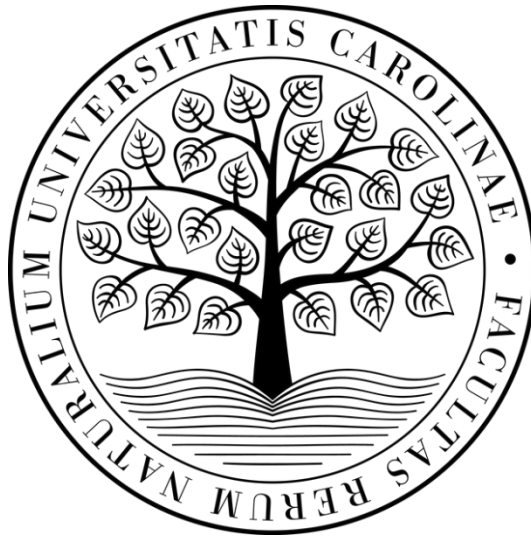


**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Katedra botaniky



Bakalářská práce

Palmelová stádia řas, jejich inicializace a funkce

Palmeloid stage of algae, triggers and function

Tereza Nováková

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Yvonne Němcová, PhD.

Praha, 2025

Poděkování:

Ráda bych zde poděkovala své vedoucí bakalářské práce paní doc. RNDr. Yvonne Němcové, PhD. Za její trpělivost, neochvějný entusiasmus, motivaci i za její věcné připomínky a pomoc při psaní závěrečné práce. Rovněž bych chtěla poděkovat své rodině, která mě po celou dobu velmi podporovala a stála při mně. Děkuji.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část, nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29. 4. 2025

Podpis: Nováková Tereza

Abstrakt

Palmeloidní stádium nebo fáze představuje dočasnou etapu životního cyklu některých bičíkatých řas. Během přeměny v palmelu dochází k ultrastrukturálním změnám jako je ztráta bičíků nebo zakulacení buňky. Následně buňky vytváří shluky obalené společnou slizovitou matrix. Zdá se, že ztráta motility a tvorba agregátů buněk obalených extracelulárním materiálem je obecnou odpovědí na změny podmínek prostředí, která se vyvinula nezávisle u zástupců fylogeneticky vzdálených linií fotosyntetizujících organismů tříd Chlorophyceae (Archaeplastida, Viridiplantae, Chlorophyta), Cryptophyceae (Cryptista), Euglenophyceae (Euglenozoa, Discoba), Chrysophyceae (Stramenopiles, SAR) a dalších.

Cílem bakalářské práce je popsat a charakterizovat palmeloidní stádia u vybraných zástupců. U jednotlivých skupin objasnit ultrastrukturální změny buňky při transformaci v palmelu. Shrnout literaturu, která se zabývá podmínkami indukce palmeloidu (např. pomalé vysychání, zvýšená salinita, oxidativní stres, přítomnost predátorů, mikropolutanty a těžké kovy) a přiblížit podmínky, ve kterých dochází k reverzibilním návratu do vegetativního stádia bičíkovce. Následně nastínit funkce a význam tvorby palmelového stádia pro buňky dané skupiny. V závěru práce pak propojit a porovnat získané informace a následně se pokusit navrhnout obecný model palmelové strategie.

Klíčová slova: oxidativní stres, extracelulární materiál, palmela, palmeloidní stádium, salinita, shluky buněk, spouštěče, vysychání, životní cyklus řas

Abstract

The palmeloid stage or phase is a temporary stage in the life cycle of certain flagellate. During the transformation into palmella, various ultrastructural changes occur, such as the loss of the flagella and the rounding of the cell. Subsequently, the cells form clusters surrounded by a common mucilaginous matrix. The loss of motility and the formation of aggregates of cells coated with extracellular material appear to be a common adaptive response to changing environmental conditions that has evolved independently in phylogenetically distant lineages of photosynthetic organisms, including members of the classes Chlorophyceae (Archaeplastida, Viridiplantae, Chlorophyta), Cryptophyceae (Cryptista), Euglenophyceae (Euglenozoa, Discoba), Chrysophyceae (Stramenopiles, SAR) and others.

The aim of the bachelor thesis is to describe and characterize the palmeloid stages of selected species. To elucidate the ultrastructural changes of the cell during the transformation into a palmeloid in each group. To summarize the literature dealing with the conditions of palmeloid induction (e.g. slow desiccation, increased salinity, oxidative stress, presence of predators, micropollutants and heavy metals) and to approximate the conditions under which a reversible return to the vegetative stage of the flagellate occurs. In addition, the functions and importance of palmella formation for the cells of the group will be outlined. The final part of the thesis discusses and compares the information obtained and then attempts to propose a general model of the palmella strategy.

Keywords: oxidative stress, extracellular material, palmella, palmeloid stage, salinity, cell clusters, triggers, desiccation, algal life cycle

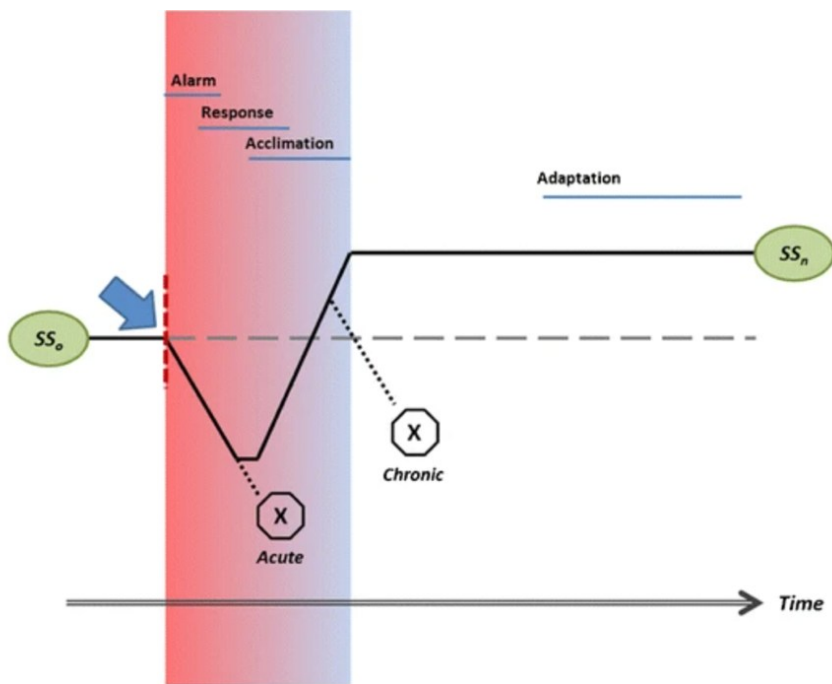
Obsah

Úvod.....	7
1. Palmelová fáze	9
1.1 Adaptační strategie – palmela, cysta, apoptóza.....	10
1.2 Variabilita definice palmelového stádia	11
2. Palmely napříč fylogenetickými liniemi	14
2.1 Euglenophyceae	15
2.2 Cryptophyceae.....	19
2.3 Chrysophyceae	22
2.4 Chlorophyceae.....	26
Shrnutí.....	34
Přehled použité literatury.....	37

Úvod

Řasy jsou eukaryotické organismy, které během evolučního vývoje získaly plastid a rozvinuly mnohobuněčné formy. Přestože jejich buněčná organizace nedosahuje komplexity vyšších rostlin a živočichů, je získání těchto schopností z evolučního hlediska zásadní pro jejich adaptaci a diverzifikaci. V prostředí mají řasy důležitý ekologický význam, jelikož zde působí na pozici primárních producentů. Diverzita řas je obrovská, fylogeneticky jsou řazeny do několika superskupin. Jednobuněčné mikrořasy většinou disponují značnou mírou adaptability a schopnosti rychle reagovat na vnější vlivy prostředí. Tento biologický parametr z nich činí ideální modelové organismy pro výzkum buněčných pochodů a adaptací. S adaptací buňky se nedílně pojí otázka porozumění stresu a antagonistického stavu homeostázy.

Stres je situace, kdy se systém nachází mimo své optimální podmínky. Stresorem poté myslíme cokoli, co narušuje alostatickou rovnováhu daného systému (Fulda et al. 2010; Storlie 2015). Alostáza je stav systému, který se snaží skrze adaptační mechanismy udržet v rovnovážném stavu se svým okolím. V biologii pak hovoříme o homeostáze. Fenomén stresového působení je v biologii obzvláště problematicky definovatelný, jelikož se jedná o vysoce komplexní systémy. Existují proto různé koncepty, jak na stres u řasových buněk nahlížet. Borowitzka (2018) ve své práci uvažuje různé pohledy klasifikace stresu, jež působí na řasy a vymezuje jasné pojetí stresu u mikrořas. Definuje jej jako stav buňky, která reaguje na vychýlení ze stavu homeostázy, způsobené vnějšími stimuly prostředí (stresory). Během této doby zároveň dochází k procesu aklimatizace, která následně vede k ustanovení nového stavu homeostázy, v němž již buňka není ve stresu. Průběh stresové reakce a adaptace na nové podmínky je schematicky znázorněn na Obr. 1. V případech periodicky se opakujících změn buňka volí strategii aklimatizace do “průměrného” stavu, ve kterém setrvává (Moheimani a Borowitzka 2007). Reakce na stres se může nesčetněkrát opakovat a její průběh vždy závisí na parametrech působícího stresu. Někteří autoři u řas rozlišují dva druhy stresu. Stres limitující (nízké ozáření, nedostatek živin), při kterém dochází ke snížení růstové rychlosti kvůli nedostatečnosti zdrojů v prostředí. A stres disruptivní (vysychání, zmrazení), kde ke zpomalení růstové křivky dochází z důvodu poškození organismu nebo jako prevence před jeho narušením (Davison a Pearson 1996). Je-li však stres příliš intenzivní, může dojít i k poškozením, která povedou ke smrti buňky, ať už řízené či samovolné. Na krátkodobé události mohou řasy reagovat změnou katalytické účinnosti – úprava účinnosti fotosystémů, syntéz důležitých



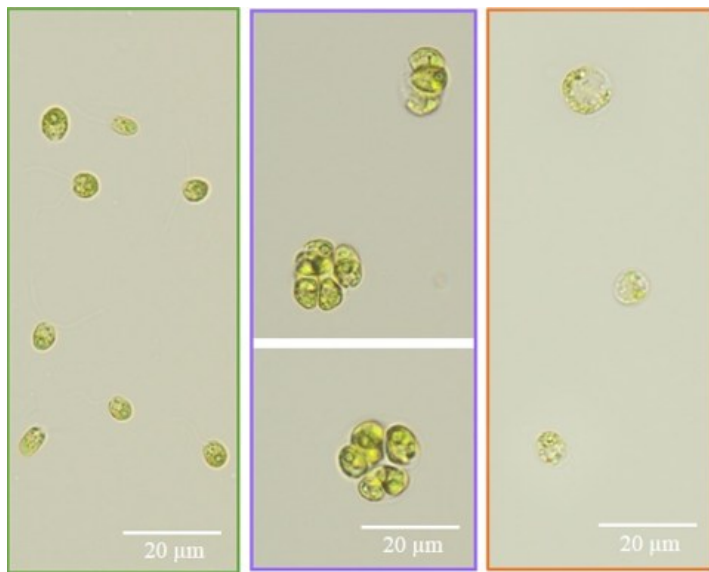
Obr. 1 - Obecné znázornění průběhu řasové reakce na stresor v závislosti na čase. Modrá šipka v levé části znázorňuje počáteční impuls stresoru/stimulu, kdy dochází k vychýlení organismu ze stavu homeostázy (SS_0). Červeno-modrý pruh poté označuje průběh a fáze stresové reakce, tedy: "alarmující fázi", ve které dochází k rapidnímu snížení metabolismu (někdy až k jeho zástavě), fázi "odpovědi" na stresor a fázi "aklimatizační", ve které se znovu obnovují všechny metabolické dráhy. Po plné aklimatizaci dojde k ustanovení nového stavu homeostázy, ve kterém již buňka není dále ve stresu (SS_n). Na schématu je nový stav zobrazen jako vyšší, může být ale taky stejný jako původní nebo nižší. Zároveň pokud bude stres akutní nebo bude chronický po dlouhou dobu může to vést k buněčné smrti, a to řízené i samovolné. Naopak pokud budou i po aklimatizaci podmínky přetrvávat může se řasová buňka dostat do stavu "adaptace", kdy dojde k propisu obranných faktorů do genetické informace. Převzato z Borowitzka (2018).

makromolekul nebo zvýšená degradace ROS (= reaktivních forem kyslíku, z angl. reactive oxygen species) (Erickson et al. 2015; Sun et al. 2018). Pokud jde o krátkodobou událost, nejedná se o stresovou reakci, ale o buněčnou regulaci. Ke stresu dochází až ve chvíli, kdy regulace pro udržení homeostázy nestačí (Raven a Geider 2003). Řasy využívají i alternativní strategie, jak se stresu vyhnout. Například vytvořením odpočívajícího životního stádia (cysty, palmely, spory), zahájením pohlavního rozmnožování a tvorbou silnostěnných zygot nebo produkcí pohyblivých zoospor schopných stresu uniknout (Borowitzka 2018). Dalšími strategiemi může být případně změna stanoviště formou disperze, kde jako vektory slouží vodní živočichové a rostliny (Schlichting 1960; Kristiansen 1996) nebo změnou pozice ve vodním sloupci (Fogg 2001).

Ve své práci se chci zaměřit na speciální strategii úniku před stresovými faktory tvorbou palmely. Cílem bakalářské práce je podat ucelený náhled do problematiky palmelových stádií vybraných jednobuněčných řasových skupin, představit jejich ekologické niky, buněčnou diferenciaci a ekofyziologické projevy v reakci na environmentální stres související s formováním palmely. Pokusím se identifikovat a porovnat jejich adaptační mechanismy, morfologii palmelového stádia a budu se snažit získané informace shrnout do obecného modelu palmelové strategie.

1. Palmelová fáze

Parmelové stádium je dočasná reverzibilní fáze životního cyklu fotosyntetizujících organismů, které mají bičík nebo alespoň jejich genetická informace nese kódovanou sekvenci pro schopnost mít bičík. Tvorba palmely a posléze palmeloidu je nejčastěji reakcí na okolní měnící se podmínky, které by mohly ohrozit fungování buňky nebo zapříčinit její smrt. Při transformaci dochází k obalení buňky slizovitým obalem a ke shlukování s ostatními



Obr. 2 - Změny morfologie pozorované u *Chlamydomonas reinhardtii* v přítomnosti mikropolutantů. Zelený rámeček – zdraví jednobuněční bičíkovci. Fialový rámeček – palmeloidní kolonie. Oranžový rámeček – odumřelé buňky. Měřítko: 20 µm. Převzato z Cheloni a Slaveykova (2021).

buňkami stejného druhu do buněčných agregátů (Obr. 2) (Iwasa a Murakami 1968). Název stádia vznikl odvozením na základě morfologických podobností se zelenou řasou rodu *Palmella* z čeledi Palmellaceae (Barsanti a Gualtieri 2006), která byla v raných publikacích uváděna jako *Palmella mucosa* (Kützing 1843; Tischer a Moore 1964). Slovo samotné má etymologický základ pocházející ze spojení řeckého slova „palmos“ = vibrace, chvění

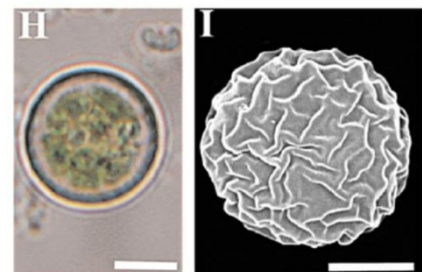
a novolatinské vědecké přípony „-ella“ pro podstatné jméno (Oxford University Press 2025). Spojení slov mohlo nést význam ve smyslu „chvějící se buňka“, což odkazuje na chvějící se mukózní obal buněk nebo na starší pozorování rodu *Palmella*, kde někteří autoři uvádějí, že vlivem rychlého rozmnožování a velkého počtu zoospor se z kolonie mohl za chvíli stát roj (Lyngbye 1819). U palmelového stádia může tento volný překlad poukazovat právě na silnou ochrannou vrstvu polysacharidů nebo na opakovaně pozorovaný fakt, že buňky v palmelovém stádiu se aktivně dělí. Není však pochyb, že název stádia vychází především z morfologické podobnosti se zmíněným rodem *Palmella*.

Z dosavadního poznání vyplývá, že palmelové stádium – shluk imobilizovaných buněk obalených hustou, nerozpustnou, sacharidovou matrix a tvořící větší agregáty je výhodným obranným mechanismem v boji s environmentálními stresory. Stresory mohou být abiotického nebo biotického původu. Mezi abiotické stresory se řadí např. vysychání (Wee et al. 2005),

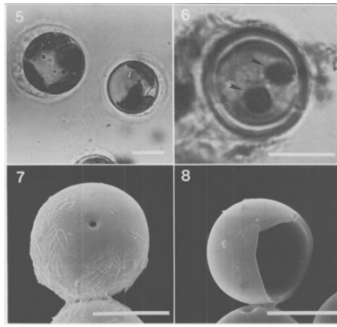
přítomnost mikropolutantů v prostředí (Cheloni a Slaveykova 2021), nadměrná ozářenost nebo nízké teploty (Szyszka-Mroz et al. 2022). Mezi biotické stresory řadíme např. nedostatek živin (malnutrici) (Olsen et al. 1983; Montoya a Olivera 1993; Wee et al. 2005) nebo přítomnost zooplanktonních predátorů (Lurling a Beekman 2006). Tvorba palmely by však mohla hrát roli v rozmnožovacích strategiích některých druhů řas nebo být dokonce podmínkou pro uskutečnění pohlavního rozmnožování (Rosowski 2003). Adaptace pro tvorbu palmelového stádia je pozorována u fylogeneticky blíže i vzdáleně příbuzných, jednobuněčných, eukaryotických organismů vlastních plastid.

1.1 Adaptační strategie – palmela, cysta, apoptóza

Na první pohled je možné vidět velkou podobnost s jiným odpočívajícím stádiem řas – cystou. Obě struktury jsou adaptacemi na nepříznivé podmínky, avšak jejich morfologie a některé fyziologické vlastnosti jsou odlišné. Cysta je klidové stádium pro přežití drsných podmínek na delší dobu. Buňka si tvoří odolný, silnostěnný obal, který může být inkrustován anorganickými solemi nebo v některých případech obsahovat algenany. Algenany jsou chemickými analogy sporopoleninů, které jsou významnou strukturální molekulou exinových obalů pylových zrn (Komaristaya a Gorbulin 2006; Ellegaard a Ribeiro 2018). U zlativek je povrch cyst tvořen oxidem křemičitým (SiO_2). Proces encystace vyžaduje značné předzásobení buňky, jelikož ve stádiu cysty zpravidla není buňka metabolicky ani reprodukčně aktivní nebo jsou oba tyto základní pochody potlačeny na minimum. Buňka je v dormantním stavu cysty na dobu, než dojde opět k optimálnímu ustanovení podmínek. Poté dochází k metabolické aktivaci a následné excystaci, která je záhy následovaná nepohlavním rozmnožováním. Cysta může být životaschopná měsíce až nižší desítky let (Anderson et al. 2003; Duff et al. 2013; Khan et al. 2015). Dlouhodobé klidové stádium cysty bylo popsáno u řady fylogenetických linií řas, které tvoří i palmely – hypnozygospora (Chlorophyceae) (Graham et al. 2016; Pollio et al. 2005) (Obr. 3), statospora (Chrysophyceae) (Sandgren a Flanagin 1986; Duff et al. 2013) (Obr. 4), silnostěnná cysta (Cryptophyceae) (Lichtlé 1979; 1980) i (Euglenophyceae) (Triemer 1980; Olli 1996). Krásnoočka navíc umí vytvářet



Obr. 3 - Obrázky (H), (I) zobrazují hypnozygosporu *Chlamydomonas* ve světelném mikroskopu a ve skenovacím elektronovém mikroskopu (SEM) Měřítka: (H, I) 5 μm . Převzato z Pollio et al. (2005).



Obr. 4 - Obrázků (5–8) znázorňují stomatocystu chrysofytní řasy rodu *Synura*, pozorovanou ve světelném i skenovacím elektronovém mikroskopu (SEM). Měřítko: 10 μm . Převzato z Sandgren a Flanagin, (1986)

organické loriky inkrustované kovy, např. manganem (Mn) a železem (Fe) (Pringsheim 1953; Pereira a Azeiteiro 2003). U skrytének a krásnooček je stádium popsané jako cysta ve starších publikacích podobné palmele (Tannreuther 1923; Santore 1978; Hilenski a Walne 1983). Navíc u těchto skupin neexistují dobře zachované fosilní záznamy, což naznačuje, že netvoří dlouhodobě odolná stádia. Mohlo tudíž dojít k záměně pojmů, v důsledku vágních definic nebo neúplných pozorování.

Z výše popsanych strategií pro překonání nepříznivých podmínek jsou zřejmé odlišnosti obou reverzibilních stádií. Cysta zůstává soliterní, buňka je uložena v pevné schránce a před excystací není reprodukčně aktivní a slouží k dlouhodobé ochraně buňky. Při vzniku palmelového stádia se buňky shlukují a vytváří společný, slizovitý, ve vodě nerozpustný obal, který je však pouze dočasný pro překlenutí krátké periody neoptimálních podmínek. Ve stádiu palmely zůstávají buňky metabolicky i reprodukčně aktivní. Buňky se shlukují a binárně se dělí. Pohlavní rozmnožování, ač je pravděpodobné, dosud nebylo pozorováno. Rovněž je nutné zmínit funkční trvanlivost stádia, kde dominuje cysta. Avšak při návratu do optimálních nebo částečně optimálních podmínek je jednodušší a rychlejší přeměna k metabolicky plně aktivnímu bičíkovci žijícímu opět striktně soliterně z palmely než z cysty.

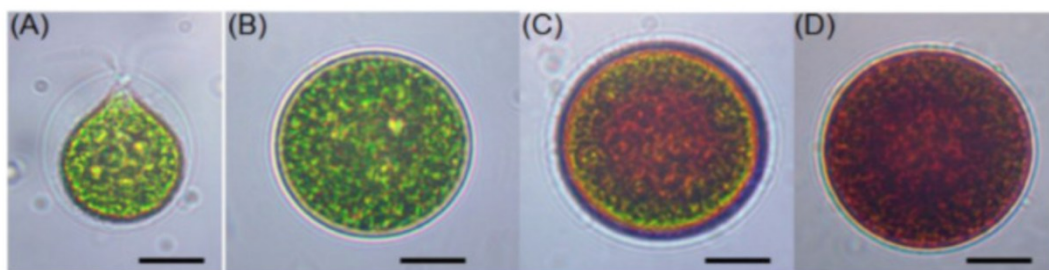
Přestože jsou schopni apoptózy (naprogramované buněčné smrti), jednobuněční bičíkovci inklinují spíše ke strategiím pokusu záchrany za každou cenu. Můžeme pozorovat určitou koexistenci obou mechanismů. Buď buňka vytvoří odolné stádium pro přečkání nepříznivých podmínek nebo podstoupí regulované buněčné sebezničení. Zatím neexistuje teorie, která by důvod zachování mechanismu apoptózy u jednobuněčných eukaryot vysvětlila (Kasuba et al. 2015).

1.2 Variabilita definice palmelového stádia

V odborné literatuře se lze setkat s širě vymezeným termínem palmelové stádium. Často k označení za palmelové stádium stačí, aby byla buňka nebo skupina buněk obalená v husté polysacharidové matrix. Ve své bakalářské práci se však budu držet definice uvedené výše s důrazem na aspekt ztráty bičíku ať už formou deflagelace (náhlé zahození bičíku) nebo autofagie struktur (resorpce bičíkových struktur do buněčných vezikulů). Zde bych ráda uvedla

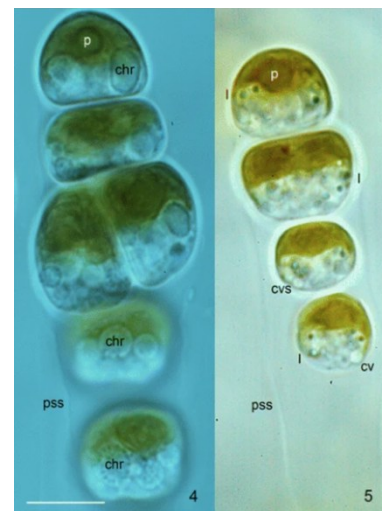
několik příkladů, které jsou v literatuře známé, avšak neodpovídají mnou zvolené definici i s krátkým odůvodněním, proč jsou podle zvolené definice nevyhovující.

Palmelou jsou nejčastěji označovány hlavně zelené, lze však takto označit i červené, akinety řasy *Haematococcus lacustris* (Chlorophyceae). Akineta je běžnou součástí životního cyklu bičíkovce *H. lacustris* (Obr. 5). Jedná se o tlustostěnnou, nepohyblivou, fotosyntetizující buňku, která slouží k přečkání nepříznivých podmínek způsobených vysycháním a nadměrným ozářením. Buňka ve fázi akinety se může nepohlavně rozmnožovat (Cheng a Shah 2021; Vávrová et al. 2024). U chlorofytní řasy *H. lacustris* nedochází při tvorbě akinety k agregaci buněk a společnému obklopení slizem. Tvoří pouze stádium morfologicky podobné palmele.



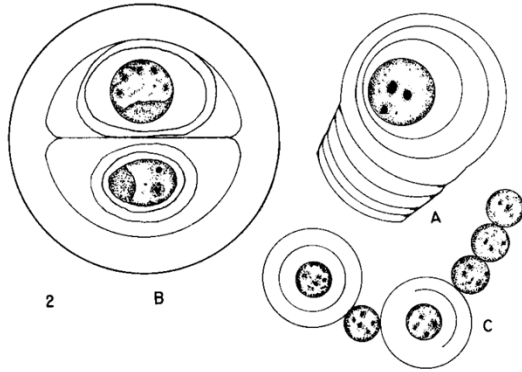
Obr. 5 – Fáze životního cyklu zelené řasy *Haematococcus lacustris*. A – dvou-bičíkatá izokontní zoospora; B – zelená akineta (někdy zvaná palmela) již nepohyblivá, zato velmi fotosynteticky aktivní až s patrnými pydenoidy; C – v akinetě byla již započata tvorba asthaxanthinu a dalších sekundárních β -karotenů v závislosti na zvyšující se stres z ozáření, syntéza začíná od středu buňky, tak aby bylo ochráněno především jádro s genetickou informací; D – červená akineta plná asthaxanthinu a β -karotenů, stále fotosynteticky aktivní. Měřítka: 10 μ m. Převzato z Cheng and Shah (2021)

Palmeloid byl popsán také u zlativky *Hydrurus foetidus* (Chrysophyceae), která tvoří makroskopické stélky v horských pramenech (Obr. 6). Palmelové stádium řasy *H. foetidus* popsané v letních měsících tvořila makrostélka pokrytá silnou vrstvou polysacharidové matrix, u které zároveň docházelo k četným fragmentacím stélky. Fragmenty měly vyšší pravděpodobnost, že se s proudem dostanou do stinných míst koryta, kde bude nižší teplota a ozáření (Klaveness 2017). Chrysofytní řasu *Hydrurus foetidus* nelze do práce zahrnout z důvodu již předchozí agregace buněk a tvorby stélky, která se až sekundárně fragmentuje. Zároveň buňky neprochází palmelovou transformací, protože ve vegetativním stádiu jsou již nepohyblivé.



Obr. 6 - Morfologie apikální větve stélky *Hydrurus foetidus*, kde jsou buňky obalené v polysacharidové matrix (pss). Buňky mají na apikální části pyrenoid (p) s chloroplasty, v laterální části buňky se vyskytují vezikuly naplněné zásobním chrysolaminarinem (cv) nebo kotraktivní vakuoly (cvs), na povrchu buňky se pak koncentrují lipidové vezikuly (l). Měřítka: 10 μ m. Převzato z Klaveness (2017).

Palmelové stádium bylo popsáno i ve studiích věnujících se sinicím, převážně u rodu *Anabaena* (Cyanobacteria) (Obr. 7). Buňky vykazovaly morfologickou podobnost způsobenou velkou nadprodukcí slizu, do kterého byla kolonie zanořena. Kolonie buď sestává z vláknitých filament nebo utváří uspořádání podobné sinici *Chroococcus* sp., což při pozorování



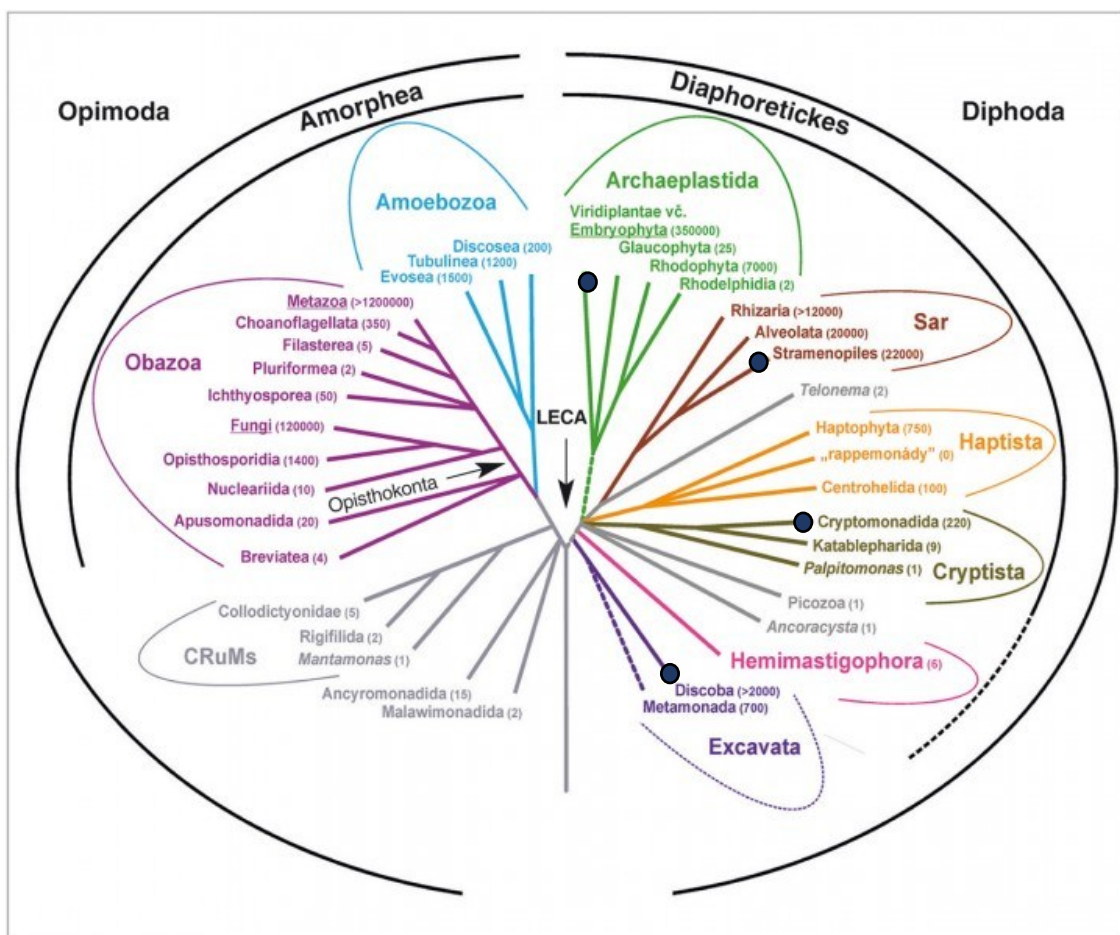
Obr. 7 - Typy palmelových stádií u sinice rodu *Anabaena* sp.:

A – buňka obalená v mukózní vrstvě slizu; B – uspořádání podobné řase *Chroococcus* sp., buňky jsou v páru obalené ve společné vrstvě polysacharidové matrix; C – vlákno se dvěma buňkami v palmelové fázi a čtyřmi ve standardní fázi. Měřítko: neuvedeno. Převzato z Bausor a Agona (1973).

ve světelném mikroskopu vypadá, že se ve slizovém obalu buňky párují (Obr. 7 B). Během této fáze jsou prokaryotické buňky vždy nadále reprodukčně aktivní a po ustálení okolního prostředí se sinice znovu uspořádávají do dlouhých vláken. Buňky zvolenou definicí nespĺňují hned v několika kritériích. Nejedná se o eukaryotické buňky, neprochází palmelovou transformací, agregace buněk není vázaná na palmelové stádium, naopak mnohdy dojde spíše k rozvolnění vláken (Bausor a Agona 1973).

2. Palmely napříč fylogenetickými liniemi

Palmelová stádia, kterým předchází palmeloidní transformace, při které dojde ke ztrátě bičíku, byla detailně popsána u řas řádu Chlamydomonadales (Archaeplastida, Viridiplantae, Chlorophyta), zlativek řádů Chromulinales a Synurales (SAR, Stramenopiles), ale i u skrytěnek řádu Cryptomonadales (Cryptista) nebo krásnooček řádu Euglenales (Discoba, Euglenida) (Obr. 8). Výčet není kompletní, zaměřuji se především na organismy, kde je palmelové stádium alespoň částečně prozkoumáno.

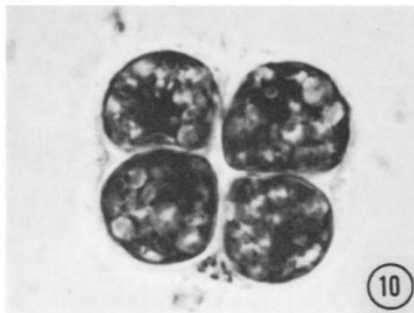


Obr. 8 - Eukaryotický strom života, kde je naznačen vývoj evolučních linií s údajem o přibližné zaznamenané diverzitě v závorce. Jednotlivé superskupiny jsou barevně členěné. Kmeny, kterým se v práci budu věnovat jsou označeny tmavou tečkou. Převzato z Čepička (2019).

2.1 Euglenophyceae

(Discoba, Euglenozoa, Euglenida)

Krásnoočka jsou jednobuněční samostatně žijící bičíkovci, nejčastěji eutrofních stojatých vod. Plastid získala sekundární endosymbiózou zelené řasy. Výživa je striktně mixotrofní, potřebují přijímat některé esenciální mikronutrienty z okolních zdrojů. Mají jeden až dva heterokontní anteriorní bičíky, hlavní je vyztužený paraxonemální tyčí. Bičíky slouží převážně k pohybu nebo k nahánění kořisti do ampuly. Bičíky jsou však při transformaci v palmelu nebo cystu ztraceny (Tannreuther 1923; Johnson 1934; Jahn 1946). Jahn (1946) ze svých pozorování vyvozuje, že palmelové stádium je jedno ze dvou charakteristických stádií u krásnooček rodu

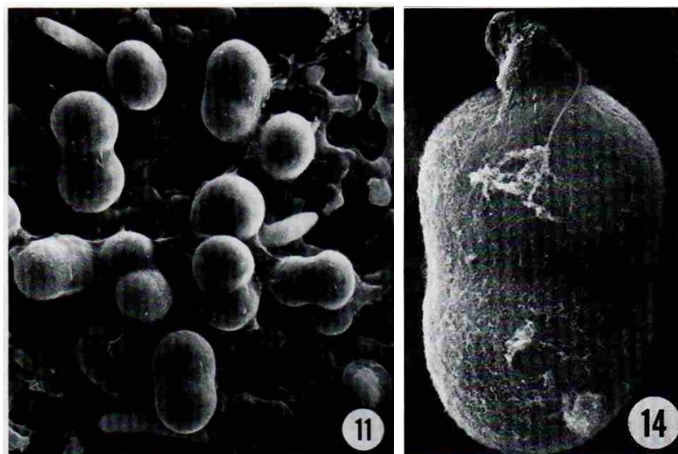


Obr. 9 - Palmeloid *Colacium* sp. barvený hematoxylinem. Měřítka: původní zvětšení $\times 1,320$. Měřítka obrázku není zachováno. Převzato z Willey (1973).

Colacium, je méně časté u rodu *Euglena* a nevyskytuje se u heterotrofních (bezbarvých) rodů. Johnson (1934) popsal, že charakteristické palmelové stádium *Colacium vesiculosum* je tvořeno vrstvami oválných buněk obalených v želatinové matrix. Jahn (1946) jako jeden z prvních komplexně popsal palmelové stádium u rodu *Euglena* a *Colacium*. Stádium, kdy buňky tvoří palmeloid popisuje jako shluk nebičíkatých organismů uložených v želatinové matrix, která je často kotvena ke starším buňkám v kultuře.

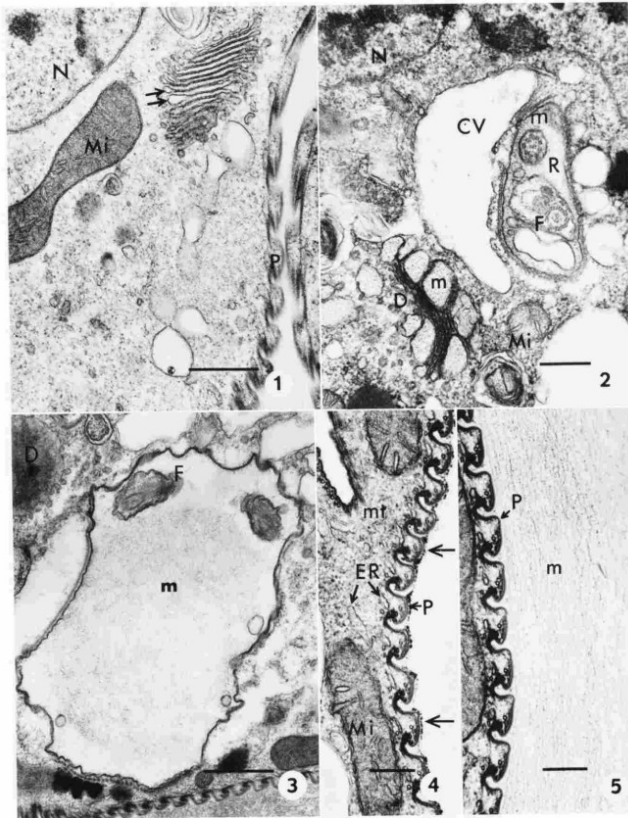
Willey (1973) u rodu *Colacium* (Obr. 9) charakterizuje buňky ve formě palmely jako nepohyblivé a bez mukózního stonku. Palmelové stádium je tvořeno vrstvami oválných až sférických buněk obalených v želatinové matrix, která je připevňuje k povrchu a zároveň jednu buňku ke druhé. Willey (1973) rovněž pozorovala ztrátu dominantního bičíku. Zůstaly zachovány pouze dva nestejně dlouhé bičíky zatažené v ampule. Kratšímu bičíku chyběla dvojice centrálních mikrotubulů 9+0, lišil se tedy od původního, dominantního bičíku, který si zachoval typickou strukturu 9+2 mikrotubulů. Bez centrální dvojice mikrotubulů není bičík schopný pohybu. Tento defekt se však běžně vyskytuje i v aktivních kulturách *Euglena acus*, *E. stellata* a *Cylidiopsis acus*, není tedy nejspíše projevem pouze palmelového stádia. Bičíky ústí v ampule, což je významná buněčná struktura krásnooček, která slouží jako buněčná ústa při fagocytóze, anebo funguje jako rezervoár (Leander et al. 2007). Johnson (1934) ze svých pozorování vyvozuje, že se ampula u *Colacium vesiculosum* během formování v palmelu ztrácí. Willey (1973) toto tvrzení však ze svých ultrastrukturálních pozorování nepotvrdila. U rodu *Euglena* je ampula ve stádiu obaleném

mukózní matrix zachována (Tannreuther 1923). V blízkosti se nachází i kontraktilní vakuola, která udržuje osmotickou homeostázu buňky (Leander et al. 2007). Buňka totiž není obklopená buněčnou stěnou, cytoplazmatická membrána je pouze vyztužená proteinovými pásy. Tato komplexní proteinová struktura se nazývá pelikula a slouží k pohybu specificky označenému termínem metabolie. Triemer (1980) a Graham et al. (2016) uvádí, že díky nerigidní pelikule se může jedinec pohybovat i ve stádiu cysty, u palmel nebyla metabolie pozorována. Ampula s kontraktilní vakuolou jsou důležitými organelami při přeměně v palmelu. V ampule dochází k hromadění polysacharidové matrix, která je následně při systolické kontrakci vakuoly vyvrhnutá ven z buňky, kde tvoří ochranný slizovitý obal. Buňky se mohou lišit tloušťkou obalu, který



Obr. 10 - Palmeloid *E. myxocylindracea* obsahující četné množství dělicích se buněk zahalených v hustém fibrilárním obalu a celkově v čirém slizu (11). Měřítka: původní zvětšení x640. Dvě rozdělné buňky v palmelovém stádiu, které obklopuje pelikula a společný, hustý, slizovitý obal (14). Měřítka: původní zvětšení x2,500. Měřítka obrázků nejsou zachována. Převzato z Rosowski (1977).

je buď jemný a transparentní nebo značně zakalený (Tannreuther, 1923). Jahn (1946) uvádí, že matrix sestává z blíže nedefinovaných polysacharidů. Rosowski (1977) se zabýval mukózním obalem u rodu *Euglena*, konkrétně u druhů *E. gracilis*, *E. myxocylindracea*, *E. deses* a *E. tiptervis*. Mukózní obal byl zkoumán na kulturách buněk ve stacionární fázi růstu. Autor pozoroval, že u palmel dochází během maturace k navýšení sekrece slizu a úbytku vláknitých struktur. U *Euglena myxocylindracea* bylo palmelové stádium časté. Běžné bylo dělení buněk palmeloidu viz Obr. 10. Přeměna v palmelu u *E. deses* a *E. tiptervis* nastává, když se buňka začne zakulacovat. Produkce slizu však pokračuje do takové míry, že není patrná struktura pelikuly (Obr. 10 a 11). Palmely se při pozorování často vyskytovaly v párech uzavřených ve stejném obalu, po dokončení dělení byl patrný rozdíl v hustotě amorfního, slizovitého obalu mladší a starší buňky. Složky polysacharidové matrix jsou syntetizovány v Golgiho aparátu a v endoplazmatickém retikulu, které může asociovat s pelikulou. Golgiho aparát je u krásnooček většinou jednou z dominantních struktur a skládá se z velkého množství cisteren (Leander et al. 2017). Při tvorbě silné vrstvy mukózního obalu u *E. gracilis*, dojde z počátku k výraznému rozšíření terminálních konců cisteren diktyozómu a následně k redukci počtu cisteren z 10-20 na 6-12, naproti tomu dojde k razantnímu zbytnění v terminálních částech z důvodu nadprodukce mukusu jak je patrné z Obr. 11. Mukus však nebyl



Obr. 11 - Zkratky: CV (contractile vacuole) = kontraktilní vakuola, D (dictyosome) = diktyozóm, ER (endoplasmic reticulum) = endoplazmatické retikulum, F (flagellum) = bičík, Mi (mitochondria) = mitochondrie, mt (mikrotubule) = mikrotubuly, m (mucilage) = sliz, N (nukleus) = jádro, P (pellicle) = pelikula, R (reservoir) = ampula.

1-5 produkce mukózního obalu buněčnými kompartenty u *E. gracilis*. 1 nestresovaná buňka se standardním počtem cisteren diktyozómu s mírně rozšířenými konci cisteren. Měřítko: 0,5 μm . 2 stresem indukovaná buňka se sníženým počtem cisteren diktyozómu, terminální úseky zbylých cisteren jsou rozšířeny a naplněny slizem. Měřítko: 0,25 μm . 3 ampula naplněná slizem, před jeho exkrecí. Měřítko: 1,0 μm . 4 a 5 pelikula zalitá mukózní vrstvou. Měřítko: 0,25 μm . Převzato z Triemer (1980).

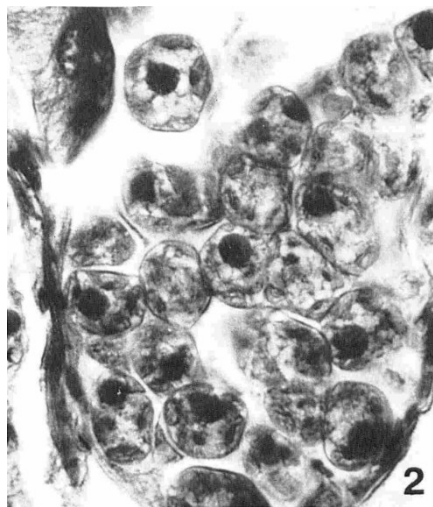
patrný v endoplazmatickém retikulu asociovaném s pelikulou (Triemer 1980). Cysta krásnooček má sférický nebo kulovitý tvar a vytvoří okolo sebe silnou a hustou polysacharidovou vrstvu, nemá však tolik vrstev a není tak objemná jako ochranná vrstva palmely. Tannreuther (1923) popsal stádia podobná palmeloidu a zároveň i stádium dočasné cysty, která však není schopná se dělit. Jahn (1946) uvádí, že palmely euglenoidů lze dobře poznat podle zachovaného stigma a výrazných paramylonových zrn (zásobní polysacharid) v cytoplazmě. Fotopercepci mají krásnoočka zprostředkovanou fotoreceptorem ve zduřenině na bázi dorsálního bičíku, který je při rotujícím pohybu periodicky zakrýván světločivnou skvrnou (stigma), umístěnou v přední části buňky (Leander et al. 2017). Při tvorbě palmely se zdá, že stigma zůstává v nějaké míře zachováno. Dle Tannreuthera (1923)

zůstávají stigma i ampula u palmel rodu *Euglena* zachovány, a to i během dělení. Naopak Johnson (1934) ve své práci píše, že během formování palmely u rodu *Colacium* dochází k rozptýlení granulí světločivné skvrny. Což potvrzuje ze svých pozorování i Willey (1973). Granule stigma nejsou rozptýlené náhodně jako u *C. vesiculosum*, zároveň nevykazují typickou strukturu a lokalizaci stigma jako u vegetativních buněk, ale mají tendenci se shlukovat v blízkosti ampuly viz Obr. 12 (Willey 1973). Pohlavní rozmnožování nebylo popsáno. Nepohlavní rozmnožování probíhá formou binárního dělení, které probíhá od anteriorní části buňky (Leedale 1967; Triemer a Farmer 1991). Jahn (1946) pozoroval, že buňky v palmelové fázi jsou schopny se dělit, zatímco u bičíkovců rodu *Colatium* nebyla schopnost dělit

se zaznamenána. Tannreuther (1923) popsal ve své práci na rodu *Euglena* příčné dělení encystovaných buněk. Jednalo se o buňku, která ztratila svůj bičík a uchýlila se do stádia cysty, kde se následně rozdělila. U dceřiných buněk došlo ke kompletnímu vývoji všech důležitých struktur před opuštěním cysty ve formě bičíkovce. U *Euglena gracilis* pozoroval podélné dělení u encystovaných buněk ve shlucích. V počátečním stádiu encystace dochází u buňky ke ztrátě bičíku, zaoblení do více, či méně sférického tvaru a následně se buňka začne dělit. Výše popsané stádium se shoduje s popisem palmeloidu, avšak autor tento pojem ve své práci nepoužil.

Tannreuther (1923) popsaná stádia u rodu *Euglena* pozoroval během teplých dní, takže se můžeme domnívat,

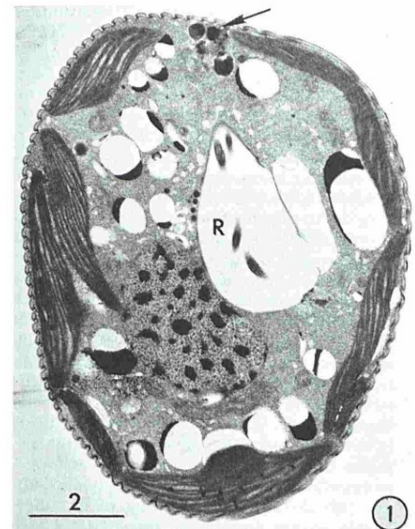
že indukci palmel vyvolala právě zvýšená teplota. Jahn (1946) přisuzuje indukci palmelového stadia náhlé změně pH, extrémním teplotám, obsahu a koncentracím média, náhlým změnám



Obr. 13 - Palmeloid *Colacium libellae* v rectu vážky. Měřítka: původní zvětšení x1,000. Měřítka obrázku není zachováno. Převzato z Rosowski a Willey (1975).

světelných podmínek (přenášení kultury ze světla do tmy a naopak). Zároveň popisuje, že je možný reverzibilní návrat z palmely zpět v pohyblivého bičíkovce, který následně uniká z polysacharidového obalu. Willey (1973) a Rosowski a Willey (1975) pozorovali palmelové stádium u *Colacium* sp. (Obr. 9) a *Colacium libellae* (Obr. 13) v konečniku larev vážek (Zygoptera, Odonata) během chladnějších měsíců (vzorky byly sebrány v listopadu nebo v dubnu a uchovány v laboratoři). Po vyjmutí z hmyzu a umístění do vhodného média byla po 15-20 minutách pozorovaná transformace zpět v bičíkovce a také došlo k obnovení všech typických euglenoidních struktur. Willey (1973) uvádí, že by mohlo jít o symbiotický vztah, kdy larva řase poskytuje útočiště a řasa vážce produkuje fotosyntézou kyslík, který je po těle roznášen malpigickými trubicemi (dýchacím ústrojím vážky).

Rosowski (1977) uvádí mezi funkce mukózního obalu ochranu buňky, zpomalující vysychání, adhezi k povrchům nebo jako pomůcku pro flotaci, nadnášení buňky na hladině.



Obr. 12 - Buňka *Colacium* sp. v palmelovém stádiu. R (reservoir) = ampula naplněná slizem. Dobře patrná jsou i velká paramylonová zrna. A černá šipka ukazuje stigma v apikální části buňky, relativně blízko ampule. Měřítka: 2 μ m. Převzato z Willey (1973).

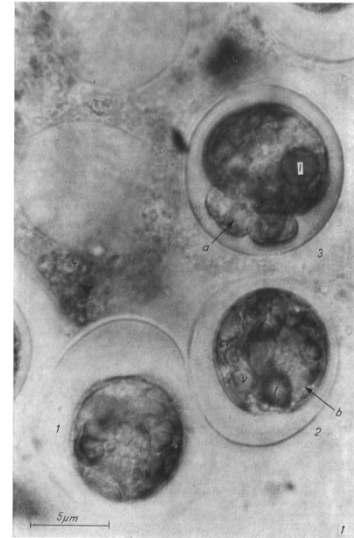
po 15-20 minutách pozorovaná transformace zpět v bičíkovce a také došlo k obnovení všech typických euglenoidních struktur. Willey (1973) uvádí, že by mohlo jít o symbiotický vztah, kdy larva řase poskytuje útočiště a řasa vážce produkuje fotosyntézou kyslík, který je po těle roznášen malpigickými trubicemi (dýchacím ústrojím vážky).

Adhezivní funkci uvádí i Johanson (1934), Jahn (1946) a Willey (1973). Celkový význam tvorby palmelového stádia však zůstává nejasný.

2.2 Cryptophyceae

(Cryptista, Cryptomonadales)

Skrytěnky se vyskytují téměř ve všech vodních habitatech jako důležitá složka planktonu, která tvoří netoxickou potravu pro větší zooplankton, především nálevníky (Ciliophora), vířníky (Rotifera), ale i dravé protistní druhy schopné fotosyntetizovat, například obrněnky (Dinophyta) (Wilcox a Wedemayer 1984; Pedrós-Alió et al. 1995; Tirok a Gaedke 2007). Nukleomorf rodoplastu odkazuje na sekundární endosymbiózu červené řasy. Buňky skrytěnek jsou dorzo-ventrálně zploštělé. Santore (1978) popsal palmely *Cryptomonas ovata*, *Cryptomonas* spp. jako zaoblené buňky zapuštěné do průsvitného, slizovitého materiálu



se zachovalou dorzo-ventrální stavbou (Obr. 14). Bičíkovec má dva heterokontní anteriorní bičíky, které vychází z invaginace zvané vestibulum na apikálně-ventrální straně buňky. Pringsheim

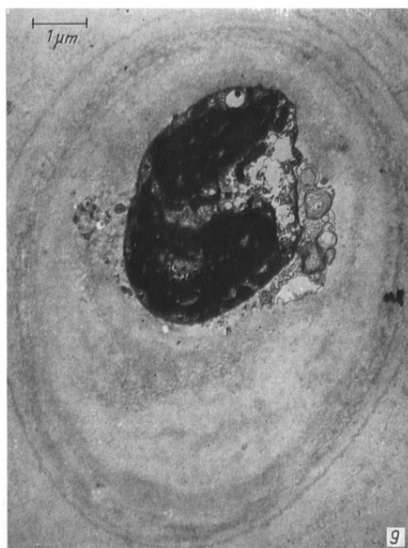
Obr. 14 – Palmeloid buněk rodu *Cryptomonas* spp. zanořené v transparentní slizovité matrix. Měřítko: 5 μm. Převzato z Santore (1978).

(1968) při svých pozorováních *Cryptomonas* zaznamenal, že buňky jsou vždy v pohybu, ale mohou vytvářet přechodná nepohyblivá stádia ve slizovité matrix. Palmelové stádium *Chroomonas* popsal jako bičíkovce uvízlé v hlenovitém gelu. Rosenberg (1944) při kultivaci přírodních vzorků pozoroval palmeloid *Chroomonas nordstedtii* vyvinutý na agaru, který tvořil shluk nepohyblivých, často se dělících buněk. Meyer a Pienaar (1984) zjistili, že při palmelovém stádiu dochází k zatažení bičíků do vestibula. Do vestibula ústí kontraktilní vakuola, která reguluje osmotický tlak buňky (Gillott a Gibbs 1983; Hoef-Emden a Melkonian 2003). Význam pro palmelové stádium mají podle Santoreho (1978) tyto struktury hlavně v utváření mukózního obalu. Při procesu tvorby obalu dochází ve vestibulu k akumulaci a zahuštění obsahu váčků z diktyozómu. Během syntézy váčků dochází k zmnožení cisteren diktyozómu, a hlavně k jejich zvětšení viz Obr. 15. Následně je směs nasyntetizovaných polysacharidů a dalších hydrofobních sloučenin vyvržena vně buňky, kterou obklopí a vytvoří tak ochranný obal. Vezikuly z diktyozómu s nasyntetizovanými polysacharidy mohou být shromažďovány v kontraktilní vakuole sousedící s vestibulem. Při systolických stazích vakuoly pak dochází k hromadnému vyprázdňení obsahu do prostoru vestibula a následnému vyvržení

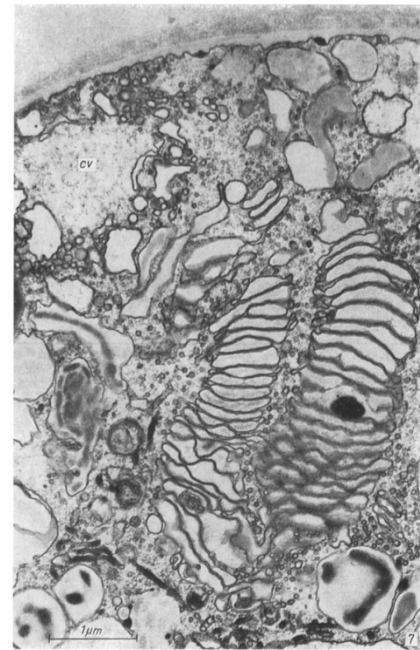
velkého množství polysacharidové matrix ven z buňky. Santore (1978) ve světelném mikroskopu pozoroval, že je mukózní obal palmel skrytěnek výrazně vrstevnatý (Obr.16). Vrstevnatost může být způsobena různým zastoupením vláknitých struktur.

Výživa skrytěnek je mixotrofní, při hladovění nebo nadměrném ozáření tvoří cysty (Lichtlé 1979; 1980; Hoef-Emden a Melkonian 2003). Cysta se na rozdíl od palmely nedělí. Santore (1978) ve své práci diskutuje možnou skutečnost rozdílnosti polysacharidového obalu palmely a cysty skrytěnek. U palmely obal charakterizuje jako vrstvený a transparentní s patrným zesíťováním, zatím co u cysty obal popisuje zakalený z důvodu hustě zasíťovaného okrajového lemu, díky němuž celý útvar okolo buňky působí rigidněji a netransparentně. V průřezu

cysty pak nejsou patrné vrstvy ani pravidelné zesíťování jako u palmely viz Obr. 16. Je tedy možné, že by zde mohl být důležitý strukturní rozdíl ochranného obalu cysty a palmely, který je závislý na množství a rozvrstvení směsi polysacharidů tvořících obal buňky. Rosenberg (1944) pak pozoroval, že palmelové buňky mají v cytoplazmě více škrobových zrn než bičíkovci. Více škrobových zrn a lipidových kapének zaznamenal také Santore (1978). Golgiho



Obr. 15 - Palmela *Cryptomonas ovata* v transparentním, vrstevnatém, mukózním obalu. Okolo buňky jsou nejspíš exocytované membrány, vezikuly a další materiály. Měřítko: 1 μm. Převzato z Santore (1978).

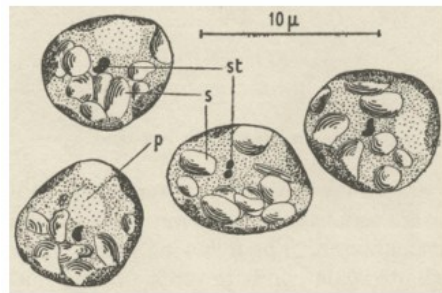
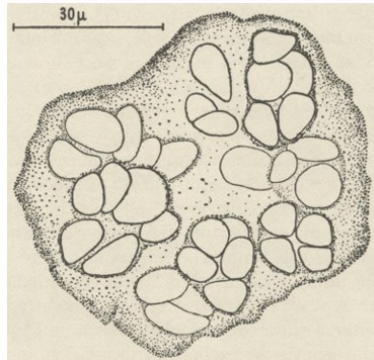


Obr. 16 - Příčný řez buňkou *Cryptomonas* sp. v rané fázi tvorby palmely. Na fotografii jsou patrné rozšířené cisterny Golgiho aparátu (= diktyozómu). Měřítko: 1 μm. Převzato z Santore (1978).

aparát je důležitou organelou syntetizující exopolysacharidy, které jsou majoritní složkou mukózní matrix obklopující palmelu. Santore (1978) popisuje podobnost strukturních změn v buňce na začátcích tvorby ochranných stádií ať už cysty nebo palmely. Při formaci stádií dochází v buňce k rozšíření cisteren Golgiho aparátu, případně i jejich spojení, zbytnění vestibula, okolo kterého se hromadí váčky obsahující zásobní látky nebo produkty diktyozómu. Stigma složené z lipidových kapének a karotenoidů je umístěno na periferii buňky a při rotujícím pohybu funguje jako stínítko pro fotoreceptor. Dle pozorování skrytěnkových palmeloidů Rosenbergem (1944) si skrytěnky své stigma ponechávaly i ve stádium palmely. Stigma se však přesunulo do centrální části buňky. Periplast je komplexní proteinová

výztuž cytoplazmatické membrány, tím ji dělá odolnější proti vnějším vlivům (Brett et al. 1994). Skrytěnky se rozmnožují převážně nepohlavně binárním dělením (Oakley a Dodge 1976). Huber-Pestalozzi (1950) pozoroval dělení buněk skrytěnek jednak v pohyblivé vegetativní fázi, ale rovněž i v palmeloidním stádiu životního cyklu.

Palmely, které můžeme vidět na Obr. 17, byly pozorovány v souvislosti s nedostatkem živin (Rosenberg 1944a). Skrytěnkový palmeloid byl rovněž pozorován jako osmoprotektivní stadium a ochranná fáze proti vysychání (Hoef-Emden 2014). Rosenberg (1944) palmely



Obr. 17 - Na horním obrázku je zakreslen palmeloid skrytěnky rodu *Chroomonas*, pěstovaném na agaru za pokojové teploty, deprivovaný nedostatkem živin, tak jak jej Rosenberg (1944) pozoroval. Na dolním obrázku jsou poté zakresleny palmelové buňky s výraznými škrobovými zrnky (s), stigmatem přesunutým do centrální části buňky (st) a pyrenoidem (p). Měřítka: 30 μm a 10 μm. Převzato z Rosenberg (1944).

indukoval v přírodních vzorcích s přidaným živným roztokem, které několik měsíců kultivoval za pokojové teploty. Hoef-Emden (2014) pozorovala palmely u *Chroomonas africana* během svého výzkumu osmoprotektivních mechanismů u skrytěnek žijících v osmoticky rozdílných habitatech. Meyer a Pienaar (1984) izolovali tento druh *Ch. africana* v Kapské oblasti Jižní Afriky a popsali jej jako euryhalinní. Buňky *Ch. africana* v experimentech Hoef-Emden (2014) byly schopné se dobře přizpůsobit životu v prostředích o velmi rozdílných osmolaritách, a dokonce reagovat na osmotické šoky. Palmely představovaly dominantní stádium, naopak bičíkatí jedinci byli vzácní.

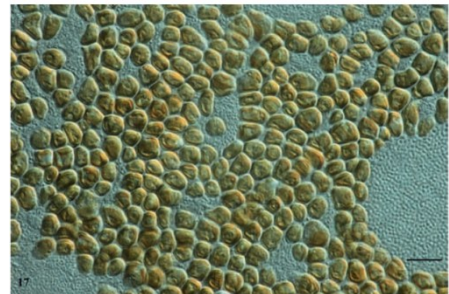
Podle Hoef-Emden (2014) má mukózní obal dvě hlavní funkce – ochranu před vysycháním a adhezi k minerálnímu podkladu, která má zabránit vyplavení buněk mimo vodní prostředí. Zároveň je známá obecná osmoprotektivní funkce polysacharidů, které tvoří hlavní složku palmelového obalu (Slama et al. 2015; Shetty et al. 2019). Práce Santoreho (1978) tvrzení podporuje adhezivní funkci mukózního obalu na základě jeho struktury, která je ve směru dál od buňky stále hrubší, více zesíťovaná, umožňující lepší adhezi, jak k dalším buňkám, tak k pevnému povrchu. Zároveň by mohl mukózní obal palmely sloužit jako štít při zvýšené predaci v dané lokalitě (Klaveness 1988).

2.3 Chrysophyceae

(SAR, Stramenopiles, Ochrophyta, Chrysophyceae)

Zlativky jsou bičíkovci žijící buď soliterně nebo v klonálních koloniích (všechny buňky kolonie mají stejnou genetickou informaci, lze je tedy formálně považovat za jeden organismus). Dominantní ekologickou nikou zlativek je nezastíněná eufotická zóna mělkých sladkovodních ploch s neutrálním až nižším pH a nízkou konduktivitou. Zlativky převážně upřednostňují oligotrofní až mesotrofní vody a jejich abundance klesá se zvyšující eutrofií dané lokality; hlavním důvodem bude vyšší abundance predátorů (Sandgren 1988; Siver 1995). Palmelová strategie byla pozorována u zlativek rodu *Synura*, *Mallomonas* a *Ochromonas* (Andersen 1987; Wee et al. 2005; Andersen et al. 2017).

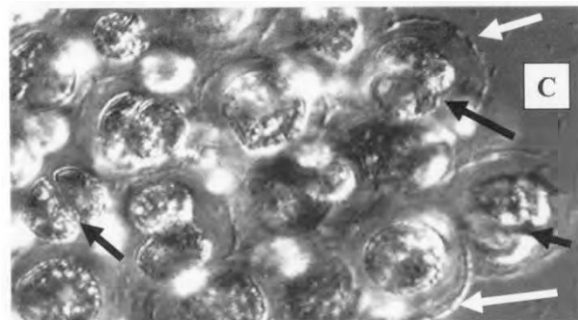
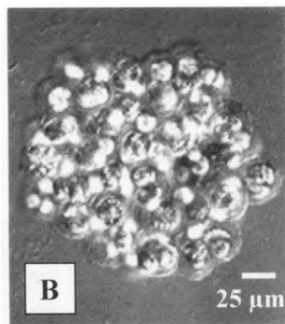
Andersen et al. (2017) u palmel *Ochromonas* pozoroval dva chloroplasty (Obr. 18). Chloroplast obklopují čtyři membrány, které odkazují na vznik plastidu seriální endosymbiózou. Vnější obal se nazývá periplastidiální endoplazmatické retikulum (PER) (Gibbs 1962a; 1962b). PER je společně s diktyozómem zodpovědné za tvorbu exopolysachridů, které tvoří důležitý obal buňky v palmelovém stádiu. Z diktyozómu



Obr. 18 - Palmeloid *Ochromonas triangulata*. Měřítko: 20 μ m. Převzato z: Andersen (2017).

se odvozují váčky nesoucí složky mukózního obalu nebo silikon-depozitní váčky (SDV, z angl. silica-deposit vesicles), uvnitř následně dochází k polymeraci křemičitých šupiny. Šupiny vznikají fúzí SDV na povrchu chloroplastu, kde formování šupiny napomáhá invaginované PER. Po vytvoření šupiny dojde k odloučení od chloroplastu a fúzi s plasmatickou membránou následovanou vyloučením šupiny na povrch buňky (Wujek a Kristiansen 1978; Wee a Andersen 1997). Buňky zlativek jsou tedy buď nahé, obalené mukózním obalem, kryté křemičitými šupinami nebo schované v křemičitých či organických lorikách. Speciálně u Synurales jsou buňky pokryté křemičitými šupinami a někdy i chráněné křemičitými ostny (Lee 1978; Mignot a Brugerolle 1982). Šupiny jsou přítomné i v palmelové fázi, kde tvoří ochranný val ve vnější vrstvě slizu palmeloidu. Šupiny tedy neobklopují již pouze jednu buňku, ale chrání celý shluk buněk (Obr. 19)(Wee et al. 2005).

V řádu Chromulinales byly palmely pozorovány u zástupců rodu *Ochromonas*. Vysotskii (1887) při popisu rodu *Ochromonas*, ve své práci zdokumentoval i stádium, které nápaditě připomíná palmeloid. Popisuje jej jako vegetativní buňky, které na vodní hladivě utvořily jednobuněčnou vrstvu a postrádají stigma. Stádium, které charakterizoval jako cystu, však spíše připomíná buňku v rané fázi přeměny v palmelu. Dle Andersena et al. (2017) se jedná o první popis palmelového stádia u *Ochromonas*.



Obr. 19 - (B) Palmeloid *Synura uvella* na agarové plotně. (C) Předchozí obrázek zvětšen x4. Bílé šipky označují vnější povrch mukózního obalu palmeoidu, ve kterém jsou seskupené křemičité šupiny, jež byly původně na povrchu buněk. Na fotografii je i velice dobře patrná tloušťka slizové vrstvy mezi buňkou a šupinami. Černé šipky označují povrch nedávno rozdělených buněk, obklopených společnou obálkou. Měřítka: (B) 25 μm , (C) zvětšeno (B)x4. Převzato z Wee et al. (2005).

Nedostatek živin může být jedním z faktorů uchýlení buňky do stádia palmely. Zásobní látka chrysolaminaran (= leukosin) je uložena ve speciálních váčcích, které mohou fúzovat ve vakuolu (Bouck a Brown 1973; Nicholls a Wujek 2003). Andersen et al. (2017) však u palmel *Ochromonas triangulata* pozorovali, že buňky měly menší počet vakuol se zásobním chrysolaminaranem a cytoplazma

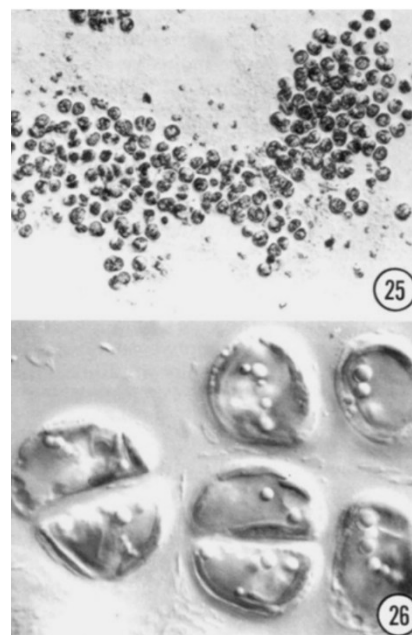
obsahovala výrazně méně lipidových kapének nebo úplně chyběly. Některé zlativky mají stigma, které je zachované i ve stádiu palmely. Při tvorbě palmely jsou ztraceny nebo silně redukovány bičíky. Andersen (1987) popisuje palmelu jako alternativní stádium k preferovanému bičíkatému stádiu. Dle jeho nepublikovaných výsledků byla tato formace častým jevem v kulturách vedle jiných nebičíkatých forem, jako je améboidní stádium nebo jiná stádia tvořící shluky. Palmela

Ochromonas triangulata postrádala jak bičíky,

tak i potravní vakuoly (Andersen et al. 2017). V palmelovém stádiu bylo pozorováno dělení buněk vedoucí k zvětšování populace (Andersen 1987; Wee et al. 2005). Již Andersen (1987) u palmeloidu řasy *Synura uvella* pozoroval ve světelném mikroskopu binárně se dělící palmelové buňky (Obr. 20). Zjištění potvrzuje skutečnost, že jsou palmely reprodukčně aktivní, tudíž musí mít dostatečně výkonný metabolismus. Binární dělení ale Andersen et al. (2017) u palmel *O. triangulata* nepozorovali.

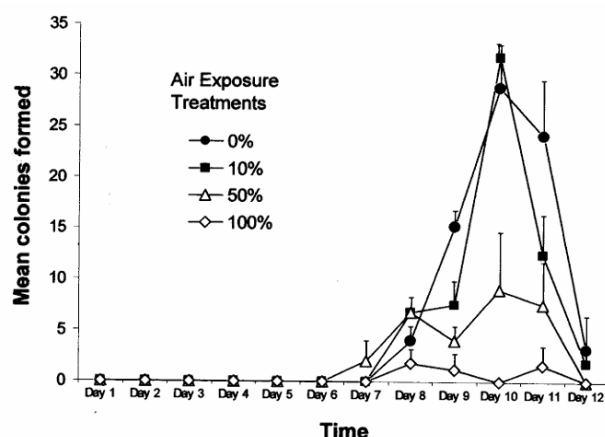
Parmelové stádium u rodů *Synura* a *Mallomonas* bylo poprvé zaznamenáno v přírodních vzorcích ve studiích Paschera (1912) a Conrada (1922). Podrobnější popis a dokumentaci palmelového stádia u *Synurales* zpracoval Andersen (1987). Palmelová stádia zaznamenal u sladkovodních planktonních i bentických druhů v bifázických kultivačních

médiích. Palmely *Ochromonas triangulata* pak Andersen et al. (2017) pozorovali při kultivaci na agarové plotně (Obr. 20). Wee et al. (2005) navázali na práci Andersena (1987). Pokusili se objasnit, za jakých podmínek palmely vznikají a spekulovali ohledně jejich funkce. Provedli sérii kultivačních experimentů, při kterých se snažili u 17 kmenů řas rodu *Synura* a *Mallomonas* indukovat tvorbu palmel prostřednictvím stresu z vysychání na vzduchu a zvýšením salinity neboli fyziologického vysychání. U rodu *Synura* dokonce autoři zvažují i možnou indukci palmely jako reakci na nedostatek živin (P, N). Wee et al. (2005) indukovali tvorbu palmel při 16-týdenní kultivaci na agarové plotně u všech kmenů použitých v experimentu (8 zástupců rodu ***Synura***: *S. sphagnicola*, *S. petersinii*, *S. uvella*, *S. mollispina*, *S. echinulata*, *S. curtispina*, *Synura* sp. a 9 zástupců rodu ***Mallomonas***: *M. papillosa*, *M. annulata*, *M. caudata*,



Obr. 20 - Palmeloid *Synura uvella* na živném agaru (25) a (26) demonstruje schopnost binárního dělení buněk i v palmelovém stádiu. Měřítka: x185, x1,000. Měřítka obrázků není zachováno. Převzato z: Andersen (1987).

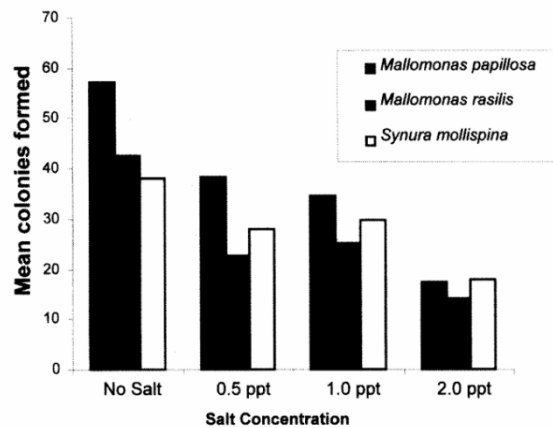
M. rasilis (CCMP 477), *M. rasilis* (CCMP 478), *M. rasilis* (CCMP 479), *M. adamas*, *M. akrokomos*, *M. splendens*). Z předběžných experimentů bylo zjištěno, že k odpaření nebo absorbování média došlo již před vznikem palmel. Zjištění podpořilo domněnku o vztahu vysychání a změně stádia u těchto řas. Zároveň uskutečněná pozorování podporují předpoklad, že využívání stádia palmely je u chrysofytních řas běžnou skutečností. Pozorování bylo však potřeba podpořit empirickými důkazy, proto autoři provedli dva typy experimentů. První



Obr. 21 - Formování palmeloidů jako reakce na vysychání u řasy *S. uvella*. Graf ukazuje průměrný počet vytvořených kolonií, měřený každý den experimentu na plotnách s odlišným typem ošetření. Ošetření 0%, 10%, 50% a 100% představují část obvodu Petriho misky, která byla překryta parafilmem. Převzato z: Wee et al. (2005).

experiment zkoumal stres z vysychání na kulturách *S. uvella*. Agarové plotny s klonálními kulturami byly vystavovány různé míře přístupu vzduchu podle procentuálního zakrytí obvodu Petriho misky parafilmem z 0 %, 10 %, 50 % a 100 %. Palmely se na periferiích kultur s 50% expozicí (50 % obvodu zakrytého parafilmem), začaly tvořit 8. den experimentu stejně jako v kulturách se 100% expozicí (bez zakrytí obvodu parafilmem). Největší množství palmel

bylo pozorováno na Petriho miskách s kulturami *S. uvella*, které byly exponovány vzduchu z 0 %, 10 % a 50 % a to 10. den experimentu. Vyšší výskyt palmel autoři zaznamenali u kultur stresovaných nižšími expozičními, tedy 0 % a 10 %, nejspíše z důvodu pomalejšího vysychání média (Obr. 21). Třetí experiment byl cílený na fyziologické vysoušení, a zda může vyvolat tvorbu palmel. Přestože jsou rody *Synura* i *Mallomonas* sladkovodní, byli pozorováni a popsáni i mořští zástupci, při salinitě vody zhruba



Obr. 22 - Tvorba palmelových kolonií třemi taxony (*M. papillosa*, *M. rasilis* a *S. mollispina*) ve čtyřech odlišných salinitách. Vynesen je vždy průměrný počet kolonií po 9-denní inkubaci. Převzato z Wee et al. (2005).

2,0 ppt; vzorky pochází z oblastí americké Louisiany a z vod u Dongho Beach, Jeollabukdo v Korei (Wee unpublished; Jeong et al. 2019). Wee et al. (2005) na základě svých pozorování navrhli experiment, kde byly řasy kultivovány v médiích o salinitě 0 ppt; 0,5 ppt; 1,0 ppt a 2,0 ppt. Autory zajímalo, jak na tento fyziologický stres budou buňky reagovat a zda vytvoří palmely, stejně jako při vysychání na vzduchu. V kulturách stresovali řasy druhu *Mallomonas papillosa*, *Mallomonas rasilis* a *Synura mollispina*. Palmely byly indukovány v kulturách s nulovou nebo nízkou salinitou spíše než v kulturách s vyšší koncentrací NaCl (Obr. 22). Tato zjištění byla v rozporu s hypotézou, která spojovala iniciaci palmelového stádia se zvyšující se koncentrací soli, a tudíž s vyšší mírou fyziologického vysychání.

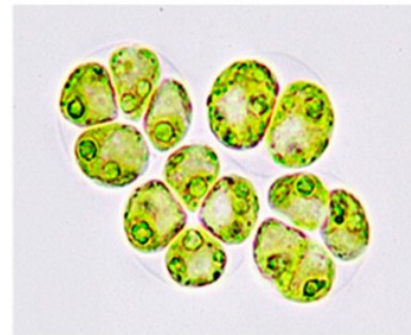
Experimenty však dokládají, že palmelové stádium je v životním cyklu chrysofytních řas běžné. Zároveň autoři spekulují, že by palmelové stádium se svým lepkavým obalem spíše mohlo sloužit pro usnadnění disperze buněk do lokalit s lepšími podmínkami. Indukce palmely je však časově náročná, proto obal má kromě adhezivní funkce možná sloužit i jako pufr a ochrana před vysycháním během transportu, čemuž nasvědčuje složení mukózní matrix. K disperzi by mohlo docházet například přilnutím palmeloidu k peří nebo srsti vodních ptáků a/nebo obojživelných živočichů či živočichů vyskytujících se v blízkosti vodních ploch. Již Schlichting (1960) vysvětluje přítomnost stejných druhů v prostorově vzdálených stojatých vodách, právě pomocí disperze řas ptáky. Tuto hypotézu dokládá svými kultivacemi řas z peří vodního ptactva. Mechanismy disperze jsou však u řas stále nedostatečně prozkoumané. Kristiansen (1996; 2001) uvádí stomatocystu jako stádium ideální pro šíření, bohužel je však ve vodním sloupci velmi vzácná, a kvůli své hmotnosti klesá spíše ke dnu, odkud je disperze značně problematická. Wee et al. (2005) ještě diskutovali možnou disperzi Synurales ve formě palmel zachycených pomocí gelovité matrix na vodní rostliny. Jedná se především o vodní

vegetaci s drobnými listy (např. Lemnaceae, *Azolla*, *Salvinia* atd.), na kterých by mohli bičíkovci ulpět a vytvořit palmely. Toto stabilní stádium, odolné vůči mírnému až střednímu stresu z vysychání na vzduchu je vhodné pro přepravu na listech rostlin. Listy by fungovaly jako vory, a pomocí proudů nebo větru by odnesly buňky do oblastí s lepšími podmínkami. Případně se zlativky spolu s rostlinou lépe zachytí na peří či srst živočicha. Teorii disperze pomocí vodních rostlin je však nutné doložit pozorováními a/nebo experimentálně.

2.4 Chlorophyceae

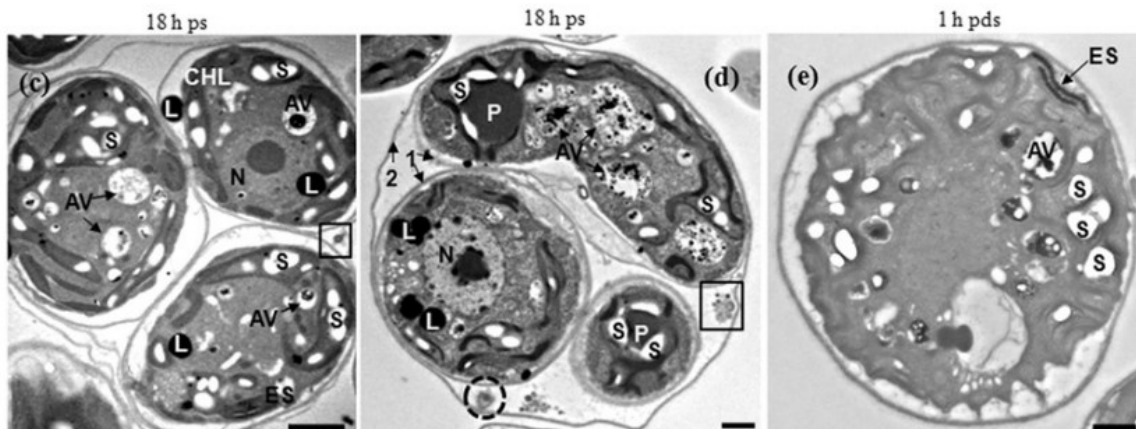
(Archaeplastida, Viridiplantae, Chlorophyta)

Palmely byly hojně pozorovány u četného počtu rodů, podrobněji však byly studovány u zástupců řádů Dunaliellales a Chlamydomonadales, proto jsem se v následující kapitole zaměřila na vybrané druhy rodů *Chlamydomonas* a *Dunaliella*. *Chlamydomonas reinhardtii* je modelovým druhem s nasekvenovaným genomem a několik druhů rodu *Dunaliella* patří mezi biotechnologicky významné organismy pro produkci β -karotenu, proto jsou zkoumány více než ostatní druhy. Palmelové stádium bylo v čeledi Chlamydomonadaceae dále například pozorováno u rodů *Chloromonas* a *Sanguina* při nízkých teplotách nebo v ledu (Diesing 1866), u antarktického rodu *Chlorominima* na sněhu (Gálvez et al. 2021) a u rodu *Gleomonas* byly pozorovány agregáty obalené želatinózním obalem, připomínající stádium palmeloidu (Klebs 1886; Pascher 1927). U těchto rodů většinou víme jen, že palmely za určitých podmínek tvoří, nejsou však blíže specifikovány. V čeledi Dunaliellaceae byly palmely dosud zaznamenány pouze u rodu *Dunaliella* (Montoya a Olivera 1993; Borowitzka a Siva 2007; Wei et al. 2017). Palmeloid běžně čítá mezi 4-16 buňkami, násobky jsou výsledkem špatné disociace rozdělených dceřiných buněk v palmeloidu (Iwasa a Murakami 1968; Suwannachuen et al. 2023). Suwannachuen et al. (2023) pozorovali na palmelách *Chlamydomonas reinhardtii*, že buňky mohou být obklopeny více vrstvami buněčných stěn, což naznačuje, že buňky pokračují během stádia v dělení, ale nejsou schopné opustit mateřskou buněčnou stěnu viz Obr. 23. Indukce palmely může být klíčová pro maximální zisk biotechnicky významných molekul (Pérez-Pérez et al. 2017). Například k nadprodukcii



Obr. 23 - Palmeloid *Chlamydomonas reinhardtii* s dobře patrnými společnými obálkami dceřiných buněk po binárním dělení. Měřítko: neuvedeno. Převzato z Suwannachuen et al. (2023).

karotenoidů u rodu *Dunaliella* (*D. salina*, *D. parva*, *D. pseudosalina*) dochází, při vystavení řasy stresu z vysoké míry ozáření, při kultivaci na živinami deficitním médiu, ve stacionární fázi růstu nebo ve stádiu palmely (Pick a Avidan 2017).



Obr. 24 - Elektron mikroskopické snímky palmeloidů *Chlamydomonas reinhardtii* - (c) a (d) po 18 h stresu zvýšenou salinitou (100 mM NaCl) a (e) 1 h po re-suspendaci v čistém TAP médiu. Na obrázcích (c) a (d) jsou patrné relativně velké autofagické vakuoly (AV), dislokovaný chloroplast (CHL), velké lipidové kapénky (L) a škrobová zrna (S) hlavně v oblasti okolo pyrenoidu (P). Na obrázku (c) je rovněž zřetelně vidět stigma (ES). Černé rámečky nebo přerušovaný kruh na obrázcích (c) a (d) označují zbytky bičíků. Měřítko: 1 μ m. Převzato z Khona et al. (2016).

Zástupci řádu Chlamydomonadales, jsou jednobuněční bičíkovci, kteří často tvoří palmelová stádia. Při tvorbě palmely dochází u chlamydomonád k autofagii bičíků neboli resorpci bičíkových struktur do autofagických vakuol a následně mohou být recyklované molekuly opět využity (Quarmby 2009; Pérez-Pérez et al. 2017). Tento proces potvrzují snímky z transmisního elektronového mikroskopu (TEM), kde jsou u palmel patrné relativně velké autofagické vakuoly, které mohou splývat i v jednu velkou vakuolu (Obr. 24) (Khona et al. 2016). Khona et al. (2016) při detekci bičíkových struktur značených pomocí protilátek zjistili, že u palmel stresovaných zvýšenou salinitou (100-150 mM NaCl) docházelo ke zkrácení bičíků. Palmeloidy z média o nižších koncentracích vykazovaly zkrácení bičíků na průměrnou délku 4,8 μ m a buňky vykazovaly zpomalení rychlosti pohybu zhruba o 1/3. Buňky vystavené vyšším koncentracím měly bičíky téměř nezměřitelné a rychlost pohybu buněk se oproti kontrolní kultuře snížila až 4krát. Stavba buněčné stěny závisí na stádiu buněčného cyklu, ve kterém se buňka nachází. Největší rozdíl ve stavbě buněčné stěny je patrný u tlustostěnné zygospory nebo palmelového stádia, kde je důležitá hlavně změna poměru jednotlivých látek (Komaristaya a Gorbulin 2006; Ellegaard a Ribeiro 2018). Obecně je buněčná stěna vegetativní buňky složena z glykoproteinů bohatých na aminokyseliny prolin a hydroxyprolin a sacharidů (arabinóza, galaktóza, manóza, glukóza, občas mohou být přítomny i xylany). V nízkých koncentracích se mohou v buněčné stěně vyskytovat i další sacharidy jako rhamnóza, fukóza nebo uronová kyselina. Složení koresponduje i se složením glykokalyxové vrstvy při vytvoření palmelového stádia, která je převážně tvořená glykoproteiny, hydroxyprolinem a EPSs

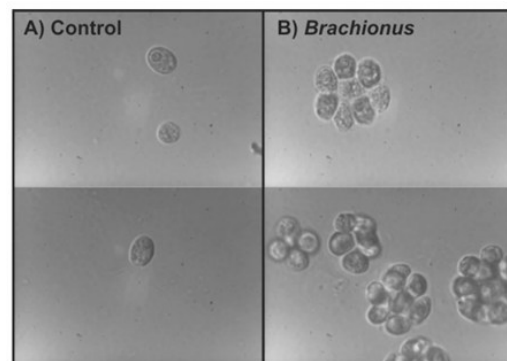
(= exopolysacharidy, z angl. extracellular polysaccharides, exopolysaccharides) (Bafana 2013; Graham et al. 2016; Khona et al. 2016). Khona et al. (2016), de Carpentier et al. (2022) a Suwannachuen *et al.* (2023) ze svých proteomických dat zjistili, že *Chlamydomonas* v palmelové fázi vylučuje do extracelulární matrix (ECM, z angl. extracellular matrix) proteiny zodpovědné za látkovou výměnu organických látek, zplodiny buněčného metabolismu, proteiny regulující úpravy buněčné stěny, proteiny interagující se sacharidy ECM pro zasíťování a hydrataci obalu, dále molekuly pro buněčnou organizaci a receptory potřebné k adhezi buněk i proteiny regulující buněčný cyklus a signální molekuly. Typicky jsou rozdělené buňky obalené společnou mateřskou buněčnou stěnou (Suwannachuen et al. 2023). Golgiho aparát se nachází v anteriorní části buňky v blízkosti bazálních tělísek a jádra (Harris 2009). V této oblasti cytoplazmy se u sladkovodních zástupců vyskytují i kontraktilní vakuoly. Stigma je uloženo v chloroplastu. U zástupců rodu *Dunaliella* se stigma při indukci palmely ztrácí (Borowitzka a Siva 2007). Naopak u *Ch. reinhardtii* bylo stigma přítomno i v palmelovém stádiu, jak je patrné z TEM snímků (Obr. 24). V palmelovém stádiu rovněž dochází k náhodnému rozmístění plastidů a k agregaci škrobových zrn v oblasti okolo pyrenoidu (Khona et al. 2016).

Parmelové stádium u *Chlamydomonas reinhardtii* může být indukováno celou řadou stresových faktorů. Jednou z možností je působení chemických látek a mikropolutantů. Iwasa a Murakami (1968; 1969) vyzkoušeli jako spouštěč tvorby palmel působení organických kyselin (acetát, sukcinát, fumarát, malát, aspartát, oxalát, glutamát, glykolát, citrát nebo ftalát) v rozmezí koncentrací 1,5–50 mM nebo chelatační činidla EDTA (kyseliny ethylendiamintetraoctové) a GEDTA (kyseliny glycoethylendiamintetraoctové). Tvorba palmel byla po týdenní kultivaci identifikována ve všech médiích, dokonce v médiích s EDTA a GEDTA již po dvou dnech kultivace, a naopak nejméně palmel bylo detekováno v médiu 50 mM kyseliny octové. Inhibiční koncentrace se u kyselin lišily, ale celkově vyšší koncentrace kyselin inhibovaly růst řasových buněk nejvíce. Autoři z naměřených dat vyvozují, že organické kyseliny mohou působit jako induktory palmelového stádia díky schopnosti chelatace s kovy spíše než jako metabolity. Nejvíce palmel bylo naměřeno při středních hodnotách koncentrací stresových látek. Cheloni a Slaveykova (2021) se pokusili zjistit vliv 4 mikropolutantů: paraquatu (herbicid), PFOS (perfluoroktanosulfonanu), kadmia (Cd) a mědi (Cu) na buňky *Ch. reinhardtii* (CPCC11). Palmely byly indukovány po 48-72 hodinách ve všech kulturách, tvorba však byla závislá na koncentraci mikropolutantu a délce expozice stresovým podmínkám (Obr. 2). Palmely například akumulovaly výrazně méně kadmia (Cd)

než vegetativní buňky. Vliv herbicidu paraquantu na tvorbu palmeloidů byl pozorován i u *Ch. eugametos* průtokovou cytometrií (Franqueira et al. 2000).

Tvorba palmel by mohla být zapříčiněna i lokálním deficitem potřebných nutrientů. Iwasa a Murakami (1969) zaznamenali u *Ch. reinhardtii* tvorbu palmel na médiu, kde chyběl vápník (Ca). Olsen et al. (1983) kultivovali *Ch. reinhardtii* na médiu s omezeným množstvím fosforu a indukovali tak tvorbu palmel. Palmely se od vegetativních buněk lišily v rychlosti růstu. Rychlost růstu palmely byla $0,03 \text{ h}^{-1}$, zatím co maximální rychlost růstu vegetativních buněk byla $0,21 \text{ h}^{-1}$. Palmely měly ale i jiné chemické složení (větší zastoupení fosfátu v buňce a nižší koncentraci chlorofylu *a*), které se shodovalo s pomalu rostoucími buňkami vegetativního stádia, ale lišilo se od rychle rostoucích vegetativních buněk. Autoři zjistili, že palmeloidy obsahovaly vyšší poměr polyfosfátů k celkovému množství fosforu a také měly nižší hladinu alkalické fosfatázy (enzymu katalyzujícího hydrolyzu kyseliny fosforečné v alkalickém prostředí). Palmely měly dostatek fosforu potřebného pro růst buněk. Z výsledků Olsen et al. (1983) vyplývá, že ve fosfor limitujícím prostředí je pravděpodobně palmelové stádium *Ch. reinhardtii* konkurenceschopnější z hlediska lepšího využití zdrojů a mešich ztrát fosforu i makroergních sloučenin než vegetativní stádium.

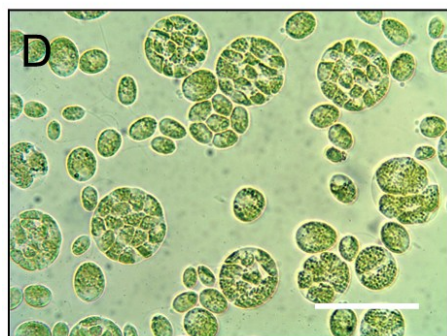
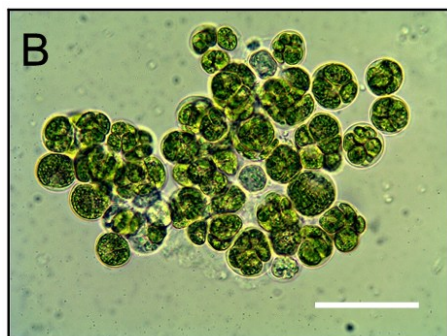
Biotickým stresorem vedoucím k transformaci v palmelu je přítomnost predátorů. Lurling a Beekman (2006) se pokusili indukovat tvorbu palmeloidů u *Chlamydomonas reinhardtii* kultivací v přítomnosti jejich predátora vířníka *Brachionus calyciflorus* (Rotifera, Eurotatoria) (Obr. 25). Palmely se jim podařilo indukovat v jedno-



Obr. 25 - (A) Kontrola – jednobuněčné motilní buňky *Chlamydomonas reinhardtii* po 25 h kultivaci bez vířníků. (B) Vířníci – palmeloidy *Ch. reinhardtii* po kultivaci za přítomnosti predátora vířníka *Brachionus calyciflorus*. Měřítka: neuvedeno. Převzato z Lurling a Beekman (2006).

systémovém experimentu, kde byly řasy a predátoři kultivováni (25 h) na světle společně. Vytvořené agregáty nejčastěji čítaly 8 buněk. Ve druhém experimentu dvou-systémového formátu, kde byly narostlé buňky *Ch. reinhardtii* přidány do kultury s predátorem, která byla ve tmě, se jim však indukce palmel nepodařila. Na základě neúspěšné indukce palmel ve dvou-systémové kultuře autoři předpokládají, že světlo je důležitým faktorem pro tvorbu palmely. Lurling a Beekman (2006) uvádí, že tvorba palmeloidů je výhodným obraným stádiem proti predátorovi *B. calyciflorus*, díky tvorbě mukózního obalu, který predátorům zabraňuje v požití buňky. Agregací buněk dochází ke zvětšení případné potravní částice (z výsledků nejčastěji 8-buněčné palmeloidy), a tedy lepší odolnosti vůči herbivorii (Porter 1973).

Z předchozího experimentu vyplývá, že světlo je pro tvorbu palmely nejspíše nezbytné, pokud ale dojde k nadměrnému ozáření, ke zvýšení teploty nebo ke změně salinity mohou tyto abiotické faktory vést ke stresu. Suwannachuen et al. (2023) vystavili buňky *Chlamydomonas* CC-2344 (kmen neodolný vůči vyšší intenzitě světla) a CC-4414 (kmen odolný vůči vyšší intenzitě světla) nadměrnému ozáření, aby zjistili, zda dojde k tvorbě palmel. V kontrolních



Obr. 26 - (B) Palmeloid *Ch. reinhardtii* na BBM médiu se zvýšenou salinitou (200 mM NaCl). (D) Palmeloidy *Ch. priscuii* na BBM médiu se zvýšenou salinitou (700 mM NaCl). Měřítka: 20 μm . Převzato z Hüner et al. (2023)

vzorcích při intenzitách slabého světla ($50 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se palmely objevily velmi ojediněle. Ve vzorcích s intenzivním ozáření ($1\,000 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a extrémním ozáření ($1\,500 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$) došlo k agregaci u odolného kmenu CC-4414 již první den kultivace (přibližně 80-90 % buněk tvořilo palmely) (Obr. 23). Naproti tomu neodolný kmen CC-2344 nevykazoval zdaleka takovou agregaci a celkově se buňkám dařilo hůře. Palmelové stádium tedy zásadně přispívá ke zvládnutí stresových podmínek z nadměrného ozáření. Dle autorů neodolný kmen CC-2344 nezvládal vyšší intenzity ozáření z důvodu neschopnosti vytvořit palmeloid spíše než z důvodu neschopnosti vypořádat se s ROS. Palmeloidní stádium by podle závěrů autorů mohlo být zásadní pro překonání vyšších intenzit světelného ozáření působícího na buněčnou kolonii.

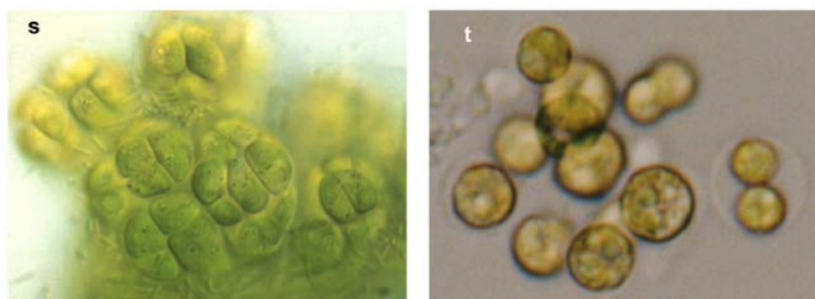
Hlavní výhodou palmeloidu je buněčná agregace, která může vnitřním buňkám zajišťovat částečnou ochranu před okolním stresem (Suwannachuen et al. 2023). Tvorbu palmeloidů zaznamenali Szyszka-Mroz et al. (2022) u psychrofilní řasy *Chlamydomonas priscuii* jako reakci na zvýšení teploty z optimálních 8°C na 16°C a zvýšení salinity. Studie ukazuje, že palmeloid má fotoprotektivní funkci, jelikož buňky obsahují méně LHCII (= II světlo-sběrný komplex, z angl. light-harvesting complex II) a vyšší poměr chlorofylu *a/b*, takže dochází ke snadnější přeměně přebytečné světelné energie na teplo. Palmeloid je stejně fotosynteticky účinný jako vegetativní buňka, ale je lépe chráněn proti fotoinhibici. Hüner et al. (2023) dodávají, že u palmeloidu *Ch. priscuii* dochází ke změně viskozity membrány pomocí nenasycených mastných kyselin a upozorňují na lepší genetickou vybavenost *Ch. priscuii* k agregaci, než disponuje *Ch. reinhardtii*. Palmelové stádium řasy rodu *Chlamydomonas* využívají při neoptimálních teplotních podmínkách – *Ch. priscuii* (psychrofilní) při zvýšení

teploty, *Ch. reinhardtii* a *Ch. raudensis* (mesofilní) při snížení teploty nebo při zvýšení salinity (Obr. 26) (Hüner et al. 2023).

Významným abiotickým stresem je změna salinity. O indukci palmel zvýšení salinity se pokusili Khona et al. (2016) u *Ch. reinhardtii* kultivací buněk na médiu se zvýšenou salinitou (100 mM a 150 mM NaCl). Po 12 h kultivace tvořilo 50 % buněk palmelové stádium a po jednom dni se procento buněk tvořících palmeloidy zvýšilo na 80 %. Borowiczka a Siva (2007) ve své souhrnné práci o rodu *Dunaliella* popisují morfologii palmelového stádia euryhalinních řas *D. salina* a *D. viridis* pozorované jak při kultivaci v laboratorních podmínkách, tak ve volné

přírodě.

Palmely se objevovaly při snížení salinity roztoku (10 % NaCl a nižší). V této fázi byly buňky kulaté, bez bičíků, imobilizované v hustém slizu, kde se hojně



Obr. 27 - (s) Palmelové stádium u řasy *Dunaliella viridis*. (t) Palmelové stádium u řasy *Dunaliella viridis* var. *palmelloides*. Měřítko: (s) ~12 μ m, (t) 6 μ m. Převzato z Borowiczka a Siva (2007).

množily a docházelo tak k akumulaci velkého množství buněk (Obr. 27). Při návratu do optimálních podmínek (20 % NaCl a více) došlo u *D. salina* k regeneraci bičíkových struktur a návratu motility. K tvorbě palmel podle autorů dochází při snížení salinity. U kmenu *D. viridis* var. *palmelloides* bylo detekováno palmelové stádium jako dominantní forma životního cyklu, tento poznatek se shoduje s prací Massyuk (1973b). Montoya a Olivera (1993) pozorovali palmelové kolonie *D. salina* v bentosu v peruánských salinách. Kolonie byly přichyceny k minerálnímu podkladu polysacharidovou matrix. Autoři uvádí, že při svých pozorováních *Dunaliella salina* byl mukózní obal důležitý pro adhezi k minerálnímu podkladu. Zároveň v laboratoři zjistili, že mukózní obal obsahoval velké množství zachycených organismů – řas (*D. viridis*), sinic (rodu *Aphanotheca*, *Pleurocapsa* nebo *Oscillatoria*) nebo bakterií. Palmely byly zaznamenány hlavně v chladných měsících (srpen a začátek září) v hloubce do 1 metru. Oproti studii Massyuk (1973b) a Borowitzka a Siva (2007) se buňky *D. salina* v palmelovém stádiu chovaly naprosto opačným způsobem, kdy formovaly palmely hlavně při nízkých teplotách a při vysoké salinitě. Zároveň autoři zmiňují, že při přeočkování buněk do méně slané média buňky zregenerovali a vytvořily pohyblivé bičíkovce. Autoři tedy vyvozují, že vyčerpání živin a zvýšení salinity indukuje tvorbu palmel. Wei et al. (2017) se snažili indukovat u *D. salina* tvorbu palmel vystavením šokovému zvýšením salinity z 1 M na 3 M NaCl. Autoři dospěli ke stejným morfologickým i ultrastrukturálním změnám jako Borowiczka

a Siva (2007). Z proteomické analýzy Wei et al. (2017) palmel byla zjištěna přítomnost 151 proteinů a 35 fosfoproteinů citlivých na salinitu bylo zapojeno do signálních a metabolických drah (fotosyntéza, energetický metabolismus, zakulacení membrány a restrukturalizace buněčných kompartmentů, heat shock proteiny hlídající správnou nativní konformaci proteinů, degradace ROS, regulace transkripce a translace) pro tvorbu palmely. Degradace ROS byla zvýšena, ale konverze H_2O_2 na H_2O byla snížena. Buňka byla schopná se vypořádat s reaktivními formami kyslíku jako je O_2^- a přeměnit je na peroxid, nebyla však již tak efektivní v degradaci peroxidu. Detekován byl i zvýšený obsah glycerolu a EPS, které jsou důležitými osmoprotektanty, což korelovalo i se zvýšenou aktivitou enzymů zodpovědných za jejich syntézu (Wei et al. 2017). Změna salinity tedy vede k indukcii palmelového stádia u *D. salina* i u *Ch. reinhardtii*.

Společným znakem téměř všech experimentů je schopnost reverzibilního návratu palmelových buněk v bičíkovce. Iwasa a Murakami (1969) se pokusili o reverzibilní návrat palmel zpět do formy bičíkovců přendáním buněk *Chlamydomonas* do destilované vody, roztoku chloridu vápenatého ($CaCl_2$) nebo čistého média. K návratu došlo za 60-120 minut, nejpomaleji transformace proběhla v čistém médiu, nejrychleji pak v roztoku $CaCl_2$. V experimentech Cheloni a Slaveykova (2021) a Khona et al. (2016) stačilo pro zpětnou transformaci přendání palmel do čistého média, kde během 20 minut bylo možné pozorovat vegetativní bičíkové stádium. Pro návrat buněk rodu *Dunaliella* do vegetativního stádia byly vloženy do roztoku o optimální salinitě (Borowitzka a Siva 2007; Montoya a Olivera 1993; Wei et al. 2017).

Parmelové stádium u rodů *Chlamydomonas* a *Dunaliella* je důležitou ekofyziologickou adaptací, která zásadně zvyšuje odolnost buněk vůči středně náročným stresovým podmínkám. Výsledky Suwannachuen et al. (2023) ukazují, že tvorba palmely je vskutku adaptačním mechanismem, který vyplývá ze specifického prostředí, v němž se řasa přirozeně nachází. Zdá se, že podmínky, za kterých dochází k transformaci bičíkovce v palmelu, jsou specifické pro určité druhy i kmeny. Buněčná agregace může být zásadní pro zvýšení ochrany vnitřních buněk kolonie před působením okolních vlivů (vysychání, nadměrné ozáření). Rovněž tvoří spolu s mukózním obalem fyzickou bariéru, která zabraňuje v požití buněk predátorem (Lurling a Beekman 2006). Palmelové stádium *Ch. reinhardtii* a *Ch. eugametos* se jeví odolnější před akumulací těžkých kovů a mikropolutantů i při kontaktu se subletálními dávkami (Franqueira et al. 2000; Cheloni a Slaveykova 2021). Zároveň dokáže být palmela *Ch. reinhardtii* kompetitivně výhodnější v prostředí s limitujícími hodnotami fosforu oproti bičíkovci (Olsen et al. 1983). Klíčová bude adaptace palmelového stádia nejspíš pro

psychrofilní řasy jako je antarktická *Ch. priscuii*, která je geneticky lépe vybavená pro tvorbu agregátů. Palmelové stádium *Ch. priscuii* je odolnější při změnách teploty a buňky jsou schopné si zachovat stejně výkonný fotosyntetický aparát s lepšími proti fotoinhibičními vlastnostmi, než má vegetativní stádium.

U rodů *Dunaliella* ze zjištění Massyuk (1973b); Montoya a Olivera (1993); Borowitzka a Siva (2007) vyplývá, že tvorba palmely je závislá na změnách lokálních podmínek, na které je druh v dané lokalitě adaptovaný. Zároveň bylo zjištěno, že v mukózním obalu palmeloidu ulpívají jiné organismy (rozsivky, sinice, bakterie), jejich rozklad by mohl buňce přinést organické molekuly nutné pro přežití (Montoya a Olivera 1993). Z proteomických analýz Wei et al. (2017) vychází, že za tvorbu palmely je především zodpovědný proteinový aparát senzitivní na změny salinity. Proteiny jsou zodpovědné za důležité signalizační a metabolické pochody v buňce jako je degradace ROS, zakulacení buňky a změna ultrastruktury nebo také tvorba osmoprotektantů jako jsou EPSs nebo glycerol. Palmelové stádium by mohlo lépe odolávat osmotickým změnám, které vyvolávají u buněk stres. Důležitá je i vyšší účinnost buněčného metabolismu pro vychytávání ROS a jejich bezpečnou konverzi na látky bezpečné pro buňku (většinou je konečným produktem H₂O). Výzkum palmel stále není kompletní a je potřeba pokračovat v experimentech.

Shrnutí

Palmely odlišných skupin si jsou podobné svou makroskopickou morfologií, ale i ultrastrukturálním uspořádáním buňky. Z morfologického pohledu jde hlavně o zakulacení buněk, ztrátu bičíků a zachované binární dělení i v klidovém stádiu palmely. Nepohlavní rozmnožování bylo pozorováno napříč skupinami. Za zakulacení buňky zodpovídá proteinový aparát, vyplývá to ze studií na chlorofytních řasách. U *Dunaliella salina* jsou za formování buňky do sférického tvaru zodpovědné především proteiny citlivé na změnu salinity (Wei et al. 2017). Z proteomických studií na *Chlamydomonas reinhardtii* rovněž vyplývá, že specifické proteiny zodpovídají za strukturu a tvar buněčné stěny v palmelovém stádiu. Detailní proteomické analýzy u ostatních skupin zatím chybí. Během utváření palmely se řasová buňka často uchyluje k fenoménu palmelové transformace, kdy dochází ke ztrátě bičíku, a tím k absenci motility. Bičík může být redukován dvěma způsoby, buď dojde k fyzickému odhození bičíku (tzv. deflagelaci, či autotomii) nebo k jeho autofagii (Quarmby 2009; Khan a Scholey 2018).

Autofagie byla dobře zdokumentovaná u *Ch. reinhardtii*. Během tohoto procesu, dochází k resorpci bičíkových struktur do vezikulů, které mohou splývat v autofagickou vakuolu. Molekuly uložené ve vakuole jsou následně recyklovány nebo degradovány. Přestože byl tento jev pozorován zatím jen u *Chlamydomonas* jeví se jako pravděpodobnější metoda ztráty bičíku při transformaci do palmelového stádia. Recyklace bičíkových komponent by mohla buňce ušetřit energii i zdroje (Quarmby 2009; Khona et al. 2016; Pérez-Pérez et al. 2017).

Stigma je kromě chlorofytních řas uložené extraplastidiálně v cytoplazmě. Obvykle bývá během palmelové fáze zachováno. U skrytének dochází k přesunu stigmaty do středu buňky (Rosenberg 1944). U rodu *Colacium* někteří autoři uvádí, že dochází během plamelového stádia v cytoplazmě k rozptýlení gran stigmaty (Johnson 1934; Willey 1973). Ztráta stigmaty během transformace byla zaznamenána u rodu *Dunaliella* (Borowitzka a Siva 2007) a u rodu *Ochroomonas* (Vysotskii 1887).

Typické bylo navýšení objemu zásobních látek – u euglén větší počet paramylonových zrn (Jahn 1946; Willey 1973), u skrytének (Rosenberg 1944; Santore 1978) a zelených řas bylo pozorováno více škrobových zrn a lipidových kapének. Konkrétně u *Ch. reinhardtii* docházelo k zvětšení a hromadění zrn v oblasti okolo pyrenoidu (Khona et al. 2016). Pouze pozorování u *Ochroomonas* vykazovalo opačný jev (Andersen et al. 2017).

Golgiho aparát (diktyozóm) zodpovědný za tvorbu polysacharidové matrix má ve stádiu palmely zpravidla rozšířené terminální úseky cisteren, které nesou syntetizovaný materiál. U skrytěnek navíc dochází ke zmnožení cisteren, zatímco u krásnooček naopak k jejich redukci. Diktyozóm je uložen v anteriorní části buňky. Stejně jako kontraktilní vakuola u sladkovodních zástupců. Kontraktilní vakuola je obzvláště důležitou strukturou, která euglénám a cryptomonádám napomáhá s rychlým obalením kolonie mukózní matrix. Ve vakuole dochází ke shromažďování velkého objemu matrix, dopravované z cisteren diktyozómu pomocí vezikulů. Následně při systolickém stahu vakuoly dochází k vylití jejího obsahu do vestibula u skrytěnek a ampuly u krásnooček, který je posléze vyvržen vně buňky, kde tvoří mukózní obal. Tento mechanismus nebyl pozorován u zlativek a zelených řas z důvodu absence struktur tvořící buněčná ústa.

Mukózní obal palmeloidu je slizovitá, amorfni směs glykoproteinů a polysacharidů. Nejvíce prozkoumán byl u *Ch. reinhardtii*, kde základními složkami byly exopolysacharidy (EPS), glykoproteiny bohaté na prolin a hydroxyprolin, další osmoprotektanty vážící vodu pro udržení hydratace buňky, ale i proteiny zprostředkovávající adhezi buněk nebo signální molekuly. Buňky po binárním dělení obklopuje společná mateřská, buněčná stěna. Polysacharidový obal je jinak transparentní, slizovitý, obsahuje fibrily a zasítované polysacharidy bez známek vrstevnatosti (Bafana 2013; Graham et al. 2016; Khona et al. 2016; de Carpentier et al. 2022; Suwannachuen et al. 2023). V obalu *D. salina* byla nalezena spousta uvízlých organismů (řas a sinic), jejichž těla by při rozkladu mohla posloužit jako zdroj nezbytných živin (Montoya a Olivera 1993). Naproti tomu u skrytěnek byla popsána výrazná vrstevnatost, zasítování a transparentnost obalu (Santore 1978). Obal palmeloidu krásnooček sestává z blíže nedefinovaných polysacharidů (Jahn 1946). Na rozdíl od zelených řas a skrytěnek byly samotné buňky nebo mateřské a dceřinné buňky po dělení obklopeny hustou fibrilární matrix, přes kterou téměř nebylo možné rozeznat pelikulu. Následně byl celý agregát obalen transparentním slizem. Palmeloid zlativek je morfologicky podobný palmeloidu pozorovaného u chlorofytních řas – slizovitý, transparentní maximálně mírně zakalený obal. Jeví se, že rozdělené buňky sdílí stejnou mukózní obálku stejně jako zelené řasy. Významnou odlišností je u zlativkového rodu *Synura* tvorba obranného valu z křemičitých šupin na okraji polysacharidové matrix (Wee et al. 2005). Chemické složení mukózního obalu je stále předmětem výzkumu. Hlavními diskutovanými funkcemi obalu jsou adheze k povrchu (všechny skupiny), ochrana před vysycháním (Euglenophyceae, Chrysophyceae), osmoprotektivní funkce (Cryptophyceae, Chrysophyceae, Chlorophyceae) a ochrana proti predátorům (Cryptophyceae, Chrysophyceae,

Chlorophyceae). Adheze k povrchům by mohla být obzvlášť důležitá pro pasivní disperzi vodními živočichy a rostlinami, jak bylo diskutováno v kapitole Chrysophyceae (2.3).

Inicializace palmel probíhala nejčastěji změnou teploty (Euglenophyceae, Chlorophyceae), změnou salinity (Cryptophyceae, Chrysophyceae, Chlorophyceae), pomalým vysycháním (Cryptophyceae, Chrysophyceae) a diskutovaný je nedostatek živin (všechny skupiny). Přestože většina palmeloidů byla indukována v laboratorních podmínkách, společným ekologickým rysem všech studovaných skupin jsou malé, mělké vodní plochy se stojatou nebo mírně tekoucí vodou. Všechny skupiny jsou schopné růst v mesotrofním prostředí, ač krásnoočka preferují spíše eutrofnější lokality, a naopak zlativky oligotrofnější.

Obecně se do palmelového stádia uchylují autotrofní, bičíkaté řasy mesotrofních, mělkých, stojatých vod při mírném až středním stresu (změna teploty, salinity, dostupnosti živin, vysychání). Při transformaci v palmelu dochází pomocí proteinového aparátu k zakulacení buňky, autofagii bičíkových struktur, agregaci buněk a obalení se mukózní matrix. Buňky palmeloidu mají dostatečně výkonný metabolismus a jsou stále schopné se aktivně dělit. Přejít do stádia palmely je doprovázen ultrastrukturálními změnami pozic některých buněčných kompartmentů jako je změna pozice stigmaty, navýšení množství zásobních látek nebo zbytnění terminálních úseků Golgiho aparátu. Mukózní obal sekretovaný Golgiho aparátem a následně exportovaný ven z buňky, tvoří mechanickou, antipredační, osmoprotektivní, hydratační vrstvu a umožňuje buňkám přilnout k podkladu. Stádium tvoří buňce ideální podmínky pro pasivní transport na lepší lokality, kde se vektorem stávají vodní živočichové a rostliny. Na nové lokalitě jsou buňky za optimálních podmínek schopné relativně rychlého návratu do vegetativního stádia bičíkovce kompetentního k vytvoření další generace.

V rámci základního biologického výzkumu můžeme při studiu mechanismů adaptací na stresové faktory prostředí získat větší povědomí o životním cyklu bičíkatých, soliterně žijících řas. U některých druhů s kryptickým pohlavním rozmnožováním, může být právě stres stimulem pro jeho uskutečnění. Pozorování by zároveň mohla rozšířit dosavadní poznání o pasivní disperzi řas na nové lokality (Schlichting 1960; Tesson et al. 2018). Můžeme objevit i obecné mechanismy řas pro přežití v nepříznivých podmínkách bez ztráty metabolické, dokonce i reprodukční aktivity a lépe pochopit roli bičíkatých řas v ekologickém kontextu jejich ník a využít tyto poznatky k vyvinutí nových biomonitoringových strategií. Tvorba palmeloidu by mohla být zásadní i z evolučního pohledu a tvořit mezistupeň v mnohobuněčnosti, především u zelených řas (Khona et al. 2016; Hüner et al. 2023) nebo zlativek (Leger a Ruiz-Trillo 2022).

Přehled použité literatury

- ANDERSEN R. A. (1987). Synurophyceae Classis Nov., a New Class of Algae. *American Journal of Botany*. **74**(3), 337–353. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1987.tb08616.x
- ANDERSEN R. A., GRAF L., MALAKHOV Y. a YOON H. S. (2017). Rediscovery of the *Ochromonas* type species *Ochromonas triangulata* (Chrysophyceae) from its type locality (Lake Veysove, Donetsk region, Ukraine). *Phycologia*. **56**(6), 591–604. DOI: 10.2216/17-15.1
- ANDERSON D. M., FUKUYO Y. a MATSUOKA K. (2003). Cyst methodologies. In: *Manual on harmful marine microalgae, Monographs on oceanographic methodology*. 2.vyd. UNESCO Publishing, s. 165–190. ISBN 92-3-103948-2.
- OXFORD UNIVERSITY PRESS (2025). *Palmella, n. meanings, etymology and more*. Oxford English Dictionary (OED) [online] [vid. 2025-04-06]. Dostupné z: https://www.oed.com/dictionary/palmella_n
- BAFANA A. (2013). Characterization and optimization of production of exopolysaccharide from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Carbohydrate Polymers*. **95**(2), 746–752. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.02.016
- BARSANTI L. a GUALTIERI P. (2006). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Boca Raton (Fla.): CRC press. 1-265. ISBN 978-0-8493-1467-4.
- BAUSOR S. C. a AGONA J. L. (1973). The “Palmelloid” State in a Blue-Green Alga, *Anabaena* Sp. I. Preliminary Report. *American Journal of Botany*. **60**(3), 223–227. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1973.tb10219.x
- BOROWITZKA M. A. (2018). The ‘stress’ concept in microalgal biology—homeostasis, acclimation and adaptation. *Journal of Applied Phycology*. **30**(5), 2815–2825. DOI: 10.1007/s10811-018-1399-0
- BOROWITZKA M. A. a SIVA Ch. J. (2007). The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal of Applied Phycology*. **19**(5), 567–590. DOI: 10.1007/s10811-007-9171-x
- BOUCK G. B. a BROWN D. L. (1973). Microtubule biogenesis and cell shape in *Ochromonas*: I. The Distribution of Cytoplasmic and Mitotic Microtubules. *Journal of Cell Biology*. **56**(2), 340–359. DOI: 10.1083/jcb.56.2.340
- BRETT S. J., PERASSO L. a WETHERBEE R. (1994). Structure and development of the cryptomonad periplast: a review. In: Richard Wetherbee, Jeremy D. Pickett-Heaps a Robert A. Andersen, ed. *The Protistan Cell Surface*. Vienna: Springer, 106–122. ISBN 978-3-7091-9378-5. DOI:10.1007/978-3-7091-9378-5_6
- CONRAD W. (1922). Contributions a l’etude des Chrysomonadines. *Rec. Inst. Bot. Leo Errera*. **X**(II), 333–353.
- DAVISON I. R. a PEARSON G. A. (1996). Stress Tolerance in Intertidal Seaweeds. *Journal of Phycology*. **32**(2), 197–211. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.00197.x
- DE CARPENTIER F., MAES A., H MARCHAND Ch., CHUNG C., DURAND C., CROZET P., D LEMAIRE S. a DANON A. (2022). How abiotic stress-induced socialization leads to the formation of massive aggregates in *Chlamydomonas*. *Plant Physiology*. **190**(3), 1927–1940. DOI: 10.1093/plphys/kiac321

- DIESING K.M. (1866). Revision der Prothelminthen. Abtheilung: Mastigophoren. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe. Abt. 1, Mineralogie, Botanik, Zoologie, Anatomie, Geologie und Paläontologie.* **52**(8), 287–401.
- DUFF K., ZEEB B. A. a SMOL J. P. (2013). *Atlas of Chrysophycean Cysts*. Springer Science & Business Media. 21-156. ISBN 978-94-017-0809-8.
- ELLEGAARD M. a RIBEIRO S. (2018). The long-term persistence of phytoplankton resting stages in aquatic ‘seed banks’. *Biological Reviews.* **93**(1), 166–183. DOI: 10.1111/brv.12338
- ERICKSON E., WAKAO S. a NIYOGI K. K. (2015). Light stress and photoprotection in *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Plant Journal.* **82**(3), 449–465. DOI: 10.1111/tpj.12825
- FOGG G. E. (2001). Algal Adaptation to Stress — Some General Remarks. In: Lal Chand RAI a Jai Prakash GAUR, ed. *Algal Adaptation to Environmental Stresses: Physiological, Biochemical and Molecular Mechanisms*. Berlin, Heidelberg: Springer, s. 1–19. ISBN 978-3-642-59491-5. DOI: 10.1007/978-3-642-59491-5_1
- FRANQUEIRA D., OROSA M., TORRES E., HERRERO C. a CID A. (2000). Potential use of flow cytometry in toxicity studies with microalgae. *Science of The Total Environment.* **247**(2), 119–126. DOI: 10.1016/S0048-9697(99)00483-0
- FULDA S., GORMAN A. M., HORI O. a SAMALI A. (2010). Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death. *International Journal of Cell Biology.* **2010**(1), 214074. DOI: 10.1155/2010/214074
- GÁLVEZ F. E., SALDARRIAGA-CÓRDOBA M., HUOVINEN P., SILVA A. X. a GÓMEZ I. (2021). Revealing the Characteristics of the Antarctic Snow Alga *Chlorominima collina* gen. et sp. nov. Through Taxonomy, Physiology, and Transcriptomics. *Frontiers in Plant Science.* **12**, 662298. DOI: 10.3389/fpls.2021.662298
- GIBBS S. P. (1962a). Nuclear envelope-chloroplast relationships in algae. *Journal of Cell Biology.* **14**(3), 433–444. DOI: 10.1083/jcb.14.3.433
- GIBBS S. P. (1962b). The ultrastructure of the chloroplasts of algae. *Journal of Ultrastructure Research.* **7**(5), 418–435. DOI: 10.1016/S0022-5320(62)90038-2
- GILLOTT M. A. a GIBBS S. P. (1983). Comparison of the flagellar rootlets and periplast in two marine cryptomonads. *Canadian Journal of Botany.* **61**(7), 1964–1978. DOI: 10.1139/b83-212
- GRAHAM L. E., GRAHAM J. M., WILCOX L. W. a COOK M. E. (2016). *Algae Third Edition*. 3.vyd. LJLM Press, LLC. 162-431. ISBN 978-0-9863935-3-2.
- HARRIS E. H. (2009). *The Chlamydomonas Sourcebook: Introduction to Chlamydomonas and Its Laboratory Use: Volume 1*. Academic Press. 25-65. ISBN 978-0-08-091955-3.
- HILENSKI L. L. a WALNE P. L. (1983). Ultrastructure of Mucocysts in *Peranema trichophorum* (Euglenophyceae). *The Journal of Protozoology.* **30**(3), 491–496. DOI: 10.1111/j.1550-7408.1983.tb01410.x
- HOEF-EMDEN K. (2014). Osmotolerance in the Cryptophyceae: Jacks-of-all-trades in the *Chroomonas* Clade. *Protist.* **165**(2), 123–143. DOI: 10.1016/j.protis.2014.01.001
- HOEF-EMDEN K. a MELKONIAN M. (2003). Revision of the Genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): a Combination of Molecular Phylogeny and Morphology Provides Insights into a Long-Hidden Dimorphism. *Protist.* **154**(3), 371–409. DOI: 10.1078/143446103322454130

- HUBER-PESTALOZZI G. (1950). Die Binnengewässer. In: *Das Phytoplankton des Süßwassers. 3. Teil. Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae.* In H.-J. Elster & W. Ohle (Eds.). 1st ed. Stuttgart: E. Schweizerbarth'sche Verlagsbuchhandlung., 2–78. ISBN 978-3-510-40019-5.
- HÜNER N. P. A., SZYSZKA-MROZ B., IVANOV A. G., KATA V., LYE H. a SMITH D. R. (2023). Photosynthetic adaptation and multicellularity in the Antarctic psychrophile, *Chlamydomonas priscuii*. *Algal Research*. **74**, 103220. DOI: 10.1016/j.algal.2023.103220
- CHELONI G. a SLAVEYKOVA V. I. (2021). Morphological plasticity in *Chlamydomonas reinhardtii* and acclimation to micropollutant stress. *Aquatic Toxicology*. **231**, 105711. DOI: 10.1016/j.aquatox.2020.105711
- CHENG X. a SHAH M. (2021). Chapter 15 - Bioextraction of astaxanthin adopting varied techniques and downstream processing methodologies. In: Gokare A. Ravishankar a Ambati Ranga Rao, ed. *Global Perspectives on Astaxanthin*. Academic Press, 313–339. ISBN 978-0-12-823304-7. DOI: 10.1016/B978-0-12-823304-7.00028-3
- IWASA K. a MURAKAMI S. (1968). Palmelloid Formation of Chlamydomonas. *Physiologia Plantarum*. **21**(6), 1224–1233. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1968.tb07353.x
- IWASA K. a MURAKAMI S. (1969). Palmelloid Formation of Chlamydomonas II. Mechanism of Palmelloid Formation by Organic Acids. *Physiologia Plantarum*. **22**(1), 43–50. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1969.tb07839.x
- JAHN T. L. (1946). The euglenoid flagellates. *The Quarterly Review of Biology*. **21**(3), 246–274. DOI: 10.1086/395316
- JEONG M., KIM J. I., Jo B. Y., KIM H. S., SIVER P. A. a WOONGGHI S. (2019). Surviving the marine environment: two new species of Mallomonas (Synurophyceae). *Phycologia*. **58**(3), 276–286. DOI: 10.1080/00318884.2019.1565718
- JOHNSON D. F. (1934). Morphology and life history of Colacium vesiculosum Ehrbg. *Arch. Protistenk.* **83**, 241–263.
- KASUBA K. Ch., VAVILALA S. L. a D'SOUZA J. S. (2015). Apoptosis-like cell death in unicellular photosynthetic organisms. *Algal Research*. **12**, 126–133. DOI: 10.1016/j.algal.2015.07.016
- KHAN N. A., IQBAL J. a SIDDIQUI R. (2015). Stress Management in Cyst-Forming Free-Living Protists: Programmed Cell Death and/or Encystment. *BioMed Research International*. **2015**, 437534. DOI: 10.1155/2015/437534
- KHAN S. a SCHOLEY J. M. (2018). Assembly, Functions and Evolution of Archaela, Flagella and Cilia. *Current Biology*. **28**(6), 278–292. DOI: 10.1016/j.cub.2018.01.085
- KHONA D. K., SHIROLIKAR S. M., GAWDE K. K., HOM E., DEODHAR M. A. a D'SOUZA J. S. (2016). Characterization of salt stress-induced palmelloids in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*. *Algal Research*. **16**, 434–448. DOI: 10.1016/j.algal.2016.03.035
- KLAVENESS D. (1988). Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. In: *Ecology of the Cryptomonadida: A first review.* In C. D. Sandgren (Ed.). Cambridge University: Cambridge: Cambridge University Press, 105-133.
- KLAVENESS D. (2017). Hydrurus foetidus (Chrysophyceae)—an inland macroalga with potential. *Journal of Applied Phycology*. **29**(3), 1485–1491. DOI: 10.1007/s10811-016-1047-5

- KLEBS G.A. (1886). Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. *Untersuchungen Botanische Institut Tübingen*. **2**, 333–417.
- KOMARISTAYA V. P. a GORBULIN O. S. (2006). Sporopollenin in the composition of cell walls of *Dunaliella salina* Teod. (*Chlorophyta*) zygotes. *International Journal on Algae*. **8**(1), 43-52. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v8.i1.40
- KRISTIANSEN J. (2001). Biogeography of silica-scaled chrysophytes. *Nova Hedwigia Beiheft* **122**, 23–39.
- KRISTIANSEN J. (1996). Biogeography of freshwater algae — conclusions and perspectives. In: Jørgen Kristiansen, ed. *Biogeography of Freshwater Algae: Proceedings of the Workshop on Biogeography of Freshwater Algae, held during the Fifth International Phycological Congress, Qingdao, China, June 1994*. Springer Netherlands, 159–161. ISBN 978-94-017-0908-8. DOI: 10.1007/978-94-017-0908-8_16
- KÜTZING F. T. (1843). *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange*. Leipzig: F.A. Brockhaus. 44-451. DOI: 10.5962/bhl.title.4746
- LEANDER B. S., LAX G., KARNKOWSKA A. a SIMPSON A. G. B. (2017). Euglenida. In: *Handbook of the Protists* second edition. Springer International Publishing AG. 1047-1088. ISBN 978-3-319-28147-6. DOI: 10.1007/978-3-319-28149-0
- LEANDER B., ESSON H. a BREGLIA S. (2007). Macroevolution of complex cytoskeletal systems in euglenids. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*. **29**, 987–1000. DOI: 10.1002/bies.20645
- LEE R. E., (1978). Formation of Scales in *Paraphysomonas vestita* and the Inhibition of Growth by Germanium Dioxide. *The Journal of Protozoology*. **25**(2), 163–166. DOI: 10.1111/j.1550-7408.1978.tb04389.x
- LEEDALE G. F. (1967). Euglenida/Euglenophyta. *Annual Review of Microbiology*. **21**(1), 31–48. DOI: 10.1146/annurev.mi.21.100167.000335
- LEGER M. M. a RUIZ-TRILLO I. (2022). Phylogenetics of Clonal Multicellularity. In: *The Evolution of Multicellularity*. CRC Press. 157-186. ISBN 978-0-429-35190-7.
- LICHTLÉ Ch. (1979). Effects of nitrogen deficiency and light of high intensity on *Cryptomonas rufescens* (Cryptophyceae). *Protoplasma*. **101**(4), 283–299. DOI: 10.1007/BF01276969
- LICHTLÉ Ch. (1980). Effects of nitrogen deficiency and light of high intensity on *Cryptomonas rufescens* (Cryptophyceae). *Protoplasma*. **102**(1), 11–19. DOI: 10.1007/BF01276944
- LURLING M. a BEEKMAN W. (2006). Palmelloids formation in *Chlamydomonas reinhardtii*: defence against rotifer predators? *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*. **42**(2), 65–72. DOI: 10.1051/limn/2006010
- LYNGBYE H. Ch. (1819). *Tentamen hydrophytologiae Danicae: continens omnia hydrophyta cryptogama Daniae, Holsatiae, Faeroae, Islandiae, Groenlandiae, hucusque cognita: systematice disposita, descripta et iconibus illustrata, adjectis simul speciebus Norvegicis*. In comm. libr. Gyldendaliae. 10-216. DOI: 10.5962/bhl.title.6079
- MASSYUK P. (1973b.) New taxa of the genus *Dunaliella* Teod. I. *Ukrainian Botanical Journal*. **30**, 175–183.

- MEYER S. R. a PIENAAR R. N. (1984). Mitóza a cytokineze u *Chromonas africana* Meyer & Pienaar (Cryptophyceae). *South African Journal of Botany*. **3**(5), 320–330. DOI: 10.1016/S0022-4618(16)30020-1
- MIGNOT J. P. a BRUGEROLLE G. (1982). Scale formation in chryomonad flagellates. *Journal of Ultrastructure Research*. **81**(1), 13–26. DOI: 10.1016/S0022-5320(82)90037-5
- MOHEIMANI N. R. a BOROWITZKA M. A. (2007). Limits to productivity of the alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. *Biotechnology and Bioengineering*. **96**(1), 27–36. DOI: 10.1002/bit.21169
- MONTOYA T. H. a OLIVERA G. A. (1993). *Dunaliella salina* from saline environments of the central coast of Peru. In: Stuart H. HURLBERT, ed. *Saline Lakes V*. Springer Netherlands, 155–161. ISBN 978-94-010-4921-4. DOI: 10.1007/978-94-011-2076-0_11
- NICHOLLS K. H. a WUJEK D. E. (2003). 12 - Chrysophycean algae. In: JOHN D. WEHR a ROBERT G. SHEATH, ed. *Freshwater Algae of North America*. Burlington: Academic Press, Aquatic Ecology, 471–509. ISBN 978-0-12-741550-5. DOI: 10.1016/B978-012741550-5/50013-1
- OAKLEY B. R. a DODGE J. D. (1976). The ultrastructure of mitosis in *Chroomonas salina* (Cryptophyceae). *Protoplasma*. **88**(2), 241–254. DOI: 10.1007/BF01283249
- OLLI K. (1996). Resting Cyst Formation of *Eutreptiella Gymnastica* (euglenophyceae) in the Northern Coastal Baltic Sea. *Journal of Phycology*. **32**(4), 535–542. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.00535.x
- OLSEN Y., KNUTSEN G. a LIEN T. (1983). Characteristics of Phosphorus Limitation in *Chlamydomonas Reinhardtii* (Chlorophyceae) and Its Palmelloids. *Journal of Phycology*. **19**(3), 313–319. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1983.00313.x
- PASCHER A. (1912). Versuche zur Methode des Zentrifugierens bei der Gewinnung des Planktons. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. **5**, 93.
- PASCHER A. (1927). Neue oder wenig bekannte Protisten. XX. Neue oder wenig bekannte Flagellaten. XVIII. *Archiv für Protistenkunde*. **58**(3), 577–598.
- PEDRÓS-ALIÓ C., MASSANA R., LATASA M., GARCÍA-CANTIZANO J. a GASOL J. M. (1995). Predation by ciliates on a metalimnetic *Cryptomonas* population: feeding rates, impact and effects of vertical migration. *Journal of Plankton Research*. **17**(11), 2131–2154. ISSN 0142-7873. DOI: 10.1093/plankt/17.11.2131
- PEREIRA M. J. a AZEITEIRO U. M. M., (2003). Structure, organization and elemental composition of the envelopes of *Trachelomonas* (Euglenophyta): a review. *Acta Oecologica*. Proceedings of the Plankton Symposium, Espinho, Portugal, **24**, 57–66. DOI: 10.1016/S1146-609X(03)00017-1
- PÉREZ-PÉREZ M. E., COUSO I., HEREDIA-MARTÍNEZ L. G. a CRESPO J. L. (2017). Monitoring Autophagy in the Model Green Microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Cells*. **6**(4), 36. DOI: 10.3390/cells6040036
- PICK U. a AVIDAN O. (2017). Triacylglycerol is produced from starch and polar lipids in the green alga *Dunaliella tertiolecta*. *Journal of Experimental Botany*. **68**(17), 4939–4950. DOI: 10.1093/jxb/erx280
- POLLIO A., CENNAMO P., CINIGLIA C., DE STEFANO M., PINTO G. a HUSS V. A. R. (2005). *Chlamydomonas pitschmannii* Ettl, a Little Known Species from Thermoacidic Environments. *Protist*. **156**(3), 287–302. DOI: 10.1016/j.protis.2005.04.004

- PORTER K. G. (1973). Selective Grazing and Differential Digestion of Algae by Zooplankton. *Nature*. **244**(5412), 179–180. DOI: 10.1038/244179a0
- PRINGSHEIM E. G. (1953). Observations on Some Species of Trachelomonas Grown in Culture. *The New Phytologist*. **52**(3), 238–266. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1953.tb07514.x
- PRINGSHEIM E. G. (1968). Zur Kenntnis der Cryptomonaden des Süßwassers. *Nova Hedwigia*. **16**, 367–401.
- QUARMBY L. M. (2009). Chapter 3 - Deflagellation. In: Elizabeth H. Harris, David B. Stern a George B. Witman, ed. *The Chlamydomonas Sourcebook (Second Edition)*. London: Academic Press, 43–69. ISBN 978-0-12-370873-1. DOI: 10.1016/B978-0-12-370873-1.00040-X
- RAVEN J. A. a GEIDER R. J. (2003). Adaptation, Acclimation and Regulation in Algal Photosynthesis. In: Anthony. W. D. Larkum, Susan E. Douglas a John A. Raven, ed. *Photosynthesis in Algae*. Dordrecht: Springer Netherlands, 385–412. ISBN 978-94-007-1038-2. DOI: 10.1007/978-94-007-1038-2_17
- ROSENBERG M. (1944). On a Blue-green Cryptomonad, Chroomonas Nordstedtii Hansg. *Annals of Botany*. **8**(30/31), 315–322.
- ROSOWSKI J. R. (1977). Development of Mucilaginous Surfaces in Euglenoids. Ii. Flagellated, Creeping and Palmelloid Cells of Euglena. *Journal of Phycology*. **13**(4), 323–328. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1977.tb02935.x
- ROSOWSKI J. R. (2003). 10 - Photosynthetic Euglenoids. In: J. D. Wehr a R. G. Sheath, ed. *Freshwater Algae of North America*. Burlington: Academic Press, Aquatic Ecology, 383–422. ISBN 978-0-12-741550-5. DOI: 10.1016/B978-012741550-5/50011-8
- ROSOWSKI J. R. a WILLEY R. L. (1975). Colacium Libellae Sp. Nov. (euglenophyceae), a Photosynthetic Inhabitant of the Larval Damselfly Rectum1. *Journal of Phycology*. **11**(3), 310–315. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1975.tb02785.x
- SANDGREN C. D. (1988). The ecology of chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. In: *Growth and Reproductive Strategies of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, 9–104. ISBN 0-521-32722-9.
- SANDGREN C. D. a FLANAGIN J. (1986). Heterothallic Sexuality and Density Dependent Encystment in the Chrysophycean Alga Synura Petersenii Korsh. *Journal of Phycology*. **22**(2), 206–216. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1986.tb04165.x
- SANTORE U. J. (1978). Light-and Electron-microscopic Observations of the Palmelloid) Phase in Members of the Genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae). *Archiv für Protistenkunde*. **120**(4), 420–435. DOI: 10.1016/S0003-9365(78)80033-5
- SHETTY P., GITAU M. M. a MARÓTI G. (2019). Salinity Stress Responses and Adaptation Mechanisms in Eukaryotic Green Microalgae. *Cells*. **8**(12), 1657. DOI: 10.3390/cells8121657
- SCHLICHTING H. E. (1960). The Role of Waterfowl in the Dispersal of Algae. *Transactions of the American Microscopical Society*. **79**(2), 160–166. DOI: 10.2307/3224082
- SIVER P. A. (1995). The distribution of chrysophytes along environmental gradients: their use as biological indicators. In: Craig D. Sandgren, J. Kristiansen a J. P. Smol, ed. *Chrysophyte Algae: Ecology, Phylogeny and Development*. Cambridge: Cambridge University Press, 232–268. ISBN 978-0-521-46260-0. DOI: 10.1017/CBO9780511752292.012

- SLAMA I., ABDELLY Ch., BOUCHEREAU A., FLOWERS T. a SAVOURÉ A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*. **115**(3), 433–447. DOI: 10.1093/aob/mcu239
- STORLIE T. A. (2015). Chapter 7 - Person-Centered Communication and Stress: The Eighth Calmness. In: Timothy A. Storlie, ed. *Person-Centered Communication with Older Adults*. San Diego: Academic Press, 109–129. ISBN 978-0-12-420132-3. DOI: 10.1016/B978-0-12-420132-3.00007-6
- SUN X. M., REN L. J., ZHAO Q. Y., JI X. J. a HUANG H. (2018). Microalgae for the production of lipid and carotenoids: a review with focus on stress regulation and adaptation. *Biotechnology for Biofuels*. **11**(1), 272. DOI: 10.1186/s13068-018-1275-9
- SUWANNACHUEN N., LEETANASAKSAKUL K., ROYTRAKUL S., PHAONAKROP N., THAISAKUN S., ROONGSATTHAM P., JANTASURIYARAT Ch., SANEVAS N. a SIRIKHACHORNKIT A. (2023). Palmelloid Formation and Cell Aggregation Are Essential Mechanisms for High Light Tolerance in a Natural Strain of *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(9), 8374. DOI: 10.3390/ijms24098374
- SZYSZKA-MROZ B., IVANOV A. G., TRICK Ch. G. a HÜNER N. P. A. (2022). Palmelloid formation in the Antarctic psychrophile, *Chlamydomonas priscuii*, is photoprotective. *Frontiers in Plant Science*. **13**, 911035. DOI: 10.3389/fpls.2022.911035
- TANNREUTHER G. W. (1923). Nutrition and reproduction in euglena. *Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen*. **52**(3), 367–383. DOI: 10.1007/BF02093633
- TESSON S. V. M., WEISSBACH A., KREMP A., LINDSTRÖM Å. a RENGEFORS K. (2018). The potential for dispersal of microalgal resting cysts by migratory birds. *Journal of Phycology*. **54**(4), 518–528. DOI: 10.1111/jpy.12756
- TIROK K. a GAEDKE U. (2007). Regulation of planktonic ciliate dynamics and functional composition during spring in Lake Constance. *Aquatic Microbial Ecology*. **49**(1), 87–100. DOI: 10.3354/ame01127
- TISCHER R. G. a MOORE B. G. (1964). An extracellular polysaccharide produced by *Palmella mucosa* Kütz. *Archiv für Mikrobiologie*. **49**(2), 158–166. DOI: 10.1007/BF00422139
- TRIEMER R. E. a FARMER M. A. (1991). An ultrastructural comparison of the mitotic apparatus, feeding apparatus, flagellar apparatus and cytoskeleton in euglenoids and kinetoplastids. *Protoplasma*. **164**(1), 91–104. DOI: 10.1007/BF01320817
- TRIEMER R. E. (1980). Role of Golgi Apparatus in Mucilage Production and Cyst Formation in *Euglena Gracilis* (euglenophyceae). *Journal of Phycology*. **16**(1), 46–52. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1980.tb02997.x
- VÁVROVÁ K., NĚMCOVÁ Y. a PICHRTOVÁ M. (2024). Desiccation and temperature tolerance of green and red *Haematococcus lacustris* (Chlamydomonadales, Chlorophyta) akinetes. *Hydrobiologia*. **851**(5), 1169–1181. DOI: 10.1007/s10750-023-05381-6
- VYSOTSKII A.V. (1887). Les mastigophores et rhizopodes trouvés dans les lacs Weissowo et Repnoie (près Slaviansk, Gouvern. Kharkov). *Trudy Obshchestva Ispytatelei Prirody Pri Imperatorskom Kharkovskom Universitetie*. **21**, 119–140.
- WEE J. L., JAMES A. M. a HOOD C. S. (2005). Exploratory investigations of palmella-stage formation in the Synurophyceae. *CHRYSS 2004, Nova Hedwigia, Beiheft* **128**, 257-266.
- WEE J. L. a ANDERSEN R. A. (1997). Scale Biogenesis in Synurophycean Protists: Phylogenetic Implications. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **16**(6), 497–534. DOI: 10.1080/07352689709701958

WEI S., BIAN Y., ZHAO Q., CHEN S., MAO J., SONG Ch., CHENG K., XIAO Z., ZHANG Ch., MA W., ZOU H., YE M. a DAI S. (2017). Salinity-Induced Palmella Formation Mechanism in Halotolerant Algae *Dunaliella salina* Revealed by Quantitative Proteomics and Phosphoproteomics. *Frontiers in Plant Science*. **8**, 810. DOI: 10.3389/fpls.2017.00810

WILCOX L. W. a WEDEMAYER G. J. (1984). *Gymnodinium Acidotum* Nygaard (pyrrophyta), a Dinoflagellate with an Endosymbiotic Cryptomonad. *Journal of Phycology*. **20**(2), 236–242. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1984.00236.x

WILLEY R. L. (1973). The Damselfly (Odonata) Hindgut as Host Organ for the Euglenoid Flagellate *Colacium*. *Transactions of the American Microscopical Society*. **91**(4), 585–593. DOI: 10.2307/3225488

WUJEK D. E. a KRISTIANSSEN J. (1978). Observations on Bristle – and Scale-Production in *Mallomonas caudata* (Chrysophyceae). *Archiv für Protistenkunde*. **120**(1), 213–221. DOI: 10.1016/S0003-9365(78)80024-4