desmodesmus communis* kontinuální růst v podmínkách pro něj běžných. Například dne 27.6.2012 (22 °C) dosahovala délka cenobia (A) 21,68 μm , délka buňky (B) 14,68 μm , šířka buňky (C) 4,84 μm a délka ostnu (D) 11,04 μm (průměrné hodnoty po proměření 30 náhodně vybraných buněk). V porovnání s datem 12.7.2012, kdy zde byla délka cenobia 22,33 μm , což byla v tomto pokusu největší naměřená délka cenobia vůbec, délka buňky byla pouze 13 μm , což je ve srovnání s kontrolou provedenou 27.6.2012 pokles délky buňky o více než 1,5 μm , byla zde pozorována zjevná nekontinuita ve zvětšování rozměrů cenobií. A zřejmě tento fakt nelze přičítat počátečnímu odumírání kultury, protože velikost cenobia zde kulminuje. Šířka buňky se v červenci pohybovala kolem hodnoty 5,1 μm , což byl opět největší naměřený rozměr šířky buňky pro tento experiment. Došlo tedy ke zvětšení tohoto rozměru oproti předchozí kontrole a vykazuje to stejný trend, jako zvětšování cenobia. Délka ostnu byla ovšem pouhých 11 μm , což je pro změnu nejmenší naměřený rozměr, stejně jako tomu bylo u délky buňky. Z těchto hodnot je patrné, že 4-buněčné cenobium při teplotě 22 °C nejevilo kontinuální růst, ba přesně naopak. Docházelo ke zvětšování délky cenobia a s tím související šířka buněk. To znamená, že cenobium rostlo do délky, ale podle uvedených údajů se zmenšovalo do výšky cenobia, tedy délky buněk. Tomu se také přizpůsobila délka ostnu, která se též zmenšovala. Tento jev by se dal vysvětlit, stejně jako reakce na množství živin, multifaktoriálním charakterem

prostředí. Na organismy běžně v přírodě nepůsobí pouze jedna podmínka životního prostředí, působí jich hned několik najednou. I to může stát za takto proměnlivým charakterem morfologie.

b) 2-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

U 4-buněčných cenobií vystavených změnám teplot, došlo při nižších teplotách k mírnému nárůstu rozměrů. Kmen však při kultivaci za laboratorních podmínek (22 °C) vykazoval jistou nekontinuálnost ve zvětšování rozměrů.

Dle stanovené hypotézy by k tvorbě 2-buněčných cenobií mělo docházet především v prostředí, se zvýšenou teplotou. Tento trend se potvrdil, jak je zřejmé z Přílohy 4, Obr. C a D. V tomto médiu se poměr zastoupení 2- a 4-buněčných cenobií pohyboval kolem 50% (Příloha 4, Obr. D). Zatímco v chladnějším médiu, byla tato cenobia objevena hojně pouze na začátku růstu kultury, poté došlo vlivem podmínek prostředí k jejich eliminaci a minimálnímu výskytu (9.7.2012 se 2-buněčná cenobia nevyskytovala v médiu kultivovaném při 5 °C vůbec).

V běžných kultivačních podmínkách, tzn. při teplotě 22 °C, vykazovala 2-buněčná cenobia tyto rozměry (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách): délka cenobia (A) mezi 11,47–13,52 μm, délka buňky (B) 13,15–14,92 μm, šířka buňky (C) 5,37–6,77 μm a délka ostnu (D) 9,81–10,8 μm. U některých rozměrů byl v průběhu růstu kultury znatelnější nárůst velikosti. Je zde zřejmý vztah mezi délkou cenobia a šířkou buňky, u obou těchto rozměrů je vidět, že došlo k jejich zvětšení o větší kus, než např. u délky ostnu.

U druhého média, které bylo vystaveno teplotě 5 °C dosahovala délky cenobia (A) rozměrů 11,3–13,75 μm. Jak bylo řečeno, v tomto médiu došlo postupně k eliminaci 2-buněčných cenobií a tedy hodnota 13,75 μm byla naměřena při první kontrole tohoto kmenu, kdy se zde tato cenobia vyskytovala poměrně hojně. Poté se velikost zmenšovala. V porovnání s médiem, které bylo vystaveno vyšší teplotě, jsou rozměry opět velmi podobné. Přesto však největší dosažená délka cenobia byla naměřena právě při teplotě 5 °C, což odpovídá stanovené teplotní hypotéze. Početnost 2-buněčných cenobií byla větší při teplotě 22 °C, to také potvrzuje stanovenou hypotézu.

Délka buňky (B) při teplotě 5 °C se pohyboval od 13,67–16,0 μm, takto dlouhé buňky nebyly při teplotě 22 °C nalezeny, proto je zřejmé, že při teplotě 5 °C je opět vykazován větší růst rozměrů. Cenobia při této teplotějevila rozdílnou šířku a délku, vždy bylo cenobium delší (délka buňky) než širší (délka cenobia). Délka buňky vykazovala při obou teplotách obdobný jev, na začátku délka buňky klesala téměř ze své nejvyšší hodnoty a postupem času zvětšovala svůj rozměr a opět se dostala na tuto hodnotu, někdy i výš. Například při 5 °C byla počáteční délka buňky 16 μm (uváděny průměrné hodnoty), poté klesla až k hodnotě 13,67 μm a zase stoupla k 16 μm. Při teplotě 22 °C byla počáteční délka buňky 14,81 μm, tato hodnota klesla k 13,15 μm, aby poté mohla dorůst délky 14,92 μm.

Stejně jak rostla při teplotě 5 °C délka cenobia, mělo by dojít ke zvětšování šířky cenobia. Délka cenobia se rovná přibližnému součtu šířek buněk. Šířka buňky (C) se pohybovala v rozmezí od 5 do 6,7 μm, tyto rozměry jsou velmi podobné těm, které byly naměřeny také při teplotě 22 °C. Důležité je, že došlo ke zvětšování rozměrů v rámci jednoho média a buňky tedy vykazovaly kontinuální růst.

Při vyšší teplotě byla délka ostnu (D) 9,81–10,8 μm. V médiu, které bylo uloženo za snížených teplot, délka ostnu dosahovala hodnot 9,38–11,0 μm. Zde je vidět, že minimálních i maximálních velikostí délky ostnu u 2-buněčných cenobií bylo pro tento pokus dosaženo při nižších teplotách prostředí (5 °C). Tento jev by se dal vysvětlit pomalejším tempem růstu kultury a zároveň potvrzením hypotézy, kdy by se rozměry při nižší teplotě měly zvětšovat. V rámci kmene došlo ke zvětšování rozměrů za obou teplotních podmínek.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

I zde jsou dále pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 9–16 μm, B: 11–18 μm, C: 4–8 μm, D: 7–12 μm
- b) médium se sníženou teplotou prostředí (5 °C) – A: 9–16 μm, B: 11–19 μm, C: 4–8 μm, D: 9–12 μm

- Již z výše uvedených údajů je zřejmé, že došlo k mnoha shodám v minimálních i maximálních reálných hodnotách některých rozměrů.
- Délka cenobia (A) dosahovala stejného maxima i minima za obou teplotních podmínek. Minimum této hodnoty bylo 9 μm a maximum 16 μm , pro obě teplotní podmínky. Ani tady není viditelná odlišnost rozměrů, ty byly velmi podobné za obou sledovaných teplot i co se týče průměrných hodnot uvedených výše.
- Ani délka buňky (B) se razantně nelišila ve svých minimálních a maximálních hodnotách. Pro obě teplotní podmínky bylo nalezené minimum délky buňky 11 μm . Maximum se už liší, ale ne o mnoho. Za běžné teploty byla maximální změřená délka buňky 18 μm , za snížené teploty to bylo o 1 μm více, tedy 19 μm . Tyto údaje potvrzují stanovenou hypotézu, kdy větší rozměry by měla vykazovat cenobia uložena v klimatizačním boxu při teplotě 5 °C.
- Šířka buňky (C) byla opět pro obě teplotní podmínky stejná jak ve své minimální tak také maximální hodnotě. Minimum pro obě teploty bylo 4 μm a maximum 8 μm . Opět je zřejmý trend blízké podobnosti nalezených rozměrů a minimum odchylek ve velikosti zkoumaných rozměrů.
- Rozměr D, délka ostnu, se lišil pouze v minimální nalezené hodnotě. Za běžné kultivační teploty byla minimální naměřená délka ostnu 7 μm . V klimatizačním boxu za nižší teploty prostředí to bylo o 2 μm více, tedy 9 μm . Maximální získané hodnoty byly i zde totožné. Maximum délky ostnu bylo 12 μm . Zde tedy osten vykazoval podobný trend jako předchozí rozměry (A, B, C).
- Ke změnám fenotypu v rámci 2-buněčných cenobií zde nedošlo ani za běžné teploty 22 °C ani za teploty snížené na 5 °C.

Stejně jako u 4-buněčných cenobií tak i zde, došlo k výraznějšímu nárůstu průměrných velikostí právě při nižších teplotách (5 °C). Rozdíly ve sledovaných velikostech opět nebyly obrovské, ale byly měřením zachytitelné. Kdežto reálné minimální a maximální získané hodnoty byly téměř shodné.

Cenobia 4-buněčná vykazovala při teplotě 22 °C značný nepoměr v růstu jednotlivých částí cenobia. U 2-buněčných cenobií se tento trend nepotvrdil. Když došlo ke

zvětšování jednoho rozměru, zvětšovaly se i rozměry ostatní. Růst zde byl spíše kontinuální, ve srovnání se 4-buněčnými cenobii.

c) 8-buněčná cenobia

Při změně teploty k nižším hodnotám (5 °C), ale také při běžné teplotě došlo ke tvorbě 8-buněčných cenobií, ovšem pouze sporadicky. Jak vyplývá z Přílohy 4, Obr. C a D, tvořila tato cenobia nepatrný podíl v porovnání s cenobii 2- a 4-buněčnými. Bohužel z důvodu špatné polohy těchto cenobií při dokumentaci, nebyly naměřeny sledované rozměry, proto nemohou být zahrnuty do celkového porovnání.

Byla zde zachycena změna fenotypu, kdy 8-buněčné cenobium vytvořilo za snížené teploty v prostředí (5 °C) 7mi ostný útvar, uvedeno na Obr. 8, ale také Příloha 6, Obr. F.

Shrnutí

Teplota jako limitující faktor všech organismů na Zemi se v pokusu neprojevila příliš razantně. Zvětšování nebo zmenšování velikostí nebylo drastické. Sledované rozměry druhu *Desmodesmus communis* se v jednotlivých teplotních podmínkách příliš nelišily.

Stanovená hypotéza (kap. 3.5.2) byla i přesto částečně potvrzena. Při experimentu došlo ke zvětšování velikosti buněk a cenobií v chladnějším prostředí (5 °C) a více se tvořila 4-buněčná cenobia. Tento jev se předpokládal, vzhledem ke stanovené hypotéze. Kultura uložena v klimatizačním boxu tedy vytvářela předpokládané změny.

Zatímco v teplejším prostředí (22 °C) dosahovaly buňky a cenobia menších rozměrů. Nedocházelo zde ovšem k typickému rozpadu cenobií na např. 1-buněčné útvary, což by bylo žádoucí, ke kompletnímu potvrzení stanovené hypotézy, ale byl zde větší výskyt 2-buněčných cenobií.

Zajímavé je, že 4-buněčná cenobia nezvětšovala své rozměry rovnoměrně při teplotě 22 °C. Jako méně proměnlivá, co se týká změny velikostí buněk, se jevila kultura pěstovaná při nižších teplotách. Dosahovala větších rozměrů a docházelo zde ke kontinuálnímu růstu rozměrů. Druh *Desmodesmus communis* je kosmopolitně rozšířen, a možná právě proto, se bez problémů a bez větších a výraznějších změn fenotypu přizpůsobil i nízkým teplotám, které pro něj (při 5 °C) zatím ještě nebyly letální. Jak již bylo řečeno, změněná teplota prostředí nebyla v tomto pokusu faktorem, který by přinesl

výrazné změny fenotypu (Obr. 11 a 12). Nezpůsobila ani markantní změny morfologie, jak dokládají tabulky v Příloze 2, Tab. F–CH.

Změny fenotypu byly pozorovány již po 2 dnech od naočkování kultur (při 22 °C). V jednotlivých kontrolách nebyly fenotypy zastoupeny konstantně. Ve dnech 27.6., 29.6. a 4.7.2012 byl ve vzorku nalezen pouze jeden nový fenotyp. V ostatních dnech sledování, tedy 2.7., 9.7. a 12.7.2012.

Fenotyp byl proměnlivý také u cenobií, která byla uložena v klimatizačním boxu za teploty 5 °C. Zde byla změna fenotypu pozorována až po 7 dnech od naočkování kultury a jejího uložení do klimatizačního boxu. Opět výskyt nových fenotypů nebyl konstantní, dne 2.7. a 4.7.2012 byl nalezen jeden nový fenotyp oproti kultuře pěstované za běžných laboratorních podmínek (22 °C). V ostatních dnech nebyly zaznamenány změny fenotypu (27.6., 29.6., 9.7. a 12.7.2012).

Jak již bylo řečeno, fenotypovou plasticitou rodu *Scenedesmus* (*Desmodesmus*) *communis* v reakci na změny teploty v prostředí se zabýval TRAINOR (1992). Zmíněný autor zde popisuje, jak tento druh zelené řasy reaguje při teplotě 10 a 22 °C. Ve své práci uvádí, že při teplotě 22 °C docházelo více k tvorbě 4- a 8-buněčných cenobií a tato cenobia vytvářela ostny na vnitřních buňkách (TRAINOR 1992). Trend tvorby 8-buněčných cenobií se v této studii příliš nepotvrdil. Během sledování kultury byla pozorována zejména 2- a 4-buněčná cenobia, 8-buněčná cenobia byla nalezena jen sporadicky a to v pouze dne 4.7.2012. Shoda mezi TRAINOREM (1992) a tímto pokusem byla nalezena při tvorbě ostnů na vnitřních buňkách. V rámci experimentu byly vytvořeny 3 nové fenotypy (Obr. 11), z nichž 2 měly také ostny na vnitřních buňkách. Podobné morfotypy prezentoval ve své studii také TRAINOR (1992).

TRAINOR (1992) dále uvádí, že po 4 týdnech růstu kultury v BBM médiu, byla většina cenobií tvořena 8 buňkami. Jak bylo uvedeno výše, v této práci k tvorbě 8-buněčných cenobií docházelo pouze sporadicky, jejich výskyt nebyl hojný a už vůbec nedominovala tato cenobia ve vzorku. Ve studii TRAINORA (1992) muselo v rámci pokusu docházet k přeočkování kultur do nových živných médií (z důvodů postupného vyčerpávání potřebných živin či vysychání kultivačního roztoku a odumírání buněk). V tomto experimentu nedocházelo k přeočkování kultury, a proto také po 4 týdnech sledování byla tato kultura téměř odumřelá.

Dalším zajímavým jevem, který byl pozorován ve studii TRAINORA (1992), bylo uspořádání ostnů na buňkách. Autor uvádí, že při teplotě 22 °C vykazovala více než

polovina cenobií netypické uspořádání ostnů, které je charakteristické pro 4-buněčná cenobia. Experiment potvrdil i toto tvrzení, došlo ke tvorbě cenobií, která měla netypické uspořádání ostnů na buňkách.

I přesto, že v rámci pokusu nedocházelo k přeočkování kultury, v mnohém se shoduje se studií TRAINORA (1992). Byla nalezena 4- i 8- buněčná cenobia, fenotypově projevy byly velmi podobné, tvořily se ostny na vnitřních buňkách a byly velmi netypického postavení (ve srovnání s popisem *D. communis* uvedeným v determinační literatuře, HINDÁK 1990).

TRAINOR (1992) dále uvádí, že docházelo k nárůstu početnosti 4-buněčných cenobií po 6ti týdnech sledování. Toto bohužel není možné porovnat, v tomto experimentu nedocházelo k přeočkování a kultura byla již po 4 týdnech odumřelá. TRAINOR (1992) zde pozoroval také trend tvorby kratších ostnů v pozdějších týdnech kultivace, které byly 2 nebo žádné. Ze stejného důvodu jako je uvedeno výše opět nelze porovnat s provedeným experimentem.

5.3 pH

Desmodesmus communis je řasa, která obývá téměř všechny biotopy. Byl popsán jako kosmopolitně rozšířený. Hodnoty pH, které jsou pro jeho život ideální, se pohybují v širokém rozmezí = široká ekologická valence vůči pH. V běžných laboratorních podmínkách byl tento kmen kultivován ve 2N BBM o pH = 6,9. V experimentu zaměřeném na fenotypový a morfologický projev této řasy, bylo pH k těmto účelům sníženo na hodnotu $5 \pm 0,1$. Autoři ČERNÁ et NEUSTUPA (2010) sledovali vliv snižování hodnot pH na řasách ze skupiny Desmidiatales, zde se projevila plasticita zvětšením velikostí buněk, ale také zde došlo ke změně tvaru buněk a cenobií. Tento trend se očekával také v tomto experimentu.

V kultivačním médiu, kde došlo ke snížení hodnoty pH na $5 \pm 0,1$, docházelo ke tvorbě 2- a 4-buněčných cenobií, 8-buněčná cenobia nebyla vytvořena vůbec. Poměr zastoupení 2- a 4-buněčných cenobií byl během sledování poměrně konstantní, vždy se zde nacházela v poměru zhruba 50% : 50% (Příloha 4, Obr. E). To, že zde nedošlo ke tvorbě 8-buněčných cenobií potvrzuje stanovenou hypotézu (kap. 3.5.1), která uvádí, že při posunu pH do kyselé oblasti by mělo dojít ke zvětšování velikosti buněk a cenobií a ke změně tvaru buněk, nikoli k tendenci tvořit vícebuněčná cenobia.

5.3 1 Vzájemné srovnání kultur pěstovaných při pH 6,9 versus pH 5

a) 4-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Kmen kultivovaný za běžných laboratorních podmínek při pH 6,9 vykazoval tyto rozměry cenobií (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnižší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách) – A: 20,68–22,33 μm , B: 13,0–14,68 μm , C: 4,68–5,1 μm a D: 11,0–11,44 μm . Tyto hodnoty jsou opět průměrné, mohla se zde vyskytovat i rozměrově větší cenobia, avšak nevyskytovala se v hojné míře a na průměrných hodnotách se jejich velikost příliš neprojevila.

Délka cenobia (A) kultury, která byla vystavena sníženému pH v prostředí, dosahovala při kontrolách hodnot mezi 21,69–24,09 μm . Ve srovnání s médiem, které vykazovalo hodnoty pH 6,9 došlo k nárůstu minimální hodnoty rozměru o téměř o 1 μm . Ovšem samotná kultura během svého růstu v kultivačním roztoku s nižší hodnotou pH vykazovala klesající tendenci rozměrů. Největší délka cenobia byla naměřena na počátku růstu kultury a postupně se tyto rozměry zmenšovaly. Kmen byl přeočkován z pro něj běžných podmínek kultivace, do podmínek pro něj ne příliš běžných. Je zde patrná tendence zvyšování velikostí oproti 2N BBM médiu s pH 6,9. Tento jev potvrzuje stanovenou hypotézu, kdy by se buňky a cenobia v reakci na snížené pH v prostředí měly zvětšovat.

Na rozměru délky buňky (B) bylo možné sledovat stejný trend. Během kultivace v nižším pH došlo k postupnému zmenšování tohoto rozměru. Délka buňky zde dosahovala rozměrů 13,43–14,94 μm , kdy došlo tedy k poklesu o 1,5 μm během sledovaného období v rámci této kultury. V porovnání s kmenem kultivovaným za běžných hodnot pH, došlo opět k nárůstu minimální velikosti. Co se týče nejvyšší průměrné hodnoty, jevílo médium s běžným pH menší hodnotu rozměru o několik desetin mikrometrů (pH 6,9 = 14,68 μm X pH 5 = 14,94 μm).

Šířka buňky (C) ovšem nejevila ryze klesající charakter v průběhu kultivace za pH 5. Hodnoty tohoto rozměru se pohybovaly v rozmezí 5,0–5,86 μm a ve srovnání s běžným pH jsou tyto hodnoty vyšší. Maximální hodnoty se liší o více než 0,5 μm (pH 6,9 = 5,1 μm X pH 5 = 5,86 μm). V případech, kdy docházelo k nárůstu rozměru délky cenobia, nedocházelo vždy k nárůstu šířky sledované buňky (pozn. vždy byla měřena 2. buňka

zkraje). Pravděpodobně tedy docházelo k nepravidelnému nárůstu šířek buněk ostatních, možná jen okrajových, ovšem v některých případech byl zaznamenán i nárůst velikosti šířky sledované buňky). Růst této buňky nekoreluje vždy s růstem délky cenobia.

Délka ostnu (D) v kultivačním médiu se sníženou hodnotou pH nepřesáhla hodnotu 12,1 μm . V minimech se hodnoty přiblížily minimální průměrné délce ostnu, která byla naměřena v běžném kultivačním médiu. Ani u délky ostnu se neprojevil výrazný trend snižování délky v průběhu kultivace. Velikost ostnu byla velmi proměnlivá. V jednom období dosahovala své maximální hodnoty 12,1 μm a hned při další kontrole po 4 dnech tato hodnota klesla na minimální naměřenou hodnotu 10,62 μm . Je diskutabilní, proč zrovna v tomto období došlo právě k těmto výrazným změnám, mohl zde právě v tuto dobu působit i jiný faktor prostředí, který nebyl při tomto pokusu zachycen.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

I nyní jsou dále pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru):

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 17–28 μm , B: 12–17 μm , C: 4–6 μm , D: 9–16 μm
- b) médium se sníženou hodnotou pH (pH $5 \pm 0,1$) – A: 19–28 μm , B: 11–17 μm , C: 4–7 μm , D: 9–15 μm
 - o Minimální hodnota rozměru A (délka cenobia) dosahovala za běžného pH kultivačního roztoku (pH = 6,9) 17 μm . Za sníženého pH ($5 \pm 0,1$) to bylo více o 2 μm , tedy 19 μm . Již tento fakt potvrzuje stanovenou hypotézu, kdy by cenobia za sníženého pH měla zvětšovat rozměry. Maximální délka cenobia byla za běžné hodnoty pH 28 μm , za sníženého pH byla tato hodnota shodná. Maximální délka cenobia byla tedy pro obě hodnoty pH 28 μm .
 - o Délka buňky (B) se ve svých minimech pohybovala za běžných podmínek kultivace kolem 12 μm . Za sníženého pH v prostředí to bylo ještě méně, jen 11 μm . Zde se tedy trend rozměru A prozatím nepotvrdil. Maximální naměřená délka buňky za

běžných podmínek byla 17 μm , stejně tomu bylo také za sníženého pH v prostředí. I toto maximum je pro obě hodnoty pH totožné, stejně jako tomu bylo u rozměru A.

- Co se týká šířky buňky (C) ani zde nejevila cenobia markantní odlišnosti. Minimální reálná hodnota šířky buňky byla opět pro obě média (s pH 6,9 i 5) shodná a to 4 μm . Maximum se lišilo jen o 1 μm , kdy za běžného pH bylo maximum vyšší a dosáhlo hodnoty 8 μm , zatímco za sníženého pH to bylo jen 7 μm .
- Délka ostnu (D) bývá proměnlivá a často nezávislá na trendech ostatních sledovaných rozměrů. I v tomto případě tomu není jinak. Nejsou zde shody ani v minimech ani v maximech naměřených hodnot. Délka ostnu ve své minimální hodnotě nabývala za běžných podmínek rozměru 7 μm . Za sníženého pH došlo k navýšení minimální změřené hodnoty až na 9 μm . Minimální hodnoty tedy nejevily shodu. Maxima se také lišila. Při běžném pH kultivačního media (pH = 6,9) se maximum vyšplhalo k hodnotě 12 μm , zatímco za sníženého pH dosáhlo ještě větší maximální délky a to 15 μm . Délka ostnu je tedy opět nevyzpytatelný rozměr, který nejeví stejné trendy jako ostatní sledované rozměry a reaguje na změny podmínek prostředí odlišně.
- V porovnání vytvořených fenotypů se úrodnější jeví prostředí se sníženým pH. Zde bylo během experimentu vytvořeno 9 zcela nových fenotypů, které nebyly pozorovány během ostatních pokusů ani v běžné kultuře. Za běžného pH byly vytvořeny pouze 2 fenotypy. Srovnání fenotypů pro tento pokus naleznete v Obr. 11 a Obr. 14. Příklad zmnožení ostnů *D. communis* za snížených hodnot pH je znázorněn v Příloze 6, Obr. A.

Experiment se snižováním hodnot pH v kultivačním prostředí byl nejurodnější, co se týká tvorby plastických odpovědí. Jak ukazuje Obr. 14, bylo zde vytvořeno nejvíce fenotypů s velice rozmanitými projevy. Nejčastěji docházelo ke změně tvaru buněk, který se z oválného tvaru změnil na jednostranně protažený, kapičkovitý, jak dokazuje Příloha 6, Obr. B.

Hypotéza (kap. 3.5.1) byla tímto pokusem potvrzena. Při změně pH by měly řasy měnit tvar a mělo by dojít ke zvětšování rozměrů buněk a cenobií. V rámci experimentu

došlo jak ke změně fenotypu, tak se zvětšovaly rozměry buněk a cenobií ve srovnání s kulturou pěstovanou za běžné hodnoty pH (6,9).

Kmen *Desmodesmus communis* byl při tomto pokusu pozorován v delších intervalech, než tomu bylo v pokusu se změněným množstvím využitelných forem dusíku v prostředí a se změnou pH. Kontroly zde byly prováděny zpravidla po 3–4 dnech a to proto, že tento pokus byl vytvořen v lednu a růst kultury v tomto období jevil pomalejší ráz v důsledku snížené světelné intenzity. I přesto byly změny fenotypu pozorovány poměrně brzy od naočkování a to po 3 dnech. Byla zde pozorována značná variabilita fenotypů v rámci prováděných kontrol. Ve dnech 7.1., 10.1., 21.1., 25.1. a 29.1.2013 bylo objeveno více nových fenotypů ve srovnání s kulturou, pozorovanou před zahájením pokusu. Kdežto 16.1.2012 byl nalezen pouze jeden nový fenotyp ve srovnání s kulturou pěstovanou za standardních podmínek. Při každé kontrole byl nalezen minimálně jeden fenotyp, který se lišil od běžného 4-buněčného cenobia se 4 ostny.

b) 2-buněčná cenobia

Průměrné maximální a minimální naměřené rozměry:

Při všech pokusech vlivu změn abiotických podmínek na plasticitu *Desmodesmus communis*, které byly prováděny v rámci této studie, došlo ke tvorbě 2-buněčných cenobií. Jinak tomu není ani v tomto případě. Poměr 2- a 4-buněčných cenobií byl po celou dobu experimentu vyrovnaný a často se blížil poměru 50 : 50. Již bylo řečeno, že 4-buněčná cenobia nevykazovala trend růstu rozměrů v průběhu kultivace, ale bylo zde vytvořeno mnoho fenoplastických odpovědí na změnu pH.

Rozměry 2-buněčných cenobií, která byla kultivována za běžných hodnot pH (6,9), se pohybovaly (hodnoty rozměrů A–D uvedené dále jsou průměrné nejnížší a nejvyšší hodnoty rozměrů ve všech kontrolách): A: 11,31–13,52, B: 13,15–14,92, C: 5,37–6,77 a D: 9,81–10,8 μm .

V médiu s nižší hodnotou pH vytvořil kmen cenobia s délkami (A) 12–14,54 μm . Tyto hodnoty jsou prokazatelně vyšší, než průměrná hodnota tohoto rozměru za běžných podmínek. Jak je uvedeno výše, cenobia v pH 6,9 dosahovala délek až 13,52 μm , přesto je zřejmé, že v pH $5 \pm 0,1$ došlo ke zvětšování tohoto rozměru.

Délka buňky (B) se v kultivačním médiu se sníženou hodnotou pH pohybovala od 12,67–15,45 μm . V průběhu kultivace došlo ke změně rozměru o téměř 3 μm . V porovnání

s pH = 6,9, kde délka buňky dosahovala průměrného rozměru 13,15–14,92 μm , vykazuje tedy médium s nižším pH větší průměrné maximální rozměry.

Délka cenobia během kultivace s nižší hodnotou pH klesala, stejně jako délka buňky. Stejně je tomu také u šířky buňky (C), cenobium tedy vykazuje kontinuální zmenšování všech rozměrů, což u 4-buněčného cenobia nebylo tak zřejmé. Šířka buňky v tomto médiu nepřesáhla 7,27 μm , kterých dosahovala ihned na počátku růstu, poté šířka buňky klesala až k hodnotě 6,2 μm . Přesto že trend v rámci kmene je klesající, v porovnání s kmenem kultivovaným za běžných podmínek došlo ke zvětšení rozměrů, jak ukazují uvedená data.

Klesající trend v rámci kultivovaného období (v pH $5 \pm 0,1$) vykazuje také délka ostnu (D), která dosáhla na počátku růstu hodnoty 11,36 μm , během kultivace však tato hodnota klesla až na 9,83 μm . Velikost ostnu se tedy zmenšovala v průběhu kultivace, ale v porovnání se základní kulturou (pH = 6,9) byla délka ostnu v průměru větší.

Reálné maximální a minimální naměřené rozměry:

I nyní jsou dále pro přehlednost uvedeny hodnoty, které byly zaznamenány během kontrol a značí nejmenší a největší nalezený reálný rozměr (tedy minimální a maximální reálně naměřená hodnota daného rozměru).

- a) běžné kultivační médium (2N BBM, 22 °C, pH 6,9) – A: 9–16 μm , B: 11–18 μm , C: 4–8 μm , D: 7–12 μm
- b) médium se sníženým pH v prostředí (pH $5 \pm 0,1$) – A: 10–18 μm , B: 11–17 μm , C: 5–9 μm , D: 8–14 μm
 - o Délka cenobia (A) nejevila shodu, jako tomu bylo u 4-buněčných cenobií. Minimální změřená hodnota délky cenobia za běžného pH byla 9 μm , zatímco za sníženého pH to bylo o 1 μm více, tedy 10 μm . Maximální naměřené hodnoty jsou také odlišné. V běžném médiu bylo maximum délky cenobia 16 μm , v médiu se sníženým pH (5) to bylo dokonce 18 μm . Tato rozdílnost opět potvrzuje stanovenou hypotézu, kdy za sníženého pH by mělo dojít k nárůstu velikosti rozměrů cenobií.

- Rozměr B (délka buňky) jevil alespoň částečnou shodu. Minimální změřené hodnoty délky buňky jsou totožné – 11 μm . Ani maximální reálné hodnoty se extrémně neodlišují. Za běžného pH bylo získané maximum 18 μm , za sníženého pH to bylo obdobně a to 17 μm .
- Šířka buňky (C) byla opět rozdílná jak v minimech, tak v maximech. Minimum pro běžné médium bylo 4 μm , zatímco při sníženém pH bylo minimum tohoto rozměru vyšší a činilo 5 μm . Ani maxima nejevila shodu. Při pH 6,9 byla maximální šířka buňky 8 μm , avšak při pH $5 \pm 0,1$ to bylo o něco více – 9 μm . Opět se touto hodnotou potvrzuje hypotéza.
- Co se týče nejvíce proměnlivého rozměru (délka ostnu, D), v tomto případě neprojevoval markantní odlišnosti oproti ostatním rozměrům (A, B, C). Minima byla téměř shodná, za běžného kultivačního pH činila délka ostnu 7 μm a za sníženého pH v prostředí o 1 μm více, tedy 8 μm . Více se lišila maxima. Maximální délka ostnu, která byla pozorována za běžných podmínek, byla 12 μm . Při sníženém pH to bylo více, zde maximum dosahovalo hodnoty až 14 μm . I nyní dochází díky této hodnotě k potvrzení hypotézy.
- Změny fenotypu 2-buněčných cenobií kultivovaných za sníženého pH v prostředí ($5 \pm 0,1$) nebyly pozorovány.

Je zřejmé, že při tomto pokusu došlo ke změně morfologie buněk, v průběhu kultivace klesaly velikosti rozměrů. V porovnání s kulturou pěstovanou při pH = 6,9 však velikosti narostly. Změna pH v prostředí měla tedy u 2-buněčných cenobií zásadní vliv na změnu morfologie, nebyly nalezeny důkazy o změně fenotypu.

Shrnutí

Z uvedených údajů plyne, že změna hodnot pH v prostředí měla vliv jak na morfologii, tak na fenotyp (pouze u 4-buněčných cenobií). Projev fenotypu byl viditelný a je schématicky zobrazen na Obr. 14. Změna morfologie a i fenotypu byla pozorována při každé kontrole této kultury (pH = $5 \pm 0,1$), kdy došlo ke zvětšování či zmenšování sledovaných rozměrů, tak se také lišily tyto rozměry v porovnání s kulturou pěstovanou za

běžných laboratorních podmínek (pH = 6,9). Je diskutabilní, proč ke změně fenotypu došlo pouze u 4-buněčných cenobií. Může to být způsobeno celkově větší plochou, která byla vystavena změněným podmínkám nebo to může být způsobeno jiným faktorem prostředí, který nebyl zároveň s touto podmínkou sledován.

S pH související fenotypovou plasticitu zkoumali na dvou druzích krásivek (*Euastrum binale* var. *gutwinskii*, *Staurastrum hirsutum*) ČERNÁ et NEUSTUPA (2010). V rámci studie snižovali pH od 3,5 do 6,5. Popsali zde změnu tvaru buněk při nižším pH, kdy byly buňky více válcovité s menšími zářezy než jak tomu bylo při vyšším pH. V experimentu, kdy došlo ke snižování pH na hodnotu $5 \pm 0,1$, nelze porovnávat získaná data se studií ČERNÉ et NEUSTUPY (2010). Již samotná morfologie těchto řas je odlišná, proto nelze porovnat fenotypy *Desmodesmus communis*, pokud tento druh nevytváří zářezy a jiné struktury typické pro krásivky. Tyto změny, i kdyby nastaly, by byly velmi těžko zachytitelné zde využívanými analýzami (v tomto případě by bylo vhodné využití geometrické morfometriky (umístování landmarků na obrys buněk), jakou ve své studii použili zmínění autoři). Stanovená hypotéza byla vytvořena na základě autorů ČERNÁ et NEUSTUPA (2010), byla potvrzena. Došlo zde ke zvětšování rozměrů ve srovnání s kulturou pěstovanou při pH 6,9 a buňky jeví výrazné změny tvaru, jak uvádí hypotéza. Přesto, že byly ve studii ČERNÉ et NEUSTUPY (2010) zkoumány druhy ze skupiny krásivek, reakce řas se v podstatě nelišily.

5.4 Srovnání zaznamenaných fenotypů s popsány druhy r. *Desmodesmus*

Dnes existuje několik stovek druhů rodu *Desmodesmus*. Dříve při nalezení nového druhu, nedocházelo ke genetickým analýzám a potvrzení, zda popisovaný druh je opravdu taxonomicky unikátní, nebo zda se jedná o již dříve nalezený druh, který změnil svůj tvar a velikost plasticity závislosti na změně vnějších podmínek. Proto v dřívějších dobách docházelo k objevování a pojmenování stále nových a nových druhů, které bychom dnes objektivně mohli s velkou pravděpodobností zařadit pod menší počet druhů, než je uváděno v tradičních morfologicky pojatých determinačních klíčích.

Jak je známo, rod *Desmodesmus* byl dříve společně s aktuálně platným rodem *Acutodesmus* (FRIEDL et HEGEWALD 1999, TSARENKO et PETLEVANNY 2001) souhrnně nazýván *Scenedesmus*. Většina z více než 1300 taxonů *Scenedesmus* uvedených

v komentovaném katalogu od HEGEWALDA et SILVY (1988) byla popsána bez ohledu na existenci fenotypové plasticity či cyklomorfózy. Při objevování nových druhů se tedy počítalo s tím, že pokud daný jedinec vypadá jinak než druhy prozatím nalezené, jedná se o zcela nový druh. Což bylo z dnešního úhlu pohledu zcela mylné. Dnes tato problematika zaměstnává mnoho vědců z oborů genetiky, ale také algologie a jiných oborů, kteří se snaží zredukovat počet dosud popsaných taxonů a projevy plasticity nebo různé fáze cyklomorfózy zařadit dle analýzy sekvencí různých genů do již existujících taxonů.

V rámci této práce byla mj. snaha porovnat zaznamenané fenotypy sledované monokultury na základě vzhledu a rozměrů s platně popsanými morfologickými druhy rodu *Desmodesmus* a případně komentovat podobnost nalezených shod.

Při srovnání zaznamenaných fenotypů (Obr. 8, 11, 12, 14) nebyla nalezena shoda fenotypů s morfologickými druhy popsanými v monografii HINDÁKA (1990) a práci KOMÁRKA et FOTTA (1983). Pouze v jedné studii (TRAINOR 1992) byl nalezen stejný fenotyp v reakci na stejnou změnu podmínky prostředí, avšak i v této studii byl sledovaným druhem *D. communis*. Přesto, že tato studie nenalezla shodu s jinými druhy rodu *Desmodesmus*, o této skutečnosti není pochyb. Na základě těchto informací lze zpochybnit dosud popsaný počet druhů rodu *Desmodesmus*, avšak bez provedení analýz výchozích autentických kultur není možné objasnit, zda byly tyto druhy určeny správně.

6 Závěr

Studium fenotypové plasticity je dlouhodobě vědecky atraktivní a současně nezbytná součást popisu nových či ověření platnosti stávajících druhů řas. Tato práce byla zaměřena na studium fenotypového projevu zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na proměnlivé podmínky životního prostředí. Kmen byl vystaven změně teploty, množství živin a hodnoty pH v prostředí. Všechny tyto faktory byly zkoumány jednotlivě a nebyl zároveň s nimi pozorován jiný faktor, který by mohl mít vliv na změnu fenotypu.

Úpravou podmínek prostředí bylo prokázáno, že zelená řasa *D. communis* reaguje na změněné podmínky prostředí změnou fenotypu. Byla pozorována fenotypová plasticita, která jevíla nejzřetelnější ráz za změny podmínek pH. Plasticita byla pozorována v rámci všech prováděných pokusů.

Provedením pokusu se zvýšeným a sníženým množstvím dostupných živin v prostředí nebyla stanovená hypotéza potvrzena. Buňky/cenobia se měly v prostředí s více dusíkem zvětšovat, to platilo pouze o 4-buněčných cenobiích a ani zde nebylo zvětšení rozměrů oproti původní kultuře markantní. Naopak reakce 2-buněčných cenobií naprosto zavrhlá stanovenou hypotézu, ta dokonce zmenšovala svoje rozměry v prostředí s větším množstvím využitelných forem dusíku (3N BBM). Hypotézu dále vyvrací fakt, že jak 4-buněčná tak také 2-buněčná cenobia zvětšila svůj rozměr v médiu ochuzeném o dusík (0,5N BBM). V tomto médiu mělo dle hypotézy dojít ke zmenšování velikosti cenobií, nikoli k jejich nárůstu, který byl více než zjevný.

Při experimentu se snižováním teploty v prostředí mělo dle hypotézy docházet k tvorbě větších buněk a cenobií za snížené teploty. V průběhu pokusu se tato hypotéza potvrdila. V chladnějším prostředí dosahovaly buňky i cenobia větších rozměrů, potvrzeno to bylo jak na 2-buněčných tak i na 4-buněčných cenobiích.

Poslední prováděný pokus, byl pokus se snižováním hodnot pH v prostředí. Z hypotézy vyplývá, že při nižším pH v prostředí by se měla tvořit rozměrově větší cenobia/buňky. Provedeným pokusem se tato hypotéza opět potvrdila. Nárůst rozměrů vykazovala 2- i 4- buněčná cenobia.

Závěrem nutno dodat, že tato studie by mohla ukázat ještě zajímavější výsledky za použití dalších metod výzkumu (např. zkřížených gradientů), kdy by došlo ke zkoumání více podmínek prostředí najednou. Statisticky průkaznější by také bylo vyhodnotit sledované parametry statistickými metodami, které by přinesly jasnější výsledky

o proměnlivosti morfologie buněk a cenobií, ale také by umožnily lepší vyhodnocení vlivu jednotlivých faktorů.

7 Resumé

Tato diplomová práce je zaměřena na studium fenotypové plasticity zelené řasy *Desmosmodesmus communis*. Plasticita byla sledována při změně abiotických faktorů v prostředí – množství dostupných živin, teplota, pH. V průběhu kultivace byla studována změna rozměrů buněk, cenobií a ostnů a variabilita fenotypového projevu. Zaznamenané změny morfologie a fenotypu byly srovnávány s *D. communis* pěstovaným za laboratorních podmínek.

This thesis is focused on the study of phenotypic plasticity of the green alga *Desmosmodesmus communis*. The plasticity was observed when changing abiotic factors during cultivation – the amount of available nutrients, temperature, pH. Changes in dimensions of cell, cenobia and spines and phenotypic variability were studied. The recorded changes in morphology and phenotype were compared with the culture of *D. communis* cultivated under the laboratory conditions.

8 Literatura

- AGRAWAL, A.A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. – *Science* **294**: 321-326.
- AKTAN, Y., LUGLIÉ, A. et SECHI, N. 2009. Morphological plasticity of dominant species in response to nutrients dynamics in Bidighinzu reservoir of Sardinia, Italy. – *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science* **9**: 137-144.
- AMBROŽOVÁ, J. 2004. Mikrobiologie v technologii vod. – *Vydavatelství VŠCHT Praha*, 1-244. Praha.
- ANDERSON, S. et WIDEN, B. 1993. Pollinator-mediated selection on floral traits in a synthetic population of *Senecio integrifolius* (Asteraceae). – *Oikos* **66**: 72-79.
- ANDERSSON, S. et SHAW, R.G. 1994. Phenotypic plasticity in *Crepis tectorum* (Asteraceae): genetic correlations across light regimens. – *Heredity* **72**: 113-125.
- ATKINSON, D., CIOTTI, B.J. et MONTAGNES, J.S. 2003. Protists decrease in size linearly with temperature: ca. 2,5% °C⁻¹. – *Proceedings the royal of society, Biological science* **270**(1533): 2605-2611.
- AYRINHAC, A., DEBAT, V., GIBERT, P., KISTER, A.G., LEGOUT, H., MORETEAU, B., VERGILINO, R. et DAVID, J.R. 2004. Cold adaptation in geographical populations of *Drosophila melanogaster*: phenotypic plasticity is more important than genetic variability. – *Functional Ecology* **18**: 700-706.
- BERRIGAN, D. et KOELLA, J.C. 1994: The evolution of reaction norms: simple-models for age and size at maturity. – *Journal of Evolutionary Biology* **7**: 549-566.
- BORAAS, M.E., SEALE, D.B. et BOXHORN, J.E. 1998. Phagotrophy by a flagellate selects for colonial prey : a possible origin of multicellularity. – *Evolutionary Ecology* **12**: 153-164.
- BRAKEFIELD, P.M. et REITSMA, N. 1991. Phenotypic plasticity, seasonal climate and the population biology of *Bicyclus butterflies* (Satyridae) in Malawi. – *Ecological Entomology* **16**: 291-303.
- BRANDSHAW, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. – *Advances in genetics* **13**: 115-155.
- BRAUER, V.S., DE JONGE, V.N., BUMA, A.G.J. et WEISSING, J. 2009. Does universal temperature dependence apply to communities? An experimental test using natural plankton marine assemblages. – *Oikos* **118**: 1102-1108.

- CAVICCHI, S., GUERRA, D., GIORGI, G. et PEZZOLI, C. 1985. Temperature-related divergence in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. I. Genetic and developmental basis of wing size and shape variation. – *Genetics* **109**(4): 665-689.
- ČERNÁ, K. et NEUSTUPA, J. 2010. The pH-related morphological variations of two acidophilic species of Desmidiaceae (Viridiplantae) isolated from a lowland peat bog, Czech republic. – *Aquatic Ecology* **44**: 409-419.
- DAVERAT, F., LIMBURG, K.E., THIBAUT, I., SHIAO, J.C., DODSON, J.J., CARON, F., TZENG, W.-N., IZUKA, Y. et WICKSTRÖM, H. 2006. Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species *Anguilla anguilla*, *A. japonica* and *A. rostrata*. – *Marine Ecology Progress Series* **308**: 231-241.
- DAY, T., PRITCHARD, J. et SCHLUTER, D. 1994. Ecology and genetics of phenotypic plasticity: A comparison of two sticklebacks. – *Evolution* **48**: 1723-1734.
- DE JONG, G. 1990a. Quantitative genetics of reaction norms. – *Journal of Evolutionary Biology* **3**: 447-468.
- DE JONG, G. 1990b. Genotype by environment interaction and the genetic covariance between environments: multilocus genetics. – *Genetica* **81**: 171-177.
- DE JONG, G. 1994. Phenotypic plasticity as a product of selection in a variable environment. – *American Naturalist* **145**: 493-512.
- DE KROON, H., HUBER, H., STUEFER, J.F. et VAN GROENENDALEN, J.M. 2005. A modular concept of phenotypic plasticity in plants. – *New Phytologist* **166**: 73-82.
- DENVER, R.J. 1997. Proximate mechanisms of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. – *American Zoologist* **37**: 172-184.
- DEWITT, T. et SCHEINER, S.M. 2004. Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches. – *Oxford University Press*, 1-272. Oxford.
- EGAN, P.F. et TRAINOR, F.R. 1989. Low cell density: the unifying principle for unicell development in *Scenedesmus* (Chlorophyceae). – *British Phycological Journal* **24**: 271-283.
- EGAN, P.F. et TRAINOR, F.R. 1990. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus communis* (Chlorophyceae). I. Relationship of *S. communis* to *S. komarekii*. – *Journal of Phycology* **26**: 367-376.
- EGAN, P.F. et TRAINOR, F.R. 1991. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus communis* HEGEW. (Chlorophyceae). II. Examples of algal cyclo- and noncyclo-morphosis. – *American Journal of Botany* **78**(1): 37-52.

- ENRÍQUEZ, S., ÁVILA, E. et CARBALLO, J.L. 2009. Phenotypic plasticity induced in transplant experiments in mutualistic association between the red alga *Jania adhaerens* (Rhodophyta, Corallinales) and the sponge *Haliclona caerulea* (Porifera, Haplosclerida): morphological responses of the alga. – *Journal of Phycology* **45**: 81-90.
- EWINGS, S. 2010. Growing Algae : Grow algae at home [online]. [citováno 2012-01-18]. Dostupné z www <<http://www.growing-algae.com/algae-growing-conditions.html>>.
- FARGAŠOVÁ, A., BUMÁLOVÁ, A. et HAVRÁNEK, E. 1999. Ecotoxicological effects and uptake of metals in freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*. – *Chemosphere* **38**: 1165-1173.
- FINKEL, Z.V., BEARDALL, J., FLYNN, K.J., QUIQQ, A., REES, T.A.V. et RAVEN, J.A. 2010. Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. – *Journal of Plankton Research*, **32**: 119-137.
- FOGG, G.E. et THAKE, B. 1987. Algal cultures and phytoplankton ecology. – *University of Wisconsin Press*, 1-269. Wisconsin.
- FORD N.B. et SEIGEL R.A. 1989. Phenotypic plasticity in reproductive traits: evidence from a viviparous snake. – *Ecology* **70**: 1768-1774.
- FRANCKE, J.A. 1982. Morphological plasticity and ecological range in three *Stigeoclonium* species (Chlorophyceae, Chaetophorales). – *British Phycological Journal* **17**: 117-133.
- FREEMAN, S. et HERRON, J.C. 2007. Evolutionary analysis. – *Pearson Prentice Hall*, 1-800. Upper Saddle River.
- FRIEDL, T. et HEGEWALD, E. 1999. Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 rDNA sequence comparisons. – *Plant Biology* **1**: 418-428.
- FUTUYAMA, D.J. 1998. Evolutionary biologie. – *Sinauer Associates*, 1-763. Sunderland.
- GAVRILETS, S. 1986. An approach to modeling the evolution of populations with consideration of genotype-environment interaction (in Russian). – *Soviet Genetics* **22**: 28-36.
- GAVRILETS, S. et SCHEINER, S. 1993. The genetics of phenotypic plasticity. VI. Theoretical predictions for directional selection. – *Journal of Evolutionary Biology* **6**: 49-68.
- GOMULKIEWICZ, R. et KIRKPATRICK, M. 1992. Quantitative genetics and the evolution of reaction norms. – *Evolution* **46**: 390-411.

- GREENE, E. 1989. A diet-induced developmental polymorphism in a caterpillar. – *Science* **243**: 643-646.
- HÄDER, D.P. et HANSEL, A. 1991. Responses of *Dictyostelium discoideum* to multiple environmental stimuli. – *Botanica Acta* **104**: 200-205.
- HEGEWALD, E. 1977. *Scenedesmus communis* HEGEWALD, a new species and its relation to *Scenedesmus quadricauda* (TURP.) BREB. – *Archiv für Hydrobiologie, Suppl.* **51: Algological Studies** **19**: 142-155.
- HEGEWALD, E. et HANAGATA, N. 2000. Phylogenetic studies on Scenedesmaceae (Chlorophyta). – *Archiv für Hydrobiologie* **136**: 29-49.
- HEGEWALD, E. et SILVA, P. 1988. An annotated catalogue of *Scenedesmus* and nomenclaturally related genera including original descriptions and figures. – *Bibliotheca Phycologica* **80**: 1-587.
- HINDÁK, F. 1990. Studies on the Chlorococcal algae (Chlorophyceae). V. – *Veda*, 1-220. Bratislava.
- HINDÁK, F., KOMÁREK, J., MARVAN, P. et RŮŽIČKA J. 1975. Klúč na určovanie výtrusných rastlín. – *Slovenské pedagogické nakladateľstvo*, 1-396. Bratislava.
- HOPPELER, H. et FLÜCK, M. 2002. Normal mammalian skeletal muscle and its phenotypic plasticity. – *Journal of Experimental Biology* **205**: 2143-2152.
- HUTCHINSON G.E. 1967. — A Treatise on Limnology. II. Introduction to Lake Biology and the limnoplankton. John Wiley & Sons, New York. 1115 pp.
- CHARMANTIER, A., MCCLEERY, R.H., COLE, R.L., PERRINS, C., KRUK, L.E.B. et SHELDON, B.C. 2008. Adaptive phenotypic plasticity in response to climate change in a wild bird population. – *Science* **320**: 800-803.
- CHEPLICK, G.P. 1995. Genotypic variation and plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalvis*. – *Journal of Ecology* **83**: 459-468.
- CHIPPENDALE, A.K., ALIPAZ, J.A., CHEN, H.W. et ROSE, M.R. 1997. Experimental evolution of accelerated development in *Drosophila*. I. Developmental speed and larval survival. – *Evolution* **51**: 1536-1551.
- IRWIN, A.J., FINKEL, Z.V., SCHOFIELD, O.M.E. et FALKOWSKI, P.G. 2006. Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. – *Journal of Plankton Research* **28**: 459-471.
- JASIEŃSKI, M., AYALA, F.J. et BAZZAZ, F.A. 1997. Phenotypic plasticity and similarity of DNA among genotypes of an annual plant. – *Heredity* **78**: 176-181.

- JOHN, D.M., WHITTON, B.A. et BROOK, A.J. 2011. The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide for freshwater and terrestrial algae. – *Cambridge University Press*, 1-896. Cambridge.
- JOHN, D.M. et WILLIAMSON, D.B. 2009. A practical guide to the Desmids of the West of Ireland. – *Martin Ryan Institute, National University of Ireland*, 1-196. Galway.
- JOHMSTONE, J.M. 1978. Phenotypic plasticity in *Draparnaldia* (Chlorophyta: Chaetophoraceae). I. Effects of the chemical environment. – *Journal of Phycology* **14**: 302-308.
- JORDAN, M.A. et SNELL, H.L. 2002. Life history trade-offs and phenotypic plasticity in the reproduction of Galápagos lava lizards (*Microlophus delanonis*). – *Oecologia* **130**: 44-52.
- KALINA, T. et VÁŇA, J. 2005. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. – *Karolinum*, 1-606. Praha.
- KAŠTOVSKÝ, J. et HAUER, T. (eds.) 2003. Sinice a řasy pro studenty : Chlorophyta [online]. [cit. 2011-12-12]. Dostupné z [www](http://www.sinicearasy.cz/134/Chlorophyceae) <<http://www.sinicearasy.cz/134/Chlorophyceae>>.
- KOMÁREK, J. et FOTT, B. 1983. Die Binnengewässer, Band XVI. Das Phytoplankton des Süßwassers : Systematik und Biologie: 7. Teil, 1. Hälfte: Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung: Chlorococcales. – *E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung*, 1-1044. Stuttgart.
- KŘÍSA, B. et PRÁŠIL, K. 1989. Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu – *SPN*, 1-229. Praha.
- LÄMPERT, W., ROTHHAUPT, K.O. et VON ELERT, E. 1994. Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). – *Limnology and Oceanography* **39**: 1543-1550.
- LAVENS, P. et SORGELOOS, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture [online]. Laboratory of aquaculture and artemia reference center, University of Ghent [citováno 2012-01-20]. Dostupné z [www](ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/w3732e/w3732e00.pdf) <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/w3732e/w3732e00.pdf>>
- LEE, R.E. 2008. Phycology. – *Cambridge University Press*, 1-615. Cambridge.
- LELLÁK, J. et KUBÍČEK, F. 1992. Hydrobiologie. – *Karolinum*, 1-257. Praha.
- LENZENWEGER, R. 1996. Desmidiaceenflora von Österreich, Teil 1. – *Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung*, 1-162. Berlin.

- LEWIS, S.M., NORRIS, J.N. et SEARLES, R.B. 1987. The regulation of morphological plasticity in tropical reef algae by herbivory. – *Ecology* **68**(3): 636-641.
- LICHTMAN, E., PINTO P.T., KLAUSMEIER C.A., THOMAS M.K. et YOSHIYAMA K. 2010. Linking traits to species diversity and community structure in phytoplankton. – *Hydrobiologia* **653**: 15-28.
- LIU, Y., WANG, W., ZHANG, M., XING, P. et YANG, Z. 2010. PSII-efficiency, polysaccharide production, and phenotypic plasticity of *Scenedesmus obliquus* in response to changes in metabolic carbon flux. – *Biochemical Systematics and Ecology* **38**: 292-299.
- LORENZI, R., ZONTA, L.A. et JAYAKAR, S.D. 1989. Quantitative traits and temporally variable selection: two-locus models. – *Journal of Genetics* **68**: 29-42.
- LUO, W., PFLUGMACHER, S., PRÖSCHOLD, T., WALZ, N. et KRIENTZ, L. 2006. Genotype versus Phenotype variability in *Chlorella* and *Micractinium* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). – *Protist* **157**: 315-333.
- LÜRLING, M. 1999. The smell of water. Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus* [online]. [citováno 2013-05-18]. Dostupné z www <<http://edepot.wur.nl/197509>>.
- LÜRLING, M. 2002. Effect of grazing-associated infochemicals on growth and morphological development in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae) – *Journal of Phycology* **34**(4): 578-586.
- LÜRLING, M. 2003. Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. – *Annales de Limnologie* **39**: 85-101.
- LÜRLING, M. et VAN DONK, E. 1999. Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae): ecomorph expression at different temperatures. – *Journal of Phycology* **35**: 1120-1126.
- MATSUDA, R. 1982. The evolutionary process in talitrid amphipods and salamanders in changing environments, with a discussion of "genetic assimilation" and some other evolutionary concepts. – *Canadian Journal of Zoology* **60**: 733-749.
- MEYER, A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fish. – *Evolution* **41**: 1357-1369.
- MIKHEEVA, T.M. et KRUCHKOVA, H.M. 1980. Morphological changes in *Chlamydomonas* sp and *Scenedesmus acuminatus* in the presence of zooplankton. – *Botanica* **5**: 60-63.

- MONTEIRO, M.T., OLIVEIRA, R. et VALE, C. 1995. Metal stress on the plankton communities of Sado River (Portugal). – *Water Research* **29**: 695-701.
- MORABITO, G., OGGIONI, A., CARAVATI, E. et PANZANI, P. 2007. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). – *Hydrobiologia* **578**: 47-57.
- MORALES, E.A. et TRAINOR, F.R. 1999. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus*: implications for algal taxonomy and ecology. – *Gayana, Botánica* **56**: 77-86.
- NĚMCOVÁ, Y., NEUSTUPA, J., KVÍDEROVÁ, J. et ŘEZÁČOVÁ-ŠKALOUDOVÁ, M. 2010. Morphological plasticity of silica scales of *Synura echinulata* (Synurophyceae) in crossed gradients of light and temperature – a geometric morphometric approach. – *Nova Hedwigia* **136**: 21-32.
- NEUSTUPA, J. et HODAČ, L. 2005. Changes in shape of the coenobial cells of an experimental strain of *Pediastrum duplex* var. *duplex* (Chlorophyta) reared at different pHs. – *Preslia* **77**: 439–452.
- NEUSTUPA, J., ŠŤASTNÝ, J. et HODAČ, L. 2008. Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga *Micrasterias rotata*. – *Aquatic microbial ecology* **51**: 77-86.
- NEWMAN, R.A. 1989. Developmental plasticity of *Scaphiopus couchii* tadpoles in an unpredictable environment. – *Ecology* **70**: 1775-1787.
- NICOTRA, A.B., CHAZDON, R.L. et SCHLICHTING, C.D. 1997. Patterns of genotypic variation and phenotypic plasticity of light response in two tropical *Piper* (Piperaceae) species. – *American Journal of Botany* **84**(11): 1542-1552.
- NUSSAY, D.H., POSTMA, E., GIENAPP, P. et VISSER, M.E. 2005. Selection of heritable phenotypic plasticity in a wild bird population. – *Science* **310**: 304-306.
- OYIEKE, H.A. 1994. The effect of phenotypic plasticity on agar from *Gracilaria salicornia* (J.A.G.) Dawson (Gracilariaceae, Rhodophyta) in Kenya. – *Bioresource Technology* **49**: 267-271.
- PEDERSEN, M.F. ET BORUM, J. 1996. Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. – *Marine ecology progress series* **142**: 261-272.
- PEÑA-CASTRO, J.M., MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F., ESPARZA-GARCÍA, F. et CAÑIZARES-VILLANUEVA, R.O. 2004. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae) in response to heavy metals stress. – *Chemosphere* **57**: 1629-1636.
- PETROV, A. P. et PETROSOV, V.A.. 1980. Variability of some lines of *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh under different illuminations. – *Genetica* **16**: 1596-1602.

- PIGLIUCCI, M. 1996. How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). – *Trends in Ecology and Evolution* **11(4)**: 168-173.
- PIGLIUCCI, M. 2001. Phenotypic plasticity: Beyond Nature and Nurture. – *The John Hopkins University Press*, 1-328. Baltimore.
- PIGLIUCCI, M. et BYRD, N. 1998. Genetics and evolution of phenotypic plasticity to nutrient stress in *Arabidopsis*: drift, constraints or selection? – *Biological Journal of the Linnean Society* **64**: 17-40.
- POCOCK, T., VETTERLI, A. et FALK, S. 2011. Evidence for phenotypic plasticity in the Antarctic extremophile *Chlamydomonas raudensis* Ettl. UWO 241. – *Journal of Experimental Botany* **62**: 1169-1177.
- POLÁČKOVÁ, T. 2010. Teplotně korelovaná fenotypová plasticita u protist. – *MS, Bakalářská práce, PřF, UK*. 1-32. Praha.
- PRICE, T.D., QVARNSTRÖM, A. et IRWIN, D.E. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. – *Proceedings the royal of society, Biological science* **270** (1523): 1433-1440.
- PROKOPCOVÁ, M. 2008. Možnosti uplatnění metody dílčího oslabení výkonu v praxi. – *MS, Diplomová práce, Teologická fakulta, JU*, 1-106. České Budějovice.
- RAMM, S.A. et STOCKLEY, P. 2008. Adaptive plasticity of mammalian sperm production in response to social experience. – *Proceedings the royal of society, Biological science* **276** (1657): 745-751.
- RELYEA, R.A. 2002. Competitor-induced plasticity in tadpoles: Consequences, cues, and connections to predator-induced plasticity. – *Ecological Monographs* **72(4)**: 523-540.
- RHEE, G-Y. 1978. Effect of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition and nitrate uptake. – *Limnology and Oceanography* **23(1)**: 10-25.
- ROSPAL, S., DOŠKAŘ, J., FRYNTA, D., HOMOLA, J., HORÁČEK, I., HŮRKA, K., KALINA, T., KUBIŠTA, V., KVAČEK, Z., LINC, R., LOSOS, B., MAZURA, I., MLADÁ, J., MLADÝ, F., MEDVÍDEK, J., NOVOTNÝ, I., PAVLOVÁ, L., PIKÁLEK, P., PRÁŠIL, K., PSOTA, V., ROČEK, Z., SLAVÍKOVÁ, J., SLAVÍKOVÁ, Z., SMRŽ, J., ŠAŠEK, V., ŠEBÁNEK, J., ŠMARDA, J., ŠTYS, P. et ZRZAVÝ, J. 2003. Nový přehled biologie. – *Scientia*, 1-797. Praha.
- RUSELL, G. et VELTKAMP, C.J. 1996. Algal ecotypes: what they are and what they are not. – *Nordic Journal of Botany* **17**: 331-336.
- SANDGREN, C.D. 1988. The ecology of chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. in SANDGREN C.D. (ed). Growth

- and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. – *Cambridge University Press*, 1-442. Cambridge.
- SHAW, G.R., MOORE, D.P. et GARNETT, C. 2003. Eutrophication and Algal Blooms. – *Environmental and Ecological Chemistry* **II**: 298-327.
- SCHNEIDER, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. – *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **24**: 35–68.
- SCHNEIDER, S.M. 1998. The genetics of phenotypic plasticity. VII. Evolution in a spatially structured environment. – *Journal of Evolutionary Biology* **11**: 303-320.
- SCHNEIDER, S.M. et GOODNIGHT, C.J. 1984. The comparison of phenotypic plasticity and genetic variation in populations of the grass *Danthonia spicata*. – *Evolution* **38**: 845-855.
- SCHLICHTING, C.D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. – *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **17**: 667-693.
- SCHLICHTING, C.D. et LEVIN D.A. 1988. Phenotypic plasticity in *Phlox*. I. Wild and cultivated populations of *P. drummondii*. – *American Journal of Botany* **75**: 161-169.
- SCHLICHTING, C.D. et PIGLIUCCI, M. 1995. Lost in phenotypic space: environment-dependent morphology in *Phlox drummondii* (Polemoniaceae). – *International Journal of Plant Sciences* **156**: 542-546.
- SCHLICHTING, C.D. et SMITH, H. 2002. Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. – *Evolutionary Ecology* **16**: 189-211.
- SCHMITT, J., NILES, J. et WULFF, R.D. 1992. Norms of reaction of seed traits to maternal environments in *Plantago lanceolata*. – *American Naturalist* **139**: 451-466.
- SIBLY, R.M. 1995. Life-history evolution in spatially heterogeneous environments, with and without phenotypic plasticity. – *Evolutionary Ecology* **9**: 242-257.
- SOLARI, C.A., DRESCHER, K., GANGULY, S., KESSLER, J.O., MICHOD, R.E. et GOLDSTEIN, R.E. 2011. Flagellar phenotypic plasticity in volvocalean algae correlates with Péclet number. – *Journal of the Royal Society* **8**: 1409-1417.
- STEARNS, S.C. et KOELLA, J.C. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: Predictions of reaction norms for age and size at maturity. – *Evolution* **40**: 893-913.
- STEWART, H.L. 2006. Morphological variation and phenotypic plasticity of buoyancy in the macroalga *Turbinaria ornata* across a barrier reef. – *Marine Biology* **149**: 721-730.

- SULTAN, S.E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. – *Journal of Evolutionary Biology* **21**: 127-178.
- SULTAN, S.E. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. – *Acta Botanica Neerlandica* **44**: 363-383.
- SULTAN, S.E. 2003. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. – *Evolution and development* **5(1)**: 25-33.
- ŠKALOUD, P. 2010. Culture collection of algae of Charles University in Prague : Media recipes [online]. [cit. 2012-02-2]. Dostupné z [www <http://botany.natur.cuni.cz/algo/caup-media.html#BBM>](http://botany.natur.cuni.cz/algo/caup-media.html#BBM).
- ŠKALOUDOVÁ, M. 2009. Biogeography and phenotypic plasticity in silica-scaled chrysophytes (Synurophyceae). – *MS, Disertační práce, Univerzita Karlova*, 1-93. Praha.
- THOMPSON, D.B. 1999. Genotype - environment interaction and the ontogeny of diet induced phenotypic plasticity in size and shape of *Melanoplus femurrubrum* (Orthoptera: Acrididae). – *Journal of Evolutionary Biology* **12**: 38-48.
- THOMPSON, J.D. 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary chance. – *Trends in Ecology and Evolution* **6**: 246-249.
- TRAINOR, F.R. 1992. Cyclomorphosis in *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta): an ordered sequence of ecomorph development. – *Journal of Phycology* **28**: 553-558.
- TRAINOR, F.R. 1998. Biological aspects of *Scenedesmus* (Chlorophyceae) – phenotypic plasticity. – *Nova Hedwigia Beiheft* **117**: 1-367.
- TRAINOR, F.R., CAIN, J.R. et SHUBERT, L.E. 1976. Morphology and nutrition of the colonial green alga *Scenedesmus*: 80 years later. – *Botanical Review* **42**: 5-25.
- TRAINOR, F.R., ROWLAND, H.L., LYLIS, J.C., WINTER, P.A. et BONANOMI, P.L. 1971. Some examples of polymorphism in algae. – *Phycologia* **10**: 113-119.
- TSARENKO, P.M. et PETLEVANNY, O.A. 2001. Addition to the diversity of algae of Ukraine. – *Algologia*, Supplement: 10.
- TURKINGTON, R. 1983. Plasticity in growth and patterns of dry matter distribution of two genotypes of *Trifolium repens* L. grown in different environments of neighbours. – *Canadian Journal of Botany* **61**: 2186-2194.
- VAN DONK, E., LÜRLING, M. et LAMPERT, W. 1999. Consumer-induced changes in phytoplankton : inducibility, costs, benefits and impacts on grazers. In Tollrian, R et Harvell, C.D. (eds.). *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*. – *Princeton University Press*, 89-103. Princeton.

- VAN TIENDEREN, P.H. 1991. Evolution of generalists and specialists in spatially heterogeneous environments. – *Evolution* **45**: 1317-1331.
- VAN TIENDEREN, P.H. et KOELEWIJN, H.P. 1994. Selection on reaction norms, genetic correlations and constraints. – *Genetical Research* **64**: 115-125.
- VANORMELINGAN, P. CHEPURNOV, V.A., MANN, D.G., SABBE, K. et VYVERMAN, W. 2008. Genetic divergence and reproductive barriers among morphologically heterogeneous sympatric clones of *Eunotia bilunaris* sensu lato (Bacillariophyta). – *Protist* **159**: 73-90.
- VIA, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. I. Genotype-environment interaction in larval performance on different host plant species. – *Evolution* **38**: 881-895.
- VIA, S. et LANDE, R. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. – *Evolution* **39**: 505-522.
- VIA, S., GOMULKIEWICZ, R., DE JONG, G., SCHEINER, S.M., SCHLICHTING, C.D. et VAN TIENDEREN, P.H. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. – *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 212-217.
- VOLTERRA, L. et CONTI, M.E. 2000. Algae as biomarkers, bioaccumulators and toxin producers. – *International Journal of Environment and Pollution* **13**:92-125.
- VON ELERT, E. et FRANCK, A. 1999. Colony formation in *Scenedesmus*: grazer-mediated release and chemical feature of the infochemical. – *Journal of Plankton Research* **21**: 789-804.
- WEIS, A.E. et GORMAN, W.L. 1990. Measuring selection on reaction norms: an exploration of the *Eurosta-Solidago* system. – *Evolution* **44**: 820-831.
- WEST-EBERHARD, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. – *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **20**: 249-278.
- WEST-EBERHARD, M.J. 2003. Developmental plasticity and evolution. – *Oxford University Press*, 1-794. Oxford.
- WHITMAN, D.W. et ANANTHAKRISHNAN, T.N. 2009. Phenotypic plasticity of Insects – Mechanisms and consequence. – *Science Publisher*, 1-904. Enfield, New Hampshire.
- WHITTON, B.A. 1980. Zinc and plants in rivers and streams. In: Nriagu, J.O. (Ed.), Zinc in the Environment. Part II. – *John Wiley*, 1-400. New York.
- WINN, A.A. 1996. The contributions of programmed developmental change and phenotypic plasticity to within-individual variation in leaf traits in *Dicerandra linearifolia*. – *Journal of Evolutionary Biology* **9**: 737-752.

- WOLTERECK, R. 1909. Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung, speziell über das Wesen quantitativer Artunterschiede bei Daphnien. – *Verhandlungen der deutschen zoologischen Gesellschaft* **19**: 110-173.
- YASUMOTO, M., OOI, T., TAKENORI, K. et KASAI, F. 2000. Characterization of *Daphnia* kairomone inducing morphological change of green alga *Actinastrum* sp. – *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Keon Yoshishu* **42**: 385-390. (In Japanese).
- ZACHLEDER, V., BIŠOVÁ, K., VÍTOVÁ, M., KUBÍN, Š. et HENDRYCHOVÁ, J. 2002. Variety of cell cycle patterns in the alga *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta) as revealed by application of illumination regimes and inhibitors. – *European Journal of Phycology* **37**(3): 361-371.
- ZANGERL, A. et BAZZAZ, F.A. 1983. Plasticity and genotypic variation in photosynthetic behavior of an early and a late successional species of *Polygonum*. – *Oecologia* **57**: 270-273.
- ZHIVOTOVSKY, L.A., FELDMAN, M.W. et BERGMAN, A. 1996. On the evolution of phenotypic plasticity in a spatially heterogeneous environment. – *Evolution* **50**: 547-558.

Seznam příloh

Příloha 1: Způsob přípravy BBM živného média	I
Příloha 2: Tabulky s průměrnými hodnotami naměřených rozměrů druhu <i>Desmodesmus communis</i> v reakci na změny podmínek prostředí – množství využitelného dusíku, teplotu, pH.....	II
Příloha 3: Fotodokumentace práce v laboratoři.....	VIII
Příloha 4: Přehled četnosti 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v jednotlivých pokusech.....	IX
Příloha 5: Fotodokumentace studované kultury	XI
Příloha 6: Fotodokumentace změn morfologie a fenotypu pozorovaných během pokusů.....	XII

Příloha 1: Způsob přípravy BBM živného média

Zásobní roztoky makroprvků:

1. NaNO_325 g/1000 ml
2. $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$2,5 g/1000 ml
3. $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$7.5 g/1000 ml
4. K_2HPO_47.5 g/1000 ml
5. NaCl2.5 g/1000 ml
6. KH_2PO_417.5 g/1000 ml
7. EDTA+KOH..... tj. 50 g Chelotonu III + 31 g KOH /1000 ml
8. $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$4,98 g + 1 ml H_2SO_4 /1000 ml
9. H_3BO_311,42 g/1000 ml
10. Roztok mikroprvků – do 1000 ml

Roztok mikroprvků:

- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$8.82 g/1000 ml
 $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$1.44 g/1000 ml
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$1.57 g/1000 ml
 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$0.49 g/1000 ml
 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,88 g/1000 ml

Smícháme 10 ml každého z roztoků s číslem 1.–6., roztoky s číslem 7.–10. jsou přidávány v množství 1 ml. Tento celý objem doplníme destilovanou vodou do 1000 ml (ŠKALOUDEK 2010).

Příloha 2: Tabulky s průměrnými hodnotami naměřených rozměrů druhu *Desmodesmus communis* v reakci na změny podmínek prostředí – množství využitelného dusíku, teplotu, pH

Tab. A: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* v reakci na různé množství využitelného dusíku v kultivačním médiu: 4-buněčná cenobia (hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole), 3N BBM

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 4-buněčná cenobia, 3N BBM				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
29. 3. 12	21	14	5	11
2. 4. 12	22,75	14,25	5,16	11,08
4. 4. 12	21,13	14,10	4,80	12
6. 4. 12	22,73	14,76	5,36	11,9
10. 4. 12	24,96	15,67	5,43	12,26
16. 4. 12	20,16	14,10	4,78	11,06
2. 5. 12	21,28	14,26	4,97	11,31

Tab. B: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* v reakci na různé množství využitelného dusík v kultivačním médiu: 4-buněčná cenobia (hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole), 0,5N BBM

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 4-buněčná cenobia, 0,5N BBM				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
29. 3. 12	19	12	4	11
2. 4. 12	20,07	12,85	4,92	10,92
4. 4. 12	23,45	15,20	5,72	12,52
6. 4. 12	22,35	14,65	5,17	12,59
10. 4. 12	30,38	19,17	6,97	13,93
16. 4. 12	23,69	15,84	5,53	12,59
2. 5. 12	23,44	16,14	5,67	11,92

Tab. C: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* v reakci na různé množství využitelného dusík v kultivačním médiu: 2-buněčná cenobia (hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole), 3N BBM (“x“ značí pozorování, při kterých se 2-buněčná cenobia nevyskytovala)

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 2-buněčná cenobia, 3N BBM				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
29. 3. 12	13	13	6	9
2. 4. 12	11,3	12,3	5,33	10
4. 4. 12	x	x	x	x
6. 4. 12	11,06	12,53	5,43	10,4
10. 4. 12	x	x	x	x
16. 4. 12	11,03	11,38	5,35	10,24
2. 5. 12	x	x	x	x

Tab. D: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* v reakci na různé množství využitelného dusík v kultivačním médiu: 2-buněčná cenobia (hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole), 0,5N BBM (“x“ značí pozorování, při kterých se 2-buněčná cenobia nevyskytovala)

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 2-buněčná cenobia, 0,5N BBM				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
29. 3. 12	16	15	7	10
2. 4. 12	13	13	7	10
4. 4. 12	x	x	x	x
6. 4. 12	11,8	13,2	5,8	10,2
10. 4. 12	x	x	x	x
16. 4. 12	11,56	13,69	5,44	11,06
2. 5. 12	x	x	x	x

Tab. E: Rozměry druhu *Desmodesmus communis* v reakci na různé množství využitelného dusík v kultivačním médiu: 8-buněčná cenobia (hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem měřených cenobií při dané kontrole, pozn. v tomto případě bylo většinou nalezeno méně než 30 cenobií), 0,5N BBM (“x“ značí pozorování, při kterých se 8-buněčné cenobium nevyskytovalo)

<i>Desmodesmus communis</i> HEGEWALD – 8-buněčná cenobia, 0,5N BBM				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
4. 4. 12	49	11	5	9
6. 4. 12	42,5	14,3	5,5	11,83
10. 4. 12	59,67	18,3	7,67	15
16. 4. 12	42,67	14,3	5,17	11,83
2. 5. 12	x	x	x	x

Tab. F: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na změněnou teplotu prostředí (22 °C), hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus communis</i> HEGEWALD – 4-buněčná cenobia, 22 °C				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
27. 6. 12	21,68	14,68	4,84	11,04
29. 6. 12	21,52	14,14	4,76	11,42
2. 7. 12	20,87	14,10	4,87	11,27
4. 7. 12	20,68	14,2	4,68	11,0
9. 7. 12	21,38	13,6	5,0	11,44
12. 7. 12	22,33	13,0	5,1	11,0

Tab. G: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na změněnou teplotu prostředí (5 °C), hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 4-buněčná cenobia, 5 °C				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
27. 6. 12	21	13,85	4,85	10,14
29. 6. 12	20,63	14,18	4,72	11,18
2. 7. 12	21,18	13,6	4,81	10,63
4. 7. 12	22,88	14,76	5,36	11,24
9. 7. 12	21,18	13,13	4,75	10,94
12. 7. 12	21,7	14,0	5,05	10,55

Tab. H: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na změněnou teplotu prostředí (22 °C), hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 2-buněčná cenobia, 22 °C				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
27. 6. 12	12,31	14,81	5,88	10,0
29. 6. 12	11,47	13,31	5,52	9,94
2. 7. 12	11,63	13,75	5,63	9,81
4. 7. 12	11,31	13,15	5,37	10,0
9. 7. 12	12,53	14,47	5,87	10,8
12. 7. 12	13,52	14,92	6,77	10,7

Tab. CH: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na změněnou teplotu prostředí (5 °C, “x“ označuje pozorování, při kterých se 2-buněčná cenobia ve vzorku nevyskytovala), hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 2-buněčná cenobia, 5 °C				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
27.6.12	13,75	16,0	6,8	10,35
29.6.12	12,5	15,5	5,88	9,38
2.7.12	11,3	13,67	5,3	10,0
4.7.12	12,0	16,0	6,0	11,0
9.7.12	x	x	x	x
12.7.12	12,0	14,0	5,0	11,0

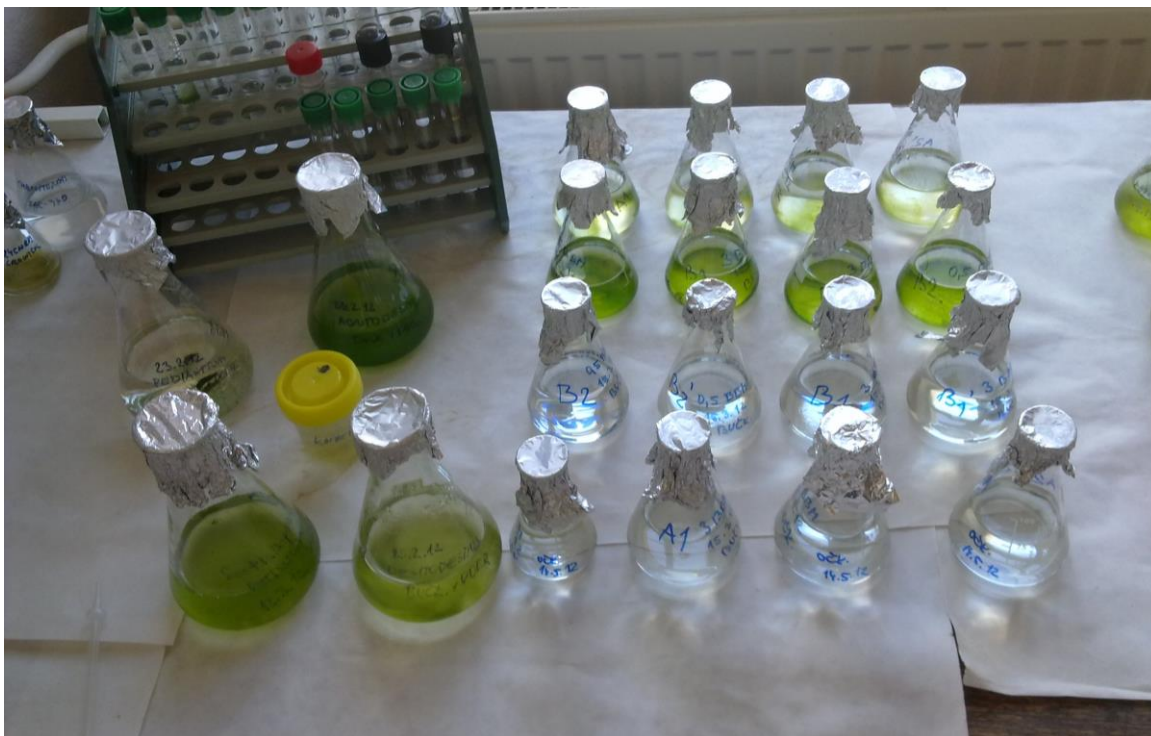
Tab. I: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na snížení hodnoty pH v prostředí, hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 4-buněčná cenobia, pH (5±0,1)				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
7. 1. 13	24,09	14,86	5,7	11,57
10. 1. 13	23,75	14,94	5,78	11,33
16. 1. 13	22,58	13,58	5,83	11,58
21. 1. 13	22,89	14,57	5,58	12,10
25. 1. 13	21,69	13,62	5,0	10,62
29. 1. 13	22,21	13,43	5,86	11,21

Tab. J: Rozměry zelené řasy *Desmodesmus communis* v reakci na snížení hodnoty pH v prostředí, hodnoty uvedené v tabulce jsou průměrem 30 měřených cenobií při dané kontrole

<i>Desmodesmus comunnis</i> HEGEWALD – 2-buněčná cenobia, pH (5± 0,1)				
Datum kontroly	Průměrná délka cenobia (A)	Průměrná délka buňky (B)	Průměrná šířka buňky (C)	Průměrná délka jednoho trnu (D)
7. 1. 13	14,54	15,45	7,27	11,36
10. 1. 13	13,53	14,53	6,8	10,5
16. 1. 13	14,5	14,9	7,1	11,3
21. 1. 13	14,14	14,57	6,5	11,07
25. 1. 13	14,0	13,9	6,7	10,64
29. 1. 13	12,0	12,67	6,2	9,83

Příloha 3: Fotodokumentace práce v laboratoři

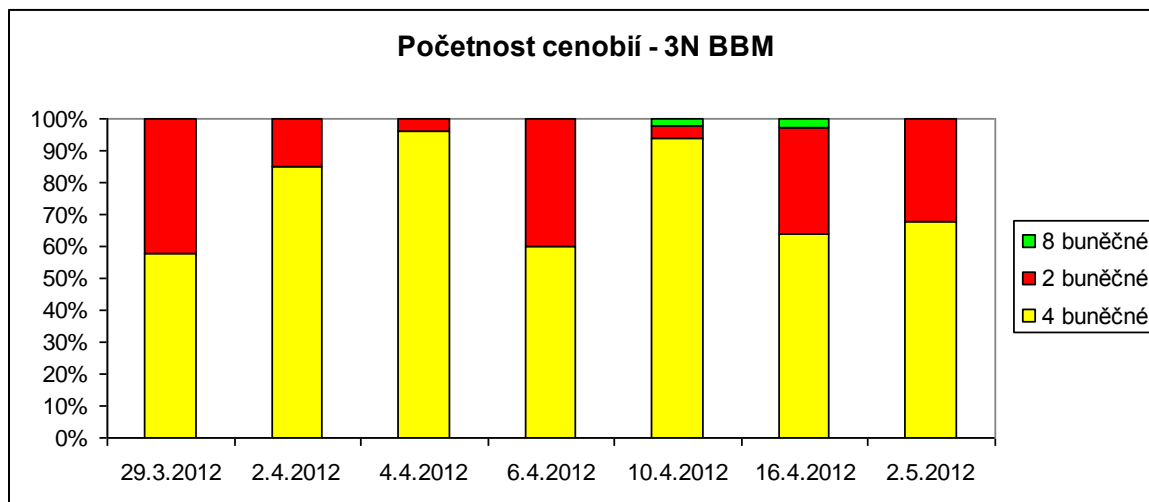


Obr. A: Erlenmeyerovy baňky s mateřskou monospecifickou kulturou a naočkované Erlenmeyerovy, obsahující BBM médium s různým množstvím využitelného dusíku

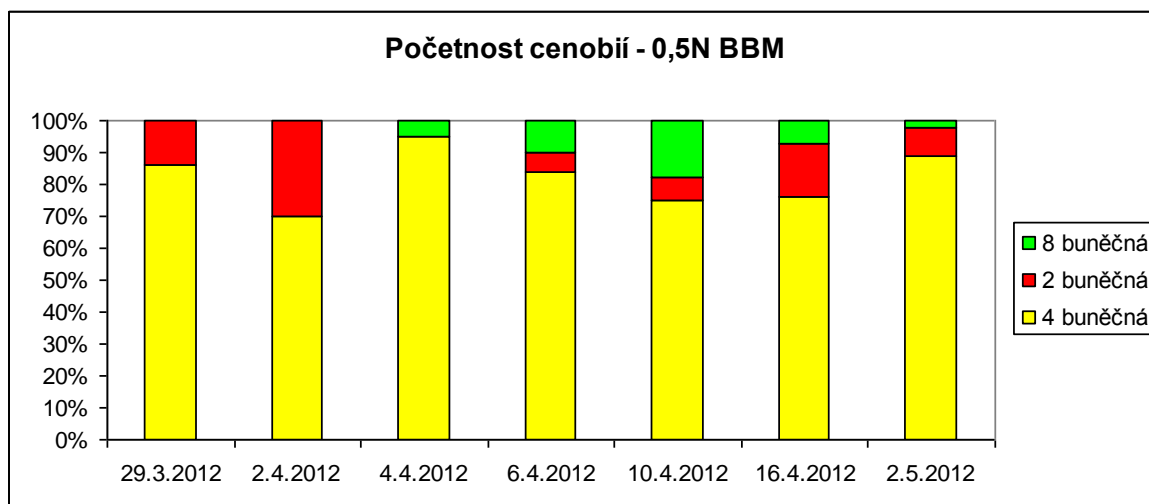


Obr. B: příprava živných BBM medií

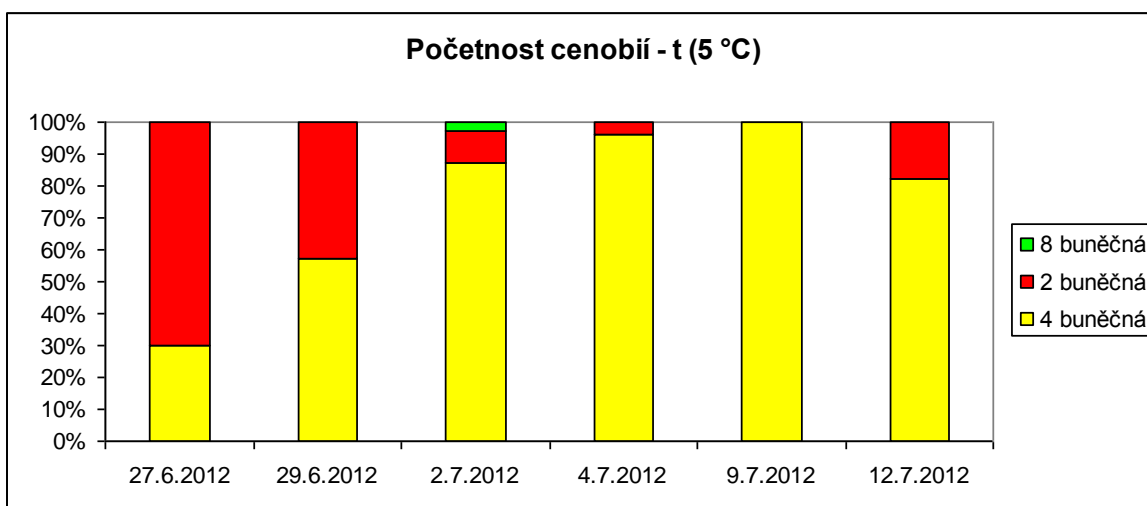
Příloha 4: Přehled četnosti 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v jednotlivých pokusech



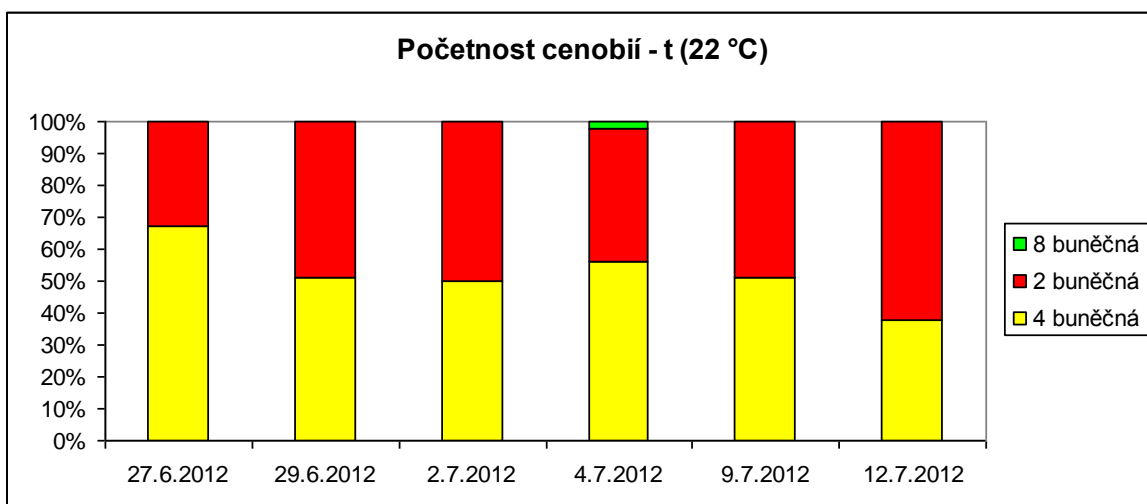
Obr. A: Četnost 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v reakci na zvýšené množství využitelného dusíku v prostředí (3N BBM)



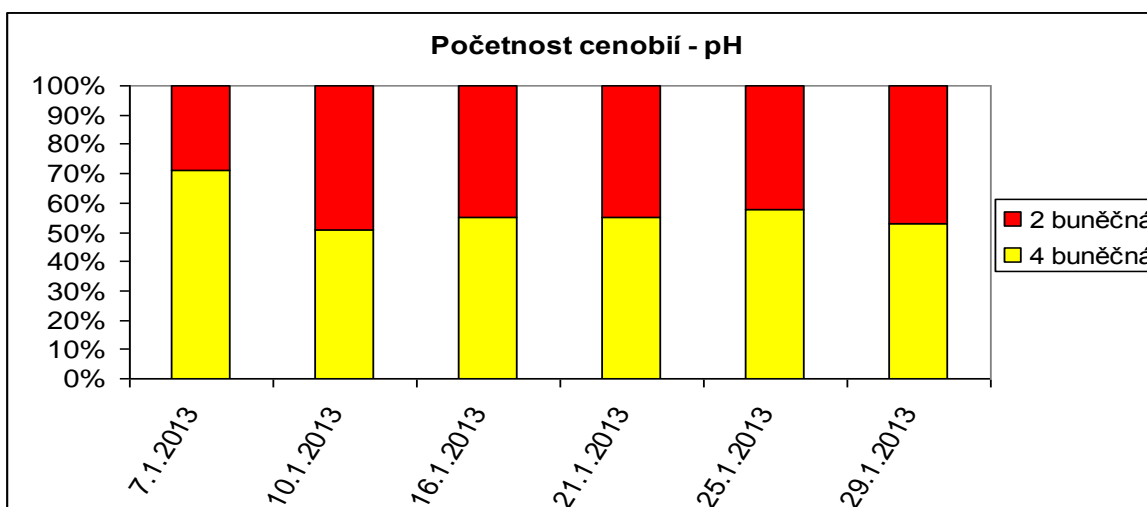
Obr. B: Četnost 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v reakci na snížené množství využitelného dusíku v prostředí (0,5N BBM)



Obr. C: Četnost 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v reakci na sníženou teplotu prostředí (5 °C)



Obr. D: Četnost 2-, 4- a 8-buněčných cenobií v reakci na zvýšenou teplotu prostředí (22 °C)

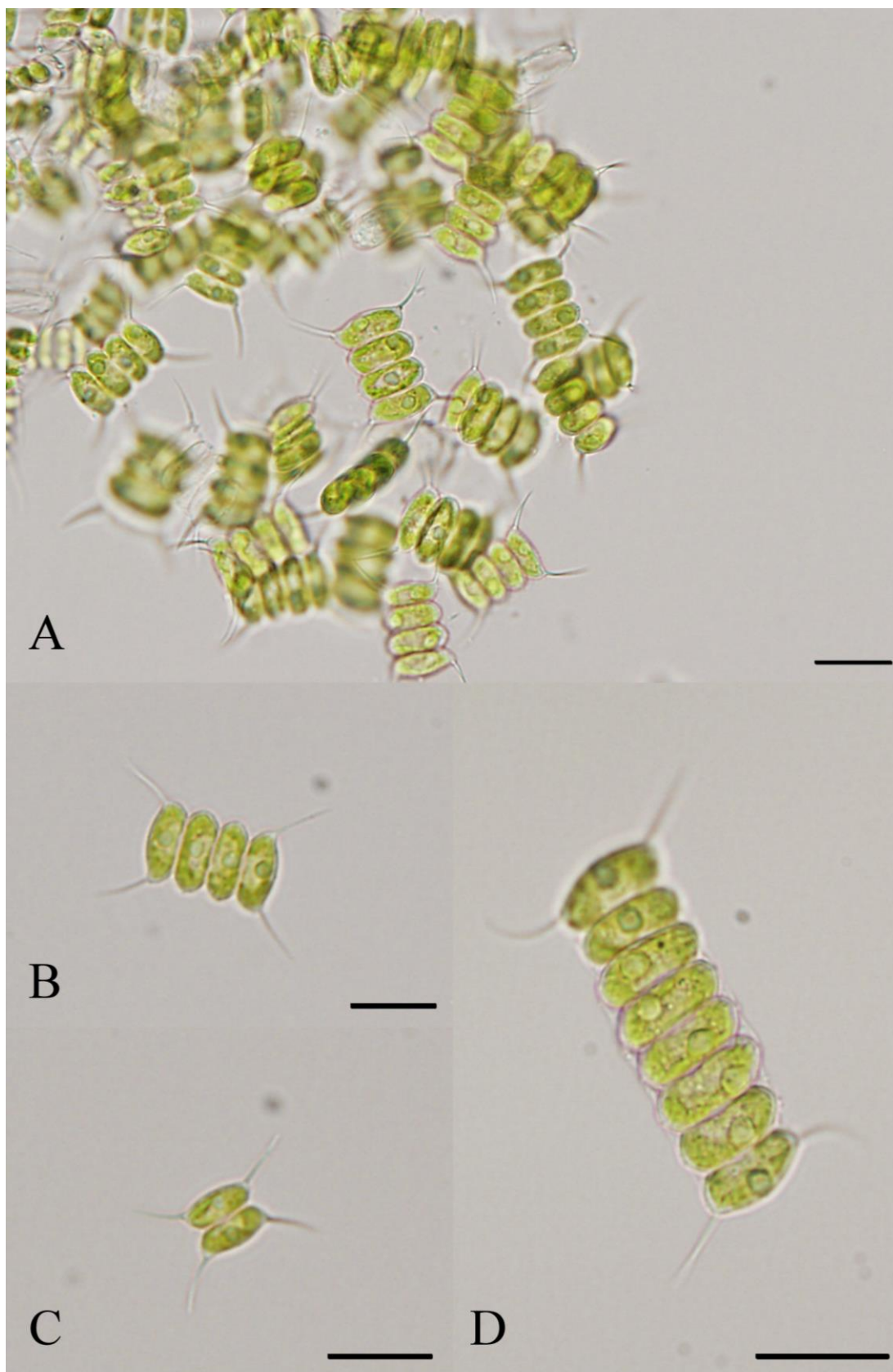


Obr. E: Četnost 2- a 4-buněčných cenobií v reakci na sníženou hodnotu pH v prostředí ($5 \pm 0,1$)

Příloha 5: Fotodokumentace studované kultury (2N BBM, 22 °C, laboratorní podmínky),

A = monospecifická kultura druhu *Desmodesmus communis*, **B** = 4-buněčné cenobium,

C = 2-buněčné cenobium, **D** = 8-buněčné cenobium, měřítko = 20 μm



Příloha 6: Fotodokumentace změn morfologie a fenotypu pozorovaných během pokusů; **A, B** = morfologická variabilita *D. communis* vyvolaná sníženou hodnotou pH v prostředí ($5 \pm 0,1$) – zřejmé zmnožení ostnů a změna tvaru buněk, **C, D** = morfologická variabilita *D. communis* jako reakce na snížené množství živin v prostředí – zřejmé zmnožení ostnů a jejich nepravidelná tvorba, **E, F** = morfologická variabilita *D. communis* v reakci na změnu teploty prostředí – zmnožení počtu ostnů a jejich nepravidelná tvorba, měřítko = 20 μm

