

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



**Bc. Jiří Lukeš**

**Evolutione velikosti genomu u streptofytních řas rodu *Zygnema* a souvislosti s ekologií jednotlivých druhů**

**Evolution of genome size in streptophyte algae genus *Zygnema* and its ecological consequences**

Diplomová práce

Školitelka: RNDr. Dora Čertnerová, Ph.D.

Konzultantka: RNDr. Martina Pichrtová, Ph.D.

Praha, 2023

**Prohlášení:**

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

Podpis:

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl v první řadě poděkovat vedoucí mé práce RNDr. Doře Čertnerové, Ph.D. za odborné vedení práce, za její obrovskou ochotu, trpělivost a čas při konzultacích a za všechny cenné rady a připomínky. Současně bych chtěl poděkovat a RNDr. Martině Pichrtové, Ph.D. za podnětná doporučení při psaní mé práce a za zasvěcení do práce se spájivými řasami. Poděkování patří také vedoucímu Sudovy laboratoře průtokové cytometrie Mgr. Tomáši Urfusovi, Ph.D. a manažerce laboratoře Ing. Haně Šípkové, Ph.D. za pomoc a vstřícnost při cytometrii mých nestandardních vzorků. Mgr. Zuzaně Burdíkovej, Ph.D. pak děkuji za zasvěcení do metody Light sheet mikroskopie. Mé díky patří i všem členům algologického oddělení za podnětné prostředí a rady, které mi v průběhu zpracování práce poskytli. Na závěr bych chtěl vyjádřit poděkování mé přítelkyni a rodičům, kteří mě při psaní práce podporovali a byli mi oporou v průběhu celého studia

**Abstrakt:**

Velikost genomu je znakem, který napříč eukaryotickou diverzitou variuje 64 000 ×. Tato variabilita však nemá žádnou spojitost s komplexitou organismů. Avšak samotné množství DNA souvisí s řadou fenotypických znaků organismů. Konkrétně studie prováděné na rostlinách hledají možné souvislosti velikosti genomu s ekologickými nároky jednotlivých druhů.

Obdobné studie u mikroskopických řas však nejsou hojné a často se potýkají s řadou metodologických problémů. Tato práce představuje data o velikosti genomu získaná pomocí metody průtokové cytometrie pro 129 zástupců rodu *Zygnema* spadajících do 68 evolučních linií. Měření odhalila rozmezí velikosti genomu v rámci tohoto rodu od 0,22 do 5,06 pg. Zároveň bylo popsáno několik linií vykazujících značnou variabilitu ve velikosti genomu, která v mnohých případech napovídá o možných polyploidizacích u tohoto rodu. Identifikace identického poměru GC páru bází u vybraných domnělých polyploidních a monoploidních zástupců podpořila hypotézu o polyploidizaci. Rovněž byla ověřena platnost obecné korelace velikosti buněk a velikosti genomu v rámci této skupiny.

Díky známým fylogenetickým vztahům mezi měřenými liniemi byla rekonstruována evoluce velikosti genomu v rodě *Zygnema*. Dále byly analyzovány možné vztahy mezi velikostí genomu a ekologickými preferencemi jednotlivých evolučních linií se zohledněním vlivu fylogeneze. Tyto analýzy přinesly první příklady možných spojitostí velikosti genomu s ekologií mikroskopických řas. Tato studie rozšiřuje poznání o variabilitě genomů a jejich evoluci v souvislosti s ekologickými faktory a přináší nové pohledy na vztah mezi velikostí genomu a ekologickými strategiemi u mikroskopických řas rodu *Zygnema*.

**Klíčová slova:** *Zygnema*, Zygnematophyceae, průtoková cytometrie, velikost genomu, polyploidie,

**Abstract:**

Genome size is a trait that varies  $64,000 \times$  across eukaryotic diversity. However, this variability has nothing to do with the complexity of organisms. The amount of DNA itself is however related to a number of phenotypic traits of organisms. Specifically, studies conducted on plants look for possible connections between genome size and the ecological requirements of individual species.

Similar studies in microscopic algae are not abundant and often face a number of methodological problems. This thesis presents genome size data obtained by flow cytometry for 129 representatives of the genus *Zygnema* belonging to 68 evolutionary lineages. Measurements revealed a genome size range within this genus from 0.22 to 5.06 pg. At the same time, several lines showing considerable variability in genome size were described, which in many cases indicates possible polyploidization in this genus. The identification of an identical GC base pair ratio in selected putative polyploid and monoploid representatives supported the hypothesis of polyploidization. The general correlation of cell size and genome size within this group was also validated.

Due to the known phylogenetic relationships between the measured lineages, the genome size evolution in the genus *Zygnema* was reconstructed. Further, possible relationships between genome size and ecological preferences of individual evolutionary lines were analyzed, taking into account the influence of phylogeny. These analyzes yielded the first examples of possible connections between genome size and the ecology of microscopic algae. This study expands knowledge of genome variability and evolution in relation to ecological factors and provides new insights into the relationship between genome size and ecological strategies in the microscopic alga *Zygnema*.

**Key Words:** *Zygnema*, Zygnematophyceae, flow cytometry, genome size, polyploidy,

# Obsah

|  |    |
|--|----|
| 1. Úvod .....  | 1  |
| 1.1. Velikost genomu .....   | 1  |
| 1.1.1. Mechanismy vzniku variability ve velikosti genomu .....                 | 2  |
| 1.1.2. Souvislosti velikost genomu s fenotypickými a ekologickými nároky ..... | 3  |
| 1.2. Průtoková cytometrie .....  | 4  |
| 1.3. Obecná charakteristika třídy Zygnematophyceae .....                       | 5  |
| 1.3.1. Fylogeneze třídy Zygnematophyceae .....                                 | 8  |
| 1.3.2. Charakteristika rodu Zygnema .....                                      | 10 |
| 1.3.3. Velikost genomu v rámci třídy Zygnematophyceae .....                    | 13 |
| 2. Cíle práce .....  | 16 |
| 3. Materiál a metody .....   | 17 |
| 3.1. Původ studovaných kultur .....  | 17 |
| 3.2. Kultivace řas <i>in vitro</i> .....                                       | 17 |
| 3.3. Analýza velikosti buněk .....   | 18 |
| 3.4. Analýza objemu plastidů .....   | 18 |
| 3.5. Průtoková cytometrie .....  | 19 |
| 3.5.1. Stanovení absolutní velikosti genomu .....                              | 20 |
| 3.5.2. Stanovení obsahu GC bází .....  | 21 |
| 3.6. Rekonstrukce evoluce velikosti genomu a šířky buněk .....                 | 22 |
| 3.7. Datový soubor ekogeografických proměnných .....                           | 23 |
| 3.8. Statistické hodnocení dat .....   | 25 |
| 3.8.1. Lineárně regresní modely ekogeografických trendů .....                  | 25 |
| 3.8.2. PGLS modely ekogeografických trendů .....                               | 26 |
| 3.8.3. Souvislosti velikosti genomu a šířky buněk .....                        | 26 |
| 4. Výsledky .....  | 28 |
| 4.1. Velikost genomu v rámci rodu <i>Zygnema</i> .....                         | 28 |
| 4.2. Šířka buněk napříč liniemi rodu <i>Zygnema</i> .....                      | 30 |
| 4.3. Rekonstrukce evoluce velikosti genomu a šířky buněk .....                 | 30 |
| 4.4. Vliv velikosti genomu na ekologické nároky a geografické rozšíření .....  | 33 |
| 4.4.1. Jednotlivé LM a PGLS modely vlivu ekogeografických proměnných .....     | 35 |
| 4.4.2. Souhrnné PGLS modely vlivu ekogeografických proměnných .....            | 38 |
| 4.5. Souvislosti velikosti genomu a šířky buněk .....                          | 39 |
| 4.6. Obsah GC bází .....   | 40 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 4.7.   | Objem plastidů .....  | 41 |
| 5.     | Diskuze.....  | 43 |
| 5.1.   | Specifika průtokové cytometrie mikroskopických řas.....                 | 43 |
| 5.1.1. | Sekundární metabolity .....   | 44 |
| 5.2.   | Velikost genomu u zástupců rodu <i>Zygnema</i> .....                    | 46 |
| 5.2.1. | Variabilita v rámci linií .....   | 47 |
| 5.2.2. | Evoluce velikosti genomu u zástupců rodu <i>Zygnema</i> .....           | 49 |
| 5.3.   | Vliv velikosti genomu na ekologické nároky, geografické rozšíření ..... | 49 |
| 5.4.   | Souvislost šířky buněk a velikosti genomu .....                         | 52 |
| 5.5.   | Domnělí polyploidie .....   | 53 |
| 5.5.1. | Obsah GC bazí.....  | 53 |
| 5.5.2. | Objem plastidu .....  | 54 |
| 6.     | Závěr .....   | 56 |
| 7.     | Seznam použité literatury .....   | 57 |
| 8.     | Přílohy.....  | 72 |

# 1. Úvod

## 1.1. Velikost genomu

Velikost genomu je kvantitativním znakem charakterickým pro všechny organismy. Tzv. 1C-hodnota je používána k vyjádření obsahu jaderné DNA v haploidní, nedělící se jednojaderné buňce (Greilhuber et al., 2005). Tato hodnota, kterou poprvé definoval Swift (1950) je častým referenčním ukazatelem velikosti genomu. K jejímu vyjádření se nejčastěji užívají dva přístupy a to pomocí počtu párů nukleotidových bází DNA (bp, Mbp, Gbp) nebo pomocí hmotnosti DNA obsažené v jádře (pg). K přepočtu velikosti genomu mezi těmito jednotkami platí, že 1 pg  $\sim$  0,978 Mbp (Doležel et al., 2003).

Téměř již na počátku studia velikosti genomu byl popsán tzv. paradox C hodnoty (Mirsky & Ris, 1951), který zpochybnil dřívější předpoklady o souvislosti mezi složitostí organismů a velikostí jejich genomu. K tomuto zjištění napomohla brzy odhalená variabilita ve velikosti genomu u studovaných organismů. V rámci celé eukaryotické říše se totiž obsah jaderné DNA různí více jak 64 000 $\times$  (Corradi et al., 2010; Garcia et al., 2014; Pellicer et al., 2010). Následně byla situace částečně objasněna objevem nekódující tzv. „junk“ DNA (Cavalier-Smith, 1982; Ohno, 1972). Přítomnost této nadbytečné DNA však nevysvětlila mechanismy, které stojí za změnami ve velikost genomu, ani nepopsala možné souvislosti velikosti genomu s jinými znaky organismů. Tento soubor nevyřešených otázek byl tedy přejmenován na enigmu C hodnoty (Gregory, 2001a).

Teorie mutačního tlaku vysvětlovaly variabilitu ve velikost genomu jednosměrným akumulacním selekčním tlakem, který dovoval velkým a pomalu se dělícím buňkám nabývat velkých genomů (Orgel & Crick, 1980; Pagel & Johnstone, 1992). Teorie nukleoskeletální popisuje koevoluci velkých genomu u velkých buněk na základě nutnosti zachování ideálního poměru objemu cytoplazmy ku objemu jádra, který je potřeba pro zachování udržitelného transportu uvnitř buňky (Cavalier-Smith, 1978; Gregory, 2001a). Oproti tomu v současné době nejvíce přijímaná nukleotypická teorie předpokládá přímý efekt velikosti genomu a skrze to i objemu jádra na velikost buňky a délku buněčného cyklu (Bennett, 1971, 1972; Gregory, 2001b, 2001a).

Většina dat o velikosti genomu a teorií o možných mechanismech stojících za pozorovanou variabilitou pochází zejména ze studií prováděných na rostlinách, živočiších a v neposlední řadě i houbách (Gregory, 2023; Kullman et al., 2005; Leitch et al., 2019), zatímco pro ostatní eukaryotické organismy, zejména protista, jsou stále informace značně omezené (Čertnerová, 2021).



### 1.1.1. Mechanismy vzniku variability ve velikosti genomu

K variabilitě ve velikosti genomu přispívají napříč eukaryoty nejrůznější mechanismy. Skokové změny v množství DNA jsou nejčastěji zapříčiněny polyploidizací, pomocí které dochází k zdvojení chromozomové sady (Stebbins, 1971). Tomuto procesu se také někdy říká celogenomová duplikace (WGD, = whole genome duplication) a v rámci intenzivně studovaných krytosemenných rostlin představuje velice častý fenomén stojící za velkou variabilitou ve velikosti genomu (Masterson, 1994; Soltis et al., 2009). K polyploidizacím dochází zejména ve dvou případech, a to při chybné meióze či při chybné mitóze (Stebbins, 1971). Zdvojená sada chromozomů může pro organismus představovat jakýsi zkušební genetický materiál poskytující možnost získání nových vlastností. K tomu dochází pomocí mutací v nově vytvořené kopii genomu, bez lethálních následků. Díky těmto nově nabytým vlastnostem a zároveň díky změně genové exprese po celogenomové duplikaci, může polyploidizace vést i k rychlejší speciaci (Adams, 2007).

Proces jdoucí opačným směrem, tedy ke snížení velikosti genomu, je tzv. diploidizace. K diploidizaci organismu dochází následně po polyploidizaci, díky selekčnímu tlaku na nadbytečnou DNA. Jedná se o redukci polyploidního genomu pomocí různých přestaveb a ztráty genů (Ma & Gustafson, 2005; Wolfe, 2001). Tento proces je však studován především u rostlin a živočichů, kteří jsou diploidní. U haploidních organismů byl tento děj popisován relativně méně a je pro něj užíván termín haploidizace (Kohli et al., 1977; Welker & Williams, 1981).

Šíření repetitivních sekvencí, zejména transponovatelných elementů v rámci genomu, je společně s polyploidizací nejčastěji popisovaným jevem stojícím za nárůstem velikosti genomu (Bennetzen et al., 2005; Kidwell, 2002). Popsaná byla i pozitivní korelace velikosti genomu a množství transponovatelných elementů napříč eukaryotickými organismy (Elliott & Gregory, 2015). Aktivitu transponovatelných elementů však ovlivňuje také velikost populace a příbuzenské křížení, čímž mohou být částečně vysvětleny rozdíly mezi proporčním zastoupením transponovatelných elementů v genomech (Elliott & Gregory, 2015). Kromě navyšování velikosti genomu může mít množení a přepisování transponovatelných elementů uvnitř genomu za následek i změny v genové expresi či dokonce různé chromozomové přestavby (Bennetzen & Wang, 2014).

Jako další příklady procesů stojících za změnami ve velikosti genomu je možné uvést hybridizace linií s rozdílnou velikostí genomu, nelegitimní rekombinaci nebo nebalancované chromozomové přestavby jakými jsou například inserce či delece (Devos et al., 2002; Grover & Wendel, 2010; Lysák & Schubert, 2013).

### 1.1.2. Souvislosti velikost genomu s fenotypickými a ekologickými nároky

Již téměř od samého počátku studia velikosti genomu byly publikovány studie hledající souvislosti mezi velikostí genomu a různými fenotypickými znaky organismů. Napříč širokým spektrem eukaryotické diverzity byl publikován nespočet studií, které popisují pozitivní korelaci velikosti genomu a velikosti buněk, a to i v rámci rozličných skupin mikroskopických jednobuněčných eukaryot (protist) (Čertnerová & Škaloud, 2020; Connolly et al., 2008; Gregory, 2001a, 2005; LaJeunesse et al., 2005; Olefeld et al., 2018; Šímová & Herben, 2012). Další z často popisovaných souvislostí je negativní korelace velikosti genomu s rychlostí buněčného cyklu (Čertnerová & Škaloud, 2020; Gregory, 2005; Shuter et al., 1983). Pozitivní korelace velikosti genomu byla dále popsána pro počty kopií rDNA nebo velikosti centromer (Y. Liu et al., 2021; Plačková et al., 2021; Prokopowich et al., 2011).

Kromě těchto korelací na buněčné úrovni jsou často hledány souvislosti velikosti genomu s fenotypickými znaky na vyšší úrovni. U mikroskopických řas zlativek (*Chrysophyceae*) byl kupříkladu popsán signifikantní rozdíl ve velikosti genomu v závislosti na způsobu výživy. Zatímco nejmenší genomy v rámci této skupiny byl popsány u heterotrofních a mixotrofních zástupců, u autotrofních zástupců byly naměřeny velikosti genomu relativně větší (Olefeld et al., 2018). Souvislost se způsobem života byla popsána také u obrněnek (*Dinophyceae*). Volně žijící zástupci obrněnek mají jedny z největších genomů mezi eukaryoty, avšak u symbiotických druhů byly popsány zhruba 100 x menší genomy ve srovnání se zbytkem skupiny (LaJeunesse et al., 2005). Pro protistní organismy byly rovněž studovány souvislosti mezi velikostí buňky a intenzitou fotosyntézy, schopností příjmu živin či herbivorním tlakem filtrátorů (Finkel, 2001; Irwin et al., 2006; Smetacek et al., 2004). Nicméně přímé souvislosti těchto znaků s velikostí genomu testovány nebyly.

Další možné souvislosti jsou hledány zejména s ekologickými nároky organismů. Často je například popisována negativní korelace mezi velikostí genomu a teplotou prostředí, a to jak u genomů, jež dosáhly své velikosti pomocí akumulace nekódující DNA, tak u velkých genomů polyploidů (Brochmann et al., 2004; Hessen et al., 2013; Zhang et al., 2020). Tato negativní korelace je vysvětlována zejména nižší metabolickou rychlostí v chladných podmínkách umožňující akumulaci většího množství genetické informace (Hessen et al., 2013) U rostlin specifických pro arktické prostředí a oblasti ovlivněné nedávným zaledněním byl pozorován vysoký výskyt polyploidů (Brochmann et al., 2004). V rámci zkoumaných polyploidů byl také v některých případech popsán značný nárůst v produkci různých sekundárních metabolitů, a signifikantně lepší zvládnutí chladu, sucha a zvýšené salinity oproti diploidním jedincům (De

Jesus-Gonzalez & Weathers, 2003; S. Liu et al., 2011; Švehlíková & Repčák, 2000). Avšak řada studií zkoumajících souvislosti mezi teplotními preferencemi a velikostí monoploidního genomu zejména u rostlin popisuje, že největší genomy se nacházejí nejčastěji ve středních optimálních podmínkách, zatímco výrazný nárůst či pokles teploty favorizuje spíše menší genomy, které jsou přítomné na celém gradientu teplot (García-Fernández et al., 2012; Knight & Ackerly, 2002; Qiu et al., 2019). Podobný trend kvadratické korelace byl rovněž popsán pro vztah velikosti genomu a množstvím srážek (Knight & Ackerly, 2002). Tyto poznatky pak shrnuje tzv. hypotéza omezení velkého genomu (Large Genome Constraint Hypothesis), která říká, že velké genomy se těžko vypořádávají se změnami prostředí a hůře odolávají extrémním podmínkám (Knight et al., 2005). V kontextu výše uvedeného lze ještě poznamenat, že Cavalier-Smith (1980) ve své studii navrhoval možnou spojitost evoluce velikosti genomu s r a K strategiemi u protistních organismů. Zástupce s malými genomy, disponující krátkou generační dobou a malými, metabolicky aktivnějšími buňkami popisoval jako r-stratégy, zatímco zástupce s velkými genomy a velkými pomalu se dělicími buňkami považoval za K-stratégy. Nicméně souvislosti mezi ekologickými nároky protist a jejich velikostmi genomu byly doposud testovány pouze v rámci jednoho druhu zlativek (*Chrysophyceae*) a žádný jasný trend nebyl nalezen (Čertnerová & Škaloud, 2020).

## 1.2. Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (FCM, flow cytometry) je metoda, pomocí které lze třídit či analyzovat vlastnosti různých mikroskopických částic, jakými jsou nejčastěji buňky nebo jádra (Adan et al., 2017). Jedná se o v dnešní době nejužívanější metodou k stanovení velikosti genomu (Bennett & Leitch, 1995; Kron et al., 2007). Hlavními výhodami této metody je její rychlost, relativní jednoduchost, možnost produkovat robustní data a v porovnání s ostatními metodami využívanými ke stanovení velikosti genomu také nízké náklady (Kron et al., 2007). Mimo studium velikosti genomu nachází značného využití hlavně v biomedicíně a imunologii (Adan et al., 2017).

Pro stanovení velikosti genomu jsou používány suspenze celých buněk či jader. Ty jsou poté pomocí fluorochromů barveny (Kron et al., 2007; Radcliff & Jaroszeski, 1998). Jako barviva se v závislosti na cíli studie používají buď interkalační barvy jako propidium jodid (PI), ethidium bromid (EB) a SYTOX GREEN nebo barvy vážící se specificky na konkrétní páry bází jako například 4',6-diamidin-2-fenylindol (DAPI). Interkalační barvy jsou používány ke stanovení absolutní velikosti genomu, zatímco barvy jako DAPI se používají k určení ploidie či stanovení poměru AT ku GC párům bází (Doležel et al., 1992; Greilhuber et al., 2007). Obarvená

suspenze částic je v průtokové komůrce cytometru soustředěna do úzkého proudícího svazku. Ten je prosvětlován paprskem excitačního záření. Při analýze je pak snímána fluorescence barvených částic v předním rozptylu světla (FSC = forward scatter) a také v boční rozptylu světla. (SSC = side scatter) (Adan et al., 2017; Radcliff & Jaroszeski, 1998). Relativní intenzita fluorescence jednotlivých částic je pak vynesena pomocí histogramu (Bennett & Leitch, 1995). Vynesení nasnímaného bočního rozptylu světla ku přednímu rozptylu světla pak podává informaci o objemu a granularitě dané částice, což umožňuje rozeznat na tomto grafu více odlišných populací částic na základě jejich tvaru (Adan et al., 2017; Radcliff & Jaroszeski, 1998).

Aby bylo možné z informace o relativní intenzitě fluorescence zkoumaného vzorku stanovit absolutní množství DNA, je třeba při přípravě vzorku přidat také standard, se známou velikostí genomu (Doležel & Greilhuber, 2010; Vindeløv et al., 1983).

Výpočet množství DNA či poměru párů bází studovaného materiálu je následně proveden na základě poměru intenzity fluorescence vzorku a standardu (Doležel & Bartoš, 2005). Konkrétně jsou výpočty množství DNA a poměru páru bází uvedené v metodice v příslušných kapitolách (3.5.1 a 3.5.2). Protože metodika pro měření mikroskopických řas není doposud ideálně optimalizovaná jsou úskalí spojená s průtokovou cytometrií mikroskopických řas dále rozebírána v příslušných kapitolách v diskuzi (5.1).

### **1.3. Obecná charakteristika třídy Zygnematophyceae**

Třída Zygnematophyceae, vyskytující se ve starší literatuře pod názvem Conjugatophyceae, či pod českým názvem spájkivé řasy, je jednou ze tří korunních tříd tzv. ZCC skupiny (Zygnematophyceae, Charophyceae a Coleochaetophyceae) patřící do Streptophytiní linie řas v rámci podříše Viridiplantae (J. de Vries et al., 2016; J. de Vries & Archibald, 2018; Domozych & Bagdan, 2022). Prvotní teorie o původu vyšších rostlin nejprve navrhovaly jako rostlinám možnou nejbližší řasovou linii morfologicky komplexnější třídy Charophyceae nebo Coleochaetophyceae. Takové hypotézy uvažovaly gradualistický vývoj komplexity od bazálních bičíkoviců v rámci Mesostigmatophyceae přes vláknité řasy, jakými jsou zástupci Klebsormidiophyceae a Zygnematophyceae, k pseudoparenchymatickým Coleochaetophyceae, až po makroskopické komplexní stélky typické pro třídu Charophyceae, které se zdánlivě podobají vodním cévnatým rostlinám (Karol et al., 2001; Marin & Melkonian, 1999). Fylogenomické studie za posledních 15 let tuto hypotézu postupně vyvrátily a za nejbližší řasovou skupinu k embryofytům se dnes již bezesporu udávají právě morfologicky relativně primitivní zástupci Zygnematophyceae (Cheng et al., 2019; Gitzendanner et al., 2018; Wickett et al., 2014; Wodniok et al., 2011).

Ti jsou pozoruhodní mimo jiné značnou variabilitou habitatů, které obývají. Nejčastěji je najdeme ve sladkých vodách s neutrálním až kyselým pH, zároveň obývají i značně nepříznivá prostředí, jakými pro ně mohou být efemérní vodní plochy s nestabilním vodním režimem, vyloženě terestrické mikrohabitaty jako borky stromů a půdní krusty, či extrémní stanoviště v polárních oblastech, zejména pak na povrchu ledovců (Busch & Hess, 2022; Elster, 2002; Šťastný, 2008; Williamson et al., 2019). Vysokohorské a polární habitaty jsou v průběhu vegetační sezóny vystaveny nadměrnému ozáření viditelného spektra i UV spektra záření, které je pro buňky škodlivé (Cockell & Rothschild, 1999; Karsten, 2008). Někteří zástupci třídy Zygnematophyceae vyvinuli sekundární metabolity, jež jim slouží jako fotoprotektanty (Aigner et al., 2013; Figueroa et al., 2009; Herburger et al., 2016; Pichrtová et al., 2013; Remias, Holzinger, et al., 2012; Remias, Schwaiger, et al., 2012; Stancheva et al., 2014). Jedná se o rozdílné typy fenolických látek, které díky své aromatické struktuře umožňují odstínit škodlivé UV záření (Cockell & Knowland, 1999). U některých zástupců byly popsány i fenolické látky odstiňující také záření ve viditelné části spektra (Aigner et al., 2013; Remias, Holzinger, et al., 2012). Další ochranná role těchto látek byla pospána u druhů vyskytujících se v acidických habitatech s mnohdy toxickými koncentracemi kationtů kovů (Garduño-Solórzano et al., 2021; Herburger et al., 2016). Konkrétně fenolické látky pak těmto druhům slouží k navázání kovových kationtů a bezpečnému uložení do vakuol (Herburger et al., 2016; Stancheva et al., 2014).

Právě zmiňovaná odolnost spájivých řas vůči stresovým faktorům v subaerických až terestrických habitatech ukazuje na jejich preadaptaci k přechodu vyšších rostlin na souš (J. De Vries et al., 2018; Delaux et al., 2015). Některé z těchto preadaptací mohly být přítomné již u ranně oddělených streptofytních linií (S. Wang et al., 2019). Otázkou pak stále zůstává datování události, kdy došlo rozdělení z původního společného předka na předchůdce dnešních linií Zygnematophyceae a Embryophyta. Zprvu se předpokládalo, že k tomu došlo po konci velikých zalednění Cryogeianu cca před 500 miliony lety (Becker, 2013), avšak některé současné práce posouvají tuto událost ještě před období Cryogenianu a navrhují, že extrémní podmínky během této etapy mohly vést k usměrnění evoluce embryofyt k přechodu na souš (Žárský et al., 2021).

Současná popsaná diverzita monofyletické třídy Zygnematophyceae je odhadována na zhruba 55-60 rodů čítajících dohromady více jak 4300 druhů, což z nich činí nejpočetnější řasovou skupinu v rámci Streptofytní linie (Gontcharov, 2008; Guiry & Guiry, 2023; Šťastný & Kouwets, 2012). Zástupci této třídy jsou nejčastěji jednobuněční, vláknití, či koloniální a

jednotícím znakem jim je naprostá absence bičíkatých stádií včetně centriol v rámci životního cyklu.

Takto redukována možnost aktivního pohybu gamet je vyřešena speciálním typem pohlavního rozmnožování zvaného spájení (konjugace). Během toho dochází k splývání protoplastů celých buněk, které přitom figurují jako haploidní isogamety a po syngamii tvoří diploidní zygosporu (Hall & McCourt, 2017; Kadłubowska, 1984; Zhou & Von Schwartzenberg, 2020). V rámci Zygnematophyceae jsou rozlišovány druhy heterothalické, během jejichž pohlavního rozmnožování dochází k párování dvou pohlavně odlišných jedinců a druhy homothalické, u kterých probíhá pohlavní rozmnožování bez pohlavně odlišného jedince, např. mezi buňkami jednoho vlákna (Graham J.E. et al., 2008). U vláknitých zástupců při pohlavním rozmnožování dochází k tvorbě konjugačního kanálku mezi dvěma buňkami. Heterothalické druhy tvoří nápadnou žebříčkovitou strukturu dvou paralelně uspořádaných vláken, v rámci kterých jsou protilehlé buňky propojené konjugačními kanálky. Podle žebříčkovité struktury se tomuto typu spájení říká skalariformní. U homothalických druhů může docházet jak ke skalariformnímu typu spájení, tak k mnohem vzácnějšímu typu spájení sousedních buněk v jednom vlákně zvanému laterální (Kadłubowska, 1984). Po propojení buněk pak jedna či oba protoplasty migrují konjugačním kanálkem a dochází tak ke splnutí gamet buď uprostřed konjugačního kanálku, nebo uvnitř jedné z mateřských buněk (Graham J.E. et al., 2008; Kadłubowska, 1984). Amébovitý pohyb buněk vůči sobě je stimulován feromony, studovaných zejména u jednobuněčných zástupců řádu Desmidiaceae (Sekimoto et al., 1990; Tsuchikane & Sekimoto, 2019).

Úspěšným spájením následně vzniká zygospora s acetorezistentní buněčnou stěnou pomáhající přežít nepříznivé podmínky (De Vries et al., 1983; Graham et al., 2008). Zygospora, je jedinou diploidní buňkou v rámci haplontního životního cyklu u Zygnematophyceae. Vegetativní buňky i gamety jsou totiž haploidní (Brook, 1981; Hoshaw & McCourt, 1988). Z pohlavně vzniklé zygospory přitom klíčí jen jedna buňka, což napovídá tomu, že ostatní tři meiózou vzniklé dceřiné buňky zanikají (Kadłubowska, 1984; Transeau, 1951). Existují ale i studie, které obecně uznávaný předpoklad haplontního životního cyklu narušují (Haig, 2010). U druhu *Closterium ehrenbergii* byly například pospány vegetativní diploidní buňky a haploidní gamety, které při pohlavním rozmnožování splývají za vzniku dvou diploidních zygot (Hamada, 1987; Hamada et al., 1985).

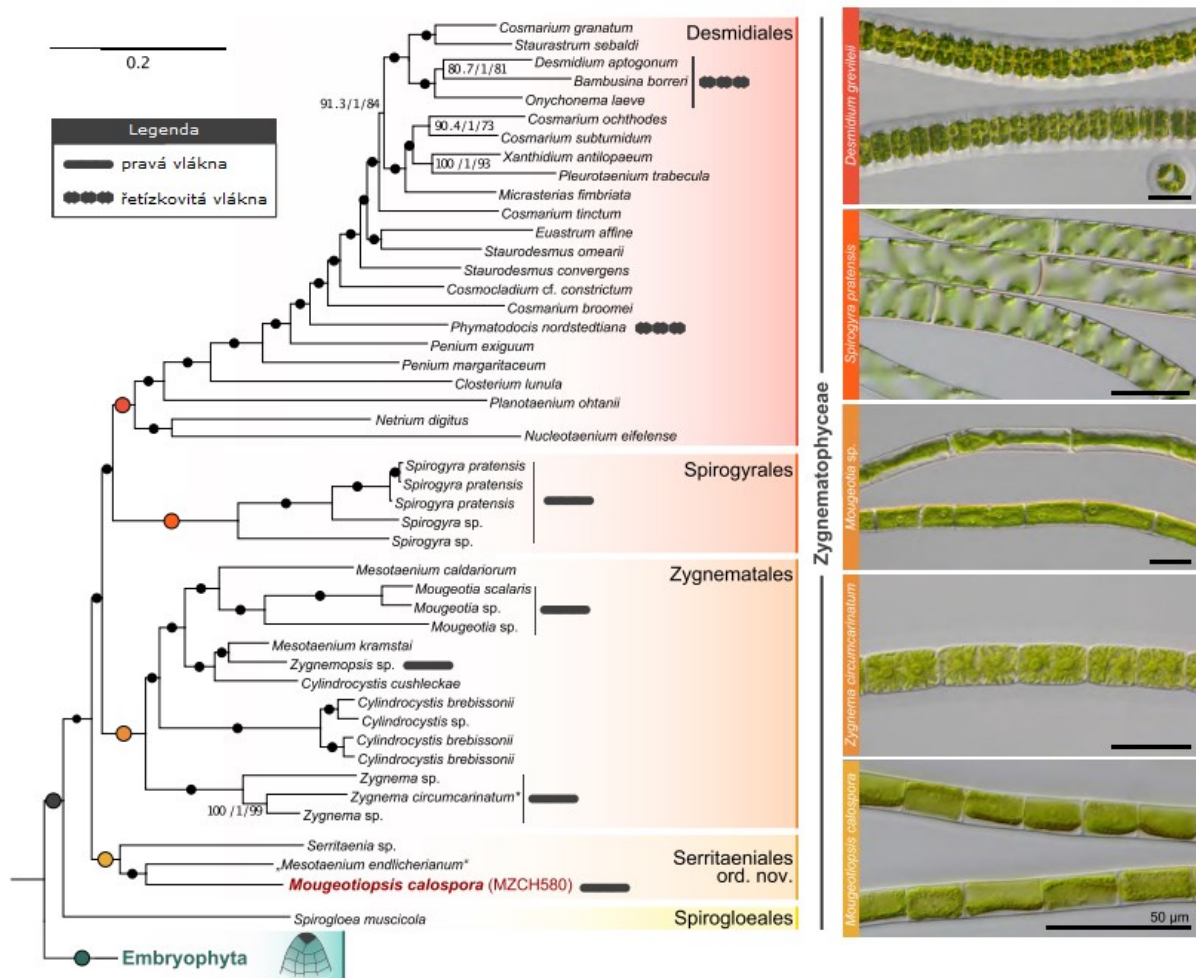
Buněčná stěna zygospor se skládá ze tří vrstev. Vnější exospora a vnitřní endospora obsahují různé typy bezbarvých polysacharidů, zatímco vymezená mesospora obsahuje algenany podobné sporopoleninu, ty jsou zodpovědné za značnou odolnost zygospor vůči podmínkám prostředí (Permann, Herburger, Felhofer, et al., 2021; Permann, Herburger,

Niedermeier, et al., 2021; Pouličková et al., 2007). Zygospory jednotlivých druhů se liší barvou, tvarem i strukturovaností povrchu, tyto znaky jsou také zásadní pro morfologickou determinaci druhů (Kadłubowska, 1984; Permann, Herburger, Niedermeier, et al., 2021; Stancheva et al., 2012, 2013). Indukce spájení je však při laboratorních podmínkách značně obtížná a podařilo se jí dosáhnout jen u některých druhů (Imaizumi & Doida, 1990; Permann, Herburger, Felhofer, et al., 2021; Simons et al., 1984; Takano et al., 2019). Vzhledem k morfologické plasticitě pozorovatelných znaků vegetativních buněk vláknitých rodů *Zygnema*, *Spirogyra* a *Mougeotia* je pak téměř nemožné identifikovat jednotlivé druhy bez genetické charakterizace (Kadłubowska, 1984; Permann, Herburger, Niedermeier, et al., 2021; Stancheva et al., 2012, 2013).

Mimo pohlavní rozmnožování se Zygnematophyceae mohou rozmnožovat i nepohlavně, a to klasickým buněčným dělením u jednobuněčných zástupců či fragmentací jednotlivých vláken. Mezi další způsoby pak patří zejména tvorba akinet, které vznikají z vegetativních buněk, rozšířením buněčných stěn o další vrstvy celulózy a pektinu. Slouží rovněž jako dormantní stádia pomáhající přečkat nepříznivé podmínky. Dále mohou produkovat aplanospory nebo parthenospory, které svou morfologií značně připomínají pohlavně vzniklé zygospory (Graham J.E. et al., 2008; Transeau, 1951).

### 1.3.1. Fylogeneze třídy Zygnematophyceae

Stejně jako u mnohých jiných skupin řas byla systematika třídy Zygnematophyceae původně založena na morfologických znacích. Zásadními znaky byla zejména buněčná organizace (jednobuněční x vláknití zástupci), tvar plastidu, symetrie buněk a struktury buněčné stěny (Hall & McCourt, 2017; Mix, 1975; Transeau, 1951). Na základě ultrastruktury buněčných stěn pak došlo k rozdělení na dva řády: Desmidiiales a Zygnematales (Brook, 1981; Transeau, 1951). Řád Desmidiiales zahrnoval tradičně pravé („placoderm“) krásivky, pro něž jsou charakteristické segmentované buněčné stěny s různými trny, bradavkami nebo póry. Zároveň je pro zástupce korunní čeledi Desmidiaceae typická ztráta primární buněčné stěny (Hall & McCourt, 2017; Mix, 1972). Oproti tomu řád Zygnematales byl charakterizován jednoduchou buněčnou stěnou tvořenou několika vrstvami, s hladkým povrchem, ve většině případů bez výrazné ornamentace a bez pórů. V rámci řádu Zygnematales byly dříve rozlišovány dvě čeledi, a to Zygnemataceae zahrnující vláknité rody a Mesoteniaceae, kam spadaly nepravé („saccoderm“) krásivky (Gontcharov, 2008; Kadłubowska, 1984; Transeau, 1951).



**Obrázek 1:** Sekce fylogenomického stromu zaměřeného na zygmatophyta a embryofyta. Strom byl sestaven a základě 326 genů. Hodnoty podpory ze tří analýz (SH-aLRT/aBayes/nonparametricbootstrapping) jsou zobrazeny u odpovídajících větví, kromě větví s maximální podporou (označené černými kruhy); velké barevné kruhy odpovídají plné podpoře cladů vyššího řádu označených vpravo. Zygnematophyceae obsahují pět hluboce se rozvíjejících cladů, které jsou definovány jako řády. Černé symboly zvýrazňují zygmatophyta, která tvoří řetězovitá vlákna (viz mikrofotografie *Desmidium*) a pravá vlákna (viz mikrofotografie *Spirogyra*, *Mougeotia*, *Zygnema* a *Mougeotiopsis*); měřítko na všech mikrosnímcích je 50 μm. Měřítka pro fylogenezi je 0,2 očekávaných substitucí na pár bází. Hvězdička: nedávná studie zjistila, že SAG698-1a by mohl být *Z. cylindricum* místo *Z. circumcarinatum* (Feng et al., 2021). Převzato ze studie Hess et al. (2022).

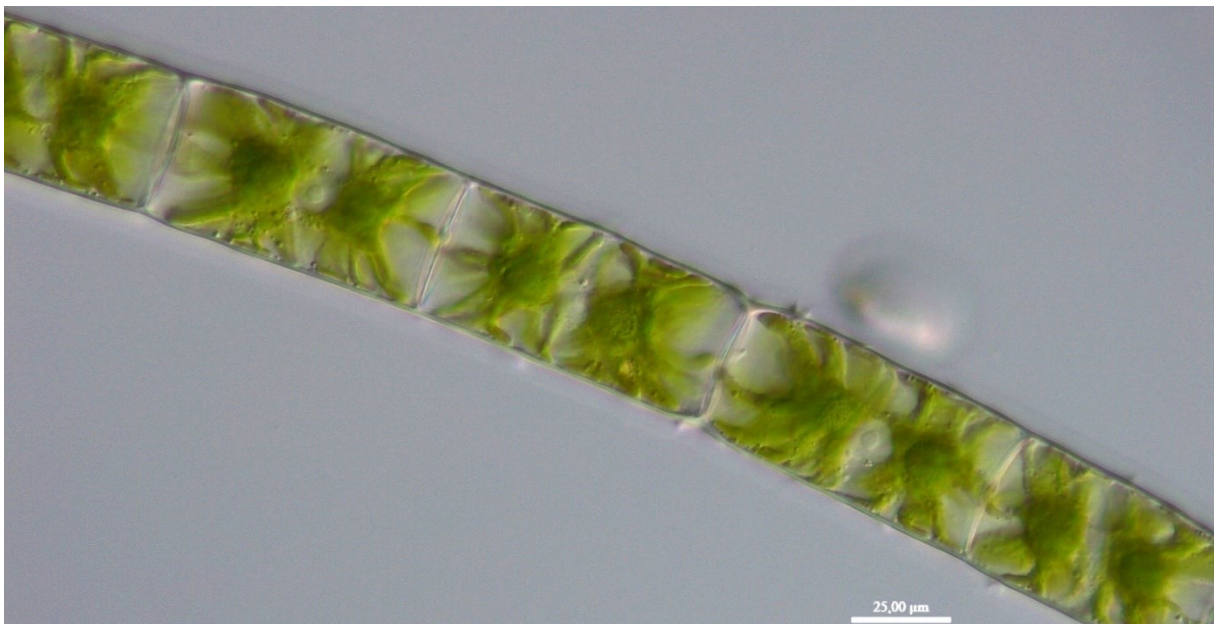
Nejnovější fylogenomická studie řadí Zygnematophyceae do 5 řádů (Obrázek 1) (Hess et al., 2022). Kromě tradičního řádu Desmidiiales (česky krásivky) zahrnujícího i rody *Netrium*, *Nucleotaenium* a *Planotaenium*, dříve řazené do již neplatné čeledi Mesoteniaceae (Guiry, 2013), také nově popisují řád Spirogyrales, do kterého byly vyčleněni zástupci rodu *Spirogyra*. Následně uvádí řád Zygnematales sdružující vláknité monofyletické rody *Mougeotia* a *Zygnema*, dosud polyfyletické jednobuněčné rody *Cylindrocystis* a *Mesotaenium* a nevyřešený vláknitý rod a *Zygnemopsis*. Dále pak představují nový řád Serritaeniales, pojmenovaný podle jednobuněčného monotypického rodu *Serritaenia* s téměř aerofytickým způsobem života, zahrnující i vláknitou řasu *Mougeotiopsis calospora* a jeden genotyp dříve pospaný jako druh



*Mesotaenium endlicherianum*. Jako jednotící znak je navrhována přítomnost plastidu se zvlněnými okraji odsazenými od okraje buněk (Busch & Hess, 2022; Cheng et al., 2019). Jako poslední popisují (Hess et al., 2022) monotypický řád Spirogleales, který je bazální ke všem ostatním popsáním řádům a představuje tak nejbližší linii k hypotetickému předku současných embryophyt (Cheng et al., 2019).

### 1.3.2. Charakteristika rodu *Zygnema*

Zástupci rodu *Zygnema* (česky šroubatka) tvoří nevětvená vlákna, skládající se z cylindrických buněk. Vlákna jsou obalena slizovou pochvou o různé šířce. Zajímavé je, že širší pochvy jsou často pozorovány u vzorků z chladných oblastí, z lokalit se zásaditým pH a stejně tak z vysychavých vodních ploch nebo ze zastíněných vlhkých půd (Transeau, 1951). Buňky obsahují nejčastěji 2 hvězdicovité chloroplasty s laloky vystupujícími z centrální části do všech stran. Uprostřed každého z plastidů je uložen nápadný pyrenoid s periferně uloženými škrobovými zrny. Mezi plastidy je pak v cytoplasmatickém můstku uloženo relativně veliké jádro (Graham J.E. et al., 2008; Transeau, 1951).



**Obrázek 2:** *Zygnema* sp. (linie RS002, kmen 7R341) s dvěma hvězdicovitými chloroplasty a mezi nimi uloženým jasně viditelným jádrem. Celé vlákno je obaleno v slizové pochvě, které je na mikrofotografii slabě patrná. (fotografie vlastní)

Pohlavní rozmnožování u nich probíhá pomocí tzv. skalariformní (česky žebříčkovitá) i laterální konjugace. Ke splynutí gamet a vzniku zygospory přitom dochází, jak uvnitř jedné z mateřských buněk, tak uvnitř konjugačního kanálku. Mimo to jsou známy i druhy u nichž pohlavní rozmnožování nebylo nikdy pozorováno. Nepohlavní rozmnožování probíhá pomocí

aplanospor, akinet nebo také pomocí fragmentace celých vegetativních vláken na jednotlivé buňky (Kadłubowska, 1984; Transeau, 1951).

Rod *Zygnema* se vyskytuje téměř kosmopolitně od rovníkových až po polární oblasti. Zástupce rodu lze nalézt i ve vysokohorských lokalitách, kde podobně jako v polárních oblastech díky krátké vegetační sezóně a extrémním podmínkám prostředí, představují stěžejní primární producenty a vytváří veliké nárosty (Pichrtová et al., 2018; Transeau, 1951; Trumhová et al., 2019).

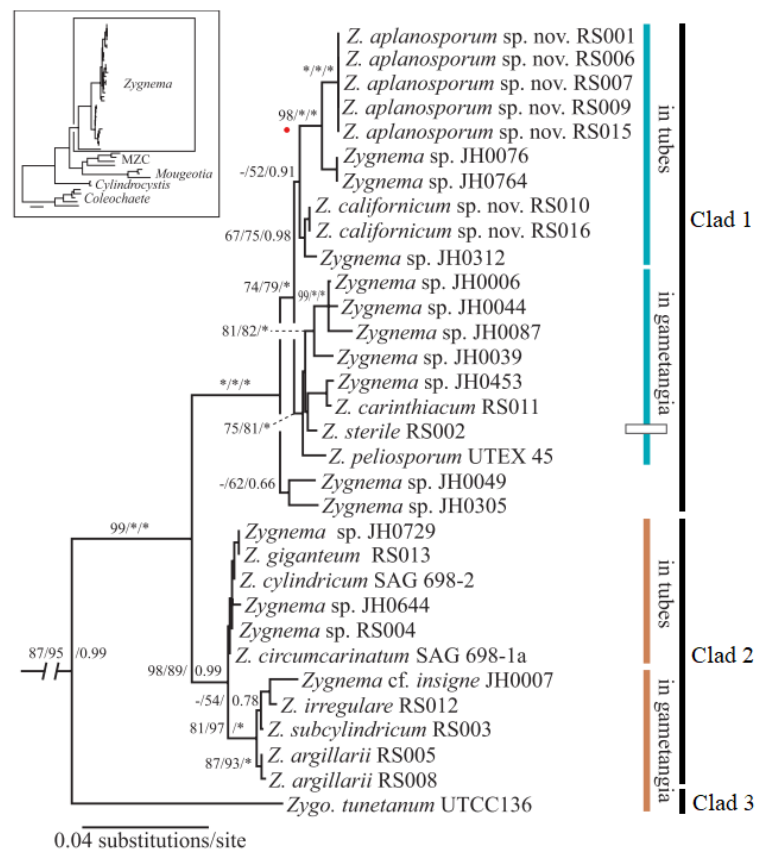
Tradiční taxonomie rodu *Zygnema* je postavena především na znacích spojených s pohlavním rozmnožováním (Kadłubowska, 1984; Stancheva et al., 2012). V dosud poslední shrnující práci Gontcharov (2008) uvádí, že rod *Zygnema* obsahuje 139 druhů. Nicméně v databázi Algaebase (Algaebase.org) je v současné době uvedeno 208 taxonomicky uznávaných druhů (Guiry & Guiry, 2023). Zásadními pro jejich rozlišení jsou rozměry pohlavně vzniklých zygospor, barva a ornamentace jejich jednotlivých vrstev a také tvar sporangia. Pohlavní rozmnožování je ale relativně vzácné a jeho indukce v laboratorních podmínkách nebývá příliš úspěšná. Kromě pohlavních znaků tradiční taxonomie stále uvádí řadu druhotných vegetativních znaků, jako zejména šířku buněk a tvary plastidů (Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012; Trumhová et al., 2022). Nicméně k druhovému určení znaky vegetativních buněk nejsou dostačující vzhledem k veliké variabilitě. (Pichrtová et al., 2018; Trumhová et al., 2022).

K této morfologické plasticitě by teoreticky mohly přispívat možné polyploidní komplexy nebo hybridizace druhů, které byly popsány u příbuzného rodu *Spirogyra* (Hoshaw, 1974; Hoshaw et al., 1985, 1987; McCourt et al., 1986; McCourt & Hoshaw, 1990).

Vzhledem k výše zmíněným problémům s určováním druhů, není momentálně k dispozici uspokojivý druhový koncept. Z celkových 208 taxonomicky platných druhů uvedených v databázi (Guiry & Guiry, 2023) bylo pouze 13 druhů pečlivě popsáno a identifikováno jak na základě morfologických znaků, tak molekulárních markerů. Aktuální studie tedy většinou nepracují s morfologicky určenými druhy, ale s arbitrárně ohraničenými genotypy, kdy dosud není jisté, zda může probíhat spájení mezi dvěma aktuálně rozlišovanými genotypy (Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012; Trumhová et al., 2022).

Molekulární taxonomie podpořila monofyletický původ rodu *Zygnema* a stejně tak jeho relativní nepříbuznost s ostatními hlavními vláknitými rody *Mougeotia* a *Spirogyra* (Stancheva et al., 2012). Další fylogenetické vztahy byly studovány mezi morfologicky nápadně podobnými rody *Zygonium* a *Zygnemopsis*. Rod *Zygnemopsis* je fylogeneticky vzdáleně příbuzný a zřejmě i monofyletický (Gontcharov, 2008). Rod *Zygonium* se ale ukázal jako polyfyletický a druh *Zygonium tunetanum* byl následně přerazen do samostatné linie rodu *Zygnema* (Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012). V rámci rodu *Zygnema* pak současné molekulární studie popisují tři dobře podpořené clady (Obrázek 3). S rozdělením druhů do cladů zřejmě souvisí i barva mesospory. U zástupců 1. cladu byly pozorovány modře zbarvené mesospory, jejichž barva se však v průběhu vývoje změnila na hnědou až bezbarvou, zatímco zástupci 2. a 3. cladu mají mesosporu po celou dobu hnědou (Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012).

**Obrázek 3:** Fylogeneze rodu *Zygnema* a *Zygonium* založená na rbcL datech. ML (maximal likelihood) strom sestaven pomocí GTR + I + C modelu. Čísla nad větvemi jsou hodnoty bootstrapu z Parsimonické analýzy, RAxML a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy. Hvězdička označuje podporu hodnotu bootstrapu 100 nebo posteriorní pravděpodobnost 1,0. Pomlčka označuje podporu bootstrapu <50 nebo posteriorní pravděpodobnost <0,5. Mesospora je označena barvou pruhu vpravo. *Zygonium tunetanum* = *Zygnema tunetanum*. Převzato z (Stancheva et al., 2012)



Dosavadní fylogenetické studie pak odhalily značnou kryptickou diverzitu, která je u mikroskopických protist častým

jevem, stejně pak genetickou uniformitu některých dříve morfologicky definovaných druhů (Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012; Trumhová et al., 2022). Ze srovnání studií z různých lokalit dále vyplývá, že dosavadní vzorkování neodhalilo žádné endemické linie, a to ani ze zdánlivě dobře izolovaných a specifických lokalit, jakými jsou arktické Špicberky nebo Alpy (Pichrtová et al., 2018; Trumhová et al., 2022). Molekulární metody dále umožnily odhalit fenomén častého sympatrického výskytu několika genotypů na studovaných

lokalitách. Dlouhodobé sledování takových lokalit zároveň ukázalo, že genotypové složení zůstává napříč jednotlivými roky téměř neměnné (Trumhová et al., 2022).

### 1.3.3. Velikost genomu v rámci třídy Zygnematophyceae

V prvních studiích měřících velikost genomu u Zygnematophyceae užívaly ke stanovení obsahu DNA metody mikrospektrofotometrie. Jako barvivo byl nejčastěji používán mithramycin a DAPI (Hoshaw et al., 1985; Hull et al., 1982). Velikost genomu byla v těchto nejranějších studiích měřena bez referenčního standardu, díky čemuž nebylo možné stanovit absolutní velikost genomu a výsledky těchto prací jsou uváděny v relativních jednotkách fluorescence. Další práce pokračovaly v metodě mikrospektrofotometrie s barvivem DAPI, avšak již za užití standardů, umožňující alespoň přibližné přepočítání na počty párů bází či hmotnost (pg) (Kapraun, 2005, 2007). Největší objem dat o velikosti genomu ale přinesly až studie užívající průtokovou cytometrii (Čertnerová, 2021; Feng et al., 2021; Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). Srovnávací genomické studie mohou poskytnout informaci o tom, zda za rozdíly ve velikosti genomu mohou například celogenomová duplikace, či namnožení repetitivních sekvencí (Cheng et al., 2019; Jiao et al., 2020; Sekimoto et al., 2023). Pro Zygnematophyceae jsou ale celogenomově osekvenovány zatím pouze 4 druhy a to *Penium margaritaceum* (Jiao et al., 2020), *Closterium peracerosum–strigosum–littorale* (Sekimoto et al., 2023), *Spirogleae muscicola* a *Mesotaenium endlicherian* (Cheng et al., 2019).

Celkový rozsah velikosti genomu v rámci třídy Zygnematophyceae na základě všech shrnutých studií pohybuje v rozmezí  $1C = 0,06 - 32,4$  pg.

Největší rozptyl ve velikosti genomu byl u Zygnematophyceae detekován u krásivek, u kterých se velikost genomu dle publikovaných studií pohybuje v rozpětí  $1C = 0,55 - 32,4$  pg (Jiao et al., 2020; Kapraun, 2005, 2007; Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014; Sekimoto et al., 2023). Značná variabilita byla odhalena konkrétně v rodě *Micrasterias* a do něj fylogeneticky vnořených zástupců rodu *Triploceras*. V rámci rodu *Micrasterias* byla změřena velikost genomu v rozmezí  $1C = 1,5 - 32,4$  pg. Zatímco většina analyzovaných druhů svou velikostí genomu výrazně nepřesahovala 10 pg, větší genomy byly nalezeny jen v rámci 4 druhů. Mezi měřenými kmeny druhů *Micrasteria rotata*, *M. truncata* a *Triploceras gracile* byla dokonce pozorována značná vnitrodruhová variabilita, konkrétně  $1C = 16,0 - 32,4$  pg pro *M. rotata*,  $1C = 8,7 - 15,4$  pg pro *M. truncata* a  $1C = 4,7 - 28,2$  pg pro *T. gracile* (Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). U krásivek byly rovněž popsány silné pozitivní korelace mezi velikostí genomu a počtem chromozomů (Kapraun, 2005; Pouličková et al., 2014). Kromě počtu chromozomů byly testovány i souvislosti s morfometrickými parametry zkoumaných

druhů, kdy byly signifikantní závislosti potvrzeny pro velikost centroidu, počet terminálních laloků a délku buňky (Pouličková et al., 2014).

U nepravých krásivek a vláknitých spájívek byla popsána variabilita ve velikosti genomu téměř stejná jako u pravých krásivek, nicméně velikosti genomu byly naměřeny o řád nižší, a to v rozmezí  $1C = 0,06 - 3,2$  pg (Čertnerová, 2021; Cheng et al., 2019; Feng et al., 2021; Kapraun, 2005, 2007; Mazalová et al., 2011). Oproti pravým krásivkám ale zatím nebyla provedena žádná větší studie, zabývající se nějakým rodem podrobněji. Z těchto kusých dat je nejvíce publikovaných velikostí genomu právě z rodu *Zygnema*. V rámci tohoto rodu bylo změřeno 8 kmenů a velikosti genomu u nich byly stanoveny v rozmezí  $1C = 0,06 - 2,86$  pg. Stejně jako u pravých krásivek, tak i u vláknitých spájívek byl studován vztah velikosti genomu a počtu chromozomu, nicméně na omezeném datasetu 11 zástupců nebyla korelace prokázána (Kapuraun, 2005). V jedné ze starších studií popsal McCourt et al., (1986) pozitivní korelaci relativní intenzity fluorescence jader a šířky vláken u rodu *Spirogyra*.

Studie sekvenující celé genomy krásivek *Penium margaritaceum* a heterothalického páru kmenů NIES-68 a NIES-67 komplexu *Closterium peracerosum–strigosum–littorale* přinesly kromě stanovené velikosti genomu i informace o faktorech, které jejich velikost genomu ovlivnily. Více než 80 % genomu krásivky *P. margaritaceum* je tvořeno repetitivním sekvencemi, zejména pak dlouhými terminální repeticemi (LTR) (Jiao et al., 2020). Značné zastoupení transponovatelných elementů bylo popsáno i u dvou zástupců ranně se odvětvujících linií z třídy Zygnematophyceae *Spirogleae muscicola* (27,5 % genomu) a *Mesotaenium endlicherian* (33,2 % genomu) (Cheng et al., 2019). U páru kmenů komplexu *C. peracerosum–strigosum–littorale* odhalila k-mer analýza přítomnost segmentálních duplikací chromozomů (Sekimoto et al., 2023). Pozorované chromozomální přestavby u třídy Zygnematophyceae jsou zřejmě možné díky přítomnosti holocentrických chromozomů a chromozomů s tzv. „difuzními“ centromerami (Godward, 1954, 1961; King, 1953). Protože holocentrické chromozomy mají kinetochoru po celé délce chromozomu, mohou na nich probíhat fragmentace, fúze, inserce či delece bez fatálních následků. Důsledkem aktivity těchto přestaveb je v mnoha případech velká variabilita ve velikosti a počtu chromozomů (Guerra et al., 2010). Výskyt holocentrických chromozomů není u organismů příliš častý, mimo Zygnematophyceae byly nalezeny u vyšších rostlin v čeledích *Juncaceae* a *Cyperaceae*, dále pak u členovců a hlístic (Hughes-Schrader & Ris, 1941; Kaur et al., 2012; Rotreklová et al., 2011). Dalšími faktory stojícími za variabilitou ve velikosti genomu by pak mohly být aneuploidie či polyploidie (Hoshaw et al., 1985; Hull et al., 1982; Pouličková et al., 2014; J. -C Wang et al., 1986) Na recentní polyploidizaci u druhu *S. muscicola* poukázala studie (Cheng et al., 2019), ve které porovnávali poměry ortologních genů

s druhem *M. endlicherian*. U druhu *Spirogyra maxima* byly nalezeny velké chromozomy, jejichž značná velikost umožnila podrobněji zkoumat vzor barvení a satelity jednotlivých chromozomů. Na základě těchto pozorování pak Hoshaw et al., (1987) identifikoval z přírodních vzorků zřejmě polyploidy s třemi páry homologních chromozomů. V menší míře pak ve vzorku byly identifikovány i buňky s 12 chromozomy, které byly popsány jako tetraploidy. Je však nutné brát na vědomí, že zdvojený počet chromozomů nemusí vždy odpovídat duplikaci sady chromozomů, ale může jít pouze o důsledek fragmentace původního karyotypu bez změny velikosti genomu (Rotreklová et al., 2011).

Zvláštní případy měnící se ploidní úrovně byly pozorovány u rodu *Spirogyra* jak v laboratorních podmínkách, tak v přírodních populacích (Hoshaw et al., 1985; J. -C Wang et al., 1986). Na základě počtu chromozomů, měření šířek buněk a také relativní intenzity fluorescence jader byla v několika případech uvažována polyploidie nebo aneuploidie jako možné faktory stojící za morfologickou variabilitou u tzv. druhových komplexů (Hoshaw et al., 1985, 1987; Hull et al., 1982; McCourt & Hoshaw, 1990). Dle zmíněných studií se změny v ploidii ukázaly jako reversibilní. Zároveň bylo v přírodních vzorcích často pozorováno souběžně více morfotypů (McCourt et al., 1986; J. C. Wang et al., 1989). (Hoshaw et al., 1985; McCourt & Hoshaw, 1990; J. -C Wang et al., 1986) uvádí, že rozdílné morfotypy (lišící se i intenzitou fluorescence jader), dříve tradičně rozlišované jako jednotlivé druhy, se mezi sebou mohou i křížit a za samostatné druhy je tak zřejmě považovat nelze. Na základě silné pozitivní korelace šířky vláken a relativní intenzity fluorescence jader u rodu *Spirogyra* (McCourt et al., 1986) byl diskutován i možný vliv velikosti genomu na geografické rozšíření jednotlivých morfotypů definovaných šířkou vláken. Z dnešního pohledu je ale třeba výše zmiňované výsledky přebírat opatrně, protože studované druhy nebyly charakterizovány molekulárně, ale pouze na základě morfologických znaků.

## 2. Cíle práce

Spájkivé řasy rodu *Zygnema* jsou kosmopolitně rozšířenou monofyletickou skupinou, která obývá široké spektrum habitatů. Lze je nalézt i na mnoha extrémních stanovištích, kde jsou vystaveny vlivu nejrůznějších abiotických stresů, jakými je například UV záření, mráz, či vysychání (McCourt et al., 1986; Pichrtová et al., 2018; Transeau, 1951). Jsou si také blízcě příbuzné s rodem *Spirogyra*, u kterého byly v minulosti popsány změny ploidních úrovní (Hoshaw et al., 1985; J. -C Wang et al., 1986). Existence podobného fenoménu u zástupců rodu *Zygnema* byla v rámci studií často diskutována, avšak doposud nikdy podrobně analyzována (Pichrtová et al., 2018). Bylo však dosud popsáno značné rozpětí ve velikosti genomu u tohoto rodu ( $1C = 0,06 - 2,86$  pg), a to pouze na základě měřených 8 kmenů (Čertnerová, 2021; Feng et al., 2021; Kapraun, 2005; Mazalová et al., 2011).

S ohledem na výše uvedené poznatky představují zástupci rodu *Zygnema* zajímavý modelový systém, jehož výzkum by mohl osvětlit možnou spojitost mezi velikostí genomu a ekologickými nároky organismů

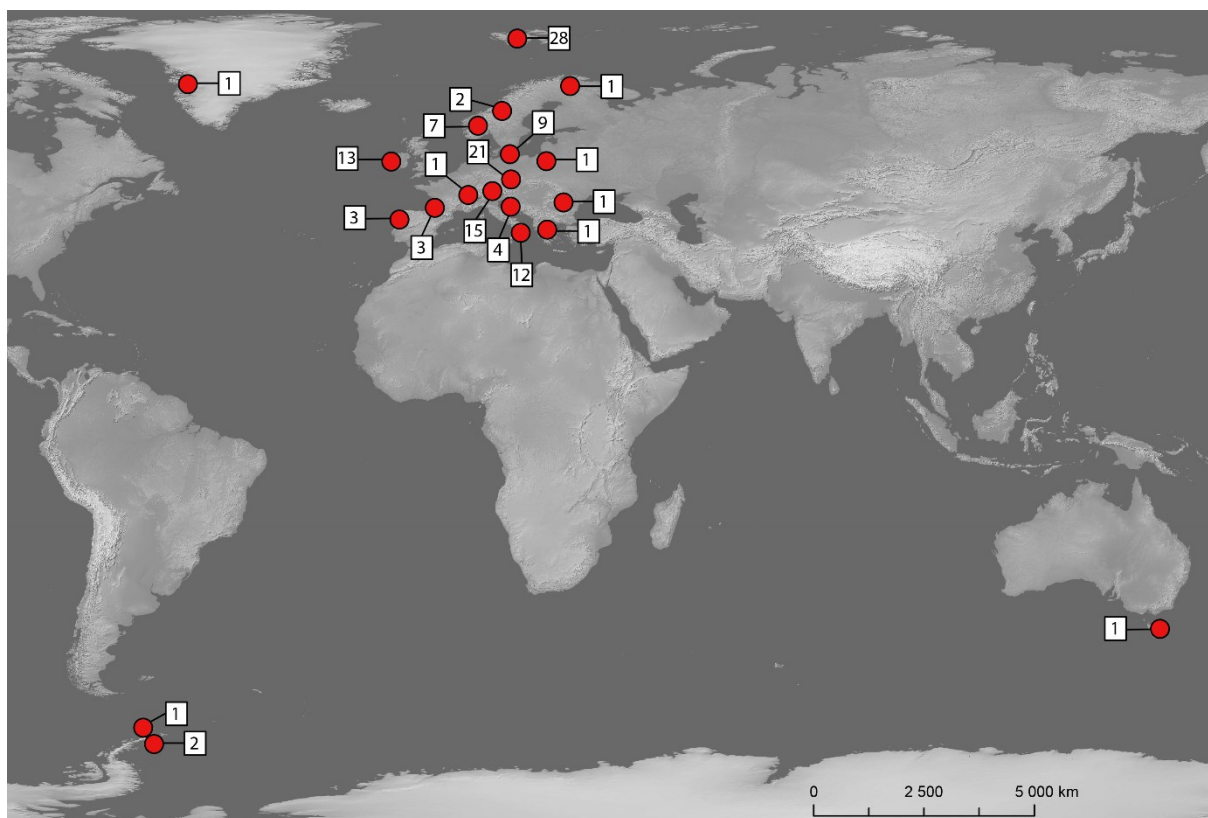
Tato práce si klade tyto konkrétní cíle:

- Prozkoumat variabilitu ve velikosti genomu v rámci celého rodu *Zygnema*.
- Otestovat souvislost velikosti genomu a šířky buněk
- Rekonstruovat evoluci velikosti genomu rodu *Zygnema*
- Otestovat možné souvislosti velikosti genomu a ekologických nároků jednotlivých evolučních linií rodu *Zygnema*.
- Detekovat možné polyploidní události v rámci rodu *Zygnema*.

### 3. Materiál a metody

#### 3.1. Původ studovaných kultur

Aby byla pokryta co nejširší škála environmentálních podmínek prostředí a co největší možná fylogenetická diverzita, bylo do práce zařazeno dohromady 129 kmenů rodu *Zygea* z rozmanitých prostředí napříč Evropou a doplněno o kmeny z polárních oblastí (Obrázek 4 + Příloha 1 + Příloha 4 + Příloha 5). Tyto kultury pocházely z předchozích / běžících projektů na algologickém oddělení PřF UK. Dataset obsahoval také 8 kultur pocházejících ze sbírek Sammlung von Algenkulturen (SAG, sagdb.uni-goettingen.de), Culture collection of Autotrophic Organisms (CCALA, ccala.butbn.cas.cz) a The Culture Collection of Cryophilic Algae (CCryo). cccryo.fraunhofer.de), reprezentující zejména arktické oblasti.



**Obrázek 4:** Mapa lokalit s uvedeným počtem kmenů. Mapa vytvořena v programu ArcGIS 10.0 a následně upravena pomocí programu Adobe Photoshop CS6.

#### 3.2. Kultivace řas *in vitro*

Kultury řas bylo nejprve nutné zkontrolovat, kvůli přítomnosti případných kontaminací. Dále byla sledována i životaschopnost všech dostupných kmenů, protože kultury byly před počátkem této práce dlouhou dobu ponechány bez pravidelného přeočkovávání a jejich stav neumožňoval přímé zahájení práce na pokusech. Všechny kultury byly kultivovány v tekutém



Boldově bazálním médiu (BBM, Andersen, 2005) v 50ml Erlenmayerových baňkách s hrdly překrytými alobalovými zátkami. Kultury byly pěstovány za kontinuálního osvětlení  $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  při teplotě  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  s pravidelným přeočkováním do nového média každých 4-6 měsíců, v závislosti na vitalitě jednotlivých kultur. Baňky byly naplněny vždy přibližně 40 ml kultivačního média a při přeočkovávání do nich byl inokulován 1 ml původní kultury.

### 3.3. Analýza velikosti buněk

Jako parametr vhodně reprezentující velikost buňky byla měřena šířka buňky. Již předchozí studie ukázaly, že zatímco délka buněk je u vláknitých spájivek značně variabilní v závislosti na fázi buněčného cyklu, šířka vláken je naopak téměř neměnná (Feng et al., 2021; Hoshaw, 1974). Pro potřeby měření šířky buněk bylo vybráno 83 kultur reprezentujících zahrnuté genotypy (Příloha 2). Tyto kultury byly přeočkovány do nového média a po 3 týdnech od inokulace, kdy se většina kultury nacházela v exponenciální fázi růstu, bylo zahájeno měření šířky buněk. Vegetativní vlákna byla pozorována pomocí světelného mikroskopu Leica DM 2000 LED za využití Nomarského diferenciálního interferenčního kontrastu (DIC) a objektivu se zvětšením 40x. Dále byly pořizovány mikrofotografie pomocí fotoaparátu Leica ICC50 W a za využití programu Leica Application Suite (LAS X) byly změřeny šířky jednotlivých buněk.

Pro každou kulturu, byly nakapány vzorky na minimálně 3 mikroskopická sklíčka (více v případě málo koncentrované biomasy ve vzorku). Na každém sklíčku bylo nafoceno 15-20 buněk z různých částí sklíčka, tak aby pro každou kulturu bylo ve výsledku změřeno 50 náhodně vybraných buněk. Zároveň byly z každého vlákna měřeny maximálně 2 buňky. Výběr buněk vhodných pro měření byl podmíněn jejich aktuálním stavem. Z měření tak byly vyloučeny buňky jevící známky senescence s nahromaděnými lipidy a zjednodušenými plastidy bez laloků i buňky vitální, ale morfologicky abnormální, tedy neodpovídající klasickému válcovitému či soudečkovitému tvaru vegetativních buněk.

### 3.4. Analýza objemu plastidů

Pro analýzu objemu plastidů, byly vybrány dvě dvojice kmenů náležící ke dvěma liniím [linie S (P4C a 14PLa) a linie M1156 (5n1-5\_3 a 5N1-5\_1)] na základě násobných velikostí genomu. Kultury s těmito kmeny byly přeočkovány do nového média a po 3 týdnech od přeočkování byly již dostatečně narostlé pro mikroskopické analýzy.

Shluky vláken byly pomocí pipety přeneseny do 1ml 1% tzv. low melting agarózy ohřáté na  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ . Následně byla vlákna nasáta do kapiláry s cílem zajistit jejich paralelní uspořádání v rámci kapiláry.

Pro měření objemu plastidu byl použit mikroskop Lightsheet Z.1 Zeiss. Kapilára byla následně umístěna do speciálního držáku. Pomocí držáku pak byla zasazena do zobrazovací komůrky mikroskopu, která byla naplněna destilovanou vodou. K excitaci chlorofylu a detekci plastidů v rámci buněk byl použit 488 nm laser a emisní filtr propustný pro vlnové délky nad 585 nm. Snímání vzorků probíhalo ve snaze zachytit vždy alespoň jeden pár plastidů reprezentující jednu buňku a vyhnout se nápadně semknutým plastidům, představující dělicí se buňky či zakulacené plastidy v stárnoucích buňkách. Měření bylo prováděno pomocí programu ZEN Zeiss

Následná analýza dat byla prováděna pomocí programu Arivis Vision 4D Zeiss. K detekci plastidů na základě nasnímané intenzity autofluorescence chlorofylu byl využit výchozí postup analýzy vzorků: „detect big structures auto“. Zprvu byl vybrán objekt zájmu a metodou „denoising“ byly odfiltrovány objekty o průměru menším jak 0,5  $\mu\text{m}$  a následně byl vybrán Otsu algoritmus pro prahovou detekci. Veškeré detekované objekty byly poté ještě vizuálně hodnoceny, aby bylo možné vyloučit objekty, jež nepředstavovaly plastidy v ideálním stavu pro měření a zároveň aby bylo možné vyloučit plastidy, jejichž obrysy vykazovaly známky zkreslení díky nejasné detekci fluorescence.

### 3.5. Průtoková cytometrie

V této práci byla užitá metodika přípravy vzorků pro průtokovou cytometrii podle studie (Čertnerová, 2021), která se zaměřovala na optimalizaci protokolů pro měření velikosti genomu u problematických druhů mikroskopických řas, včetně rodu *Zygnema*.

Na analýzu velikosti genomu bylo vybráno 129 kmenů. Kultury byly pěstovány na 50 mm Petriho miskách naplněných BBM médiem zpevněným 1,5% agarem. Potřeba pěstování biomasy pro cytometrické analýzy na pevném médiu vychází ze skutečnosti, že jsou jednotlivá vlákna obalena slizovými pochvami, které činí oddělení biomasy od tekutého kultivačního média pomocí centrifugace značně obtížné. Právě přítomnost zbytků kultivačního média v měřeném vzorku může mít za následek zvýšenou nepřesnost měření vlivem autofluorescence na pozadí (Čertnerová, 2022). Kultury byly pěstovány za kontinuálního osvětlení 35  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  při teplotě 15 °C, tedy za intenzivnějšího osvětlení, než tomu bylo u zásobních kultur. K měření byly takto naočkované kultury použity co nejdříve po nárůstu biomasy, nejpozději však 5 týdnů po přeočkování. Zásadní bylo používat k analýzám kultury v exponenciální fázi růstu, které se vyznačují sytě zeleným zbarvením. Kultury vykazující známky senescence (nažloutlé až do hněda zbarvené) nebyly analyzovány. Pomocí inokulační jehly se zahnutou špičkou bylo sklizeno cca 15-30 mg biomasy z každé kultury. Řasová biomasa byla přesunuta

do 2ml plastové mikrozkušavky s odstraněnou zátkou. Mikrozkušavka byla poté umístěna do 100ml odběrové nádoby do poloviny naplněné silikagelem. Po 2-5 dnech vysoušení biomasy byl vzorek analyzován průtokovým cytometrem.

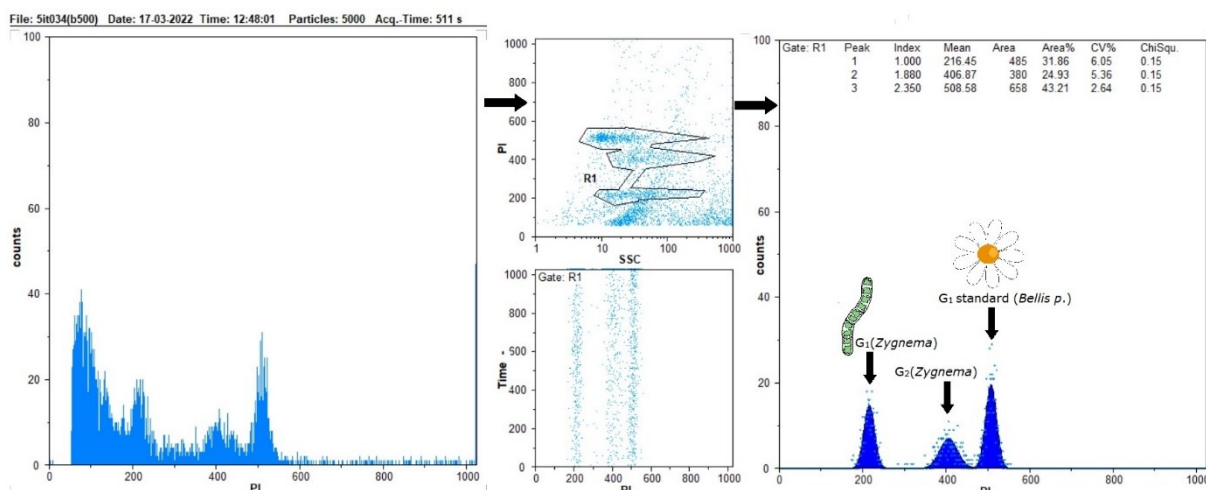
Finální příprava vzorku k měření probíhala společně s (pseudo)interním standardem. Za standardy bylo zvoleno více druhů rostlin s rozdílnými velikostmi genomu, vzhledem k širokému rozpětí velikosti genomu napříč zkoumaným rodem. Jako standardy byly zvoleny čtyři rostliny: *Bellis perennis* (2C = 3,38 pg, Schönswetter et al., 2007), *Solanum pseudocapsicum* (2C = 2,59 pg, Temsch et al., 2010), *Carex acutiformis* (2C = 0,82 pg, Veselý et al., 2012) a v jednom případě *Zea mays* (2C = 5,43 pg (Lysák & Doležel, 1998)). Vysušená biomasa vzorku a cca 20 mg čerstvého listu standardu byly společně umístěny do plastové Petriho misky s 550  $\mu$ l ledově vychlazeného lyzačního pufru LB01 (15 mM Tris, 2 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 0,5 mM spermin tetrahydrochlorid, 80 mM KCl, 20 mM NaCl, 0.1 % (v/v) Triton X-100; pH = 7,5 podle práce: Doležel et al., 1989). Vzorek společně se standardem byly následně nasekány žiletkou. Vzniklá homogenizovaná směs byla poté pomocí pipety důkladně promíchána a přefiltrována přes nylonový filtr s průměrem ok 42  $\mu$ m do speciální 3,5ml kyvety určené pro měření na cytometru. Suspenze byla následně ponechána 15 minut při pokojové teplotě a v případě, že se na dně kyvety usadil pozorovatelný sediment, byl supernatant ještě jednou přefiltrován přes nylonový filtr. Takto zpracovaný vzorek byl následně obarven. Barvení probíhalo dvěma možnými postupy, v závislosti na tom, zda bylo cílem měřit absolutní velikost genomu či obsah GC páru bází.

### 3.5.1. Stanovení absolutní velikosti genomu

Pro odhad absolutní velikosti genomu byly vzorky obarveny přidáním 750  $\mu$ l LB01 pufru obohaceného o 50  $\mu$ g ml<sup>-1</sup> propidium jodidu (PI), 50  $\mu$ g ml<sup>-1</sup> RNázy IIA a 2  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>  $\beta$ -merkaptoethanolu. Po zhruba 5 minutách barvení za pokojové teploty byly vzorky analyzovány pomocí přístroje Partec CyFlow Space, opatřeného zeleným solid state laserem s vlnovou délkou 532 nm a ovládacím programem FloMax ver. 2.4d Partec. Při každé analýze bylo změřeno nejméně 5000 částic a rychlost průtoku vzorku měřící komůrkou byla nastavena na přibližně 10-20 částic za sekundu. Pro jednotlivá měření bylo rovněž třeba specificky nastavit prahovou hranici zaznamenávané intenzity fluorescence tak, aby se ideálně minimalizovalo měření šumu autofluorescence na pozadí.

Výsledné histogramy byly poté analyzovány pomocí programu FloMax ver. 2.4d Partec. Při zobrazení intenzity fluorescence ku bočnímu rozptylu světla částic (side scatter = SSC) bylo potřeba provést ohraničení (gating) jader vzorku a standardu, protože prakticky u všech

vzorků byla přítomna značná míra cytoplazmatické fluorescence a autofluorescence na pozadí. Gatingem byla analýza zbavena významného podílu rušivého signálu a bylo možné od sebe na histogramu rozeznat jednotlivé vrcholy reprezentující jádra o rozdílné velikosti genomu (Obrázek 5). Pozice jader použitého standardu byla předem známá z kontrolního měření samostatného standardu. Další vrchol v histogramu byl určen jako jádra vzorku v G<sub>1</sub> fázi buněčného cyklu a v případě přítomnosti shluku jader s dvojnásobnou intenzitou fluorescence byla taková jádra označena za dělící se jádra v G<sub>2</sub> fázi buněčného cyklu.



**Obrázek 5:** Ilustrační obrázek ohraničení jader vzorku a standardu na histogramu a následná identifikace jednotlivých vrcholů reprezentujících shluky jader o identické velikosti genomu

Absolutní velikosti genomu byla poté vypočtena podle práce (Doležel & Bartoš, 2005) jako podíl průměrné intenzity fluorescence G<sub>1</sub> jader vzorku ku průměrné intenzitě fluorescence G<sub>1</sub> jader standardu vynásobený velikostí genomu standardu.

Přesnost určení pozice jader v rámci histogramu byla měřena jako variační koeficient (CV). Za přijatelná byla považována měření, jejichž CV nepřekračovala 10 %. Pro každou kulturu bylo nezbytné dosáhnout takové přesnosti při alespoň třech nezávislých měřeních, aby byla minimalizována potenciální nepřesnost způsobená náhodným posunem při měření. Dále byla snaha zajistit, aby se jednotlivá měření použitá k výpočtu velikosti genomu nelišila o více než 5 % (ideálně, ne více než o 3 %).

### 3.5.2. Stanovení obsahu GC bází

Pro kmeny ze stejného genotypu (s identickou sekvencí markeru *rbcL*), u kterých byly naměřeny násobné velikosti genomu, byl následně analyzován obsah GC bází. Stejně procentuální zastoupení GC bází u kmenů s násobnou velikostí genomu by totiž naznačovalo, že by se mohlo jednat o tzv. polyploidy, tj. kmeny s násobným počtem chromozomových sad. Biomasa u daných kmenů byla připravena dle popisu z kapitoly (3.5) a následně byl vzorek

obarven přidáním 750  $\mu\text{l}$  LB01 pufru obohaceného o 4  $\mu\text{g ml}^{-1}$  DAPI (4',6-diamidin-2-fenylindol) a 2  $\mu\text{l ml}^{-1}$   $\beta$ -merkaptoethanolu. Po zhruba 5 minutách barvení za pokojové teploty byl vzorek analyzován pomocí přístroje Partec CyFlow ML vybaveného UV LED s vlnovou délkou 365 nm a ovládacím programem FloMax ver. 2.4d (Partec). Při každém měření bylo zaznamenáno nejméně 3000 částic a rychlost průtoku vzorku měřící komůrkou byla stejně jako v případě stanovování absolutní velikosti genomu nastavena na 10-20 částic za sekundu.

Na rozdíl od cytometru Partec CyFlow Space použitého k stanovení absolutní velikosti genomu, cytometr Partec CyFlow ML nezaznamenává rozptyl světla částic v bočním směru (SSC), ale pouze hodnoty intenzity fluorescence. Při vyhodnocování histogramů tak nebylo možné ohraničit shluky částic odpovídající měřeným jádrům od šumu autofluorescence na pozadí. Z toho důvodu, bylo třeba brát ještě větší zřetel na kvalitu analyzovaných vzorků. Identifikace shluků jader a vyhodnocení analýz proběhly (vyjma ohraničení) stejně jako u stanovení absolutní velikosti genomu pomocí programu FloMax ver. 2.4d Partec.

Výpočet zastoupení GC páru bází byl proveden podle studie (Šmarda et al., 2008) pomocí veřejně dostupné tabulky

(<http://sci.muni.cz/botany/systemgr/download/Festuca/ATGCFlow.xls>).

### 3.6. Rekonstrukce evoluce velikosti genomu a šířky buněk

Pro účely rekonstrukce evoluce velikosti genomu byl převzat fylogenetický strom sestavený na základě 77 *rbcL* sekvencí z dosud nepublikované studie (Pichrtová, nepublikováno, Příloha 6) a ze sekvencí uveřejněných v databázi GenBank. Nejdříve bylo pomocí programu R 4.2.2. (R Core Team, 2023) z fylogenetického stromu odstraněno 9 linií (UTCC136, RS011, UTEXLB45, RS010, RS001, RS013, RS008, RS003 a RS012), pro které nebyla velikost genomu změřena (jednalo se zejména o referenční sekvence, získané z databáze GenBank) a 1 vnější linie reprezentovaná druhem *Zygnemopsis lamellata*. Z dalších analýz byly také vynechány linie (M1156, R, J, SAG6981a a V), v rámci kterých se velikost genomu jednotlivých kmenů značně lišila (>30%). Dále byly vyloučeny předpokládané polyploidní kmény, které měly přibližně dvojnásobnou velikost genomu v porovnání s ostatními kmény z dané linie (4VJ2, 5ZE\_1, 4g, 4h, P4C, 8PO12, M2-C a 5IE1-1\_4). Následně byly hodnoty velikosti genomu zprůměrovány, v rámci linií, u kterých bylo změřeno více jak jeden kmen a variabilita ve velikosti genomu nepřesahovala 30 % (kmény zahrnuté rekonstrukce fylogeneze jsou vyznačené v tabulce (Příloha 3) **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** ve sloupci PGLS pomocí hesla multiple nebo multiple +cw). Použitím funkce „contMap“, která je dostupná v R knihovně „phytools“ (Revell, 2012) pak byly hodnoty absolutní velikosti genomu namapovány na výše

uvedený strom. Funkce zároveň umožňuje zobrazení odhadu kontinuálního vývoje parametru uvnitř stromu pomocí metody „Maximum likelihood“. Následně byl pomocí funkce „plotTree.barplot“ z knihovny „phytools“ (Revell, 2012) sestaven strom s vizualizovaným sloupcovým grafem u fylogenetického stromu.

Identický strom byl použit i pro rekonstrukci evoluce šířky buněk. Pro tento strom bylo rovněž provedeno odstranění linií a kmenů jako je uvedeno u rekonstrukce evoluce velikosti genomu. Dále byly odstraněny linie, pro něž nebyla změřena šířka buněk (5CHK17, 5IT047, KG5 a SAG2419). Pro průměrování šířky buněk v rámci jednotlivých linií byly kmeny vybírány dle variability ve velikosti genomu daných kmenů, jako tomu bylo u rekonstrukce evoluce velikosti genomu. Byly tedy vyloučeny kmeny, jejichž variabilita ve velikosti genomu přesahovala (30 %). Pro zobrazení sloupcového grafu jednotlivých šířek buněk u fylogenetického stromu byl použit stejný postup, jako pro velikost genomu.

Pro výsledné zobrazení obou stromů naproti sobě, byly větve stromu evoluce šířky buněk roztaženy pomocí programu Adobe Photoshop CS6, tak aby si pozice větvení obou stromů odpovídaly.

### **3.7. Datový soubor ekogeografických proměnných**

Pro 127 z 129 zahrnutých kmenů byly dostupné GSP souřadnice lokalit sběrů. Tyto souřadnice byly pomocí programu ArcGIS 10.0 (ESRI, Redlands, CA, USA) nejprve vyneseny na mapu pro zobrazení geografického rozšíření variability ve velikost genomu u studovaných zástupců rodu *Zygnema*. Pro studii vlivů prostředí na rozšíření různých zástupců s rozdílnou velikostí genomu byly zahrnuty klimatické proměnné z WorldClim database ver. 2 (<http://worldclim.org/>; Fick & Hijmans, 2017) a půdní charakteristiky ze SoilGrids database (<http://soilgrids.org/>; Hengl et al., 2017). To umožnilo konkrétní testování potenciálních vlivů prostředí na zkoumané organismy.

Z WorldClim databáze byla data extrahována pomocí programu ArcGIS 10.0 s nejpodrobnějším možným rozlišením 30 úhlových vteřin (cca 1 km). Je ale nutné zmínit, že data použitá v databázi nejsou vždy přímá měření. Meteorologické stanice, které slouží jako zdroj primárních dat, nepokrývají celou oblast dostatečně a zbylá data jsou proto dopočítávána extrapolací. I tak se v současné době nicméně jedná o nejlepší zdroj dat pro podobné studie (Fick & Hijmans, 2017).

Stažena byla data 19 bioclimatických proměnných:

- BIO1 = Roční průměrná teplota (°C)
- BIO2 = Průměrný denní rozsah teploty (°C)
- BIO3 = Izothermalita (BIO2/BIO7) ( $\times 100$ ) (bez jednotek)
- BIO4 = Teplotní sezónnost (standardní odchylka  $\times 100$ ) (bez jednotek)
- BIO5 = Maximální teplota nejteplejšího měsíce (°C)
- BIO6 = Minimální teplota nejchladnějšího měsíce (°C)
- BIO7 = Roční rozsah teploty (BIO5-BIO6) (°C)
- BIO8 = Průměrná teplota nejvlhčí ¼ roku (°C)
- BIO9 = Průměrná teplota nejsušší ¼ roku (°C)
- BIO10 = Průměrná teplota nejteplejší ¼ roku (°C)
- BIO11 = Průměrná teplota nejchladnější ¼ roku (°C)
- BIO12 = Roční úhrn srážek (mm)
- BIO13 = Úhrn srážek v nejvlhčím měsíci (mm)
- BIO14 = Úhrn srážek v nejsušším měsíci (mm)
- BIO15 = Srážková sezónnost (koeficient variace) (bez jednotek)
- BIO16 = Úhrn srážek nejvlhčí ¼ roku (mm)
- BIO17 = Úhrn srážek nejsušší ¼ roku (mm)
- BIO18 = Úhrn srážek nejteplejší ¼ roku (mm)
- BIO19 = Úhrn srážek nejchladnější ¼ roku (mm)

Dalších 9 proměnných popisujících půdní parametry bylo získáno ze Soilgrid databáze pomocí programu R 4.2.2. (R Core Team, 2023) a knihovny „soilDB“ a funkce „fetchSoilGrids“ (D. Beaudette et al., 2023) a následně knihovny „aqp“ a funkce „horizons“ (D. E. Beaudette et al., 2013). Data z této databáze nabízí ještě jemnější rozlišení než u WorldClim dat, a to na mřížce o velikosti buňky 250 metrů (Hengl et al., 2017). Konkrétně byly vybrány proměnné:

- bdod = Objemová hmotnost jemné zeminy ( $\text{cg}/\text{cm}^3$ )
- cec = Kationtová výměnná kapacita půdy (mmol/kg)
- cfvo = Objemový podíl hrubých fragmentů ( $> 2 \text{ mm}$ ) ( $\text{cm}^3/\text{dm}^3$ )
- clay = Podíl jílovitých částic ( $< 0.002 \text{ mm}$ ) v jemné zemině (g/kg)
- nitrogen = Celkový obsah dusíku (cg/kg)
- phh2o = pH půdy

sand = Podíl písečných částic ( $> 0.05$  mm) v jemné zemině (g/kg)

silt = Podíl jílovitých částic ( $\geq 0.002$  mm a  $\leq 0.05$  mm) v jemné zemině (g/kg)

soc = Obsah organického uhlíku v jemné zemině (dg/kg)

Jako poslední proměnná byla přidána zeměpisná šířka (latituda). Pro kmeny z jižní polokoule byly záporné hodnoty převedeny na kladné, aby bylo možné data transformovat. Hodnota latitudy v uvedených datech tedy spíše než reálnou zeměpisnou šířku představuje vzdálenost od rovníku bez ohledu na severojižní orientaci. Upraveny byly také hodnoty bioclimů udávajících absolutní teplotu (nikoliv bioclimy udávající teplotní rozptyl) v °C. Velké množství kmenů totiž pochází z chladných lokalit a pro případné transformace proměnných bylo nutné se vyhnout užití záporných hodnot. Teplota byla tedy přepočtena na Kelviny.

### **3.8. Statistické hodnocení dat**

Všechny statistické analýzy dat byly provedeny v programu R 4.2.2. (R Core Team, 2023). Před samotnou analýzou byly vytvořeny modely vlivu jednotlivých proměnných ( $\ln(\text{velikost genomu} \sim x)$ ) a  $\text{ppls}(\text{velikost genomu} \sim x)$  na velikost genomu. Následně byly provedeny Shapiro-Wilkovy testy normality a porovnány diagnostické grafy jednotlivých modelů. Takto byly vybrány vhodné transformace modelů jednotlivých proměnných tak, aby bylo možné celý soubor ekogeografických proměnných testovat v rámci jednoho modelu.

Protože některé skupiny ekogeografických proměnných z WorldClim databáze mohou popisovat jeden trend, byla vytvořena korelační matice jednotlivých proměnných pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Na základě výsledků pak byly odhaleny skupiny vzájemně korelujících proměnných s Pearsonovým koeficientem, definovaným koeficientem vyšším než 0,9. V rámci těchto skupin byla vybrána vždy jedna proměnná, tak aby nejlépe reprezentovala sledovaný trend. Výsledkem pak tedy bylo odstranění korelujících proměnných z testovaného souboru dat.

#### **3.8.1. Lineárně regresní modely ekogeografických trendů**

Nejprve byly testovány obecné lineárně regresní modely velikosti genomu vůči jednotlivým proměnným. Byly vytvořeny dva soubory dat, a to jeden pro klimatické proměnné, které byly dostupné pro 127 kmenů, a druhý soubor dat pro půdní charakteristiky, které byly dostupné pro 124 kmenů. V rámci tohoto testování však nebyly vytvořeny žádné souhrnné modely testující vliv všech možných proměnných dohromady a testování tak sloužilo spíše pro srovnání s následujícími analýzami, které braly v potaz i fylogenetický vliv.



### 3.8.2. PGLS modely ekogeografických trendů

Pro zohlednění fylogenetických vztahů v testování vlivu podmínek prostředí na měřené linie byla zvolena metoda fylogenetického zobecnění nejmenších čtverců (PGLS, = Phylogenetic Generalized Least Squares). Modely byly vytvářeny pomocí funkce „ppls“ z knihovny „caper“ (Orme, 2023). U každého modelu byla metodou maximální věrohodnosti (ML = Maximum Likelihood) stanovena i hodnota škálovacího parametru  $\lambda$  = lambda. Tento parametr popisuje vliv fylogeneze na vývoj sledovaného znaku. Lambda ( $\lambda$ ) nabývá hodnot v rozmezí 0-1. V případech, kdy se parametr lambda blíží 0, poukazuje na slabý vliv fylogeneze, zatímco v případech, kdy se hodnota blíží 1, je vliv fylogeneze silný (Pagel et al., 2004).

PGLS modely byly vždy srovnávány s fylogenetickým stromem. Bylo pracováno se stejným fylogenetickým stromem, jako při rekonstrukci evoluce velikosti genomu, avšak bylo nutné z daného stromu vyřadit linie, pro které nebyly dostupné všechny ekogeografické proměnné. Z fylogenetického stromu byly tedy odstraněny linie UTEX42 a linie CCALA880. Dále byly zprůměrovány hodnoty ekogeografických proměnných a velikostí genomu v rámci linií, u kterých nebyla pozorována velká variabilita ve velikosti genomu (>30 %). Linie použité pro PGLS modely jsou v tabulce ve sloupci PGLS označeny jako "multiple" nebo "multiple +cw".

Dalším krokem bylo vytvoření samostatných modelů pro jednotlivé proměnné se stejnými transformacemi, jako u lineárně regresních modelů, z důvodu zachování možnosti porovnání dat mezi jednotlivými modely. Dále byly vytvořeny souhrnné modely obsahující pouze statisticky významné prediktory. Výběr prediktorů byl proveden na základě Akaikeho informačního kritéria (AIC) a postupu vpřed pomocí funkce „addterm“ z balíčku „MASS“ (Venables & Ripley, 2002).

### 3.8.3. Souvislosti velikosti genomu a šířky buněk

Vzhledem k tomu, že šířka buněk nebyla úspěšně změřena pro veškeré kmeny, ke kterým byly dostupné ekogeografické proměnné, bylo testování vztahu velikosti genomu a šířky buněk prováděno odděleně od analyzování vlivu ekogeografických proměnných. Nejprve byly z dat odstraněny hodnoty šířky buněk pro kmeny, u kterých byl stanoven variační koeficient měření nad 15 %. Následně bylo provedeno testování pomocí lineárně regresivního modelu pro 81 kmenů a zároveň byl analyzován i PGLS model zahrnující 59 kmenů. Hodnoty šířky buněk kmenů, u nichž byla naměřena násobná velikost genomu oproti zbývajícím

kmenům, byly opět vyřazeny z průměrování pro PGLS modely, stejně jako u vyhodnocování PGLS modelů ekogeografických proměnných.

## 4. Výsledky

### 4.1. Velikost genomu v rámci rodu *Zygnema*

Velikost genomu byla stanovena pro 129 kmenů rodu *Zygnema*, které spadají do 68 linií. Tyto linie byly definovány na základě odlišné sekvence chloroplastového *rbcl* markeru. Celkové rozmezí pozorované variability ve velikosti genomu se pohybuje od 0,22 do 5,06 pg (0,21-4,95 Gbp). Medián velikosti genomu v rámci studovaných kmenů byl stanoven na 1,47 pg. (1,43 Gbp).

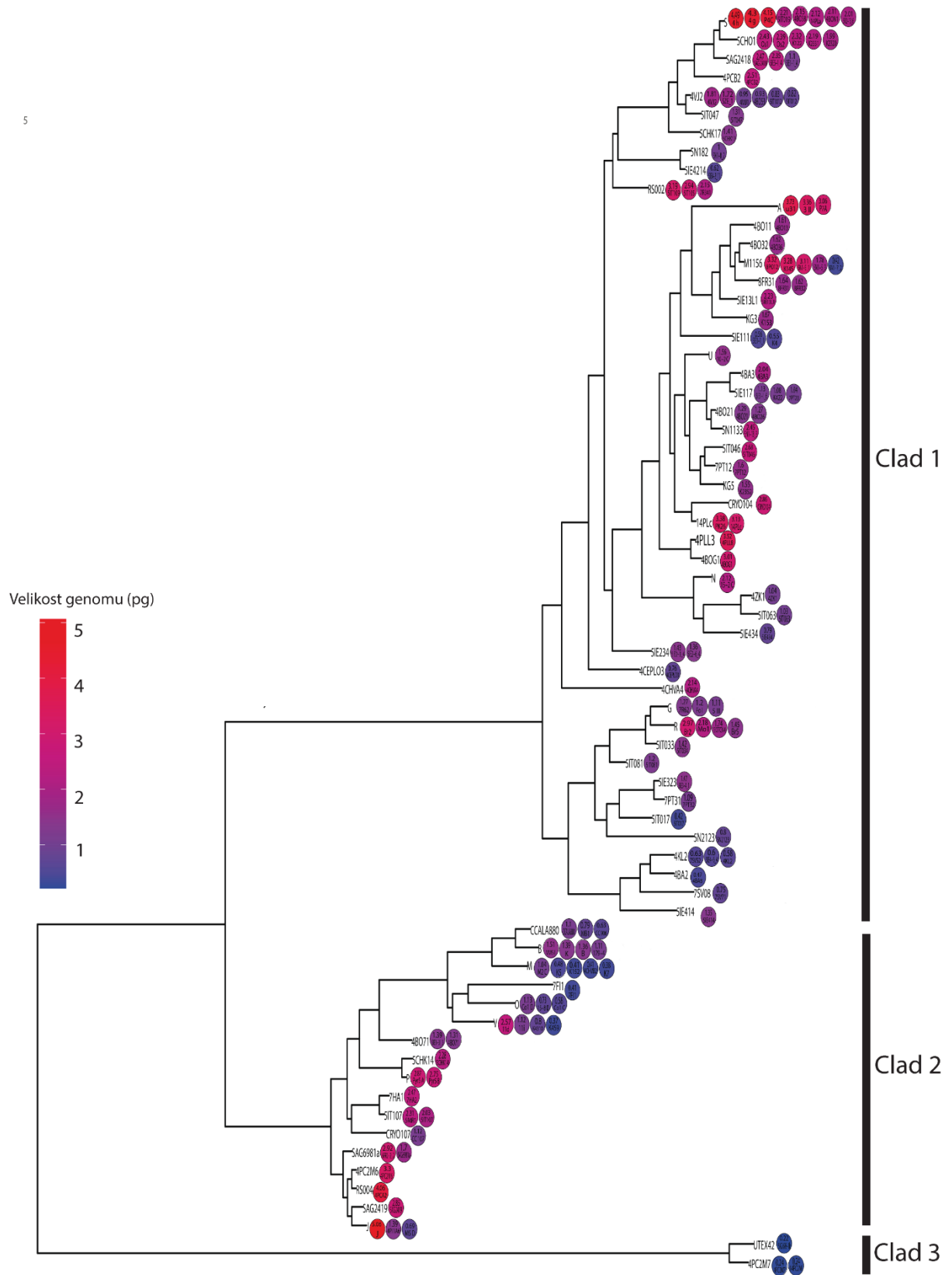
Při pohledu na 3 rozeznávané clady v rámci fylogeneze Zygnematophyceae, byly nejpodrobněji proměřeny clady 1, ze kterého bylo v této práci změřeno 89 kmenů a naměřené rozmezí se pohybovalo od 0,47 do 4,49 pg (0,46 - 4,39 Gbp) s mediánem 1,62 pg (1,58 Gbp). Pro clady 2 bylo změřeno 37 kmenů a detekováno bylo rozmezí od 0,37 do 5,06 pg (0,36 – 4,95Gbp) s mediánem 1,31 pg (1,28 Gbp). Z clady 3 byly změřeny pouze 3 kmeny s nejmenšími genomy naměřenými v této diplomové práci (0,22, 0,24 a 0,24 pg) (0,21, 0,23 a 0,23 Gbp).

Při měření velikosti genomu bylo dosahováno CV (koeficientu variance) vzorku v rozpětí od 1,65 po 12,35 % s mediánem 5,45 %.

Primární data a stanovené velikosti genomů jednotlivých kmenů jsou uvedeny v tabulce (Příloha 3). Velikosti genomu všech změřených kmenů byly rovněž vyneseny na zjednodušený fylogenetický strom (Obrázek 6). Z namapování všech analyzovaných velikostí genomu na strom je patrný nerovnoměrný počet měřených kmenů v rámci jednotlivých linií.

V rámci několika linií byla pozorována značná variabilita ve velikosti genomu, a to konkrétně v rámci linií 4VJ2, J, M, M1156, R, S, SAG2418, SAG698-1a a V. Je však důležité poznamenat, že kmeny napříč liniemi nebyly měřeny tak, aby bylo možné relevantně popsat, jak velká je variabilita v rámci linií rodu *Zygnema*. Z 68 měřených linií byl totiž jen pro 26 linií měřen více než jeden kmen. Při výběru měření více kmenů pro jednu linii byla snaha vybrat k měření kmen pocházející z odlišné lokality.

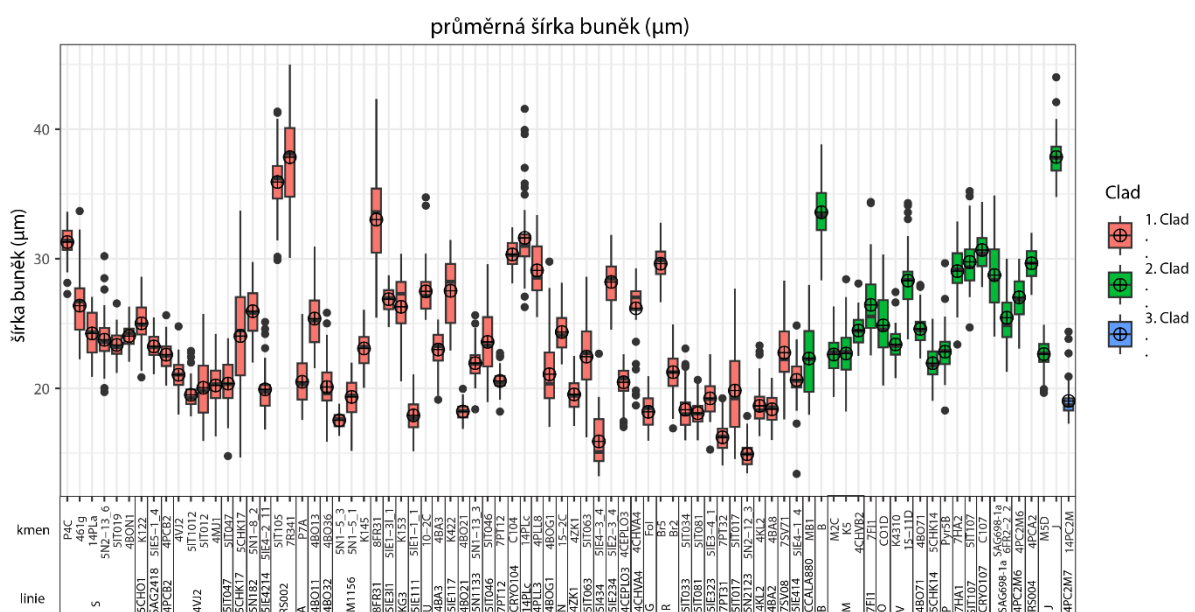
U většiny výše uvedených linií (4VJ2, M, M1156, S, SAG2418 a SAG698-1a) byla variabilita tvořena dvěma skupinami kmenů, lišícími se o násobek velikosti genomu. Oproti tomu v rámci linií J, R a V byl pozorován významnější rozptyl. Největší rozdíl ve velikosti genomu pohybující se od 0,69 do 5,06 pg (0,67 - 4,95 Gbp) byl pozorován napříč třemi měřeními kmeny linie J. Byly ale pozorovány i linie s velice nízkou variabilitou ve velikosti genomu (např. 4KL2, 5IE111, 5IE117).



**Obrázek 6:** Fylogenetický strom s vyneseními hodnotami velikosti genomu pro všechny analyzované kmeny. Namapování velikostí genomu bylo provedeno manuálně v programu Adobe Photoshop CS6

## 4.2. Šířka buněk napříč liniemi rodu *Zygnema*

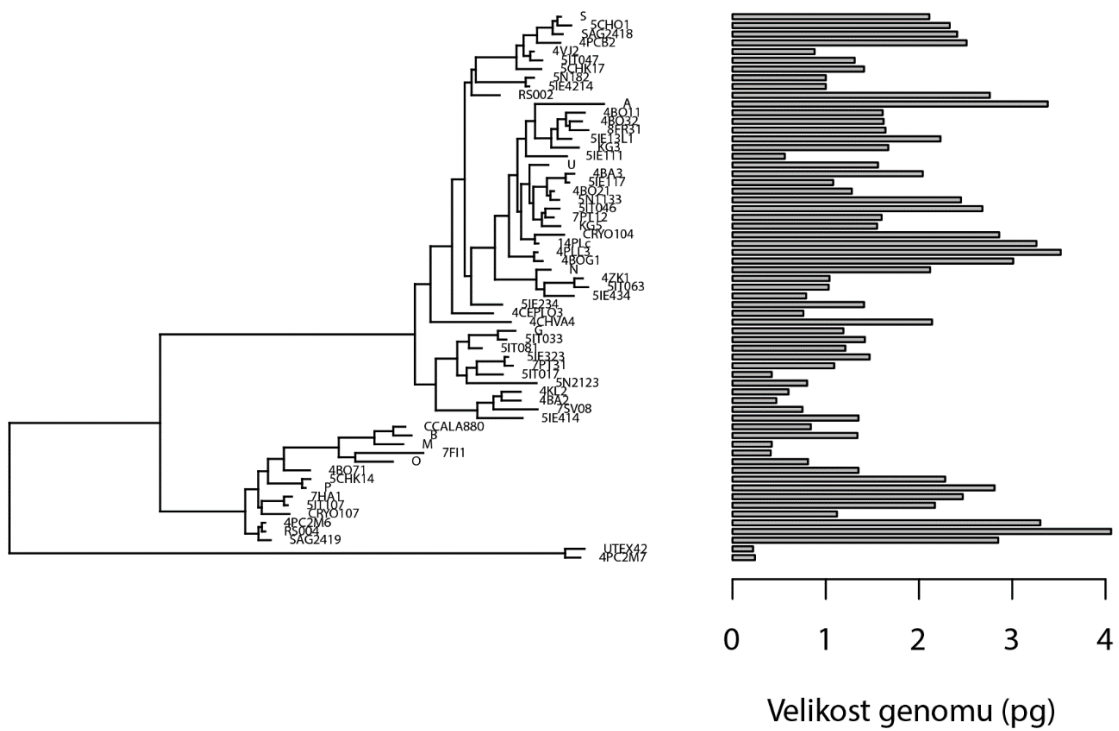
Šířka buněk byla změřena pro 83 kmenů náležících do 66 linií. Šířky buněk se nepodařilo změřit pouze v rámci linií KG5 a SAG 2419. Pozorované byly šířky buněk v rozmezí od 14,9 do 37,9  $\mu\text{m}$ . Z následných analýz byly na základě vysokého koeficientu variability ( $>15\%$ ) vyloučeny line 5CHK17 a 5IT017. Medián šířky buněk napříč studovanými kmeny byl 23,0  $\mu\text{m}$  a průměrný koeficient variability souboru dat byl vypočítán na 7,4 % (po vyloučení linií 5CHK17 a 5IT017). Variabilita v šířce buněk jednotlivých kmenů je ilustrována pomocí boxplotů seřazených dle příslušných linií a cládů (Obrázek 7). Shrnující data o měření šířek buněk jsou uvedena v tabulce (Příloha 2).



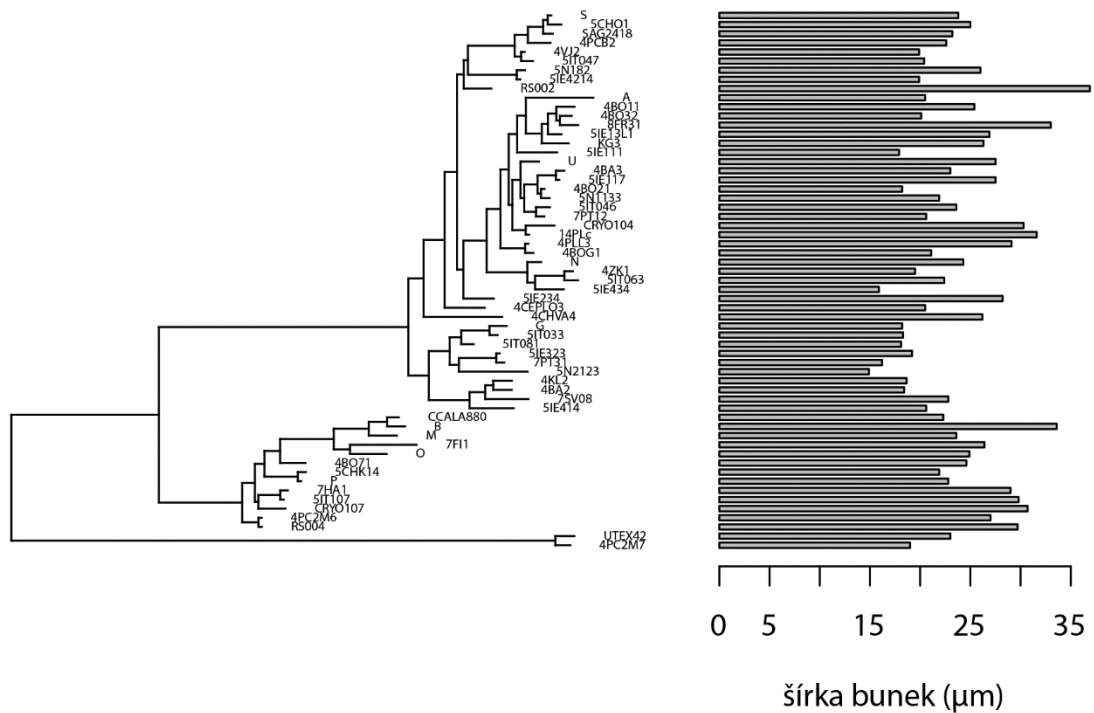
**Obrázek 7:** Průměrná šířka buněk 83 měřených kmenů náležících k 66 liniím. Linie jsou seřazené dle pořadí na fylogenetickém stromě. Dělicí čáry v rámci jednotlivých boxplotů značí median a střed kruhu s křížem značí průměr z 50 měření pro každý z kmenů.

## 4.3. Rekonstrukce evoluce velikosti genomu a šířky buněk

Pro účely rekonstrukce evoluce velikosti genomu byly na upravený strom vyneseny zprůměrované hodnoty velikosti genomu pro kmeny, které jsou v tabulce **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** označeny ve sloupci PGLS jako „multiple“ nebo „multiple+cw“. Nejprve byla vynesena zprůměrovaná hodnota velikosti genomu pro zkoumané line Obrázek 8: Namapované zprůměrované velikosti genomu použité pro rekonstrukci evoluce v tomto znaku. Obrázek 8). Stejným způsobem byly na fylogenetický strom vyneseny průměrné šířky buněk (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**). Kmeny, které nebyly zahrnuty, mají v tabulce (Příloha 2) označení \* nebo \*\*.

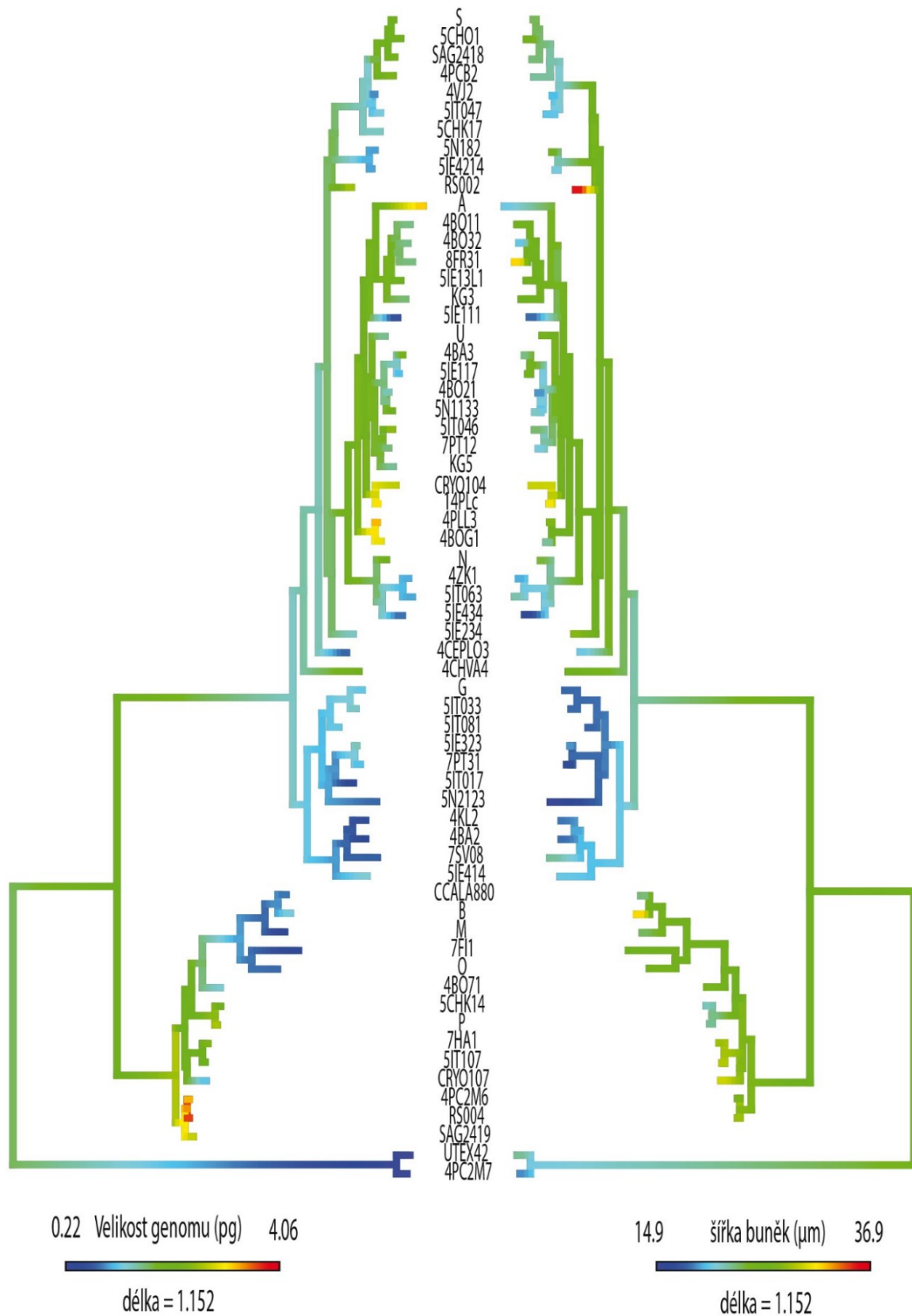


**Obrázek 8:** Namapované zprůměrované velikosti genomu použité pro rekonstrukci evoluce v tomto znaku.



**Obrázek 9:** Namapované zprůměrované šířky buněk použité pro rekonstrukci evoluce tohoto znaku

Rekonstrukce evoluce velikosti genomu a šířky buněk je vyobrazena na zrcadlených fylogenetických stromech (Obrázek 10)



**Obrázek 10:** Rekonstruovaná evoluce velikosti genomu a šířky buněk v rámci rodu *Zygnema*. Barevně jsou vyznačeny hodnoty obou znaků i s odhadem ancestrální hodnoty daných znaků.

Pro oba znaky byly vypočteny škálovací parametry lambda a jejich 95% konfidenční intervaly (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**)

**Tab. 1:** Škálovací parametry lambda a jejich konfidenční intervaly

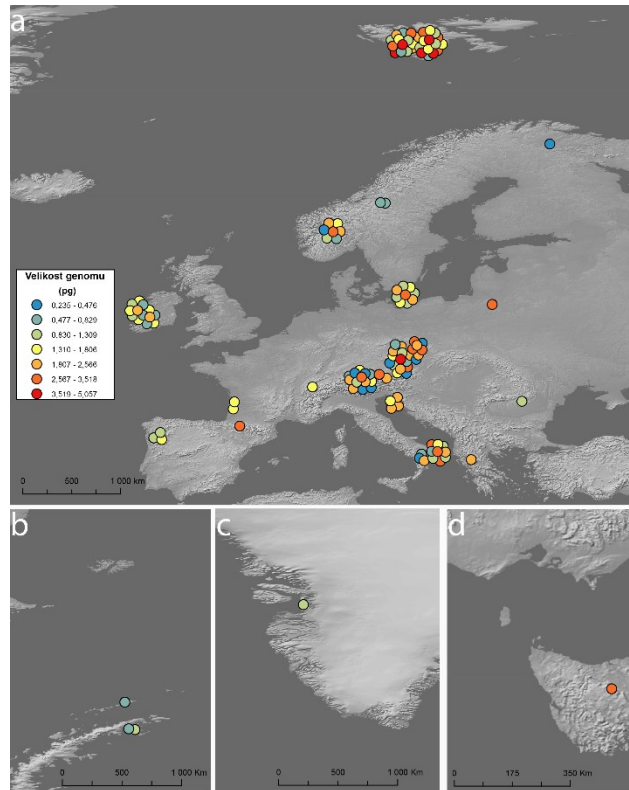
|                    | velikost genomu | šířka buněk    |
|--------------------|-----------------|----------------|
| Lambda             | 0,968           | 0,971          |
| 95% konf. interval | (0,865, 0,996)  | (0,869, 0,997) |

#### 4.4. Vliv velikosti genomu na ekologické nároky a geografické rozšíření

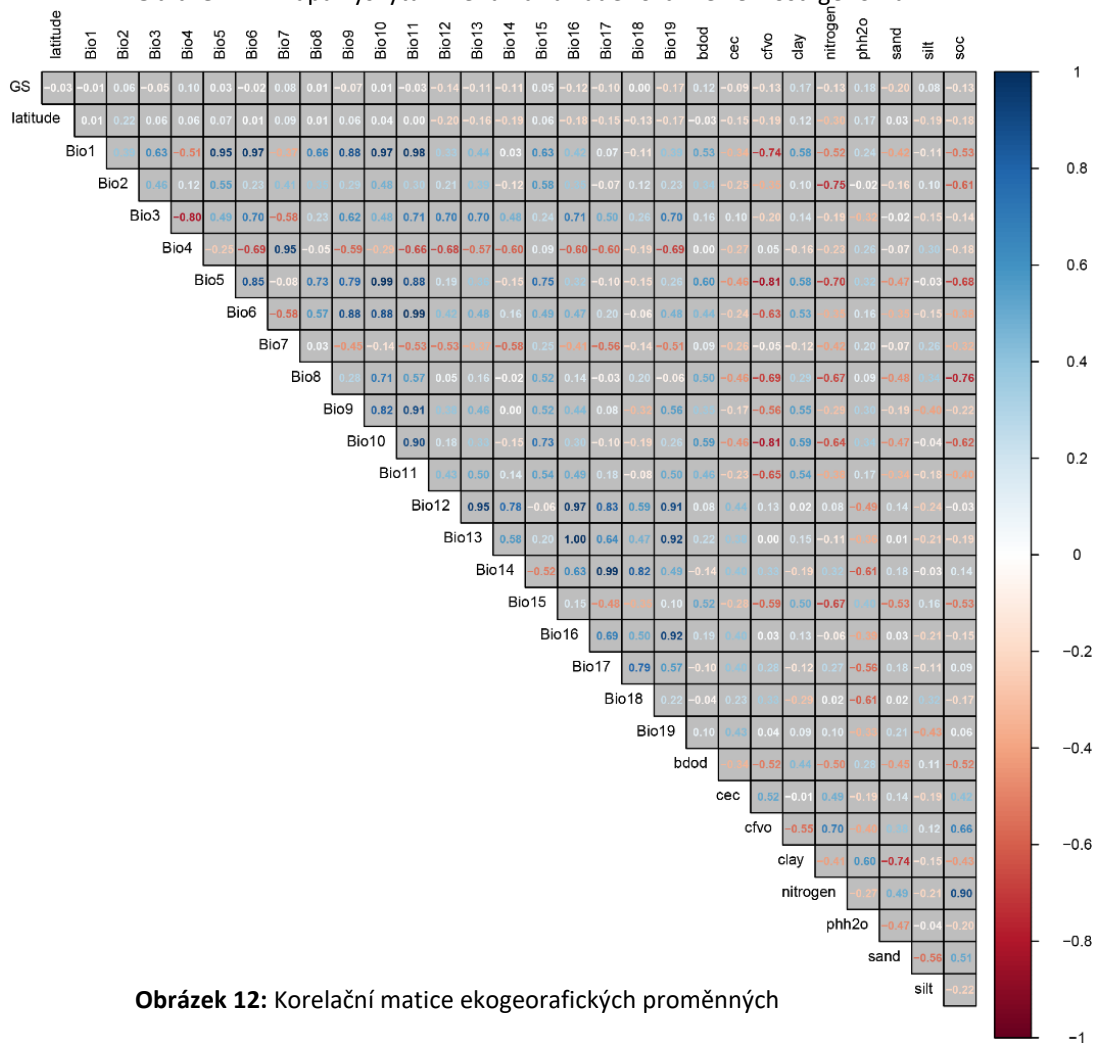
Velikost genomu jednotlivých kmenů byla vynesena na mapu. Nicméně žádné jasné geografické trendy z rozmístění kmenů na mapě jasné nejsou (Obrázek 11).

Ekogeografické proměnné z Worldclim databáze použité pro testování vlivu prostředí na velikost genomu jsou uvedené v tabulce (Příloha 4). Dále jsou proměnné ze SoilGrid databáze, užití k identickým analýzám, uvedeny v tabulce (Příloha 5). Pro soubor těchto proměnných byla zhotovena korelační matice (Obrázek 12). Proměnné, jejichž Pearsonův koeficient byl vyšší než 0,9, byly seskupeny do 4 skupin. Z nejpočetnější skupiny korelujících proměnných, které popisují teplotní podmínky lokality (Bio1, Bio5, Bio6, Bio8, Bio9, Bio10 a Bio11), byla do následných analýz vybrána proměnná Bio1, udávající roční průměrnou teplotu. Ze skupiny vzájemně korelujících proměnných, které popisují srážkové úhrny na lokalitě (Bio12, Bio13, Bio16, Bio19), byla vybrána proměnná Bio12, popisující roční úhrny srážek. Pro další skupinu korelujících proměnných (Bio4 a Bio7), které popisují teplotní rozkolísanost, byla ponechána pro následné testy proměnná Bio7, která popisuje roční rozptyl teplot. Z poslední skupiny proměnných popisující srážkové úhrny v nejsušší periodě roku (Bio14 a Bio17) byla vybrána proměnná Bio17, udávající srážkové úhrny v nejsušší čtvrtině roku.





Obrázek 11: mapa výskytu kmenů na základě rozdílné velikosti genomu



Obrázek 12: Korelační matice ekogeografických proměnných

#### 4.4.1. Jednotlivé LM a PGLS modely vlivu ekogeografických proměnných

Na základě předběžných analýz individuálních proměnných byla odhalena průkazná pozitivní souvislost pH prostředí (pH2o) na velikost genomu ( $p = 0,0086$ , Tab. 2, Obrázek 13, E). Dále byla prokázána signifikantní negativní korelace transformovaných hodnot ročních úhrnů srážek ( $\sqrt{\text{Bio12}}$ ) s velikostí genomu ( $p = 0,0099$ , Tab. 2, Obrázek 13, B). Zároveň byla odhalena pozitivní signifikantní závislost velikosti genomu na ročním rozptylu teplot. (Bio7,  $p = 0,0295$ , Tab. 2, Obrázek 13, D). Slabé záporné korelace byly stanoveny také při testování vlivu úhrnu srážek v nejsušší ¼ roku (Bio17,  $p = 0.0336$ , Tab. 2, Obrázek 13, C) a izotermalita na velikost genomu (Bio3,  $p = 0.0359$ , Tab. 2, Obrázek 13, A).

Dle výsledků však ani jeden z prediktorů nevysvětluje více jak 6 % variability (Tab. 2). Jedná se tedy o velmi slabé závislosti.

Testování vlivu jednotlivých ekogeografických proměnných se zohledněním vlivu fylogeneze odhalilo signifikantní pozitivní korelaci podílu jílových částic v půdě (silt) a velikosti genomu ( $p = 0.0095$ , Tab. 3 Obrázek 14: Grafy znázorňující signifikantně prokázané ( $p$  hodnota  $< 0,05$ ) PGLS závislosti velikosti genomu na ekogeografických proměnných prostředí. A – závislost velikosti genomu na podílu jílových částic v půdě, B – závislost velikosti genomu na ročním úhrnu srážek, C – závislost velikosti genomu na kationtové výměnné kapacitě Obrázek 14, A). Dále byl popsán průkazný negativní vztah mezi transformovanými hodnotami ročních úhrnů srážek ( $\sqrt{\text{Bio12}}$ ) a velikostí genomu ( $p = 0.0422$ , Tab. 2, Obrázek 14, B). Jako poslední byla stanovena signifikantní negativní korelace mezi transformovanou kationtovou výměnnou kapacitou půdy ( $\log(\text{cec})$ ) a velikostí genomu ( $p = 0.0438$ , Tab. 3, Obrázek 14, B).

Při zohlednění fylogeneze jednotlivé zkoumané proměnné vysvětlily zhruba 6-10 % variability (Tab. 3), jedná se tedy opět o slabé závislosti. Při srovnání hodnot škálovacího parametru lambda je patrné, že napříč všemi zkoumanými proměnnými byl zaznamenán silný efekt fylogenetického signálu.

**Tab. 2:** Výsledky testování lineárních modelů velikosti genomu s všemi zahrnutými ekogeografickými proměnnými. Průkazně vycházející modely ( $p < 0,05$ ) jsou vyznačeny tučně.

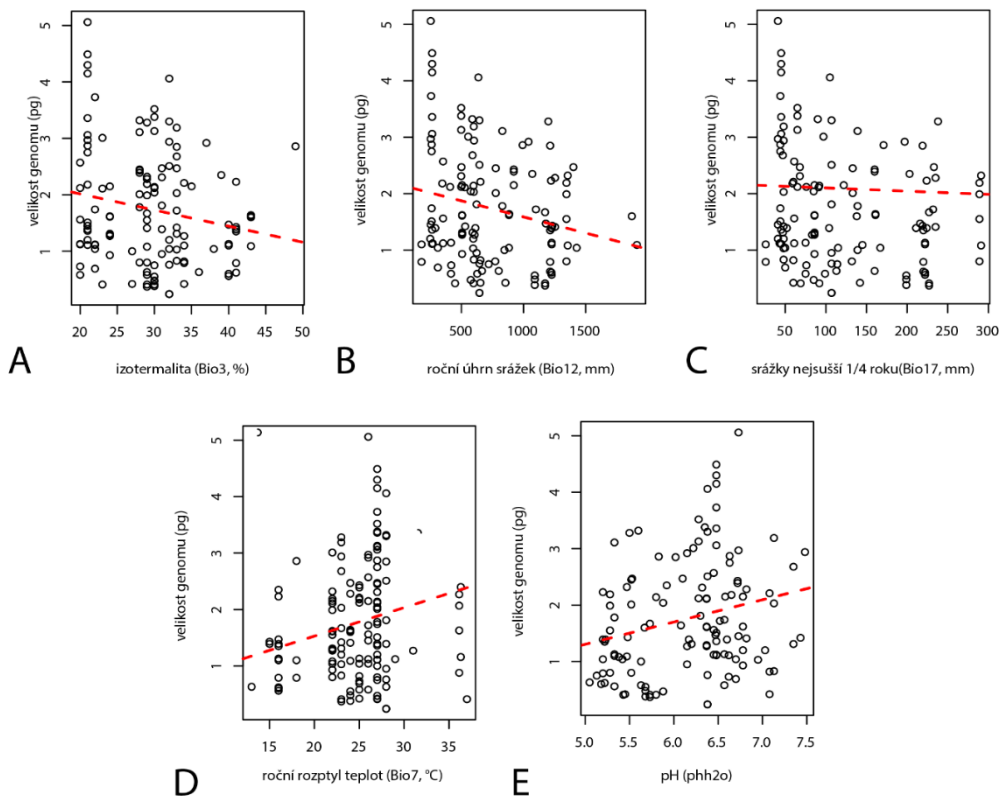
| Proměnná srovnávaná s velikostí genomu | Vícenásobný koeficient determinace ( $R^2$ ) | Adjustovaný koeficient determinace | Stupně volnosti | F hodnota | p hodnota |
|--|--|------------------------------------|-----------------|-----------|-----------|
| <b>latituda</b>                        | 0,0201                                       | 0,0123                             | 125             | 2,568     | 0,1116    |
| <b>bdod</b>                            | 0,0140                                       | 0,0059                             | 122             | 1,734     | 0,1904    |
| <b>cec</b>                             | 0,0000                                       | -0,0082                            | 122             | 0,0016    | 0,9685    |
| <b>cfvo</b>                            | 0,0003                                       | -0,0078                            | 122             | 0,042     | 0,8379    |
| <b>clay</b>                            | 0,0077                                       | -0,0004                            | 122             | 0,9497    | 0,3317    |

|                       |        |         |     |        |               |
|-----------------------|--------|---------|-----|--------|---------------|
| <b>sqrt(nitrogen)</b> | 0,0071 | -0,0011 | 122 | 0,8662 | 0,3538        |
| <b>phh2o</b>          | 0,0553 | 0,0475  | 122 | 7,138  | <b>0,0086</b> |
| <b>sqrt(sand)</b>     | 0,0021 | -0,0061 | 122 | 0,2549 | 0,6146        |
| <b>silt</b>           | 0,0026 | -0,0056 | 122 | 0,317  | 0,5745        |
| <b>log(soc)</b>       | 0,004  | -0,0042 | 122 | 0,4866 | 0,4868        |
| <b>sqrt(Bio1)</b>     | 0,0052 | -0,0028 | 125 | 0,6487 | 0,4221        |
| <b>Bio2</b>           | 0      | -0,008  | 125 | 0,0033 | 0,9542        |
| <b>Bio3</b>           | 0,0347 | 0,027   | 125 | 4,498  | <b>0,0359</b> |
| <b>Bio7</b>           | 0,0374 | 0,0297  | 125 | 4,851  | <b>0,0295</b> |
| <b>Bio8</b>           | 0,0293 | 0,0216  | 125 | 3,777  | 0,0542        |
| <b>Bio9</b>           | 0,0013 | -0,0067 | 125 | 0,1568 | 0,6928        |
| <b>sqrt(Bio12)</b>    | 0,0521 | 0,0445  | 125 | 6,868  | <b>0,0099</b> |
| <b>Bio15</b>          | 0,0013 | -0,0067 | 125 | 0,1664 | 0,684         |
| <b>Bio17</b>          | 0,0356 | 0,0279  | 125 | 4,616  | <b>0,0336</b> |
| <b>Bio18</b>          | 0,0288 | 0,021   | 125 | 3,707  | 0,05646       |

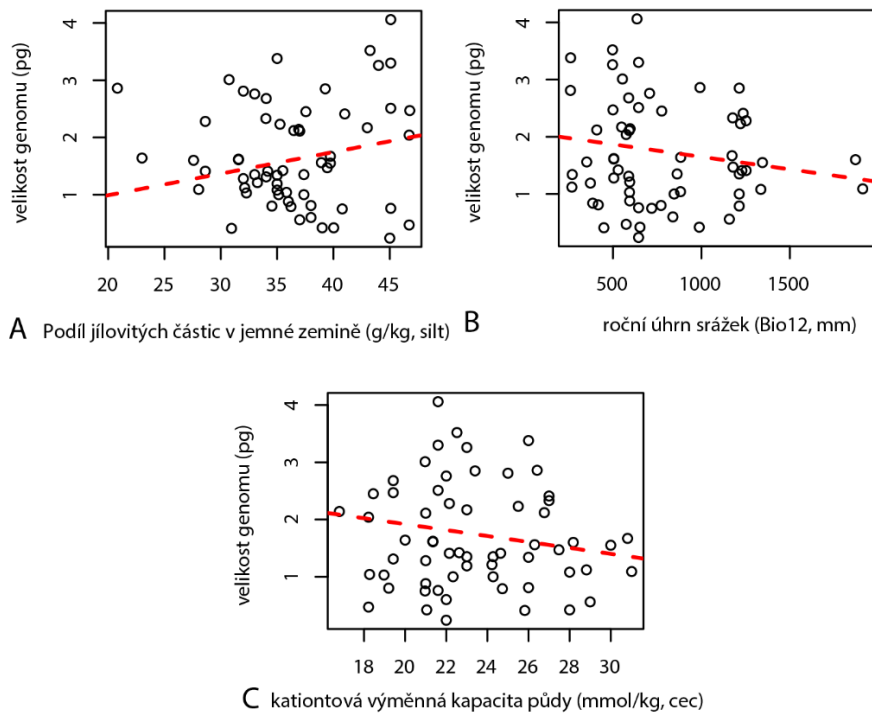
**Tab. 3:** Výsledky testování PGLS modelů velikosti genomu s všemi zahrnutými ekogeografickými proměnnými. Průkazně vycházející modely ( $p < 0,05$ ) jsou vyznačeny tučně.

| Proměnná srovnávaná s velikostí genomu | Vícenásobný koeficient determinace ( $R^2$ ) | Adjustovaný koeficient determinace | Stupně volnosti | F hodnota | lambda | p hodnota     |
|--|--|------------------------------------|-----------------|-----------|--------|---------------|
| PGLS-latitude                          | 0,0073                                       | -0,0092                            | 60              | 0,4435    | 0,9700 | 0,5080        |
| PGLS-bdod                              | 0,0082                                       | -0,0086                            | 59              | 0,4855    | 0,9670 | 0,4887        |
| PGLS-log(cec)                          | 0,0671                                       | 0,0513                             | 59              | 4,2450    | 0,9780 | <b>0,0438</b> |
| PGLS-cfvo                              | 0,0054                                       | -0,0114                            | 59              | 0,3222    | 0,9650 | 0,5725        |
| PGLS-clay                              | 0,0023                                       | -0,0147                            | 59              | 0,1338    | 0,9690 | 0,7159        |
| PGLS- <b>sqrt(nitrogen)</b>            | 0,0164                                       | -0,0002                            | 59              | 0,9864    | 0,9670 | 0,3247        |
| PGLS-phh2o                             | 0,0339                                       | 0,0176                             | 59              | 2,0730    | 0,9700 | 0,1552        |
| <b>sqrt(sand)</b>                      | 0,0260                                       | 0,0095                             | 59              | 1,5770    | 0,9670 | 0,2141        |
| PGLS-silt                              | 0,1086                                       | 0,0935                             | 59              | 7,1860    | 0,9880 | <b>0,0095</b> |
| PGLS-log(soc)                          | 0,0255                                       | 0,0090                             | 59              | 1,5460    | 0,9650 | 0,2186        |
| PGLS- <b>sqrt(Bio1)</b>                | 0,0032                                       | -0,0134                            | 60              | 0,1930    | 0,9760 | 0,6620        |
| PGLS-Bio2                              | 0,0199                                       | 0,0036                             | 60              | 1,2200    | 0,9670 | 0,2737        |
| PGLS-Bio3                              | 0,0035                                       | -0,0131                            | 60              | 0,2135    | 0,9680 | 0,6457        |
| PGLS-Bio7                              | 0,0296                                       | 0,0134                             | 60              | 1,8300    | 0,9720 | 0,1812        |
| PGLS-Bio8                              | 0,0010                                       | -0,0156                            | 60              | 0,0626    | 0,9670 | 0,8033        |
| PGLS-Bio9                              | 0,0029                                       | -0,0138                            | 60              | 0,1719    | 0,9690 | 0,6799        |
| PGLS- <b>sqrt(Bio12)</b>               | 0,0670                                       | 0,0515                             | 60              | 4,3100    | 0,9760 | <b>0,0422</b> |
| PGLS-Bio15                             | 0,0113                                       | -0,0052                            | 60              | 0,6837    | 0,9680 | 0,4116        |
| PGLS-Bio17                             | 0,0551                                       | 0,0393                             | 60              | 3,4970    | 0,9720 | 0,0664        |
| PGLS-Bio18                             | 0,0157                                       | -0,0007                            | 60              | 0,9550    | 0,9690 | 0,3324        |





**Obrázek 13:** Grafy znázorňující signifikantně prokázané ( $p$  hodnota  $< 0,05$ ) lineární modely závislosti velikosti genomu na ekogeografických proměnných prostředí. A - závislost velikosti genomu na izotermalitě, B - závislost velikosti genomu na ročním úhrnu srážek, C - závislost velikosti genomu na úhrnu srážek během nejsušší ¼ roku, D - závislost velikosti genomu na ročním rozptylu teplot, E - závislost velikosti genomu na pH, Transformované hodnoty byly použity při analýzách ( $\sqrt{\text{Bio12}}$ ), avšak netransformované hodnoty jsou znázorněny pro lepší vizualizaci



**Obrázek 14:** Grafy znázorňující signifikantně prokázané ( $p$  hodnota  $< 0,05$ ) PGLS závislosti velikosti genomu na ekogeografických proměnných prostředí. A - závislost velikosti genomu na podílu jílových částic v půdě, B - závislost velikosti genomu na ročním úhrnu srážek, C - závislost velikosti genomu na kationtové výměnné kapacitě půdy. Transformované hodnoty byly použity při analýzách ( $\sqrt{\text{Bio12}}$ ,  $\log(\text{cec})$ ), avšak netransformované hodnoty jsou znázorněny pro lepší vizualizaci.

#### 4.4.2. Souhrnné PGLS modely vlivu ekogeografických proměnných

Na základě porovnání hodnot AIC byl postupným výběrem prediktorů vybrán jako optimální model zahrnující 3 ekogeografické proměnné (modelA = sqrt(Bio12), silt, Bio2). Zároveň byl vytvořen model, u kterého byla jako první vybrána nejsignifikantněji vycházející proměnná z předchozích jednotlivých PGLS modelů (silt), a následně bylo opět postupováno vpřed na základě hodnot AIC proměnné (modelB = silt, Bio18, Bio2).

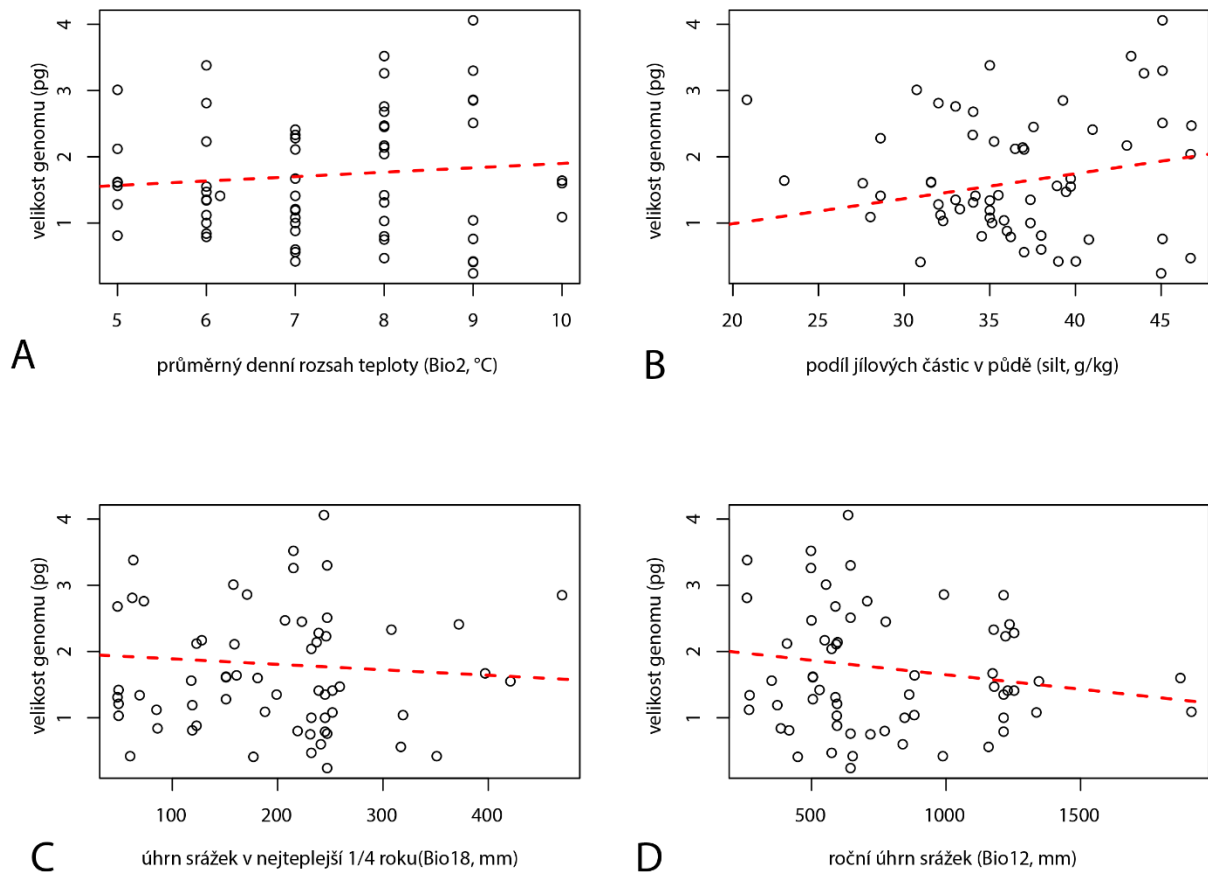
Zatímco v modelu A byly popsány průkazné vlivy všech tří zahrnutých proměnných (sqrt(Bio12), silt, Bio2), u modelu B byl popsán jen silný efekt proměnné podílu jílových částic v půdě (silt, Tab. 4). Oba modely vysvětlovaly přibližně stejné procentuální zastoupení variability. Zároveň oba modely vykazovaly silný efekt fylogenetického signálu vyjádřený pomocí škálovacího parametru lambda.

**Tab. 4:** Souhrnné PGLS modely ekogeografických proměnných. Průkazně vycházející modely ( $p < 0,05$ ) jsou vyznačené tučně.

| <b>Model A: PGLS (velikost genomu ~ sqrt(Bio12) + Bio2 + silt)</b> |                    |                |                |
|--|--------------------|----------------|----------------|
|  | <b>sqrt(Bio12)</b> | <b>Bio2</b>    | <b>silt</b>    |
| <b>p hodnota (proměnných)</b>                                      | <b>0,04598</b>     | <b>0,04863</b> | <b>0,03825</b> |
| <b>p hodnota(modelu)</b>   | <b>0,00349</b>     |                |                |
| Vícenásobný koeficient determinace ( $R^2$ )                       | 0,2108             |                |                |
| Adjustovaný koeficient determinace                                 | 0,1693             |                |                |
| lambda   | 0,993              |                |                |
| F hodnota  | 5,075              |                |                |
| Stupně volnosti  | 57                 |                |                |
| <b>Model B: PGLS (velikost genomu ~ silt + Bio18+ Bio2)</b>        |                    |                |                |
|  | <b>silt</b>        | <b>Bio18</b>   | <b>Bio2</b>    |
| <b>p hodnota (proměnných)</b>                                      | <b>0,001182</b>    | 0,058333       | 0,111489       |
| <b>p hodnota(modelu)</b>   | <b>0,004076</b>    |                |                |
| Vícenásobný koeficient determinace ( $R^2$ )                       | 0,2062             |                |                |
| Adjustovaný koeficient determinace                                 | 0,1644             |                |                |
| lambda   | 0,993              |                |                |
| F hodnota  | 4,936              |                |                |
| Stupně volnosti  | 57                 |                |                |

Dle modelu A byly popsány průkazné pozitivní korelace mezi velikostí genomu a podílem jílových částic (silt,  $p = 0,03825$ , Tab. 4, Obrázek 15, B) a průměrnými denními rozsahy teplot (Bio2,  $p = 0,04863$ , Tab. 4 Obrázek 15, A) Negativní korelace byla prokázána pro vztah mezi transformovanými hodnotami ročních úhrnů srážek (sqrt(Bio12)) a velikostí genomu ( $p = 0,04598$ , Tab. 4 Obrázek 15, D) Ve srovnání s tím byla na základě modelu B popsána pouze

signifikantní závislost mezi velikostí genomu a podílem jílových částic (silt,  $p = 0,0012$ , Tab. 4, Obrázek 15, B) Při srovnávání vysvětlené celkové variability mezi modely A ( $R^2 = 21,08\%$ ) a B ( $R^2 = 20,62\%$ ) veliký rozdíl pozorován nebyl.



**Obrázek 15:** Grafy testovaných závislostí na základě souhrnných PGLS modelů. A – závislost velikosti genomu na průměrném denním rozptylu teplot, B – závislost velikosti genomu na podílu jílových částic v půdě, C – závislost velikosti genomu na úhrnu srážek za nejteplejší ¼ roku, D – závislost velikosti genomu na ročním úhrnu srážek. Transformované hodnoty byly použity při analýzách ( $\sqrt{\text{Bio12}}$ ,  $\log(\text{cec})$ ), avšak netransformované hodnoty jsou znázorněny pro lepší vizualizaci

#### 4.5. Souvislosti velikosti genomu a šířky buněk

Šířka buněk byla testována jak pomocí lineárního modelu, tak pomocí PGLS modelu zohledňujícího fylogenetické vztahy mezi liniemi.

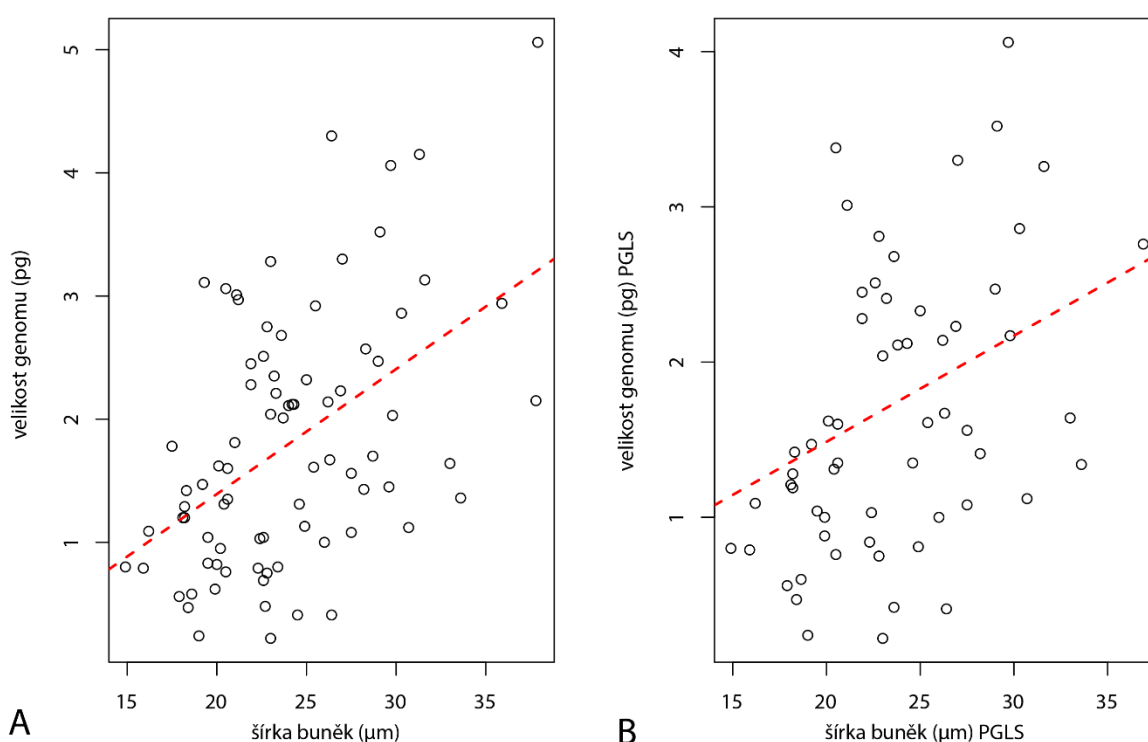
Lineární model pro data ze všech kmenů, pro které byly hodnoty změřeny vykazoval průkaznou pozitivní korelaci velikosti genomu a šířky buněk ( $p < 0,001$ , Tab. 5, Obrázek 16, A) Tento model vysvětloval 22,44 % variability.

Při zahrnutí vlivu fylogeneze byla prokázána opět signifikantní pozitivní korelace velikosti genomu a šířky buněk ( $p = 0,0012$ , Tab. 5, Obrázek 16, B). Vysvětlená variabilita PGLS

modelu byla 15,52 %. Škálovací parametr lambda byl stanoven na 0,974, což opět indikuje na silný fylogenetický signál.

**Tab. 5:** Modely vlivu šířky buněk na velikost genomu. Průkazně vycházející modely ( $p < 0,05$ ) jsou vyznačené tučně

| Proměnná                | Vícenásobný koeficient determinace | Adjustovaný koeficient determinace | Stupně volnosti | F hodnota | lambda | p hodnota       |
|-------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------|-----------|--------|-----------------|
| <b>PGLS-šířka buněk</b> | 0,1697                             | 0,1552                             | 57              | 11,65     | 0,974  | <b>0,001187</b> |
| <b>šířka buněk</b>      | 0,2341                             | 0,2244                             | 79              | 24,14     | NA     | <b>4,75E-06</b> |



**Obrázek 16** Grafy závislosti velikosti genomu na šířce buněk. A – lineární model šířky buněk a velikosti genomu, B – PGLS model šířky buněk a velikosti genomu.

#### 4.6. Obsah GC bází

Obsah GC párů bází byl stanoven pro 17 kmenů napříč 5 liniemi s cílem nalézt podobné procentuální zastoupení GC párů bází u kmenů v rámci linií s násobnými velikostmi genomu. Nápadně podobné zastoupení párů GC bází bylo nalezeno u několika kmenů s násobnými velikostmi genomu (Tab. 6, 461g~5IT019, P4C~(14PLa, 5N2-13\_6), (K145, 5N1-5\_3) ~5N1-5\_1, Br5~Br2, M2C~K5)

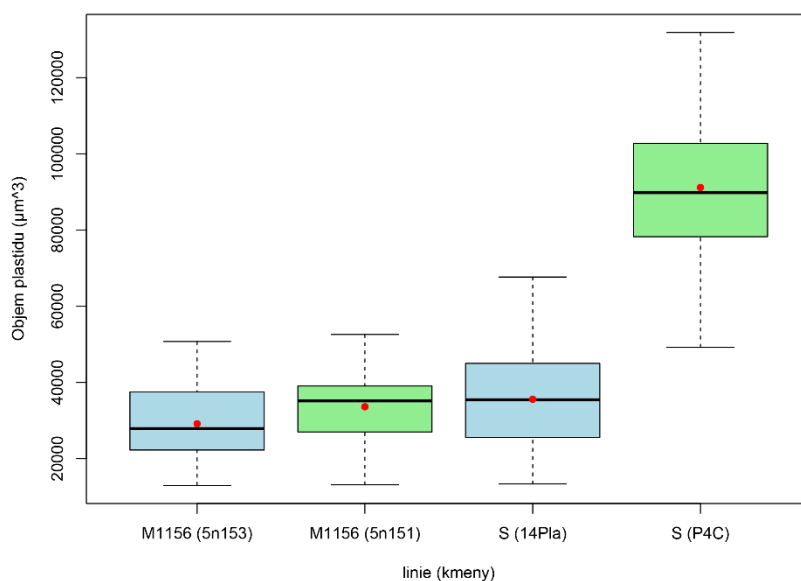


**Tab. 6:** Srovnání naměřených zastoupení GC párů bází v rámci genomu uvažovaných polyploidů. Uvedeny jsou pro ilustraci i absolutní velikosti genomu a šířky buněk jednotlivých kmenů.

| linie | kmen     | GC%   | velikost genomu (Gbp) | šířka buněk (μm) |
|-------|----------|-------|-----------------------|------------------|
| 4VJ2  | 4MJ1     | 44,51 | 0,93                  | 20,22            |
| 4VJ2  | 5IT1012  | 55,85 | 0,81                  | 19,49            |
| 4VJ2  | 4VJ2     | 42,03 | 1,71                  | 21,05            |
| S     | 461g     | 46,04 | 4,21                  | 26,38            |
| S     | P4C      | 44,46 | 4,06                  | 31,29            |
| S     | 14PLa    | 44,54 | 2,07                  | 24,23            |
| S     | 5IT019   | 46,20 | 2,13                  | 23,35            |
| S     | 5N2-13_6 | 44,68 | 1,96                  | 23,75            |
| S     | 4BON1    | 43,73 | 2,06                  | 24,04            |
| M1156 | 5N1-5_3  | 47,73 | 1,74                  | 17,53            |
| M1156 | K145     | 46,79 | 3,21                  | 23,01            |
| M1156 | 5N1-5_1  | 46,43 | 3,04                  | 17,91            |
| R     | Br2      | 44,47 | 2,91                  | 21,25            |
| R     | Br5      | 45,16 | 1,42                  | 29,62            |
| M     | K5       | 45,44 | 0,47                  | 22,69            |
| M     | M2C      | 46,37 | 1,02                  | 22,61            |

#### 4.7. Objem plastidů

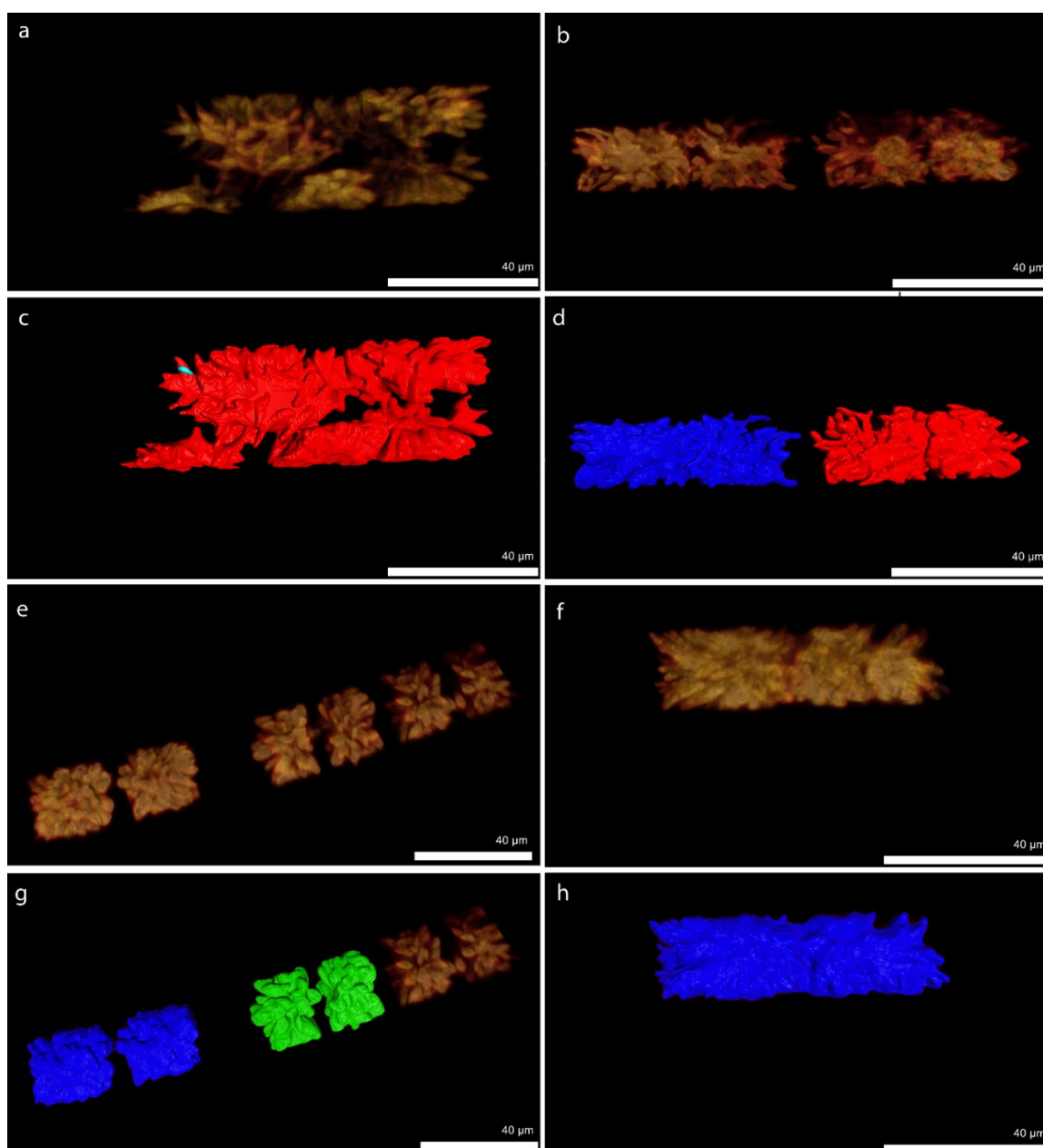
Pro 4 kmeny, které byly na základě předchozích analýz považovány za potenciálně polyploidní a jejich domněle monoploidní příbuzné, byly provedeny pilotní analýzy objemů plastidů. Malý počet měření však neumožnil data relevantně testovat (Tab. 7). Velký rozptyl naměřených dat je patrný na obrázku (Obrázek 17). Vizualizace objemu plastidu pomocí postupu „detect big structure auto“ je znázorněn na obrázku (Obrázek 18).



**Obrázek 17:** Boxploty objemu plastidů, modře jsou označeny domněle monoploidní kmeny a zeleně domněle polyploidní kmeny.

**Tab. 7:** Souhrnná tabulka měření objemu plastidů.

| linie                       | M1156   |         | S       |          |
|-----------------------------|---------|---------|---------|----------|
| kmen                        | 5N153   | 5N151   | 14Pla   | P4C      |
| průměr ( $\mu\text{m}^3$ )  | 29146,9 | 35578,6 | 33614,7 | 91171,6  |
| medián ( $\mu\text{m}^3$ )  | 27849,0 | 35449,6 | 35172,8 | 89836,2  |
| maximum ( $\mu\text{m}^3$ ) | 50734,9 | 67692,4 | 57704,1 | 131858,0 |
| Minimum ( $\mu\text{m}^3$ ) | 12958,7 | 13312,2 | 13127,1 | 49211,8  |
| Směrodatná odchylka         | 9843,0  | 14162,8 | 10325,4 | 19197,4  |
| CV(%)                       | 33,8    | 39,8    | 30,7    | 21,1     |



**Obrázek 18:** Objemy plastidů uvažovaných polyploidních kmenů a jejich monoploidních příbuzných. a – P4C primární data intenzity fluorescence, b – 14Pla primární data intenzity fluorescence, c – P4C detekovaný plastid, d - 14Pla detekovaný plastid, e – 5N1-5\_3 primární data intenzity fluorescence, f - 5N1-5\_1 primární data intenzity fluorescence, g - 5N1-5\_3 detekovaný plastid, h - 5N1-5\_1 detekovaný plastid.

## 5. Diskuze

### 5.1. Specifika průtokové cytometrie mikroskopických řas

S ohledem na poměrně nízkou četnost užití průtokové cytometrie u mikroskopických řas v porovnání se studii zabývajícími se rostlinami není metodika pro většinu skupin (dostatečně) optimalizovaná. Prvním úskalím, je nutnost kultivace řas v relativně velkém objemu, při srovnání například s množstvím biomasy potřebným pro sekvenování jednotlivých molekulárních markerů (Čertnerová, 2021, 2022; Mazalová et al., 2011). Obtížná kultivace hrála roli i v případě některých kmenů zahrnutých v této studii (např. 8FR31, 8FR32, 5N1-7\_2), u kterých bylo náročné dosáhnout požadovaného množství biomasy. Z tohoto důvodu byly vzorky řas pěstovány pro cytometrické analýzy na alespoň dvou Petriho miskách. Významným problémem je také izolace jader a jejich přesné barvení. Problém u mikroskopických řas způsobuje zejména heterogenita buněčných stěn či jiných buněčných obalů, které často brání úspěšné izolaci jader. Další problémy mohou být zaviněny nejrůznějšími sekundárními metabolity, které mohou značně zhoršovat kvalitu měření zvýšením šumu a autofluorescence na pozadí (Mazalová et al., 2011; Simon et al., 1994; Veldhuis et al., 1997).

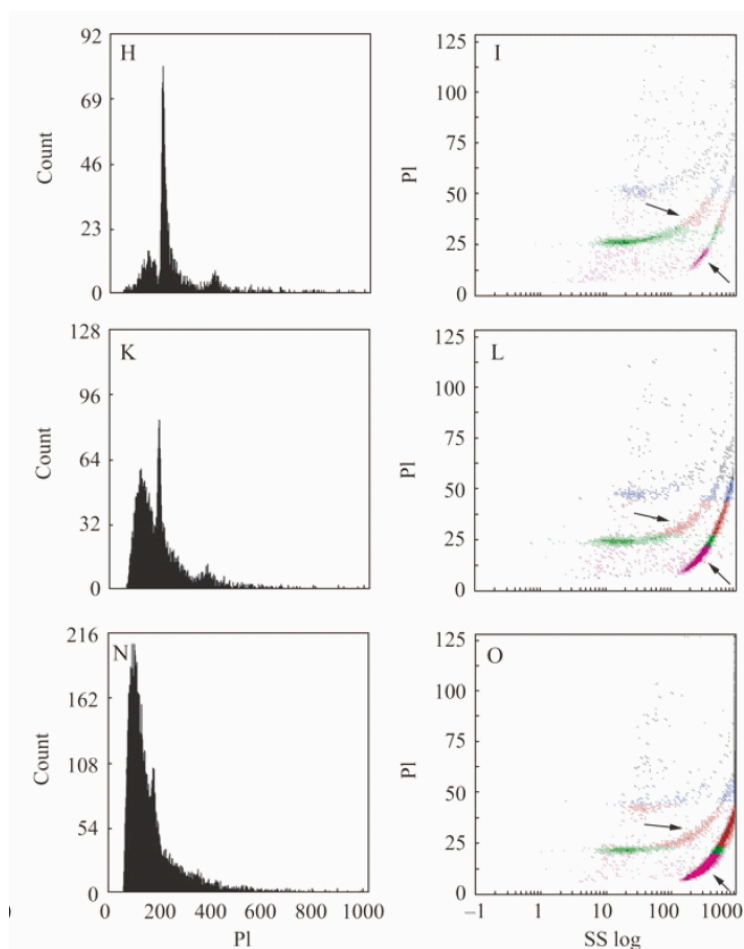
Dosavadní užití průtokové cytometrie ke studiu velikosti genomu v rámci rodu *Zygnema* a zbytku třídy Zygnematophyceae bylo značně omezené. Většina pozornosti byla věnována řádu Desmidiiales, konkrétně rodu *Micrasterias* (Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). Celkem byly publikovány pouze tři studie, v rámci kterých byla analyzována velikost genomu právě pomocí průtokové cytometrie u 7 zástupců rodu *Zygnema* (Čertnerová, 2021; Feng et al., 2021; Mazalová et al., 2011). Důležité je zmínit, že metodika těchto tří studií není jednotná. Studie Čertnerové (2021), ze které byla přejata metodika pro tuto práci, využívá k izolaci jader sušený materiál sekaný pomocí žiletky v izolačním pufu. Mazalová et al. (2011) oproti tomu pracuje s čerstvým materiálem a do přípravy vzorku zapojuje i krok enzymatického štěpení buněčných stěn, což činí tuto metodu časově i finančně náročnější. Metoda užitá ve studii Feng et al. (2021) rovněž pracuje s čerstvým materiálem, a zahrnuje několik opakovaných promývacích kroků a zároveň využívá několika komerčních roztoků.

Dalším rozdílem byl výčet užitých standardů. Mezi publikovanými pracemi nebyl v tomto ohledu překryv, nicméně ve všech případech se jednalo o rostlinné standardy. Díky značným rozdílům v metodikách je třeba při porovnávání výsledků jednotlivých prací brát ohled na možné rozdíly zapříčiněné odlišným postupem.

Z pohledu aplikovatelnosti zmíněných metod na rozsáhlý soubor kmenů zahrnutých v této práci, se postup popsáný ve studii Čertnerové (2021) jeví jako nejvhodnější.

### 5.1.1. Sekundární metabolity

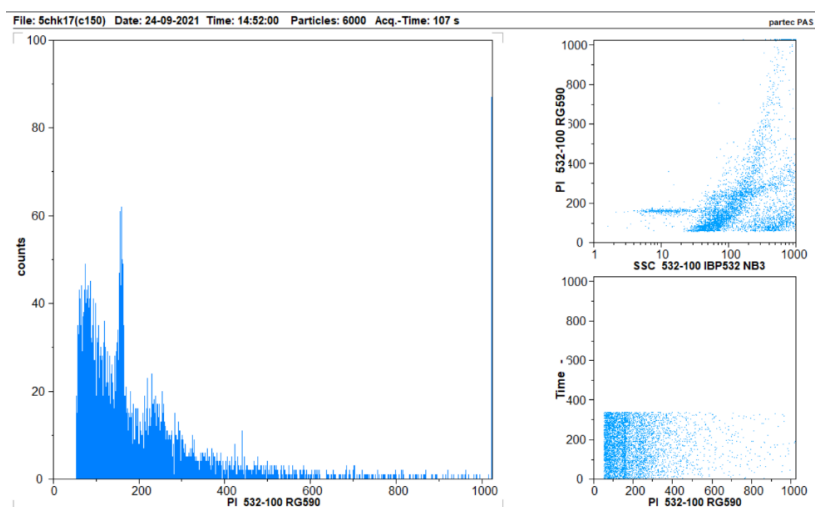
Z dlouhodobého výzkumu velikosti genomu rostlin vzešla řada studií popisující negativní efekt sekundárních metabolitů na kvalitu cytometrických analýz. V průběhu 80. a 90. let minulého století byl efekt fenolických látek intenzivně diskutován v botanické komunitě zabývající se velikostí genomu. Popisován byl konkrétně efekt taninů, anthokyaninů a dalších fenolických látek (Bennett et al., 2008; Doležel, 1991; Greilhuber, 1988, 2011; Loureiro et al., 2006). Byl dokonce popsán specifický efekt taninů na cytometrické analýzy, viditelný jak na histogramech, tak na grafech bočního rozptylu světla ku intenzitě fluorescence. Analýzy prováděné se zvýšenou koncentrací taninů mají intenzivní šum na pozadí, který je na grafech bočního rozptylu světla ku intenzitě fluorescence pozorovatelný jako shluky částic, tvořící „fajfky“ viditelné na obrázku (Obrázek 19)



**Obrázek 19:** Účinek taninové kyseliny (TA) na fluorescenci propidium jodu (PI) a světelně rozptylové vlastnosti jader Pisum sativum suspendovaných v roztoku. Jaderné suspenze byly získány s použitím pufru Tris.MgCl<sub>2</sub> a inkubovány po dobu 15 minut s TA v následujících koncentracích: 1,00 mg mL<sup>-1</sup> (H–I), 1,75 mg mL<sup>-1</sup> (K–L) a 2,50 mg mL<sup>-1</sup> (N–O). Výsledky jsou zobrazeny jako histogramy intenzity fluorescence PI (H, K a N) a cytogramy SS log vs. PI (I, L a O). Šipky označují nové populace, které se objevily po přidání konkrétních koncentrací TA. Převzato z Loureiro et al. 2006

Jak již bylo zmíněno v úvodu kapitoly o obecné charakteristice třídy Zygnematophyceae (1.3), u mnoha zástupců z této skupiny byly popsány nejrůznější fenolické látky (Aigner et al., 2013; Pichrtová et al., 2013; Remias, Schwaiger, et al., 2012). Konkrétně i v rámci rodu *Zygnema* byly fenolické látky detekovány u kmenů ze Špicberk, které byly rovněž použity v této práci (Holzinger et al., 2018; Pichrtová et al., 2013). V rozporu s očekáváním, že starší rezistentní buňky, tzv. pre-akinety, budou obsahovat více těchto látek, byly vyšší koncentrace naměřeny u mladých vegetativních buněk (Holzinger et al., 2018). Toto zjištění však implikuje možné problémy při preferovaném užití mladých dělicích se buněk pro cytometrické analýzy. V metodologické studii, z níž vychází i metodika této práce byl nicméně na toto zjištění brán ohled a byly proto měřeny i starší kultury. Výsledky však ukázaly, že kultury starší 5 týdnů k měření nejsou vhodné (Čertnerová, 2021). Vysvětlení, proč jsou tedy mladší buňky i přes vyšší obsah fenolických látek vhodnější k cytometrickým analýzám, není zcela jasné. Bylo však diskutováno, že sušení řasové biomasy může stát za snížením negativního efektu těchto látek na měření velikosti genomu (Čertnerová, 2021). Avšak z pohledu studií by na rostlinném materiálu by se sušení řasové biomasy mohlo zdát problematickým, jelikož mu byl v rámci některých studií rovněž přikládán negativní efekt na kvalitu analýz (Kolář et al., 2012). Další možná výhoda sušení vzorků zástupců rodu *Zygnema* se zdá v narušení polysacharidové slizové pochvy, která může představovat bariéru při izolaci jader a barvení vzorku (Čertnerová, 2021).

I přes sušení řasového materiálu však bylo nutné se v průběhu vyhodnocování cytometrických analýz této diplomové práce vypořádat s analýzami (Obrázek 20), které se nápadně podobaly těm z článku (Loureiro et al., 2006). V některých případech bylo možné analýzu upravit pomocí gatingu, tedy oříznutím rušivých subpopulací částic v měření.



**Obrázek 20:** Analýza kmene 5CHK17 s viditelným efektem fenolických látek. Standard *Carex acutiformis* na PI škále na  $\sim 180$  jednotkách relativní intenzity fluorescence, kmen 5CHK17 na PI škále na  $\sim 220$  jednotkách relativní intenzity fluorescence

## 5.2. Velikost genomu u zástupců rodu *Zygnema*

Velikost genomu 129 měřených kmenů se pohybovala v rozmezí  $1C = 0,22 - 5,06$  pg (0,21 - 4,95 Gbp). Velikost nejmenšího genomu byla tedy 23krát nižší než velikost největšího genomu. V rámci cladu 1 a 2 byla pozorována přibližně stejná rozmezí v naměřené velikosti genomu, avšak pouhé tři kmeny měřené z cladu 3 představovaly nejmenší naměřené velikosti genomu v této diplomové práci (Obrázek 6).

Ve srovnání se současnými daty o velikosti genomu ostatních zástupců celé třídy Zygnematophyceae se jedná spíše o menší genomy. Velikost genomu této třídy nabývá hodnot v rozmezí  $1C = 0,06 - 32,4$  pg (0,06 - 31,69 Gbp) (Čertnerová, 2021; Feng et al., 2021; Kapraun, 2005, 2007; Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). Velké genomy ( $>5$  pg) byly nicméně popsány pouze u zástupců řádu Desmidiales (Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). V rámci tohoto řádu byla ve dvou studiích popsána silná pozitivní korelace velikosti genomu a počtu chromozomů, která může být důkazem probíhajících polyploidizací u této skupiny (Kapraun, 2005; Pouličková et al., 2014). Těm napovídají i násobné velikosti genomu v rámci jednotlivých druhů *Micrasteria rotata*, *M. truncata* a *Triploceras gracile* (Pouličková et al., 2014).

Při srovnání s ostatními zástupci třídy Zygnematophyceae, u nichž velikost genomu dosahuje rozmezí  $1C = 0,06 - 3,2$  pg (0,06 - 3,13 Gbp), představují analyzované kmeny spíše větší genomy (Čertnerová, 2021; Feng et al., 2021; Kapraun, 2005, 2007; Mazalová et al., 2011), je ale třeba říci, že mimo krásivky byla změřena velikost genomu jen pro malé množství zástupců.

V rámci rodu *Zygnema* bylo dosud změřeno jen 8 zástupců s rozmezím velikosti genomu  $1C = 0,06 - 2,86$  pg (0,06 - 2,80 Gbp). Výsledky této diplomové práce tedy přibližně dvojnásobí horní hranici rozsahu velikosti genomu v rámci studovaného rodu a značně navyšují počet analyzovaných kmenů. Pro žádný z analyzovaných kmenů však nebyla stanovena velikost genomu srovnatelná s 0,06 pg změřenými ve studii (Feng et al., 2021). Právě tato studie ale zaslouží podrobnější srovnání, protože přinesla informace o velikosti genomu dvou kmenů *Zygnema sp.* SAG698-1a,  $1C = 0,06$  pg (64 Mbp) a *Zygnema circumcarinatum* SAG698-1b  $1C = 0,32$  pg (313,2 Mbp), které byly měřeny i v rámci této diplomové práce. Zároveň byl v práci Mazalové et al., (2011) změřen kmen *Zygnema sp.* CAUP K402a, který by měl být identický s kmenem SAG698-1a. Naměřená velikost genomu kmene CAUP K402a byla však téměř pětkrát větší ( $1C = 1,53$  pg, 1,49 Gbp) než velikost uvedená v článku Feng et al., (2021). Výsledky této diplomové práce jsou ve shodě spíše s výsledky práce (Mazalová et al., 2011), kdy pro kmeny SAG698-1a a SAG698-1b byly změřeny velikosti genomu 1,7 a 0,22 pg (1,66

a 0,22 Gbp). Vysvětlení takto zásadního rozdílu mezi měřenými hodnotami bylo již diskutováno vzhledem k nejasnému původu těchto kultur (Feng et al., 2021). Kmeny SAG698-1a, SAG698-1b a CAUP K402a by totiž měly pocházet z jedné kultury (Czurda, 1930). Fylogenetické analýzy však odhalily, že kmeny SAG698-1a a SAG698-1b náleží do rozdílných „cladů“ rodu *Zygnema*, a nejedná se tedy o pohlavní pár kmenů náležící jednomu druhu, jak bylo dříve uvažováno. Je tedy možné, že i kultury použité v této diplomové práci nejsou identické s těmi představenými ve studii Feng et al. (2021). Srovnání těchto hodnot ještě ztěžuje fakt, že metody, jimiž se jednotlivé velikosti genomu stanovovaly, liší, jak bylo zmiňováno v kapitole (5.1). Je však velice nepravděpodobné, že by rozdíly v metodice zapříčinily téměř pětinasobný rozdíl mezi studiemi.

### 5.2.1. Variabilita v rámci linií

Napříč 129 analyzovanými kmeny byla v mnoha liniích popsána značná variabilita, nejlépe viditelná na obrázku (Obrázek 6). Největší variabilita ve velikosti genomu byla detekována v rámci linie J, do níž patří tři kmeny J, 4PI1A6 a M5 D s velikostí genomu 5,06, 1,39 a 0,69 pg. Při porovnání velikostí genomu kmenů 4PI1A6 a M5 D se nabízí vysvětlení násobného rozdílu ve velikosti genomu pomocí celogenomové duplikace. V rámci této diplomové práce bylo zjištěno několik podobných případů násobných rozdílů ve velikosti genomu v rámci jednotlivých linií. (4VJ2, M, M1156, R, S, SAG2418 a SAG698-1a, Příloha 3).

Je nutné dodat, že genetická charakterizace kmenů pomocí *rbcL* markeru nemusí být dostatečná pro rozlišení některých linií, protože se nejedná o příliš variabilní marker (Feng et al., 2021). Je tedy možné, že dva kmeny identické v sekvenci *rbcL* mohou být odlišnými druhy, s rozdílnou velikostí genomu.

Zároveň nelze zcela vyloučit minoritní efekt možného zkreslení díky přítomným fenolickým látkám (Loureiro et al., 2006), díky kterému bylo v minulosti publikováno velké množství dat o vnitrodruhové variabilitě, které byly následně vyvráceny (Bennett et al., 2008). Nicméně, v této práci byly analyzovány kmeny vícekrát (min. 3x), v různých fázích růstu. Odhadovaná velikost genomu se však neměnila v závislosti na stáří kultury (a tedy i obsahu fenolických látek)

Násobné rozdíly velikostí genomu v rámci jednotlivých linií by pak mohly být přisuzovány polyploidizacím, které byly u třídy Zygnematophyceae již v minulosti diskutovány. V rámci několika studií na přírodních i laboratorních vzorcích příbuzného rodu *Spirogyra* byly popsány počty chromozomů i relativní intenzity fluorescence jasně indikující možné polyploidizace (Cheng et al., 2019; Hoshaw et al., 1985; McCourt et al., 1986; McCourt &

Hoshaw, 1990; J. -C Wang et al., 1986). Zároveň bylo provedeno barvení chromozomů, které rovněž poskytlo informace o homologních párech chromozomů naznačující polyploidzaci v rámci daného rodu (Hoshaw et al., 1987). Možným dokladem reverzibility změn ploidních úrovní pak bylo opětovné změření dvou kmenů rodu *Spirogyra*, jejichž relativní velikosti genomu byly publikovány v práci (J. -C Wang et al., 1986). V původní studii byl mezi danými kmeny naměřen násobný rozdíl v relativní intenzitě fluorescence barvených jader. Nové měření však ukázalo, že velikost genomu je u obou kmenů téměř identická (Kapaun, 2005). V kontextu těchto informací je pak třeba uvést, že při měření velikosti genomu pro tuto práci nebyly pozorovány žádné podobné změny v naměřených hodnotách.

V této práci byly zaznamenány kmeny, u kterých byly na histogramech intenzity fluorescence patrné dva vrcholy, patřící studovanému vzorku. Taková situace by nebyla nijak nestandardní, jelikož druhý vrchol s vyšší intenzitou fluorescence bývá často interpretován jako populace buněk s replikovanou DNA před dělením ( $G_2$ ). V obvyklých případech však bývá tento druhý vrchol nižší, tedy je reprezentován nižším počtem částic, zatímco u těchto kmenů (např. 4BO71, 4MJ1, 5IT012, 5IT034 nebo Fo I) byl vrchol o vyšší intenzitě fluorescence zastoupen více jádry, než vrchol o nižší intenzitě fluorescence. Již předchozí studie měřící velikost genomu u zástupců třídy Zygnematophyceae o tomto jevu informovaly (Kapaun, 2005; Mazalová et al., 2011; Pouličková et al., 2014). Možné vysvětlení bylo navrženo v teoretické rešerši Haig (2010), který diskutoval, že tyto dva vrcholy na histogramu mohou reprezentovat dvě ploidní úrovně koexistující ve zkoumaném vzorku. Mohlo by jít také pouze o důsledek vysoce synchronizovaného buněčného dělení, které může produkovat určité poměry dělících se buněk v různých skupinách řas (Dapena et al., 2015; Lemaire et al., 1999). Dalším vysvětlením by mohla být existence diploidního životního cyklu, který byl popsán například u krásivky druhu *Closterium ehrenbergii* (Hamada, 1987). V takovém případě by mohl nižší vrchol o nižší intenzitě fluorescence představovat haploidní gamety. Přímá pozorování kultur se dvěma vrcholy na histogramech cytometrických analýz však žádné důkazy o pohlavním rozmnožování nepřinesly.

Kromě skokových změn ve velikosti genomu, které lze připsat možným změnám ploidních úrovní, byla v rámci některých linií popsána graduálně rozložená variabilita (např. kmeny A, B a 5CHO1). Takové změny ve variabilitě by bylo možné připsat například amplifikaci transponovatelných elementů v rámci genomu či chromozomovým přestavbám. Oba tyto jevy byly totiž u zástupců třídy Zygnematophyceae popsány (Cheng et al., 2019; Godward, 1954, 1961; Jiao et al., 2020; King, 1953; Sekimoto et al., 2023).



### 5.2.2. Evoluce velikosti genomu u zástupců rodu *Zygnema*

Na základě provedených analýz a vypočtené hodnotě škálovacího parametru lambda (= 0,968) lze usuzovat, že velikost genomu u zástupců rodu *Zygnema* je značně ovlivněná fylogenezí. Různé velikosti genomu se nenacházejí na fylogenetickém stromě náhodně (Obrázek 10). Jediná dosud publikovaná studie prováděná na krásivkách naopak odhalila nižší vliv fylogeneze, přičemž blízkce příbuzné druhy měly značně rozdílné velikosti genomu (Pouličková et al., 2014). Taková situace přitom může nasvědčovat silnému ovlivnění daného znaku evolučními tlaky (Pagel et al., 2004).

Rozložení velikostí genomu na fylogenetickém stromě také ukazuje na fakt, že velikost genomu v rámci této linie nemá jednosměrný trend k větším či menším genomům, ale různě se mění v závislosti na konkrétních liniích.

Možné zkreslení výsledků analýzy uvedené v této práci lze vystopovat právě díky pozorované vnitrodruhové variabilitě, jež nebyla při testování evoluce velikosti genomu zohledněna. Pro individuální linie byly totiž průměrovány hodnoty jednotlivých kmenů v případě, že se jednalo o graduální variabilitu nepřesahující 30 %. V případě variability, představované dvěma skupinami kmenů lišícími se násobně ve velikosti genomu, byla do analýz rekonstrukce fylogeneze zahrnuta nižší hodnota. K tomu došlo v případě, že bylo změřeno vícero kmenů s touto nižší domněle monoploidní velikostí genomu (v rámci linií M, S, SAG2418 a 4VJ2). Ostatní více variabilní linie pak byly z analýzy vyloučeny (J, M1156, R, SAG6981a a V).

Pro relevantnější výsledek analýzy by bylo třeba použít více molekulárních markerů k sestavení fylogenetického stromu, aby bylo případně možné současné variabilní linie rozdělit.

### 5.3. Vliv velikosti genomu na ekologické nároky, geografické rozšíření

Vztahy velikosti genomu a prostředí jsou relativně hojně studovány u rostlin, u kterých byla popsána řada pozitivních, negativních či statisticky nevýznamných souvislostí v závislosti na studované skupině (Knight et al., 2005; Knight & Ackerly, 2002). U mikroskopických organismů však byla obdobná analýza provedena pouze na úrovni jednoho druhu zlativek (*Chrysophyceae*). Výsledky této práce však neodhalily žádnou spojitost mezi geografickým rozšířením nebo ekogeografickými proměnnými prostředí.

V této diplomové práci byly nejprve individuálně testovány jednotlivé proměnné pomocí LM a PGLS modelů. Dále byly vytvořeny dva souhrnné PGLS modely testující vybrané proměnné. Důležité je však zmínit, že rozdíly mezi uvedenými výsledky LM a PGLS modelů individuálních proměnných nejsou zapříčiněny pouze zahrnutím vlivu fylogeneze, ale také

rozdíly mezi užitými daty. Rozdíl zahrnutých proměnných je znázorněn v tabulkách (Příloha 4, Příloha 5, sloupce PGLS). V textu následuje výčet navržených hypotéz, vysvětlujících jednotlivé korelace. Je však nutné podotknout, že šlo většinou o korelace slabé, vysvětlující relativně malé množství variability.

Z grafů pozitivní korelace velikosti genomu a pH (pH20) vyplývá, že by pravděpodobně lépe pozorovanou variabilitu mohla vysvětlovat kvadratická regrese. Rozmístění naměřených hodnot velikosti genomu totiž indikuje, že existuje optimum, v rámci kterého se vyskytují jak zástupci s malými genomy, tak zástupci s velkými genomy. Oproti tomu v extrémních případech hodnot pH byli nalezeni jen zástupci s malými genomy.

Obdobná situace by mohla nastat i při testování vztahu ročního rozptylu teplot (Bio7) a velikosti genomu. V tomto případě je však nutné upozornit na značně malé množství zástupců z oblastí s malými nebo naopak velkými rozdíly teplot.

Tyto dvě proměnné mohou zřejmě svou závislostí na velikosti genomu odpovídat kvadratické regresi popsané ve studii (Knight & Ackerly, 2002) Tento vztah byl vysvětlován obecně lepší schopností kompetice druhů s menšími genomy, které se rychleji dělí (v případě mikroskopických organismů) a zároveň je k jejich replikaci potřeba méně zdrojů (Knight et al., 2005).

Z testování lineárních regresí je dále možné uvést slabou negativní závislost velikosti genomu a izotermality prostředí (Bio3), kterou lze vysvětlit obdobně a tedy, že stabilní prostředí dává možnost koexistence jak velkých, tak malých genomu, zatímco extrémní podmínky prostředí s velkým rozptylem teplot favorizují zástupce s malými genomy.

Proměnné spojené s úhrny srážek (Bio12, Bio17) vycházely signifikantně, jak v modelech lineární regrese zahrnujících všechny měřené, tak v PGLS analýzách zkoumajících i vliv fylogeneze. Z grafů, je však patrné, že v tomto případě je nutné hledat vysvětlení pozorovaných negativních korelací jinde. V tomto případě se totiž většina pozorované variability ve velikosti genomu nachází v oblastech s nižšími až středními srážkovými úhrny a s přibývajícimi srážkami velikost genomu klesá. Tento trend by však mohl být vysvětlitelný navrhovaným rozdělením r a K strategií (Cavalier-Smith, 1980). Oblasti s nízkými srážkovými úhrny totiž mohou pro řasy představovat jak stresové prostředí spojené s vysycháním (srážky samotné však zákonitě neznamenají vyšší tendenci k vysychání), tak limitaci živinami, které se do vodních ploch často dostávají s vyššími srážkovými úhrny. V takto limitujících podmínkách pak lze uvažovat, že jsou favorizováni i adaptovaní K-strategové s velkými buňkami a genomy, zatímco v podmínkách s dostatkem živin a vody lépe prosperují r strategové s menšími genomy.

Z PGLS jednotlivých modelů dále vyšly signifikantní proměnné podílu jílových částic v půdě (silt) a kationtová výměnná kapacita půdy. Negativní korelace velikosti genomu a kationtové výměnné kapacity půdy (cec) může být rovněž hypoteticky odůvodněna pomocí teorie o r a K strategii a jejich souvislostech s velikostí genomu, (Cavalier-Smith, 1980, 2005), jelikož vyšší kationtová výměnná kapacita půdy poskytuje více živin, a proto by mohla favorizovat r-stratégy (Hengl et al., 2017). Rozmístění velikostí genomu na škále kationtové výměnné kapacity půdy by zároveň mohlo opět odpovídat kvadratické regresi.

Silná pozitivní korelace při užití PGLS modelů pro podíl jílových částic v půdě (silt) by mohla být vysvětlena vyšší vodní retencí půd s vysokým podílem jílových částic (Hengl et al., 2017), a tedy optimálnějšími podmínkami, v rámci kterých hypotéza omezení velkého genomu říká, že mohou existovat větší genomy. Zatímco v extrémních podmínkách s porézními půdami, které nedrží vodu ani živiny, lze nalézt pouze druhy s menšími genomy (Carta & Peruzzi, 2016; Knight et al., 2005).

V práci uvedené souhrnné PGLS modely přikládaly největší význam podílu jílových částic v půdě, pro které byla popsána silná pozitivní korelace v textu výše. Další proměnné se mezi modelem A a B lišily. Zatímco model B vysvětlil veškerou variabilitu pomocí proměnné (silt), model A rozložil vysvětlovanou variabilitu dále mezi již zmíněné celoroční úhrny srážek (Bio12) a denní rozptyl teplot (Bio2), pro který byla popsána slabá pozitivní korelace

Závěrem je třeba uvést, že v rámci všech zmíněným PGLS modelů nasvědčoval stanovený škálovací parametr lambda silnému fylogenetickému signálu.

Pro srovnání s existující literaturou však lze ještě uvést studie z 80. let minulého století na zástupcích rodu *Spirogyra*. V rámci níže zmíněných studií sice nebyla měřena velikost genomu ani nebyly počítány chromozomy, ale autoři na základě svých předchozích výzkumů předpokládali, že širší buňky jsou zřejmě polyploidní zástupci. Pomocí porovnání výskytu různých šířkových kategorií napříč USA pak popisovali signifikantně větší zastoupení širších buněk v severněji položených lokalitách (McCourt et al., 1986), při porovnání zastoupení šířkových kategorií na malém (915-1340 m.n.m.) regionálním výškovém gradientu byly širší buňky pozorovány spíše v nižších nadmořských výškách (J. C. Wang et al., 1989). Podobný přístup hledání souvislostí výskytu morfotypů definovaných na základě šířek buněk, typů buněčné přepážky a počtu chloroplastů s ekologickými podmínkami prostředí, byl aplikován i na kmeny rodu *Spirogyra* ze střední Evropy. Jako hlavní prediktory výskytu morfotypů uvádí studie zejména trofii stanoviště, koncentraci rozpuštěného fosforu a organického dusíku. Naopak teplota, pH vody, č intenzita osvětlení a koncentrace iontů se ukázaly jako nepodstatné.

Na základě analýz bylo popsáno, že morfotypy s širšími buňkami preferují eutrofizovanější lokality, zatímco užší vlákna se vyskytují na lokalitách s nižší trofií (Hainz et al., 2009).

#### 5.4. Souvislost šířky buněk a velikosti genomu

Pozorované rozmezí v šířce buněk studovaných kmenů (14,9 - 37,9  $\mu\text{m}$ ) je v souladu s daty uváděnými v literatuře, kde bývají nejčastěji popisovány šířky buněk od 15 do 35  $\mu\text{m}$  (Feng et al., 2021; Pichrtová et al., 2018; Stancheva et al., 2012)

Z naměřených hodnot šířek buněk (Obrázek 7) je patrné, že jednotlivé linie mají značné překryvy v šířce buněk. A často jsou rovněž velmi variabilní. Zatímco u některých kmenů (např. 4PCA2, 5IE1-3L\_1, 5N-5\_3, 7PT12) nepřesáhla CV měření 5 %, u mnohých jiných kmenů přesahovalo CV 10 % (např. u kmenů K153, 7SV71, 8FR31). Na tento znak tedy nelze spoléhat při determinaci jednotlivých druhů, na což bylo poukázáno i ve studii (Pichrtová et al., 2018).

Měření šířky buněk byla upřednostněno nad analýzou objemu buněk, která metodicky značně náročnější a může při jeho výpočtu docházet ke zkreslení. U přírodních vzorků je variabilita šířky buněk nicméně rovněž nezanedbatelná, a to především díky vlivu faktorů jako stáří buněk či stresové podmínky prostředí (Herburger et al., 2015; Stancheva et al., 2012). Krom těchto faktorů literatura často uvádí polyploidizace, které by mohly mít vliv na pozorovanou morfologickou variabilitu (J. -C Wang et al., 1986).

Souvislost velikosti genomu a šířky buněk byla nejprve popsána pomocí signifikantního modelu lineární regrese všech (81 bez vyloučených kmenů 5CHK17 a 5IT017) naměřených šířek buněk a k nim náležícím velikostem genomu, který vysvětloval 22,44 % variability. Analýza PGLS modelu zahrnujícího vliv fylogeneze byla rovněž signifikantní, avšak vysvětlovala pouze 15,52 % variability. Pomocí parametru lambda byl popsán i silný vliv fylogeneze. Rozdíl mezi těmito výsledky však nelze přikládat pouze zahrnutému vlivu fylogeneze. Stejně jako v případě testování ekogeografických proměnných i při testování vztahu velikosti genomu a šířky buněk se datové soubory pro oba modely lišily v zahrnutém počtu měření a také v datech pro variabilní linie (Příloha 2, PGLS sloupec).

V rámci třídy Zygnematophyceae byly podobné analýzy provedeny u krásivek, u kterých byl popsán silnější vztah vysvětlující dokonce 42,3 % pozorované variability (Pouličková et al., 2014) a u zástupců rodu *Spirogyra*, u kterých popsán model vysvětloval 82 % variability (McCourt et al., 1986). Oproti uvedeným datům by se mohla zdát závislost velikosti genomu a velikosti buněk pro rod *Zygnema* slabší, avšak na data uvedená v práci McCourt et al., (1986), je třeba nahlížet se zřetelem. Velikost genomu totiž byla stanovena pomocí barviva mithramycin, které se váže specificky na GC pár bází, což může vést

k nepřesnostem měření (Doležel et al., 1992). Zároveň je třeba uvést, že rozmezí šířky buněk u rodu *Spirogyra* zahrnuté do zmíněné studie bylo čtyřkrát větší (20–160  $\mu\text{m}$ ), než rozmezí šířky buněk zástupců rodu *Zygnema* v této diplomové práci, zatímco rozmezí velikosti genomu jsou v těchto studiích téměř identické (McCourt et al., 1986).

Nižší procento vysvětlené variability pak může být připsáno skutečnosti, že se jednotlivé kmeny liší také v délce buněk. Reálná závislost objemu buněk a velikosti genomu tak u tohoto rodu může být silnější, než jak ji dokumentují prezentovaná data. Zároveň je třeba zmínit, že délka buněk je ještě variabilnějším znakem než šířka buněk (Feng et al., 2021). Na délku buněk má totiž vliv i probíhající dělení buněk, protože se při něm buňky protahují do délky (Transeau, 1951).

Rekonstrukce evoluce šířky buněk ukázala téměř shodný trend v evoluci, jako byl popsán u velikosti genomu. Významné rozdíly jsou patrné jen u několika konkrétních linií (např. A, B RS002, Obrázek 10). Je možné, že je u těchto linií daná šířka buněk kompenzována větší délkou buněk a pokud by byl v rámci všech kmenů analyzován objem buněk, mohla by být souvislost velikosti genomu a velikosti buněk ještě silnější

## 5.5. Domnělí polyploidii

V rámci této diplomové práce bylo popsáno několik linií, u kterých byly analyzovány kmeny lišící násobně ve velikosti genomu. Takové rozdíly jsou typické pro polyploidii a jejich monoploidní předky. Ideálním postupem k potvrzení rozdílné ploidní úrovně u takových kmenů by bylo počítání chromozomů, avšak optimalizace této metody pro rod *Zygnema* již nebyla zahrnuta do cílů této práce, vzhledem k značné časové náročnosti (Holzinger, osobní sdělení). Vizualizace a počítání chromozomů bude však zahrnuto do navazující disertační práce. V rámci diplomové práce byla alespoň snaha změřit možné znaky, analyzovat znaky, které by mohly poukázat na možnou přítomnost polyploidů.

### 5.5.1. Obsah GC bází

Analýzy prováděné na cytometru Partec CyFlow ML neumožňují metodou gatingu odstranit z analýz šum na pozadí způsobený zřejmě přítomnými fenoly (Loureiro et al., 2006). Z toho důvodu bylo obtížnější dosáhnout kvalitních analýz. I přes to se však podařilo alespoň jednou změřit každý z analyzovaných kmenů.

Obsah GC párů bází byl zkoumán s předpokladem, že kmeny vzniklé recentní polyploidizací budou mít identický poměr párů bází jako kmeny s haploidním genomem. Tento předpoklad byl zřejmě splněn v rámci linie S u domnělého polyploidního kmene P4C a několika domněle monoploidních kmenů 14PLa, 5N2-13\_6 a 4BON1. Zároveň byl v rámci této linie

analyzován domněle polyploidní kmen 461g, u kterého byl změřen identický poměr GC párů bází jako u domněle monoploidního kmene 5IT019. Obdobná situace byla popsána i v rámci ostatních třech liniích M1156, M a R, u kterých však byl pozorován 1% rozdíl v poměrech páru bází, Vzhledem k nízkému počtu měření však nelze vyloučit, že se jednalo jen o statistickou odchylku měření.

Jako další znak, jež by mohl posloužit jako indikátor rozdílné ploidní úrovně, byla porovnávána i šířka buněk mezi domnělymi polyploidními a domnělymi monoploidními kmeny. Z tohoto porovnání byl největší rozdíl v šířkách buněk pozorován u domněle polyploidního kmene P4C a domněle monoploidních kmenů 14PLa, 5N2-13\_6 a 4BON1. U dalších ze zkoumaných kmenů však rozdíly v šířce buněk mezi domněle polyploidními a domněle monoploidními kmeny dosahovaly jen v řádu jednotek  $\mu\text{m}$ . U kmenů linie R se však projevil kontrastní vzorec mezi šířkou buněk a velikostí genomu. U kmene Br 2 s velikostí genomu 2,91 pg byla šířka buněk pouze 21,25  $\mu\text{m}$ , zatímco u kmene Br 5 s genomem o velikosti 1,42 pg dosahovala šířka buněk 29,62  $\mu\text{m}$ . Takový rozdíl by mohl být zapříčiněn již výše zmiňovaným rozdílem v šířce buněk. Nicméně konkrétní vysvětlení pro tento kontrastní vzorec nalezeno nebylo.

### 5.5.2. Objem plastidu

U velikosti plastidu byla rovněž očekávána pozitivní korelace s velikostí buněk a genomu. Prezentovaná data v této diplomové práci jsou však spíše pilotním pokusem před obsáhlejší analýzou, která je plánována v rámci disertační práce. Z dat prezentovaných v předkládané diplomové práci proto není možné vyvozovat relevantní závěry. K analýze objemu plastidu byla využita metoda lightsheet mikroskopie, která nachází uplatnění zejména v histologických studiích (Glaser et al., 2017; Tanaka et al., 2017). Optimalizace měření objemu plastidů zároveň nebyla zcela dokončena, což je patrné z vysokých koeficientů variance jednotlivých měření.

Patrný rozdíl v naměřených objemech plastidů byl zaznamenán u kmenů z linie S, konkrétně u kmene P4C a kmene 14PLa. Průměrný objem plastidu kmene P4C byl téměř třikrát větší jak u kmene 14PLa.

Pro zapojení této metody do navazující práce je však potřeba nelézt způsob lepší analýzy plastidů u menších buněk, u kterých bylo patrné zkreslení v centrálních částech komplexních hvězdicovitých plastidů. Lepší rozlišovací možnosti v tomto případě umožňuje například konfokální laserová skenovací mikroskopie užitá při popisu morfologie plastidů zástupců rodu *Zygnema* (Pichrtová et al., 2018). Negativním aspektem této metody však je, že

umožňuje snímání plastidu, jen z jedné strany ve srovnání s lightsheet mikroskopií, které poskytuje kompletní 3D obraz bez nutnosti manipulace se vzorkem, či extrapolováním hodnot z jedné poloviny nasnímaného plastidu.

## 6. Závěr

Cílem této diplomové bylo práce prozkoumat variabilitu ve velikosti genomu v rámci celého rodu *Zygnema*. Pomocí metody průtokové cytometrie byla změřena velikost 129 kmenů spadajících do 68 evolučních linií tohoto rodu. V rámci měřených kmenů byla v mnohých evolučních liniích popsána značná variabilita, nasvědčující možným polyploidizačním událostem. Identický poměr GC páru bází u domnělých polyploidních a monoploidních zástupců poskytl možný doklad o polyploidní události. Měření velikosti genomu byla doplněna o měření šířky buněk, na základě, kterých byla pro rod *Zygnema* potvrzena obecně platná korelace velikosti buněk a velikosti genomu. Pomocí užití již hotového fylogenetického stromu byla rekonstruována evoluce velikosti genomu.

Díky známým fylogenetickým vztahům mezi měřenými zástupci tak bylo možné otestovat vztahy mezi velikostí genomu a ekologickými nároky jednotlivých evolučních linií se zahrnutím vlivu fylogeneze. Poprvé v rámci mikroskopických řas tak byla popsána souvislost mezi velikostí genomu a ekologickými preferencemi. Konkrétní vztah napovídá možným spojitostem mezi r/K strategiemi a velikostí genomu. Prozkoumat variabilitu ve velikosti genomu v rámci celého rodu *Zygnema*.



## 7. Seznam použité literatury

- Adams, K. L. (2007). Evolution of duplicate gene expression in polyploid and hybrid plants. *The Journal of Heredity*, 98(2), 136–141. <https://doi.org/10.1093/JHERED/ESL061>
- Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., & Nalbant, A. (2017). Flow cytometry: basic principles and applications. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 37, Issue 2, pp. 163–176). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>
- Aigner, S., Remias, D., Karsten, U., & Holzinger, A. (2013). Unusual phenolic compounds contribute to ecophysiological performance in the purple-colored green alga *zygogonium ericetorum* (zygnematophyceae, streptophyta) from a high-alpine habitat. *Journal of Phycology*, 49(4), 648–660. <https://doi.org/10.1111/JPY.12075>
- Andersen, R. A. (2005). *Algal Culturing Techniques* (R. A. Andersen, Ed.; 1st edition). Elsevier Academic Press.
- Beaudette, D. E., Roudier, P., & O'Geen, A. T. (2013). Algorithms for quantitative pedology: A toolkit for soil scientists. *Computers & Geosciences*, 52, 258–268. <https://doi.org/10.1016/J.CAGEO.2012.10.020>
- Beaudette, D., Skovlin, J., Roecker, S., & Brown, A. (2023). Package “soilDB” Title Soil Database Interface (R package version 2.7.7). <https://CRAN.R-project.org/package=soilDB>. <https://github.com/ncss-tech/soilDB/issues>
- Becker, B. (2013). Snow ball earth and the split of Streptophyta and Chlorophyta. *Trends in Plant Science*, 18(4), 180–183. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2012.09.010>
- Bennett, M. D. (1971). The duration of meiosis. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 178(1052), 277–299. <https://doi.org/10.1098/rspb.1971.0066>
- Bennett, M. D. (1972). Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. In *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological sciences* (Vol. 181, Issue 63, pp. 109–135). <https://doi.org/10.1098/rspb.1972.0042>
- Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany*, 76(2), 113–176. <https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1085>
- Bennett, M. D., Price, H. J., & Johnston, J. S. (2008). Anthocyanin Inhibits Propidium Iodide DNA Fluorescence in *Euphorbia pulcherrima*: Implications for Genome Size Variation and Flow Cytometry. *Annals of Botany*, 101(6), 777–790. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCM303>
- Bennetzen, J. L., Ma, J., & Devos, K. M. (2005). Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany*, 95(1), 127–132. <https://doi.org/10.1093/aob/mci008>
- Bennetzen, J. L., & Wang, H. (2014). The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 505–530. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-035811>
- Brochmann, C., Brysting, A. K., Alsos, I. G., Borgen, L., Grundt, H. H., Scheen, A. C., & Elven, R. (2004). Polyploidy in arctic plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(4), 521–536. <https://doi.org/10.1111/J.1095-8312.2004.00337.X>

- Brook, A. J. (1981). *The biology of desmids*. Blackwell Scientific Publications.
- Busch, A., & Hess, S. (2022). Sunscreen mucilage: a photoprotective adaptation found in terrestrial green algae (Zygnematophyceae). *European Journal of Phycology*, 57(1), 107–124. <https://doi.org/10.1080/09670262.2021.1898677>
- Carta, A., & Peruzzi, L. (2016). Testing the large genome constraint hypothesis: plant traits, habitat and climate seasonality in Liliaceae. *New Phytologist*, 210(2), 709–716. <https://doi.org/10.1111/NPH.13769>
- Cavalier-Smith, T. (1978). Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *Journal of Cell Science*, VOL. 34, 247–278.
- Cavalier-Smith, T. (1980). r- and K-tactics in the evolution of protist developmental systems: Cell and genome size, phenotype diversifying selection, and cell cycle patterns. *BioSystems*, 12(1–2), 43–59. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(80\)90037-4](https://doi.org/10.1016/0303-2647(80)90037-4)
- Cavalier-Smith, T. (1982). Skeletal DNA and the evolution of genome size. In *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- Cavalier-Smith, T. (2005). *Economy, Speed and Size Matter: Evolutionary Forces Driving Nuclear Genome Miniaturization and Expansion*. 147–175. <https://doi.org/10.1093/aob/mci010>
- Čertnerová, D. (2021). Nuclei isolation protocols for flow cytometry allowing nuclear DNA content estimation in problematic microalgal groups. *Journal of Applied Phycology*, 33, 2057–2067. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02433-z>/Published
- Čertnerová, D. (2022). Meet the challenges of analyzing small genomes using flow cytometry. In *Cytometry Part A* (Vol. 101, Issue 9, pp. 707–709). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24485>
- Čertnerová, D., & Škaloud, P. (2020). Substantial intraspecific genome size variation in golden-brown algae and its phenotypic consequences. *Annals of Botany*, 126(6), 1077–1087. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa133>
- Cheng, S., Xian, W., Fu, Y., Marin, B., Keller, J., Wu, T., Sun, W., Li, X., Xu, Y., Zhang, Y., Wittek, S., Reder, T., Günther, G., Gontcharov, A., Wang, S., Li, L., Liu, X., Wang, J., Yang, H., ... Melkonian, M. (2019). Genomes of Subaerial Zygnematophyceae Provide Insights into Land Plant Evolution. *Cell*, 179(5), 1057–1067.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.10.019>
- Cockell, C., & Knowland, J. (1999). Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 74(3), 311–345. <https://doi.org/10.1017/S0006323199005356>
- Cockell, C., & Rothschild, L. J. (1999). The Effects of UV Radiation A and B on Diurnal Variation in Photosynthesis in Three Taxonomically and Ecologically Diverse Microbial Mats. *Photochemistry and Photobiology*, 69(2), 203–210. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.1999.TB03274.X>
- Connolly, J. A., Oliver, M. J., Beaulieu, J. M., Knight, C. A., Tomanek, L., & Moline, M. A. (2008). Correlated evolution of genome size and cell volume in diatoms (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 44(1), 124–131. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00452.x>

- Corradi, N., Pombert, J. F., Farinelli, L., Didier, E. S., & Keeling, P. J. (2010). The complete sequence of the smallest known nuclear genome from the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Nature Communications*, *1*(6). <https://doi.org/10.1038/ncomms1082>
- Czurda, V. (1930). Experimentelle untersuchungen über die sexualitätsverhältnisse der zygemalen. *Bot. Zbl.*, *47*, 15–68.
- Dapena, C., Bravo, I., Cuadrado, A., & Figueroa, R. I. (2015). Nuclear and Cell Morphological Changes during the Cell Cycle and Growth of the Toxic Dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Protist*, *166*(1), 146–160. <https://doi.org/10.1016/J.PROTIS.2015.01.001>
- De Jesus-Gonzalez, L., & Weathers, P. J. (2003). Tetraploid *Artemisia annua* hairy roots produce more artemisinin than diploids. *Plant Cell Reports*, *21*(8), 809–813. <https://doi.org/10.1007/S00299-003-0587-8/TABLES/2>
- de Vries, J., & Archibald, J. M. (2018). Plant evolution: landmarks on the path to terrestrial life. *New Phytologist*, *217*(4), 1428–1434. <https://doi.org/10.1111/NPH.14975>
- De Vries, J., Curtis, B. A., Gould, S. B., & Archibald, J. M. (2018). Embryophyte stress signaling evolved in the algal progenitors of land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(15), E3471–E3480. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1719230115/SUPPL\\_FILE/PNAS.1719230115.SD02.XLSX](https://doi.org/10.1073/PNAS.1719230115/SUPPL_FILE/PNAS.1719230115.SD02.XLSX)
- de Vries, J., Stanton, A., Archibald, J. M., & Gould, S. B. (2016). Streptophyte Terrestrialization in Light of Plastid Evolution. *Trends in Plant Science*, *21*(6), 467–476. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2016.01.021>
- De Vries, P. J. R., Simons, J., & Van Beem, A. P. (1983). SPOROPOLLENIN IN THE SPORE WALL OF SPIROGYRA (ZYGNEMATACEAE, CHLOROPHYCEAE). *Acta Botanica Neerlandica*, *32*(1–2), 25–28. <https://doi.org/10.1111/J.1438-8677.1983.TB01674.X>
- Delaux, P. M., Radhakrishnan, G. V., Jayaraman, D., Cheema, J., Malbreil, M., Volkening, J. D., Sekimoto, H., Nishiyama, T., Melkonian, M., Pokorny, L., Rothfels, C. J., Sederoff, H. W., Stevenson, D. W., Surek, B., Zhang, Y., Sussman, M. R., Dunand, C., Morris, R. J., Roux, C., ... Ane, J. M. (2015). Algal ancestor of land plants was preadapted for symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(43), 13390–13395. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1515426112/SUPPL\\_FILE/PNAS.1515426112.SD03.XLS](https://doi.org/10.1073/PNAS.1515426112/SUPPL_FILE/PNAS.1515426112.SD03.XLS)
- Devos, K. M., Brown, J. K. M., & Bennetzen, J. L. (2002). Genome size reduction through illegitimate recombination counteracts genome expansion in *Arabidopsis*. *Genome Research*, *12*(7), 1075–1079. <https://doi.org/10.1101/GR.132102>
- Doležel, J. (1991). Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. In *Phytochemical Analysis* (Vol. 2, Issue 4, pp. 143–154). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/pca.2800020402>
- Doležel, J., & Bartoš, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*, *95*(1), 99–110. <https://doi.org/10.1093/aob/mci005>
- Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H., & Greilhuber, J. (2003). Letter to the editor. *Cytometry*, *51A*(2), 127–128. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.10013>

- Doležel, J., Binarová, P., & Lcretti, S. (1989). Analysis of Nuclear DNA content in plant cells by Flow cytometry. *Biologia Plantarum*, *31*(2), 113–120. <https://doi.org/10.1007/BF02907241>
- Doležel, J., & Greilhuber, J. (2010). Nuclear genome size: Are we getting closer? In *Cytometry Part A* (Vol. 77, Issue 7, pp. 635–642). <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20915>
- Doležel, J., Sgorbati, S., & Lucretti, S. (1992). Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum*, *85*(4), 625–631. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04764.x>
- Domozych, D. S., & Bagdan, K. (2022). The cell biology of charophytes: Exploring the past and models for the future. *Plant Physiology*, *190*(3), 1588. <https://doi.org/10.1093/PLPHYS/KIAC390>
- Elliott, T. A., & Gregory, T. R. (2015). What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *370*(1678). <https://doi.org/10.1098/RSTB.2014.0331>
- Elster, J. (2002). *Ecological Classification of Terrestrial Algal Communities in Polar Environments* (pp. 303–326). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-56318-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-642-56318-8_17)
- Feng, X., Holzinger, A., Permann, C., Anderson, D., & Yin, Y. (2021). Characterization of Two Zygnema Strains (*Zygnema circumcarinatum* SAG 698-1a and SAG 698-1b) and a Rapid Method to Estimate Nuclear Genome Size of Zygnematophycean Green Algae. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 610381. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.610381/BIBTEX>
- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, *37*(12), 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/JOC.5086>
- Figueroa, F. L., Korbee, N., Carrillo, P., Medina-sánchez, J. M., Mata, M., Bonomi, J., & Sánchez-castillo, P. M. (2009). The effects of UV radiation on photosynthesis estimated as chlorophyll fluorescence in *Zygnemopsis decussata* (Chlorophyta) growing in a high mountain lake (Sierra Nevada, Southern Spain). *Journal of Limnology*, *68*(2), 206–216. <https://doi.org/10.4081/JLIMNOL.2009.206>
- Finkel, Z. V. (2001). Light absorption and size scaling of light-limited metabolism in marine diatoms. *Limnology and Oceanography*, *46*(1), 86–94. <https://doi.org/10.4319/LO.2001.46.1.0086>
- García, S., Leitch, I. J., Anadon-Rosell, A., Canela, M. Á., Gálvez, F., Garnatje, T., Gras, A., Hidalgo, O., Johnston, E., De Xaxars, G. M., Pellicer, J., Siljak-Yakovlev, S., Vallès, J., Viales, D., & Bennett, M. D. (2014). Recent updates and developments to plant genome size databases. *Nucleic Acids Research*, *42*(D1), D1159–D1166. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1195>
- García-Fernández, A., Iriondo, J. M., Vallès, J., Orellana, J., & Escudero, A. (2012). Ploidy level and genome size of locally adapted populations of *Silene ciliata* across an altitudinal gradient. *Plant Systematics and Evolution*, *298*(1), 139–146. <https://doi.org/10.1007/S00606-011-0530-3/TABLES/1>
- Garduño-Solórzano, G., Martínez-García, M., Scotta Hentschke, G., Lopes, G., Castelo Branco, R., Vasconcelos, V. M. O., Campos, J. E., López-Cano, R., & Quintanar-Zúñiga, R. E. (2021). The

phylogenetic placement of *Temnogametum* (Zygnemataceae) and description of *Temnogametum iztacalense* sp. nov., from a tropical high mountain lake in Mexico. *European Journal of Phycology*, 56(2), 159–173.  
[https://doi.org/10.1080/09670262.2020.1789226/SUPPL\\_FILE/TEJP\\_A\\_1789226\\_SM1291.TIFF](https://doi.org/10.1080/09670262.2020.1789226/SUPPL_FILE/TEJP_A_1789226_SM1291.TIFF)

- Gitzendanner, M. A., Soltis, P. S., Wong, G. K. S., Ruhfel, B. R., & Soltis, D. E. (2018). Plastid phylogenomic analysis of green plants: A billion years of evolutionary history. *American Journal of Botany*, 105(3), 291–301. <https://doi.org/10.1002/AJB2.1048>
- Glaser, A. K., Reder, N. P., Chen, Y., McCarty, E. F., Yin, C., Wei, L., Wang, Y., True, L. D., & Liu, J. T. C. (2017). Light-sheet microscopy for slide-free non-destructive pathology of large clinical specimens. *Nature Biomedical Engineering*, 1(7). <https://doi.org/10.1038/S41551-017-0084>
- Godward, M. B. E. (1954). The 'Diffuse' Centromere or Polycentric Chromosomes in *Spirogyra*. *Annals of Botany*, 18(2), 143–144.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083387>
- Godward, M. B. E. (1961). Meiosis in *Spirogyra crassa*. *Heredity*, 16, 53–62.
- Gontcharov, A. A. (2008). Phylogeny and classification of Zygnematophyceae (Streptophyta): current state of affairs. *Fottea*, 8(2), 87–104. <https://doi.org/10.5507/FOT.2008.004>
- Graham J.E., Wilcox, L. W., & Graham, L. E. (2008). *Algae (2nd Edition)*. Benjamin Cummings, San Francisco, CA.
- Gregory, T. R. (2001a). Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 76(1), 65–101.  
<https://doi.org/10.1017/s1464793100005595>
- Gregory, T. R. (2001b). The bigger the C-value, the larger the cell: genome size and red blood cell size in vertebrates. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 27(5), 830–843.  
<https://doi.org/10.1006/BCMD.2001.0457>
- Gregory, T. R. (2005). *The C-value Enigma in Plants and Animals : A Review of Parallels and an Appeal for Partnership*. 133–146. <https://doi.org/10.1093/aob/mci009>
- Gregory, T. R. (2023). *Animal Genome Size Database*. <http://www.genomesize.com>
- Greilhuber, J. (1988). "Self-tanning" - a new and important source of stoichiometric error in cytophotometric determination of nuclear DNA content in plants. *Plant Systematics and Evolution*, 158(2–4), 87–96. <https://doi.org/10.1007/BF00936335/METRICS>
- Greilhuber, J. (2011). Severely distorted Feulgen-DNA amounts in *Pinus* (Coniferophytina) after nonadditive fixations as a result of meristematic self-tanning with vacuole contents. <https://doi.org/10.1139/G86-060>, 28(3), 409–415. <https://doi.org/10.1139/G86-060>
- Greilhuber, J., Doležel, J., Lysák, M. A., & Bennett, M. D. (2005). The origin, evolution and proposed stabilization of the terms "genome size" and "C-value" to describe nuclear DNA contents. *Annals of Botany*, 95(1), 255–260. <https://doi.org/10.1093/aob/mci019>

- Greilhuber, J., Tensch, E. M., & Loureiro, J. C. M. (2007). Nuclear DNA Content Measurement. In *Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes* (pp. 67–101). <https://doi.org/10.1002/9783527610921.ch4>
- Grover, C. E., & Wendel, J. F. (2010). Recent Insights into Mechanisms of Genome Size Change in Plants. *Journal of Botany*, 2010, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2010/382732>
- Guerra, M., Cabral, G., Cuacos, M., González-García, M., González-Sánchez, M., Vega, J., & Puertas, M. J. (2010). Neocentrics and Holokinetics (Holocentrics): Chromosomes out of the Centromeric Rules. *Cytogenetic and Genome Research*, 129(1–3), 82–96. <https://doi.org/10.1159/000314289>
- Guiry, M. D. (2013). Taxonomy and nomenclature of the Conjugatophyceae (= Zygnematophyceae). *Algae*, 28(1), 1–29. <https://doi.org/10.4490/ALGAE.2013.28.1.001>
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2023). *AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway*. <https://www.algaebase.org>
- Haig, D. (2010). What do we know about charophyte (streptophyta) life cycles? In *Journal of Phycology* (Vol. 46, Issue 5, pp. 860–867). <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00874.x>
- Hainz, R., Wöber, C., & Schagerl, M. (2009). The relationship between Spirogyra (Zygnematophyceae, Streptophyta) filament type groups and environmental conditions in Central Europe. *Aquatic Botany*, 91(3), 173–180. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2009.05.004>
- Hall, J. D., & McCourt, R. M. (2017). Zygnematophyta. In . (Ed.), *Handbook of the protists, Archibald, J. M, Simpson, A. G. B., Slamovits Claudio H. eds* (2nd ed., pp. 135–163). Springer.
- Hamada, J. (1987). Diploidy in DNA content in vegetative cells of Closterium ehrenbergii (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 23, 541–546.
- Hamada, J., Saito, M., & Ishida, M. R. (1985). Nuclear phase in vegetative and gamete cells of Closterium ehrenbergii: Fluorescence microspectrophotometry of DNA content. *Annu. Rep. Res. Reactor Inst. Kyoto Univ.*, 18, 56–61.
- Hengl, T., De Jesus, J. M., Heuvelink, G. B. M., Gonzalez, M. R., Kilibarda, M., Blagotić, A., Shangguan, W., Wright, M. N., Geng, X., Bauer-Marschallinger, B., Guevara, M. A., Vargas, R., MacMillan, R. A., Batjes, N. H., Leenaars, J. G. B., Ribeiro, E., Wheeler, I., Mantel, S., & Kempen, B. (2017). SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning. *PLOS ONE*, 12(2), e0169748. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0169748>
- Herburger, K., Lewis, L. A., & Holzinger, A. (2015). Photosynthetic efficiency, desiccation tolerance and ultrastructure in two phylogenetically distinct strains of alpine Zygnema sp. (Zygnematophyceae, Streptophyta): role of pre-akinete formation. *Protoplasma*, 252(2), 571. <https://doi.org/10.1007/S00709-014-0703-3>
- Herburger, K., Remias, D., & Holzinger, A. (2016). The green alga Zygonium ericetorum (Zygnematophyceae, Charophyta) shows high iron and aluminium tolerance: protection mechanisms and photosynthetic performance. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), 103. <https://doi.org/10.1093/FEMSEC/FIW103>

- Hess, S., Williams, S. K., Busch, A., Buschmann, H., & Von Schwartzberg, K. (2022). A phylogenomically informed five-order system for the closest relatives of land plants. *Current Biology*, 32, 4473–4482. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.08.022>
- Hessen, D. O., Daufresne, M., & Leinaas, H. P. (2013). Temperature-size relations from the cellular-genomic perspective. *Biological Reviews*, 88(2), 476–489. <https://doi.org/10.1111/brv.12006>
- Holzinger, A., Albert, A., Aigner, S., Uhl, J., Schmitt-Kopplin, P., Trumhová, K., & Pichrtová, M. (2018). Arctic, Antarctic, and temperate green algae *Zygnema* spp. under UV-B stress: vegetative cells perform better than pre-akinetes. *Protoplasma*, 255(4), 1239–1252. <https://doi.org/10.1007/S00709-018-1225-1/FIGURES/8>
- Hoshaw, R. W. (1974). Cell width as a taxonomic character with special reference to *zygnema circumcarinatum* czurda. *British Phycological Journal*, 9(2), 145–148. <https://doi.org/10.1080/00071617400650181>
- Hoshaw, R. W., & Mccourt, R. M. (1988). The Zygnemataceae (Chlorophyta): a twenty-year update of research. *Phycologia*, 27(4), 511–548.
- Hoshaw, R. W., Wang, J.-C., McCourt, R. M., & Hull, H. M. (1985). Ploidal changes in clonal cultures of *Spirogyra communis* and implications for species definition. *American Journal of Botany*, 72(7), 1005. <https://doi.org/10.2307/2443443>
- Hoshaw, R. W., Wells, Charles V., & McCourt, R. M. (1987). A polyploid species complex of *Spirogyra maxima* (Chlorophyta, Zygnemataceae), a species with large chromosomes. *Journal of Phycology*, 23(1), 267–273. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1986.tb02522.x>
- Hughes-Schrader, S., & Ris, H. (1941). The diffuse spindle attachment of coccids, verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. *Journal of Experimental Zoology*, 87(3), 429–456. <https://doi.org/10.1002/JEZ.1400870306>
- Hull, H. M., Hoshaw, R. W., & Wang, J.-C. (1982). *Cytofluorometric determination of nuclear DNA in living and preserved algae* (Vol. 57, Issue 5).
- Imaizumi, M., & Doida, Y. (1990). Induction of zygote formation in *Micrasterias thomasiana* var. *notata*. *Plant Science*, 21–28.
- Irwin, A. J., Finkel, Z. V., Schofield, O. M. E., & Falkowski, P. G. (2006). Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. *Journal of Plankton Research*, 28(5), 459–471. <https://doi.org/10.1093/PLANKT/FBI148>
- Jiao, C., Sørensen, I., Sun, X., Sun, H., Behar, H., Alseekh, S., Philippe, G., Palacio Lopez, K., Sun, L., Reed, R., Jeon, S., Kiyonami, R., Zhang, S., Fernie, A. R., Brumer, H., Domozych, D. S., Fei, Z., & Rose, J. K. C. (2020). The *Penium margaritaceum* Genome: Hallmarks of the Origins of Land Plants. *Cell*, 181(5), 1097–1111.e12. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.04.019>
- Kadłubowska, J. Z. (1984). Chlorophyta. 8. Conjugatophyceae 1. Zygnemales. In H. , Ettl, J. , Gerloff, & H. & M. D. Heynig (Eds.), *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 16: Chlorophyta VIII* (pp. 1–532). VEB Gustav Fischer Verlag.

- Kapraun, D. F. (2005). Nuclear DNA content estimates in multicellular green, red and brown algae: Phylogenetic considerations. *Annals of Botany*, *95*(1), 7–44. <https://doi.org/10.1093/aob/mci002>
- Kapraun, D. F. (2007). Nuclear DNA content estimates in green algal lineages: Chlorophyta and streptophyta. *Annals of Botany*, *99*(4), 677–701. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl294>
- Karol, K. G., McCourt, R. M., Cimino, M. T., & Delwiche, C. F. (2001). The closest living relatives of land plants. *Science*, *294*(5550), 2351–2353. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1065156/SUPPL\\_FILE/KAROLAPPENDIX2REVISED.XLS](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1065156/SUPPL_FILE/KAROLAPPENDIX2REVISED.XLS)
- Karsten, U. (2008). Defense strategies of algae and cyanobacteria against solar ultraviolet radiation. In *Algal Chemical Ecology* (Vol. 9783540741817, pp. 273–296). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-74181-7\\_13/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74181-7_13/COVER)
- Kaur, N., Datson, P. M., & Murray, B. G. (2012). Genome size and chromosome number in the New Zealand species of *Schoenus* (Cyperaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *169*(3), 555–564. <https://doi.org/10.1111/J.1095-8339.2012.01238.X>
- Kidwell, M. G. (2002). Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica*, *115*(1), 49–63. <https://doi.org/10.1023/A:1016072014259>
- King, G. C. (1953). Chromosome Numbers in the Desmids. *Nature* *1953* *172*:4378, *172*(4378), 592–593. <https://doi.org/10.1038/172592a0>
- Knight, C. A., & Ackerly, D. D. (2002). Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: A quantile regression analysis. *Ecology Letters*, *5*(1), 66–76. <https://doi.org/10.1046/J.1461-0248.2002.00283.X>
- Knight, C. A., Molinari, N. A., & Petrov, D. A. (2005). The large genome constraint hypothesis: evolution, ecology and phenotype. *Annals of Botany*, *95*(1), 177–190. <https://doi.org/10.1093/aob/mci011>
- Kohli, J., Hottinger, H., Munz, P., Strauss, A., & Thuriaux, P. (1977). GENETIC MAPPING IN SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE BY MITOTIC AND MEIOTIC ANALYSIS AND INDUCED HAPLOIDIZATION. *Genetics*, *87*(3), 471–489. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/87.3.471>
- Kolář, F., Lučanová, M., Teitel, J., Loureiro, J., & Suda, J. (2012). Glycerol-treated nuclear suspensions—an efficient preservation method for flow cytometric analysis of plant samples. *Chromosome Research*, *20*(2), 303–315. <https://doi.org/10.1007/S10577-012-9277-0>
- Kron, P., Suda, J., & Husband, B. C. (2007). Applications of flow cytometry to evolutionary and population biology. In *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* (Vol. 38, pp. 847–876). <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095504>
- Kullman, B., Tamm, H., & Kullman, K. (2005). *Fungal Genome Size Database*. <http://www.zbi.ee/fungal-genomesize>
- Lajeunesse, T. C., Lambert, G., Andersen, R. A., Coffroth, M. A., & Galbraith, D. W. (2005). Symbiodinium (Pyrrophyta) genome sizes (DNA content) are smallest among dinoflagellates. *Journal of Phycology*, *41*(4), 880–886. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2005.04231.x>



- Leitch, I., Johnston, E., Pellicer, J., Hidalgo, O., & Bennett, M.D. (2019). *Plant DNA C-values Database (release 7.1)*. <https://cvalues.science.kew.org/search>
- Lemaire, S., Hours, M., Gerard-Hirne, C., Trouabal, A., Roche, O., Jacquot, J.-P., & Lemaire, S. D. (1999). Analysis of light/dark synchronization of cell-wall-less *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta) cells by flow cytometry. *Eur. J. Phycol*, *34*, 279–286. <https://doi.org/10.1080/09670269910001736332>
- Liu, S., Chen, S., Chen, Y., Guan, Z., Yin, D., & Chen, F. (2011). In vitro induced tetraploid of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tzvel. shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Scientia Horticulturae*, *127*(3), 411–419. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2010.10.012>
- Liu, Y., Hu, Z., Deng, Y., Shang, L., Gobler, C. J., & Tang, Y. Z. (2021). Dependence of genome size and copy number of rRNA gene on cell volume in dinoflagellates. *Harmful Algae*, *109*, 102108. <https://doi.org/10.1016/J.HAL.2021.102108>
- Loureiro, J., Rodriguez, E., Doležel, J., & Santos, C. (2006). Flow cytometric and microscopic analysis of the effect of tannic acid on plant nuclei and estimation of DNA content. *Annals of Botany*, *98*(3), 515–527. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl140>
- Lysák, M. A., & Doležel, J. (1998). Estimation of nuclear DNA content in *Sesleria* (Poaceae). *Caryologia*, *51*(2), 123–132. <https://doi.org/10.1080/00087114.1998.10589127>
- Lysák, M. A., & Schubert, I. (2013). Mechanisms of chromosome rearrangements. *Plant Genome Diversity*, *2*, 137–147. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4\\_9/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_9/COVER)
- Ma, X. F., & Gustafson, J. P. (2005). Genome evolution of allopolyploids: a process of cytological and genetic diploidization. *Cytogenetic and Genome Research*, *109*(1–3), 236–249. <https://doi.org/10.1159/000082406>
- Marin, B., & Melkonian, M. (1999). Mesostigmatophyceae, a new class of streptophyte green algae revealed by SSU rRNA sequence comparisons. *Protist*, *150*(4), 399–417. [https://doi.org/10.1016/S1434-4610\(99\)70041-6](https://doi.org/10.1016/S1434-4610(99)70041-6)
- Masterson, J. (1994). Stomatal Size in Fossil Plants: Evidence for Polyploidy in Majority of Angiosperms. *Science (New York, N.Y.)*, 421–424. <http://science.sciencemag.org/>
- Mazalová, P., Šarhanová, P., Ondřej, V., & Poulíčková, A. (2011). Quantification of DNA content in freshwater microalgae using flow cytometry: a modified protocol for selected green microalgae. In *Fottea* (Vol. 11, Issue 2). <http://www.biologie.uni-hamburg>.
- McCourt, R. M., & Hoshaw, R. W. (1990). Noncorrespondence of Breeding Groups, Morphology, and Monophyletic Groups in *Spirogyra* (Zygnemataceae: Chlorophyta) and the Application of Species Concepts. *Source: Systematic Botany*, *15*(1), 69–78. <http://www.jstor.orgURL:http://www.jstor.org/stable/>
- McCourt, R. M., Hoshaw, R. W., & Wang, J. -C. (1986). Distribution, morphological diversity and evidence for polyploidy in North American Zygnemataceae (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, *22*(3), 307–315. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1986.tb00028.x>
- Mirsky, A. E., & Ris, H. (1951). The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance. *The Journal of General Physiology*, *34*(4), 451–462. <https://doi.org/10.1085/jgp.34.4.451>

- Mix, M. (1972). Die Feinstruktur der Zellwände bei Mesotaeniaceae und Gonatozygaceae mit einer vergleichenden Betrachtung der verschiedenen Wandtypen der Conjugatophyceae und über deren systematischen Wert. *Archiv Für Mikrobiologie*, 81(3), 197–220. <https://doi.org/10.1007/BF00412239/METRICS>
- Mix, M. (1975). Die Feinstruktur der Zellwände der Conjugaten und ihre systematische Bedeutung. *Nova Hedwigia*, 42, 179–194. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL7637000103>
- Ohno, S. (1972). So much “junk” DNA in our genome. *Brookhaven Symposia in Biology*, 23, 366–370. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5065367>
- 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), 163–173. <https://doi.org/10.1007/s13127-018-0365-7>
- Orgel, L. E., & Crick, F. H. C. (1980). Selfish DNA: The ultimate parasite. *Nature*, 284(5757), 604–607. <https://doi.org/10.1038/284604a0>
- Orme, D. (2023). *The caper package: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R*.
- Pagel, M., & Johnstone, R. A. (1992). Variation across species in the size of the nuclear genome supports the junk-DNA explanation for the C-value paradox. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 249(1325), 119–124. <https://doi.org/10.1098/rspb.1992.0093>
- Pagel, M., Meade, A., & Barker, D. (2004). Bayesian Estimation of Ancestral Character States on Phylogenies. *Systematic Biology*, 53(5), 673–684. <https://doi.org/10.1080/10635150490522232>
- Pellicer, J., Fay, M. F., & Leitch, I. J. (2010). The largest eukaryotic genome of them all? *Botanical Journal of the Linnean Society*, 164(1), 10–15. <https://doi.org/10.1111/J.1095-8339.2010.01072.X>
- Permann, C., Herburger, K., Felhofer, M., Gierlinger, N., Lewis, L. A., & Holzinger, A. (2021). Induction of conjugation and zygospore cell wall characteristics in the alpine spirogyra mirabilis (Zygnematophyceae, charophyta): Advantage under climate change scenarios? *Plants*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/PLANTS10081740/S1>
- Permann, C., Herburger, K., Niedermeier, M., Felhofer, M., Gierlinger, N., & Holzinger, A. (2021). Cell wall characteristics during sexual reproduction of Mougeotia sp. (Zygnematophyceae) revealed by electron microscopy, glycan microarrays and RAMAN spectroscopy. *Protoplasma*, 258(6), 1261–1275. <https://doi.org/10.1007/S00709-021-01659-5/FIGURES/6>
- Pichrtová, M., Holzinger, A., Kulichová, J., Ryšánek, D., Šoljaková, T., Trumhová, K., & Nemcova, Y. (2018). Molecular and morphological diversity of Zygnema and Zygnemopsis (Zygnematophyceae, Streptophyta) from Svalbard (High Arctic). *European Journal of Phycology*, 53(4), 492–508. <https://doi.org/10.1080/09670262.2018.1476920>
- Pichrtová, M., Remias, D., Lewis, L. A., & Holzinger, A. (2013). Changes in Phenolic Compounds and Cellular Ultrastructure of Arctic and Antarctic Strains of Zygnema (Zygnematophyceae,

- Streptophyta) after Exposure to Experimentally Enhanced UV to PAR Ratio. *Microbial Ecology*, 65(1), 68–83. <https://doi.org/10.1007/S00248-012-0096-9/FIGURES/10>
- Plačková, K., Bureš, P., & Zedek, F. (2021). Centromere size scales with genome size across Eukaryotes. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99386-7>
- Pouličková, A., Mazalová, P., Vašut, R. J., Šarhanová, P., Neustupa, J., & Škaloud, P. (2014). DNA content variation and its significance in the evolution of the genus *Micrasterias* (desmidiaceae, streptophyta). *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086247>
- Pouličková, A., Žižka, Z., Hašler, P., & Benada, O. (2007). Zygnematalean zygospores: Morphological features and use in species identification. *Folia Microbiologica*, 52(2), 135–145. <https://doi.org/10.1007/BF02932152>
- Prokopowich, C. D., Gregory, T. R., & Crease, T. J. (2011). The correlation between rDNA copy number and genome size in eukaryotes. <https://doi.org/10.1139/G02-103>, 46(1), 48–50. <https://doi.org/10.1139/G02-103>
- Qiu, F., Baack, E. J., Whitney, K. D., Bock, D. G., Tetreault, H. M., Rieseberg, L. H., & Ungerer, M. C. (2019). Phylogenetic trends and environmental correlates of nuclear genome size variation in *Helianthus* sunflowers. *New Phytologist*, 221(3), 1609–1618. <https://doi.org/10.1111/NPH.15465>
- R Core Team. (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* | *BibSonomy*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Radcliff, G., & Jaroszeski, M. J. (1998). Basics of flow cytometry. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 91, 1–24. <https://doi.org/10.1385/0-89603-354-6:1>
- Remias, D., Holzinger, A., Aigner, S., & Lütz, C. (2012). Ecophysiology and ultrastructure of *Ancydonema nordenskiöldii* (Zygnematales, Streptophyta), causing brown ice on glaciers in Svalbard (high arctic). *Polar Biology*, 35(6), 899–908. <https://doi.org/10.1007/S00300-011-1135-6>
- Remias, D., Schwaiger, S., Aigner, S., Leya, T., Stuppner, H., & Lütz, C. (2012). Characterization of an UV- and VIS-absorbing, purpurogallin-derived secondary pigment new to algae and highly abundant in *Mesotaenium berggrenii* (Zygnematophyceae, Chlorophyta), an extremophyte living on glaciers. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(3), 638–648. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6941.2011.01245.X>
- Revell, L. J. (2012). phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217–223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>
- Rotreklová, O., Bureš, P., Řepka, R., Grulich, V., Šmarda, P., Hralová, I., Zedek, F., & Koutecký, T. (2011). Chromosome numbers of *Carex*. *Preslia*, 83(1), 25–58.
- Schönswetter, P., Suda, J., Popp, M., Weiss-Schneeweiss, H., & Brochmann, C. (2007). Circumpolar phylogeography of *Juncus biglumis* (Juncaceae) inferred from AFLP fingerprints, cpDNA sequences, nuclear DNA content and chromosome numbers.

*Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42(1), 92–103.

<https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2006.06.016>

Sekimoto, H., Komiya, A., Tsuyuki, N., Kawai, J., Kanda, N., Ootsuki, R., Suzuki, Y., Toyoda, A., Fujiyama, A., Kasahara, M., Abe, J., Tsuchikane, Y., & Nishiyama, T. (2023). A divergent RWP-RK transcription factor determines mating type in heterothallic *Closterium*. *New Phytologist*, 237(5), 1636–1651. <https://doi.org/10.1111/NPH.18662>

Sekimoto, H., Satoh, S., & Fujii, T. (1990). Biochemical and physiological properties of a protein inducing protoplast release during conjugation in the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Planta*, 182(3), 348–354. <https://doi.org/10.1007/BF02411384>

Shuter, B. J., Thomas, J. E., Taylor, W. D., & Zimmerman, A. M. (1983). Phenotypic correlates of genomic DNA content in unicellular eukaryotes and other cells. *American Naturalist*, 122(1), 26–44. <https://doi.org/10.1086/284116>

Simon, N., Barlow, R. G., Marie, D., Partensky, F., & Vaulot, D. (1994). CHARACTERIZATION OF OCEANIC PHOTOSYNTHETIC PICOEUKARYOTES BY FLOW CYTOMETRY. *Journal of Phycology*, 30(6), 922–935. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00922.x>

Simons, J., Van Beem, A. P., & De Vries, P. J. R. (1984). Induction of conjugation and spore formation in species of *Spirogyra* (Chlorophyceae, Zygnematales). *Acta Botanica Neerlandica*, 33(3), 323–334. <https://doi.org/10.1111/J.1438-8677.1984.TB01823.X>

Šímová, I., & Herben, T. (2012). Geometrical constraints in the scaling relationships between genome size, cell size and cell cycle length in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1730), 867–875. <https://doi.org/10.1098/RSPB.2011.1284>

Šmarda, P., Bureš, P., Horová, L., Foggi, B., & Rossi, G. (2008). Genome size and GC content evolution of *Festuca*: Ancestral expansion and subsequent reduction. *Annals of Botany*, 101(3), 421–433. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm307>

Smetacek, V., Assmy, P., & Henjes, J. (2004). The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science*, 16(4), 541–558. <https://doi.org/10.1017/S0954102004002317>

Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., DePamphilis, C. W., Wall, P. K., & Soltis, P. S. (2009). Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany*, 96(1), 336–348. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>

Stancheva, R., Hall, J. D., Herburger, K., Lewis, L. A., Mccourt, R. M., Sheath, R. G., & Holzinger, A. (2014). Phylogenetic position of *Zygonium ericetorum* (Zygnematophyceae, Charophyta) from a high alpine habitat and ultrastructural characterization of unusual aplanospores. *Journal of Phycology*, 50(5), 790–803. <https://doi.org/10.1111/JPY.12229>

Stancheva, R., Hall, J. D., Mccourt, R. M., & Sheath, R. G. (2013). Identity and phylogenetic placement of *Spirogyra* species (Zygnematophyceae, Charophyta) from California streams and elsewhere. *Journal of Phycology*, 49(3), 588–607. <https://doi.org/10.1111/JPY.12070>

- Stancheva, R., Sheath, R. G., & Hall, J. D. (2012). Systematics of the genus *Zygnema* (Zygnematophyceae, Charophyta) from Californian watersheds. *Journal of Phycology*, 48(2), 409–422. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.2012.01127.X>
- Šťastný, J. (2008). Desmids from ephemeral pools and aerophytic habitats from the Czech Republic. *Biologia*, 63(6), 888–894. <https://doi.org/10.2478/S11756-008-0138-4/METRICS>
- Šťastný, J., & Kouwets, F. A. C. (2012). New and remarkable desmids (Zygnematophyceae, Streptophyta) from Europe: taxonomical notes based on LM and SEM observations. *Fottea*, 12(2), 293–313. <https://doi.org/10.5507/FOT.2012.021>
- Stebbins, G. L. (1971). Chromosomal evolution in higher plants. In *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold Ltd.,
- Švehlíková, V., & Repčák, M. (2000). Variation of apigenin quantity in diploid and tetraploid *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert. *Plant Biology*, 2(4), 403–407. <https://doi.org/10.1055/S-2000-5957/ID/30/BIB>
- Swift, H. (1950). The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 36(11), 643–654. <https://doi.org/10.1073/pnas.36.11.643>
- Takano, T., Higuchi, S., Ikegaya, H., Matsuzaki, R., Kawachi, M., Takahashi, F., & Nozaki, H. (2019). Identification of 13 *Spirogyra* species (Zygnemataceae) by traits of sexual reproduction induced under laboratory culture conditions. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43454-6>
- Tanaka, N., Kanatani, S., Tomer, R., Sahlgren, C., Kronqvist, P., Kaczynska, D., Louhivuori, L., Kis, L., Lindh, C., Mitura, P., Stepulak, A., Corvigno, S., Hartman, J., Micke, P., Mezheyski, A., Strell, C., Carlson, J. W., Fernández Moro, C., Dahlstrand, H., ... Uhlén, P. (2017). Whole-tissue biopsy phenotyping of three-dimensional tumours reveals patterns of cancer heterogeneity. *Nature Biomedical Engineering* 2017 1:10, 1(10), 796–806. <https://doi.org/10.1038/s41551-017-0139-0>
- Temsch, E. M., Greilhuber, J., & Krisai, R. (2010). Genome size in liverworts. In *Preslia* (Vol. 82). <http://www.>
- Transeau, E. N. (1951). The Zygnemataceae (fresh-water conjugate algae) with keys for the identification of genera and species. *The Zygnemataceae (Fresh-Water Conjugate Algae) with Keys for the Identification of Genera and Species, and Seven Hundred Eighty-Nine Illustrations*. <https://doi.org/10.5962/BHL.TITLE.10220>
- Trumhová, K., Holzinger, A., Obwegeser, S., Neuner, G., & Pichrtová, M. (2019). The conjugating green alga *Zygnema* sp. (Zygnematophyceae) from the Arctic shows high frost tolerance in mature cells (pre-akinetes). *Protoplasma*, 256(6), 1681–1694. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01404-z>
- Trumhová, K., Klimešová, V., & Pichrtová, M. (2022). Seasonal Dynamics of *Zygnema* (Zygnematophyceae) Mats from the Austrian Alps. *Microbial Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02105-6>

- Tsuchikane, Y., & Sekimoto, H. (2019). The genus *Closterium*, a new model organism to study sexual reproduction in streptophytes. *New Phytologist*, *221*(1), 99–104. <https://doi.org/10.1111/NPH.15334>
- Veldhuis, M. J. W., Cucci, T. L., & Sieracki, M. E. (1997). Cellular DNA content of marine phytoplankton using two new fluorochromes: Taxonomic and ecological implications. *Journal of Phycology*, *33*(3), 527–541. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00527.x>
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21706-2>
- Veselý, P., Bureš, P., Šmarda, P., & Pavlíček, T. (2012). Genome size and DNA base composition of geophytes: The mirror of phenology and ecology? *Annals of Botany*, *109*(1), 65–75. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr267>
- Vindeløv, L. L., Christensen, I. J., & Nissen, N. I. (1983). Standardization of high-resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standards. *Cytometry*, *3*(5), 328–331. <https://doi.org/10.1002/cyto.990030504>
- Wang, J. -C, Hoshaw, R. W., & McCourt, R. M. (1986). A polyploid species complex of *Spirogyra communis* (Chlorophyta) occurring in nature. *Journal of Phycology*, *22*(1), 102–107. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.1986.TB02522.X>
- Wang, J. C., Hoshaw, R. W., & McCourt, R. M. (1989). Diversity of *spirogyra* (Chlorophyta) filament types on an altitudinal gradient. *British Phycological Journal*, *24*(4), 367–373. <https://doi.org/10.1080/00071618900650381>
- Wang, S., Li, L., Li, H., Sahu, S. K., Wang, H., Xu, Y., Xian, W., Song, B., Liang, H., Cheng, S., Chang, Y., Song, Y., Çebi, Z., Wittek, S., Reder, T., Peterson, M., Yang, H., Wang, J., Melkonian, B., ... Liu, X. (2019). Genomes of early-diverging streptophyte algae shed light on plant terrestrialization. *Nature Plants* *2019* *6*:2, *6*(2), 95–106. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0560-3>
- Welker, D. L., & Williams, K. L. (1981). Genetic and cytological characterisation of fusion chromosomes of *Dictyostelium discoideum*. *Chromosoma*, *82*(3), 321–332. <https://doi.org/10.1007/BF00285758/METRICS>
- Wickett, N. J., Mirarab, S., Nguyen, N., Warnow, T., Carpenter, E., Matasci, N., Ayyampalayam, S., Barker, M. S., Burleigh, J. G., Gitzendanner, M. A., Ruhfel, B. R., Wafula, E., Der, J. P., Graham, S. W., Mathews, S., Melkonian, M., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Miles, N. W., ... Leebens-Mack, J. (2014). Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(45), E4859–E4868. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1323926111/-/DCSUPPLEMENTAL/PNAS.1323926111.ST01.DOCX>
- Williamson, C. J., Cameron, K. A., Cook, J. M., Zarsky, J. D., Stibal, M., & Edwards, A. (2019). Glacier algae: A dark past and a darker future. *Frontiers in Microbiology*, *10*(APR). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00524>

- Wodniok, S., Brinkmann, H., Glöckner, G., Heidel, A. J., Philippe, H., Melkonian, M., & Becker, B. (2011). Origin of land plants: Do conjugating green algae hold the key? *BMC Evolutionary Biology*, *11*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-104/TABLES/2>
- Wolfe, K. H. (2001). Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nature Reviews. Genetics*, *2*(5), 333–341. <https://doi.org/10.1038/35072009>
- Žárský, J., Žárský, V., Hanáček, M., & Žárský, V. (2021). Cryogenian Glacial Habitats as a Plant Terrestrialisation Cradle – The Origin of the Anhydrophytes and Zygnematophyceae Split. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 27. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.735020>
- Zhang, Z., Qu, C., Zhang, K., He, Y., Zhao, X., Yang, L., Zheng, Z., Ma, X., Wang, X., Wang, W., Wang, K., Li, D., Zhang, L., Zhang, X., Su, D., Chang, X., Zhou, M., Gao, D., Jiang, W., ... Miao, J. (2020). Adaptation to Extreme Antarctic Environments Revealed by the Genome of a Sea Ice Green Alga. *Current Biology*, *30*(17), 3330-3341.e7. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2020.06.029>
- Zhou, H., & Von Schwartzenberg, K. (2020). Zygnematophyceae: From living algae collections to the establishment of future models. *Journal of Experimental Botany*, *71*(11), 3296–3304. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERAA091>

## 8. Přílohy

### Lokality původu studovaných kmenů

Příloha 1: Tabulka lokalit všech zahrnutých kmenů. V sloupci PGLS x=použito pouze do obecných korelací nezahrnujících vliv fylogeneze, cw = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testujícího vztah velikosti genomu a šířky buněk, multiple = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testující ekogeografické proměnné.

| Linie   | Kmen       | latituda       | longituda      | stát       | lokality                    | PGLS        |
|---------|------------|----------------|----------------|------------|-----------------------------|-------------|
| UTEX42  | SAG 698-1b | NA             | NA             | NA         | NA                          | cw          |
| 4PC2M7  | 4PC2M7     | 48°55'5.264"N  | 14°52'56.078"E | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep | multiple    |
| 4PC2M7  | 14PC2M     | 48°55'5.264"N  | 14°52'56.078"E | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep | multiple+cw |
| S       | 8PO12      | 54°5'15.072"N  | 23°0'58.248"E  | Polsko     | Suwałki, Suchar             | x           |
| S       | 4BO58      | 55°4'48.000"N  | 15°9'1.199"E   | Dánsko     | Bornholm, Nexø              | multiple    |
| S       | 4BON1      | 55°9'58.918"N  | 15°2'58.726"E  | Dánsko     | Bornholm, Haralds Havn      | multiple+cw |
| S       | 5N2-13_6   | 60°42'14.580"N | 8°15'47.592"E  | Norsko     | Viken, jezero Rødungen      | multiple+cw |
| S       | 5IT019     | 40°10'6.240"N  | 16°40'33.600"E | Itálie     | Matera, Policoro            | multiple+cw |
| S       | 14PLa      | 50°11'22.898"N | 15°51'38.599"E | Česko      | Hradec Králové, Na Plachtě  | multiple+cw |
| S       | P4C        | 78°40'50.520"N | 16°27'29.220"E | Norsko     | Svalbard, Pyramiden         | x           |
| S       | 4 g        | 78°40'50.520"N | 16°27'29.220"E | Norsko     | Svalbard, Pyramiden         | x           |
| S       | 4 h        | 78°40'50.520"N | 16°27'29.220"E | Norsko     | Svalbard, Pyramiden         | x           |
| 5CHO1   | Os1        | 44°40'51.917"N | 14°24'30.427"E | Chorvatsko | Cres, Osor                  | multiple    |
| 5CHO1   | Os2        | 44°40'51.920"N | 14°24'30.431"E | Chorvatsko | Cres, Osor                  | multiple    |
| 5CHO1   | K122       | 47°13'48.000"N | 11°0'43.200"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Kühtai            | multiple+cw |
| 5CHO1   | K2320      | 47°14'12.840"N | 11°0'54.000"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Stamser Bach      | multiple    |
| 5CHO1   | K2331      | 47°14'12.840"N | 11°0'54.000"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Stamser Bach      | multiple    |
| SAG2418 | SAG 2418   | 47°17'6.958"N  | 13°8'42.342"E  | Rakousko   | Salcbursko, Thurngraben     | multiple    |
| SAG2418 | 5IE5-1_4   | 53°21'23.400"N | 9°1'5.500"W    | Irsko      | Galway, Knocknagroagh       | multiple+cw |
| SAG2418 | 5IE1-1_4   | 53°27'1.700"N  | 9°32'38.400"W  | Irsko      | Galway, Ardderrynagleragh   | x           |
| 4PCB2   | 4PCB2      | 48°55'5.160"N  | 14°52'55.740"E | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep | multiple+cw |
| 4VJ2    | 4VJ2       | 49°20'54.182"N | 14°29'16.818"E | Česko      | Tábor, Velkojamský rybník   | x           |
| 4VJ2    | 5IT012     | 40°10'6.240"N  | 16°40'33.600"E | Itálie     | Matera, Policoro            | multiple+cw |
| 4VJ2    | 5IT1012    | 40°20'27.348"N | 18°21'20.232"E | Itálie     | Apulie, Le Cesine           | multiple+cw |
| 4VJ2    | 4MJ1       | 49°20'45.434"N | 14°29'26.228"E | Česko      | Tábor, Malojamský rybník    | multiple+cw |
| 4VJ2    | 4BO53      | 55°4'48.000"N  | 15°9'1.199"E   | Dánsko     | Bornholm, Nexø              | multiple    |
| 4VJ2    | 5ZE_1      | 46°29'40.690"N | 6°28'48.659"E  | Švýcarsko  | Vaud, Ženevské jezero       | x           |
| 5IT047  | 5IT047     | 40°21'7.200"N  | 18°19'51.600"E | Itálie     | Apulie, Le Cesine           | multiple+cw |
| 5CHK17  | 5CHK17     | 45°8'23.377"N  | 14°19'36.988"E | Chorvatsko | Cres, Kosmacev              | multiple    |
| A       | 3 II       | 78°40'51.090"N | 16°27'13.667"E | Norsko     | Svalbard                    | multiple    |
| A       | P7A        | 78°40'51.138"N | 16°27'16.035"E | Norsko     | Svalbard                    | multiple+cw |
| A       | u31        | 78°40'50.400"N | 16°27'30.700"E | Norsko     | Svalbard, Petuniabukta,     | multiple    |
| U       | 10-2 C     | 78°13'8.580"N  | 15°35'16.800   | Norsko     | Svalbard, Longyearbyen      | multiple+cw |
| 4BA3    | 4BA3       | 49°32'28.540"N | 15°53'57.826"E | Česko      | Žďár n. Sázavou, Babín      | multiple+cw |
| 5IE117  | 5IE1-1_6   | 53°27'1.700"N  | 9°32'38.400"W  | Irsko      | Galway, Ardderrynagleragh   | multiple    |



| Linie   | Kmen      | latituda       | longituda       | stát        | lokalita                      | PGLS        |
|---------|-----------|----------------|-----------------|-------------|-------------------------------|-------------|
| 5IE117  | 7PT23     | 41°48'30.060"N | 8°7'49.512"W    | Portugalsko | Braga, Água da Pala           | multiple    |
| 5IE117  | K422      | 47°13'42.240"N | 11°0'32.040"E   | Rakousko    | Tyrolsko, Kühtai              | multiple+cw |
| 4BO21   | 4BO26     | 55°4'35.227"N  | 15°9'4.712"E    | Dánsko      | Bornholm, Ny Sjølla           | multiple    |
| 4BO21   | 4BO21     | 55°4'35.227"N  | 15°9'4.712"E    | Dánsko      | Bornholm, Ny Sjølla           | multiple+cw |
| 5N1133  | 5N1-13_3  | 60°42'14.580"N | 8°15'47.592"E   | Norsko      | Viken, jezero Rødungen        | multiple+cw |
| 5IT046  | 5IT046    | 40°21'7.200"N  | 18°19'51.600"E  | Itálie      | Apulie, Le Cesine             | multiple+cw |
| 7PT12   | 7PT12     | 41°51'44.784"N | 7°26'49.128"W   | Španělsko   | Ourense, San Cibrao           | multiple+cw |
| KG5     | K2352     | 47°14'12.840"N | 11°0'54.000"E   | Rakousko    | Tyrolsko, Stamser Bach        | multiple    |
| 5IE111  | 5IE1-1_1  | 53°27'1.700"N  | 9°32'38.400"W   | Irsko       | Galway, Ardderrynagleragh     | multiple+cw |
| 5IE111  | K4        | 47°12'49.152"N | 11°1'29.026"E   | Rakousko    | Tyrolsko, Kühtai              | multiple    |
| CRYO104 | CRYO104   | 41°48'35.467"S | 146°53'12.221"E | Austrálie   | Tasmánie, Poatina             | multiple+cw |
| 14PLc   | 14PLc     | 50°11'22.898"N | 15°51'38.599"E  | Česko       | Hradec Králové, Na Plachtě    | multiple+cw |
| 14PLc   | PK26      | 50°11'17.322"N | 15°51'40.932"E  | Česko       | Hradec Králové, Na Plachtě    | multiple    |
| 4BO11   | 4BO13     | 55°4'35.227"N  | 15°9'4.712"E    | Dánsko      | Bornholm, Ny Sjølla           | multiple+cw |
| 4BO32   | 4BO36     | 55°4'35.227"N  | 15°9'4.712"E    | Dánsko      | Bornholm, Ny Sjølla           | multiple+cw |
| M1156   | 5N1-5_3   | 60°41'24.828"N | 8°2'55.932"E    | Norsko      | Viken, Urunda                 | x           |
| M1156   | 5N1-7_2   | 60°43'3.684"N  | 8°3'20.520"E    | Norsko      | Viken, Stolsvatnet            | x           |
| M1156   | K145      | 47°13'17.040"N | 11°1'26.400"E   | Rakousko    | Tyrolsko, Kühtai              | x           |
| M1156   | 5N1-5_1   | 60°41'24.828"N | 8°2'55.932"E    | Norsko      | Viken, Urunda                 | x           |
| 8FR31   | 8FR31     | 44°32'26.400"N | 0°39'14.800"W   | Francie     | Nová Akvitánie, Lagune du Cam | multiple+cw |
| 8FR31   | 8FR32     | 44°32'46.900"N | 0°39'52.500"W   | Francie     | Nová Akvitánie, Lagune du Cam | multiple    |
| 5IE13L1 | 5IE13L1   | 53°25'34.200"N | 9°32'56.800"W   | Irsko       | Galway, jezero Loughaunfree   | multiple+cw |
| KG3     | K153      | 47°13'20.280"N | 11°1'36.120"E   | Rakousko    | Tyrolsko, Kühtai              | multiple+cw |
| 4PLL3   | 4PLL8     | 50°11'23.032"N | 15°51'41.749"E  | Česko       | Hradec Králové, Na Plachtě    | multiple+cw |
| 4BOG1   | 4BOG1     | 55°5'51.421"N  | 15°5'1.849"E    | Dánsko      | Bornholm, Majdal Gåsemyr      | multiple+cw |
| N       | 15-2 C    | 78°12'28.442"N | 15°36'21.894"E  | Norsko      | Svalbard, Longyearbyen        | multiple+cw |
| 4ZK1    | 4ZK1      | 48°40'44.497"N | 14°42'31.626"E  | Česko       | Český Krumlov, Zlatá Ktiš     | multiple+cw |
| 5IT063  | 5IT063    | 40°20'56.400"N | 18°20'20.400"E  | Itálie      | Apulie, Le Cesine             | multiple+cw |
| 5IE434  | 5IE434    | 53°25'48.400"N | 9°25'43.100"W   | Irsko       | Galway, Derryerglinna         | multiple+cw |
| 4CEPLO3 | 4CEPLO3   | 48°55'4.361"N  | 14°52'57.774"E  | Česko       | Český Krumlov, Pískovna Cep   | multiple+cw |
| RS002   | 5IT105    | 40°20'12.242"N | 18°21'56.758"E  | Itálie      | Apulie, Le Cesine             | multiple+cw |
| RS002   | 5IT109    | 40°20'27.348"N | 18°21'20.232"E  | Itálie      | Apulie, Le Cesine             | multiple    |
| RS002   | 7R341     | 39°48'54.767"N | 21°4'46.333"E   | Řecko       | Epirus, jezero Aaos           | multiple+cw |
| 5N182   | 5N1-8_2   | 60°42'59.292"N | 8°5'59.712"E    | Norsko      | Viken, Stolsvatnet            | multiple+cw |
| 5IE4214 | 5IE4-2_11 | 53°25'51.100"N | 9°25'49.600"W   | Irsko       | Galway, Derryerglinna         | multiple+cw |
| 5IE234  | 5IE2-3_4  | 53°27'46.900"N | 9°48'3.400"W    | Irsko       | Galway, Derryclare Lough      | multiple+cw |
| 5IE234  | 5IE2-6_4  | 53°27'17.000"N | 9°57'24.000"W   | Irsko       | Galway, Roundstone Bog        | multiple    |
| G       | 5 III     | 78°41'21.000"N | 16°26'49.080"E  | Norsko      | Svalbard, Pyramiden           | multiple    |
| G       | Fo I      | 78°40'23.550"N | 16°39'44.158"E  | Norsko      | Svalbard, Fortet              | multiple+cw |
| G       | 7R62      | 45°10'29.928"N | 25°45'28.908"E  | Rumunsko    | Prahova, řeka Doftana         | multiple    |
| R       | Br2       | 78°37'59.664"N | 16°43'51.168"E  | Norsko      | Svalbard, Brucebyen           | x           |
| R       | Br5       | 78°37'59.664"N | 16°43'51.168"E  | Norsko      | Svalbard, Brucebyen           | x           |
| R       | 13 OTCN 4 | 78°41'42.513"N | 16°27'16.031"E  | Norsko      | Svalbard                      | x           |
| R       | Mo1       | 78°43'38.864"N | 16°21'58.759"E  | Norsko      | Svalbard, moréna Svenbreen    | x           |
| 5IT033  | 5IT034    | 40°28'19.200"N | 18°9'50.400"E   | Itálie      | Apulie, Bosco di Rauccio      | multiple+cw |

| Linie    | Kmen      | latituda       | longituda      | stát       | lokalita                        | PGLS        |
|----------|-----------|----------------|----------------|------------|---------------------------------|-------------|
| 5IE323   | 5IE3-4_1  | 52°57'47.800"N | 8°59'12.400"W  | Irsko      | Clare, jezero Loughgeorge       | multiple+cw |
| 7PT31    | 7PT32     | 41°54'53.604"N | 7°28'15.348"W  | Španělsko  | Ourense, O Rosal                | multiple+cw |
| 5IT017   | 5IT017    | 40°10'6.240"N  | 16°40'33.600"E | Itálie     | Matera, Policoro                | multiple    |
| 5IT081   | 5IT081    | 40°21'0.493"N  | 18°20'46.997"E | Itálie     | Apulie, Le Cesine               | multiple+cw |
| 5N2123   | 5N2123    | 60°42'56.686"N | 8°13'48.295"E  | Norsko     | Viken, jezero Rødungen          | multiple+cw |
| 4KL2     | 5IE4-6_4  | 53°27'59.900"N | 9°32'46.700"W  | Irsko      | Galway, Derryerglinna           | multiple    |
| 4KL2     | 7SV52     | 63°24'19.390"N | 13°10'10.564"E | Švédsko    | Jämtland, Åre                   | multiple    |
| 4KL2     | 4KL2      | 50°34'40.386"N | 14°39'46.771"E | Česko      | Česká Lípa, Klůček              | multiple+cw |
| 4BA2     | 4BA8      | 49°32'28.540"N | 15°53'57.826"E | Česko      | Žďár n. Sázavou, Babín          | multiple+cw |
| 7SV08    | 7SV71     | 63°26'42.270"N | 12°44'22.225"E | Švédsko    | Jämtland, Tännforsen            | multiple+cw |
| 5IE414   | 5IE414    | 53°25'54.900"N | 9°25'49.700"W  | Irsko      | Galway, Derryerglinna           | multiple+cw |
| 4CHVA4   | 4CHVA4    | 49°24'24.278"N | 15°25'9.552"E  | Česko      | Jihlava, Chvojno                | multiple+cw |
| J        | M5 D      | 78°33'11.916"N | 16°44'20.004"E | Norsko     | Svalbard, Mathiesondalen        | x           |
| J        | 4PI1A6    | 49°10'25.680"N | 14°42'23.640"E | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep     | x           |
| J        | J         | 78°37'59.664"N | 16°43'51.168"E | Norsko     | Svalbard, Brucebyen             | x           |
| SAG2419  | SAG2419   | 47°28'15.200"N | 12°33'50.800"E | Rakousko   | Tyrolsko, Fieberbrunn           | multiple    |
| SAG6981a | SAG6981a  | NA             | NA             | NA         | NA                              | x           |
| SAG6981a | 6FR2-2_2  | 42°54'18.432"N | 0°12'53.496"W  | Francie    | Aveyron, Gave d'Estaing         | x           |
| RS004    | 4PCA2     | 48°55'6.480"N  | 14°53'2.460"E  | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep     | multiple+cw |
| 4PC2M6   | 4PC2M6    | 48°55'5.264"N  | 14°52'56.078"E | Česko      | Český Krumlov, Pískovna Cep     | multiple+cw |
| P        | Pyr5 A    | 78°39'57.600"N | 16°25'37.998"E | Norsko     | Svalbard, Pyramiden             | multiple+cw |
| P        | Pyr5 B    | 78°39'57.600"N | 16°25'37.998"E | Norsko     | Svalbard, Pyramiden             | multiple    |
| 5CHK14   | 5CHK14    | 45°8'23.377"N  | 14°19'36.988"E | Chorvatsko | Cres, Kosmacev                  | multiple+cw |
| CRYO107  | CC 107    | 69°13'21.940"N | 51°4'31.490"W  | Dánsko     | Grónsko, Ilulissat (Jakobshavn) | multiple+cw |
| 5IT107   | 5MR1      | 50°1'34.244"N  | 14°32'40.668"E | Česko      | Praha, rybník Homolka           | multiple    |
| 5IT107   | 5IT107    | 40°20'27.348"N | 18°21'20.232"E | Itálie     | Apulie, Le Cesine               | multiple+cw |
| 7HA1     | 7HA2      | 50°1'32.096"N  | 14°32'7.650"E  | Česko      | Praha, rybník Křtiny            | multiple+cw |
| 4BO71    | 4BO71     | 55°4'31.321"N  | 15°9'0.119"E   | Dánsko     | Bornholm, Nexø                  | multiple+cw |
| 4BO71    | 5IE1-3I_3 | 53°25'34.200"N | 9°32'56.800"W  | Irsko      | Galway, jezero Loughaunfree     | multiple    |
| V        | 11d       | 78°13'9.180"N  | 15°35'5.280"E  | Norsko     | Svalbard, Longyearbyen          | x           |
| V        | 11i       | 78°13'9.180"N  | 15°35'5.280"E  | Norsko     | Svalbard, Longyearbyen          | x           |
| V        | K4310     | 47°14'12.840"N | 11°0'54.000"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Stamser Bach          | x           |
| V        | K459      | 47°13'20.280"N | 11°1'41.880"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Kühtai                | x           |
| O        | Co1 C     | 78°7'34.051"N  | 15°0'2.721"E   | Norsko     | Svalbard, Colesdalen            | multiple    |
| O        | Co1 D     | 78°7'34.051"N  | 15°0'2.721"E   | Norsko     | Svalbard, Colesdalen            | multiple+cw |
| O        | 15-8 D    | 78°13'4.260"N, | 15°19'39.840"E | Norsko     | Svalbard, Björndalen            | multiple    |
| 7FI1     | 7FI1      | 68°50'54.661"N | 28°19'15.521"E | Finsko     | Laponsko, Nellim                | multiple+cw |
| M        | M2 C      | 78°33'11.916"N | 16°44'20.004"E | Norsko     | Svalbard, Mathiesondalen        | x           |
| M        | K5        | 47°12'49.152"N | 11°1'29.026"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Kühtai                | multiple+cw |
| M        | K7        | 47°12'49.152"N | 11°1'29.026"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Kühtai                | multiple    |
| M        | 4CHVB2    | 49°24'24.818"N | 15°25'8.368"E  | Česko      | Jihlava, Chvojno                | multiple+cw |
| M        | K152      | 47°13'20.280"N | 11°1'36.120"E  | Rakousko   | Tyrolsko, Kühtai                | multiple    |
| B        | K         | 78°31'4.865"N  | 15°59'57.293"E | Norsko     | Svalbard, Skansbukta            | multiple    |
| B        | 179-4     | 78°39'24.869"N | 16°20'41.021"E | Norsko     | Svalbard,Pyramiden              | multiple    |
| B        | B         | 78°40'50.520"N | 16°27'29.220"E | Norsko     | Svalbard,Pyramiden              | multiple    |

| Linie    | Kmen      | latituda      | longituda      | stát             | lokalita            | PGLS        |
|----------|-----------|---------------|----------------|------------------|---------------------|-------------|
| B        | VMS I     | 78°42'6.600"N | 16°27'38.400"E | Norsko           | Svalbard,Pyramiden  | multiple+cw |
| CCALA880 | CCALA 880 | 64°9'39.539"S | 57°44'2.112"W  | BAT (Antarktida) | Ostrov Jamese Rosse | multiple    |
| CCALA880 | CC 906    | 62°1'34.162"S | 58°28'34.401"W | BAT (Antarktida) | Ostrov Krále Jiřího | multiple    |
| CCALA880 | MB1       | 64°9'39.539"S | 57°44'2.112"W  | BAT (Antarktida) | Ostrov Jamese Rosse | multiple+cw |

## Souhrn měření šířky buněk.

**Příloha 2:** Souhrnná tabulka měření šířky buněk pro 83 kmenů, CV = koeficient variability (měření šířky buněk), kmeny označené \* jsou vyloučené z rekonstrukce fylogeneze šířky buněk (na základě variability ve velikosti genomu vyšší než XX), u kmenů označených \*\*CV přesahovalo 15 %. a ze všech následných analýz jsou vyloučené také

| Linie   | Kmen       | šířka buněk<br>průměr (μm) | šířka buněk<br>medián (μm) | CV (%) | maximum<br>(μm) | minimum<br>(μm) |
|---------|------------|----------------------------|----------------------------|--------|-----------------|-----------------|
| UTEX42  | SAG 698-1b | 22.97                      | 23.12                      | 4.30   | 23.61           | 18.92           |
| 4PC2M7  | 14PC2M     | 19.02                      | 18.70                      | 7.54   | 24.37           | 17.27           |
| S       | 4BON1      | 24.04                      | 24.27                      | 3.76   | 26.31           | 22.05           |
| S       | 5N2-13_6   | 23.75                      | 23.57                      | 8.09   | 30.2            | 19.71           |
| S       | 5IT019     | 23.35                      | 23.18                      | 4.34   | 26.55           | 21.19           |
| S       | 14PLa      | 24.23                      | 24.34                      | 7.05   | 27.06           | 20.89           |
| S       | P4C *      | 31.29                      | 31.40                      | 4.09   | 33.62           | 27.28           |
| S       | 4 g *      | 26.38                      | 26.68                      | 9.03   | 33.68           | 22.24           |
| 5CHO1   | K122       | 25.02                      | 24.91                      | 7.25   | 28.61           | 20.85           |
| SAG2418 | 5IE5-1_4   | 23.23                      | 23.18                      | 4.69   | 25.48           | 21.09           |
| 4PCB2   | 4PCB2      | 22.60                      | 22.51                      | 5.16   | 25.64           | 20.21           |
| 4VJ2    | 4VJ2 *     | 21.05                      | 21.06                      | 5.70   | 24.78           | 17.98           |
| 4VJ2    | 5IT012     | 20.04                      | 19.81                      | 11.34  | 25.75           | 15.93           |
| 4VJ2    | 5IT1012    | 19.49                      | 19.27                      | 6.18   | 22.88           | 17.84           |
| 4VJ2    | 4MJ1       | 20.22                      | 20.31                      | 8.45   | 24.2            | 16.29           |
| 5IT047  | 5IT047     | 20.36                      | 20.33                      | 9.63   | 23.87           | 14.77           |
| 5CHK17  | 5CHK17 **  | 24.03                      | 24.45                      | 17.51  | 33.72           | 14.67           |
| A       | P7A        | 20.50                      | 20.32                      | 9.07   | 25.74           | 17.55           |
| U       | 10-2 C     | 27.49                      | 27.13                      | 7.13   | 34.74           | 25.29           |
| 4BA3    | 4BA3       | 22.99                      | 23.26                      | 6.65   | 25.31           | 19.12           |
| 5IE117  | K422       | 27.53                      | 28.23                      | 9.57   | 31.45           | 22.92           |
| 4BO21   | 4BO21      | 18.21                      | 18.25                      | 3.89   | 19.96           | 16.86           |
| 5N1133  | 5N1-13_3   | 21.94                      | 21.88                      | 5.95   | 25.64           | 18.38           |
| 5IT046  | 5IT046     | 23.58                      | 23.33                      | 11.40  | 29.57           | 18.94           |
| 7PT12   | 7PT12      | 20.57                      | 20.45                      | 4.08   | 22.73           | 18.2            |
| 5IE111  | 5IE1-1_1   | 17.91                      | 17.68                      | 7.59   | 21.08           | 15.14           |
| CRYO104 | CRYO104    | 30.33                      | 30.29                      | 3.54   | 32.42           | 28.1            |
| 14PLc   | 14PLc      | 31.61                      | 30.99                      | 9.46   | 41.57           | 26.27           |
| 4BO11   | 4BO13      | 25.38                      | 25.23                      | 9.21   | 30.94           | 21.57           |
| 4BO32   | 4BO36      | 20.10                      | 19.62                      | 9.70   | 25.83           | 15.87           |

| Linie    | Kmen       | šířka buněk<br>průměr (μm) | šířka buněk<br>medián (μm) | CV (%) | maximum<br>(μm) | minimum<br>(μm) |
|----------|------------|----------------------------|----------------------------|--------|-----------------|-----------------|
| M1156    | 5N1-5_3*   | 17.53                      | 17.64                      | 3.49   | 18.81           | 16.33           |
| M1156    | K145*      | 23.01                      | 23.14                      | 7.79   | 26.06           | 20.03           |
| M1156    | 5N1-5_1*   | 19.33                      | 19.47                      | 5.96   | 21.98           | 15.17           |
| 8FR31    | 8FR31      | 33.02                      | 33.60                      | 11.20  | 42.33           | 25.45           |
| 5IE13L1  | 5IE13L1    | 26.88                      | 26.97                      | 3.63   | 28.73           | 24.73           |
| KG3      | K153       | 26.29                      | 27.31                      | 10.50  | 30.38           | 20.53           |
| 4PLL3    | 4PLL8      | 29.10                      | 28.54                      | 7.03   | 33.39           | 25.5            |
| 4BOG1    | 4BOG1      | 21.09                      | 20.36                      | 13.11  | 29.78           | 17.02           |
| N        | 15-2 C     | 24.35                      | 24.09                      | 5.98   | 28.15           | 21.85           |
| 4ZK1     | 4ZK1       | 19.53                      | 19.43                      | 7.19   | 22.5            | 17.09           |
| 5IT063   | 5IT063     | 22.45                      | 22.70                      | 11.18  | 28.61           | 16.22           |
| 5IE434   | 5IE434     | 15.90                      | 15.09                      | 12.78  | 22.67           | 13.21           |
| 4CEPLO3  | 4CEPLO3    | 20.47                      | 20.74                      | 6.35   | 22.63           | 17.01           |
| RS002    | 5IT109     | 35.92                      | 36.20                      | 6.74   | 41.36           | 29.9            |
| RS002    | 7R341      | 37.84                      | 38.09                      | 9.46   | 44.98           | 30.06           |
| 5N182    | 5N1-8_2    | 25.95                      | 25.83                      | 7.56   | 29.75           | 21.99           |
| 5IE4214  | 5IE4-2_11  | 19.92                      | 19.72                      | 8.68   | 25.12           | 16.82           |
| 5IE234   | 5IE2-3_4   | 28.21                      | 28.47                      | 6.33   | 31.84           | 24.53           |
| G        | Fo I       | 18.19                      | 18.47                      | 6.97   | 20.94           | 15.96           |
| R        | Br2 *      | 21.25                      | 21.25                      | 7.87   | 24.93           | 16.91           |
| R        | Br5 *      | 29.62                      | 29.89                      | 4.78   | 32.78           | 26.65           |
| 5IT033   | 5IT034     | 18.35                      | 18.00                      | 8.98   | 23.07           | 15.98           |
| 5IE323   | 5IE3-4_1   | 19.22                      | 19.17                      | 7.21   | 22.63           | 15.27           |
| 7PT31    | 7PT32      | 16.22                      | 16.27                      | 6.64   | 19.23           | 14.05           |
| 5IT017   | 5IT017 **  | 19.82                      | 19.22                      | 16.95  | 27.69           | 14.55           |
| 5IT081   | 5IT081     | 18.08                      | 18.04                      | 5.55   | 20.65           | 15.98           |
| 5N2123   | 5N2123     | 14.91                      | 14.92                      | 6.70   | 17.86           | 13.44           |
| 4KL2     | 4KL2       | 18.64                      | 18.31                      | 8.61   | 23.3            | 16.31           |
| 4BA2     | 4BA8       | 18.38                      | 18.54                      | 6.22   | 20.8            | 16.01           |
| 7SV08    | 7SV71      | 22.75                      | 22.24                      | 10.56  | 28.31           | 17.6            |
| 5IE414   | 5IE414     | 20.65                      | 20.59                      | 8.53   | 24.85           | 13.39           |
| 4CHVA4   | 4CHVA4     | 26.18                      | 27.02                      | 9.40   | 29.27           | 18.68           |
| J        | M5 D *     | 22.64                      | 22.70                      | 5.28   | 24.9            | 19.65           |
| J        | J *        | 37.86                      | 37.80                      | 4.89   | 44.01           | 34.76           |
| SAG6981a | SAG6981a * | 28.74                      | 28.37                      | 9.14   | 34.88           | 24              |
| SAG6981a | 6FR2-2_2 * | 25.45                      | 24.87                      | 8.09   | 30              | 21.27           |
| RS004    | 4PCA2      | 29.65                      | 29.66                      | 4.13   | 32              | 27.21           |
| 4PC2M6   | 4PC2M6     | 27.02                      | 26.83                      | 5.75   | 30              | 23.06           |
| P        | Pyr5 B     | 22.82                      | 22.89                      | 8.03   | 29.66           | 18.29           |
| 5CHK14   | 5CHK14     | 21.94                      | 21.78                      | 6.24   | 25.37           | 19.03           |
| CRYO107  | CC 107     | 30.67                      | 30.42                      | 5.34   | 34.38           | 27.81           |
| 5IT107   | 5IT107     | 29.76                      | 29.34                      | 7.38   | 35.22           | 24.7            |

| Linie    | Kmen    | šířka buněk<br>průměr (μm) | šířka buněk<br>medián (μm) | CV (%) | maximum<br>(μm) | minimum<br>(μm) |
|----------|---------|----------------------------|----------------------------|--------|-----------------|-----------------|
| 7HA1     | 7HA2    | 29.04                      | 29.20                      | 6.55   | 32.88           | 23.38           |
| 4BO71    | 4BO71   | 24.58                      | 24.50                      | 5.49   | 27.98           | 22.3            |
| V        | 11d *   | 28.31                      | 28.38                      | 8.33   | 34.3            | 23.79           |
| V        | K4310 * | 23.39                      | 23.28                      | 5.61   | 27.43           | 20.78           |
| O        | Co1 D   | 24.86                      | 24.54                      | 9.70   | 30.32           | 20.22           |
| 7FI1     | 7FI1    | 26.44                      | 25.55                      | 9.90   | 34.38           | 22.54           |
| M        | M2 C    | 22.61                      | 22.78                      | 6.81   | 26.32           | 19.33           |
| M        | 4CHVB2  | 24.46                      | 24.44                      | 5.09   | 28.09           | 22.5            |
| M        | K5      | 22.69                      | 22.81                      | 9.46   | 28.42           | 18.21           |
| B        | B       | 33.59                      | 33.34                      | 6.36   | 38.83           | 28.34           |
| CCALA880 | MB1     | 22.30                      | 22.26                      | 12.42  | 27.98           | 17.95           |

## Jednotlivá měření velikosti genomu

**Příloha 3:** Souhrnná tabulka jednotlivých měření velikosti genomu 129 kmenů. Uvedená CV označují CV vzorků, nikoliv standardů. V případě, že bylo provedeno více než 3 měření pro kmen, jsou další měření uvedena v rozdělených řádcích pod prvními třemi údaji o měření. Standardy jsou uvedeny pomocí zkratk, kdy *C. a.* = *Carex acutiformis*, *B. p.* = *Bellis perennis*, *S. p.* = *Solanum pseudocapsicum*, *Z. m.* = *Zea mays*. V sloupci PGLS: x=použito pouze do obecných korelací nezahrnujících vliv fylogeneze, cw = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testujícího vztah velikosti genomu a šířky buněk, multiple = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testující ekogeografické proměnné.

| Linie   | Kmen       | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard     | PGLS        |
|---------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|--------------|-------------|
| UTEX42  | SAG 698-1b | 0.22      | 3.54      |           |           |           |           | 0.22    | -     | 3.54        | <i>C. a.</i> | cw          |
| 4PC2M7  | 4PC2M7     | 0.25      | 6.96      | 0.25      | 5.05      | 0.24      | 4.98      | 0.24    | 0.015 | 6.49        | <i>C. a.</i> | multiple    |
|         |            | 0.22      | 8.98      |           |           |           |           |         |       |             |              |             |
| 4PC2M7  | 14PC2M     | 0.23      | 5.38      | 0.23      | 7.72      | 0.24      | 5.56      | 0.24    | 0.006 | 6.22        | <i>C. a.</i> | multiple+cw |
| S       | 8PO12      | 3.31      | 4.65      | 3.22      | 3.73      | 3.42      | 4.73      | 3.32    | 0.102 | 4.37        | <i>S. p.</i> | x           |
| S       | 4BO58      | 2.14      | 5.66      | 2.13      | 4.58      | 2.17      | 7.6       | 2.15    | 0.021 | 5.95        | <i>B. p.</i> | multiple    |
| S       | 4BON1      | 2.14      | 4.78      | 2.10      | 6.58      | 2.09      | 5.52      | 2.11    | 0.025 | 5.63        | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| S       | 5N2-13_6   | 2.06      | 6.19      | 1.97      | 7.71      | 1.99      | 6.54      | 2.01    | 0.049 | 6.81        | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| S       | 5IT019     | 2.21      | 9.68      | 2.14      | 8.83      | 2.26      | 5.21      | 2.21    | 0.060 | 7.91        | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| S       | 14PLa      | 2.12      | 9.44      | 2.12      | 6.84      |           |           | 2.12    | 0.003 | 8.14        | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| S       | 4 g (461g) | 4.31      | 5.83      | 4.29      | 8.31      | 4.30      | 6.1       | 4.30    | 0.011 | 6.75        | <i>B. p.</i> | x           |
| S       | 4 h        | 4.63      | 6.5       | 4.42      | 8.22      | 4.34      | 5.64      | 4.49    | 0.136 | 6.04        | <i>B. p.</i> | x           |
|         |            | 4.59      | 3.78      |           |           |           |           |         |       |             |              |             |
| S       | P4C        | 4.37      | 9.5       | 4.04      | 2.96      | 4.06      | 4.66      | 4.15    | 0.188 | 5.71        | <i>B. p.</i> | x           |
| 5CHO1   | Os1        | 2.40      | 4.68      | 2.44      | 6.42      | 2.46      | 6.42      | 2.43    | 0.027 | 5.84        | <i>B. p.</i> | multiple    |
| 5CHO1   | Os2        | 2.49      | 4.3       | 2.50      | 8.92      | 2.39      | 5.85      | 2.39    | 0.102 | 5.76        | <i>B. p.</i> | multiple    |
|         |            | 2.27      | 4.09      | 2.32      | 5.64      |           |           |         |       |             |              |             |
| 5CHO1   | K122       | 2.37      | 8.8       | 2.31      | 3.35      | 2.27      | 6.24      | 2.32    | 0.047 | 6.13        | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 5CHO1   | K2320      | 1.99      | 3.86      | 2.00      | 2.75      | 1.99      | 5.85      | 1.99    | 0.006 | 4.15        | <i>B. p.</i> | multiple    |
| 5CHO1   | K2331      | 2.15      | 6.34      | 2.25      | 6.67      | 2.17      | 7.97      | 2.19    | 0.051 | 6.99        | <i>B. p.</i> | multiple    |
| SAG2418 | SAG 2418   | 2.47      | 4.62      | 2.48      | 3.85      | 2.46      | 3.53      | 2.47    | 0.010 | 4.00        | <i>B. p.</i> | multiple    |

| Linie   | Kmen     | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard | PGLS        |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|----------|-------------|
| SAG2418 | 5IE5-1_4 | 2.37      | 5.43      | 2.36      | 3.38      | 2.31      | 5.82      | 2.35    | 0.031 | 4.88        | B. p.    | multiple+cw |
| SAG2418 | 5IE1-1_4 | 1.15      | 7.65      | 1.05      | 4.72      | 1.06      | 5.59      | 1.10    | 0.047 | 5.42        | C. a.    | x           |
|         |          | 1.07      | 4.92      | 1.02      | 4.24      |           |           |         |       |             |          |             |
| 4PCB2   | 4PCB2    | 2.48      | 2.51      | 2.53      | 4.46      | 2.63      | 6.18      | 2.51    | 0.102 | 4.33        | C. a.    | multiple+cw |
|         |          | 2.39      | 4.15      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4VJ2    | 4VJ2     | 1.83      | 3.98      | 1.79      | 4.47      | 1.80      | 3.19      | 1.81    | 0.018 | 3.88        | B. p.    | x           |
| 4VJ2    | 5IT012   | 0.79      | 6.38      | 0.82      | 6.74      | 0.85      | 6.26      | 0.82    | 0.028 | 6.46        | B. p.    | multiple+cw |
| 4VJ2    | 5IT1012  | 0.82      | 3.4       | 0.84      | 8.59      |           |           | 0.83    | 0.011 | 6.00        | B. p.    | multiple+cw |
| 4VJ2    | 4MJ1     | 0.90      | 11.8      | 0.94      | 6.4       | 0.97      | 6.37      | 0.95    | 0.034 | 7.83        | B. p.    | multiple+cw |
|         |          | 0.98      | 6.77      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4VJ2    | 4BO53    | 0.94      | 7.79      | 0.92      | 11.1      | 0.94      | 4.52      | 0.93    | 0.012 | 7.80        | B. p.    | multiple    |
| 4VJ2    | 5ZE_1    | 1.72      | 7.31      | 1.74      | 6.61      | 1.69      | 7.51      | 1.72    | 0.023 | 7.14        | B. p.    | x           |
| 5IT047  | 5IT047   | 1.29      | 5.37      | 1.29      | 5.33      | 1.34      | 4.95      | 1.31    | 0.027 | 5.22        | S. p.    | multiple+cw |
| 5CHK17  | 5CHK17   | 1.39      | 4.97      | 1.38      | 6.98      | 1.46      | 3.51      | 1.41    | 0.043 | 5.15        | B. p.    | multiple    |
| A       | P7A      | 3.08      | 3.67      | 3.08      | 3.67      | 3.01      | 4.12      | 3.06    | 0.038 | 3.82        | C. a.    | multiple    |
| A       | 3 II     | 3.34      | 5.53      | 3.42      | 7.48      | 3.31      | 5.81      | 3.36    | 0.059 | 6.27        | S. p.    | multiple+cw |
| A       | u31      | 3.74      | 6.8       | 3.74      | NA        | 3.71      | NA        | 3.73    | 0.016 | 6.80        | Z. m     | multiple    |
| U       | 10-2 C   | 1.57      | 3.35      | 1.56      | 3.10      | 1.54      | 6.60      | 1.56    | 0.014 | 4.35        | B. p.    | multiple+cw |
| 4BA3    | 4BA3     | 2.04      | 3.93      | 2.08      | 4.69      | 2.00      | 3.95      | 2.04    | 0.044 | 4.19        | B. p.    | multiple+cw |
| 5IE117  | 5IE1-1_6 | 1.13      | 9.62      | 1.13      | 9.62      | 1.13      | 3.53      | 1.13    | 0.003 | 7.59        | B. p.    | multiple    |
| 5IE117  | 7PT23    | 1.02      | 4.67      | 1.06      | 4.11      | 1.01      | 6.36      | 1.04    | 0.030 | 5.32        | S. p.    | multiple    |
|         |          | 1.08      | 6.14      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 5IE117  | K422     | 1.10      | 6.14      | 1.08      | 4.69      | 1.06      | 4.27      | 1.08    | 0.021 | 5.03        | B. p.    | multiple+cw |
| 4BO21   | 4BO26    | 1.22      | 4.98      | 1.25      | 3         | 1.30      | 6.16      | 1.27    | 0.049 | 4.78        | B. p.    | multiple    |
|         |          | 1.32      | 4.96      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4BO21   | 4BO21    | 1.29      | 4.12      | 1.28      | 4.12      | 1.30      | 6.42      | 1.29    | 0.007 | 4.89        | S. p.    | multiple+cw |
| 5N1133  | 5N1-13_3 | 2.42      | 3.66      | 2.43      | 4.98      | 2.50      | 5.42      | 2.45    | 0.042 | 4.69        | B. p.    | multiple+cw |
| 5IT046  | 5IT046   | 2.62      | 4.52      | 2.72      | 4.46      | 2.70      | 5.44      | 2.68    | 0.053 | 4.81        | C. a.    | multiple+cw |

| Linie   | Kmen     | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg)     | SD    | CV (%) prům | Standard     | PGLS        |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------|-------------|--------------|-------------|
| 7PT12   | 7PT12    | 1.56      | 6.27      | 1.61      | 9.08      | 1.63      | 5.05      | <b>1.60</b> | 0.033 | <b>6.80</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| KG5     | K2352    | 1.64      | 4.49      | 1.51      | 6.55      | 1.59      | 5.58      | <b>1.55</b> | 0.076 | <b>5.90</b> | <i>B. p.</i> | multiple    |
|         |          | 1.47      | 6.98      |           |           |           |           |             |       |             |              |             |
| 5IE111  | 5IE1-1_1 | 0.56      | 4.83      | 0.55      | 6.73      | 0.57      | 4.62      | <b>0.56</b> | 0.013 | <b>5.39</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 5IE111  | K4       | 0.59      | 6.65      | 0.59      | 4.48      | 0.51      | 2.24      | <b>0.55</b> | 0.042 | <b>4.56</b> | <i>C. a.</i> | multiple    |
|         |          | 0.52      | 4.88      |           |           |           |           |             |       |             |              |             |
| CRYO104 | CRYO104  | 2.81      | 4.56      | 2.86      | 4.41      | 2.90      | 4.6       | <b>2.86</b> | 0.046 | <b>4.52</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 14PLc   | 14PLc    | 3.12      | 2.98      | 3.12      | 4.44      | 3.15      | 3.72      | <b>3.13</b> | 0.014 | <b>3.71</b> | <i>S. p.</i> | multiple+cw |
| 14PLc   | PK26     | 3.41      | 7.47      | 3.41      | 5.64      | 3.32      | 4.95      | <b>3.38</b> | 0.052 | <b>6.02</b> | <i>S. p.</i> | multiple    |
| 4BO11   | 4BO13    | 1.58      | 6.22      | 1.59      | 6.75      | 1.65      | 4.42      | <b>1.61</b> | 0.038 | <b>5.80</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 4BO32   | 4BO36    | 1.60      | 7.72      | 1.63      | 6.39      | 1.57      | 6.62      | <b>1.62</b> | 0.034 | <b>6.91</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| M1156   | 5N1-5_3  | 1.76      | 4.93      | 1.75      | 4.38      | 1.83      | 4.56      | <b>1.78</b> | 0.045 | <b>4.62</b> | <i>B. p.</i> | x           |
| M1156   | 5N1-7_2  | 0.43      | 1.65      | 0.42      | 8.09      | 0.41      | 4.72      | <b>0.42</b> | 0.013 | <b>4.82</b> | <i>C. a.</i> | x           |
| M1156   | K145     | 3.27      | 4.56      | 3.31      | 3.9       | 3.27      | 4.64      | <b>3.28</b> | 0.024 | <b>4.37</b> | <i>S. p.</i> | x           |
| M1156   | 5N1-5_1  | 3.12      | 5.04      | 3.10      | 5.34      | 3.10      | 5.82      | <b>3.11</b> | 0.009 | <b>5.40</b> | <i>S. p.</i> | x           |
| 8FR31   | 8FR31    | 1.69      | 4.66      | 1.62      | 2.98      |           |           | <b>1.65</b> | 0.059 | <b>3.82</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 8FR31   | 8FR32    | 1.67      | 5.38      | 1.56      | 7.65      | 1.64      | 9.68      | <b>1.62</b> | 0.056 | <b>7.57</b> | <i>B. p.</i> | multiple    |
| 5IE13L1 | 5IE13L1  | 2.27      | 4.55      | 2.19      | 3.39      | 2.22      | 4.66      | <b>2.23</b> | 0.043 | <b>4.20</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| KG3     | K153     | 1.67      | 4.67      | 1.69      | 3.73      | 1.66      | 3.87      | <b>1.67</b> | 0.016 | <b>4.09</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 4PLL3   | 4PLL8    | 3.50      | 3.77      | 3.61      | 3.1       | 3.45      | 4.21      | <b>3.52</b> | 0.080 | <b>3.69</b> | <i>S. p.</i> | multiple+cw |
| 4BOG1   | 4BOG1    | 3.04      | 4.85      | 2.97      | 3.95      | 3.22      | 3.84      | <b>3.01</b> | 0.178 | <b>4.78</b> | <i>S. p.</i> | multiple+cw |
|         |          | 2.79      | 6.47      |           |           |           |           |             |       |             |              |             |
| N       | 15-2 C   | 2.10      | 6.24      | 2.17      | 5.12      | 2.10      | 6.78      | <b>2.12</b> | 0.041 | <b>6.05</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
| 4ZK1    | 4ZK1     | 1.11      | 3.66      | 1.10      | 4.87      | 0.97      | 6.45      | <b>1.04</b> | 0.062 | <b>5.79</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
|         |          | 1.03      | 7.9       | 1.00      | 6.07      |           |           |             |       |             |              |             |
| 5IT063  | 5IT063   | 1.05      | 8.1       | 1.07      | 4.23      | 0.99      | 4.52      | <b>1.03</b> | 0.034 | <b>5.99</b> | <i>B. p.</i> | multiple+cw |
|         |          | 1.02      | 7.1       |           |           |           |           |             |       |             |              |             |
| 5IE434  | 5IE434   | 0.78      | 5.46      | 0.80      | 5.34      | 0.79      | 5.04      | <b>0.79</b> | 0.012 | <b>5.33</b> | <i>S. p.</i> | multiple+cw |



| Linie   | Kmen      | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard | PGLS        |
|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|----------|-------------|
|         |           | 0.80      | 5.46      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4CEPLO3 | 4CEPLO3   | 0.76      | 4.96      | 0.77      | 5.4       | 0.74      | 6.08      | 0.76    | 0.019 | 5.48        | S. p.    | multiple+cw |
| RS002   | 5IT105    | 2.93      | 3.63      | 2.94      | 3.68      | 2.95      | 4.14      | 2.94    | 0.010 | 3.82        | C. a.    | multiple+cw |
| RS002   | 5IT109    | 3.20      | 4.21      | 3.18      | 4.78      | 3.20      | 5         | 3.19    | 0.013 | 4.66        | S. p.    | multiple    |
| RS002   | 7R341     | 5.51      | 5.32      | 5.33      | 5.51      | 5.33      | 6.48      | 2.15    | 0.176 | 5.58        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 5.08      | 5.02      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 5N182   | 5N1-8_2   | 0.97      | 7.95      | 0.99      | 5.81      | 1.00      | 5.43      | 1.00    | 0.039 | 5.90        | S. p.    | multiple+cw |
|         |           | 1.06      | 4.4       |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 5IE4214 | 5IE4-2_11 | 1.01      | 5.53      | 1.01      | 6.96      | 1.00      | 6.27      | 1.00    | 0.011 | 6.22        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 0.99      | 5.53      | 0.98      | 6.81      |           |           |         |       |             |          |             |
| 5IE234  | 5IE2-3_4  | 1.44      | 5.35      | 1.44      | 5.63      | 1.43      | 5.35      | 1.43    | 0.005 | 5.44        | B. p.    | multiple+cw |
| 5IE234  | 5IE2-6_4  | 1.39      | 5.18      | 1.38      | 8.07      | 1.41      | 5.73      | 1.39    | 0.017 | 6.33        | B. p.    | multiple    |
| G       | 5 III     | 1.08      | 6.08      | 1.14      | 9.57      | 1.10      | 4.5       | 1.11    | 0.034 | 6.72        | B. p.    | multiple    |
| G       | Fo I      | 1.15      | 4.65      | 1.15      | 5.7       | 1.17      | 6.66      | 1.20    | 0.068 | 5.13        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 1.25      | 3.12      | 1.30      | 5.51      |           |           |         |       |             |          |             |
| G       | 7R62      | 1.34      | 4.69      | 1.34      | 3.43      | 1.19      | 4.31      | 1.27    | 0.083 | 4.53        | S. p.    | multiple    |
|         |           | 1.21      | 5.7       |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| R       | Br2       | 2.90      | 5.4       | 3.17      | 5.78      | 2.70      | 5.06      | 2.97    | 0.186 | 4.94        | S. p.    | x           |
|         |           | 2.97      | 3.67      | 3.11      | 4.8       |           |           |         |       |             |          |             |
| R       | Br5       | 1.46      | 7.74      | 1.53      | 6.08      | 1.45      | 9.75      | 1.45    | 0.070 | 7.14        | S. p.    | x           |
|         |           | 1.36      | 4.98      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| R       | 13 OTCN 4 | 1.77      | 9.27      | 1.73      | 8.42      | 1.71      | 5.26      | 1.74    | 0.030 | 7.65        | B. p.    | x           |
| R       | Mo1       | 2.16      | 4.63      | 2.24      | 4.32      | 2.14      | 3.68      | 2.18    | 0.053 | 4.21        | B. p.    | x           |
| 5IT033  | 5IT034    | 1.43      | 4.76      | 1.36      | 6.28      | 1.35      | 4.9       | 1.42    | 0.066 | 5.14        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 1.47      | 4.61      | 1.50      | 5.16      |           |           |         |       |             |          |             |
| 5IE323  | 5IE3-4_1  | 1.46      | 5.54      | 1.51      | 5.06      | 1.44      | 6.3       | 1.47    | 0.037 | 5.63        | B. p.    | multiple+cw |
| 7PT31   | 7PT32     | 1.07      | 5.6       | 1.10      | 4.23      | 1.09      | 3.48      | 1.09    | 0.020 | 4.44        | B. p.    | multiple+cw |
| 5IT017  | 5IT017    | 0.43      | 7.12      | 0.41      | 5.47      | 0.42      | 8.41      | 0.42    | 0.009 | 7.00        | B. p.    | multiple    |

| Linie    | Kmen     | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard | PGLS        |
|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|----------|-------------|
| 5IT081   | 5IT081   | 1.24      | 5.2       | 1.20      | 6.3       | 1.19      | 8.62      | 1.21    | 0.027 | 6.71        | B. p.    | multiple+cw |
| 5N2123   | 5N2123   | 0.83      | 5.28      | 0.79      | 4.68      | 0.84      | 4.36      | 0.80    | 0.045 | 5.22        | B. p.    | multiple+cw |
|          |          | 0.74      | 6.57      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4KL2     | 5IE4-6_4 | 0.60      | 5.98      | 0.59      | 5.96      | 0.61      | 6.54      | 0.60    | 0.008 | 6.16        | S. p.    | multiple    |
| 4KL2     | 7SV52    | 0.72      | 5.4       | 0.62      | 8.82      | 0.57      | 6.5       | 0.63    | 0.064 | 6.54        | S. p.    | multiple    |
|          |          | 0.63      | 5.43      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4KL2     | 4KL2     | 0.59      | 9.18      | 0.58      | 7.54      | 0.57      | 4.7       | 0.58    | 0.008 | 7.14        | B. p.    | multiple+cw |
| 4BA2     | 4BA8     | 0.47      | 4.99      | 0.47      | 4.72      | 0.48      | 6.63      | 0.47    | 0.007 | 5.45        | C. a.    | multiple+cw |
| 7SV08    | 7SV71    | 0.71      | 6.55      | 0.79      | 5.62      | 0.74      | 7.12      | 0.75    | 0.052 | 7.07        | B. p.    | multiple+cw |
|          |          | 0.67      | 6.90      | 0.81      | 4.23      | 0.73      | 8.95      |         |       |             |          |             |
|          |          | 0.80      | 10.1      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 5IE414   | 5IE414   | 1.28      | 8.34      | 1.41      | 3.78      | 1.32      | 4.96      | 1.35    | 0.061 | 6.26        | B. p.    | multiple+cw |
|          |          | 1.39      | 7.95      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| 4CHVA4   | 4CHVA4   | 2.13      | 4.2       | 2.01      | 6.02      | 2.13      | 7.01      | 2.14    | 0.112 | 5.50        | B. p.    | multiple+cw |
|          |          | 2.28      | 4.76      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| J        | M5 D     | 0.70      | 3.5       | 0.70      | 6.33      | 0.66      | 10.6      | 0.69    | 0.023 | 6.81        | B. p.    | x           |
| J        | 4PI1A6   | 1.38      | 6.05      | 1.46      | 5.51      | 1.37      | 4.96      | 1.39    | 0.069 | 5.51        | C. a.    | x           |
|          |          | 1.46      | 5.22      | 1.30      | 4.74      |           |           |         |       |             |          |             |
| J        | J        | 5.16      | 6.71      | 5.50      | 6.09      | 5.65      | 5.6       | 5.06    | 0.555 | 6.13        | B. p.    | x           |
|          |          | 4.61      | 5.8       | 4.37      | 3.46      |           |           |         |       |             |          |             |
| SAG2419  | SAG2419  | 2.89      | 2.75      | 2.85      | 2.76      | 2.81      | 6.15      | 2.85    | 0.038 | 3.89        | B. p.    | multiple    |
| SAG6981a | SAG6981a | 1.61      | 5.32      | 1.63      | 5.32      | 1.80      | 4.96      | 1.70    | 0.095 | 4.79        | B. p.    | x           |
| SAG6981a | SAG6981a | 1.76      | 3.54      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| SAG6981a | 6FR2-2_2 | 2.86      | 5.88      | 2.97      | 6.83      | 2.92      | 6.59      | 2.92    | 0.058 | 6.43        | C. a.    | x           |
| RS004    | 4PCA2    | 4.01      | 5.06      | 4.10      | 4.54      | 4.07      | 6.81      | 4.06    | 0.044 | 5.47        | S. p.    | multiple+cw |
| 4PC2M6   | 4PC2M6   | 3.36      | 5.67      | 3.35      | 5.39      | 3.20      | 4.11      | 3.30    | 0.086 | 5.06        | S. p.    | multiple+cw |
| P        | Pyr5 A   | 2.97      | 3.6       | 2.77      | 2.94      | 2.95      | 2.89      | 2.87    | 0.104 | 3.58        | B. p.    | multiple+cw |
|          |          | 2.79      | 4.89      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |

| Linie   | Kmen      | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard | PGLS        |
|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|----------|-------------|
| P       | Pyr5 B    | 2.78      | 3.6       | 2.83      | 3.17      | 2.76      | 5.56      | 2.75    | 0.053 | 5.00        | B. p.    | multiple    |
|         |           | 2.72      | 5.15      | 2.69      | 7.52      |           |           |         |       |             |          |             |
| 5CHK14  | 5CHK14    | 2.27      | 6.65      | 2.23      | 6.14      | 2.30      | 4.77      | 2.28    | 0.044 | 6.20        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 2.33      | 7.23      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| CRYO107 | CC 107    | 1.11      | 5.09      | 1.14      | 4.31      | 1.10      | 8.38      | 1.12    | 0.023 | 5.93        | S. p.    | multiple+cw |
| 5IT107  | 5MR1      | 2.28      | 6.7       | 2.29      | 6.57      | 2.35      | 5         | 2.31    | 0.034 | 6.09        | B. p.    | multiple    |
| 5IT107  | 5IT107    | 2.03      | 3.25      | 2.01      | 6.23      | 2.04      | 3.55      | 2.03    | 0.019 | 4.34        | B. p.    | multiple+cw |
| 7HA1    | 7HA2      | 2.62      | 3.93      | 2.61      | 7.48      | 2.26      | 6.17      | 2.47    | 0.156 | 6.18        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 2.36      | 6.16      | 2.47      | 7.18      |           |           |         |       |             |          |             |
| 4BO71   | 4BO71     | 1.28      | 6.95      | 1.31      | 6.16      | 1.34      | 5.38      | 1.31    | 0.026 | 6.16        | B. p.    | multiple+cw |
| 4BO71   | 5IE1-3I_3 | 1.38      | 6.33      | 1.40      | 4.13      | 1.38      | 5.38      | 1.39    | 0.014 | 5.28        | B. p.    | multiple    |
| V       | 11d       | 2.53      | 5.96      | 2.64      | 5.56      | 2.54      | 4.99      | 2.57    | 0.064 | 5.50        | B. p.    | x           |
| V       | 11i       | 1.12      | 10.3      | 1.12      | 6.7       | 1.13      | 8.86      | 1.12    | 0.002 | 8.63        | B. p.    | x           |
| V       | K4310     | 0.80      | 5.06      | 0.81      | 3.33      | 0.81      | 4.59      | 0.80    | 0.004 | 4.33        | B. p.    | x           |
| V       | K459      | 0.40      | 7.2       | 0.35      | 5.08      | 0.38      | 7.85      | 0.37    | 0.022 | 6.69        | B. p.    | x           |
|         |           | 0.35      | 6.61      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| O       | Co1 C     | 0.63      | 8.87      | 0.59      | 3.56      | 0.58      | 5.63      | 0.58    | 0.039 | 5.84        | C. a.    | multiple    |
|         |           | 0.53      | 5.3       |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| O       | Co1 D     | 1.10      | 5.62      | 1.16      | 5.18      | 1.13      | 4.82      | 1.13    | 0.031 | 5.21        | B. p.    | multiple+cw |
| O       | 15-8 D    | 0.75      | 6.44      | 0.75      | 7.16      | 0.74      | 8.5       | 0.73    | 0.022 | 7.84        | B. p.    | multiple    |
|         |           | 0.72      | 9.28      | 0.70      | 7.8       |           |           |         |       |             |          |             |
| 7FI1    | 7FI1      | 0.42      | 5.81      | 0.40      | 6.97      | 0.41      | 5.21      | 0.41    | 0.011 | 6.00        | C. a.    | multiple+cw |
| M       | M2 C      | 1.02      | 6.08      | 1.08      | 4.19      | 1.03      | 5.94      | 1.04    | 0.032 | 5.40        | B. p.    | x           |
| M       | K5        | 0.49      | 8.7       | 0.46      | 12.6      | 0.46      | 10.2      | 0.48    | 0.020 | 9.57        | B. p.    | multiple+cw |
|         |           | 0.49      | 6.87      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| M       | K7        | 0.39      | 3.73      | 0.38      | 5.26      | 0.38      | 5.1       | 0.38    | 0.005 | 4.70        | C. a.    | multiple    |
| M       | 4CHVB2    | 0.40      | 4.75      | 0.41      | 5.13      | 0.39      | 3.53      | 0.41    | 0.023 | 4.69        | C. a.    | multiple+cw |
| M       | 4CHVB2    | 0.44      | 5.34      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |

| Linie    | Kmen      | 1. měření | 1. CV (%) | 2. měření | 2. CV (%) | 3. měření | 3. CV (%) | GS (pg) | SD    | CV (%) prům | Standard | PGLS        |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|----------|-------------|
| M        | K152      | 0.41      | 4.26      | 0.40      | 5.95      | 0.42      | 7.43      | 0.41    | 0.010 | 5.88        | C. a.    | multiple    |
| B        | K         | 1.38      | 5.64      | 1.39      | 3.66      | 1.41      | 4.1       | 1.39    | 0.017 | 4.47        | B. p.    | multiple    |
| B        | 179-4     | 1.10      | 7.4       | 1.07      | 7.01      | 1.17      | 5.98      | 1.11    | 0.049 | 6.80        | B. p.    | multiple    |
| B        | VMS I     | 1.44      | 7.82      | 1.52      | 5.16      | 1.58      | 5.93      | 1.51    | 0.069 | 6.30        | B. p.    | multiple    |
| B        | B         | 1.25      | 5.85      | 1.31      | 5.2       | 1.45      | 3.29      | 1.36    | 0.099 | 5.12        | B. p.    | multiple+cw |
|          |           | 1.45      | 6.14      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |
| CCALA880 | CCALA 880 | 1.19      | 4.98      | 1.09      | 7.26      | 1.15      | 3.61      | 1.10    | 0.072 | 4.80        | B. p.    | multiple    |
|          |           | 1.02      | 2.97      | 1.04      | 5.16      |           |           |         |       |             |          |             |
| CCALA880 | CC 906    | 0.64      | 9.54      | 0.61      | 7.29      | 0.63      | 7.78      | 0.63    | 0.013 | 8.20        | B. p.    | multiple    |
| CCALA880 | MB1       | 0.79      | 6.93      | 0.80      | 6.65      | 0.79      | 6.93      | 0.79    | 0.010 | 6.41        | B. p.    | multiple+cw |
|          |           | 0.78      | 5.12      |           |           |           |           |         |       |             |          |             |

## Soupis ekogeografických proměnných

**Příloha 4:** Tabulka ekogeografických proměnných z databáze WorldClim. Vysvětlení jednotlivých Bioclim je uveden o v kapitole 3.7. V sloupci PGLS: x=použito pouze do obecných korelací nezahrnujících vliv fylogeneze, cw = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testujícího vztah velikosti genomu a šířky buněk, multiple = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testujícího enviromentální proměnné. Do analýz byly zahrnuty pouze proměnné zvýrazněné tučně na základě korelační matice jednotlivých proměnných.

| Linie  | Kmen       | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |         |
|--------|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| UTEX42 | SAG 698-1b | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA      | cw      |
| 4PC2M7 | 4PC2M7     | 8    | 9    | 32   | 717  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 645   | 90    | 32    | 36    | 247   | 107   | 247   | 107   | 107     | PGLS    |
| 4PC2M7 | 14PC2M     | 8    | 9    | 32   | 717  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 645   | 90    | 32    | 36    | 247   | 107   | 247   | 107   | 107     | PGLS+cw |
| S      | 8PO12      | 7    | 8    | 28   | 780  | 22   | -6   | 28   | 16   | -2   | 16    | -3    | 587   | 83    | 24    | 35    | 219   | 90    | 219   | 99    | 99      | x       |
| S      | 4BO58      | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | 111     | PGLS    |
| S      | 4BON1      | 8    | 5    | 23   | 620  | 20   | -2   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 526   | 59    | 29    | 23    | 165   | 91    | 148   | 121   | 121     | PGLS+cw |
| S      | 5N2-13_6   | 0    | 8    | 28   | 725  | 15   | -12  | 27   | 8    | -2   | 9     | -8    | 776   | 79    | 35    | 23    | 229   | 133   | 223   | 193   | 193     | PGLS+cw |
| S      | 5IT019     | 17   | 9    | 34   | 616  | 30   | 6    | 25   | 14   | 25   | 25    | 10    | 653   | 96    | 14    | 51    | 275   | 60    | 60    | 221   | 221     | PGLS+cw |

| Linie   | Kmen     | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |
|---------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| S       | 14PLa    | 8    | 8    | 30   | 724  | 23   | -4   | 27   | 17   | 1    | 17    | -1    | 498   | 78    | 20    | 50    | 215   | 65    | 215   | 66    | PGLS+cw |
| S       | P4C      | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | x       |
| S       | 4 g      | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | x       |
| S       | 4 h      | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | x       |
| 5CHO1   | Os1      | 15   | 7    | 28   | 664  | 29   | 5    | 25   | 16   | 24   | 24    | 8     | 921   | 119   | 36    | 33    | 335   | 160   | 160   | 237   | PGLS    |
| 5CHO1   | Os2      | 15   | 7    | 28   | 664  | 29   | 5    | 25   | 16   | 24   | 24    | 8     | 921   | 119   | 36    | 33    | 335   | 160   | 160   | 237   | PGLS    |
| 5CHO1   | K122     | -1   | 6    | 29   | 582  | 10   | -12  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1355  | 149   | 86    | 18    | 423   | 291   | 380   | 291   | PGLS+cw |
| 5CHO1   | K2320    | -1   | 6    | 29   | 580  | 11   | -11  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1345  | 148   | 85    | 18    | 421   | 289   | 421   | 289   | PGLS    |
| 5CHO1   | K2331    | -1   | 6    | 29   | 580  | 11   | -11  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1345  | 148   | 85    | 18    | 421   | 289   | 421   | 289   | PGLS    |
| SAG2418 | SAG 2418 | 3    | 8    | 33   | 604  | 16   | -8   | 24   | 11   | -3   | 11    | -4    | 1401  | 183   | 69    | 32    | 517   | 233   | 517   | 236   | PGLS    |
| SAG2418 | 5IE5-1_4 | 10   | 6    | 39   | 379  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1070  | 117   | 63    | 23    | 345   | 203   | 226   | 299   | PGLS+cw |
| SAG2418 | 5IE1-1_4 | 10   | 6    | 40   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1226  | 136   | 69    | 25    | 400   | 222   | 248   | 350   | x       |
| 4PCB2   | 4PCB2    | 8    | 9    | 32   | 717  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 645   | 90    | 32    | 36    | 247   | 107   | 247   | 107   | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4VJ2     | 8    | 9    | 31   | 739  | 24   | -4   | 28   | 18   | 1    | 18    | -1    | 622   | 85    | 32    | 34    | 233   | 107   | 233   | 111   | x       |
| 4VJ2    | 5IT012   | 17   | 9    | 34   | 616  | 30   | 6    | 25   | 14   | 25   | 25    | 10    | 653   | 96    | 14    | 51    | 275   | 60    | 60    | 221   | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 5IT1012  | 17   | 8    | 33   | 585  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 599   | 95    | 10    | 56    | 244   | 48    | 49    | 206   | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4MJ1     | 8    | 9    | 31   | 739  | 24   | -4   | 28   | 18   | 1    | 18    | -1    | 622   | 85    | 32    | 34    | 233   | 107   | 233   | 111   | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4BO53    | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS    |
| 4VJ2    | 5ZE_1    | 11   | 9    | 33   | 650  | 25   | -1   | 26   | 17   | 4    | 19    | 3     | 1099  | 116   | 72    | 13    | 304   | 232   | 302   | 249   | x       |
| 5IT047  | 5IT047   | 17   | 8    | 33   | 584  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 589   | 94    | 10    | 56    | 240   | 47    | 48    | 201   | PGLS+cw |
| 5CHK17  | 5CHK17   | 13   | 7    | 29   | 639  | 26   | 2    | 24   | 10   | 19   | 21    | 5     | 1253  | 159   | 58    | 29    | 441   | 235   | 239   | 318   | PGLS    |
| A       | 3 II     | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | PGLS    |
| A       | P7A      | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | PGLS+cw |
| A       | u31      | -6   | 6    | 22   | 772  | 8    | -19  | 27   | -14  | -4   | 4     | -14   | 256   | 26    | 12    | 21    | 77    | 44    | 60    | 76    | PGLS    |
| U       | 10-2 C   | -6   | 5    | 20   | 763  | 8    | -18  | 26   | 4    | -9   | 4     | -14   | 352   | 45    | 18    | 28    | 123   | 61    | 118   | 76    | PGLS+cw |
| 4BA3    | 4BA3     | 7    | 8    | 30   | 720  | 22   | -6   | 27   | 16   | -1   | 16    | -2    | 575   | 84    | 26    | 42    | 232   | 85    | 232   | 86    | PGLS+cw |
| 5IE117  | 5IE1-1_6 | 10   | 6    | 40   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1226  | 136   | 69    | 25    | 400   | 222   | 248   | 350   | PGLS    |
| 5IE117  | 7PT23    | 12   | 9    | 38   | 501  | 24   | 2    | 22   | 6    | 18   | 18    | 6     | 1427  | 191   | 23    | 50    | 547   | 115   | 127   | 547   | PGLS    |

| Linie   | Kmen     | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |
|---------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 5IE117  | K422     | -1   | 6    | 29   | 582  | 10   | -12  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1355  | 149   | 86    | 18    | 423   | 291   | 380   | 291   | PGLS+cw |
| 4BO21   | 4BO26    | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS    |
| 4BO21   | 4BO21    | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS+cw |
| 5N1133  | 5N1-13_3 | 0    | 8    | 28   | 725  | 15   | -12  | 27   | 8    | -2   | 9     | -8    | 776   | 79    | 35    | 23    | 229   | 133   | 223   | 193   | PGLS+cw |
| 5IT046  | 5IT046   | 17   | 8    | 33   | 584  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 589   | 94    | 10    | 56    | 240   | 47    | 48    | 201   | PGLS+cw |
| 7PT12   | 7PT12    | 13   | 10   | 43   | 482  | 27   | 3    | 24   | 9    | 19   | 20    | 8     | 1871  | 290   | 33    | 55    | 793   | 138   | 181   | 771   | PGLS+cw |
| KG5     | K2352    | -1   | 6    | 29   | 580  | 11   | -11  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1345  | 148   | 85    | 18    | 421   | 289   | 421   | 289   | PGLS    |
| 5IE111  | 5IE1-1_1 | 10   | 6    | 40   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1226  | 136   | 69    | 25    | 400   | 222   | 248   | 350   | PGLS+cw |
| 5IE111  | K4       | 1    | 7    | 30   | 615  | 14   | -10  | 24   | 9    | -6   | 9     | -6    | 1090  | 134   | 60    | 27    | 385   | 199   | 385   | 199   | PGLS    |
| CRYO104 | CRYO104  | 7    | 9    | 49   | 346  | 18   | -1   | 18   | 3    | 12   | 12    | 3     | 992   | 118   | 45    | 26    | 333   | 171   | 171   | 323   | PGLS+cw |
| 14PLc   | 14PLc    | 8    | 8    | 30   | 724  | 23   | -4   | 27   | 17   | 1    | 17    | -1    | 498   | 78    | 20    | 50    | 215   | 65    | 215   | 66    | PGLS+cw |
| 14PLc   | PK26     | 8    | 8    | 30   | 724  | 23   | -4   | 27   | 17   | 1    | 17    | -1    | 498   | 78    | 20    | 50    | 215   | 65    | 215   | 66    | PGLS    |
| 4BO11   | 4BO13    | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS+cw |
| 4BO32   | 4BO36    | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS+cw |
| M1156   | 5N1-5_3  | 0    | 7    | 28   | 715  | 15   | -12  | 27   | -4   | -2   | 9     | -8    | 829   | 87    | 36    | 24    | 249   | 139   | 223   | 220   | x       |
| M1156   | 5N1-7_2  | 0    | 7    | 27   | 717  | 14   | -12  | 27   | -4   | -2   | 9     | -8    | 854   | 88    | 37    | 24    | 256   | 142   | 230   | 228   | x       |
| M1156   | K145     | 0    | 7    | 29   | 599  | 12   | -11  | 23   | 7    | -7   | 7     | -7    | 1199  | 141   | 72    | 22    | 399   | 238   | 399   | 238   | x       |
| M1156   | 5N1-5_1  | 0    | 7    | 28   | 715  | 15   | -12  | 27   | -4   | -2   | 9     | -8    | 829   | 87    | 36    | 24    | 249   | 139   | 223   | 220   | x       |
| 8FR31   | 8FR31    | 12   | 10   | 43   | 523  | 26   | 1    | 24   | 7    | 19   | 19    | 6     | 884   | 100   | 44    | 22    | 284   | 161   | 161   | 264   | PGLS+cw |
| 8FR31   | 8FR32    | 12   | 10   | 43   | 524  | 26   | 1    | 24   | 7    | 19   | 19    | 6     | 882   | 99    | 43    | 22    | 283   | 161   | 161   | 262   | PGLS    |
| 5IE13L1 | 5IE13L1  | 10   | 6    | 41   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1221  | 135   | 70    | 25    | 398   | 224   | 246   | 348   | PGLS+cw |
| KG3     | K153     | 0    | 7    | 29   | 606  | 13   | -11  | 23   | 8    | -7   | 8     | -7    | 1173  | 140   | 68    | 23    | 397   | 227   | 397   | 227   | PGLS+cw |
| 4PLL3   | 4PLL8    | 8    | 8    | 30   | 724  | 23   | -4   | 27   | 17   | 1    | 17    | -1    | 498   | 78    | 20    | 50    | 215   | 65    | 215   | 66    | PGLS+cw |
| 4BOG1   | 4BOG1    | 8    | 5    | 23   | 623  | 20   | -2   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 554   | 62    | 31    | 23    | 175   | 97    | 158   | 126   | PGLS+cw |
| N       | 15-2 C   | -7   | 5    | 20   | 739  | 7    | -19  | 25   | 3    | -10  | 3     | -15   | 409   | 47    | 21    | 21    | 130   | 76    | 123   | 98    | PGLS+cw |
| 4ZK1    | 4ZK1     | 6    | 9    | 32   | 677  | 20   | -6   | 26   | 14   | -1   | 14    | -2    | 882   | 119   | 50    | 30    | 319   | 167   | 319   | 170   | PGLS+cw |
| 5IT063  | 5IT063   | 17   | 8    | 33   | 585  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 594   | 94    | 10    | 56    | 242   | 48    | 49    | 204   | PGLS+cw |
| 5IE434  | 5IE434   | 10   | 6    | 41   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 14    | 6     | 1214  | 134   | 69    | 25    | 396   | 220   | 245   | 347   | PGLS+cw |

| Linie   | Kmen      | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |
|---------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 4CEPLO3 | 4CEPLO3   | 8    | 9    | 32   | 717  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 645   | 90    | 32    | 36    | 247   | 107   | 247   | 107   | PGLS+cw |
| RS002   | 5IT105    | 17   | 7    | 32   | 584  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 601   | 96    | 10    | 56    | 246   | 48    | 49    | 207   | PGLS+cw |
| RS002   | 5IT109    | 17   | 8    | 33   | 585  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 599   | 95    | 10    | 56    | 244   | 48    | 49    | 206   | PGLS    |
| RS002   | 7R341     | 8    | 9    | 35   | 642  | 23   | -3   | 26   | 6    | 16   | 16    | 1     | 921   | 117   | 40    | 35    | 327   | 122   | 122   | 266   | PGLS+cw |
| 5N182   | 5N1-8_2   | 0    | 7    | 27   | 719  | 14   | -12  | 27   | 0    | -2   | 9     | -8    | 846   | 87    | 37    | 24    | 251   | 139   | 232   | 224   | PGLS+cw |
| 5IE4214 | 5IE4-2_11 | 10   | 6    | 41   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 14    | 6     | 1214  | 134   | 69    | 25    | 396   | 220   | 245   | 347   | PGLS+cw |
| 5IE234  | 5IE2-3_4  | 10   | 6    | 41   | 349  | 18   | 3    | 15   | 7    | 11   | 15    | 6     | 1231  | 135   | 66    | 26    | 403   | 219   | 252   | 353   | PGLS+cw |
| 5IE234  | 5IE2-6_4  | 10   | 6    | 41   | 341  | 18   | 4    | 15   | 7    | 11   | 15    | 6     | 1227  | 137   | 62    | 27    | 404   | 211   | 252   | 355   | PGLS    |
| G       | 5 III     | -6   | 6    | 22   | 772  | 7    | -19  | 27   | -15  | -5   | 4     | -15   | 263   | 27    | 12    | 22    | 79    | 44    | 62    | 79    | PGLS    |
| G       | Fo I      | -6   | 6    | 21   | 776  | 7    | -20  | 27   | -15  | -4   | 4     | -15   | 249   | 27    | 11    | 25    | 79    | 41    | 53    | 79    | PGLS+cw |
| G       | 7R62      | 8    | 11   | 34   | 793  | 24   | -7   | 31   | 16   | -1   | 17    | -2    | 606   | 90    | 26    | 46    | 253   | 83    | 242   | 83    | PGLS    |
| R       | Br2       | -6   | 6    | 21   | 751  | 7    | -19  | 26   | -14  | -4   | 4     | -14   | 253   | 28    | 11    | 26    | 82    | 41    | 53    | 82    | x       |
| R       | Br5       | -6   | 6    | 21   | 751  | 7    | -19  | 26   | -14  | -4   | 4     | -14   | 253   | 28    | 11    | 26    | 82    | 41    | 53    | 82    | x       |
| R       | 13 OTCN 4 | -6   | 6    | 22   | 774  | 7    | -19  | 27   | -15  | -5   | 4     | -15   | 260   | 26    | 12    | 21    | 77    | 44    | 61    | 77    | x       |
| R       | Mo1       | -8   | 5    | 21   | 738  | 5    | -20  | 25   | -16  | -7   | 1     | -16   | 346   | 36    | 16    | 21    | 104   | 59    | 83    | 103   | x       |
| 5IT033  | 5IT034    | 17   | 8    | 33   | 587  | 30   | 7    | 23   | 14   | 22   | 24    | 10    | 530   | 78    | 12    | 51    | 210   | 48    | 49    | 180   | PGLS+cw |
| 5IE323  | 5IE3-4_1  | 10   | 6    | 40   | 376  | 19   | 3    | 16   | 8    | 12   | 15    | 6     | 1179  | 126   | 65    | 22    | 374   | 216   | 259   | 337   | PGLS+cw |
| 7PT31   | 7PT32     | 13   | 10   | 43   | 499  | 27   | 3    | 24   | 8    | 19   | 20    | 7     | 1912  | 293   | 35    | 54    | 806   | 145   | 188   | 782   | PGLS+cw |
| 5IT017  | 5IT017    | 17   | 9    | 34   | 616  | 30   | 6    | 25   | 14   | 25   | 25    | 10    | 653   | 96    | 14    | 51    | 275   | 60    | 60    | 221   | PGLS    |
| 5IT081  | 5IT081    | 17   | 7    | 32   | 580  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 595   | 94    | 10    | 56    | 242   | 48    | 49    | 205   | PGLS+cw |
| 5N2123  | 5N2123    | 0    | 8    | 28   | 728  | 15   | -12  | 27   | 5    | -2   | 10    | -8    | 772   | 78    | 35    | 23    | 226   | 132   | 219   | 195   | PGLS+cw |
| 4KL2    | 5IE4-6_4  | 10   | 6    | 40   | 360  | 19   | 3    | 16   | 7    | 11   | 15    | 6     | 1224  | 135   | 69    | 25    | 399   | 222   | 247   | 350   | PGLS    |
| 4KL2    | 7SV52     | 2    | 8    | 29   | 721  | 17   | -12  | 28   | 10   | 0    | 11    | -7    | 665   | 94    | 37    | 30    | 230   | 113   | 226   | 145   | PGLS    |
| 4KL2    | 4KL2      | 9    | 8    | 29   | 699  | 23   | -3   | 26   | 17   | 4    | 17    | 0     | 627   | 92    | 30    | 42    | 250   | 99    | 250   | 100   | PGLS+cw |
| 4BA2    | 4BA8      | 7    | 8    | 30   | 720  | 22   | -6   | 27   | 16   | -1   | 16    | -2    | 575   | 84    | 26    | 42    | 232   | 85    | 232   | 86    | PGLS+cw |
| 7SV08   | 7SV71     | 3    | 8    | 30   | 697  | 17   | -10  | 27   | 10   | 2    | 11    | -6    | 719   | 93    | 37    | 28    | 236   | 114   | 231   | 178   | PGLS+cw |
| 5IE414  | 5IE414    | 10   | 6    | 41   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 14    | 6     | 1214  | 134   | 69    | 25    | 396   | 220   | 245   | 347   | PGLS+cw |
| 4CHVA4  | 4CHVA4    | 7    | 8    | 30   | 722  | 22   | -5   | 27   | 16   | -1   | 16    | -2    | 597   | 84    | 28    | 41    | 237   | 92    | 237   | 92    | PGLS+cw |

| Linie    | Kmen      | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |
|----------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| J        | M5 D      | -8   | 5    | 22   | 722  | 5    | -20  | 25   | -15  | -1   | 2     | -15   | 310   | 35    | 14    | 27    | 102   | 50    | 63    | 102   | x       |
| J        | 4PI1A6    | 8    | 9    | 31   | 737  | 24   | -4   | 28   | 17   | 1    | 17    | -1    | 612   | 85    | 31    | 36    | 234   | 104   | 234   | 105   | x       |
| J        | J         | -6   | 6    | 21   | 751  | 7    | -19  | 26   | -14  | -4   | 4     | -14   | 253   | 28    | 11    | 26    | 82    | 41    | 53    | 82    | x       |
| SAG2419  | SAG2419   | 7    | 9    | 33   | 717  | 22   | -7   | 28   | 16   | 0    | 16    | -2    | 1214  | 169   | 65    | 35    | 470   | 219   | 470   | 222   | PGLS    |
| SAG6981a | SAG6981a  | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | NA    | x       |
| SAG6981a | 6FR2-2_2  | 8    | 10   | 37   | 595  | 24   | -3   | 26   | 5    | 16   | 16    | 2     | 1040  | 107   | 55    | 18    | 304   | 197   | 197   | 282   | x       |
| RS004    | 4PCA2     | 8    | 9    | 32   | 719  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 636   | 88    | 32    | 36    | 244   | 105   | 244   | 105   | PGLS+cw |
| 4PC2M6   | 4PC2M6    | 8    | 9    | 32   | 717  | 23   | -5   | 28   | 17   | -1   | 17    | -1    | 645   | 90    | 32    | 36    | 247   | 107   | 247   | 107   | PGLS+cw |
| P        | Pyr5 A    | -6   | 6    | 21   | 775  | 8    | -19  | 27   | -14  | -5   | 4     | -14   | 260   | 26    | 12    | 21    | 77    | 44    | 62    | 76    | PGLS+cw |
| P        | Pyr5 B    | -6   | 6    | 21   | 775  | 8    | -19  | 27   | -14  | -5   | 4     | -14   | 260   | 26    | 12    | 21    | 77    | 44    | 62    | 76    | PGLS    |
| 5CHK14   | 5CHK14    | 13   | 7    | 29   | 639  | 26   | 2    | 24   | 10   | 19   | 21    | 5     | 1253  | 159   | 58    | 29    | 441   | 235   | 239   | 318   | PGLS+cw |
| CRYO107  | CC 107    | -4   | 6    | 22   | 794  | 10   | -19  | 29   | 5    | -14  | 6     | -14   | 268   | 36    | 14    | 31    | 96    | 43    | 85    | 43    | PGLS+cw |
| 5IT107   | 5MR1      | 9    | 8    | 31   | 719  | 24   | -3   | 27   | 17   | 0    | 18    | 0     | 498   | 73    | 20    | 48    | 210   | 68    | 206   | 68    | PGLS    |
| 5IT107   | 5IT107    | 17   | 8    | 33   | 585  | 30   | 7    | 23   | 15   | 22   | 24    | 10    | 599   | 95    | 10    | 56    | 244   | 48    | 49    | 206   | PGLS+cw |
| 7HA1     | 7HA2      | 9    | 8    | 31   | 720  | 24   | -3   | 27   | 17   | 0    | 18    | 0     | 500   | 73    | 20    | 48    | 211   | 68    | 207   | 68    | PGLS+cw |
| 4BO71    | 4BO71     | 8    | 5    | 24   | 625  | 21   | -1   | 22   | 16   | 3    | 16    | 1     | 505   | 57    | 26    | 24    | 165   | 86    | 151   | 111   | PGLS+cw |
| 4BO71    | 5IE1-3I_3 | 10   | 6    | 41   | 360  | 19   | 3    | 16   | 8    | 11   | 15    | 6     | 1221  | 135   | 70    | 25    | 398   | 224   | 246   | 348   | PGLS    |
| V        | 11d       | -6   | 5    | 20   | 763  | 8    | -18  | 26   | 4    | -9   | 4     | -14   | 352   | 45    | 18    | 28    | 123   | 61    | 118   | 76    | x       |
| V        | 11i       | -6   | 5    | 20   | 763  | 8    | -18  | 26   | 4    | -9   | 4     | -14   | 352   | 45    | 18    | 28    | 123   | 61    | 118   | 76    | x       |
| V        | K4310     | -1   | 6    | 29   | 580  | 11   | -11  | 22   | 6    | -8   | 6     | -8    | 1345  | 148   | 85    | 18    | 421   | 289   | 421   | 289   | x       |
| V        | K459      | 0    | 7    | 29   | 606  | 13   | -11  | 23   | 8    | -7   | 8     | -7    | 1173  | 140   | 68    | 23    | 397   | 227   | 397   | 227   | x       |
| O        | Co1 C     | -5   | 5    | 20   | 736  | 8    | -17  | 25   | 4    | -3   | 5     | -13   | 416   | 46    | 22    | 20    | 127   | 75    | 113   | 101   | PGLS    |
| O        | Co1 D     | -5   | 5    | 20   | 736  | 8    | -17  | 25   | 4    | -3   | 5     | -13   | 416   | 46    | 22    | 20    | 127   | 75    | 113   | 101   | PGLS+cw |
| O        | 15-8 D    | -6   | 5    | 20   | 733  | 7    | -18  | 25   | 3    | -10  | 4     | -14   | 418   | 50    | 21    | 24    | 138   | 76    | 130   | 96    | PGLS    |
| 7FI1     | 7FI1      | -1   | 9    | 23   | 989  | 18   | -19  | 37   | 12   | -7   | 12    | -13   | 449   | 63    | 22    | 39    | 177   | 69    | 177   | 79    | PGLS+cw |
| M        | M2 C      | -8   | 5    | 22   | 722  | 5    | -20  | 25   | -15  | -1   | 2     | -15   | 310   | 35    | 14    | 27    | 102   | 50    | 63    | 102   | x       |
| M        | K5        | 1    | 7    | 30   | 615  | 14   | -10  | 24   | 9    | -6   | 9     | -6    | 1090  | 134   | 60    | 27    | 385   | 199   | 385   | 199   | PGLS+cw |
| M        | K7        | 1    | 7    | 30   | 615  | 14   | -10  | 24   | 9    | -6   | 9     | -6    | 1090  | 134   | 60    | 27    | 385   | 199   | 385   | 199   | PGLS    |



| Linie    | Kmen      | Bio1 | Bio2 | Bio3 | Bio4 | Bio5 | Bio6 | Bio7 | Bio8 | Bio9 | Bio10 | Bio11 | Bio12 | Bio13 | Bio14 | Bio15 | Bio16 | Bio17 | Bio18 | Bio19 | PGLS+cw |
|----------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| M        | 4CHVB2    | 7    | 8    | 30   | 722  | 22   | -5   | 27   | 16   | -1   | 16    | -2    | 597   | 84    | 28    | 41    | 237   | 92    | 237   | 92    | PGLS+cw |
| M        | K152      | 0    | 7    | 29   | 606  | 13   | -11  | 23   | 8    | -7   | 8     | -7    | 1173  | 140   | 68    | 23    | 397   | 227   | 397   | 227   | PGLS    |
| B        | K         | -6   | 6    | 21   | 775  | 8    | -19  | 27   | 4    | -4   | 5     | -14   | 290   | 33    | 14    | 21    | 91    | 52    | 84    | 73    | PGLS    |
| B        | 179-4     | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | PGLS    |
| B        | B         | -7   | 6    | 21   | 773  | 7    | -20  | 27   | -15  | -5   | 3     | -15   | 264   | 27    | 12    | 21    | 77    | 45    | 65    | 76    | PGLS    |
| B        | VMS I     | -6   | 6    | 21   | 774  | 7    | -19  | 27   | -15  | -5   | 4     | -15   | 260   | 26    | 12    | 21    | 77    | 44    | 61    | 77    | PGLS+cw |
| CCALA880 | CCALA 880 | -13  | 6    | 34   | 446  | -5   | -22  | 18   | -17  | -7   | -7    | -18   | 179   | 33    | 2     | 63    | 77    | 26    | 26    | 70    | PGLS    |
| CCALA880 | CC 906    | -5   | 5    | 36   | 302  | 1    | -12  | 13   | -3   | -9   | -1    | -9    | 800   | 87    | 42    | 21    | 244   | 160   | 206   | 160   | PGLS    |
| CCALA880 | MB1       | -13  | 6    | 34   | 446  | -5   | -22  | 18   | -17  | -7   | -7    | -18   | 179   | 33    | 2     | 63    | 77    | 26    | 26    | 70    | PGLS+cw |

**Příloha 5:** Tabulka ekogeografických proměnných z databáze SoilGrid. Vysvětlení jednotlivých proměnných je uveden o v kapitole 3.7. V sloupci PGLS: x=použito pouze do obecných korelací nezahrnujících vliv fylogeneze, cw = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testujícího vztah velikosti genomu a šířky buněk, multiple = použito k testování obecných korelací i PGLS modelu testující enviromentální proměnné. Do analýz byly zahrnuty pouze proměnné zvýrazněné tučně na základě korelační matice jednotlivých proměnných.

| Linie  | Kmen       | bdod | cec   | cfvo  | clay  | nitrogen | phh2o | sand  | silt  | soc    | PGLS+cw |
|--------|------------|------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------|
| UTEX42 | SAG 698-1b | NA   | NA    | NA    | NA    | NA       | NA    | NA    | NA    | NA     | cw      |
| 4PC2M7 | 4PC2M7     | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS    |
| 4PC2M7 | 14PC2M     | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS+cw |
| S      | 8PO12      | 1.27 | 25.33 | 9.03  | 13.63 | 4.43     | 5.60  | 59.75 | 26.62 | 77.45  | x       |
| S      | 4BO58      | 1.38 | 21.48 | 13.43 | 25.42 | 3.88     | 6.78  | 44.03 | 30.55 | 35.12  | PGLS    |
| S      | 4BON1      | 1.32 | 21.35 | 13.38 | 24.23 | 4.89     | 6.37  | 44.20 | 31.57 | 45.37  | PGLS+cw |
| S      | 5N2-13_6   | 1.05 | 18.45 | 18.57 | 5.82  | 3.98     | 5.52  | 56.60 | 37.55 | 85.32  | PGLS+cw |
| S      | 5IT019     | 1.43 | 21.05 | 11.78 | 37.70 | 1.79     | 7.08  | 22.32 | 40.02 | 29.35  | PGLS+cw |
| S      | 14PLa      | 1.40 | 22.52 | 11.38 | 30.07 | 2.24     | 6.28  | 26.68 | 43.25 | 18.17  | PGLS+cw |
| S      | P4C        | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | x       |
| S      | 4 g        | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | x       |
| S      | 4 h        | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | x       |

| Linie   | Kmen     | bdod | cec   | cfvo  | clay  | nitrogen | phh2o | sand  | silt  | soc    | PGLS+CW |
|---------|----------|------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------|
| 5CHO1   | Os1      | 1.39 | 20.88 | 8.68  | 37.65 | 3.77     | 6.72  | 37.55 | 24.80 | 35.33  | PGLS    |
| 5CHO1   | Os2      | 1.39 | 20.88 | 8.68  | 37.65 | 3.77     | 6.72  | 37.55 | 24.80 | 35.33  | PGLS    |
| 5CHO1   | K122     | 1.22 | 30.77 | 23.87 | 19.28 | 5.14     | 5.47  | 40.57 | 40.17 | 49.07  | PGLS+cw |
| 5CHO1   | K2320    | 1.21 | 30.00 | 22.92 | 22.58 | 5.35     | 5.28  | 37.68 | 39.72 | 45.72  | PGLS    |
| 5CHO1   | K2331    | 1.21 | 30.00 | 22.92 | 22.58 | 5.35     | 5.28  | 37.68 | 39.72 | 45.72  | PGLS    |
| SAG2418 | SAG 2418 | 1.13 | 22.55 | 27.67 | 24.30 | 4.02     | 5.53  | 32.33 | 43.37 | 50.07  | PGLS    |
| SAG2418 | 5IE5-1_4 | 1.16 | 31.53 | 17.60 | 20.08 | 6.81     | 5.92  | 40.77 | 39.12 | 123.40 | PGLS+cw |
| SAG2418 | 5IE1-1_4 | 1.15 | 27.32 | 19.15 | 17.30 | 5.50     | 5.33  | 48.02 | 34.72 | 127.78 | x       |
| 4PCB2   | 4PCB2    | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4VJ2     | 1.46 | 19.08 | 11.87 | 25.03 | 2.58     | 6.30  | 37.68 | 37.23 | 15.85  | x       |
| 4VJ2    | 5IT012   | 1.43 | 21.05 | 11.78 | 37.70 | 1.79     | 7.08  | 22.32 | 40.02 | 29.35  | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 5IT1012  | 1.37 | 22.70 | 10.20 | 29.67 | 2.95     | 7.13  | 33.83 | 36.50 | 46.62  | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4MJ1     | 1.42 | 17.78 | 12.97 | 25.08 | 2.46     | 6.15  | 39.10 | 35.80 | 16.77  | PGLS+cw |
| 4VJ2    | 4BO53    | 1.38 | 21.48 | 13.43 | 25.42 | 3.88     | 6.78  | 44.03 | 30.55 | 35.12  | PGLS    |
| 4VJ2    | 5ZE_1    | 1.43 | 18.32 | 10.45 | 30.83 | 2.74     | 6.52  | 36.98 | 32.20 | 31.88  | x       |
| 5IT047  | 5IT047   | 1.43 | 19.42 | 8.92  | 27.00 | 2.51     | 7.35  | 38.97 | 34.03 | 36.85  | PGLS+cw |
| 5CHK17  | 5CHK17   | 1.40 | 22.15 | 9.62  | 38.83 | 2.89     | 6.82  | 32.53 | 28.62 | 30.58  | PGLS    |
| A       | 3 II     | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | PGLS    |
| A       | P7A      | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | PGLS+cw |
| A       | u31      | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | PGLS    |
| U       | 10-2 C   | 0.94 | 26.30 | 23.87 | 15.78 | 6.43     | 6.45  | 45.30 | 38.92 | 134.38 | PGLS+cw |
| 4BA3    | 4BA3     | 1.36 | 18.22 | 15.65 | 21.20 | 2.21     | 5.88  | 32.10 | 46.72 | 17.38  | PGLS+cw |
| 5IE117  | 5IE1-1_6 | 1.15 | 27.32 | 19.15 | 17.30 | 5.50     | 5.33  | 48.02 | 34.72 | 127.78 | PGLS    |
| 5IE117  | 7PT23    | 1.19 | 27.23 | 17.98 | 20.43 | 2.86     | 5.20  | 50.62 | 28.98 | 40.37  | PGLS    |
| 5IE117  | K422     | 1.22 | 30.65 | 24.18 | 20.33 | 5.42     | 5.38  | 39.57 | 40.10 | 46.97  | PGLS+cw |
| 4BO21   | 4BO26    | 1.32 | 21.35 | 13.38 | 24.23 | 4.89     | 6.37  | 44.20 | 31.57 | 45.37  | PGLS    |
| 4BO21   | 4BO21    | 1.32 | 21.35 | 13.38 | 24.23 | 4.89     | 6.37  | 44.20 | 31.57 | 45.37  | PGLS+cw |
| 5N1133  | 5N1-13_3 | 1.05 | 18.45 | 18.57 | 5.82  | 3.98     | 5.52  | 56.60 | 37.55 | 85.32  | PGLS+cw |

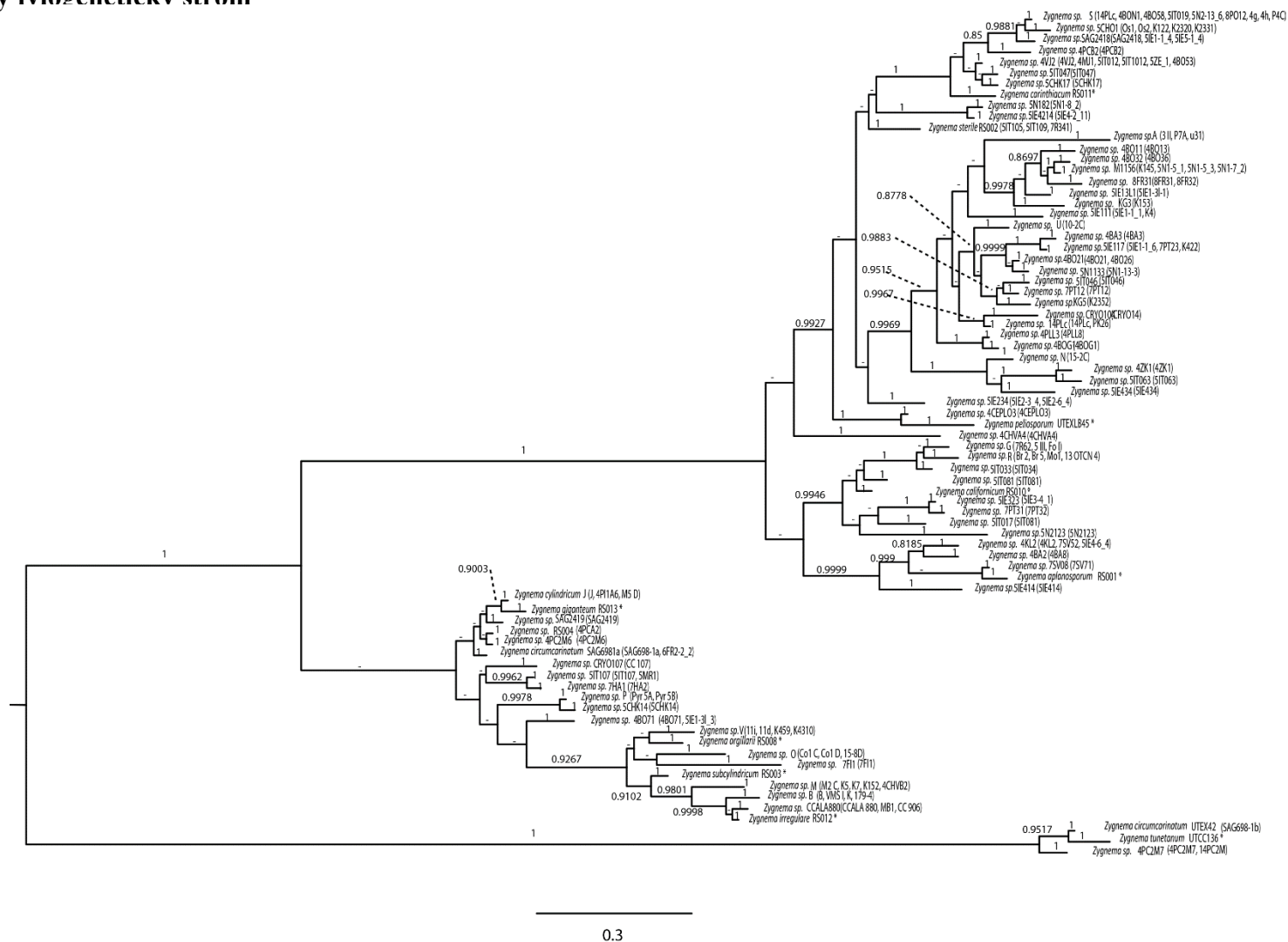
| Linie   | Kmen     | bdod | cec   | cfvo  | clay  | nitrogen | phh2o | sand  | silt  | soc    | PGLS+CW |
|---------|----------|------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------|
| 5IT046  | 5IT046   | 1.43 | 19.42 | 8.92  | 27.00 | 2.51     | 7.35  | 38.97 | 34.03 | 36.85  | PGLS+cw |
| 7PT12   | 7PT12    | 1.40 | 28.18 | 13.65 | 25.35 | 3.20     | 5.67  | 47.10 | 27.58 | 40.45  | PGLS+cw |
| KG5     | K2352    | 1.21 | 30.00 | 22.92 | 22.58 | 5.35     | 5.28  | 37.68 | 39.72 | 45.72  | PGLS    |
| 5IE111  | 5IE1-1_1 | 1.15 | 27.32 | 19.15 | 17.30 | 5.50     | 5.33  | 48.02 | 34.72 | 127.78 | PGLS+cw |
| 5IE111  | K4       | 1.24 | 31.52 | 21.53 | 20.97 | 3.78     | 5.68  | 39.18 | 39.87 | 48.35  | PGLS    |
| CRYO104 | CRYO104  | 1.03 | 26.42 | 12.10 | 28.47 | 2.13     | 5.83  | 50.70 | 20.82 | 55.32  | PGLS+cw |
| 14PLc   | 14PLc    | 1.40 | 22.52 | 11.38 | 30.07 | 2.24     | 6.28  | 26.68 | 43.25 | 18.17  | PGLS+cw |
| 14PLc   | PK26     | 1.40 | 22.95 | 11.43 | 28.88 | 2.10     | 6.35  | 26.72 | 44.38 | 17.18  | PGLS    |
| 4BO11   | 4BO13    | 1.32 | 21.35 | 13.38 | 24.23 | 4.89     | 6.37  | 44.20 | 31.57 | 45.37  | PGLS+cw |
| 4BO32   | 4BO36    | 1.32 | 21.35 | 13.38 | 24.23 | 4.89     | 6.37  | 44.20 | 31.57 | 45.37  | PGLS+cw |
| M1156   | 5N1-5_3  | 1.07 | 23.27 | 18.45 | 8.10  | 4.70     | 5.33  | 58.98 | 32.90 | 90.43  | x       |
| M1156   | 5N1-7_2  | 1.08 | 23.48 | 18.02 | 7.73  | 4.41     | 5.45  | 57.75 | 34.52 | 87.37  | x       |
| M1156   | K145     | 1.23 | 29.97 | 22.98 | 22.10 | 3.91     | 5.50  | 38.65 | 39.27 | 45.13  | x       |
| M1156   | 5N1-5_1  | 1.07 | 23.27 | 18.45 | 8.10  | 4.70     | 5.33  | 58.98 | 32.90 | 90.43  | x       |
| 8FR31   | 8FR31    | 1.48 | 19.17 | 11.10 | 19.00 | 3.94     | 6.08  | 56.98 | 24.02 | 30.20  | PGLS+cw |
| 8FR31   | 8FR32    | 1.48 | 21.30 | 11.95 | 23.73 | 2.86     | 6.78  | 54.32 | 21.95 | 24.97  | PGLS    |
| 5IE13L1 | 5IE13L1  | 1.07 | 25.50 | 16.75 | 19.48 | 6.29     | 5.20  | 45.25 | 35.25 | 136.77 | PGLS+cw |
| KG3     | K153     | 1.21 | 30.82 | 22.95 | 21.78 | 3.91     | 5.73  | 38.55 | 39.72 | 44.23  | PGLS+cw |
| 4PLL3   | 4PLL8    | 1.40 | 22.52 | 11.38 | 30.07 | 2.24     | 6.28  | 26.68 | 43.25 | 18.17  | PGLS+cw |
| 4BOG1   | 4BOG1    | 1.32 | 20.97 | 9.58  | 20.77 | 4.17     | 6.22  | 48.48 | 30.73 | 48.63  | PGLS+cw |
| N       | 15-2 C   | 0.95 | 26.77 | 22.50 | 16.83 | 6.73     | 6.37  | 46.68 | 36.48 | 142.93 | PGLS+cw |
| 4ZK1    | 4ZK1     | 1.28 | 18.27 | 19.02 | 18.45 | 2.64     | 5.42  | 45.68 | 35.83 | 33.22  | PGLS+cw |
| 5IT063  | 5IT063   | 1.38 | 18.97 | 10.10 | 30.05 | 2.99     | 6.95  | 37.70 | 32.27 | 55.20  | PGLS+cw |
| 5IE434  | 5IE434   | 1.17 | 24.73 | 18.88 | 19.70 | 7.14     | 5.20  | 44.08 | 36.22 | 144.10 | PGLS+cw |
| 4CEPLO3 | 4CEPLO3  | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS+cw |
| RS002   | 5IT105   | 1.46 | 20.85 | 8.80  | 29.70 | 1.87     | 7.48  | 39.07 | 31.22 | 27.37  | PGLS+cw |
| RS002   | 5IT109   | 1.37 | 22.70 | 10.20 | 29.67 | 2.95     | 7.13  | 33.83 | 36.50 | 46.62  | PGLS    |
| RS002   | 7R341    | 1.39 | 22.12 | 16.40 | 30.90 | 2.41     | 6.58  | 37.80 | 31.30 | 36.40  | PGLS+cw |

| Linie   | Kmen      | bdod | cec   | cfvo  | clay  | nitrogen | phh2o | sand  | silt  | soc    | PGLS+CW |
|---------|-----------|------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------|
| 5N182   | 5N1-8_2   | 1.08 | 22.33 | 20.30 | 9.05  | 4.28     | 5.63  | 55.83 | 35.13 | 79.87  | PGLS+cw |
| 5IE4214 | 5IE4-2_11 | 1.17 | 24.28 | 19.83 | 18.98 | 6.79     | 5.22  | 43.65 | 37.37 | 124.40 | PGLS+cw |
| 5IE234  | 5IE2-3_4  | 1.17 | 25.63 | 18.00 | 18.70 | 5.90     | 5.48  | 45.93 | 35.33 | 113.25 | PGLS+cw |
| 5IE234  | 5IE2-6_4  | 1.18 | 23.65 | 15.90 | 18.45 | 5.51     | 5.23  | 48.57 | 32.98 | 103.38 | PGLS    |
| G       | 5 III     | 0.93 | 25.58 | 27.12 | 19.63 | 7.02     | 6.48  | 45.35 | 35.02 | 152.37 | PGLS    |
| G       | Fo I      | 0.95 | 25.72 | 22.00 | 18.13 | 7.22     | 6.78  | 48.00 | 33.83 | 126.58 | PGLS+cw |
| G       | 7R62      | 1.41 | 19.03 | 25.70 | 34.43 | 1.74     | 6.15  | 29.92 | 35.67 | 18.17  | PGLS    |
| R       | Br2       | 0.87 | 29.35 | 18.37 | 17.03 | 8.15     | 6.73  | 49.00 | 33.97 | 146.73 | x       |
| R       | Br5       | 0.87 | 29.35 | 18.37 | 17.03 | 8.15     | 6.73  | 49.00 | 33.97 | 146.73 | x       |
| R       | 13 OTCN 4 | 0.95 | 24.82 | 24.80 | 18.37 | 6.98     | 6.57  | 46.12 | 35.53 | 154.27 | x       |
| R       | Mo1       | 0.94 | 25.13 | 21.98 | 20.97 | 7.07     | 6.65  | 43.95 | 35.13 | 146.87 | x       |
| 5IT033  | 5IT034    | 1.44 | 22.63 | 10.78 | 29.98 | 2.34     | 7.43  | 34.48 | 35.50 | 51.62  | PGLS+cw |
| 5IE323  | 5IE3-4_1  | 1.15 | 27.48 | 20.03 | 22.35 | 5.49     | 6.47  | 38.22 | 39.45 | 81.08  | PGLS+cw |
| 7PT31   | 7PT32     | 1.29 | 31.02 | 19.38 | 25.98 | 3.66     | 5.47  | 46.00 | 28.03 | 43.70  | PGLS+cw |
| 5IT017  | 5IT017    | 1.43 | 21.05 | 11.78 | 37.70 | 1.79     | 7.08  | 22.32 | 40.02 | 29.35  | PGLS    |
| 5IT081  | 5IT081    | 1.36 | 24.22 | 10.48 | 38.33 | 3.75     | 7.03  | 28.42 | 33.25 | 58.53  | PGLS+cw |
| 5N2123  | 5N2123    | 1.02 | 19.20 | 17.68 | 8.12  | 4.53     | 5.52  | 57.37 | 34.53 | 74.27  | PGLS+cw |
| 4KL2    | 5IE4-6_4  | 1.16 | 27.62 | 18.32 | 17.42 | 6.20     | 5.18  | 47.07 | 35.53 | 123.33 | PGLS    |
| 4KL2    | 7SV52     | 1.05 | 22.28 | 18.95 | 8.73  | 4.07     | 5.05  | 53.27 | 37.95 | 90.73  | PGLS    |
| 4KL2    | 4KL2      | 1.39 | 17.27 | 10.88 | 18.02 | 2.28     | 5.63  | 40.48 | 41.50 | 16.03  | PGLS+cw |
| 4BA2    | 4BA8      | 1.36 | 18.22 | 15.65 | 21.20 | 2.21     | 5.88  | 32.10 | 46.72 | 17.38  | PGLS+cw |
| 7SV08   | 7SV71     | 1.06 | 20.97 | 18.53 | 10.82 | 3.14     | 5.13  | 48.38 | 40.78 | 65.87  | PGLS+cw |
| 5IE414  | 5IE414    | 1.17 | 24.28 | 19.83 | 18.98 | 6.79     | 5.22  | 43.65 | 37.37 | 124.40 | PGLS+cw |
| 4CHVA4  | 4CHVA4    | 1.37 | 16.80 | 16.27 | 21.37 | 2.98     | 5.80  | 41.72 | 36.92 | 20.48  | PGLS+cw |
| J       | M5 D      | 0.97 | 25.97 | 26.10 | 20.35 | 6.61     | 6.70  | 45.58 | 34.10 | 127.60 | x       |
| J       | 4PI1A6    | 1.36 | 19.98 | 9.32  | 26.23 | 2.93     | 6.17  | 40.32 | 33.45 | 20.17  | x       |
| J       | J         | 0.87 | 29.35 | 18.37 | 17.03 | 8.15     | 6.73  | 49.00 | 33.97 | 146.73 | x       |
| SAG2419 | SAG2419   | 1.27 | 23.40 | 23.35 | 20.40 | 3.57     | 6.02  | 40.33 | 39.27 | 43.50  | PGLS    |

| Linie    | Kmen      | bdod | cec   | cfvo  | clay  | nitrogen | phh2o | sand  | silt  | soc    | PGLS+CW |
|----------|-----------|------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------|
| SAG6981a | SAG6981a  | NA   | NA    | NA    | NA    | NA       | NA    | NA    | NA    | NA     | x       |
| SAG6981a | 6FR2-2_2  | 1.24 | 28.00 | 21.85 | 30.73 | 3.35     | 6.15  | 32.52 | 36.75 | 56.93  | x       |
| RS004    | 4PCA2     | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS+cw |
| 4PC2M6   | 4PC2M6    | 1.37 | 21.60 | 13.08 | 22.25 | 2.37     | 6.38  | 32.65 | 45.08 | 16.68  | PGLS+cw |
| P        | Pyr5 A    | 0.95 | 25.40 | 22.42 | 19.65 | 7.01     | 6.63  | 48.13 | 32.20 | 147.33 | PGLS+cw |
| P        | Pyr5 B    | 0.95 | 25.40 | 22.42 | 19.65 | 7.01     | 6.63  | 48.13 | 32.20 | 147.33 | PGLS    |
| 5CHK14   | 5CHK14    | 1.40 | 22.15 | 9.62  | 38.83 | 2.89     | 6.82  | 32.53 | 28.62 | 30.58  | PGLS+cw |
| CRYO107  | CC 107    | 1.20 | 28.82 | 14.95 | 31.52 | 3.74     | 6.48  | 36.40 | 32.12 | 71.18  | PGLS+cw |
| 5IT107   | 5MR1      | 1.34 | 23.05 | 13.77 | 25.53 | 2.57     | 6.32  | 25.75 | 48.75 | 22.97  | PGLS    |
| 5IT107   | 5IT107    | 1.37 | 22.70 | 10.20 | 29.67 | 2.95     | 7.13  | 33.83 | 36.50 | 46.62  | PGLS+cw |
| 7HA1     | 7HA2      | 1.36 | 19.42 | 12.20 | 27.93 | 2.19     | 6.10  | 25.33 | 46.77 | 20.48  | PGLS+cw |
| 4BO71    | 4BO71     | 1.32 | 20.77 | 13.77 | 25.55 | 4.74     | 6.20  | 43.13 | 31.30 | 42.18  | PGLS+cw |
| 4BO71    | 5IE1-3I_3 | 1.07 | 25.50 | 16.75 | 19.48 | 6.29     | 5.20  | 45.25 | 35.25 | 136.77 | PGLS    |
| V        | 11d       | 0.94 | 25.13 | 24.72 | 16.53 | 6.31     | 6.45  | 43.18 | 40.27 | 132.53 | x       |
| V        | 11i       | 0.94 | 25.13 | 24.72 | 16.53 | 6.31     | 6.45  | 43.18 | 40.27 | 132.53 | x       |
| V        | K4310     | 1.21 | 30.00 | 22.92 | 22.58 | 5.35     | 5.28  | 37.68 | 39.72 | 45.72  | x       |
| V        | K459      | 1.21 | 30.97 | 22.72 | 22.28 | 3.92     | 5.73  | 37.93 | 39.82 | 44.37  | x       |
| O        | Co1 C     | 0.97 | 26.62 | 22.90 | 19.95 | 5.86     | 6.57  | 42.93 | 37.08 | 116.42 | PGLS    |
| O        | Co1 D     | 0.97 | 26.62 | 22.90 | 19.95 | 5.86     | 6.57  | 42.93 | 37.08 | 116.42 | PGLS+cw |
| O        | 15-8 D    | 0.95 | 25.45 | 22.83 | 13.00 | 6.89     | 6.62  | 46.08 | 40.88 | 119.57 | PGLS    |
| 7FI1     | 7FI1      | 1.13 | 25.82 | 13.90 | 8.18  | 4.18     | 5.43  | 60.85 | 30.95 | 80.77  | PGLS+cw |
| M        | M2 C      | 0.97 | 25.97 | 26.10 | 20.35 | 6.61     | 6.70  | 45.58 | 34.10 | 127.60 | x       |
| M        | K5        | 1.24 | 31.52 | 21.53 | 20.97 | 3.78     | 5.68  | 39.18 | 39.87 | 48.35  | PGLS+cw |
| M        | K7        | 1.24 | 31.52 | 21.53 | 20.97 | 3.78     | 5.68  | 39.18 | 39.87 | 48.35  | PGLS    |
| M        | 4CHVB2    | 1.37 | 16.80 | 16.27 | 21.37 | 2.98     | 5.80  | 41.72 | 36.92 | 20.48  | PGLS+cw |
| M        | K152      | 1.21 | 30.82 | 22.95 | 21.78 | 3.91     | 5.73  | 38.55 | 39.72 | 44.23  | PGLS    |
| B        | K         | 0.93 | 25.77 | 22.62 | 20.03 | 7.70     | 6.60  | 45.85 | 34.13 | 136.85 | PGLS    |
| B        | 179-4     | 0.95 | 27.28 | 22.22 | 19.30 | 7.73     | 6.62  | 46.20 | 34.50 | 143.68 | PGLS    |



## Převzatý fylogenetický strom



**Příloha 6:** Fylogenetický strom vypočítaný metodou Bayesian inference, založený na sekvenci *rbcl*. Číselně jsou zobrazeny bayesiánské posteriorní pravděpodobnosti (PP) větší než 0,8. - znamená že PP < 0,8. Strom byl zakořeněn pomocí funkce "midpoint root" v program FigTree. Měřítka pod stromem označuje předpokládaný počet substitucí na pár bazí. Linie na stromě s \* nebyly měřeny a pochází z GeneBank databáze. Strom převzat od Pichrtové (nepublikováno).