

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Kateřina Tučková

**Temporální změny genetické a morfologické diverzity křemičitých zlativek
(Stramenopiles, Chrysophyceae)**

**Temporal changes in the genetic and morphological diversity of silica-scaled
chryomonads (Stramenopiles, Chrysophyceae)**

Diplomová práce

Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Škaloud, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala 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

.....

Kateřina Tučková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala nejdříve svému školiteli Pavlu Škaloudovi, za to, že mi vždy poradil, našel řešení na jakoukoliv mojí zapeklitou otázku a dokázal vyřešit všechny problémy, které se během řešení mojí diplomové práce vyskytly. Dále bych ráda poděkovala Ivaně Černajové za zpracování vzorků v molekulární laboratoři, Martinovi Puzstaiovi, za dobré a podnětné připomínky k textu práce. Za poskytnutí velikosti genomů rodů *Synura* děkuji Doře Čertnerové, která je změřila na průtokovém cytometru. Nyní už ne jmenovitě, ale ráda bych také poděkovala všem svým kamarádům a kamarádkám z algologického oddělení, kteří byli vždy ochotní poslechnout si všechna má trápení a kdykoliv si zahrát nějakou deskovou hru, pro zahnání špatné nálady. I moji další kamarádi a kamarádky mi byli při psaní práce velkou oporou. Ráda bych poděkovala i těm, kteří se se mnou vydali na některý z odběrů do Třeboně. Můj poslední velký dík patří mým rodičům, kteří mně podporovali při psaní diplomové práce i po celou dobu studia.

Abstrakt

Temporální dynamika na malé časové škále je velmi zajímavou oblastí výzkumu. Většinou jsou temporální studie dělány na škále v řádu měsíců či let. Mikroorganismy mají však mnohem kratší generační dobu a jejich změny se tudíž mohou odehrávat i na mnohem menší časové škále. Zároveň téměř žádná z temporálních studií nejde na druhovou úroveň a většinou se drží na úrovni tříd. To, že se mění dynamika druhů v rámci dní víme z pozorování, ale nebylo to nikdy řádně ověřeno.

Pro studium změn na této jemné úrovni byly vybrány rody *Mallomonas* a *Synura* ze třídy *Chrysophyceae*. Tyto dva rody se vyznačují tvorbou křemičitých šupin na povrchu svých buněk, podle kterých jsou dobře morfologicky určitelné na druhovou úroveň. Jelikož je však určování druhů pomocí mikroskopu starou ale však tradiční metodou, byla použita i nová molekulární metoda pro určování druhů na lokalitě, tj. metabarcoding.

Ukázalo se, že tyto metody přináší pro popis společenstva zlativek podobné výsledky. Zároveň se potvrdilo, že temporální dynamika probíhá na úrovni druhů, ale i na úrovni sekcí u rodu *Synura*. Následně se podařilo přiřadit k temporálním změnám ve společenstvu enviromentální faktory, které je způsobují.

Klíčová slova: temporální dynamika na malé časové škále, *Chrysophyceae*, *Synura*, *Mallomonas*, transmisní elektronová mikroskopie, metabarcoding, time-lag analýza, turnover, enviromentální podmínky

Abstract

Temporal dynamics on short time scales is a very interesting area of research. Usually, temporal studies are done on a scale of months or years. However, microorganisms have a much shorter generation time and therefore changes can take place on a much smaller time scales. At the same time, almost none of the temporal studies go to the species level and mostly stay at the class level. That species dynamics change within days we know from observation, but this has never been properly verified.

The genera *Mallomonas* and *Synura* from the class Chrysophyceae were chosen to study short-term temporal changes. These two genera are characterized by the formation of siliceous scales on the surface of their cells, by which they are well morphologically identifiable to the species level. However, since species identification by microscopy is an old but traditional method, a new molecular method for species identification at the locality, i.e. metabarcoding, was also used.

These two methods have been shown similar results for describing the golden algae community. At the same time, it was confirmed that temporal dynamics occur at the species level, but also at the section level in the genus *Synura*. Subsequently, it was possible to relate the environmental factors that cause temporal changes in the community to the temporal changes in the community.

Key words: short-term temporal dynamics, *Chrysophyceae*, *Synura*, *Mallomonas*, transmission electron microscopy, metabarcoding, time-lag analysis, turnover, environmental conditions

Obsah

1	Úvod.....	1
1.1	Temporální změny společenstev	1
1.2	Metody pro studování změny společenstev.....	2
1.2.1	Deskriptivní metody pro studování změny společenstev	3
1.2.2	Ordinační metody pro studování změny společenstev	3
1.2.3	Analýza časových zpoždění (time-lag analysis).....	4
1.2.4	Turnover	4
1.3	Délka a účel studií zabývajících se temporální dynamikou	5
1.4	Cíle práce.....	7
2	Metodika.....	8
2.1	Odběrové lokality	8
2.2	Odběry	8
2.2.1	Odběr vzorků fytoplanktonu.....	9
2.2.2	Odběr vzorků zooplanktonu	9
2.2.3	Odběr vzorků vody na chemické analýzy – TC, TN, TP, Ca a Si	9
2.2.4	Terénní měření základních abiotických faktorů	9
2.3	Zpracování vzorků.....	10
2.3.1	Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)	10
2.3.2	Metabarcoding.....	10
2.4	Vytvoření enviromentální tabulky.....	11
2.5	Analýza dat.....	12
2.5.1	Zobrazení dat	12
2.5.2	Porovnání obou metodických přístupů – metabarcoding a transmisní elektronová mikroskopie.....	15
2.5.3	Statistická analýza dat	15
3	Výsledky.....	18
3.1	Enviromentální data	18
3.2	Celková diverzita společenstva křemičitých zlativek.....	23
3.2.1	Porovnání metod pro popis společenstva druhů rodů <i>Mallomonas</i> a <i>Synura</i>	26
3.2.2	Procentuální porovnání rodů <i>Mallomonas</i> a <i>Synura</i> na obou lokalitách.....	29
3.3	Porovnání metod pro analýzu společenstva křemičitých zlativek.....	30
3.3.1	Porovnání metod analýzy společenstev	30
3.3.2	Průběh dynamiky čtyř druhů rodu <i>Synura</i> zaznamenaný oběma metodami	32
3.4	Změny v abundancích jednotlivých druhů rodů <i>Mallomonas</i> a <i>Synura</i>	35

3.4.1	Změny v abundancích druhů rodu <i>Synura</i>	35
3.4.2	Změny v abundancích druhů rodu <i>Mallomonas</i>	39
3.4.3	Střídání druhů kýlnatých a ostnitých druhů rodu <i>Synura</i>	43
3.5	Jaké enviromentální faktory ovlivňují složení společenstva?.....	44
3.5.1	Jaké enviromentální faktory ovlivňují střídání druhů rodu <i>Synura</i> , jejichž šupiny mají kýl nebo osten?.....	46
3.6	Proměny společenstva v čase.....	47
3.6.1	Analýza časového zpoždění.....	47
3.6.2	Turnover.....	48
4	Diskuze.....	52
4.1	Společenstvo křemičitých zlativek na obou lokalitách.....	52
4.2	Temporální dynamika společenstva křemičitých zlativek a enviromentální faktory, které ji ovlivňují.....	53
4.2.1	Temporální dynamika společenstva křemičitých zlativek.....	53
4.2.2	Enviromentální faktory, které ovlivňují temporální dynamiku křemičitých zlativek ...	57
4.3	Porovnání metod pro studium společenstva zlativek.....	60
4.3.1	Důvody proč používat metody metabarcodingu a transmisní elektronové mikroskopie pro popis společenstva křemičitých zlativek.....	63
5	Závěr.....	65
6	Literatura.....	67
7	Přílohy.....	73
7.1	Enviromentální tabulka.....	73
7.2	TEM relativní abundance.....	74
7.3	TEM počítání 100 křemičitých šupin.....	76
7.4	Metabarcoding relativní abundance normalizované na 100 000 sekvencí na vzorek.....	77
7.5	Tabule s morfotypy, které nelze přesně přiřadit konkrétním druhům a druhy nalezenými pouze morfologicky.....	79

1 Úvod

1.1 Temporální změny společenstev

Žijeme v období velkých a rychlých klimatických změn. Tyto změny přichází častěji, projevují se výrazněji a více než kdy dříve ve vývoji naší planety. Pro zjištění, jak na tyto změny bude reagovat biologické společenstvo organismů, je důležité více než kdy dřív, aby ekologové monitorovali, kvantifikovali a analyzovali stávající společenstva organismů. Na základě těchto ekologických výzkumů bude následně možné vytvořit prognostické modely toho, jak se společenstvo organismů žijících na Zemi bude dále vyvíjet v závislosti na změnách klimatu, využívání půdy a změnách biotických či abiotických faktorů (Buckley et al., 2021a). Temporální dynamika je součástí mnoha ekologických disciplín. Mezi koncepty, které byly vytvořeny v nedávné době, patří například temporální ekologie, ekologická paměť a časové zpoždění. Tyto koncepty byly vytvořeny víceméně nezávisle na sobě, ale všechny zmiňují, že vztah mezi působením nějakého faktoru a reakcí společenstva na něj není v čase konstantní a že záleží na blízké i dávne minulosti (Ryo et al., 2019). Některé změny mohou způsobit úbytek jedinců v konkrétním společenstvu, jindy naopak ty samé změny mohou způsobit jejich nárůst v jiném i podobném společenstvu.

Kvalitní dlouho probíhající ekologické studie nám mohou přinést cenné poznatky o změnách ve společenstvech, klíčových ekologických procesech a službách, které nám ekosystémy poskytují. Tyto studie jsou taky velmi důležité pro odhalení komplexních zároveň probíhajících interakcích probíhajících mezi jednotlivými složkami ekosystému (Lindenmayer et al., 2012). Není však jednoduché takovou dlouhodobou ekologickou studii kvalitně provádět dlouhou dobu, jelikož granty mají omezené trvání, zájmy vědců se mění a jejich kariéra je krátká. Dlouhodobé studie jsou často závislé na jejich vedoucím a jeho nadšení pro danou věc a s jeho smrtí často končí (Strayer et al., 1986).

Dlouhodobá ekologická studie může podle definice mít různou délku. První a více smysluplná definice dlouhodobé ekologické studie spočívá v tom, že studie pokračuje přes několik generací dominantního organismu v prostředí a je dostatečně dlouhá, aby pokryla důležité procesy, které v ekosystému probíhají a ovlivňují jeho dynamiku. Podle této definice je délka studie měřená proti dynamice zkoumaného ekosystému. Jiná definice dlouhodobé ekologické studie pokládá za dlouhodobé takové ekologické studie, které trvají déle než většina jiných ekologických studií. Podle první definice bychom mohli považovat klasické Gausovy experimenty s trepkou *Paramecium*, které trvaly 20 dní za dlouhodobé, jelikož

během nich se vystřídalo spousta generací a byly jasně popsány změny ve studovaném společenstvu (Gause, 1934). Podle této definice by však nemohl být za dlouhodobý považován výzkum Hubbard Brook Experimental Forest v New Hampshire, kde ekologové přes 20 let studují obnovu lesního společenstva po kácení stromů. Doba potřebná pro obnovu a dosažení ustáleného stavu pro lesní společenstvo je totiž mnohem delší (Bormann & Likens, 1979). Přitom lidé by spíše označili jako dlouhodobý výzkum Hubbard Brook Experimental Forest a ne Gausovy experimenty na trepkách *Paramecium* (Strayer et al., 1986). Délka ekologické studie by tudíž měla být volena s ohledem na její cíle a organismy v ní studované.

1.2 Metody pro studování změny společenstev

Pro studování temporální dynamiky společenstev se využívají mnohorozměrné statistické metody. Znalost mnohorozměrných analýz používaných k analýze dynamiky společenstev je zásadní, jelikož se jedná stále o vyvíjející se obor na rozhraní biologie, statistiky a bioinformatiky. Výběr správné mnohorozměrné analýzy je často komplikovaný jak z biologických, tak i ze statistických důvodů. Důležité je si uvědomit, jaký typ mnohorozměrných dat máme a na jakou otázku se jimi snažíme odpovědět (Buckley et al., 2021a). Tato data nám mohou například posloužit k testování otázek ohledně sezónní dynamiky (Tammert et al., 2015) nebo dopadů klimatu (Magalhães et al., 2007). Nejjednodušší typ dat, která se často používají k monitorování a předpovědi změny ve společenstvech, je počet taxonů („druhová bohatost“). Tímto typem dat může být například relativní abundance bakteriálních DNA sekvencí (Buscardo et al., 2018) nebo počet funkčních skupin ryb na korálových útesech (Wilson et al., 2008). Tento typ dat nám však neumožní odhalit složitější změny ve společenstvu jako je například běžnost a vzácnost přítomných druhů (Blowes et al., 2019; Hillebrand et al., 2018). Například jeden invazní druh může mít devastující účinek na relativní početnost jiných druhů, ale zároveň se to nemusí projevit na celkové biomase a počtu taxonů (Bradley et al., 2019). V těchto datech též těžko odhalíme zpožděné anebo nelineární účinky disturbancí ať už způsobených člověkem či přírodou. Pro tento typ otázek je potřeba komplexnějších metod pro analýzy společenstev (Lindenmayer et al., 2012; Magnuson, 1990).

K znázornění výsledků studií zaměřených na temporální dynamiku se nejčastěji používají „deskriptivní metody“ tj. vizuální nestatistická porovnání, ordinace, „raw dissimilarity“, analýza časových zpoždění („time-lag analysis“) a shluková analýza. Přestože se začaly k analýze dynamiky společenstev používat i výpočetně složitější metody,

deskriptivní a ordinační analýzy jsou společně se shlukovou analýzou a analýzou časových zpoždění stále nejoblíbenější. Dalšími méně oblíbenými metodami, které se používají pro analýzu společenstev, jsou: turnover, network analysis, temporální stabilita, metody strojového učení, Morgan Eingen vector Maps (MEMs), synchrony, nestedness analýza, multivariační regresní modelování, multiplikatívni změny a dny zvratu (compositional pivot days) (Buckley et al., 2021a). V následujících podkapitolách podrobněji popíšu čtyři z těchto metod, které jsem následně použila i v této diplomové práci.

1.2.1 Deskriptivní metody pro studování změny společenstev

Deskriptivní metody pro studování změny společenstev jsou metody především vizuální. Zahrnují jednoduché sloupcové a spojnicové grafy a tabulky ukazující změny v relativních abundancích druhů ve společenstvu. Též mezi tyto metody můžeme zahrnout prostý seznam druhů na lokalitě zaznamenaný v různém čase. Pro jednoduché a graficky přehledné porovnání menšího množství vzorků lze použít Vénnovy diagramy. Všechny tyto metody jsou graficky atraktivní, mohou ukázat nějaký trend či strukturu v našich datech, ale zároveň nic netestují. Není možné tedy s jistotou říct zda-li je trend pouze náhodný nebo by se ukázal i v jiných než v našich datech. Některé články tyto metody používají jako hlavní metody zobrazení svých výsledků (O'Sullivan et al., 2015; Pereira et al., 2017; Vallè et al., 2014). Pro ověření výsledků je vhodné tyto metody doplnit nějakou metodou analytickou pro ověření nenáhodnosti daných jevů a lepšímu porozumění složitých struktur uvnitř temporálních dat. Výhodou těchto metod je jejich jednoduchost a aplikovatelnost na časové řady různých délek (Buckley et al., 2021a).

1.2.2 Ordinační metody pro studování změny společenstev

Ordinační metody jsou skupinou matematických metod, které se snaží zjednodušit velké soubory dat hledáním vztahů mezi proměnnými. Je možné, že pojem ordinace původně pochází z ekologie, kde se vztahuje na zobrazení objektů – lokalit, prostředí, organismů atd. jako bodů podél jedné či více referenčních os. Pro každý objekt, který ekologové studují, mají obvykle více prediktorů. Z těchto prediktorů se obvykle snaží vybrat takové, které vysvětlují nejvíce variability v daném společenstvu a zároveň respektují všechny ostatní prediktory. (Legendre & Legendre, 1998).

Preferované ordinační metody pro studium temporální dynamiky se v čase změnily. V 90. letech 20. století byly populárními metodami detrendovaná korespondenční analýza (DCA) a analýza hlavních komponent (PCA). Později se začala používat kanonická

korespondenční analýza (CCA) a od roku 2000 je nejčastěji používanou metodou nemetrické vícerozměrné škálování (NMDS) (Buckley et al., 2021a).

Ordinační metody je vhodné použít k detekci jednoduchých silných trendů podél gradientu. Příliš se nehodí na odhalení složitějších a komplexnějších změn, kterými mohou být například body zvratu, cyklické změny nebo synchronicita. Ordinační metody mají tendenci zkreslovat nepodobnosti mezi vzorky. Ty mohou být způsobeny například rozdílným počtem vzorků nebo rozdílným počtem vzácných taxonů. Vzdálenosti tudíž nemusí být porovnatelné ani v rámci jedné ordinace. Ordinance vypočítané z různých matic nejsou navzájem porovnatelné. Jedinou výjimkou, která umožňuje porovnání dvou ordinací, je Procrustes analýza, která měří neshodu mezi dvěma ordinacemi a lze jí použít k jejich porovnání (Jackson, 1995; Peres-Neto & Jackson, 2001; Quensen, n.d.).

1.2.3 Analýza časových zpoždění (time-lag analysis)

Time-lag analýza neboli analýza časových zpoždění zobrazuje relativní změny společenstva v závislosti na časovém zpoždění. Časové zpoždění je postupně se zvyšující časový úsek mezi jednotlivými studovanými časovými událostmi. Proto, aby výsledky této analýzy byly smysluplné, musíme mít k dispozici nejméně pět za sebou následujících vzorků. Výsledky této analýzy jsou zobrazovány jako time-declay curves. Z těchto křivek lze zjistit, zdali složení společenstva v čase konverguje a stává se více podobným anebo diverguje a stává se v čase více nepodobným. Pokud máme k dispozici 10 a více vzorků lze použít time-lag regresi pro odhalení směřovaných, cyklických či stochastických změn ve společenstvu. Pozitivní sklon této křivky značí, že změny ve společenstvu jsou směřované, tj. vzorky od sebe v čase vzdálenější jsou si méně podobné. Negativní sklon této křivky značí konvergenci k nějakému dřívějšímu časovému bodu, jelikož vzorky od sebe v čase vzdálenější jsou si více podobné. Žádný sklon této křivky značí, že změny probíhající ve společenstvu jsou zcela stochastické (Angeler et al., 2009; Buckley et al., 2021b; Collins et al., 2000).

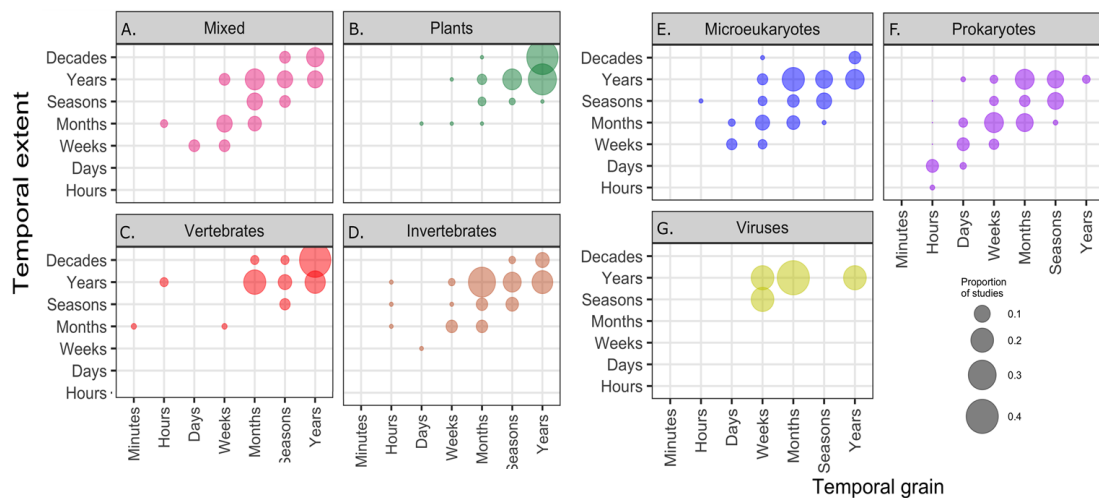
1.2.4 Turnover

Turnover znázorňuje rychlost změny taxonů ve společenstvu v průběhu času. Nevypovídá však nic o jejím směru ani taxonech, která se na změně podílejí. Může však posloužit k odhalení frekvence změn ve společenstvu a bodů zvratu (Buckley et al., 2021b). Turnover se počítá kombinací kolonizace, imigrace, vymírání, zisku a přežití organismů. Jeden ze známých vzorců pro výpočet turnoveru je vzorec $T = 100 \times (E + C) / (S1 + S2)$, kde E = počet taxonů vymřelých během dvou časových bodů, C = počet taxonů, které kolonizovaly

během dvou časových bodů a $S1$ a $S2$ = počet taxonů přítomných v čase t_1 a t_2 . Výsledek 0 znamená, že ve společenstvu neprobíhá žádný turnover a výsledek 100 znamená, že došlo ke kompletnímu turnover (Diamond, 1969). Turnover se vždy počítá mezi dvěma časovými body, pro použití pro časové řady je nutné výpočet opakovat pro sousední časové body.

1.3 Délka a účel studií zabývajících se temporální dynamikou

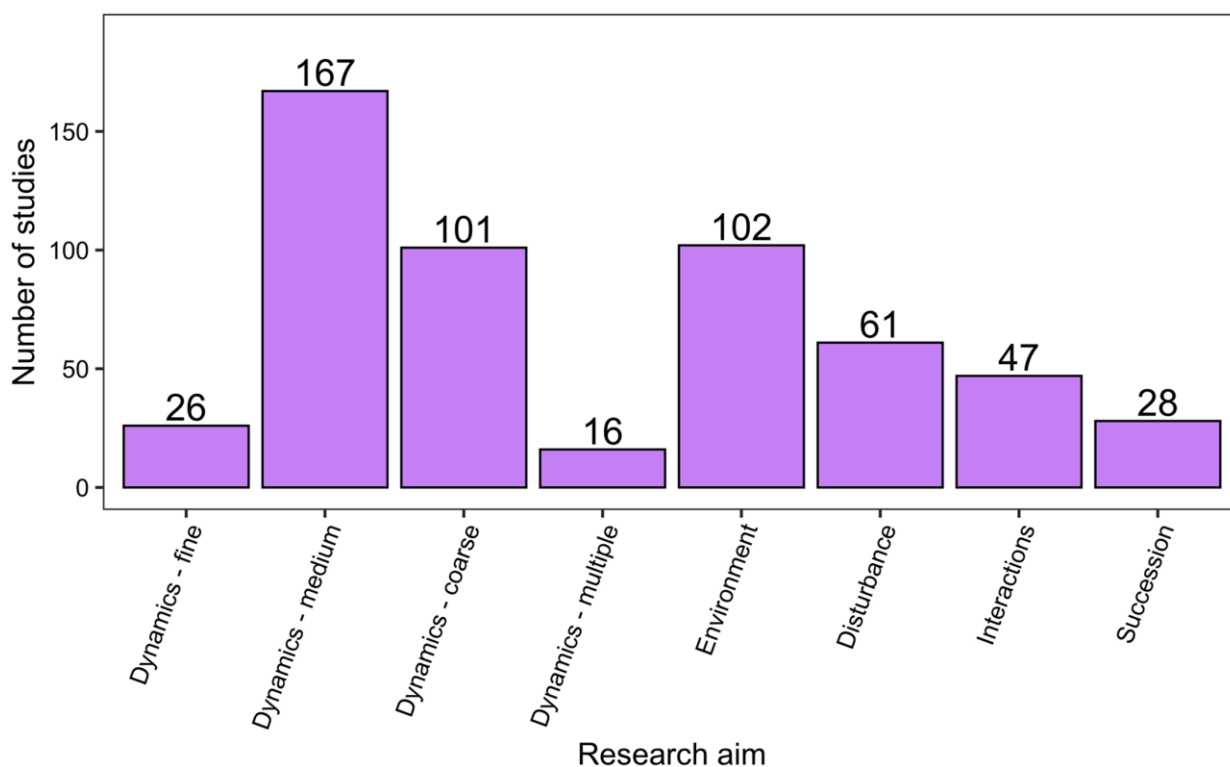
V review Buckley et al., 2021a, které shrnuje studie zabývající se temporální dynamikou v letech 1990-2018, se dočteme, že většina studií trvala několik let a pouze menší část studií zaměřená převážně na společenstvech rostlin a obratlovců trvala více než 10 let. Zároveň menší organismy jako viry, prokaryota a bakterie jsou často měřeny s jemnějším časovým rozlišením než organismy velké. Studie těchto malých organismů také často trvaly více než jeden rok. Malé organismy byly nejčastěji odebírány měsíčně či sezónně, kdežto velké organismy spíše v rámci let. Na následujícím obrázku (Obr. 1) lze vidět, že délka studií malých organismů je více různorodá a zasahuje i do kratších časových úseků než u organismů velkých. I u těchto malých organismů však převažují sezónní a meziroční studie většinou s pravidelnými měsíčními odběry (Ito, 1997; Liu et al., 2022; Padisák et al., 2010; Siver & Chock, 1986; Siver & Hamer, 1992; Wu et al., 2022)



Obr. 1 Temporální studie pro různé taxony podle jejich délky trvání. Temporal grain je minimální doba mezi jednotlivými odběry a temporal extent je maximální doba mezi jednotlivými odběry. Studie o řasách, houbách a protistech se nachází v grafu E. Převzato a upraveno z Buckley et. al, 2021a.

Nejinak je tomu u zlativek, které byly většinou odebírány 1x za 14 dní či měsíčně (Bock et al., 2014; Ito, 1997; Kim & Takamura, 2001; Siver & Chock, 1986; Siver & Hamer, 1992).

Studii zabývající se temporální dynamikou na malé časové škále v rámci několika dní je naprosté minimum, ačkoliv se diverzita společenstva organismů může výrazně měnit i na takto krátké časové škále (Lehman & Sandgren, 1985). To lze vidět i na následujícím obrázku (Obr. 2), který rozděluje studie z review Buckley et al., 2021a podle výzkumného účelu. Cílem většiny studií byla temporální dynamika v rámci týdnů, měsíců a sezón. Relativně velké množství studií se zabývalo temporální dynamikou na delším časovém úseku (roky a desetiletí) nebo vlivem environmentálních faktorů na temporální dynamiku. Jak lze na obrázku vidět, ze všech zkoumaných studií se temporální dynamikou na malé časové škále (dny) zabývalo jen 26 studií. To odpovídá zhruba 5 % ze všech studií, což není mnoho.



Obr. 2 Temporální studie podle různých cílů výzkumu. Studie, jejichž hlavním cílem bylo zkoumat časovou dynamiku byly rozděleny do tří skupin podle své délky – fine (dny), medium (týdny, měsíce nebo roční období) a coarse (roky nebo desetiletí). Cílem dalších studií bylo zkoumat vliv podmínek prostředí (environment), disturbancí (disturbance), interakcí mezi organismy (interactions) a sukcesi v čase. Převzato z Buckley et. al, 2021a.

1.4 Cíle práce

Cílem této práce je studie temporální dynamiky fytoplanktonu na malé časové škále u modelové skupiny řas třídy *Chrysophyceae* řádu *Synurales*, neboli zlativek s křemičitými šupinami. Výhodou zaměření práce na tento řád řas jsou dobře morfologicky i molekulárně definované druhy.

Tato práce je tudíž unikátní jednak jemností časové škály (odběry probíhaly každé tři dny) tak i jemností určování řas až na druhovou úroveň. Tato práce též porovnává dva různé přístupy k určování druhů křemičitých zlativek, a to tradiční metodu určování podle šupin na transmisním elektronovém mikroskopu a moderní metodu určování pomocí sekvenování enviromentální DNA. V práci se tudíž také snažím zjistit, jestli si výsledky o složení společenstva zjištěné těmito dvěma metodami odpovídají či nikoliv. Tato práce se též zabývá otázkou, jestli změny složení druhů na lokalitě přímo nesouvisí se změnou enviromentálních faktorů (tj. koncentrace živin TN, TP, TC, Si a Ca, pH, teplota a konduktivita vody).

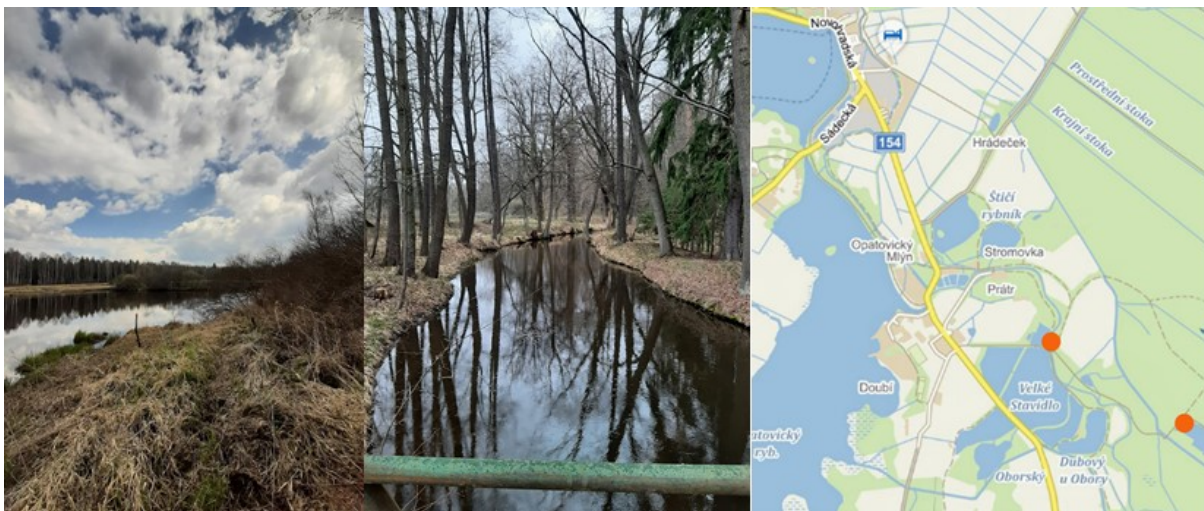
Tato práce si klade následující otázky:

- 1) Probíhají změny ve společenstvu křemičitých zlativek i na úrovni jemné časové škály v řádu dní?
- 2) Odpovídají si výsledky zjištěné tradiční metodou transmisní elektronové mikroskopie a moderní metodou sekvenování enviromentální DNA?
- 3) Existují enviromentální faktory, které přímo souvisí se změnou společenstva křemičitých zlativek?

2 Metodika

2.1 Odběrové lokality

Na základě našich pozitivních předchozích zkušeností s odběry v okolí Třeboně byly vybrány dvě lokality s velkou druhovou bohatostí křemičitých zlativek. První z těchto lokalit je bezejmenná slat' na rašeliništi Spálená borkovna (48.9800389N, 14.7994933E). Tato slat' vznikla těžbou sirnoželezité slatiny pro Třeboňské lázně, patrně až ve 20. století. V současnosti je v ní slatina pro tyto účely stále těžena (Psíková, 2013). Odběrové místo se nachází na opačném břehu, než kde probíhá těžba. Slat' je zhruba 3 hektary velká, s mělkým litorálem, má bahnité dno a pozvolný břeh. Pro účely této diplomové práce jsem tuto lokalitu pojmenovala slat' Zlativka. Druhou lokalitou je v 16. století uměle vyhloubený kanál Zlatá stoka (48.9848756N, 14.7883083E) protékající celou Třeboňskou pánví. Tento kanál spojuje velké množství zdejších rybníků a stok. Slouží k jejich zásobování vodou a pomáhá cirkulaci živin a okysličování vody v rybnících (Kučera, 2022). Slat' Zlativka reprezentuje zástupce stojaté vody a Zlatá stoka je zástupcem vody tekoucí.



Obr. 3 Zleva lokalita Slat' Zlativka, lokalita Zlatá stoka, umístění obou lokalit na mapě.

2.2 Odběry

Jelikož tato práce je zaměřená na temporální dynamiku planktonních zlativek na malé časové škále, odběry probíhaly během jara 2021 (7.4.-14.6.2021). Odběry vždy probíhaly na obou lokalitách a opakovaly se každé tři dny ve stejnou denní dobu. Celkem bylo provedeno 24 odběrů na každé lokalitě. Každý odběr bylo provedeno odebrání vzorku fytoplanktonu na metabarcoding a transmisní elektronovou mikroskopií, odběr vody na chemické analýzy (TC, TN, TP, Ca a Si) a bylo změřeno aktuální pH, teplota a konduktivita vody. Později byla též

stažena z webových stránek Českého hydrometeorologického ústavu meteorologická data z celého období, kdy odběry probíhaly.

2.2.1 Odběr vzorků fytoplanktonu

Během každého odběru byl nejprve odebrán vzorek fytoplanktonu na metabarcoding. Tento vzorek byl odebrán do sterilní lahvičky sterilní planktonní sítí s velikostí ok 20 μm z pěti různých míst kousek od sebe. Tímto opatřením vzorek zachycuje větší množství heterogenity fytoplanktonu v prostředí. Tento vzorek byl následně uložen do chladicí tašky s ledem. Po návratu z odběrů byl vzorek uložen do mrazicího boxu. Stejnou planktonní sítí byl poté odebrán i vzorek pro transmisní elektronovou mikroskopii už jen do vymyté nesterilní lahvičky. Do vzorku následně byla přidána kapka formalínu pro konzervaci a následně byl také umístěn do chladicí tašky s ledem a po návratu z odběru umístěn do skříně. Planktonní síť byla vysterilizována v roztoku Savo, aby mohla být dále používána při dalších odběrech.

2.2.2 Odběr vzorků zooplanktonu

Jedním z faktorů, který může ovlivnit dynamiku fytoplanktonu je i zooplankton. Planktonní sítí s velikostí ok 100 μm byl tudíž vždy odebrán do nesterilní lahvičky vzorek zooplanktonu. Tento vzorek byl na místě také zakonzervován přidáním kapky formalínu. Všechny tyto vzorky byly po skončení odběrů předány brněnskému kolegovi. Bohužel nám však dodnes nedodal žádné výsledky.

2.2.3 Odběr vzorků vody na chemické analýzy – TC, TN, TP, Ca a Si

Během odběru byla vždy lahvičkou nabrána nezvířená voda a následně byla přelita přes čajový sáček do předpřipravených lahviček s chemikáliemi od společnosti AQUATEST, která následně po skončení odběrů provedla analýzu chemického složení vody. Byly odebírány vzorky pro zjištění celkového množství uhlíku (TC), celkového množství dusíku (TN), celkového množství fosforu (TP), obsahu vápníku (Ca) a obsahu křemíku (Si) ve vodě. Lahvičky byly též během odběru uloženy v chladicí tašce s ledem a po návratu z odběru umístěny do lednice.

2.2.4 Terénní měření základních abiotických faktorů

Na odebírané lokalitě bylo vždy kombinovaným konduktometrem WTW 340i (WTW GmbH, Weilheim Germany) změřeno aktuální pH, teplota a konduktivita vody na lokalitě. Tyto hodnoty byly po návratu z odběru zaneseny do excelové tabulky (viz příloha 7.1).

2.3 Zpracování vzorků

2.3.1 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

Po návratu z odběru byly ze vzorků určených na transmisní elektronovou mikroskopii z obou lokalit nanесeny kapky na dvě měděné elektronmikroskopické síťky pokryté formvarovou blankou. Tyto síťky byly následně druhý den promyty pro zbavení nečistot ve třech kapkách destilované vody na pruhu parafilmu v každé kapce 3-4 minuty. Tyto promyté síťky se vzorky byly uloženy do „gridboxu“ (Slide-A-Grid™ Storage Box, SPI Supplies and Structure Probe, Inc., West Chester, USA). Takto připravené síťky byly poté později prohlíženy na transmisním elektronovém mikroskopu TEM JEOL 1011 v Laboratoři elektronové mikroskopie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. Pro mikroskopování byl využit mikroskop TEM JEOL 1011 v této laboratoři. Během mnoha hodin mikroskopování byly nejdříve procházením obou sítěk z daného odběru pořízeny CCD kamerou Veleta a softwaru Olympus Soft Imaging Solution GmbH, Münster, Germany mikrofotografie všech druhů přítomných na síťkách a odhadnuty jejich relativní abundance na škále 0-3. Přičemž 0 znamená, že daný druh nebyl přítomen, 1 druh byl přítomen pár šupinami, 2 druh byl přítomný ve více jak 10 šupinách, 3 druh byl dominantní a přítomen téměř v každém čtverečku síťky. Následně bylo vždy spočítáno náhodných jednotlivých 100 šupin pro lepší porovnávání dat z transmisní elektronové mikroskopie s výsledky z metabarcodingu. Tabulka s relativními abundancemi (příloha 7.2) a tabulka s počty šupin jednotlivých druhů (příloha 7.3) byly dále použity ke statistickým analýzám v programu R a k porovnání výsledků získaných transmisní elektronovou mikroskopii a metabarcodingem.

2.3.2 Metabarcoding

Všechny vzorky na metabarcoding byly v průběhu odběrů ukládány do mrazícího boxu. A následně společně s dalšími vzorky z naší laboratoře zpracovány Ivanou Černajovou v molekulární laboratoři a poslány na metabarcoding. Ze sebraného vzorku byly použity 2 ml sedimentu k vytvoření peletky. Pro izolaci DNA byl použit DNeasy PowerWater Kit (výrobce Qiagen) a izolace byla provedena podle jejich návodu včetně extra kroku zahřívání 10 minut na 65°, pro zlepšení lýze buněk. Vzorky byly označeny barcodem. Byly použity tyto dva primery:

Forward: chryso_SSU1 (GGTGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGG)

Reverse: chryso_58S.5 (CAGAYACTCCARCAGACATRC)

Pro PCR reakci bylo použito 10 µl Q5 Master Mixu (high-fidelity Q5 polymerase, výrobce BioLabs), 1 µl forward primeru, 1 µl reverse primeru, 30-40 ng DNA podle

koncentrace vzorku a vodou doplněno do celkových 20 μ l. PCR cyklus probíhal s následujícím nastavením: 98°C 30s; (98°C 10s, 52°C 45s, 72°C 1 min) x 35; 72°C 2min. PCR produkty byly přečištěny na SPRI AMPure XP paramagnetic beads (Beckman Coulter) à 15 μ l a elulovány do RNase-free vody buď do 50 μ l dobře koncentrované vzorky a málo koncentrované vzorky do 20 μ l. Vzorky byly poolovány ekvimolárně a odpařeny na koncentrátoru (Vacuum Centrifugal Concentrator) na celkový objem max 40 μ l. A následně poslány na zpracování do společnosti FASTERIS. Každý vzorek byl zhotoven ve dvou replikátech.

Ze společnosti FASTERIS přišly sekvence. S těmito sekvencemi byly provedeny následující kroky: quality filtering, pair-end assembly, odstranění primerových artefaktů, extrahování readů podle primerů, reorientování readů 5'-3', demultiplexing, pool složek a odstranění primerů a labels, demultiplexing readů podle vzorků, dereplikování jednotlivých vzorků a SWARM. Tyto kroky jsou podrobněji rozepsány v publikaci Bálint et al., 2014. Tyto enviromentální sekvence byly přidány do aligmentu se sekvencemi rodů *Synura* a *Mallomonas*, které máme v lokální databázi v laboratoři z jiných projektů. Následně byl vytvořen fylogenetický strom a všem získaným OTU (operational taxonomic unit) sekvencím přiřazen jejich taxonomický název.

Po přiřazení taxonomického názvu všem sekvencím byly sloučeny všechny OTU, které náleží dle fylogenetické analýzy jednomu druhu. Následně byl vybrán vždy početnější replikát a v něm zachovány jen sekvence těch druhů, které byly zastoupeny alespoň jednou sekvencí v obou replikátech. Tato tabulka byla následně převedla na procenta a normalizována na 100 000 sekvencí. Takto upravená tabulka (viz příloha 7.4) byla následně použita ke statistickým analýzám v programu R.

2.4 Vytvoření enviromentální tabulky

Tato tabulka obsahuje veškeré faktory, které mohou ovlivnit výskyt a množství zlativek na lokalitě. Jedná se o následující faktory:

- 1) Koncentrace živin zjištěné chemickými analýzami složení vody – TN, TP, TC, Si a Ca.
- 2) Abiotické faktory změřené kombinovaným konduktometrem WTW 340i – teplota, pH a konduktivita.
- 3) Meteorologická data ze dne odběru stažené ze stránek Českého hydrometeorologického ústavu – průměrná rychlost větru (m/s), průměrná denní relativní vlhkost vzduchu (%), denní úhrn srážek (mm), denní úhrn doby trvání

slunečního svitu (hod), průměrná denní teplota vzduchu (°C), maximální denní teplota vzduchu (°C) a minimální denní teplota vzduchu (°C). Jelikož se domnívám, že na prostředí by mohly mít vliv i některé z těchto hodnot ze dnů předcházejících jednotlivým odběrům, byly do tabulky přidány i hodnoty pro denní úhrn srážek (mm) ze dne odběru a dni jemu předcházející. z předchozího dne. Pro tyto dva faktory byly též vytvořeny průměrné hodnoty ze dvou dnů předcházejících odběru vzorků.

Tato tabulka byla následně použita ke statistickým analýzám v programu R. Tato tabulka se nachází v příloze 7.1..

Koncentrace výše zmíněných prvků (TN, TP, TC) jsou důležité pro vývoj fytoplanktonu a jejich dostupnost v prostředí měří většina ekologických studií (H. S. Kim & Takamura, 2001). Koncentrace vápníku byla měřena kvůli lepší informaci o dlouhodobém pH lokality. Měření koncentrace křemíku v prostředí jsem považovala za důležité, jelikož modelový řád *Synurales* ze třídy *Chrysophyceae* se vyznačuje tvorbou křemičitých šupin a zároveň je křemík jedním ze stavebních prvků nejen pro zlativky, ale i pro rozsivky.

2.5 Analýza dat

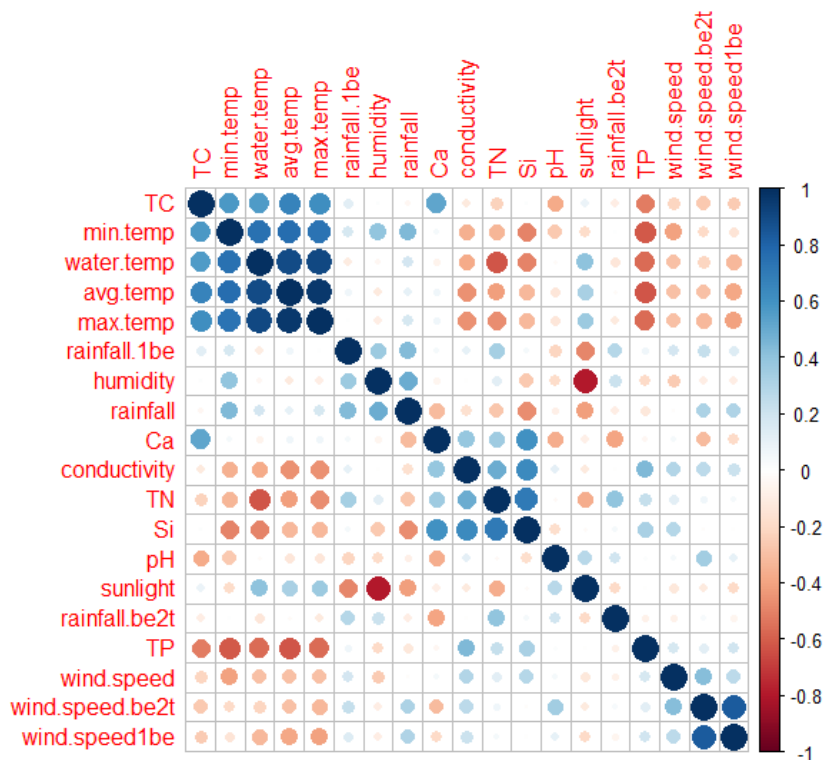
Pro analýzu dat byly použity 4 časové řady získané 2 různými přístupy z obou lokalit. Dvě z těchto řad jsou získány moderním přístupem pro analýzu společenstev metodou metabarcodingu a dvě tradičním způsobem pro studium společenstva křemičitých zlativek určováním druhů pod transmisním elektronovým mikroskopem. Metabarcodingová i transmisní řada ze slati Zlativka obsahují každá 24 po sobě jdoucích vzorků. Stejně je tomu i u metabarcodingové řady ze Zlaté stoky. Bohužel u některých vzorků ze Zlaté stoky nebylo možné ani po několika opakováních napočítat 100 šupin, tudíž některé vzorky byly vyloučeny a tato transmisní řada obsahuje jen 18 vzorků. Vzorky, které byly vyloučeny jsou: 21.4., 9.5., 15.5., 18.5., 21.5. a 5.6.. K těmto řadám byly změřeny i hodnoty různých environmentálních faktorů, tudíž lze testovat i jejich vliv na změnu společenstva.

2.5.1 Zobrazení dat

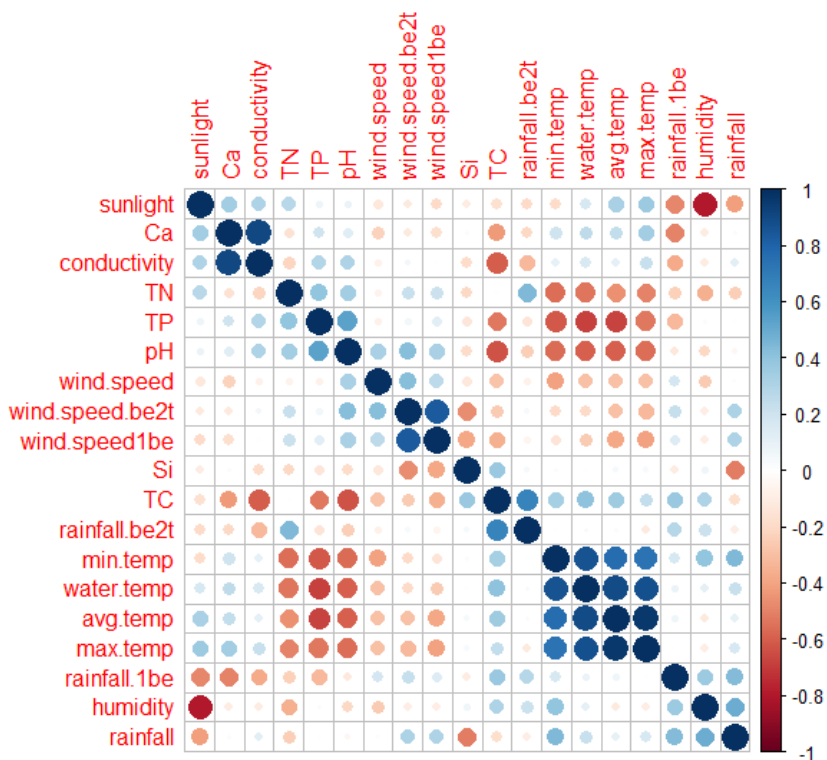
Na první nahlédnutí, jak získaná data vypadají, byly použity spojnicové grafy v programu Excel. Spojnicové grafy byly vytvořeny pro jednotlivé environmentální proměnné. Tyto grafy byly vytvořeny za účelem zjištění, jestli se nějak výrazně na první pohled mění některá z environmentálních podmínek.

Pro zjištění, jestli některé environmentální parametry mají mezi sebou nějaký vztah a zdali je všechny možné brát jako nezávislé proměnné byly v programu R za pomoci balíčku

corrplot vytvořeny korelační matice obsahující všechny enviromentální proměnné. Pro každou z lokalit byla vytvořena korelační matice zvlášť (Obr. 4, Obr. 5).



Obr. 4 Korelační matice enviromentálních proměnných u lokality slat' Zlativka.



Obr. 5 Korelační matice enviromentálních proměnných u lokality Zlatá stoka.

Jako závislé proměnné u slati Zlativka byly vyloučeny z následných statistických analýz proměnné: minimální teplota vzduchu (min.temp), teplota vody (water.temp), maximální teplota vzduchu (max.temp), dešťové srážky den před odběrem (rainfall.1be) a rychlost větru dva dny před odběrem (windspeed.be2t). Jako závislé proměnné u Zlaté stoky byly vyloučeny z následných statistických analýz proměnné: minimální teplota vzduchu (min.temp), teplota vody (water.temp), maximální teplota vzduchu (max.temp), celková koncentrace vápníku (Ca), rychlost větru dva dny před odběrem (windspeed.be2t) a dešťové srážky dva dny před odběrem (rainfall.be2t).

Pro první náhled, jestli se abundance druhů na lokalitách mění, byly vytvořeny zvlášť spojnicové grafy pro rody *Synura* a *Mallomonas* na obou lokalitách. Tyto grafy byly vytvořeny jak pro data získaná přístupem metabarcodingu i pro data získaná počítáním šupin při mikroskopování na transmisním elektronovém mikroskopu. Pro přehlednější zobrazení byly následně vytvořeny v programu R funkcí `pheatmap` heatmapy, zvlášť pro všechny druhy rodu *Synura* i pro všechny druhy rodu *Mallomonas* z obou lokalit. Tyto heatmapy byly vytvořeny nejen pro oba rody na obou lokalitách, ale i pro výsledky obou použitých metod (TEM a metabarcoding). Rody bylo vhodné rozdělit do grafů zvlášť i kvůli množství šupin a sekvencí.

Druhy rodu *Synura*, které se v této práci vyskytují, lze rozdělit do dvou velkých skupin. První z nich tvoří druhy, které mají na svých šupinách osten (*Curtispinae*) a druhou ty, které mají na svých šupinách kýl (*Peterseniana*). Do skupiny těch, které mají kýl patří: *S. americana*, *S. bjoerkii*, *S. clade10*, *S. conopea*, *S. glabra*, *S. heteropora*, *S. macropora*, *S. petersenii* a *S. truttae*. A do skupiny, které mají osten patří: *S. curtispina*, *S. echinulata*, *S. rubra*, *S. sphagnicola*, *S. spinosa* a *S. uvella*. Pro jednotlivé druhy rodu *Synura*, a i pro tyto dvě skupiny, byl udělán graf průběhu jejich dynamiky v programu R.

Též byly vytvořeny sloupcové grafy v programu Excel, které znázorňují změnu poměrů rodů *Synura* a *Mallomonas* na obou lokalitách. Tyto grafy byly vytvořeny jak pro data získaná přístupem metabarcodingu i pro data získaná počítáním šupin při mikroskopování na transmisním elektronovém mikroskopu.

2.5.2 Porovnání obou metodických přístupů – metabarcoding a transmisní elektronová mikroskopie

Pro zjištění, která z těchto metod je schopná odhalit více druhů rodů *Synura* a *Mallomonas*, a zdali si druhy nalezené metodami odpovídají, byl vytvořen Věnnův diagram v programu Excel. Jelikož jde o porovnání metodik nikoliv o porovnání lokalit, použila jsem data z obou lokalit. Jako zdrojová data byla použita semikvantitativní transmisní data a metabarcodingová data.

Dále mně zajímalo, zdali si odpovídá procentuální zastoupení sekvencí druhu s procentuálním zastoupením podle počtu jeho nalezených křemičitých šupin. Chtěla jsem zjistit, jestli dochází k nějakému časovému posunu mezi „živými organismy“ reprezentovanými sekvencemi a „jejich pozůstatky“, které reprezentují nalezené křemičité šupiny. Tyto grafy byly vytvořeny v programu Excel pro čtyři nejhojnější druhy rodu *Synura* - *S. echinulata*, *S. spinosa/curtisipina*, *S. petersenii* a *S. glabra* na obou lokalitách. Pro rod *Mallomonas* nebyly tyto grafy vytvořeny, jelikož tento rod se vyskytoval v datech v mnohem menší abundanci a žádný jeho druh nebyl přítomen po celé časové období ani na jedné z obou lokalit.

2.5.3 Statistická analýza dat

Jednou z častých metod používaných pro podobný typ dat jako jsou data v této práci je nemetrické mnohorozměrné škálování (=NMDS). Tato metoda redukuje počet dimenzí původního prostoru tak, aby vztahy mezi objekty zůstaly co nejlépe zachovány. Čím jsou si objekty podobnější, tím blíže u sebe se budou na ordinačním diagramu nacházet (Haruštiaková et al., 2012). Tato metoda byla aplikována na druhová data získaná metodou metabarcodingu.

Jelikož mne zajímá, které z enviromentálních proměnných nejlépe vysvětlují změny ve složení společenstva, pokusila jsem se první a druhé NMDS ose přiřadit enviromentální proměnné, které s nimi korelují.

Která z enviromentálních proměnných nejlépe vysvětluje změny ve složení společenstva, lze zjistit regresní funkci Envfit z balíčku Vegan v programu R. Tato funkce se snaží o napasování jednotlivých environmentálních proměnných na NMDS ordinaci organismálních proměnných takovým způsobem, aby maximalizovala korelaci mezi oběma zdroji dat (Cisneros et al., 2011). Pro tuto analýzu byly na základě korelačních matic vybrány jen nezávislé proměnné. Na lokalitě slat' Zlativka (Obr. 4) to byly následující proměnné: celková koncentrace uhlíku (TC), průměrná teplota vzduchu (avg.temp), vlhkost vzduchu

(humidity), dešťové srážky (rainfall), celková koncentrace vápníku (Ca), konduktivita (conductivity), celková koncentrace dusíku (TN), celková koncentrace křemíku (Si), pH vody (pH), dostupnost slunečního světla (sunlight), dešťové srážky za předchozí dva dny (rainfall.be2t), celková koncentrace fosforu (TP), rychlost větru (wind.speed) a rychlost větru den předcházející odběru (wind.speed1be). Na lokalitě Zlatá stoka (Obr. 5) to byly následující proměnné: celková koncentrace uhlíku (TC), průměrná teplota vzduchu (avg.temp), vlhkost vzduchu (humidity), dešťové srážky (rainfall), konduktivita (conductivity), celková koncentrace dusíku (TN), celková koncentrace fosforu (TP), celková koncentrace křemíku (Si), pH vody (pH), dostupnost slunečního světla (sunlight), dešťové srážky den předcházející odběru (rainfall.1be), rychlost větru (wind.speed) a rychlost větru ze dne předcházejícího odběru (wind.speed1be).

Kromě toho, jestli některé podmínky vysvětlují změny společenstva na lokalitách, mně zajímalo i jestli se skupiny rodu *Synura*, jejichž šupiny mají kýl (*Peterseniana*) a jejichž šupiny mají osten (*Curtispina*) střídají na lokalitě slat' Zlativka v závislosti na nějakém enviromentálním parametru. Nejprve jsem si vytvořila poměr obou těchto skupin (*Curtispina/Peterseniana*). Jelikož v tomto případě jsem měla jen jednu proměnnou (poměr skupin) nešlo použít funkci enfit na napasování enviromentálních proměnných. V tomto případě jsem tudíž použila pro výběr nejlepší enviromentální proměnné model averaging a vybrané proměnné následně samostatně otestovala metodou lineární regrese. Pro tuto analýzu jsem použila druhy rodu *Synura* z lokality slat' Zlativka získané metodou metabarcodingu.

Pro porovnání metodik byla použita Procrustes analýza, která umožňuje porovnání dvou různých ordinací a snaží se je napasovat na sebe (Oksanen, 2015). Tímto způsobem byly porovnány mezi sebou druhové ordinace získané metodou metabarcodingu a transmisní elektronové mikroskopie. Nejprve celkově pro všechna získaná druhová data, poté zvlášť pro rody *Synura* a *Mallomonas* a následně i pro obě lokality zvlášť.

Time lag analýza slouží k zobrazení relativní změny společenstva v závislosti na časovém zpoždění. Časové zpoždění je postupně se zvyšující časový úsek mezi jednotlivými provedenými odběry. Výsledky této analýzy jsou zobrazovány jako time-declay curves (Angeler et al., 2009; Buckley et al., 2021b; Collins et al., 2000). V této práci byla tato analýza použita k porovnání změn společenstva mezi slatí Zlativka a Zlatou stokou pro data, která byla získána metodou metabarcodingu. K této analýze byl použit upravený skript pro program R ze článku Buckley et al., 2021b.

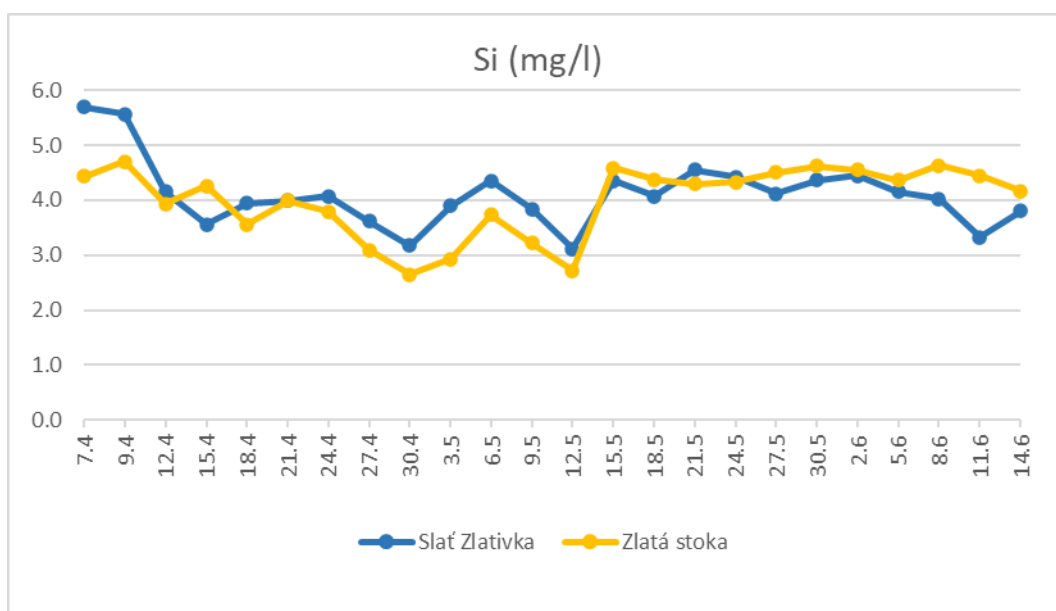
Turnover znázorňuje rychlost změny taxonů ve společenstvu v průběhu času. Nevypovídá však nic o jejím směru ani taxonech, která se na změně podílejí. Může však posloužit k odhalení frekvence změn ve společenstvu a bodů zvratu (Buckley et al., 2021b). V této práci byl turnover vypočítán pro metabarcodingová data zvláště pro slat' Zlativka a Zlatou stoku. Následně byl vypočítán v těchto lokalitách i jen pro rod *Synura*, jelikož jeho druhy se v datech vyskytovaly po celou dobu průběhu odběrů a změny jejich abundance by mohli být způsobeny měřenými enviromentálními faktory. Druhy rodu *Mallomonas* se v datech vyskytovaly v mnohem nižší abundanci a bez delší časové řady v kuse, a tudíž k této analýze nejsou vhodná. K této analýze byl použit upravený skript pro program R ze článku Buckley et al., 2021b. Jestli je turnover způsoben některým z enviromentálních faktorů nebo ne, bylo otestováno pomocí lineární regrese (balíček MuMin v programu R).

3 Výsledky

3.1 Enviromentální data

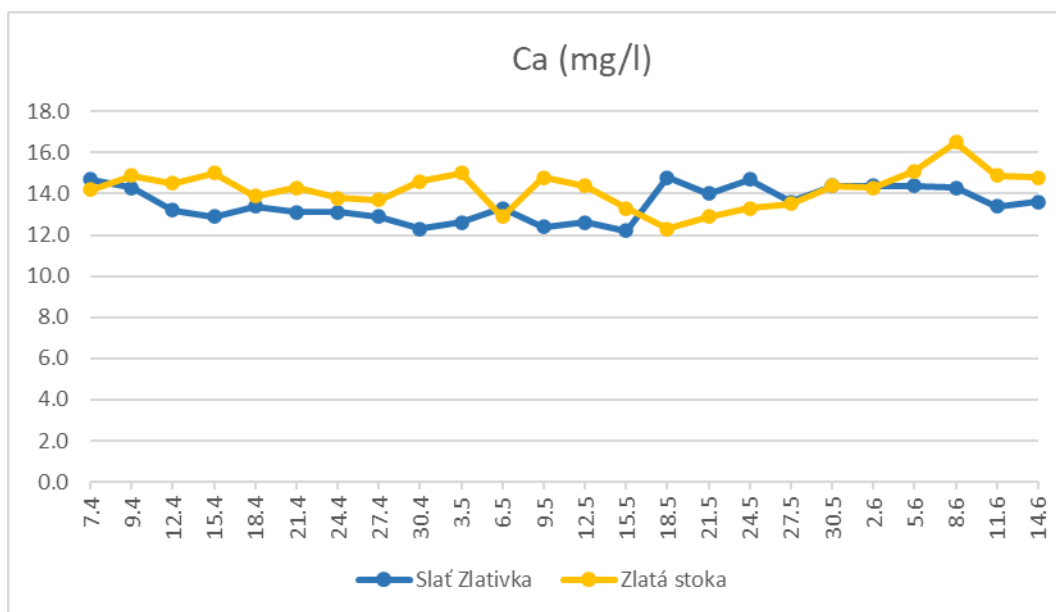
Na obou dlouhodobě měřených lokalitách byla sledována temporální dynamika osmi enviromentálních hodnot – koncentrace křemíku (Si), koncentrace vápníku (Ca), celková koncentrace dusíku (TN), celková koncentrace fosforu (TP), celková koncentrace uhlíku (TC), pH, teplota vody a konduktivita. Na následujících grafech průběhu enviromentálních hodnot jsou modře vyznačeny hodnoty z lokality slat' Zlativka a žlutě hodnoty z lokality Zlatá stoka.

Hodnoty koncentrace křemíku se pohybují mezi 2-6 mg/l a mění se na obou lokalitách víceméně stejným způsobem (Obr. 6).



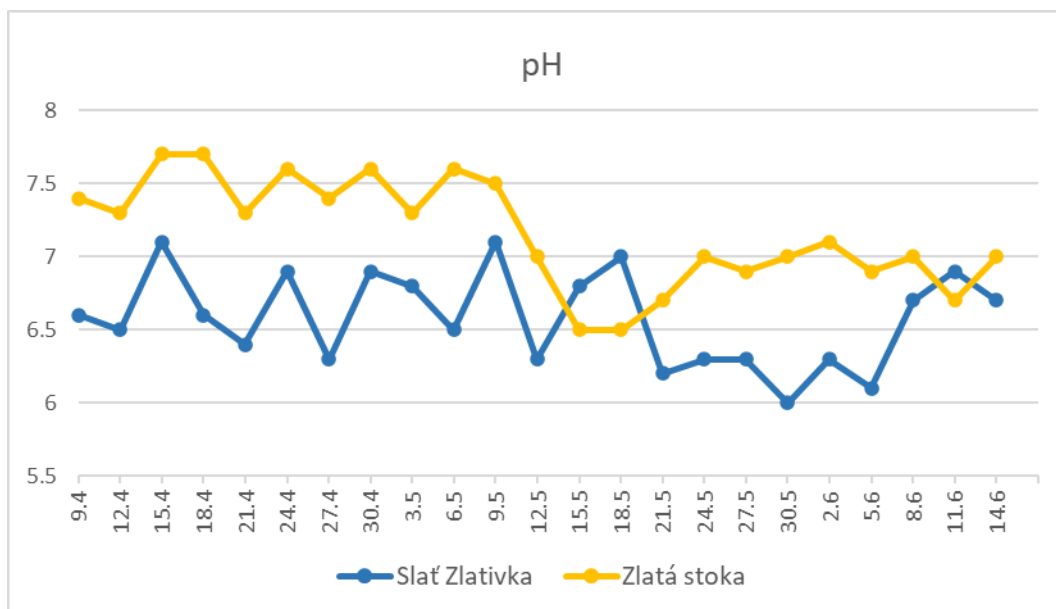
Obr. 6 Koncentrace křemíku v mg/l na obou lokalitách.

Koncentrace vápníku byla po celou dobu stabilní a pohybovala se mezi 12-17 mg/l (Obr. 7). Hodnoty koncentrace vápníku by měly lépe odrážet pH lokality než jeho jednorázové měření, které může být ovlivněno změnami fotosyntézy během dne.



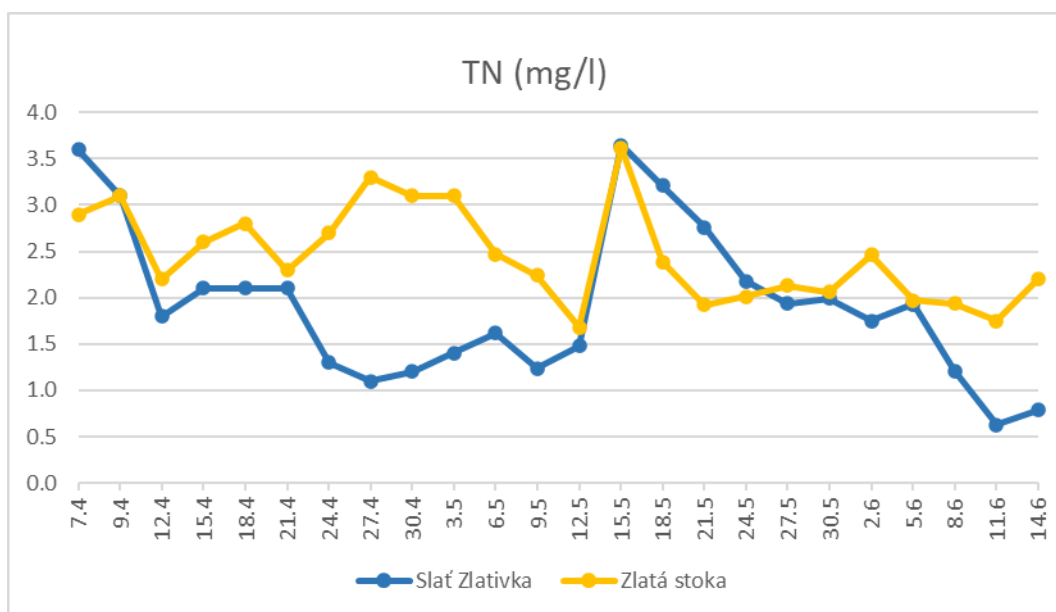
Obr. 7 Koncentrace vápníku v mg/l na obou lokalitách.

Naměřené hodnoty pH (Obr. 8) oscilují více než změřené hodnoty koncentrace vápníku. Zlatá stoka má pH zásaditější než slat' Zlativka. Zlatá stoka se pohybuje v rozmezí neutrálního pH, kdežto slat' Zlativka má své pH mírně kyselé.



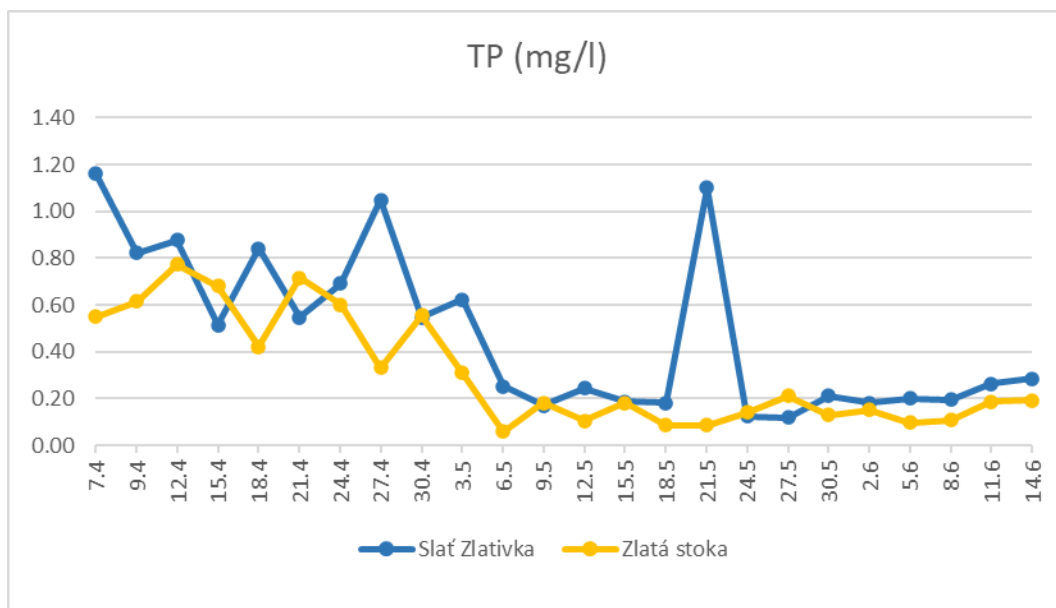
Obr. 8 Naměřené pH na obou lokalitách.

Během sezóny docházelo ve slati Zlativka k postupnému úbytku dusíku (Obr. 9). Nárůst jeho koncentrace 15.5. 2021 souvisí s mohutnými dešti v okolí tohoto odběru. V důsledku těchto dešťů se slat' rozlila na větší území a k jejímu obohacení dusíkem. Po této události koncentrace dusíku opět jen klesala. U Zlaté stoky můžeme pozorovat rozdílný průběh. Zlatá stoka je kanál, který protéká celou Třeboňskou pánví a spojuje zdejší rybníky. Nárůst dusíku mezi 21.4-27.4 si vysvětlují tak, že došlo k vypuštění nějakého rybníka před odběrovým místem do Zlaté stoky, a ta byla tímto způsobem obohacena o dusík. Tuto myšlenku však nemám nikterak podloženu. I na koncentraci dusíku ve Zlaté stoce se projevilo rozvodnění v důsledků dešťů v okolí 15.5.2021.



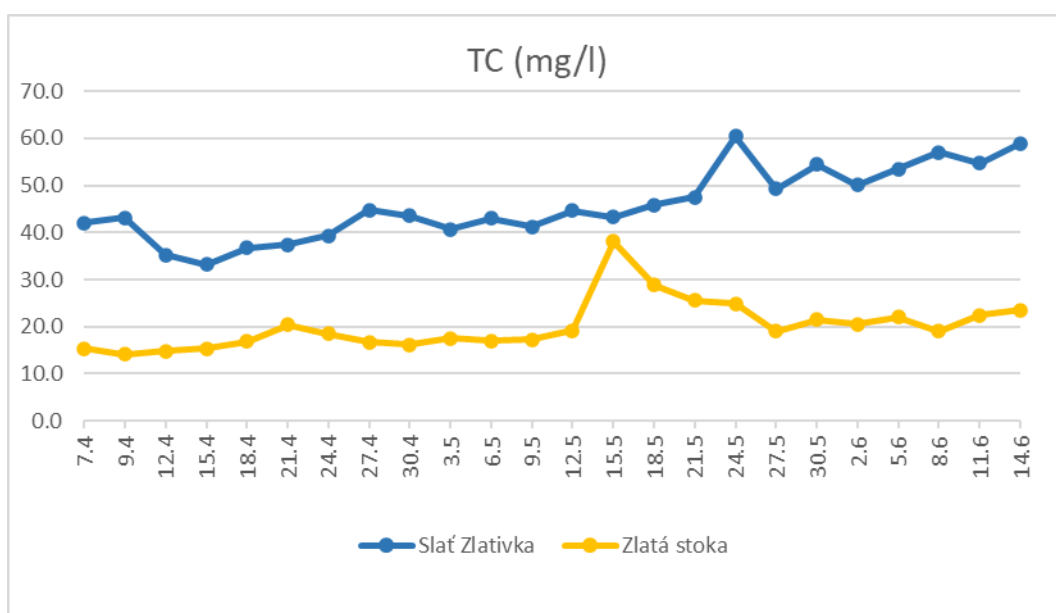
Obr. 9 Koncentrace dusíku v mg/l na obou lokalitách.

Fosfor je stejně jako dusík v průběhu sezóny postupně spotřebováván (Obr. 10). Ve Zlaté stoce je téměř po celou dobu průběhu odběrů fosforu méně než ve slati Zlativka. K bodovému nárůstu koncentrace fosforu 21.5.2021 ve slati Zlativka pravděpodobně došlo chybně odebraným vzorkem, jelikož mně nenapadá žádný důvod, proč by tomu tak mělo být.



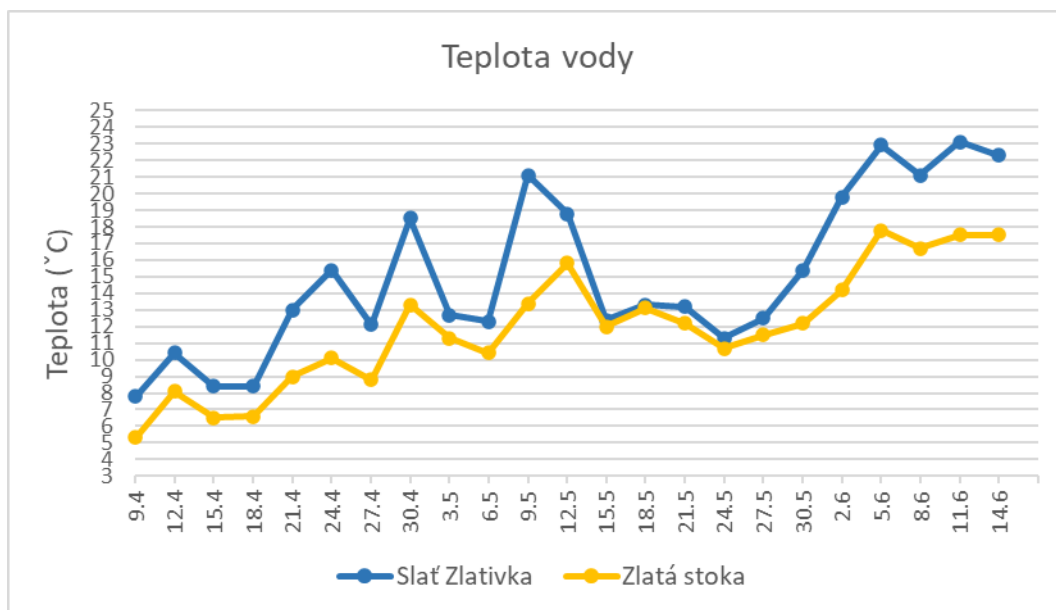
Obr. 10 Koncentrace fosforu v mg/l na obou lokalitách.

Koncentrace uhlíku je na obou lokalitách nejvyšší ze všech prvků (Obr. 11). V průběhu sezóny mírně narůstá na obou lokalitách. Zároveň ve slati Zlativka je po celou dobu probíhajícího měření více uhlíku než ve Zlaté stoce, což může souviset s tím, že slaf Zlativka je voda stojatá a Zlatá stoka voda tekoucí.



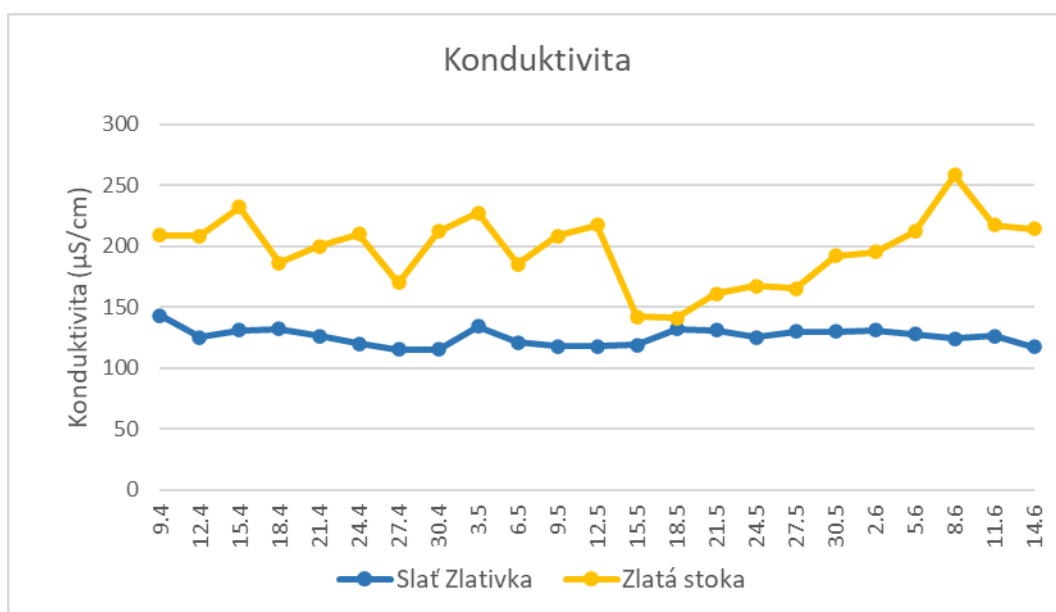
Obr. 11 Koncentrace uhlíku v mg/l na obou lokalitách.

V průběhu odběrů docházelo k postupnému oteplování vody na obou lokalitách. V květnu proběhlo mírné ochlazení, které též souvisí s deštivým obdobím v této době, ale jinak po celou dobu teplota vody narůstá (Obr. 12).



Obr. 12 Teplota vody naměřená na obou lokalitách.

Konduktivita naměřená na slati Zlativka je po celou dobu odběrů stálá jen s drobnými oscilacemi mezi 115-150 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Ve Zlaté stoce dochází k oscilacím mnohem větším a to mezi 140-260 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Myslím si, že je to též způsobeno upouštěním rybníků do ní a jejím napojením na ostatní kanály v Třeboňské pánvi.



Obr. 13 Konduktivita ($\mu\text{S}/\text{cm}$) naměřená na obou lokalitách.

Kromě mnou naměřených dat jsem použila i data ze stanice ČHMÚ v Třeboni. Tato data obsahuje příloha 7.1.

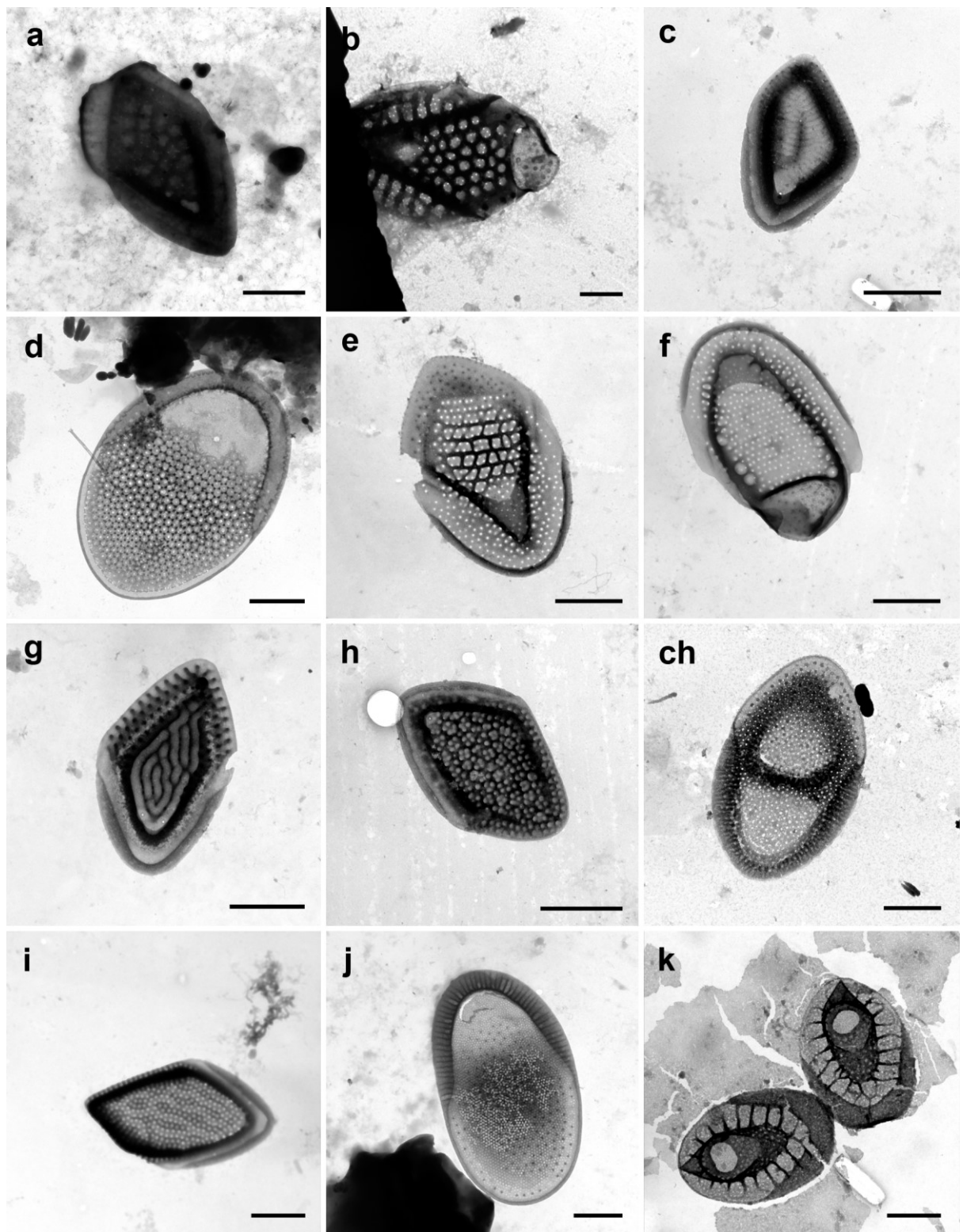
3.2 Celková diverzita společenstva křemičitých zlativek

Obě lokality studované v této práci byly na druhy rodu *Mallomonas* a *Synura* velmi bohaté. Celkově jsem na lokalitě slať Zlativka našla 46 druhů křemičitých zlativek metodou transmisií elektronové mikroskopie a 65 druhů křemičitých zlativek metodou metabarcodingu. Na lokalitě slať Zlativka jsem celkově našla 36 druhů křemičitých zlativek metodou transmisií elektronové mikroskopie a 58 druhů křemičitých zlativek metodou metabarcodingu. Více druhů vždy bylo zaznamenáno metodou metabarcodingu než metodou transmisií elektronové mikroskopie (TEM). Více druhů obou rodů bylo přítomných na lokalitě slať Zlativka než na lokalitě Zlatá stoka. Konkrétní počty nalezených druhů rodů *Mallomonas* a *Synura* nalezených metodami metabarcodingu a transmisií elektronové mikroskopie obsahuje následující tabulka (Tab. 1).

Tab. 1 Počet druhů rodů *Mallomonas* a *Synura* zaznamenaný oběma metodami (TEM a metabarcoding) na obou lokalitách (slať Zlativka a Zlatá stoka).

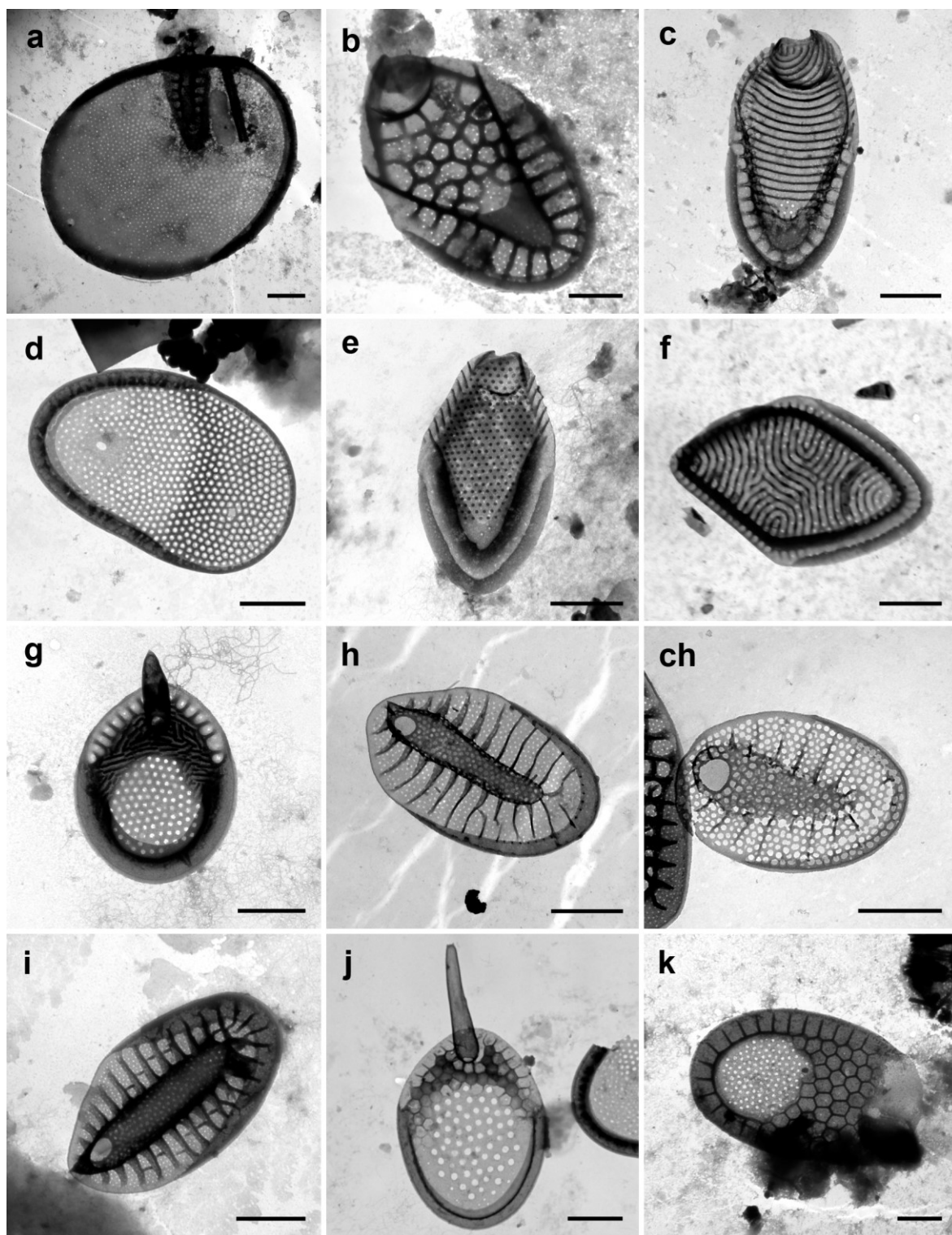
		druhy <i>Mallomonas</i>	druhy <i>Synura</i>
TEM	slať Zlativka	38	8
	Zlatá stoka	30	6
Metabarcoding	slať Zlativka	48	17
	Zlatá stoka	42	16

Některé druhy nalezené v průběhu této práce byly v České republice nalezeny poprvé. Jedná se o následující druhy: *M. crassisquama* var. *papillosa*, *M. divida*, *M. mangofera* var. *reticulata*, *M. peronoides* a *S. bjoerkii*. Některé z těchto druhů jsou vzácné i v celé Evropě. Další v Evropě vzácné druhy nalezené během této práce jsou: *M. alata* var. *hualvensis*, *M. conspersa*, *M. corymbosa*, *M. hexareticulata*, *M. koreana*, *M. labyrinthina*, *M. palaestrica*, *M. prora*, *M. pumilio* var. *dispersa* a *M. tolerans*. Některé z těchto druhů byly zaznamenány metodou metabarcodingu, jiné metodou transmisií elektronové mikroskopie (TEM) a jiné oběma těmito metodami. Křemičité šupiny druhů vzácných v Evropě a prvně zaznamenaných v ČR obsahuje následující tabule (Obr. 14).



Obr. 14 Tabule Vzácné druhy v Evropě a poprvé nalezené v České republice. a – *M. alata* var. *hualvensis*; b – *M. crassisquama* var. *papillosa*; c - *M. divida*; d - *M. hexareticulata*; e, f – dvě formy křemičitých šupin *M. koreana*; g - *M. labyrinthina*; h - *M. palaestrica*; ch- *M. peronoides*; i - *M. prora*; j - *M. tolerans*; k - *S. bjoerkii*. Měřitko 1 μ m. Fotky pochází z archivu autorky.

Na následující tabuli (Obr. 15) se nacházejí druhy, které jsou hojné v ČR i v Evropě. Tyto druhy jsou následně zmiňovány při výsledcích některých analýz.

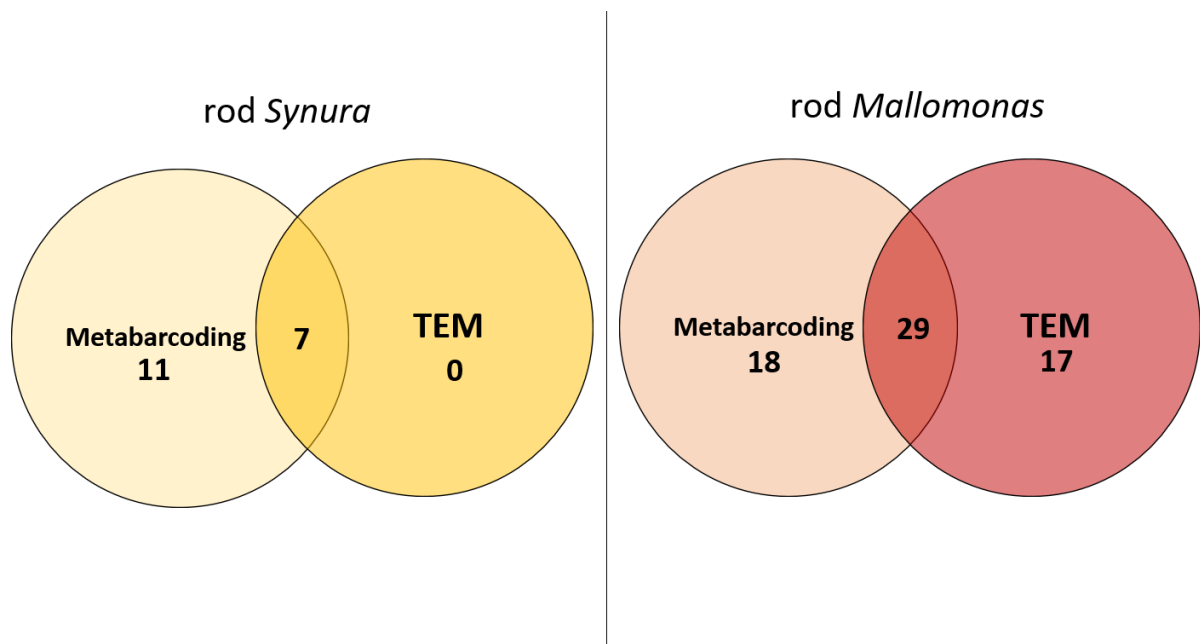


Obr. 15 Tabule druhů hojných v Evropě i v ČR. a – *M. caudata*; b – *M. crassisquama*; c – *M. flora*; d – *M. matvienkoeae*; e – *M. papillosa*; f – *M. schwemmlei*; g - *S. echinulata*; h – *S. glabra*; ch – *S. macropora*; i – *S. petersenii*; j- *S. spinosa/curtispina*; k – *S. uvella*. Měřítko 1 μ m. Fotky pochází z archivu autorky.

3.2.1 Porovnání metod pro popis společenstva druhů rodu *Mallomonas* a *Synura*

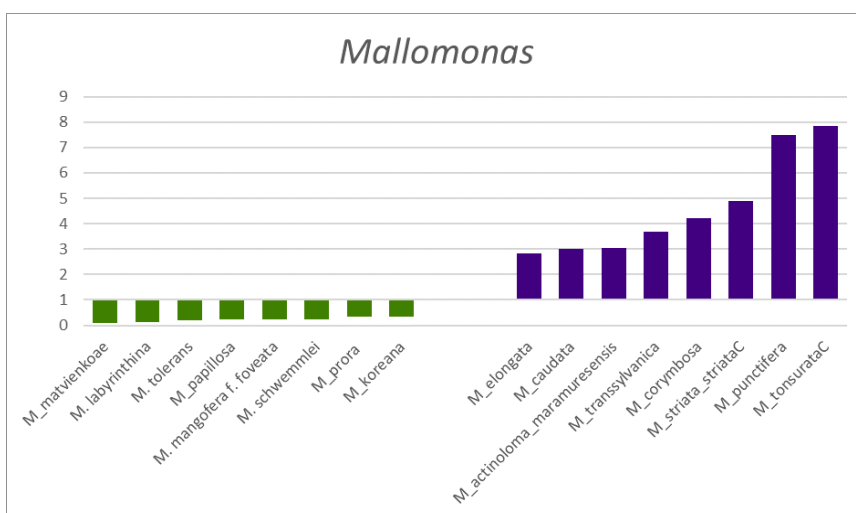
Celkem bylo nalezeno 18 druhů rodu *Synura* a všechny druhy, které byly nalezeny morfologicky na transmisním elektronovém mikroskopu byly zde nalezeny i molekulárně (Obr. 16). Molekulární metodou metabarcodingu bylo nalezeno dalších 10 druhů, jejichž šupiny nebyly nalezeny morfologicky. Oběma metodami jsem našla tyto druhy: *S. bjoerkii*, *S. echinulata*, *S. glabra*, *S. spinosa*, *S. curtispina*, *S. heteropora*, *S. macropora*, *S. petersenii* a *S. uvella*. Čtyři z těchto druhů - *S. echinulata*, *S. glabra*, *S. spinosa/curtispina* (morfologicky sloučené do jedné kategorie pro svoji nerozlišitelnost) a *S. petersenii* byly na síťkách z transmisní elektronové mikroskopie přítomny hojně a po celou dobu probíhajících odběrů. Jen metodou metabarcodingu byly nalezeny tyto druhy: *S. truttae*, *S. sphagnicola*, *S. rubra*, *S. americana*, *S. conopea*, *S. clade10* a 2 nové druhy, které nemáme v naší databázi.

U rodu *Mallomonas* bylo celkově nalezeno 64 druhů (Obr. 16). 18 druhů bylo nalezeno pouze molekulárně metodou metabarcodingu. Podobné množství druhů (17 druhů) bylo nalezeno pouze morfologicky na transmisní elektronové mikroskopii. Nejvíce druhů (29 druhů) bylo nalezeno oběma metodami. Druhy, které byly nalezeny oběma metodami jsou: *M. acaroides*, *M. actinoloma* var. *maramuresensis*, *M. akrokomos*, *M. alata* f. *hualvensis*, *M. annulata*, *M. areolata*, *M. calceolus*, *M. caudata*, *M. crassisquama*, *M. cristata*, *M. divida*, *M. doignonii*, *M. elongata*, *M. flora*, *M. heterospina*, *M. insignis*, *M. koreana*, *M. mangofera* var. *mangofera*, *M. matvienkoae*, *M. ouradion*, *M. oviformis*, *M. palaestrica*, *M. papillosa*, *M. parvula*, *M. pillula* f. *exannulata*, *M. prora*, *M. pumilio* var. *pumilio*, *M. punctifera*, *M. striata*, *M. tonsurata*. Druhy, které byly nalezeny pouze molekulárně jsou: *M. cf. tirolensis*, *M. corymbosa*, *M. costata*, *M. cratis*, *M. intermedia*, *M. lelymene*, *M. multiunca*, *M. pillula* f. *valdiviana*, *M. portae-ferreae*, *M. pumilio* var. *dispersa*, *M. transsylvanica*. Některé druhy, ačkoliv byly v morfologickém záznamu hojně a jejich sekvenci v databázi máme molekulárně zaznamenány nebyly. Jde o druhy *M. tolerans* a *M. schwemmleri*. Od druhu *M. labyrinthina* nemáme sekvenci v databázi a zároveň se mi nepodařilo ji podle fylogenetického stromu přiřadit. Dalšími druhy rodu *Mallomonas*, které byly nalezeny jen morfologicky a jsou rozlišitelné, jsou: *M. cf. alata*, *M. cf. acaroides*, *M. cf. crocodilorum*, *M. cf. serrata*, *M. conspersa*, *M. crassisquama* var. *papillosa*, *M. hexareticulata*, varianty *M. mangofera*, *M. pillula* f. *pillula* a *M. teilingii* (viz příloha 7.5).

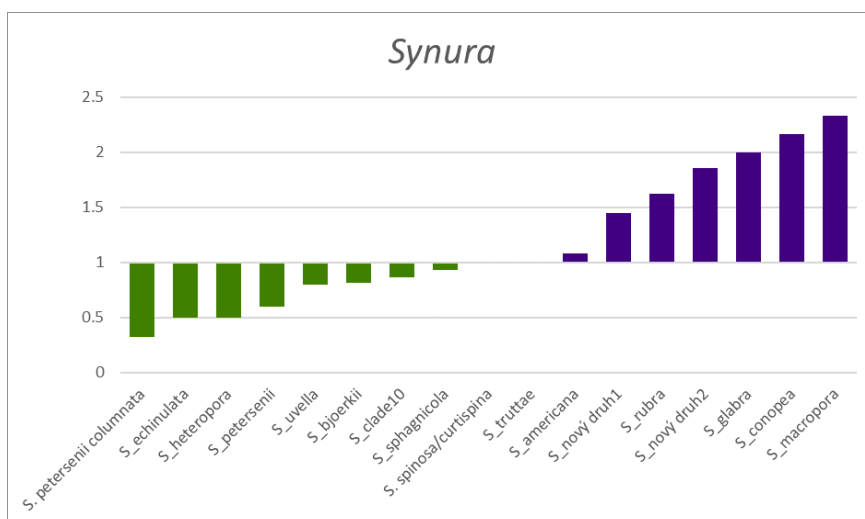


Obr. 16 Věnnův diagram znázorňující počet druhů rodů *Synura* a *Mallomonas* nalezených metodou metabarcodingu a transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

Jestli některé druhy rodů *Mallomonas* a *Synura* jsou zachyceny více jednou nebo druhou metodou je znázorněno na následujících grafech (Obr. 17 Obr. 18). Tyto grafy znázorňují poměry mezi pořadím abundancí jednotlivých druhů při zjištění jednotlivými metodami. Zeleně vyznačené druhy byly hojnější v trasmisních datech (poměr pořadí byl nižší než 1) a fialově vyznačené druhy byly hojnější v metabarcodingových datech (poměr pořadí byl vyšší než 1). Žádné druhy rodu *Mallomonas* výrazně nedominovaly v TEM datech. Naproti tomu v metabarcodingových datech je zde výrazná dominance *M. punctifera* a kryptické linie *M. tonsurata*C. U druhů rodu *Synura* nalezneme i druhy, které dominují v TEM datech (*S. petersenii* var. *columnata*, *S. echinulata* a *S. heteropora*). V metabarcodingových datech jsou hojné *S. macropora*, *S. conopea* a *S. glabra*.



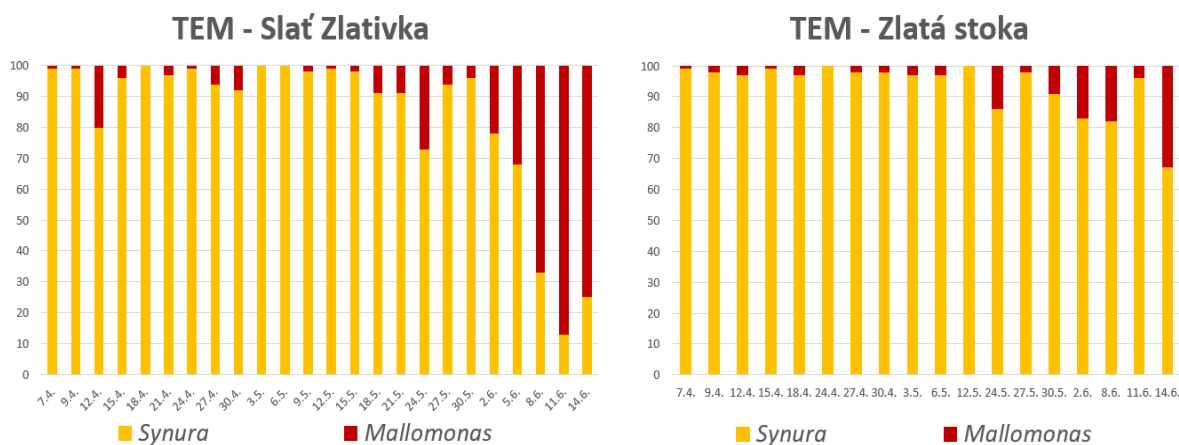
Obr. 17 Poměr pořadí druhů rodu *Mallomonas* TEM/Metabarcoding. Zeleně vyznačené druhy jsou hojnější v TEM datech, fialově vyznačené jsou hojnější v metabarcodingových datech.



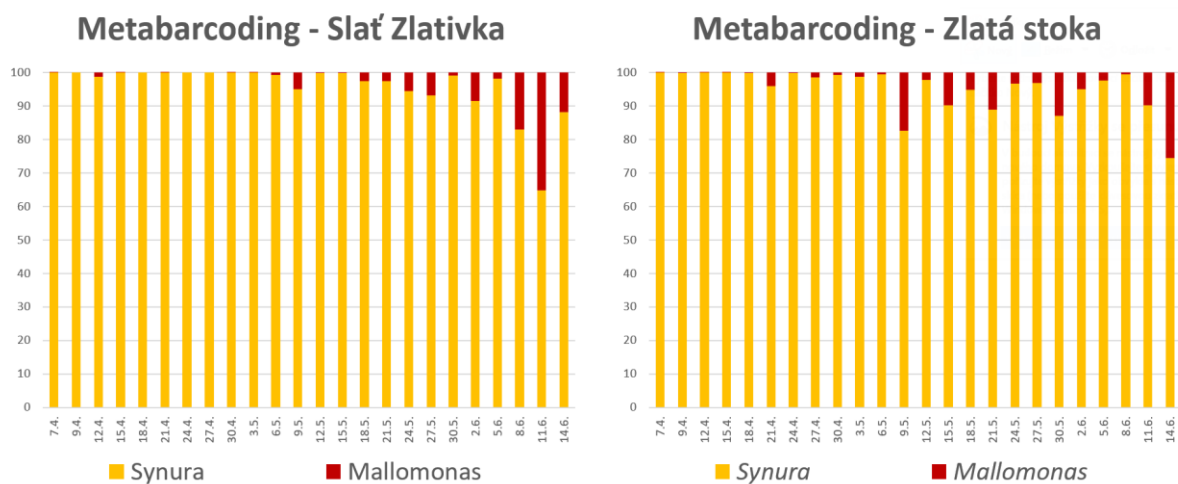
Obr. 18 Poměr pořadí druhů rodu *Synura* TEM/Metabarcoding. Zeleně vyznačené druhy jsou hojnější v TEM datech, fialově vyznačené jsou hojnější v metabarcodingových datech.

3.2.2 Procentuální porovnání rodů *Mallomonas* a *Synura* na obou lokalitách

Následující obrázky (Obr. 19 a Obr. 20) znázorňují změny procentuálního zastoupení mezi rody *Mallomonas* a *Synura* na obou lokalitách (Slat' Zlativka a Zlatá stoka). Data na Obr. 19 byla získána počítáním šupin na transmisním elektronovém mikroskopu a na Obr. 20 metodou metabarcodingu. Na obou lokalitách během sezóny dominuje rod *Synura*. Během sezóny narůstá podíl rodu *Mallomonas*. Obě použité metody (TEM a metabarcoding) došly k podobným výsledkům ačkoliv konkrétní čísla se mírně liší.



Obr. 19 Procentuální zastoupení rodů *Mallomonas* a *Synura* získané metodou transmisní elektronové mikroskopie na obou lokalitách (Slat' Zlativka a Zlatá stoka).

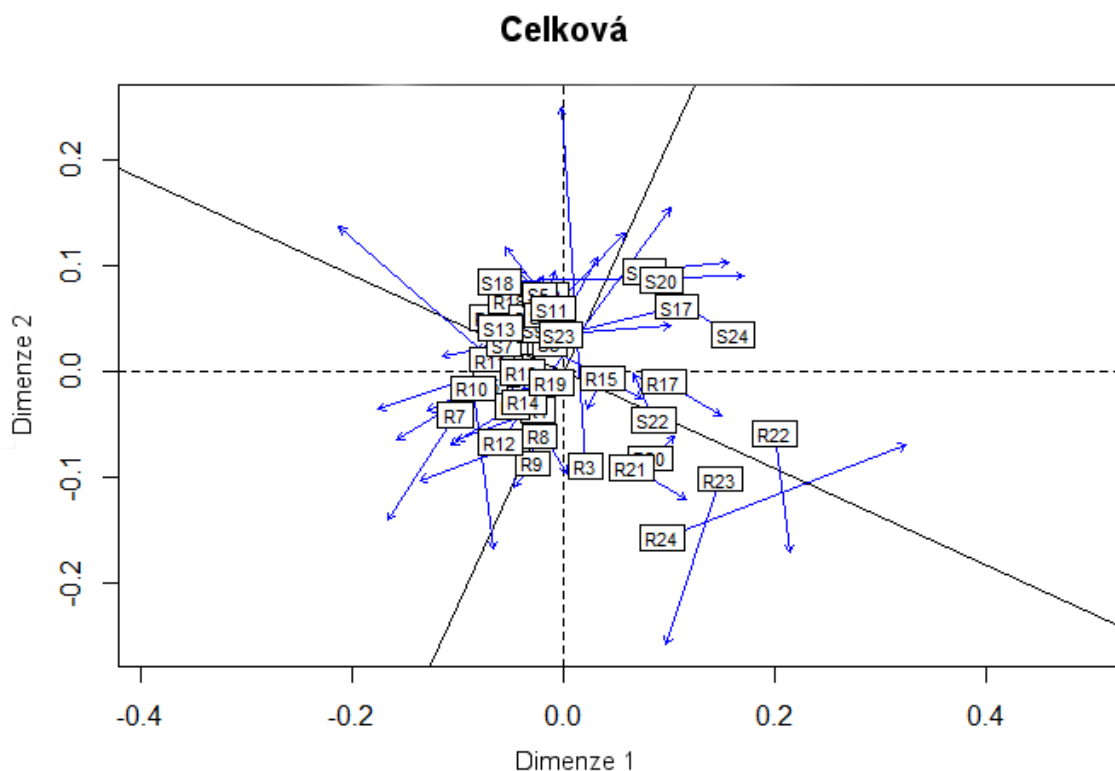


Obr. 20 Procentuální zastoupení rodů *Mallomonas* a *Synura* získané metodou metabarcodingu na obou lokalitách (Slat' Zlativka a Zlatá stoka).

3.3 Porovnání metod pro analýzu společenstva křemičitých zlativek

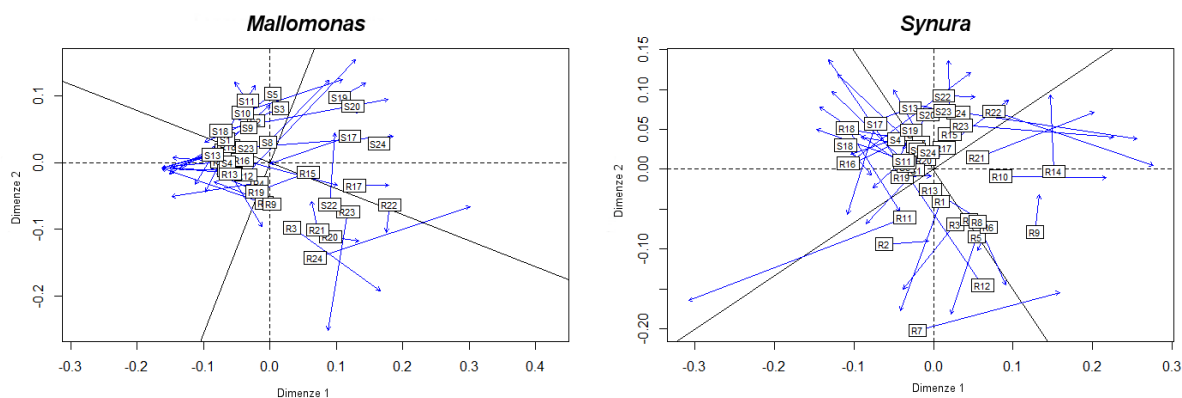
3.3.1 Porovnání metod analýzy společenstev

Metodou Procrustovy analýzy jsem porovnávala, jak si odpovídá celkově společenstvo druhů křemičitých zlativek (druhy rodů *Mallomonas* a *Synura*) zjištěné na obou lokalitách oběma metodami (TEM a metabarcoding). Výsledky této analýzy ukázaly, že datasety jsou si signifikantně podobné ($p=0,001$). Obě metody nám o složení společenstva říkají podobnou informaci.



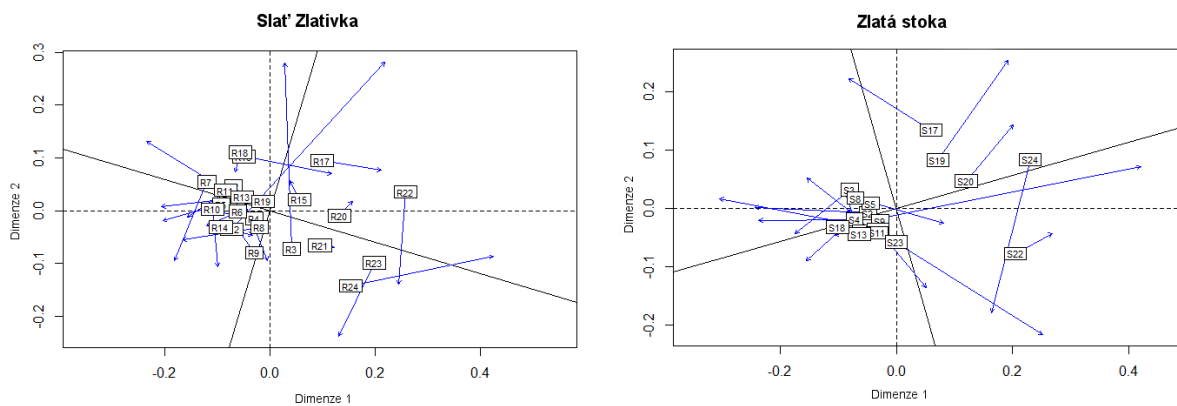
Obr. 21 Procrustes analýza porovnání TEM vs. metabarcoding celkově.

Procrustes analýzy pro druhy rodu *Synura* a druhy rodu *Mallomonas* vyšly následovně. Diverzita společenstva rodu *Mallomonas* korelovala více (0,627) než diverzita společenstva rodu *Synura* (0,548). Obě tyto analýzy vyšly signifikantně ($p=0,001$).



Obr. 22 Procrustes analýza pro jednotlivé rody. Rod *Mallomonas* vlevo a rod *Synura* vpravo.

Procrustes analýzy pro jednotlivé lokality vyšly následovně. Na lokalitě slat' Zlativka korelovaly výsledky transmisní elektronové mikroskopie a metabarcodingu více (0,586) než na lokalitě Zlatá stoka (0,465). Na lokalitě slat' Zlativka vyšly výsledky signifikantně ($p=0,001$) a na lokalitě Zlatá stoka výsledky vyšly méně signifikantní ($p=0,033$).



Obr. 23 Procrustes analýza pro jednotlivé lokality. Slat' Zlativka vlevo a Zlatá stoka vpravo.

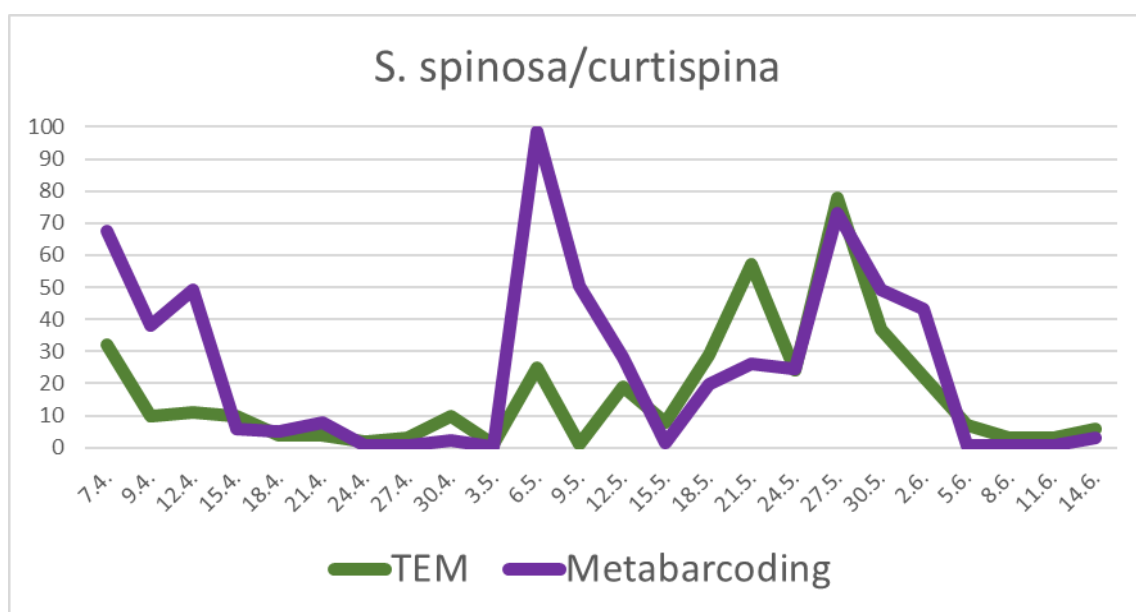
Obě metody nám tudíž o složení společenstva dávají podobnou informaci. Přičemž u společenstva rodu *Mallomonas* si výsledky odpovídají lépe než u rodu *Synura*. Informace o složení společenstva lépe sedí na lokalitě slat' Zlativka než na lokalitě Zlatá stoka.

3.3.2 Průběh dynamiky čtyř druhů rodu *Synura* zaznamenaný oběma metodami

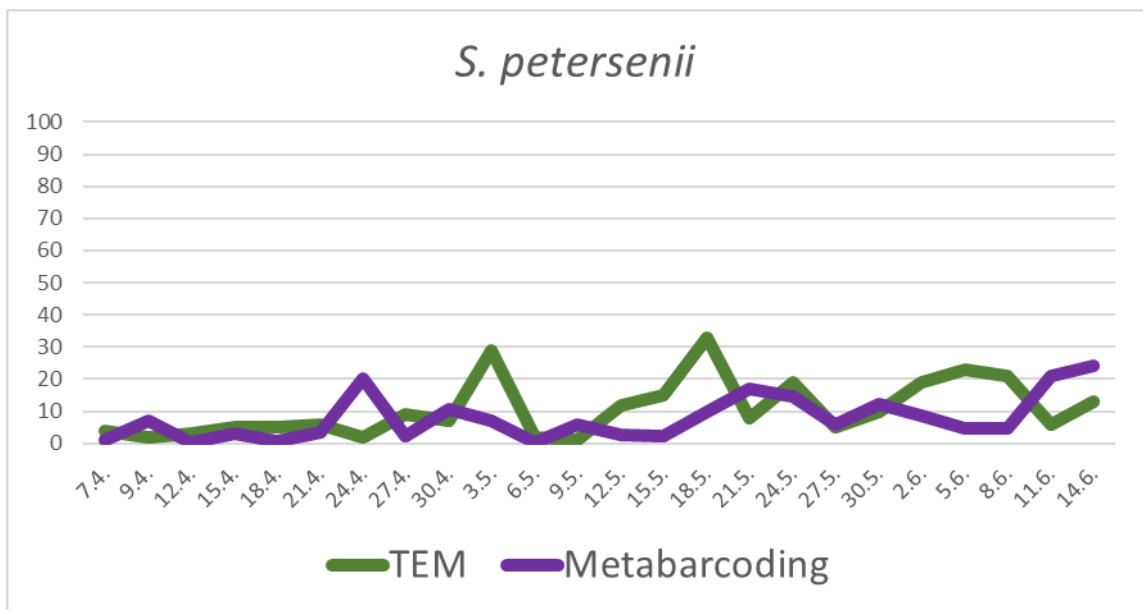
Následující čtyři grafy (Obr. 24, Obr. 25, Obr. 26 a Obr. 27) ukazují průběh dynamiky čtyř nejhojnějších druhů rodu *Synura* (*S. echinulata*, *S. glabra*, *S. spinosa/curtispina* a *S. petersenii*) na lokalitě slat' Zlativka zaznamenaný oběma metodami.

U grafů rodů *S. spinosa/curtispina*, *S. glabra* a *S. echinulata* si píky zjištěné oběma metodami většinou odpovídají. U *S. petersenii* tomu tak není.

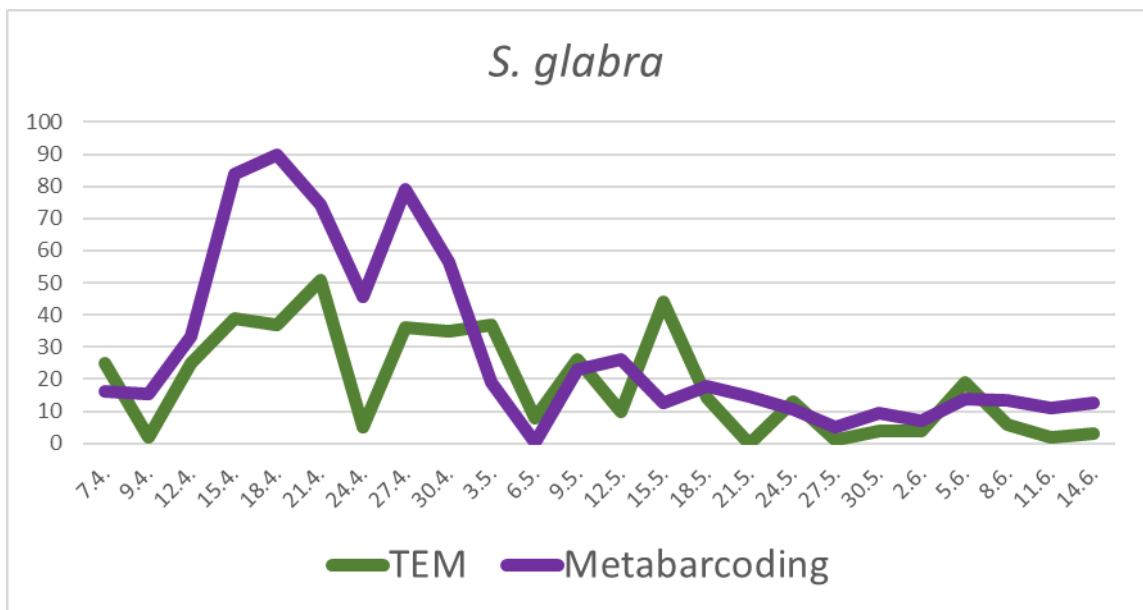
U *S. spinosa/curtispina*, *S. petersenii* a *S. glabra* se křivky TEM a metabarcodingu protínají a střídají v různých dnech. Kdežto u *S. echinulata* převažuje po celou dobu TEM přímka nad metabarcodingovou.



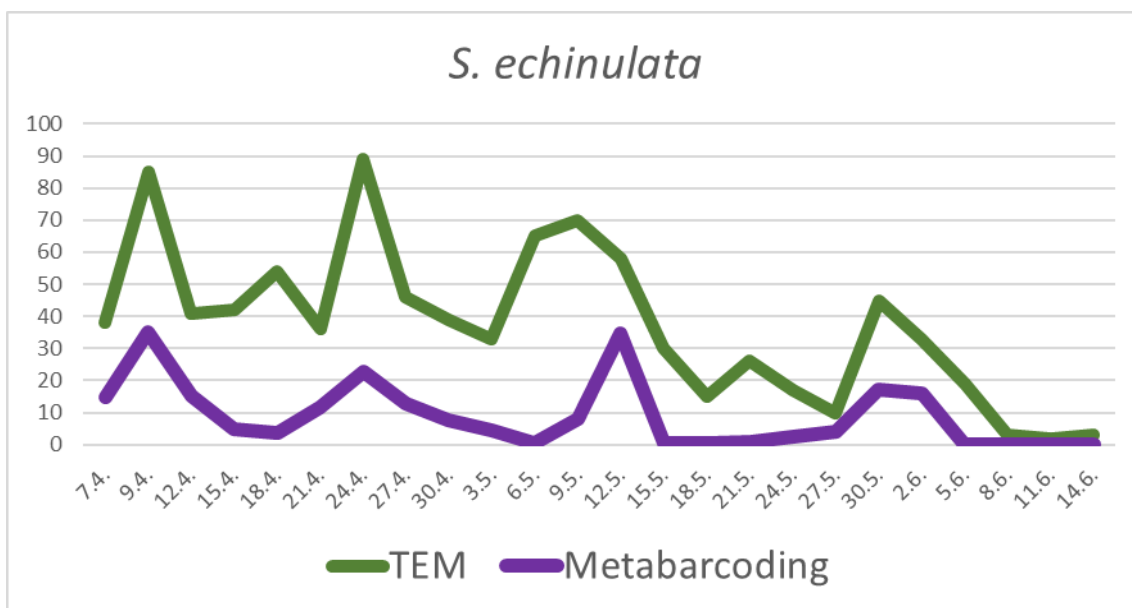
Obr. 24 Relativní abundance zaznamenané během sezóny oběma metodami u *S. spinosa/curtispina*.



Obr. 25 Relativní abundance zaznamenané během sezóny oběma metodami u *S. petersenii*.

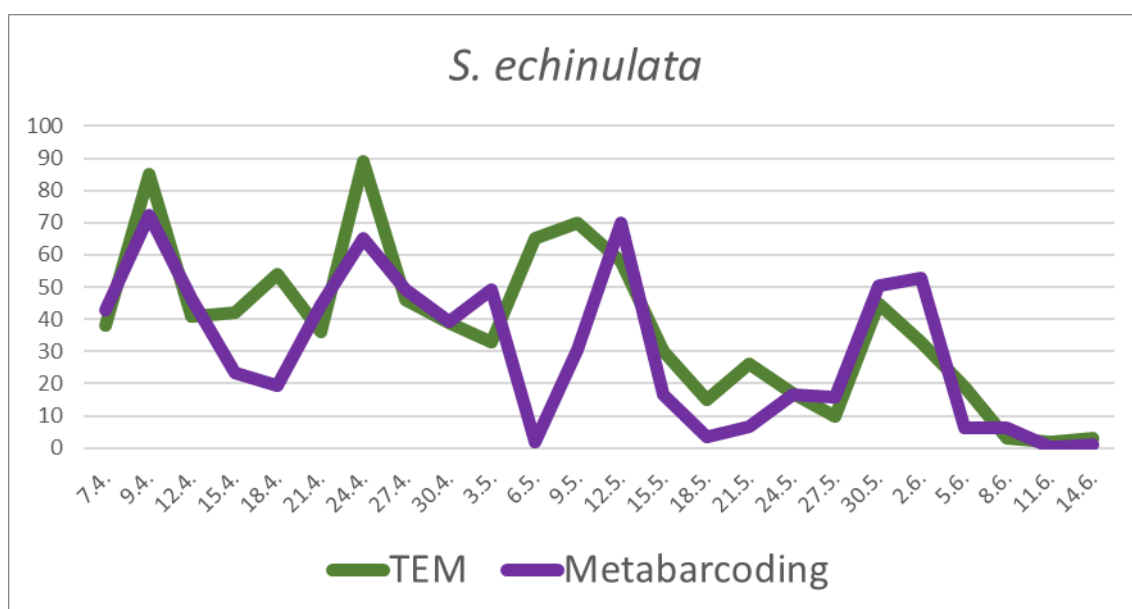


Obr. 26 Relativní abundance zaznamenané během sezóny oběma metodami u *S. glabra*.



Obr. 27 Relativní abundance zaznamenané během sezóny oběma metodami u *S. echinulata*.

S. echinulata má ale oproti všem ostatním mnohem menší genom, tj. 0,31 pg (*S. glabra* 1,97 pg, *S. curtispina* 0,81 pg a *S. spinosa* 1,23 pg; data poskytlá Dora Čertnerová). Po vydělení počtu sekvencí velikostí genomu a následném převedení na relativní abundance se u všech druhů křivky TEM a metabarcodingu k sobě přiblížily a u *S. echinulata* se též protly (Obr. 28).



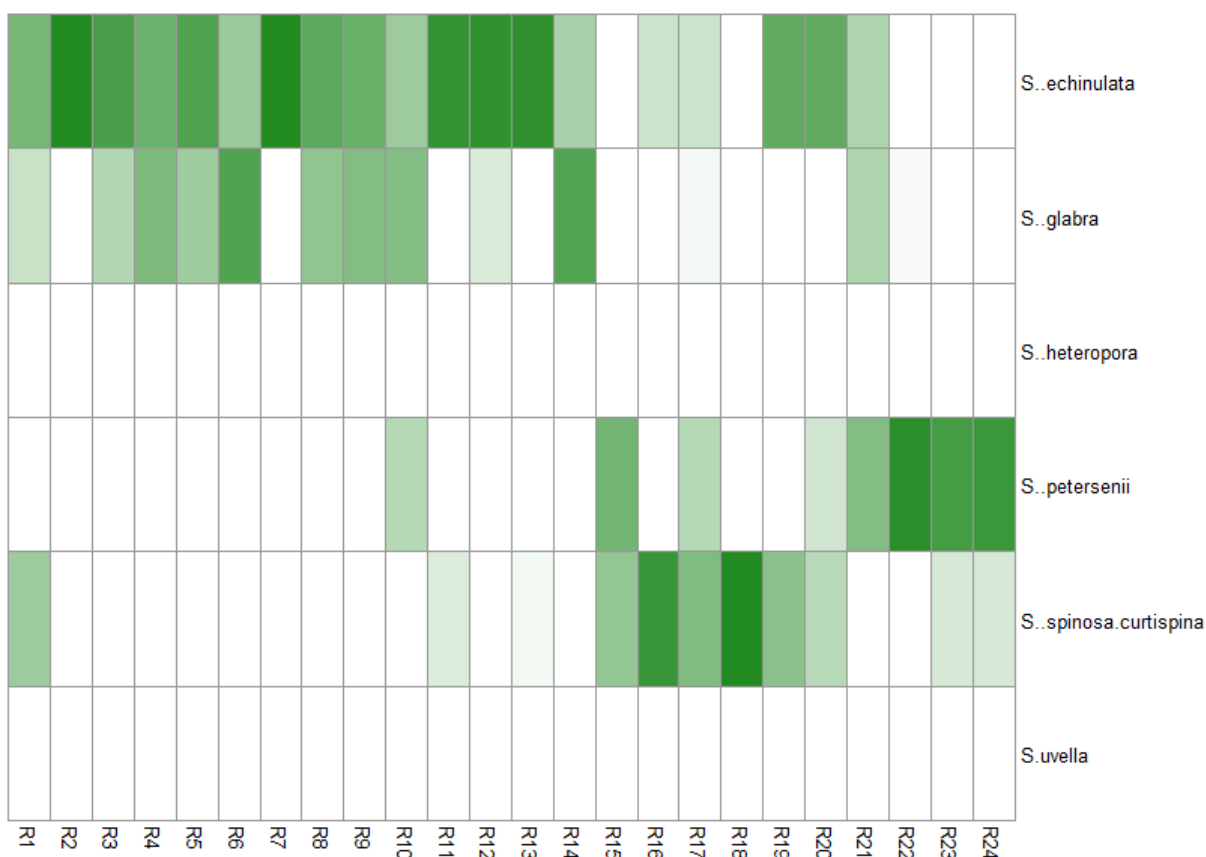
Obr. 28 Relativní abundance zaznamenané během sezóny oběma metodami u *S. echinulata* upravené velikostí genomu.

3.4 Změny v abundancích jednotlivých druhů rodů *Mallomonas* a *Synura*

Následující grafy, které ukazují změny jednotlivých druhů rodů *Mallomonas* a *Synura*, jsou rozděleny do podkapitol na základě rodů a v nich následně podle lokalit.

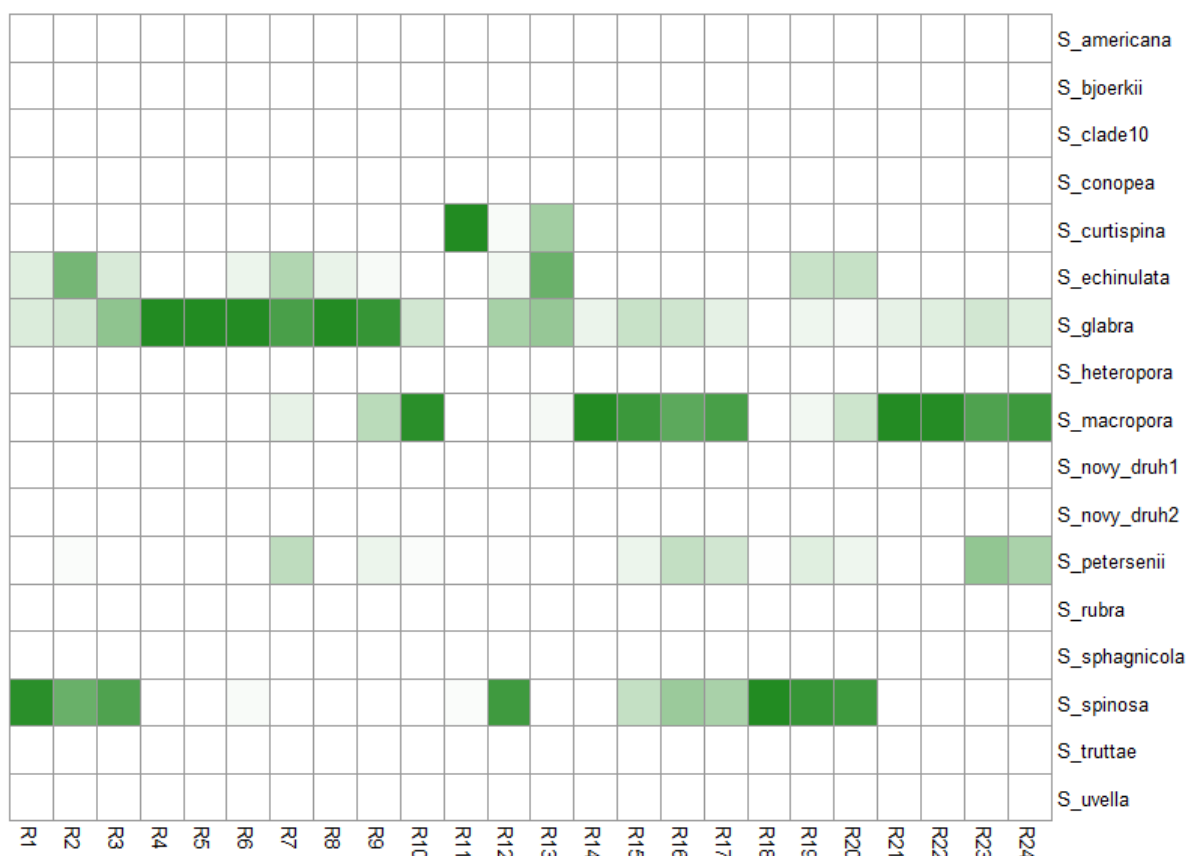
3.4.1 Změny v abundancích druhů rodu *Synura*

Metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM) jsem na slati Zlativka detekovala celkem 8 jednotlivých druhů rodu *Synura*. Dva z nich (*S. macropora* a *S. petersenii* var. *columnata*) byly však zaznamenány jen při semikvantitativním studiu společenstva a při náhodném počítání 100 šupin, ze kterého vychází následující TEM grafy se do dat nedostaly. Z grafu (Obr. 29) je patrné, že *S. echinulata* a *S. glabra* dominují spíše na začátku sezóny. Naproti tomu *S. spinosa/curtispina* a *S. petersenii* se na začátku sezóny vyskytují zřídka a nejvíce se vyskytují až ke konci sezóny. *S. spinosa/curtispina* jsou dva sloučené druhy do jednoho kvůli špatnému rozlišení jejich šupin od sebe pod transmisním elektronovým mikroskopem. *S. heteropora* a *S. uvella* se vyskytovaly jen velmi málo, proto není jejich výskyt na grafu patrný.



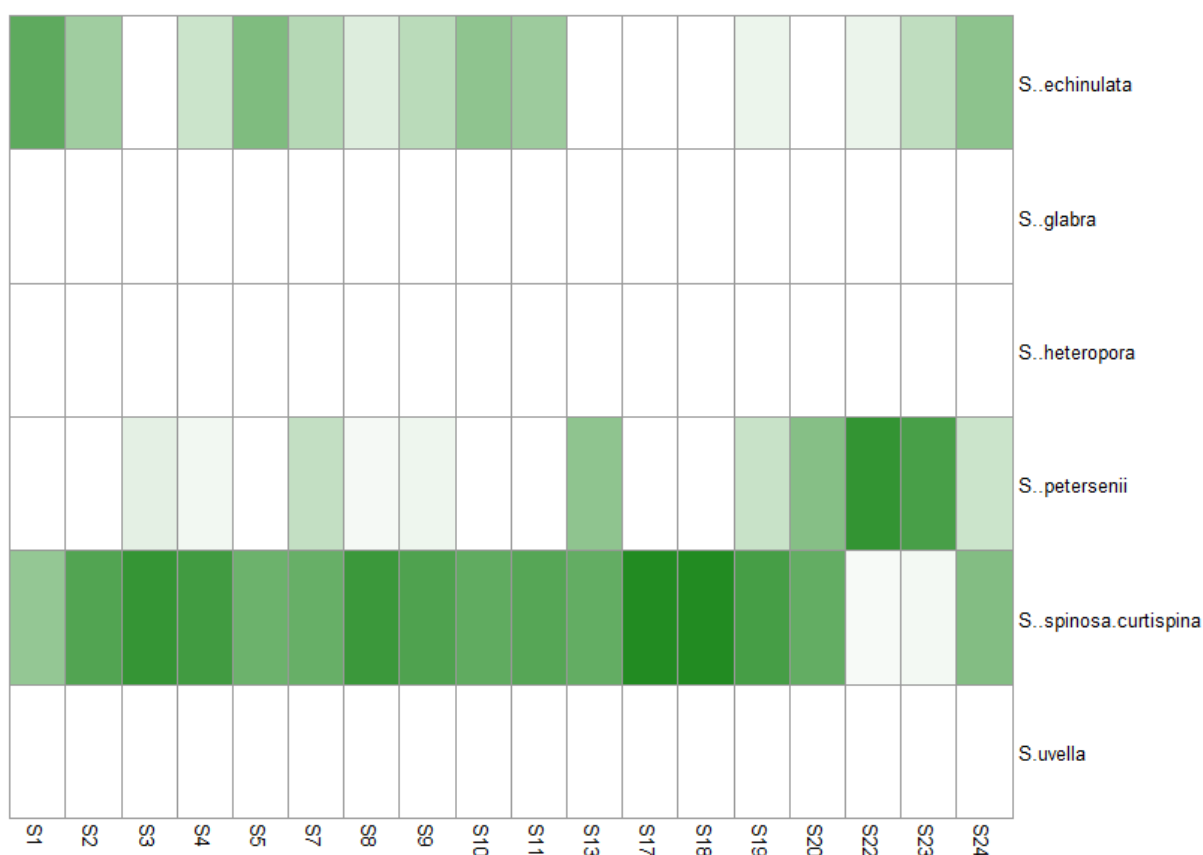
Obr. 29 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Synura* na lokalitě slat' Zlativka získané metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

Metodou metabarcodingu jsem na slati Zlativka detekovala 17 jednotlivých druhů rodu *Synura* (Obr. 30). Oproti výsledkům získaných metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM) je zde druhů rodu *Synura* více. *S. echinulata* a *S. glabra* stále dominují na začátku sezóny. *S. echinulata* však méně výrazně, než tomu bylo v případě použití TEM metody. *S. spinosa* má jeden dominantní pík na začátku sezóny a druhý ke konci. V období, kdy je jí méně se objevuje *S. curtispina* s jedním velkým píkem v prostředku celé sezóny. *S. petersenii* se též jako v případě použití TEM metody vyskytuje více na konci sezóny. *S. macropora* má tři větší píky svého výskytu. Mezi těmito píky dominují jiné druhy rodu *Synura* (*S. curtispina* a *S. spinosa*). Druhy rodu *Synura*, které byly nalezeny jen zřídka a v malém počtu a na grafu se tudíž barevně neprojevíly jsou: *S. americana*, *S. bjoerkii*, *S. clade10*, *S. conopea*, *S. heteropora*, 2 nové druhy, *S. rubra*, *S. sphagnicola*, *S. truttae* a *S. uvella*.



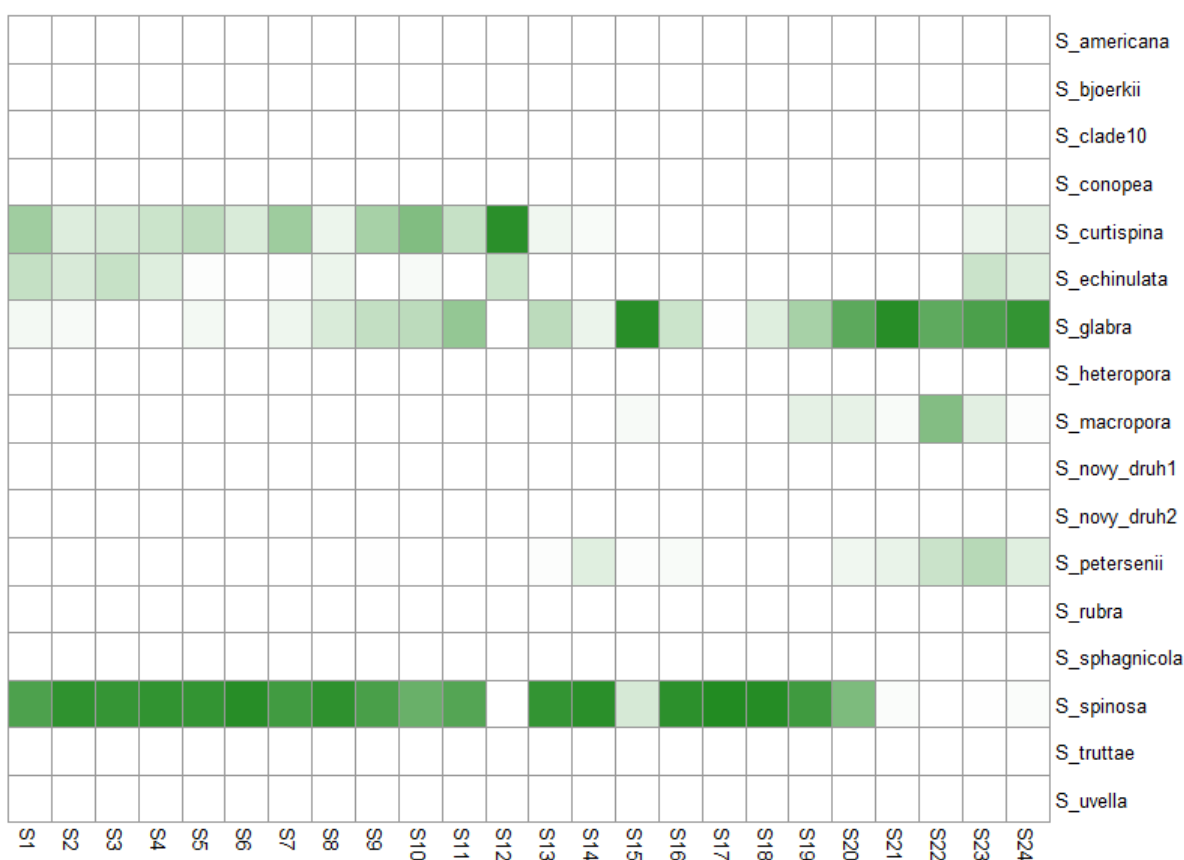
Obr. 30 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Synura* na lokalitě slat' Zlativka získané metodou metabarcodingu.

Metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM) jsem na lokalitě Zlatá stoka detekovala celkem 6 jednotlivých druhů rodu *Synura* (Obr. 31). Celou sezónu dominuje *Synura spinosa/curtispina*. *S. echinulata* se též vyskytuje v hojném počtu téměř po celou sezónu. Oproti tomu *S. petersenii* je dominantní až ke konci sezóny. *S. glabra* a *S. uvella* se vyskytovaly jen velmi málo, proto není jejich výskyt na grafu patrný. *S. heteropora* se ve Zlaté stoce vůbec. Druhem, který není na grafu, jelikož byl přítomný jen ve 2 šupinách je *S. bjoerkii*. Zároveň tyto 2 šupiny byly přítomné v odběru S12, který byl z analýz vyloučen pro celkové velmi nízký počet šupin.



Obr. 31 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Synura* na lokalitě Zlatá stoka získané metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

Metodou metabarcodingu jsem na lokalitě Zlatá stoka detekovala 16 jednotlivých druhů rodu *Synura* (Obr. 32). Po celou dobu je velmi hojná *S. spinosa*. Na začátku sezóny je hojná *S. curtispina*, ale v druhé půlce již téměř nevyskytuje. *S. echinulata* má podobný výskyt, ale v menších abundancích. Postupně během sezóny narůstá podíl *S. glabra*. Tento druh má svůj největší pík na konci sezóny. *S. macropora* a *S. petersenii* se vyskytují ve větším množství jen na konci sezóny. Druhy rodu *Synura*, které byly nalezeny jen zřídka a v malém počtu a na grafu se tudíž barevně neprojevíly jsou: *S. americana*, *S. bjoerkii*, *S. clade10*, *S. conopea*, *S. heteropora*, 2 nové druhy, *S. rubra*, *S. truttae* a *S. uvella*. *S. sphagnicola* není v datech přítomná.

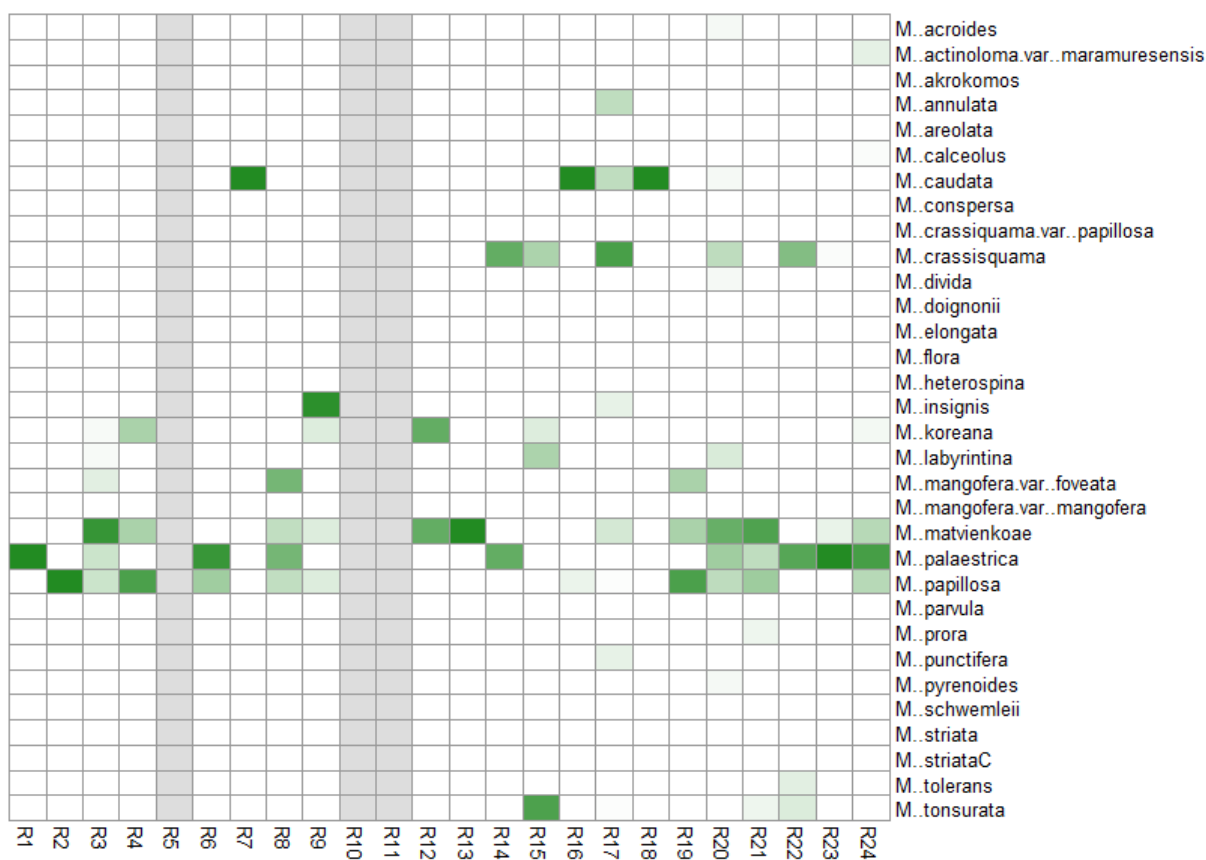


Obr. 32 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Synura* na lokalitě Zlatá stoka získané metodou metabarcodingu.

3.4.2 Změny v abundancích druhů rodu *Mallomonas*

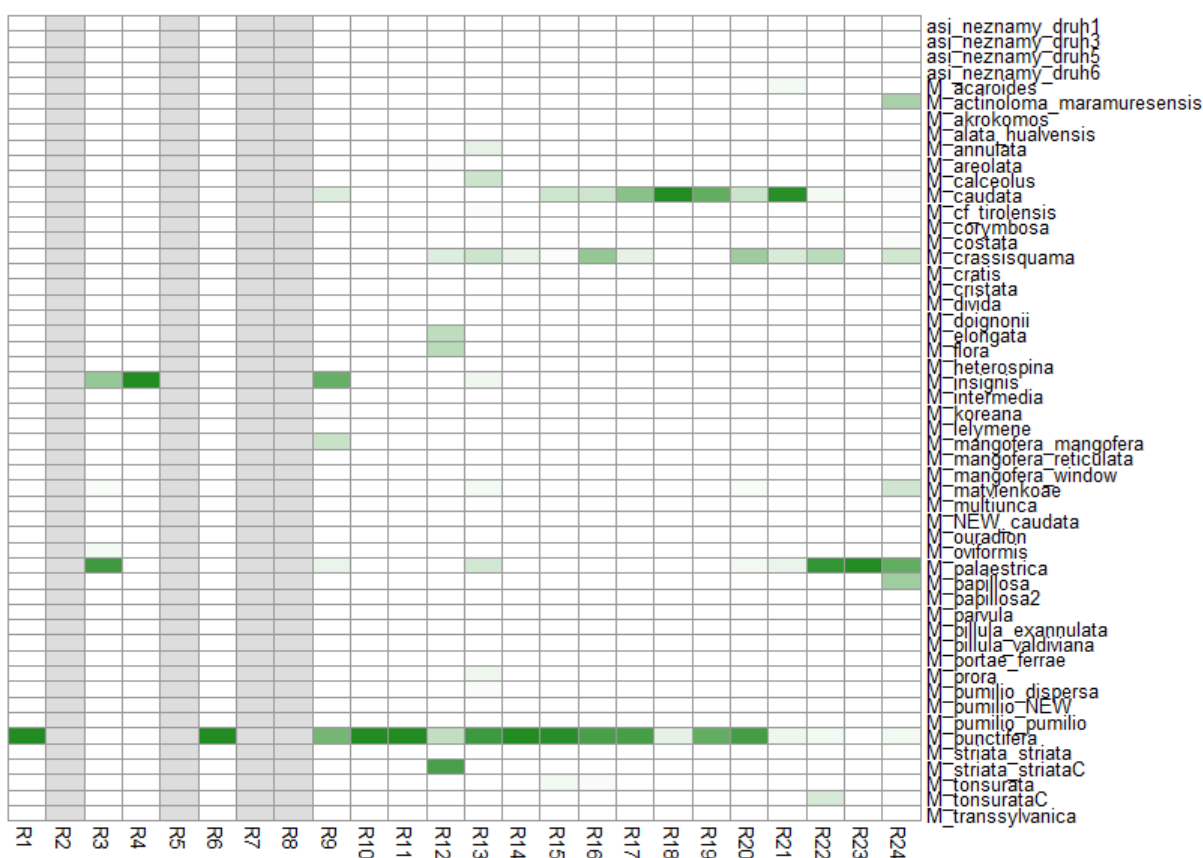
U rodu *Mallomonas* se vyskytují dny i zcela bez šupin či sekvencí tohoto rodu. Tyto sloupce jsou v následujících grafech vyznačeny šedou barvou.

Metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM) jsem na lokalitě slat' Zlativka detekovala celkem 38 jednotlivých druhů rodu *Mallomonas*. Jen 24 z nich bylo však zaznamenáno při počítání náhodných 100 šupin (Obr. 33). Nejhojněji zastoupené a často se vyskytující druhy rodu *Mallomonas* jsou *M. matvienkoeae*, *M. palaestrica* a *M. papillosa*. Dva větší píky tvoří *M. caudata*. V druhé půlce sezóny je přítomný druh *M. crassisquama* ve větším množství. *M. insignis* a *M. tonsurata* mají jeden velký pik a o pár odběrů později jej následuje jeden menší. Druhy *M. koreana* a *M. mangofera* var. *foveata* se vyskytují relativně často v menším množství. *M. labyrinthina* se vyskytovala relativně často, ale jen v malém množství. *M. acaroides*, *M. actinoloma* var. *maramuresensis*, *M. annulata*, *M. prora*, *M. punctifera* a *M. tolerans* byly vždy v jednom z odběrů během sezóny trochu početnější. Ostatní druhy byly nalezeny jen zřídka či v malé abundanci a na grafu tudíž nejsou patrné.



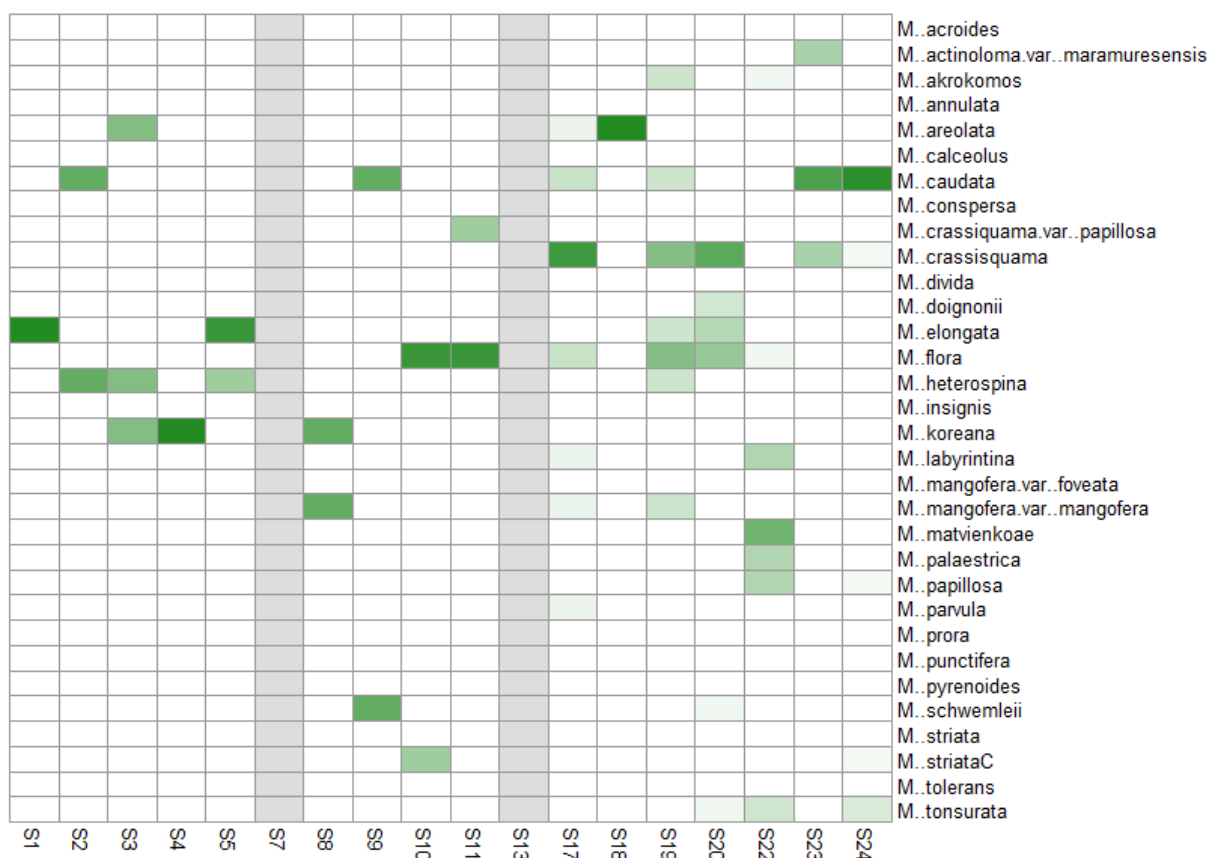
Obr. 33 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* na lokalitě slat' Zlativka získané metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

Metodou metabarcodingu jsem na lokalitě slat' Zlativka detekovala 48 jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* (Obr. 34). Nejhojnější a po nejdelší úsek sezóny přítomný je druh *M. punctifera*. Po relativně velkou část sezóny je v hojně míře přítomný druh *M. caudata*. *M. crassisquama* je též přítomný po delší část sezóny, ale v menším počtu. *M. palaestrica* tvoří jeden pík na začátku a druhý na konci sezóny. Naproti tomu *M. insignis* má jeden výrazný pík na začátku a druhý v půlce sezóny. *M. actinoloma* var. *maramuresensis*, *M. annulata*, *M. calceolus*, *M. mangofera* var. *mangofera*, *M. matvienkoae*, *M. papillosa*, *M. prora*, *M. striata* a *M. tonsurata* C tvoří jeden menší pík v průběhu či na konci sezóny. Ostatní druhy byly nalezeny jen zřídka či v malé abundanci a na grafu tudíž nejsou patrné.



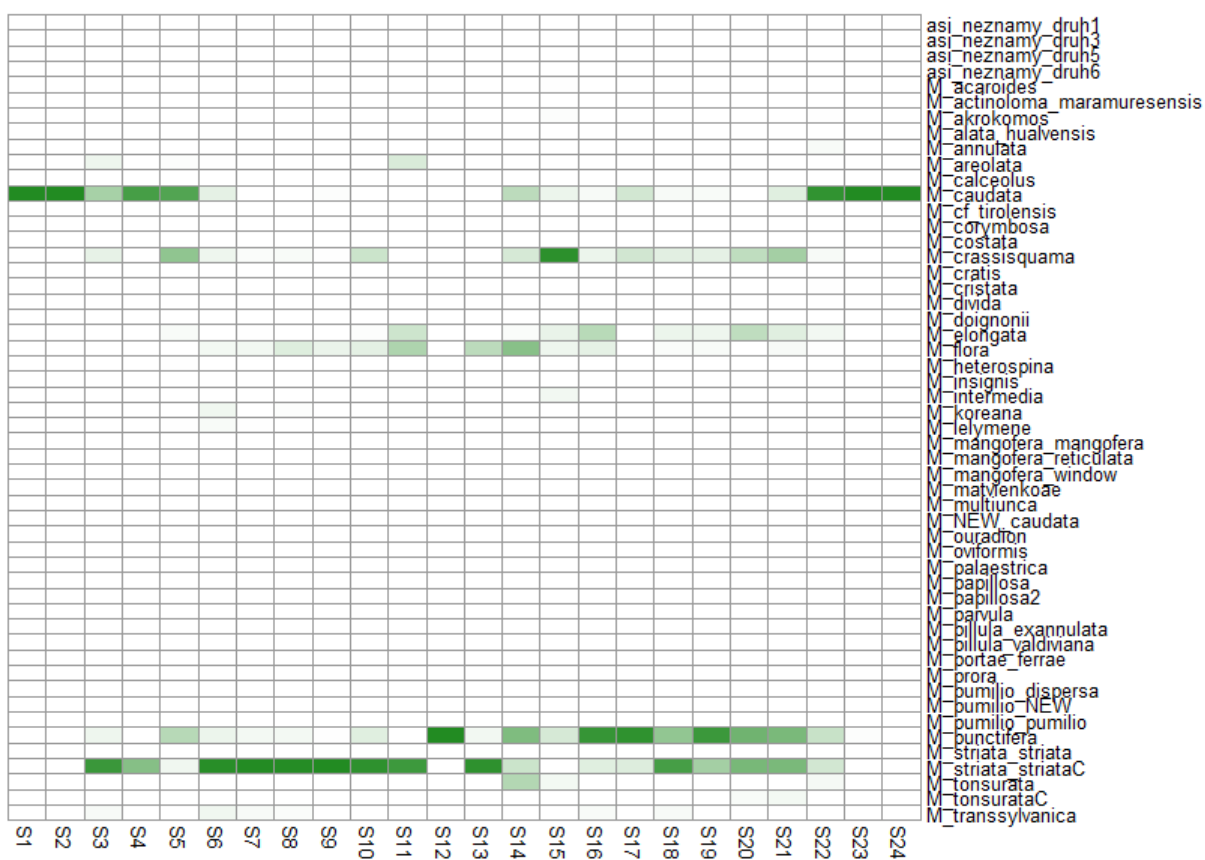
Obr. 34 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* na lokalitě slat' Zlativka získané metodou metabarcodingu.

Metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM) jsem na lokalitě Zlatá stoka detekovala celkem 30 jednotlivých druhů rodu *Mallomonas*. Jen 21 z nich bylo však zaznamenáno při počítání náhodných 100 šupin (Obr. 35). Některé odběry v tomto grafu zcela chybí, protože nebylo možné se dopočítat 100 šupin z jednoho odběru. Výskyty jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* jsou v tomto případě dosti náhodné. Hodně z nich je dominantní v různou dobu během celé sezóny. Velké píky tvoří: *M. areolata*, *M. caudata*, *M. crassisquama*, *M. elongata*, *M. flora*, *M. heterospina*, *M. koreana*, *M. mangofera* var. *mangofera*, *M. matvienkoeae*, *M. schwemmleri* a *M. striata*C. Některé z těchto druhů jednou za sezónu jiné vícekrát, ale žádný z nich není přítomný po delší časový úsek v kuse. *M. actinoloma* var. *maramuresensis*, *M. doignonii* a *M. palaestrica* tvoří jeden pík na konci sezóny. *M. crassisquama papillosa* a *M. parvula* tvoří jeden pík uprostřed sezóny. Méně časté jsou *M. akrokomos*, *M. labyrinthina*, *M. papillosa* a *M. tonsurata*. Ostatní druhy byly nalezeny jen zřídka či v malé abundanci a na grafu tudíž nejsou patrné.



Obr. 35 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* na lokalitě Zlatá stoka získané metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM).

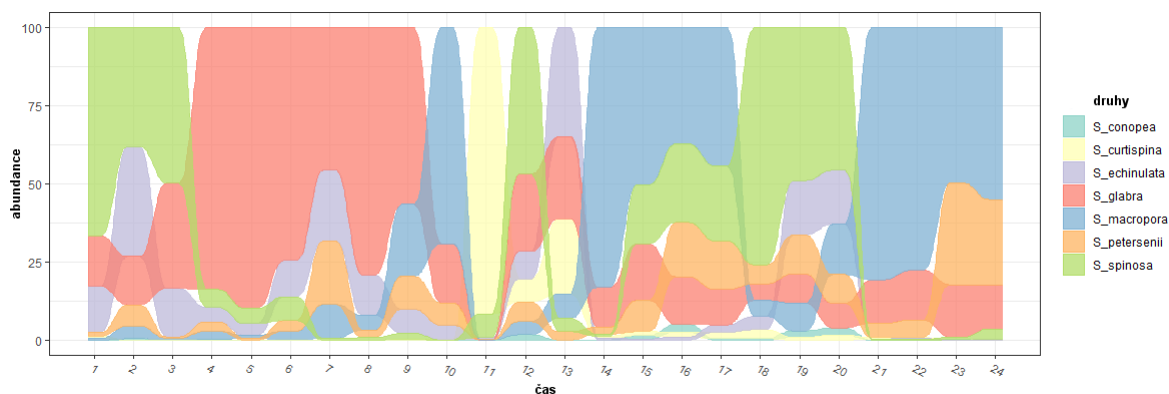
Metodou metabarcodingu jsem na lokalitě Zlatá stoka detekovala 42 jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* (Obr. 36). Oproti výsledkům získaným metodou transmisní elektronové mikroskopie na této lokalitě jsou druhy přítomny po delší časový úsek a je jich méně přítomno ve větším množství. Po celou dobu je hojný druh *M. striata*C. V druhé půlce sezóny je hojný druh *M. punctifera*. Výrazné píky na začátku a na konci sezóny tvoří druh *M. caudata*. *M. crassisquama*, *M. elongata* a *M. flora* jsou přítomny též po delší časový úsek ve větším počtu. Jediný další zřetelný pík tvoří *M. areolata*. Ostatní druhy byly nalezeny jen zřídka či v malé abundanci a na grafu tudíž nejsou patrné.



Obr. 36 Relativní abundance jednotlivých druhů rodu *Mallomonas* na lokalitě Zlatá stoka získané metodou metabarcodingu.

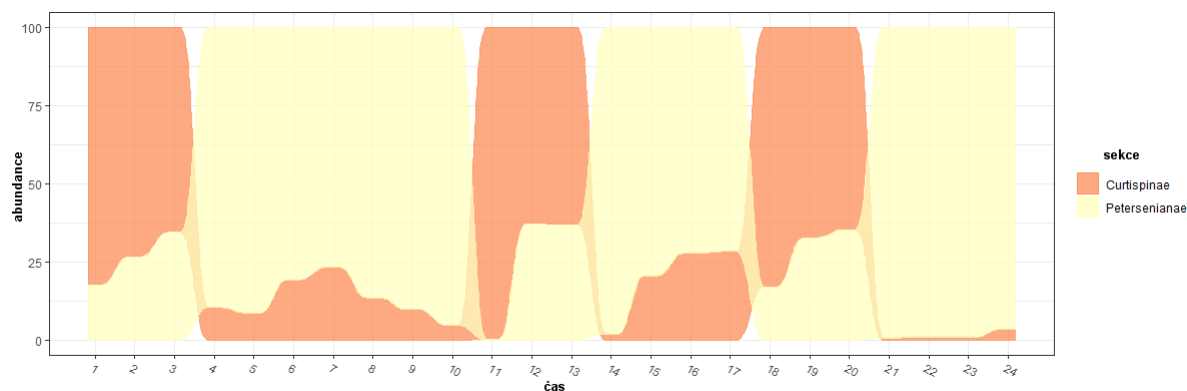
3.4.3 Střídání druhů kýlnatých a ostnitých druhů rodu *Synura*

Na lokalitě Zlatá stoka se druhy rodu *Synura* střídají následujícím způsobem. Stejná data jsou znázorněna i heatmapou (Obr. 30). Na grafu je vidět, že vždy je pouze jeden dominantní druh a ostatní jsou v menšině. Dominantní druhy se během sezóny střídají (Obr. 37). Druhy *S. spinosa* a *S. macropora* jsou během sezóny dominantní vícekrát. *S. curtispina* a *S. glabra* jsou dominantní jen v jednom okamžiku sezóny. Druh *S. petersenii* je přítomný po celou sezónu, ale nikdy netvoří dominantu.



Obr. 37 Střídání druhů rodu *Synura* na lokalitě slat' Zlativka.

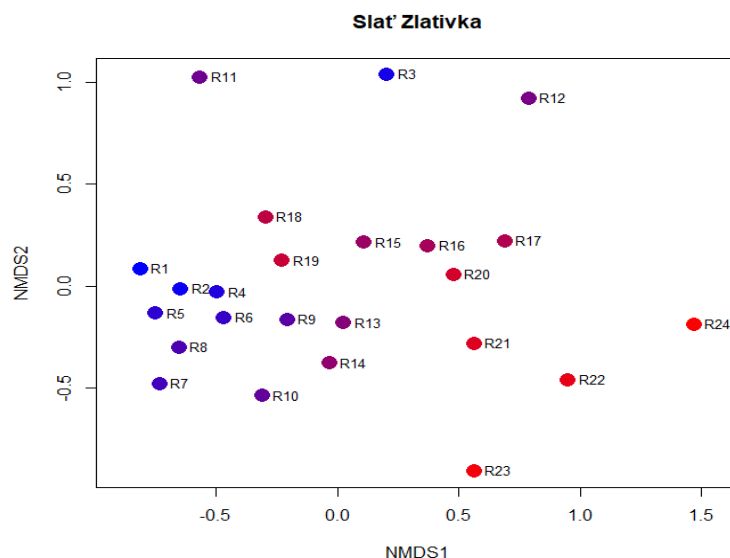
Při rozdělení druhů rodu *Synura* na sekce *Curtispinae* (šupiny s ostnem) a *Peterseniana* (šupiny s kýlem) je též vidět, že se sekce střídají v průběhu sezóny. Jedna sekce je vždy dominantní a druhá v menším množství. V průběhu sezóny dojde k několika zvrátům, kdy se dominující sekce vymění (Obr. 38).



Obr. 38 Střídání sekcí rodu *Synura* na lokalitě slat' Zlativka. *Curtispinae* je sekce rodu *Synura*, jejichž šupiny mají ostn a *Peterseniana* mají na svých šupinách kýl.

3.5 Jaké enviromentální faktory ovlivňují složení společenstva?

Pro zobrazení rozdílů ve složení společenstev byla použita metoda mnohorozměrného nemetrického škálování (NMDS). Z výsledků NMDS analýzy pro slat' Zlativka (Obr. 39) je patrné, že odběry odebrané v podobnou dobu se na grafu nachází při sobě. Jediný odběr, který tomuto neodpovídá je odběr R3.



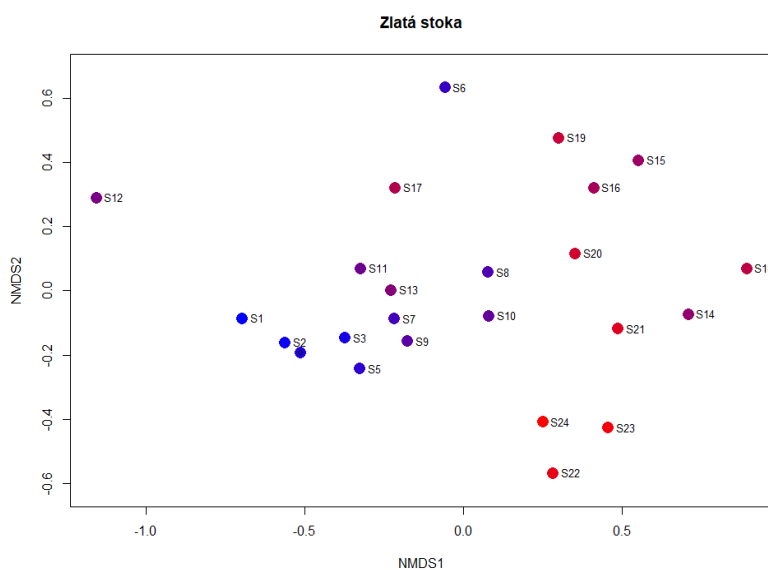
Obr. 39 NMDS graf pro lokalitu Slat' Zlativka. R1-R24 značí pořadí odběrů v čase.

Následující tabulka (Tab. 2) ukazuje výsledky korelace enviromentálních faktorů s jednotlivými NMDS osami a výsledky korelace vypočítané funkcí Enfit na lokalitě slat' Zlativka.

Tab. 2 Korelace NMDS a enviromentálních proměnných na lokalitě slat' Zlativka. Výsledky funkce Enfit.

Enviromentální faktor	NMDS1	NMDS2	r ²	Pr(>r)
Celková koncentrace uhlíku (TC)	0,91226	-0,40961	0,5262	0,001***
Průměrná teplota vzduchu (avg.temp)	0,92995	-0,3677	0,6137	0,001***
Vlhkost vzduchu (humidity)	0,39423	-0,91901	0,0054	0,948
Dešťové srážky (rainfall)	0,06913	0,99761	0,0173	0,827
Celková koncentrace vápníku (Ca)	0,8934	0,44926	0,0397	0,669
Konduktivita (conductivity)	-0,98911	0,14715	0,099	0,286
Celková koncentrace dusíku (TN)	-0,8427	0,53838	0,146	0,206
Celková koncentrace křemíku (Si)	-0,56905	0,8223	0,1216	0,251
pH	-0,21731	-0,9761	0,0137	0,883
Sluneční záření (sunlight)	0,49917	-0,8665	0,0826	0,43
Dešťové srážky dva dny před odběrem (rainfall.be2t)	-0,12651	-0,99197	0,0899	0,363
Celková koncentrace fosforu (TP)	-0,99905	-0,04354	0,2757	0,043*
Rychlost větru (wind.speed)	-0,15132	0,98848	0,3892	0,005**
Rychlost větru den před odběrem (wind.speed1be)	-0,86502	0,50173	0,1836	0,102

U Zlaté stoky se odběry též drží při sobě podle toho, jak byly odebrány v čase. Jediné odběry, které se drží dál od všech ostatních jsou odběry S6 a S12.



Obr. 40 NMDS graf pro lokalitu Zlatá stoka. S1-S24 značí pořadí odběrů v čase.

Následující tabulka (Tab. 3) ukazuje výsledky korelace enviromentálních faktorů s jednotlivými NMDS osami a výsledky korelace vypočítané funkcí Enfit na lokalitě Zlatá stoka.

Tab. 3 Korelace NMDS a enviromentálních proměnných na lokalitě Zlatá stoka. Výsledky funkce Enfit.

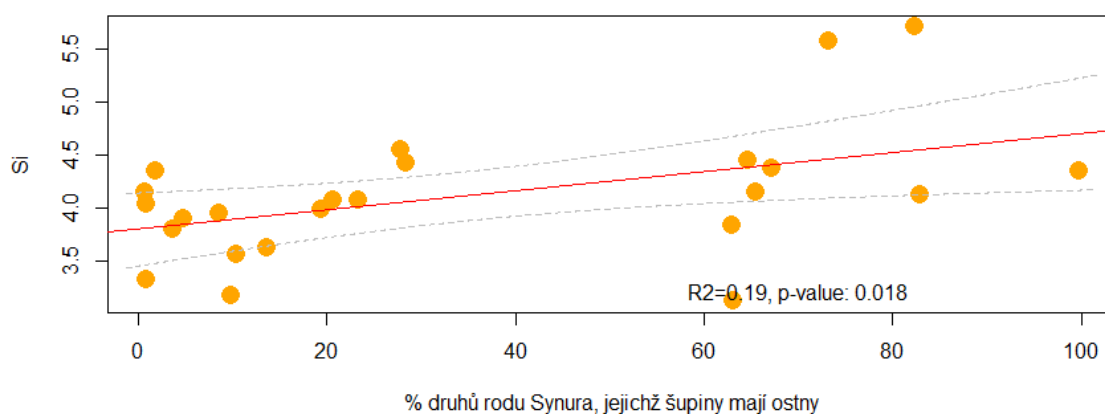
Enviromentální faktor	NMDS1	NMDS2	r ²	Pr(>r)
Celková koncentrace uhlíku (TC)	0,86927	0,49433	0,4513	0,001***
Průměrná teplota vzduchu (avg.temp)	0,90462	-0,42622	0,1675	0,16
Vlhkost vzduchu (humidity)	0,99992	0,01241	0,0507	0,555
Dešťové srážky (rainfall)	-0,49639	-0,8681	0,0267	0,747
Konduktivita (conductivity)	-0,3735	-0,92763	0,4615	0,001***
Celková koncentrace dusíku (TN)	-0,62946	-0,77703	0,0327	0,722
Celková koncentrace fosforu (TP)	-0,9365	-0,35066	0,2542	0,064 .
Celková koncentrace křemíku (Si)	0,99953	-0,03072	0,1569	0,156
pH	-0,95475	-0,29739	0,4869	0,001***
Sluneční záření (sunlight)	-0,62363	-0,78172	0,0276	0,713
Dešťové srážky den před odběrem (rainfall.1be)	0,07555	0,99714	0,1058	0,304
Rychlost větru (wind.speed)	-0,72904	0,68448	0,3148	0,031*
Rychlost větru den před odběrem (wind.speed1be)	-0,90428	-0,42695	0,0331	0,67

Celková koncentrace uhlíku, konduktivita, pH a rychlost větru jsou tudíž enviromentální faktory, které ovlivňují nejvíce složení společenstva ve Zlaté stoce.

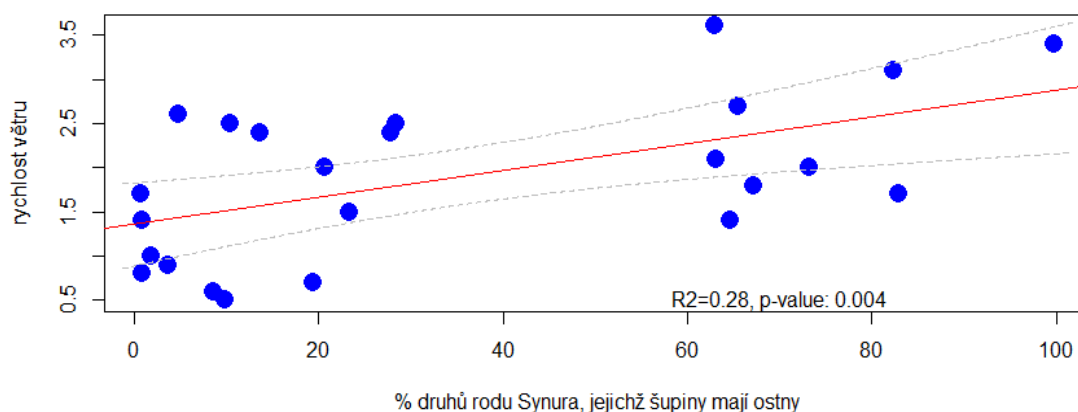
U slati Zlativka je společenstvo nejvíce ovlivněné celkovou koncentrací uhlíku, celkovou koncentrací fosforu, průměrnou teplotou vzduchu a rychlostí větru.

3.5.1 Jaké enviromentální faktory ovlivňují střídání druhů rodu *Synura*, jejichž šupiny mají kýl nebo ostn?

Metodou lineární regrese vyšly jako signifikantní enviromentální faktory pro změnu mezi sekcemi rodu *Synura* (*Curtispinae* - šupiny s ostnem a *Peterseniana* - šupiny s kýlem) celková koncentrace křemíku (Si; $p = 0,018$) a rychlost větru (wind. speed; $p = 0,004$). Ostatní proměnné, které vybral averaging model, vyšly nesignifikantně.



Obr. 41 Křemík vs. % procento Synur s ostny.

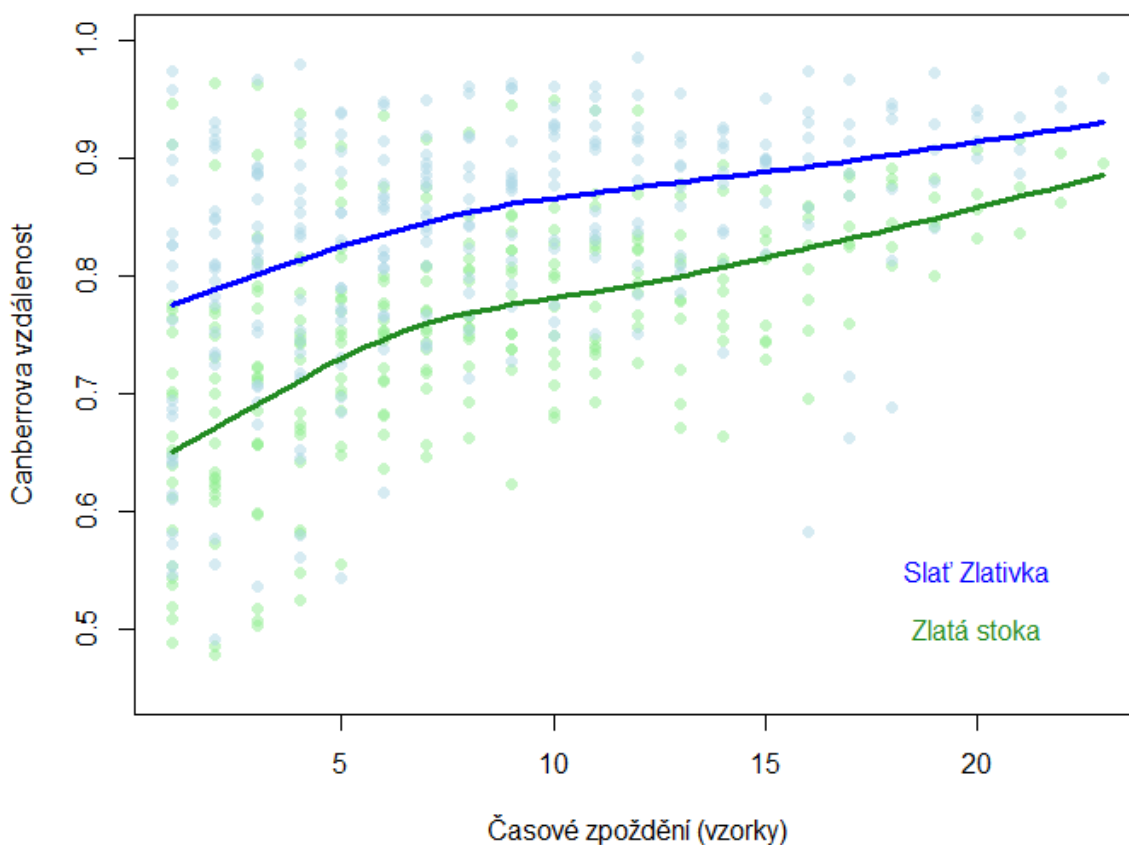


Obr. 42 Rychlost větru vs. % procento Synur s ostny.

3.6 Proměny společenstva v čase

3.6.1 Analýza časového zpoždění

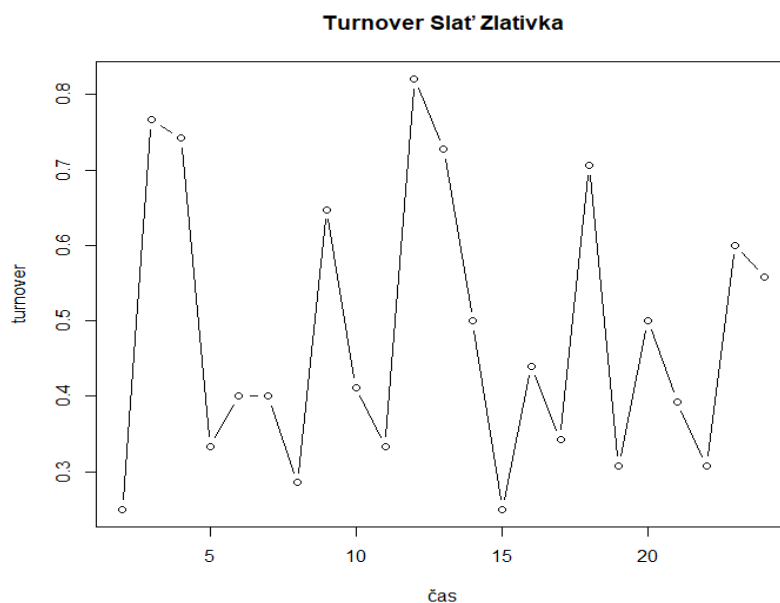
Protože mně zajímalo, jestli je si společenstvo se zvyšujícím se rozdílem v čase více nebo méně podobné, udělala jsem analýzu časového zpoždění. Sklon obou křivek je pozitivní, což znamená, že čím větší časový úsek byl mezi odběry tím si společenstvo druhů rodů *Synura* a *Mallomonas* ve slati Zlativka i ve Zlaté stoce bylo méně podobné. Společenstvo na lokalitě Zlatá stoka si bylo od začátku do konce sezóny podobnější než společenstvo na lokalitě slat' Zlativka.



Obr. 43 Analýza časového zpoždění pro obě lokality. Tečky značí Canberrovu vzdálenost mezi jednotlivými dvojicemi odběrů a čáry jsou regresní křivky časového zpoždění na lokalitách.

3.6.2 Turnover

Turnover značí, jak rychlé jsou změny ve společenstvu, ale nevypovídá nic o změnách ani organismech, které se na nich podílejí. Ve slati Zlativka docházelo k výrazným změnám společenstva během času, tj. druhy se různě objevovaly a mizely (Obr. 44). Po propojení těchto výsledků s enviromentálními daty se ukázalo, že za tyto změny ve společenstvu jsou zodpovědné především změny v koncentraci vápníku (Obr. 45).



Obr. 44 Turnover na lokalitě slat' Zlativka.

```
Call:
lm(formula = total.res[, 1] ~ Ca + 1, data = envryb)

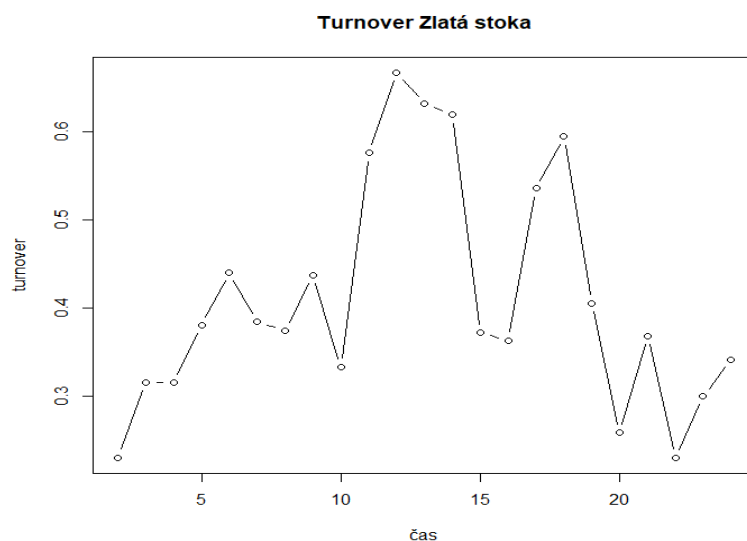
Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.26540 -0.12607  0.01714  0.12411  0.25312

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  2.16650    0.54968   3.941 0.000747 ***
Ca          -0.12522    0.04073  -3.075 0.005747 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1537 on 21 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.3104,    Adjusted R-squared:  0.2776
F-statistic: 9.454 on 1 and 21 DF,  p-value: 0.005747
```

Obr. 45 Výsledky statistického testu lineární regrese z lokality slat' Zlativka.

Na lokalitě Zlatá stoka nebyly změny mezi počtem objevujících se a mizejících druhů tak výrazné jako na lokalitě slat' Zlativka (Obr. 46). Za změny na této lokalitě mohly především změny celkové koncentrace křemíku a konduktivita (Obr. 47).



Obr. 46 Turnover na lokalitě Zlatá stoka.

```
Call:
lm(formula = total.res[, 1] ~ conductivity + Si + 1, data = envsto)

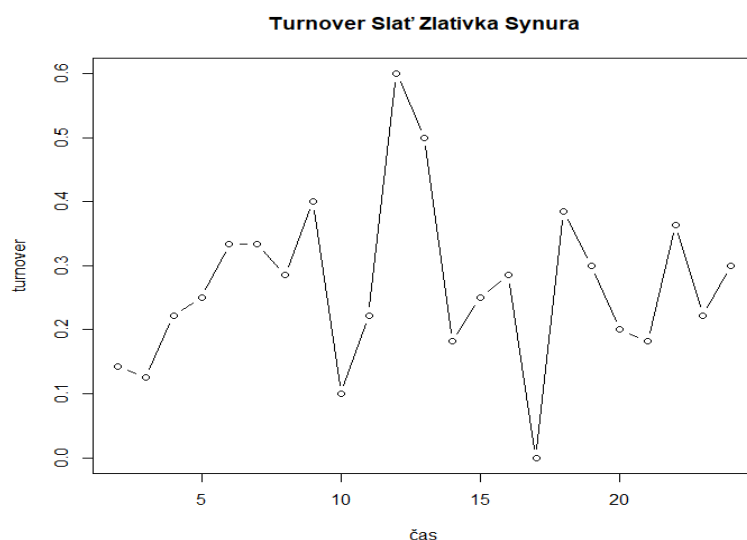
Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.17274 -0.09178 -0.01429  0.06237  0.21458

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.1901033  0.2410269   4.938 7.93e-05 ***
conductivity -0.0022246  0.0008313  -2.676  0.0145 *
Si          -0.0854985  0.0369241  -2.316  0.0313 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1105 on 20 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.345,    Adjusted R-squared:  0.2795
F-statistic: 5.267 on 2 and 20 DF,  p-value: 0.01453
```

Obr. 47 Výsledky statistického testu lineární regrese z lokality Zlatá stoka.

Při zaměření turnoveru jen na druhy rodu *Synura* se křivka ani na lokalitě slat' Zlativka ani na lokalitě Zlatá stoka nepohybuje tak výrazně jako tomu bylo u celkového turnoveru na lokalitě slat' Zlativka (Obr. 48). Dále si můžeme všimnout, že společenstvo druhů rodu *Synura* se na lokalitách mění podobně (Obr. 48, Obr. 50). Desátý a čtrnáctý odběr byl turnover velmi nízký. Na změny ve společenstvu druhů rodu *Synura* ve slati Zlativka má stále největší vliv koncentrace vápníku, ale oproti celkovému složení zde hraje roli i množství srážek za dva dny předcházející odběru, celková koncentrace dusíku a průměrná teplota vzduchu (Obr. 49).



Obr. 48 Turnover na lokalitě slat' Zlativka zaměřený pouze na druhy rodu *Synura*.

```
Call:
lm(formula = total.res[, 1] ~ avg.temp + Ca + rainfall.be2t +
    TN + 1, data = envryb)

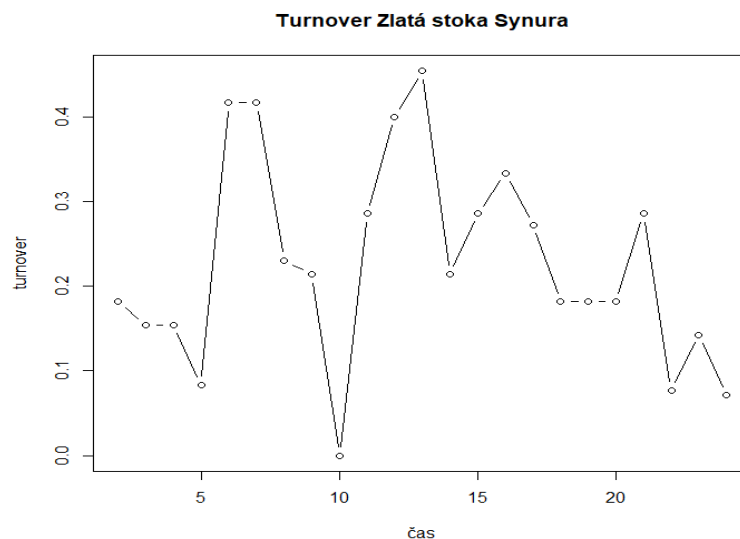
Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.155048 -0.049957  0.001326  0.054893  0.162176

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  2.187851   0.403933   5.416 3.8e-05 ***
avg.temp     0.019047   0.004868   3.913 0.001020 **
Ca          -0.164232   0.033896  -4.845 0.000130 ***
rainfall.be2t -0.031407   0.007848  -4.002 0.000836 ***
TN           0.079028   0.036257   2.180 0.042806 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.08572 on 18 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.6501,    Adjusted R-squared:  0.5724
F-statistic: 8.361 on 4 and 18 DF,  p-value: 0.0005384
```

Obr. 49 Statistický test lineární regrese na lokalitě slat' Zlativka zaměřený jen na turnover druhů rodu *Synura*.

Turnover druhů ve společenstvu rodu *Synura* na lokalitě Zlatá stoka není statisticky signifikantně způsoben žádným z enviromentálních faktorů (Obr. 51).



Obr. 50 Turnover na lokalitě Zlatá stoka zaměřený pouze na druhy rodu *Synura*.

```
Call:
lm(formula = total.res[, 1] ~ 1, data = envsto)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.22695 -0.07311 -0.01267  0.05876  0.22759

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  0.22695     0.02525   8.989 8.09e-09 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1211 on 22 degrees of freedom
```

Obr. 51 Statistický test lineární regrese na lokalitě Zlatá stoka zaměřený jen na turnover druhů rodu *Synura*.

4 Diskuze

4.1 Společenstvo křemičitých zlativek na obou lokalitách

Obě ze studovaných lokalit jsou na křemičité zlativky velmi bohaté. Během této práce bylo zaznamenáno celkem 64 druhů rodu *Mallomonas*, což je zhruba 1/3 celkové taxonomicky uznané světové diverzity tohoto rodu (Guiry & Guiry, 2023; Jo et al., 2011). U rodu *Synura* to bylo 18 druhů, což je přibližně 40 % z celkové diverzity tohoto rodu (Guiry & Guiry, 2023; Jo et al., 2016). To, že se ve slati Zlativka nachází takové ohromné množství druhů může být způsobeno místem, kde se lokalita nachází. Třeboňská pánev byla odjakživa hodně podmáčené a bažinaté místo. Až v 16. století začal Jakub Krčín z Jelčan a Sedlčan v této oblasti budovat rybníky, aby došlo k rozšíření zemědělské půdy. Bažinaté, mírně kyselé prostředí, po dlouhou dobu neovlivněné lidskou činností, mají křemičité zlativky rády (Nicholls & Wujek, 2003). Během 19. století v Třeboni založil podnikavý učitel Václav Hucek lázně. Ukázalo se, že zdejší rašelina je totiž účinnější než ta z Mariánských lázní (Psíková, 2013). Oblast byla vždy tudíž pro svou unikátní rašelinu nějakým způsobem chráněná a život křemičitých zlativek nic neomezovalo. To, že i v současnosti na lokalitě probíhá těžba rašeliny může do prostředí ze sedimentu uvolnit cesty křemičitých zlativek, které se zde vyskytovaly dávno v minulosti. A ty v kombinaci s vhodnými podmínkami mohou excystovat a růst. Z důvodu těžby rašeliny není tento rybník chovný, a proto u něj nedochází k neblahé eutrofizaci jako u většiny rybníků Třeboňské pánve. Tuto lokalitu odebíráme pravidelně i po skončení odběrů zahrnutých v této diplomové práci. Například i kvůli tomu, že nám v našich kulturách chybí druh *M. labyrinthina*, který se zde vyskytoval poměrně hojně. Teorii toho, že aktivní těžba, která je však zároveň omezená a regulovaná způsobuje výskyt druhů, které zde nebyli patrné podporuje i nález nového druhu v roce 2022, kterého jsme vyizolovali a geneticky charakterizovali několik kultur, ale já jsem po celou dobu svých odběrů nezachytila žádnou jeho křemičitou šupinu ani sekvenci. Zlatá stoka protéká celou Třeboňskou pánví a sbírá do sebe všechno, co se v této bažinaté a podmáčené oblasti nachází a je tudíž zřejmé, že jako taková bude obsahovat velké množství zlativek, které toto prostředí mají rády.

V průběhu studované sezóny docházelo k postupnému nárůstu procentuálního zastoupení rodu *Mallomonas* ve slati Zlativka i v kanále Zlatá stoka. Podíl rodu *Synura* byl po celou dobu víceméně konstantní a měnila se spíše abundance jednotlivých druhů tohoto rodu. Ačkoliv se konkrétní hodnoty lišily, stejný trend byl pozorován na obou lokalitách i oběma použitými metodami. Dominanci druhů rodu *Synura* na začátku studovaného období si lze

vysvětlit tím, že existují druhy tohoto rodu, které tvoří své vodní květy již pod ledem nebo velmi časně z jara např. *S. uvella* (Kalinowska & Grabowska, 2016; Phillips & Fawley, 2002). I jiné druhy tohoto rodu tvoří vodní květy např. *S. petersenii* a *S. glabra* (Péterfi et al., 1998). Kromě rodu *Synura* tvoří vodní květy zapáchající „rybinou“ i další koloniální rod z této třídy rod *Dinobryon* (Watson et al., 2001). Druhy rodu *Mallomonas* obvykle vodní květy netvoří. Jedním z mála druhů, který tvoří vodní květy je *M. caudata*. Tato malomonáda jej však na rozdíl od druhů rodu *Synura* tvoří v létě (Hoffmann & Wille, 1992). Druhy rodu *Synura* byly ve vzorcích přítomny po celou dobu molekulárně i svými křemičitými šupinami. Domnívám se, že obrovský podíl křemičitých šupin rodu *Mallomonas* v posledních několika vzorcích na lokalitě slat' Zlativka mohl být ovlivněn i zvířením sedimentu na této lokalitě. Tento fakt nebyl nikterak měřen, ale z mého pozorování mi voda na lokalitě přišla zakalená, nevypadala vůbec vábně. Zvířením dna se do vodního sloupce se mohly dostat křemičité šupiny druhů, které již dávno na lokalitě své živé buňky nemají, a jsou zde přítomné jen jejich pozůstatky ve formě křemičitých šupin. Křemičité šupiny zlativek se uchovávají v sedimentu velmi dobře (Dixit et al., 1999) a jeho zvířením může dojít k jejich navrácení do vodního sloupce. To mohlo též způsobit nárůst podílu rodu *Mallomonas*. Na lokalitě Zlatá stoka k zakalení vody nedošlo, ale podíl rodu *Mallomonas* se též zvýšil na konci sezóny. Existují záznamy o teplomilných druzích rodu *Mallomonas* spíše než o teplomilných druzích rodu *Synura* (Péterfi et al., 1998). Mezi teplomilné druhy rodu *Mallomonas* nalezené i na mnou studovaných lokalitách patří *M. corymbosa* a *M. portae-ferreae*. Nárůst procentuálního zastoupení rodu *Mallomonas* na této lokalitě ke konci sezóny si lze tudíž vysvětlit tímto způsobem.

4.2 Temporální dynamika společenstva křemičitých zlativek a enviromentální faktory, které ji ovlivňují

4.2.1 Temporální dynamika společenstva křemičitých zlativek

Dynamika společenstva křemičitých zlativek na studovaných lokalitách (slat' Zlativka a Zlatá stoka) se stejně jako enviromentální podmínky mění i na malé časové škále v řádu dní. Druhy rodů *Mallomonas* i *Synura* během studovaného období vykazují nárůsty a klesání ve svých abundancích. Některé druhy mají během sezóny dominantní pík, jiné jsou přítomné po celou dobu, ale nikdy netvoří dominanty. Nejhojnější druhy rodu *Synura* (*S. echinulata*, *S. glabra*, *S. spinosa/curtispina* a *S. petersenii*) byly na obou lokalitách přítomny téměř po celou dobu odběrů a měnila se hlavně jejich abundance. Výsledky ukazují, že tyto čtyři druhy se střídají v tom, který z nich je aktuálně dominantní, nikdy však není dominantních více

druhů zároveň. Podobné výsledky lze najít i ve studii Siver & Hamer, 1992, kde byly odběry prováděny jedenkrát měsíčně po dobu pěti let. Nikdy však nebylo dominantních více druhů rodu *Synura* zároveň. *S. spinosa* a *S. echinulata* byly stejně jako v mém případě v této studii hojné druhy. V souladu s mými výsledky je i jejich výskyt, kdy *S. echinulata* je hojným druhem na jaře a v letních měsících mizí. *S. spinosa* naopak začíná být hojná v letních měsících, následně tvoří velkou biomasu pod ledem během zimy a poté postupně ubývá až do března či dubna. *S. petersenii* ve studii Siver & Hamer, 1992 nevykazovala žádný jasný sezónní trend, byla přítomná po celou dobu a v letních měsících nebyla tak hojná jako v zimních. V mém případě byl tento rod trochu hojnější v červnových odběrech, ale ne nikterak výrazně. Ostatní rody byly mnohem víc hojné. Ke střídání druhů rodu *Synura* docházelo mnohem více ve slati Zlativka než ve Zlaté stoce. Ve Zlaté stoce byla hojná po celou dobu *S. spinosa*, na začátku sezóny *S. curtispina* a ke konci sezóny *S. glabra* a téměř nedocházelo k jejich střídání.

Jelikož ve slati Zlativka se druhy rodu *Synura* střídaly více, bylo zajímavé se podívat, jestli se střídají během sezóny jen jednotlivé druhy nebo dochází ke střídání i v rámci jednotlivých sekcí tohoto rodu. Při zhrubnutí škály tj. rozdělení druhů rodu *Synura* na sekce *Curtispinae* (šupiny s ostnem) a *Peterseniana* (šupiny s kýlem) je též vidět, že se sekce střídají v průběhu sezóny. V tomto případě je patrných několik zvrátů, kdy se dominující sekce vyměnily. Podařilo se mi prokázat, že toto střídání sekcí souvisí s celkovým množstvím křemíku dostupného na lokalitě a rychlostí větru (viz níže).

Ačkoliv výskyt druhů rodu *Mallomonas* byl v mých výsledcích spíše náhodný a nepodařilo se mi nalézt nějaký jasný trend, výskyt některých druhů odpovídá studii (Siver & Hamer, 1992). *M. punctifera* a *M. papillosa* se vyskytují v letních a podzimních měsících. Přičemž *M. punctifera* ve svém největším píku v červnu a červenci tvořila 20-25% veškerých nalezených křemičitých šupin. Některé další studie dokumentují tento druh jako častý v teplých vodách i nad 25°C (Dürschmidt & Croome, 1985; Nygaard, 1949). Jiné tento druh považují za chladnomilný (Roijackers & Kessels, 1986). Siver, 1991 se domnívá, že tento druh má teplomilný i chladnomilný ekotyp. V mém případě byl tento druh nalezen v červnu ve velké abundanci, což souhlasí se studiemi, které tento druh považují za teplomilný. Druh *M. crassisquama* byl přítomný po celou dobu a nevykazoval žádný zvláštní trend v mém případě i v této studii. Druh *M. caudata* v této studii často tvořil více než 10% počítaných křemičitých šupin. Buňky tohoto druhu se obvykle tvořily v dubnu či květnu a přes léto a podzim přežívaly až do vytvoření sněhové pokrývky. Zajímavé bylo, že během ledna až března nikdy nedošlo k nálezu celých buněk. To, že tento druh je hojný v letních měsících

a chybí v zimě pod ledem se objevuje i v jiných studiích (Asmund, 1955; Donaldson & Stein, 1984; Siver, 1991). V mém případě buněk tohoto druhu bylo nejvíce v červnu, což sedí i s výsledky studie (Hoffmann & Wille, 1992).

To, že křemičité zlativky mají svou největší abundanci v jarních měsících potvrzuje i Kristiansen, 1985 z dánského jezera Tystrup Sø a Ito, 1997 ve své dizertační práci.

O sezónní dynamice druhů zlativek *M. acaroides*, *M. akrokomos*, *Dinobryon cylindricum*, *S. glabra*, *S. spinosa*, *Uroglena* sp. pojednává studie Siver & Chock, 1986. Většina těchto druhů se vyskytovala v teplotách pod 10 °C a hodně z nich se nejvíce vyskytovalo v březnu a dubnu. Případně byly hojné i na podzim. Vzorky v této studii byly odebírány 1x měsíčně případně 1x za dva měsíce a pozorovány na transmisním nebo skenovacím elektronovém mikroskopu. *M. acaroides* se nejvíce vyskytoval v listopadu 1980 a v lednu 1981. To jsou měsíce mimo mnou studované období, a tudíž nemohu porovnat jeho výskyt s mými daty. Druh *S. glabra* se rozvíjel během února a v březnu byl velmi hojný. Píky jednotlivých druhů se mohou posouvat v závislosti na podmínkách daného roku (Siver & Hamer, 1992). Proto považuji výskyt tohoto druhu v mých datech, kdy tento druh byl ve slati Zlativka nejhojnější na začátku studovaného období tj. v dubnu a postupně ubýval za podobný jako v této studii (Siver & Chock, 1986). Rod *Dinobryon cylindricum* je rod ze třídy *Chrysophyceae*, který si tvoří celulózní loriky, jako takový nebyl zahrnut do této práce o zlativkách s křemičitými šupinami, ale při metabarcodingu jsem narazila a následně odstranila mnoho sekvencí náležících tomuto rodu. *D. cylindricum* se nejvíce vyskytoval v březnu a dubnu. Na družích rodu *Dinobryon* byla provedena studie Bock et al., 2014. V této studii sice vzorky byly odebírány jednou měsíčně, ale na rozdíl od výše zmíněných studií využívá pro studium sezónní dynamiky tohoto rodu molekulární metody (454 pyrosekvenování). Druhy rodu *Dinobryon* vykazovaly velkou sezónní dynamiku i na molekulární úrovni. Porovnání morfologických a molekulárních výsledků se v tomto případě příliš nedařilo. Druhy rodu *Dinobryon* jsou sice díky svým chitinózním lorikám dobře definovány morfologicky, ale přiřazení sekvencí k jednotlivým druhům není snadné. Tato studie je asi nejvíce podobná zvolenému přístupu pro studium společenstva v této práci. Oproti ní mám však výhodu dobrého přiřazení molekulárních a morfologických dat o jednotlivých družích. Jelikož v naší algologické laboratoři probíhá a probíhalo již několik GAČR projektů zaměřených na výzkum třídy *Chrysophyceae*, především zaměřené na rody *Synura* a *Mallomonas*, máme ohromnou sbírku kmenů těchto dvou rodů řas. V rámci těchto projektů jsou pořizována morfologická i molekulární data pro jednotlivé druhy těchto rodů. V naší laboratoři tudíž máme skvělou databázi druhů, která lze použít při porovnání tradičních

(TEM) a moderních (metabarcoding) metod pro studování společenstva druhů těchto dvou rodů. Zaměření na kratší časovou škálu je zajímavé z toho důvodu, že protistní organismy mají obecně krátkou generační dobu a jsou tudíž schopny velmi rychle reagovat na změny v prostředí (Payne, 2013).

Většina studií se zaměřuje na sezónní dynamiku planktonu obecně a většinou se zabývá výskytem jednotlivých tříd řas. Informace o výskytech a případné sezónní dynamice jednotlivých druhů jsou ve studiích velmi skromné a většinou se týkají jen velmi hojných druhů. Ve výše zmíněných studiích jsem našla i informace o pár konkrétních druzích křemičitých zlativek a mohla tak porovnat jejich výskyty s výskyty druhů zjištěné v této práci. Ačkoliv tyto studie byly prováděny měsíčně a moje studie zahrnuje jen tři měsíce ukázalo se, že výskyty většiny druhů si v tomto období odpovídají.

Zároveň se však ukázalo, že společenstvo křemičitých zlativek se mění i v řádu dní. Změny v abundancích dominantních druhů křemičitých zlativek lze zachytit i při odběrech hrubší časové škále, ale studium v řádu dní je lepší ke studiu reakce společenstva na změny enviromentálních podmínek. Méně početné a vzácnější druhy se při vzorkování na měsíční škále vůbec nemusí projevit. Některé z těchto druhů mohou mít velmi úzké rozmezí podmínek prostředí, ve kterém se jim daří. Například druhy *M. caudata*, *M. punctifera* a *M. papillosa* jsou považovány za teplomilné. Naopak některé druhy rodu *Synura*, např. *S. uvella* a *S. glabra*, jsou považovány za chladnomilné a svých nejvyšších abundancí dosahují pod ledem (Kalinowska & Grabowska, 2016; Péterfi et al., 1998; Phillips & Fawley, 2002). Některé jiné druhy mají široké rozpětí pH, ve kterém se mohou vyskytovat a jiné zas velmi úzké (Siver, 1989). Jelikož protista jako taková mají velmi krátkou generační dobu a jsou velmi senzitivní na změny enviromentálních podmínek, mohou velmi dobře sloužit jako bioindikátory (Payne, 2013). Výhodou křemičitých zlativek proti jiným protistním organismům je, že jejich křemičité šupiny se uchovávají v sedimentu (Dixit et al., 1999; Smol, 1988). Nalezení druhů křemičitých zlativek, které mají nějak omezené podmínky, ve kterých se vyskytují, nám tudíž může říct mnoho o enviromentálních podmínkách, které na lokalitě byly v minulosti. Zároveň nám znalost těchto druhů může pomoci rychle odhalit změny, které se na lokalitě právě odehrávají a v budoucnosti by mohly mít drastické následky na celou lokalitu. Při včasném odhalení těchto změn je možné jim zabránit či upravit management tak, aby nebyly tak drastické pro organismy žijící na lokalitě.

Společenstvo druhů rodů *Synura* a *Mallomonas* ve slati Zlativka i ve Zlaté stoce si bylo s narůstajícím časem mezi jednotlivými odběry méně podobné. Z toho vyplývá, že složení společenstva se mění i na malé časové škále v rámci jedné sezóny. Společenstvo druhů rodů

Mallomonas a *Synura* na lokalitě Zlatá stoka si bylo od začátku do konce sezóny podobnější než společenstvo na lokalitě slat' Zlativka. To může být způsobeno charakterem studovaných lokalit. Slat' Zlativka je rašelinná slat' vzniklá těžbou rašeliny pro treboňské lázně. Jako taková je zástupcem stojaté vody, a tudíž nedochází tak snadno k obohacení lokality o nové druhy a nějakým výraznějším změnám enviromentálních podmínek. Naproti tomu Zlatá stoka je dlouhý kanál protékající celou Třeboňskou pánví. Spojuje velké množství zdejších rybníků a stok. Jelikož je to voda tekoucí a zároveň napojená na rozsáhlé území Třeboňské pánve, může snadno dojít k jejímu obohacení o nové druhy, případně nějaké disturbanci a změně enviromentálních podmínek způsobené např. regulací vody v rybnících. Není tedy vůbec jisté, jestli společenstvo křemičitých zlativek zachycené v rámci odběru metodou transmisní elektronové mikroskopie (tj. křemičité šupiny) se na lokalitě vyskytuje i ve formě živých buněk či jen jejich pozůstatky ve formě křemičitých šupin a druh jako takový žije někde v povodí Zlaté stoky. Tuto hypotézu podporují data o druhovém složení rodu *Mallomonas* na této lokalitě (Obr. 35, Obr. 36), kdy se v transmisních datech („pozůstatky“ druhu ve formě křemičitých šupin) vyskytují hojně i druhy (*M. koreana*, *M. labyrinthina* a *M. heterospina*), které se na metabarcodingových datech („živé“ organismy) vůbec neprojeví v takové hojnosti. Druhy rodu *Mallomonas*, které byly hojné v obou typech záznamů, a tudíž si myslím, že na dané lokalitě fakticky žijí jsou *M. caudata*, *M. crassisquama*, *M. elongata*, *M. flora*, *M. punctifera* a kryptická linie *M. striata*C.

4.2.2 Enviromentální faktory, které ovlivňují temporální dynamiku křemičitých zlativek

Enviromentální faktory, které ovlivňují nejvíce složení společenstva na lokalitách jsou různé. U slati Zlativka je složení společenstva křemičitých zlativek nejvíce ovlivněné celkovou koncentrací uhlíku, celkovou koncentrací fosforu, průměrnou teplotou vzduchu a rychlostí větru. Společenstvo křemičitých zlativek ve Zlaté stoce je nejvíce ovlivněno celkovou koncentrací uhlíku, konduktivitou vody, pH a rychlostí větru. U slati Zlativka bylo společenstvo ovlivněné průměrnou teplotou vzduchu. Ta ovlivňuje průměrnou teplotu vody a o tom jaký vliv má teplota na růst křemičitých zlativek bylo napsáno mnoho studií (Němcová et al., 2010; Pichrtová & Němcová, 2011; Řezáčová-Škaloudová et al., 2010). Převážná většina křemičitých zlativek má ráda chladné teploty, ale najdou se i takové, které jsou hojné v teplých vodách (viz podkapitola 4.2.1). Různé druhy křemičitých zlativek preferují různé pH (Němcová & Pichrtová, 2012; Siver, 1989). Ve studiích (Charles & Smol, 1988; Smol, 1988) jsou křemičité zlativky považovány za cenný nástroj pro rozpoznání změn

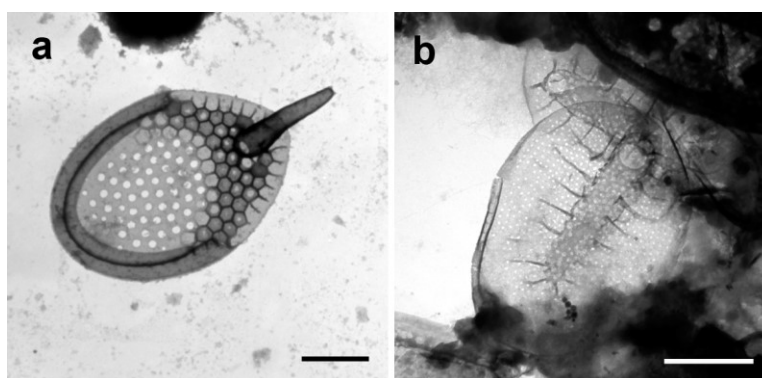
pH vody. Podle těchto studií jsou na změny pH senzitivnější než rozsivky a autoři doporučují je používat pro určování pH vody v minulosti dohromady. Na obou lokalitách je společenstvo křemičitých zlativek ovlivněno celkovou koncentrací uhlíku v prostředí a rychlostí větru.

Uhlík je u autotrofních organismů získáván především během fotosyntézy. Řasy ze třídy *Chrysophyceae* jsou však často mixotrofní a získávají organický uhlík kromě fotosyntézy i saprotrofně nebo fagotrofně. Mezi řasami z této třídy nalezneme však i heterotrofní či čistě autotrofní druhy. Rody *Mallomonas* a *Synura* jsou však oba považovány za autotrofní (Olefeld et al., 2018). Jelikož řasy z této třídy jsou schopné různých způsobů výživy (Olefeld et al., 2018), je možné, že různé druhy reagují a využívají uhlík ve svém okolí různě. Dostupnost anorganického uhlíku ve sladkých vodách je velmi proměnlivá a závisí na množství uhličitánů rozpuštěných v geologickém podloží. Bylo provedeno mnoho studií o schopnosti mikrořas přijímat uhlík z prostředí. Většina druhů řas čelí nízkému množství anorganického uhlíku ve vodě tím, že se nespolehají pouze na pasivní difúzi, ale mají CCM (carbon concentrating mechanism). Tento mechanismus jim umožňuje koncentrovat uhlík uvnitř buněk, což podporuje činnost enzymu rubisco. Tento mechanismus snižuje a zabraňuje fotorespiraci. Řasy ze třídy *Chrysophyceae* pravděpodobně během evoluce o svůj CCM mechanismus přišly (Maberly et al., 2009). A různými způsoby výživy si jeho ztrátu pravděpodobně kompenzují. Různé druhy jednotlivých rodů jsou nejspíše v kompenzaci ztráty CCM různě schopné, a tudíž je jejich výskyt ovlivněn přítomností uhlíku v prostředí. Z kultivací u nás v laboratoři víme také, že většina druhů rodu *Mallomonas* a *Synura* lépe roste v médiu obohaceném o dekokt. Dekokt je obvykle vyklávaná hlína, která obsahuje organické látky a uhlík. A z pozorování víme, že buňky se často shlukují kolem těchto organických částic v médiu. Pravděpodobně z nich tudíž mají nějaký užitek.

Rychlost větru je pro složení společenstva křemičitých zlativek na obou lokalitách důležitým enviromentálním faktorem. Větrné události ovlivňují složení fytoplanktonu v jezerech především zvětšením míchané vrstvy a zvýšením koncentrace živin. Rychlosti větru mezi 5-10 m/s mají obvykle za následek větší nárůst fytoplanktonu než rychlosti nad 10 m/s. Velikost účinku rychlosti větru je provázaná s dostupností světla, teplotou vody a živinách v hypolimniu. Při míchání se živiny z hypolimnia dostanou do vodního sloupce a jsou dostupné pro fytoplankton. V mělkých jezerech je tudíž účinnost větru větší než v těch jezerech, která mají vrstvu, která se míchá hlubší než osm metrů. Efekt míchání větrem a obohacení živinami z hypolimnia je více patrný v jezerech, ve kterých je dostupnost živin v epilimniu limitující. V jezerech, která jsou na živiny v epilimniu bohatá může dojít po větrných událostech a zvětšení míchané vrstvy k úbytku fytoplanktonu, pravděpodobně kvůli

naředení a snížené dostupnosti světla (Mesman et al., 2022). Slat' Zlativka ani Zlatá stoka nejsou příliš hluboké, a tudíž se vliv míchání po větrných událostech jevil jako důležitý na obou lokalitách.

Rychlost větru společně s celkovou koncentrací křemíku byly ty enviromentální faktory, které nejvíce ovlivňují střídání mezi sekcemi rodu *Synura*, jejichž křemičité šupiny mají kýl (*Peterseniana*) a jejichž křemičité šupiny mají osten (*Curtispina*) ve slati Zlativka. Vítr způsobí míchání vodního sloupce a dojde k jeho obohacení živiny, tj. i o křemík. Druhy rodu *Synura* ho tak mají k dispozici víc, než by tomu bylo, kdyby k míchání nedošlo. Větší množství křemíku umožní větší rozvoj druhů ze sekce *Curtispina* (např. *S. spinosa*, Obr. 52a), které mají na svých šupinách osten. Šupiny těchto druhů téměř nikdy nenajdeme na transmisním elektronovém mikroskopu málo silicifikované. Na rozdíl třeba od křemičitých šupin *S. glabra* (Obr. 52b), která patří do sekce *Peterseniana*, a její šupiny lze často nalézt málo silicifikované a často jsou i potrhane.



Obr. 52 Křemičité šupiny a – pěkně silicifikovaná křemičitá šupina *S. spinosa*, b – nepříliš dobře silicifikovaná křemičitá šupina *S. glabra*.

Ve studii Sandgren et al., 1996 bylo provedeny pokusy na druhu *S. petersenii* a jeho schopnosti růst pod vlivem stresu z nedostatku křemíku. Ukázalo se, že tento druh je schopný růst i ve velmi malých koncentracích křemíku, akorát produkuje méně šupin, které zároveň jsou méně organizované. Dokonce se může zdát, že nemají na svém povrchu buňky šupiny žádné nebo jen velmi malé množství. Po následném přidání křemíku dojde během 72 hodin k obnově. Ukázalo se také, že není na křemíku tak závislý jako rozsivky. Ty křemík nezbytně potřebují ke svému rozmnožování. Z výsledků této studie vyplývá, že tento druh je schopný se přizpůsobit nízké koncentraci křemíku v okolí. A dokáže v těchto podmínkách prospívat. Je tudíž možné, že při nižších koncentracích křemíku dokáží druhy ze sekce *Peterseniana* vykompetovat druhy ze sekce *Curtispina*, jimž nižší množství křemíku pro jejich vývoj nestačí. U druhů rodu *Mallomonas* se závislost růstu na koncentraci křemíku nepotvrdila (*M. caudata*; Kim et al., 2009).

Celkový turnover druhů rodů *Mallomonas* a *Synura* ve slati Zlativka je podmíněn celkovou koncentrací vápníku. Koncentrace vápníku přesněji odráží dlouhodobé pH na lokalitě než jednorázové měření, které může být ovlivněno změnami fotosyntézy během dne. Výskyt a mizení druhů tudíž nejvíce závisí na tom jaké je pH lokalitě. Různé křemičité zlativky preferují různé pH (Siver, 1989). Ve Zlaté stoce je celkový turnover rodů druhů *Mallomonas* a *Synura* podmíněn celkovou koncentrací křemíku a konduktivitou vody (Obr. 45.) Ve Zlaté stoce se druhy neobjevovaly a mizely tak dramaticky jako ve slati Zlativka (Obr. 44; Obr. 46) a enviromentální faktory (celková koncentrace křemíku a konduktivita), které způsobují tyto změny nevyšly tolik signifikantně (Obr. 47). Při zaměření turnoveru jen na druhy rodu *Synura* vychází na lokalitě slat' Zlativka jako nejdůležitější enviromentální faktory pro objevování a mizení druhů kromě celkové koncentrace vápníku i celková koncentrace dusíku, dešťové srážky dva dny před odběry a průměrná teplota vzduchu (Obr. 49). Turnover druhů rodu *Synura* na této lokalitě je tudíž podmíněn více enviromentálními faktory, než tomu bylo při zahrnutí celého společenstva. Na lokalitě Zlatá stoka při zaměření na turnover druhů rodu *Synura* nevyšel žádný z enviromentálních faktorů jako signifikantní (Obr. 51). Což může být způsobeno i tím, že druhy, které se zde vyskytovaly zde byly většinou přítomné po nějaký časový úsek a následně se již neobjevily.

4.3 Porovnání metod pro studium společenstva zlativek

V této práci jsem se snažila zjistit, jak si odpovídá tradiční metoda pro studium společenstva křemičitých zlativek, která spočívá v určování jejich druhů na základě jejich křemičitých šupin pod transmisním elektronovým mikroskopem, s moderní molekulární metodou metabarcodingu, tj. sekvenování enviromentální DNA. Obě tyto metody mají své výhody a nedostatky. Předpokládala jsem, že jejich kombinace by mohla o společenstvu přinést ucelenější a více věrohodnou informaci. Ukázalo se, že informace o společenstvu křemičitých zlativek zjištěné metodou transmisní elektronové mikroskopie a metodou metabarcodingu si odpovídaly. A obě z těchto přinesly o složení společenstva křemičitých zlativek velmi podobnou informaci. U společenstva druhů rodu *Mallomonas* si popisy společenstva zjištěné oběma metodami odpovídají více než tomu bylo u druhů rodu *Synura*. Domnívám se, že tyto výsledky jsou ovlivněné tím, že po celou dobu se zde vyskytovaly čtyři druhy rodu *Synura* (*S. echinulata*, *S. glabra*, *S. petersenii* a *S. spinosa/curtisipina*), které tvořily většinu sekvencí i nalezených křemičitých šupin. Tyto čtyři zároveň byly přítomné po celou dobu a ostatní vzácnější a méně početné druhy jimi mohly být byly potlačeny. Na rozdíl od rodu *Synura* téměř žádné druhy rodu *Mallomonas* výrazně nedominovaly nad ostatními ani

v počtu šupin ani v počtu sekvencí. Jejich výskyt byl náhodný jak u sekvencí, tak u křemičitých šupin a zároveň se mi díky pečlivému prohlížení vzorků podařilo zachytit většinu křemičitých šupin jednotlivých druhů. To, že si výsledky obou metod odpovídají více lokalitě slat' Zlativka než na lokalitě Zlatá stoka si vysvětlují charakterem lokalit. Ve slati Zlativka lze najít živé buňky (sekvence) a jejich pozůstatky (křemičité šupiny) na jednom místě, kdežto Zlatá stoka je voda tekoucí a na odběrovém místě se tudíž mohou nacházet ve vodním sloupci i křemičité šupiny zlativek žijících výše po proudu.

Metodou metabarcodingu bylo nalezeno na obou lokalitách více druhů rodu *Synura* i *Mallomonas*. Rozdíl zachycených druhů mezi TEM a metabarcodingem byl u rodu *Mallomonas* 10 druhů na lokalitě slat' Zlativka a 12 druhů na lokalitě Zlatá stoka. Rozdíl zachycených druhů mezi TEM a metabarcodingem byl u rodu *Synura* 9 druhů na lokalitě slat' Zlativka a 10 druhů na lokalitě Zlatá stoka. Mezi tyto rozdíly jsou schované veškeré druhy kryptické druhy špatně morfologicky rozpoznatelné, druhy, jejichž sekvence nemáme v databázi a nové druhy ať morfologicky či molekulárně. Tyto malé rozdíly značí kvalitu naší laboratoře ať už ve schopnosti určování druhů podle jejich morfologie a i kvalitu naší databáze všech druhů těchto rodů, které máme osekvenovány. Všechny druhy rodu *Synura*, které byly nalezeny morfologicky byly nalezeny i molekulárně. Tyto výsledky jsou znázorněny ve Vénnově diagramu (Obr. 16). Větší počet druhů nalezených molekulárně je způsoben hlavně kryptickou diverzitou druhu *S. petersenii* (Jadrná et al., 2021; Škaloud et al., 2014) a nepříliš snadnou morfologickou rozpoznatelností druhů *S. spinosa* a *S. curtispina* (Jadrná et al., 2021). Výsledky střídání sekcí rodu *Synura* (*Petersenianae* a *Curtispinae*) nejsou zatíženy chybou špatného určování jednotlivých druhů těchto sekcí pro jejich těžší vzájemnou rozlišitelnost a jsou tudíž více uvěřitelné.

Ve studii Škaloud et al., 2020 vénnovův diagram znázorňující porovnání zachycených druhů rodu *Synura* morfologickými a molekulárními metodami vyšel oproti tomu mému velmi vyrovnaně. Téměř stejný počet druhů zde byl nalezen jen molekulárními metodami, jen morfologicky a i oběma metodami. Myslím, že prozkoumanost oblastí a druhy se v oblasti vyskytující mají na tyto výsledky velký vliv. Vénnovu diagramu z této studie se více podobá můj vénnovův diagram pro rod *Mallomonas*, kde vyšlo podobné množství druhů nalezené jen jednou z metod a nejvíce druhů bylo zaznamenáno oběma metodami (Obr. 16). Mezi druhy, které jsem našla jen morfologicky patří např. *M. labyrinthina* jejíž sekvenci se mi nepodařilo přiřadit k žádné sekvenci na fylogenetickém stromě. Jen morfologický nález tohoto druhu je dán absencí izolované a geneticky charakterizované kultury. Morfologicky jsem zde též našla několik šupin, které byly jen podobné některému ze známých druhů, ale

zároveň se od nich lišily (viz příloha 7.5). Zajímá je též situace u *M. schwemmlei* a *M. tolerans*, které ač zde byly poměrně hojné v počtu svých křemičitých šupin a jejich sekvenci v databázi máme se zde molekulárně najít nepodařilo. Je možné, že tyto druhy se mohly na lokalitě vyskytovat v jiném období roku než probíhaly odběry. A během studovaného období zde tudíž byly zachyceny jen šupiny, které ve vodním sloupci vydržely déle než jejich DNA. Mezi druhy nalezenými pouze morfologicky se tudíž počítají tyto zajímavosti. Jiné druhy nalezené morfologicky i molekulárně jen ve velmi malém počtu mohly být příliš vzácné a nemusely být zachyceny.

Při zaměření se na průběh dynamiky u čtyř nejhojnějších druhů rodu *Synura*, a porovnání obou metod pro její sledování si výsledky také odpovídaly. Píky výskytu křemičitých šupin („pozůstatky buněk“) a relativního počtu sekvencí („živé buňky“) se nacházely ve stejných dnech, případně občas došlo k drobnému zpoždění. Z toho lze usoudit, že obě metody jsou vhodné pro studování temporální dynamiky pro dominantní a po celou dobu se vyskytující druhy rodu *Synura*. Kvůli nekompletnosti časové řady jsem nebyla schopná sestavit tyto grafy na lokalitě Zlatá stoka. Pro druhy rodu *Mallomonas* též toto porovnání nebylo možné vytvořit, jelikož žádný z nich nebyl ani na jedné lokalitě přítomen po celou dobu. Zajímavé bylo, že *S. echinulata* jako jediný druh měla mnohem větší relativní množství křemičitých šupin než relativní množství sekvencí v metabarcodingových datech. Po standardizování velikostí genomu, který měla mnohem menší než ostatní tři druhy rodu *Synura* se křivky TEM a metabarcodingu přiblížily. Z toho vyplývá, že metabarcodingová data jsou zatížena chybou, která způsobuje, že množství sekvencí je ovlivněné velikostí genomu jednotlivých druhů.

Žádné druhy rodu *Mallomonas* výrazně nedominovaly v TEM datech. Naproti tomu v metabarcodingových datech je zde výrazná dominance *M. punctifera* a kryptické linie *M. tonsurata*. O druhu *M. punctifera* z pozorování víme, že často je jedním z prvních, který ve vzorku umírá. Jedním z možných vysvětlení dominance druhů v TEM datech může být nalepení křemičitých šupin druhů rodu *Mallomonas* pevně na sebe. Některé druhy si i po nakapání na elektronmikroskopickou síťku pevně drží svůj křemičitý pancíř. To může být způsobeno adhezivními proteiny, které křemičité šupiny drží u sebe (Leadbeater, 1983). U některých druhů nejspíše křemičitý pancíř díky těmto adhezivním proteinům drží velmi pevně. Například křemičité šupiny druhu *M. akrokomos* jen velmi zřídka nalezneme v TEM pozorováních samostatně. *M. punctifera* a *M. akrokomos* jsou těmito adhezivními proteiny poměrně známé. U druhů rodu *Synura* nalezneme i druhy, které dominují v TEM datech (*S. petersenii* var. *columnata*, *S. echinulata* a *S. heteropora*). Dominance *S. echinulata* již

byla vysvětlena dříve velikostí genomu. *S. petersenii* var. *columnata* se při bližším zkoumání a osekvenování ukázala geneticky shodná s druhem *S. glabra*. To jistě přispělo dominanci tohoto druhu v metabarcodingových datech. Kromě něj byly v metabarcodingových datech hojně ještě *S. macropora* a *S. conopea*. Jejich hojnost v metabarcodingových datech proti transmisním mohla být způsobena tím, že kryptické druhy ze sekce *Petersenianae* se morfologicky velmi špatně rozeznávají.

4.3.1 Důvody proč používat metody metabarcodingu a transmisní elektronové mikroskopie pro popis společenstva křemičitých zlativek

Výhody a nevýhody metabarcodingu a tradičních mikroskopických technik pro analýzu společenstev protist jsem podrobně shrnula ve své bakalářské práci (Tučková, 2020). Existuje množství studií, které se zabývají porovnáním molekulárních a morfologických metod pro studium společenstev protist (Groendahl et al., 2017; Rippin et al., 2018; Vasselon et al., 2017; Zimmermann et al., 2015). Obvykle v těchto studiích bylo nalezeno mnohonásobně více druhů molekulárně než morfologicky. To vychází i mně v této práci, ačkoliv rozdíly mezi metodami nejsou tak dramatické jako ve výše zmíněných studiích. Na zlativkách byly v nedávné době provedeny následující studie, které porovnávají molekulární a morfologické přístupy. První z nich Škaloud et al., 2014 se zabývá porovnáním morfologických a molekulárních metod pro rod *Synura* a druhá Bock et al., 2014 používá molekulární i morfologické metody pro studium sezónní dynamiky rodu *Dinobryon*.

I přestože v mém případě rozdíly mezi transmisní elektronovou mikroskopií a metabarcodingem nebyly tak výrazné, moderní molekulární metody odhalují více druhů než tradiční metoda transmisní elektronové mikroskopie. Z porovnání pořadí druhů nalezených metodami TEM a metabarcodingu (Obr. 17 a Obr. 18) vyplývá, že mnoho druhů vyskytujících se v prostředí je metodou transmisní elektronové mikroskopie značně podhodnoceno. To může být způsobeno například nerozpadavostí jejich křemičitého pancíře tj. jejich křemičité šupiny i po smrti buňky drží při sobě a pak nejsou zachytitelné v záznamu. To může ovlivnit druhové seznamy, semikvantity i kvantitativní záznamy. Použití molekulárních metod se může jevit jako lepší možnost. Při nezávislém opakování metabarcodingu ze stejného vzorku můžeme zmírnit riziko kontaminace a zároveň podpořit věrohodnost získaných dat. V mém případě byly vytvořeny dva nezávislé replikáty, které byly následně porovnávány mezi sebou pro větší jistotu, že nedošlo ke kontaminaci. Též byly vybrány jen druhy, které se vyskytovali jen v obou těchto replikátech a můžu mít větší jistotu, že nedošlo k nějaké sekvenační chybě a druh se na lokalitě opravdu v daný čas vyskytoval.

Hlavní nevýhodou použití metabarcodingu se ukazuje nekompletnost referenčního alignmentu, ke kterému se druhy vztahují. V mém případě se tato nevýhoda projevila např. u druhu *M. labyrinthina*, který ačkoliv jeho křemičité šupiny jsou jasně morfologicky rozpoznatelné není možné přiřadit k abundancím získanými metodou metabarcodingu, jelikož neexistuje referenční sekvence. Pokud bychom si byli jistí, že máme kompletní referenční alignment, bylo by možné tradiční TEM metodu nahradit molekulární metodou metabarcodingu. Na informaci o složení společenstva křemičitých zlativek by to mělo minimální vliv oproti tomu, kdybychom se dále držely jen tradiční TEM metody nepoužívali moderní molekulární metodu metabarcoding.

5 Závěr

Tato diplomová práce se zabývá temporální dynamikou společenstva křemičitých zlativek na dvou vybraných lokalitách. Ke studiu společenstva křemičitých zlativek byla použita tradiční metoda pro jejich studování určování jejich křemičitých šupin na transmisním elektronovém mikroskopu a moderní molekulární metoda určování druhů ve společenstvu metabarcoding. Výsledky této práce ukazují, že tyto dvě metody dávají srovnatelné výsledky o společenstvu křemičitých zlativek. Pokud by byl referenční aligment kompletní, bylo by možné pro studium společenstva křemičitých zlativek využít jen metodu metabarcodingu. Jelikož však zatím ani po mnohaleté práci není referenční aligment zcela kompletní, je potřeba stále využívat i tradiční metodu transmisní elektronové mikroskopie. Ukázalo se, že některé druhy křemičitých zlativek jsou v TEM datech oproti metabarcodingovým datům značně upozaděny.

Data získané v této práci ukazují, že temporální dynamika jednotlivých druhů rodů *Synura* a *Mallomonas* se mění i v řádu dní. Následně analýza časového zpoždění potvrzuje, že společenstvo se mění v rámci sezóny. Zároveň výsledky temporální dynamiky jednotlivých druhů sedí i s výsledky jiných studií, kdy vzorky byly odebírány měsíčně a po delší časové období, než je jedna sezóna. Při zaměření studia křemičitých zlativek na kratší časové úseky je lépe patrná temporální dynamika vzácných a nedominantních druhů, které mohou být v měsíčních studiích zcela přehlédnuty, protože se v prostředí vyskytují jen po velmi malý časový úsek. Zároveň je snadnější přiřadit změnám v abundancích jednotlivých druhů enviromentální faktory, které je způsobují. Při měsíčních studiích jsou často používané hodnoty za celý měsíc a aktuální hodnoty v den odběru, které ale vypovídají jen o aktuálním dni a vůbec nemusí odrážet podmínky, které na lokalitě byly po většinu měsíce. Ukázalo se, že křemičité zlativky jsou velmi senzitivní na změny enviromentálních podmínek. Ty se projevují nejen změnami abundancí jednotlivých druhů, ale i jejich objevováním a mizením.

Podarilo se mi odhalit enviromentální faktory, které ovlivňují změny společenstva křemičitých zlativek na jednotlivých lokalitách. Na lokalitě slať Zlativka je společenstvo křemičitých zlativek nejvíce ovlivněné celkovou koncentrací uhlíku, celkovou koncentrací fosforu, průměrnou teplotou vzduchu a rychlostí větru. Na lokalitě Zlatá stoka je společenstvo křemičitých zlativek ovlivněno celkovou koncentrací uhlíku, konduktivitou, pH a rychlostí větru. Zajímavým výsledkem je závislost střídání sekcí *Curtispinae* a *Peterseniana* v závislosti na koncentraci křemíku a rychlosti větru. To se domnívám, že je způsobeno tím, že při větším větru dochází více k míchání vodního sloupce a dochází k jeho obohacení

o křemík. Ten je důležitý pro tvorbu křemičitých šupin celého rodu *Synura*. Každá ze sekcí má nejspíše různé nároky na množství křemíku, které potřebuje pro svůj růst, a proto dochází k jejich střídání.

Některé druhy nalezené v průběhu této práce byly v České republice nalezeny poprvé. (*M. crassisquama* var. *papillosa*, *M. divida*, *M. mangofera* var. *reticulata* *M. peronoides*, a *S. bjoerkii*).

Podarilo se mi nalézt odpovědi na všechny otázky, které jsem si položila na začátku této práce. Křemičité zlativky se ukázaly jako vhodný model pro studium temporální dynamiky na malé časové škále. Jsou velmi senzitivní ke změnám v prostředí a jako takové nám mohou velmi dobře posloužit k vývoji ekologických modelů, pro dlouhodobé předpovědi změn ve společenstvech.

Tato práce přináší velmi zajímavé výsledky o temporální dynamice na krátké časové škále. Potvrzuje, že změny ve společenstvech se odehrávají mnohem rychleji, než se dříve myslelo a stojí za to se jim věnovat i v dalších studiích.

6 Literatura

- Angeler, D. G., Viedma, O., & Moreno, J. M. (2009). Statistical performance and information content of time lag analysis and redundancy analysis in time series modeling. *Ecology*, *90*(11), 3245–3257. <https://doi.org/10.1890/07-0391.1>
- Asmund, B. (1955). Electron Microscope Observations on *Mallomonas caudata* and some Remarks on its occurrence in four Danish ponds. *Botanish Tidsskrift*.
- Bálint, M., Schmidt, P. A., Sharma, R., Thines, M., & Schmitt, I. (2014). An Illumina metabarcoding pipeline for fungi. *Ecology and Evolution*, *4*(13), 2642–2653. <https://doi.org/10.1002/ECE3.1107>
- Blowes, S. A., Supp, S. R., Antão, L. H., Bates, A., Bruelheide, H., Chase, J. M., Moyes, F., Magurran, A., McGill, B., Myers-Smith, I. H., Winter, M., Bjorkman, A. D., Bowler, D. E., Byrnes, J. E. K., Gonzalez, A., Hines, J., Isbell, F., Jones, H. P., Navarro, L. M., ... Dornelas, M. (2019). The geography of biodiversity change in marine and terrestrial assemblages. *Science*, *366*(6463), 339–345. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAW1620>
- Bock, C., Medinger, R., Jost, S., Psenner, R., & Boenigk, J. (2014). Seasonal variation of planktonic chrysophytes with special focus on Dinobryon. *Fottea*, *14*(2). <https://doi.org/10.5507/fot.2014.014>
- Bormann, F. H., & Likens, G. E. (1979). Pattern and Process in a Forested Ecosystem. *Pattern and Process in a Forested Ecosystem*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-6232-9>
- Bradley, B. A., Laginhas, B. B., Whitlock, R., Allen, J. M., Bates, A. E., Bernatchez, G., Diez, J. M., Early, R., Lenoir, J., Vilà, M., & Sorte, C. J. B. (2019). Disentangling the abundance–impact relationship for invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(20), 9919–9924. https://doi.org/10.1073/PNAS.1818081116/SUPPL_FILE/PNAS.1818081116.SAPP.PDF
- Buckley, H. L., Day, N. J., Case, B. S., & Lear, G. (2021). Measuring change in biological communities: multivariate analysis approaches for temporal datasets with low sample size. *PeerJ*, *9*, e11096. <https://doi.org/10.7717/peerj.11096>
- Buckley, H. L., Day, N. J., Lear, G., & Case, B. S. (2021). Changes in the analysis of temporal community dynamics data: a 29-year literature review. *PeerJ*, *9*. <https://doi.org/10.7717/peerj.11250>
- Buscardo, E., Geml, J., Schmidt, S. K., Freitas, H., Da Cunha, H. B., & Nagy, L. (2018). Spatio-temporal dynamics of soil bacterial communities as a function of Amazon forest phenology. *Scientific Reports 2018 8:1*, *8*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22380-z>
- Charles, D. F., & Smol, J. P. (1988). New methods for using diatoms and chrysophytes to infer past pH of low-alkalinity lakes. *Limnology and Oceanography*, *33*. <https://doi.org/10.4319/lo.1988.33.6part2.1451>
- Cisneros, K. O., Smit, A. J., Laudien, J., & Schoeman, D. S. (2011). Complex, Dynamic Combination of Physical, Chemical and Nutritional Variables Controls Spatio-Temporal Variation of Sandy Beach Community Structure. *PLOS ONE*, *6*(8), e23724. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0023724>
- Collins, S. L., Micheli, F., & Hartt, L. (2000). A Method to Determine Rates and Patterns of Variability in Ecological Communities. *Oikos*. <https://www.jstor.org/stable/3547549>
- Diamond, J. M. (1969). Avifaunal equilibria and species turnover rates on the channel islands of

- California. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 64(1), 57. <https://doi.org/10.1073/PNAS.64.1.57>
- Dixit, S. S., Dixit, A. S., & Smol, J. P. (1999). Lake sediment chrysophyte scales from the northeastern U.S.A. and their relationship to environmental variables. *Journal of Phycology*, 35(5). <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3550903.x>
- Donaldson, D. A., & Stein, J. R. (1984). Identification of planktonic Mallomonadaceae and other Chrysophyceae from selected lakes in the lower Fraser Valley, British Columbia (Canada). *Canadian Journal of Botany*, 62(3). <https://doi.org/10.1139/b84-078>
- Dürschmidt, M., & Croome, R. (1985). Mallomonadaceae (Chrysophyceae) from Malaysia and Australia. *Nordic Journal of Botany*, 5(3). <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1985.tb01657.x>
- Gause, G. F. (1934). *The struggle for existence* (Reprint ed). Dover Publications.
- Groendahl, S., Kahlert, M., & Fink, P. (2017). The best of both worlds: A combined approach for analyzing microalgal diversity via metabarcoding and morphology-based methods. *PLoS ONE*, 12(2), e0172808. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172808>
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2023). *AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway*. <http://www.algaebase.org/>.
- Haruštíaková, D., Jarkovský, J., Littnerová, S., & Dušek, L. (2012). *Vícerozměrné statistické metody v biologii*. Akademické nakladatelství CERM.
- Hillebrand, H., Blasius, B., Borer, E. T., Chase, J. M., Downing, J. A., Eriksson, B. K., Filstrup, C. T., Harpole, W. S., Hodapp, D., Larsen, S., Lewandowska, A. M., Seabloom, E. W., Van de Waal, D. B., & Ryabov, A. B. (2018). Biodiversity change is uncoupled from species richness trends: Consequences for conservation and monitoring. *Journal of Applied Ecology*, 55(1), 169–184. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12959>
- Hoffmann, L., & Wille, E. (1992). Occurrence of a metalimnetic summer peak of Mallomonas caudata (Synurophyceae). *Nordic Journal of Botany*, 12, 465–469.
- Ito, H. (1997). *A Floristic Study of Chrysophyta in Kobe District, Hyogo Prefecture, Japan*. <https://doi.org/10.11501/3129889>
- Jackson, D. A. (1995). PROTEST: A PROcrustean Randomization TEST of community environment concordance: *Écoscience*: Vol 2, No 3. *Écoscience*, 2(3).
- Jadrná, I., Siver, P. A., & Škaloud, P. (2021). Morphological evolution of silica scales in the freshwater genus Synura (Stramenopiles). *Journal of Phycology*, 57(1), 355–369. <https://doi.org/10.1111/jpy.13093>
- Jo, B., Shin, W., Boo, S. M., Kim, H., & Siver, P. (2011). Studies on ultrastructure and three-gene phylogeny of the genus Mallomonas (Synurophyceae). *Journal of Phycology*, 47. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00953.x>
- Jo, B. Y., Kim, J. I., Škaloud, P., Siver, P. A., & Shin, W. (2016). Multigene phylogeny of Synura (Synurophyceae) and descriptions of four new species based on morphological and DNA evidence. *European Journal of Phycology*, 51(4). <https://doi.org/10.1080/09670262.2016.1201700>
- Kalinowska, K., & Grabowska, M. (2016). Autotrophic and heterotrophic plankton under ice in a eutrophic temperate lake. *Hydrobiologia*, 777(1), 111–118. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2769-8>

- Kim, H. S., & Takamura, N. (2001). Occurrence, seasonal changes and vertical distribution of silica-scaled chrysophytes in a small fish-free pond in Japan. *Korean Journal of Biological Sciences*, 5(2), 117–126. <https://doi.org/10.1080/12265071.2001.9647592>
- Kim, J. H., Lee, K. L., & Kim, H. S. (2009). Effect of nutrients and light intensity on growth of *Mallomonas caudata* (Synurophyceae). *Nordic Journal of Botany*, 27(6). <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2009.00475.x>
- Kristiansen, J. (1985). Occurrence of scale-bearing Chrysophyceae in a eutrophic Danish lake. *SIL Proceedings, 1922-2010*, 22(5), 2826–2829. <https://doi.org/10.1080/03680770.1983.11897783>
- Kučera, T. (2022). Putování po Zlaté stoce za kulturním dědictvím Třeboňska. *Živa*, 2.
- Leadbeater, B. S. C. (1983). Scale case construction in *Synura petersenii* Korsch. (Chrysophyceae). 7–12.
- Legendre, P., & Legendre, L. (1998). Numerical ecology. 2nd. *Elsevier Science*.
- Lehman, J. T., & Sandgren, C. D. (1985). Species-specific rates of growth and grazing loss among freshwater algae. *Limnology and Oceanography*, ss.
- Lindenmayer, D. B., Likens, G. E., Andersen, A., Bowman, D., Bull, C. M., Burns, E., Dickman, C. R., Hoffmann, A. A., Keith, D. A., Liddell, M. J., Lowe, A. J., Metcalfe, D. J., Phinn, S. R., Russell-Smith, J., Thurgate, N., & Wardle, G. M. (2012). Value of long-term ecological studies. *Austral Ecology*, 37(7), 745–757. <https://doi.org/10.1111/J.1442-9993.2011.02351.X>
- Liu, S., Cui, Z., Zhao, Y., & Chen, N. (2022). Composition and spatial-temporal dynamics of phytoplankton community shaped by environmental selection and interactions in the Jiaozhou Bay. *Water Research*, 218, 118488. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118488>
- Maberly, S. C., Ball, L. A., Raven, J. A., & Sültemeyer, D. (2009). Inorganic carbon acquisition by chrysophytes. *Journal of Phycology*, 45(5). <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00734.x>
- Magalhães, M. F., Beja, P., Schlosser, I. J., & Collares-Pereira, M. J. (2007). Effects of multi-year droughts on fish assemblages of seasonally drying Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, 52(8), 1494–1510. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2427.2007.01781.X>
- Magnuson, J. J. (1990). Long-Term Ecological Research and the Invisible Present. *BioScience*, 40(7), 495–501. <https://doi.org/10.2307/1311317>
- Mesman, J. P., Ayala, A. I., Goyette, S., Kasparian, J., Marcé, R., Markensten, H., Stelzer, J. A. A., Thayne, M. W., Thomas, M. K., Pierson, D. C., & Ibelings, B. W. (2022). Drivers of phytoplankton responses to summer wind events in a stratified lake: A modeling study. *Limnology and Oceanography*, 67(4). <https://doi.org/10.1002/lno.12040>
- Němcová, Y., Neustupa, J., Kviderová, J., & Řezáčová-Škaloudová, M. (2010). Morphological plasticity of silica scales of *Synura echinulata* (Synurophyceae) in crossed gradients of light and temperature – a geometric morphometric approach. *Nova Hedwigia, Beihefte*, 136. <https://doi.org/10.1127/1438-9134/2010/0136-0021>
- Němcová, Y., & Pichrtová, M. (2012). Shape dynamics of silica scales (Chrysophyceae, stramenopiles) associated with pH. *Fottea*, 12(2), 281–291. <https://doi.org/10.5507/fot.2012.020>
- Nicholls, K. H., & Wujek, D. E. (2003). Chrysophycean algae. *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*, 471–509. <https://doi.org/10.1016/B978-012741550-5/50013-1>
- Nygaard, G. (1949). *Hydrobiological Studies on Some Danish Ponds and Lakes*. Kongelige Danske Videnskabernes Selskab.

- O'Sullivan, D. J., Cotter, P. D., O'Sullivan, O., Giblin, L., McSweeney, P. L. H., & Sheehan, J. J. (2015). Temporal and spatial differences in microbial composition during the manufacture of a continental-type cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(7), 2525–2533. <https://doi.org/10.1128/AEM.04054-14/FORMAT/EPUB>
- Oksanen, J. (2015). *Multivariate Analysis of Ecological Communities in R: vegan tutorial*.
- Olefeld, J. L., Majda, S., Albach, D. C., Marks, S., & Boenigk, J. (2018). Genome size of chrysophytes varies with cell size and nutritional mode. *Organisms Diversity and Evolution*, *18*(2). <https://doi.org/10.1007/s13127-018-0365-7>
- Padisák, J., Hajnal, É., Naselli-Flores, L., Dokulil, M. T., Nöges, P., & Zohary, T. (2010). Convergence and divergence in organization of phytoplankton communities under various regimes of physical and biological control. *Hydrobiologia*, *639*(1). <https://doi.org/10.1007/s10750-009-0021-5>
- Payne, R. J. (2013). Seven reasons why protists make useful bioindicators. *Acta Protozoologica*, *52*(3). <https://doi.org/10.4467/16890027AP.13.0011.1108>
- Pereira, R. P. A., Org Peplies, J. €., H € Ofle, M. G., & Brettar, I. (2017). Bacterial community dynamics in a cooling tower with emphasis on pathogenic bacteria and Legionella species using universal and genus-specific deep sequencing. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.011>
- Peres-Neto, P. R., & Jackson, D. A. (2001). How well do multivariate data sets match? The advantages of a procrustean superimposition approach over the Mantel test. *Oecologia*, *129*(2). <https://doi.org/10.1007/s004420100720>
- Péterfi, L. S., Momeu, L., Padisák, J., & Varga, V. (1998). Silica-scaled chrysophytes from permanent and temporary waters of Hortobágy, eastern Hungary. *Hydrobiologia*, *369–370*. <https://doi.org/10.1023/A:1017093725502>
- Phillips, K. A., & Fawley, M. W. (2002). Winter phytoplankton community structure in three shallow temperate lakes during ice cover. *Hydrobiologia*, *470*. <https://doi.org/10.1023/A:1015667803372>
- Pichrtová, M., & Němcová, Y. (2011). Effect of temperature on size and shape of silica scales in *Synura petersenii* and *Mallomonas tonsurata* (Stramenopiles). *Hydrobiologia*, *673*(1). <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0743-z>
- Psíková, J. (2013). *130 let slatinných lázní v Třeboni*. Bertiny lázně Třeboň, Lázně Aurora.
- Quensen, J. (n.d.). *Procrustes Analysis*. Retrieved April 20, 2023, from <https://john-quensen.com/tutorials/procrustes-analysis/>
- Řezáčová-Škaloudová, M., Neustupa, J., & Němcová, Y. (2010). Effect of temperature on the variability of silicate structures in *Mallomonas kalinae* and *Synura curtispina* (Synurophyceae). *Nova Hedwigia, Beihefte*, *136*. <https://doi.org/10.1127/1438-9134/2010/0136-0055>
- Rippin, M., Borchhardt, N., Williams, L., Colesie, C., Jung, P., Büdel, B., Karsten, U., & Becker, B. (2018). Genus richness of microalgae and Cyanobacteria in biological soil crusts from Svalbard and Livingston Island: morphological versus molecular approaches. *Polar Biology*, *41*(5), 909–923. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2252-2>
- Roijackers, R. M. M., & Kessels, H. (1986). Ecological characteristics of scale-bearing Chrysophyceae from The Netherlands. *Nordic Journal of Botany*, *6*(3). <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1986.tb00892.x>
- Ryo, M., Aguilar-Trigueros, C. A., Pinek, L., Muller, L. A. H., & Rillig, M. C. (2019). Basic

- Principles of Temporal Dynamics. *Trends in Ecology and Evolution*, 34(8), 723–733.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.03.007>
- Sandgren, C. D., Hall, S. A., & Barlow, S. B. (1996). Siliceous scale production in chrysophyte and synurophyte algae. I. Effects of silica-limited growth on cell silica content, scale morphology, and the construction of the scale layer of *Synura petersenii*. *Journal of Phycology*, 32(4).
<https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00675.x>
- Siver, P. A. (1989). The distribution of scaled chrysophytes along a pH gradient. *Canadian Journal of Botany*, 67(7). <https://doi.org/10.1139/b89-268>
- Siver, P. A., & Chock, J. S. (1986). Phytoplankton dynamics in a chrysophycean lake. *Chrysophytes: Aspects and Problems*.
- Siver, Peter A. (1991). The Biology of Mallomonas. In *The Biology of Mallomonas*.
<https://doi.org/10.1007/978-94-011-3376-0>
- Siver, Peter A., & Hamer, J. S. (1992). Seasonal periodicity of Chrysophyceae and Synurophyceae in a small New England lake: implications for paleolimnological research. *Journal of Phycology*, 28(2), 186–198. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1992.00186.x>
- Škaloud, P., Škaloudová, M., Jadrná, I., Bestová, H., Pusztai, M., Kapustin, D., & Siver, P. A. (2020). Comparing morphological and molecular estimates of species diversity in the freshwater genus *Synura* (Stramenopiles): a model for understanding diversity of eukaryotic microorganisms. *Journal of Phycology*, 0–3. <https://doi.org/10.1111/jpy.12978>
- Škaloud, P., Škaloudová, M., Procházková, A., & Němcová, Y. (2014). Morphological delineation and distribution patterns of four newly described species within the *Synura petersenii* species complex (Chrysophyceae, Stramenopiles). *European Journal of Phycology*, 49(2).
<https://doi.org/10.1080/09670262.2014.905710>
- Smol, J. P. (1988). Chrysophycean microfossils in paleolimnological studies. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 62(1–4). [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(88\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0031-0182(88)90058-2)
- Strayer, D., Glitzenstein, J. S., Jones, C. G., Kolasa, J., Likens, G. E., McDonnell, M. J., Parker, G. G., & Pickett, S. T. A. (1986). Long-Term Ecological Studies: an Illustrated Account of Their Design, Operation, and Importance to Ecology. *Adv. Ecol. Acad. Sinica*, 2.
- Sze, Y., Miranda, L. N., Sin, T. M., & Huang, D. (2018). Characterising planktonic dinoflagellate diversity in Singapore using DNA metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2, e25136.
<https://doi.org/10.3897/mbmg.2.25136>
- Tammert, H., Tšertova, N., Kiprovskaia, J., Baty, F., Nõges, T., & Kisand, V. (2015). Contrasting seasonal and interannual environmental drivers in bacterial communities within a large shallow lake: evidence from a seven year survey. *Aquatic Microbial Ecology*, 75(1), 43–54.
<https://www.int-res.com/abstracts/ame/v75/n1/p43-54/>
- Tučková, K. (2020). *Porovnání metabarcodingu a morfologických přístupů pro analýzu diverzity společenstev protist*. Karlova univerzita.
- Vallè, Y., Artacho, A., Pascual-García, A., Ferrú, M. L., Gosalbes, M. J., Abellá, J. J., & Francino, M. P. (2014). Microbial Succession in the Gut: Directional Trends of Taxonomic and Functional Change in a Birth Cohort of Spanish Infants. *PLOS Genetics*, 10(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004406>
- Vasselon, V., Rimet, F., Tapolczai, K., & Bouchez, A. (2017). Assessing ecological status with diatoms DNA metabarcoding: Scaling-up on a WFD monitoring network (Mayotte island, France). *Ecological Indicators*, 82, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.06.024>

- Watson, S., Satchwill, T., Dixon, E., & Mccauley, E. (2001). Under-ice blooms and source-water odour in a nutrient-poor reservoir: Biological, ecological and applied perspectives. *Freshwater Biology*, *46*, 1553–1567. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00769.x>
- Wilson, S. K., Fisher, R., Pratchett, M. S., Graham, N. A. J., Dulvy, N. K., Turner, R. A., Cakacaka, A., Polunin, N. V. C., & Rushton, S. P. (2008). Exploitation and habitat degradation as agents of change within coral reef fish communities. *Global Change Biology*, *14*(12), 2796–2809. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2486.2008.01696.X>
- Wu, Y., Zhang, J. P., Hou, Z. Y., Tian, Z. Bin, Chu, Z. S., & Wang, S. R. (2022). Seasonal Dynamics of Algal Net Primary Production in Response to Phosphorus Input in a Mesotrophic Subtropical Plateau Lake, Southwestern China. *Water (Switzerland)*, *14*(5). <https://doi.org/10.3390/w14050835>
- Zimmermann, J., Glöckner, G., Jahn, R., Enke, N., & Gemeinholzer, B. (2015). Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular Ecology Resources*, *15*(3), 526–542. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12336>

7 Přílohy

7.1 Enviromentální tabulka

Tab. 4 Enviromentální tabulka pro obě lokality

odber	TN	TP	TC	Si	Ca	conductivity	water.temp	pH	wind.speed.be2t	wind.speed1be	wind.speed	humidity	rainfall.be2t	rainfall.1be	rainfall	sunlight	avg.temp	max.temp	min.temp	
R1	3,6	1,16	42,1	5,7	14,7	320	7,5	6,8	3,05	2,7	3,1	71	1,85	1,7	0,5	4,3	0,4	5,1	-3,9	
R2	3,1	0,823	43,2	5,57	14,3	143	7,8	6,6	2,3	2,6	2	51	0,3	0,1	0	0	9,7	7,6	15,9	-4,4
R3	1,8	0,877	35,2	4,15	13,2	125	10,4	6,5	1,55	1,4	2,7	87	0	0	6,3	0	2,9	12,1	0,4	
R4	2,1	0,514	33,2	3,56	12,9	131	8,4	7,1	2,5	2,5	2,5	70	1	0	0,1	4,1	1,9	5,9	-2,8	
R5	2,1	0,843	36,7	3,95	13,4	132	8,4	6,6	1,65	1,7	0,6	84	0,05	0	1,2	0	5,1	8,8	2	
R6	2,1	0,547	37,4	3,99	13,1	126	13	6,4	1,1	1,1	0,7	83	0,65	0,9	0,7	7,7	7,5	15,7	0,7	
R7	1,3	0,693	39,4	4,07	13,1	120	15,4	6,9	1,4	1,4	1,4	57	1	0	0	0	12,4	8,6	16,2	-2,1
R8	1,1	1,05	44,8	3,62	12,9	115	12,1	6,3	1,75	1,8	2,4	53	0	0	0	0	12,6	7,1	13,1	-2,1
R9	1,2	0,547	43,6	3,17	12,3	115	18,5	6,9	2,85	2,9	0,5	67	0,7	1,4	10,2	8,5	12,7	19,6	9	
R10	1,4	0,623	40,7	3,9	12,6	134	12,7	6,8	2,45	3	2,6	61	7,55	0,1	0	7,4	7,5	12,7	2,1	
R11	1,6	0,254	43	4,35	13,3	121	12,3	6,5	3,1	2,9	3,4	69	0,9	1,8	5,4	2,9	8,4	13,5	1,3	
R12	1,2	0,171	41,2	3,84	12,4	118	21,1	7,1	2,65	1,3	3,6	51	0,15	0	0	13,2	16,4	23,5	1,8	
R13	1,5	0,245	44,7	3,12	12,6	118	18,8	6,3	3,05	3	2,1	94	1,9	3,8	11,6	0,2	1,3	21,3	11,9	
R14	3,7	0,187	43,3	4,35	12,2	119	12,4	6,8	1,75	1,1	1	84	16,05	1,8	0,1	3,3	10,6	15,2	3,9	
R15	3,2	0,182	45,9	4,07	14,8	132	13,3	7	2,15	2,1	2	73	0,85	1,4	0,9	4,9	10,1	15,9	5,3	
R16	2,8	1,1	47,5	4,55	14	131	13,2	6,2	1,65	1,8	2,4	66	3,45	4,4	0,6	2,1	12,4	17,4	4,1	
R17	2,2	0,125	60,5	4,42	14,7	125	11,3	6,3	1,5	1,1	2,5	78	1,55	3,1	3,3	1,4	11,1	17,1	2,8	
R18	1,9	0,12	49,3	4,12	13,6	130	12,5	6,3	1,95	3,1	1,7	72	0,6	0	2,1	1,8	10,3	16,2	8	
R19	2	0,211	54,4	4,37	14,4	130	15,4	6	1,6	1,7	1,8	78	0,1	0,1	0	3,1	8,4	12,7	5	
R20	1,8	0,181	50,1	4,45	14,4	131	19,8	6,3	0,55	0,8	1,4	56	0	0	0	13,5	15,5	22,8	4,6	
R21	1,9	0,201	53,5	4,15	14,4	128	22,9	6,1	1,15	1,1	1,7	71	0	0	2	5,3	19,1	28,2	13,7	
R22	1,2	0,196	57	4,03	14,3	124	21,1	6,7	1	0,5	0,8	69	0,05	0	0	10	17,2	25,7	10,2	
R23	0,6	0,263	54,7	3,32	13,4	126	23,1	6,9	1	0,9	1,4	86	2,9	0,8	4,9	4,6	16,1	24,7	9,9	
R24	0,8	0,287	59	3,8	13,6	117	22,3	6,7	2,9	2,7	0,9	66	0,2	0	0	11,3	14,5	22,4	5,4	
S1	2,9	0,55	15,3	4,43	14,2	205	5,7	9,5	3,05	2,7	3,1	71	1,85	1,7	0,5	0,5	4,3	0,4	5,1	-3,9
S2	3,1	0,616	14,2	4,7	14,9	209	5,3	7,4	2,3	2,6	2	51	0,3	0,1	0	9,7	7,6	15,9	-4,4	
S3	2,2	0,773	14,8	3,93	14,5	208	8,1	7,3	1,55	1,4	2,7	87	0	0	6,3	0	2,9	12,1	0,4	
S4	2,6	0,682	15,3	4,26	15	232	6,5	7,7	2,5	2,5	2,5	70	1	0	0,1	4,1	1,9	5,9	-2,8	
S5	2,8	0,423	16,9	3,56	13,9	186	6,6	7,7	1,65	1,7	0,6	84	0,05	0	1,2	0	5,1	8,8	2	
S6	2,3	0,716	20,4	3,99	14,3	200	7,3	9	1,1	1,1	0,7	83	0,65	0,9	0,7	7,7	7,5	15,7	0,7	
S7	2,7	0,603	18,5	3,79	13,8	210	10,1	7,6	1,4	1,4	1,5	57	1	0	0	12,4	8,6	16,2	-2,1	
S8	3,3	0,331	16,7	3,09	13,7	170	3,31	7,6	1,75	1,8	2,4	53	0	0	0	12,6	7,1	13,1	-2,1	
S9	3,1	0,555	16,2	2,65	14,6	212	13,3	7,6	2,85	2,9	0,5	67	0,7	1,4	10,2	8,5	12,7	19,6	9	
S10	3,1	0,311	17,6	2,93	15	227	11,3	7,3	2,45	3	2,6	61	7,55	0,1	0	7,4	7,5	12,7	2,1	
S11	2,5	0,061	17	3,74	12,9	185	10,4	7,6	3,1	2,9	3,4	69	0,9	1,8	5,4	2,9	8,4	13,5	1,3	
S12	2,2	0,183	17,3	3,22	14,8	208	13,4	7,5	2,65	1,3	3,6	51	0,15	0	0	13,2	16,4	23,5	1,8	
S13	1,7	0,107	19,2	2,72	14,4	217	15,8	7	3,05	3	2,1	94	1,9	3,8	11,6	0,2	1,3	21,3	11,9	
S14	3,6	0,183	38,1	4,59	13,3	142	12	6,5	1,75	1,1	1	84	16,05	1,8	0,1	3,3	10,6	15,2	3,9	
S15	2,4	0,088	28,9	4,38	12,3	141	13,1	6,5	2,15	2,1	2	73	0,85	1,4	0,9	4,9	10,1	15,9	5,3	
S16	1,9	0,087	25,6	4,3	12,9	161	10,8	7,2	1,65	1,8	2,4	66	3,45	4,4	0,6	2,1	12,4	17,4	4,1	
S17	2	0,141	24,9	4,33	13,3	167	10,7	7	1,5	1,1	2,5	78	1,55	3,1	3,3	1,4	11,1	17,1	2,8	
S18	2,1	0,213	19	4,51	13,5	165	11,5	6,9	1,95	3,1	1,7	72	0,6	0	2,1	1,8	10,3	16,2	8	
S19	2,1	0,13	21,5	4,62	14,4	192	14,2	7	1,6	1,7	1,8	78	0,1	0,1	0	3,1	8,4	12,7	5	
S20	2,5	0,153	20,5	4,55	14,3	195	14,2	7,1	0,55	0,8	1,4	56	0	0	0	13,5	15,5	22,8	4,6	
S21	2	0,098	22	4,37	15,1	212	17,8	6,9	1,15	1,1	1,7	71	0	0	2	5,3	19,1	28,2	13,7	
S22	1,9	0,108	19,1	4,63	16,5	258	16,7	7	1	0,5	0,8	69	0,05	0	0	10	17,2	25,7	10,2	
S23	1,8	0,189	22,5	4,45	14,9	217	17,5	6,7	1	0,9	1,4	86	2,9	0,8	4,9	4,6	16,1	24,7	9,9	
S24	2,2	0,193	23,6	4,17	14,8	214	17,5	7	2,9	2,7	0,9	66	0,2	0	0	11,3	14,5	22,4	5,4	

7.2 TEM relativní abundance

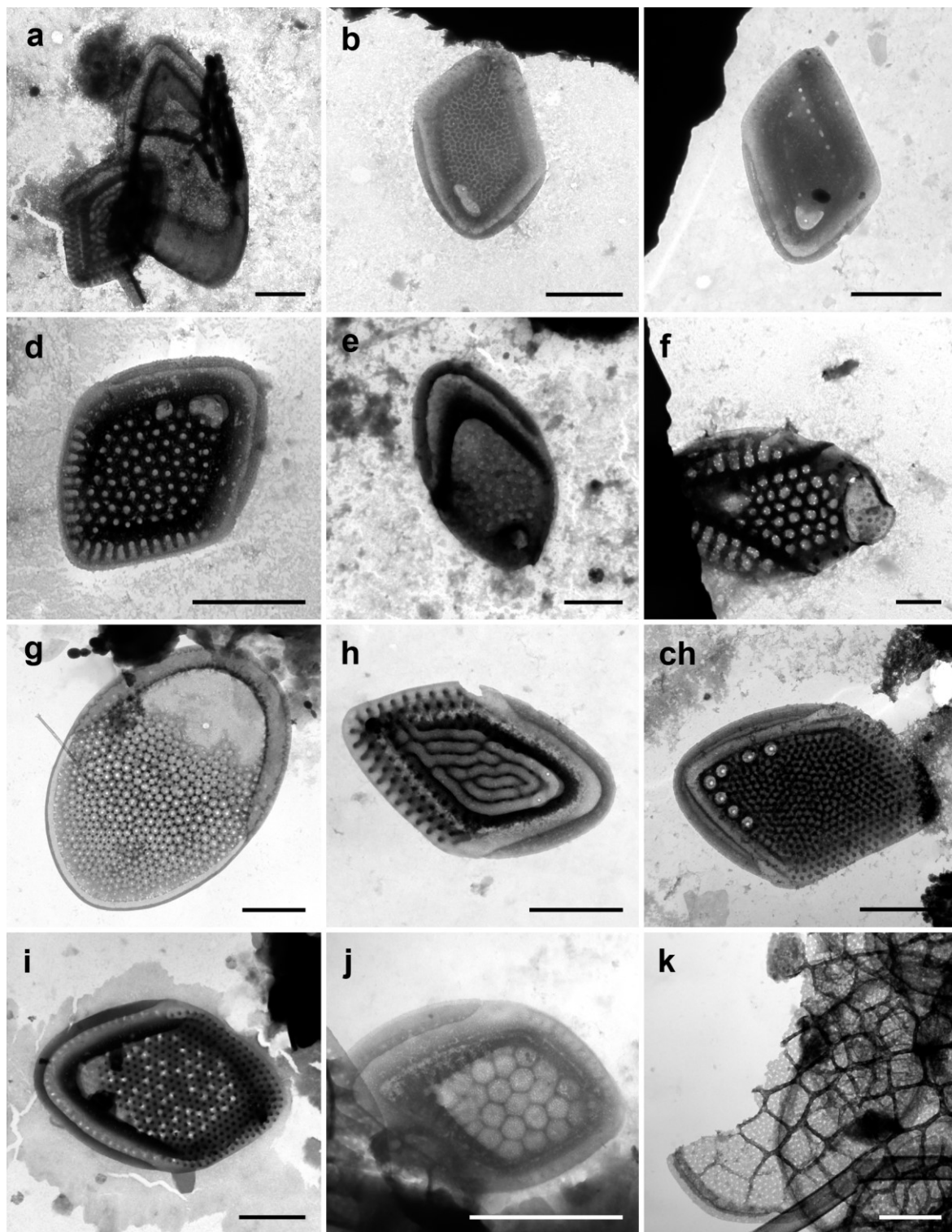
Tab. 5 TEM relativní abundance lokalita slat' Zlativka

Druhy	7.4.	9.4.	12.4.	15.4.	18.4.	21.4.	24.4.	27.4.	30.4.	3.5.	6.5.	9.5.	12.5.	15.5.	18.5.	21.5.	24.5.	27.5.	30.5.	2.6.	5.6.	8.6.	11.6.	14.6.	
<i>M. acaroides</i>																									
<i>M. actinoloma v. maramuresensis</i>																									
<i>M. akrokomos</i>																									
<i>M. alata hualvensis</i>																									
<i>M. annulata</i>																									
<i>M. areolata</i>			1																						
<i>M. calceolus</i>			1																						
<i>M. caudata</i>							1			1															
<i>M. cf. crocodiflorum</i>			1																						
<i>M. cf. serrata</i>			1																						
<i>M. conspersa</i>																									
<i>M. crassiquama</i>																									
<i>M. divida/cf. grata</i>		1	1	1	1						1														
<i>M. flora</i>			1																						
<i>M. hexareticulata</i>																									
<i>M. insignis</i>																									
<i>M. koreana</i>			1				1	1	1	1															
<i>M. labyrinthina</i>		1	1	1	1			1	2																
<i>M. mangofera cf. sulcata</i>													1												
<i>M. mangofera f. foveata</i>			1																						
<i>M. mangofera f. mangofera</i>		1										2													
<i>M. mangofera f. mangofera sensu Peterfi</i>																									
<i>M. matvienkoeae</i>		2	1	2	1	1	1	1	2	2		1													
<i>M. ouradion</i>																									
<i>M. oviformis</i>			2																						
<i>M. palaestrica</i>		1	1	2	1	1	1	1	1	1															
<i>M. papillosa</i>		2	2	3	1	1	1	1	1	1															
<i>M. parvula</i>																									
<i>M. peronoides</i>																									
<i>M. pillula exannulata</i>																									
<i>M. pilula pilula</i>		1																							
<i>M. prora</i>		1																							
<i>M. pumilio pumilio</i>																									
<i>M. punctifera</i>																									
<i>M. schwemmlei</i>			1																						
<i>M. striata</i>																									
<i>M. tolerans</i>																									
<i>M. tonsurata</i>			1																						
<i>S. echinulata</i>		3	3	2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>S. glabra</i>																									
<i>S. heterophora</i>			3	2	2	3	3	3																	
<i>S. macrophora</i>																									
<i>S. petersenii</i>																									
<i>S. petersenii columnata</i>		3					2	1	3	3															
<i>S. spinosa/curtispina</i>		3	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2	2	1	1	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2
<i>S. uvella</i>										2															

Tab. 6 TEM relativní abundance lokalita Zlatá stoka

Druhy	7.4.	9.4.	12.4.	15.4.	18.4.	24.4.	27.4.	30.4.	3.5.	6.5.	12.5.	24.5.	27.5.	30.5.	2.6.	8.6.	11.6.	14.6.	
<i>M. actinoloma</i> var. <i>maramuresensis</i>									1						1		1		1
<i>M. akrokomos</i>																			
<i>M. annulata</i>				1			1												
<i>M. areolata</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1			
<i>M. caudata</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2			2	2	2
<i>M. cf. acaroides</i>												1							
<i>M. conspersa</i>				1															
<i>M. crassiquama</i>	1	1							1	1	1	1		1	2	1	1	1	1
<i>M. crassiquama</i> var. <i>papillosa</i>				1						1	1								
<i>M. cristata</i>																			
<i>M. divida</i>																			
<i>M. doignonii</i>																			
<i>M. elongata</i>	1				1				1	1				1	1	1		1	1
<i>M. flora</i>		1	1						1	1	1	1		1	2	1		1	1
<i>M. heterospina</i>		1	1		1														
<i>M. koreana</i>	1		1	1	1	1	1	1	1						1				
<i>M. labyrinthina</i>													1						
<i>M. matvienkoae</i>																			
<i>M. mangofera mangofera</i>																			
<i>M. palaestrica</i>								1	1		1	1	1	1	1	1			1
<i>M. parvula</i>																			
<i>M. papillosa</i>			1				1			1						1			1
<i>M. prora</i>											1								
<i>M. punctifera</i>														1					
<i>M. schwemmleri</i>	1						1		1	1									1
<i>M. striata</i>					1														1
<i>M. striata</i> C								1	1					2				1	1
<i>M. tolerans</i>																			1
<i>M. tellingii</i>		1																	
<i>M. tonsurata</i>		1	1		1					1				1	1	1	1	1	1
<i>S. echinulata</i>	3	3	2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>S. glabra</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>S. petersenii</i>	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	1	1	2	3	3	3	2
<i>S. spinosa</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
<i>S. uvella</i>	1																		

7.5 Tabule s morfotypy, které nelze přesně přiřadit konkrétním druhům a druhy nalezenými pouze morfologicky



Obr. 53 Tabule s morfotypy, které nelze přesně přiřadit konkrétním druhům a druhy nalezenými pouze morfologicky. a – *M. cf. alata*; b – *M. cf. crocodilorum*; c – *M. . cf. mangofera* var. *sulcata*; d – *M. cf. serrata*; e – *M. conspersa*; f – *M. crassisquama* var. *papillosa*; g – *M. hexareticulata*; h – *M. labyrinthina*; ch – *M. mangofera* var. *foveata*; i – *M. mangofera* sensu Peterfi & Momeu 1977; j – *M. pillula* f. *pillula*; k – *M. teilingii*. Měřítko 1 μ m. Fotky pochází z archivu autorky.