

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Bakalářská práce

# **Pohlavní rozmnožování ochrofytních řas**

Sexual reproduction of ochrophyte algae

**Kateřina Procházková**

Školitel: Mgr. Marek Eliáš, Ph.D.

Praha 2010

Chtěla bych poděkovat svému školiteli, Markovi Eliášovi, za vedení této práce, připomínky k textu a za čas, který si na mě našel. Ráda bych poděkovala také Kataríně Nemjové – za to, že mě zasvětila do tajů laboratorní práce, ochotu vždy mi cokoliv vysvětlit a trpělivost, která mě pokaždé mile překvapila. Poděkování patří ale celému týmu algologického pracoviště, kde, jak jsem poznala, panuje vskutku příjemná atmosféra.

Velký dík patří především mé rodině a přátelům za všestrannou pomoc a podporu během celého studia.

## **Abstrakt**

Pohlavní rozmnožování je jedním ze specifických znaků eukaryot. Téměř veškeré znalosti, které o pohlavním procesu máme, vycházejí ze studií provedených na živočiších a rostlinách. Ve skutečnosti však víme jen nepatrný zlomek toho, co by nám o distribuci a dalších aspektech pohlavního procesu mohly prozradit protistní organismy. U naprosté většiny z nich chybí jakékoliv důkazy o tom, že k pohlavnímu procesu skutečně dochází. Není však vyloučeno, že domnělá asexualita protist je pouze lidským artefaktem. Také u většiny ochrofytních řas, kterým je věnována značná část této bakalářské práce, pohlavní proces neznáme. Pozorován byl pouze u jedinců, kteří náležejí do šesti z šestnácti doposud popsanych tříd skupiny Ochrophyta. V některých případech byl zjištěn také environmentální faktor, který stimuluje tvorbu pohlavních buněk.

Postupné vyjasňování fylogeneze, které můžeme očekávat v následujících letech spolu se znalostí biologie ochrofytních řas nám může poskytnout informace o případné sexualitě této skupiny.

**Klíčová slova:** pohlavní rozmnožování, skrytý sex, protista, řasy, Ochrophyta

## **Abstract**

Sexual reproduction is one of the specific features of eukaryotes. Almost all the knowledge that we have about the sexual process is based on studies conducted on animals and plants. In fact, we know only a tiny fraction of what protist organisms could reveal about distribution and other aspects of the sexual process. For the vast majority of them we miss any evidence that the sexual process actually occurs. However, it is conceivable that the putative protist asexuality is only a human artifact. Likewise, for most ochrophyte algae, which are the main subject of this thesis, the sexual process is unknown. It has been observed only in individuals belonging to six of the sixteen hitherto described classes of Ochrophyta. In some cases, an environmental factor that stimulates the formation of gametes was also found.

The gradual clarification of the phylogeny that we can expect in the years coming, along with knowledge of biology of ochrophyte algae, can provide more information about sexuality in this group.

**Key words:** sexual reproduction, cryptic sex, protist, algae, Ochrophyta

## Obsah

1. Úvod .....	5
2. Pohlavní rozmnožování .....	6
3. Metody k dokazování pohlavního rozmnožování .....	7
3.1. Přímé důkazy (organismální znaky) .....	7
3.2. Nepřímé důkazy (molekulárně-genetické znaky) .....	8
4. Ochrophyta (fotosyntetická Stramenopiles) .....	9
4.1. Obecná charakteristika .....	9
4.2. Dictyochophyceae .....	11
4.3. Pelagophyceae .....	12
4.4. Bolidophyceae .....	12
4.5. Bacillariophyceae (rozsivky) .....	13
4.6. Eustigmatophyceae .....	13
4.7. Synchronophyceae .....	14
4.8. Chrysophyceae s.l. (zlativky) .....	15
4.9. Raphidophyceae (chloromonády) .....	19
4.10. Pinguiphyceae .....	21
4.11. Chrysomerophyceae .....	22
4.12. Xanthophyceae (různobrvky) .....	22
4.13. Phaeothamniophyceae .....	23
4.14. Aurearenophyceae .....	24
4.15. Schizocladophyceae .....	24
4.16. Phaeophyceae (chaluhy) .....	25
5. Závěr .....	26
6. Použitá literatura .....	27

# 1. Úvod

Existence pohlavního rozmnožování vzbuzuje pozornost vědců již několik století. Teprve až v druhé polovině toho minulého se objevila celá řada hypotéz, které se pokouší vysvětlit vznik pohlavního rozmnožování, a zejména pak jeho přítomnost u současně žijících druhů. Naše znalosti o evoluci sexuality, a to platí téměř pro jakoukoliv problematiku evoluční biologie, vycházejí z prací týkajících se především živočichů a rostlin (Dunthorn & Katz 2010), tj. organismů se složitou tělní stavbou a značnou komplexitou. Oba taxony však ve fylogenetických stromech představují pouze nepříliš rozsáhlé větve (Burki et al. 2008). Každý z těchto taxonů náleží k odlišné eukaryotické linii, tím pádem jsou vzájemně nepřibuzné (Simpson & Roger 2004). Z tohoto důvodu bychom se mohli domnívat, že pohlavní rozmnožování je nejčastějším způsobem reprodukce eukaryot a mohli bychom ho tedy nalézt také u ostatních skupin uvnitř eukaryotického stromu života (Schurko et al. 2009). Nicméně poměrně dlouho již víme, že naprostou většinu genetické diverzity eukaryot naší planety tvoří protistní organismy (Keeling 2004). U protist naopak mnohem častěji předpokládáme, že se množí asexuálně (Dunthorn & Katz 2010). Asexualita v tomto případě nevyvolává takový zájem vědeckých pracovníků (Ekelund & Rønn 2008), který je v případě domnělé asexuality věnován mnohobuněčným makroskopickým organismům, které byly zmíněny výše.

V této práci se nejprve budu zabývat pohlavním rozmnožováním u eukaryot obecně. Na několika příkladech pak představím nejčastěji používané metody či znaky, kterými jeho přítomnost můžeme prokázat, přičemž zohledním i jejich výhody a nevýhody. Příklady budou vycházet především ze studií provedených na protistních organismech. V další části se budu zabývat zajímavou skupinou řas – Ochrophyta. Shrnu současné znalosti o jednotlivých třídách. Velmi stručně pojednám o skupinách, u nichž je pohlavní rozmnožování poměrně dobře známo. Zaměřím se naopak na méně probádané skupiny. Naše znalosti o pohlavním procesu ochrofytních řas přitom vycházejí pouze z přímých pozorování. U většiny tříd jej doposud neznáme, a tudíž nevíme, zda svou choulostivější fází životního cyklu pouze skrývají před zraky vědeckých pracovníků, nebo zda tuto schopnost během evoluce ztratili. Přitom právě znalost o rozšíření pohlavního rozmnožování mezi jednobuněčnými eukaryoty nám pomůže pochopit kupříkladu: (i) kdy v evoluci mohlo pohlavní rozmnožování vzniknout a (ii) spolu se znalostmi biologie organismů samotných i to, za jakým účelem vzniklo.

## 2. Pohlavní rozmnožování

Pohlavní rozmnožování (amfimixie) je charakteristickým znakem eukaryot. Tento způsob rozmnožování zahrnuje meiózu, během níž dochází k replikaci homologních chromosomů. Důležitým krokem je zejména náhodné třídění chromosomů a genetická rekombinace, které generují variabilitu. Rekombinace je následována dvěma cykly meiotického dělení. Meiotické produkty dvou jedinců stejného druhu později splývají. Meióza a syngamie jsou spojeny s rozmnožováním hlavně u makroskopických organismů, není tomu tak ale u všech eukaryot (Dunthorn & Katz 2010). Jistou formu rekombinace můžeme nalézt u bakterií, u nichž pomocí různých mechanismů dochází k přenosu a následné inkorporaci genetické informace z jedné buňky do druhé (Vos 2009).

Všeobecně se přijímá názor, že pohlavní rozmnožování je převažující způsob reprodukce u současně žijících eukaryot (White 1987). Intenzivně bylo studováno u některých mnohobuněčných taxonů: z říše Opisthokonta u živočichů a hub, z říše Archaeplastida u suchozemských rostlin (Schurko et al. 2009). Velmi málo víme o pohlavním procesu u protist. Naprostá většina z nich je považována za asexuální právě proto, že přímé důkazy (podrobněji kapitola 3.1.) o tom, že k pohlavnímu rozmnožování skutečně dochází, chybí. Neschopnost tento proces pozorovat může být zapříčiněna tím, že: (i) k němu dochází vzácně; (ii) daný organismus pěstujeme při nevhodných laboratorních podmínkách; (iii) studovaný druh nevykazuje žádné na první pohled pozorovatelné znaky uplatňující se při pohlavním procesu (Dunthorn & Katz 2010).

Během několika posledních let vzrostl počet prací, které využívají moderních technik (podrobněji kapitola 3.2.) k odhalování kryptického pohlavního rozmnožování. Zcela jistě největším překvapením bylo prokázání pohlavního procesu u řady parazitických protist, kteří byly považováni za výhradně nepohlavně se množící organismy. Zdá se tak, že vzácný výskyt pohlavního rozmnožování hraje významnou roli v evoluci patogenních mikroorganismů (Schurko et al. 2009). Nejen, že takováto událost snižuje účinnost diagnostických metod, které jsou zaměřeny výhradně na detekci asexuálních taxonů (Schurko et al. 2008), ale může dojít také k zvýšení virulence parazita.

### 3. Metody k dokazování pohlavního rozmnožování

Studium organismů z hlediska toho, zda jsou schopni se pohlavně rozmnožovat, nám umožní dozvědět se mimo jiné i to, do jaké míry je tento proces mezi eukaryoty všudypřítomný. Naši pozornost přitahují zejména taxony, u nichž by mohlo k pohlavnímu procesu docházet, avšak nebyl nikdy pozorován (Schurko et al. 2008). Pro potvrzení toho, že k tomuto procesu dochází, se tradičně využívá přítomnosti morfologických, biochemických či behaviorálních znaků u zkoumaných organismů, nicméně řada recentních studií je založena na molekulárně-genetických znacích (Schurko et al. 2009). Kombinace těchto dvou přístupů může poskytnout silný důkaz o přítomnosti či možné absenci pohlavního rozmnožování. Velmi často se stává, že se výsledky těchto metod dostávají do vzájemného rozporu (shrnuto v Schurko et al. 2009). Přítomnost či absence zjištěných znaků se totiž mnohdy dá vysvětlit pomocí jiných mechanismů, které ani nemusí souviset s pohlavním rozmnožováním. Pro spolehlivé potvrzení výskytu pohlavního rozmnožování u studovaného druhu je proto vždy nutné použít více metod (Schurko et al. 2009). Takovéto důkazy mohou pak vést k testování hypotéz týkajících se udržení pohlavního rozmnožování, jenž byly navrženy pro živočichy a rostliny, nebo ke vzniku hypotéz nových.

V současné době sice máme k dispozici celou řadu metod, avšak pouze některé můžeme použít u všech eukaryot. Komplikace nastanou ale i v případě, že některou z metod použijeme a přítomnost znaku značící výskyt pohlavního rozmnožování opravdu zjistíme. Zde největším problémem je pro nás to, že nedokážeme pořádně rozlišit: (i) současný výskyt pohlavního procesu od jeho nedávné ztráty a (ii) mezi asexualitou, fakultativním a obligátním pohlavním rozmnožováním (Schurko et al. 2009).

#### 3.1. Přímé důkazy (organismální znaky)

K prokázání pohlavního rozmnožování se tradičně využívá přítomnosti pozorovatelných znaků. Jedná se o různé reprodukční struktury, specifické chování při rozmnožování nebo výskyt samčího pohlaví (Schurko et al. 2008). Tyto znaky jsou dobře pozorovatelné především u mnohobuněčných organismů. U většiny protist jsou naopak nepostřehnutelné. To je zapříčiněno zejména jejich velikostí. Je také možné, že k pohlavnímu procesu dochází sice vzácně, ale při velkém počtu jedinců můžeme tuto událost snadno přehlédnout (Dunthorn & Katz 2010). Neschopnost pozorovat pohlavní rozmnožování by mohla být zapříčiněna i tím,

že podmínky spouštějící pohlavní proces stále neznáme přesto, že řadu druhů již dokážeme kultivovat. Je třeba si uvědomit, že absence organismálních znaků není spolehlivým důkazem pro absenci pohlavního rozmnožování (Schurko et al. 2009).

Problémem je, že ani přítomnost organismálních znaků nemusí nutně znamenat, že k pohlavnímu procesu skutečně dochází. Případy, kdy zcela chybí doklady o funkčnosti znaku během pohlavního rozmnožování, jsou známy zejména u živočichů (shrnutí v Schurko et al. 2009). Lze se domnívat, že podobně tomu bude také u protist.

### **3.2. Nepřímé důkazy (molekulárně-genetické znaky)**

V minulosti jsme, ve snaze potvrdit výskyt pohlavního rozmnožování, byli odkázáni pouze na přítomnost organismálních znaků. Tyto znaky ale vzhledem k velikosti a značné morfologické diverzitě protist často není možné rozlišit pouze na základě přímého pozorování, proto je nutné použít znaky genetické. Velkou výhodou těchto metod je to, že se dají použít téměř u všech eukaryot. Při jejich aplikaci navíc nejsme vázáni na znalosti týkající se reprodukce a životního cyklu studovaných organismů (Schurko et al. 2009).

U genomu mnoha protist, u nichž nebylo pohlavní rozmnožování nikdy pozorováno, se vyskytují homologické geny uplatňující se při meiózi, což naznačuje, že by k meiózi mohlo docházet skrytým způsobem. To bylo prokázáno u dvou exkavátních linií: *Giardia* (Ramesh et al. 2005), *Trichomonas* (Malik et al. 2008) a u opisthokontního rodu *Monosiga* (Carr et al. 2010), který je sesterskou skupinou živočichů.

Dalším dokladem pro pohlavního rozmnožování je absence vazby mezi lokusy, což ukazuje na to, že dochází k rekombinaci mezi odlišnými haplotypy, tedy pravděpodobně sexu. Tento znak pohlavního rozmnožování byl prokázán u zelené řasy *Ostreococcus* (Grimsley et al. 2010), vůbec nejmenšího známého eukaryotického organismu, a také u rodu *Pseudoperkinsus*, což je mořský organismus příbuzný živočichům (Marshall & Berbee 2010).



## 4. Ochrophyta (fotosyntetická Stramenopiles)

### 4.1. Obecná charakteristika

Ochrophyta, někdy nazývaná také Heterokontophyta nebo Chromophyta, představují velmi významnou skupinu převážně mořských, ale také sladkovodních a terestrických řas. Zahrnují jednobuněčné, vláknité, coenocytické i koloniální zástupce. U jedné linie se dokonce nezávisle na živočiších a houbách vyvinula pravá mnohobuněčnost. Velikost ochrofytů se pohybuje od několika mikrometrů u pikoplanktonních druhů až po několik desítek metrů u chaluh.

Podle databáze AlgaeBase (Guiry & Guiry 2010) ochrofytní řasy zahrnují přibližně 10 000 druhů, což z ní činí druhou největší skupinu fotosyntetických eukaryot. Přes tuto skutečnost je zřejmé, že druhová diverzita ochrofyt je značně podceněna a skutečný počet druhů je pravděpodobně mnohonásobně větší. Nejvíce podhodnocenou skupinou jsou pravděpodobně rozsivky, u nichž dnes již víme, že tradiční rozlišení druhů na základě morfologie křemičité schránky je zcela nedostačující. Někteří autoři proto předpokládají, že jejich počet může dosahovat až 200 000 (Mann 1999). Velká genetická diverzita se skrývá také v mořském prostředí. Odtud byla během posledních dvaceti let popsána řada pikoplanktonních druhů (buňky s průměrem menším než 3  $\mu\text{m}$ ). To v několika případech vedlo k popisu nových tříd (shrnutí v Vaulot et al. 2008).

Multigenová fylogenetická analýza podpořila monofylii skupiny Ochrophyta, která tvoří větev uvnitř fylogenetického stromu skupiny Stramenopiles (Riisberg et al. 2009). Mezi Stramenopiles patří kromě těchto převážně fotoautotrofních organismů také linie s výhradně heterotrofní výživou. Přestože jsou stramenopilní organismy velmi diverzifikovanou skupinou co do typu výživy, tvaru a toho, jaké prostředí obývají, sdílí několik evolučních novinek (i když u některých linií došlo k jejich sekundární redukci, nebo dokonce k úplnému vymizení). Jednou z těchto synapomorfíí je přítomnost dvou bičíků odlišné struktury a funkce (Yoon et al. 2009). Delší, dopředu namířený bičík nese na svém povrchu dvě řady tripartitních mastigonemat, zatímco obvykle kratší, dozadu směřovaný bičík je hladký. V současné době známe nejen strukturní, ale i biochemické složení mastigonemat. Honda et al. (2007) zjistili, že protein tvořící jednu ze složek mastigonemat u Dictyochophyceae a Phaeophyceae je homologický proteinu exprimovaného během spermatogeneze u centrických rozsivek, tvoří jednu ze složek mastigonemat u Dictyochophyceae a Phaeophyceae. U rozsivek tento protein zřejmě funguje při rozpoznávání gamet (Armbrust & Galindo 2001). Gen, který ho kóduje,

vykazuje vysokou vnitrodruhovou a mezidruhovou divergenci. Rychlá evoluce tohoto genu by mohla působit jako reprodukční bariéra mezi odlišnými kmeny rozsivek, a vést tak ke speciaci.

Ochrofytní řasy mají kromě specifické stavby bičíku řadu dalších znaků, z nichž všechny jsou spojeny se strukturou nebo funkcí sekundárního plastidu. Ten je odvozen od primitivní ruduchy, která byla pohlcena heterotrofním eukaryotem (Keeling 2004, 2009). Podle předběžných odhadů, kdy byly pomocí paleontologických nálezů zkalibrovány molekulární hodiny, k tomu mohlo dojít ve středním proterozoiku, přibližně před 1,3 miliardami let (Yoon et al. 2004, 2009). Dalším vývojem došlo k značné diverzifikaci tzv. chromalveolát, kteří jsou potomky předka s tímto plastidem (Yoon et al. 2009). Někteří autoři předpokládají, že sem kromě Stramenopiles patří také Cryptophyta, Haptophyta a Alveolata. Recentní pohled na tuto událost je však komplikovanější (Archibald 2009).

Sekundární endosymbiózu dokládá také přítomnost čtyř membrán na povrchu plastidu (Keeling 2004). K zachycování slunečního záření slouží především chlorofyly *a* a *c*. Fotosyntetickým produktem je  $\beta$ -1,3-glukan, který se ukládá do zásobní vakuoly mimo plastid (Andersen 2004). Tyto a výše zmíněné znaky, jak už bylo řečeno, však nejsou specifické pouze pro Stramenopiles, tedy ani pro Ochrophyta.

Od počátku osmdesátých let, kdy se do biologie začaly zavádět nové molekulární metody (především polymerázová řetězová reakce a sekvenování DNA), dochází k neustálým změnám na různých taxonomických úrovních. Dřívější klasifikace využívala pouze světelnou mikroskopii, a proto nebyla schopna rozlišit některé charakteristické znaky, které se ukázaly při detailnějším studiu buněk. Tyto techniky se tak spolu s elektronovou mikroskopií staly nejlepším nástrojem současného poznání vzájemných vztahů mezi organismy a tedy i jejich evoluce.

U skupiny Ochrophyta došlo k přesunům některých rodů v rámci skupin (např. Kawachi et al. 2002b), popisu nových rodů a druhů (např. Honda & Inouye 2002) a dokonce i ustanovení nových tříd (Guillou et al. 1999, Kawachi et al. 2002a, Kawachi et al. 2003, Horn et al. 2007, Kai et al. 2008).

Ochrophyta v současné době zahrnují šestnáct tříd (Kai et al. 2008, Yoon et al. 2009). Mimo jednotlivých tříd známe i organismy, které nespádají do žádné z těchto tříd, např. rod *Picophagus*. Přestože byla provedena fylogenetická analýza založená na sedmi genech, vzájemné vztahy mezi jednotlivými třídami zůstávají i nadále z velké části nevyjasněny (Riisberg et al. 2009). V posledních letech se kromě samotných tříd ukazuje také přítomnost linií vyššího řádu. Třídy Bolidophyceae a Bacillariophyceae ve všech fylogenetických

stromech vytvářejí monofyletickou skupinu s vysokou statistickou podporou. Blízce příbuzné by mohly být také třídy Pelagophyceae a Dictyochophyceae. Vysoce podpořena byla také monofylie tzv. PX kladu, který byl v minulosti popsán jako nadtřída Fucistia (Cavalier-Smith & Chao 2006). V současné době zahrnuje třídy Phaeothamniophyceae, Schizocladophyceae, Xanthophyceae, Chrysomerothamniophyceae, Aurearenophyceae a Phaeophyceae (Kai et al. 2008, Yoon et al. 2009). Všichni zástupci tohoto kladu mají buněčnou stěnu (Kai et al. 2008). Složky pro tvorbu buněčné stěny jsou patrně uloženy ve váčcích pod plasmatickou membránou. Společným znakem všech zástupců tohoto kladu je také to, že ve vegetativní fázi životního cyklu nejsou přítomna bičíkatá stádia. Patrně nejdůležitější událostí v evoluci PX kladu byl vznik mnohobuněčnosti u chaluh.

Pohlavní rozmnožování bylo dosud prokázáno pouze u šesti z šestnácti doposud popsaných tříd ochrofytních řas: Bacillariophyceae, Chrysophyceae, Synurophyceae, Raphidophyceae, Xanthophyceae a Phaeophyceae (Obr. 5 v příloze). U Chrysophyceae a Synurophyceae probíhá pohlavní proces velmi podobným způsobem, liší se pouze v několika aspektech. Ve shodě s mnoha jinými autory, kteří na základě fylogenetických analýz považují Synurophyceae za pouhou podskupinu Chrysophyceae (jako řád Synurales), budu v této práci používat Chrysophyceae v širším slova smyslu.

V následujícím textu jsou jednotlivé třídy řazeny podle jejich pozice ve fylogenetickém stromu (Obr. 5 v příloze), tj. od bazálních po odvozené.

#### **4.2. Dictyochophyceae**

Zástupci třídy Dictyochophyceae jsou převážně mořští bičíkovci, významní zejména v chladných vodách světových oceánů (Graham & Wilcox 2000). Několik druhů se vyskytuje také ve sladkovodním prostředí. Nacházíme zde jak druhy autotrofní, tak heterotrofní. Někteří mohou obě potravní strategie dokonce i kombinovat. Rod *Dictyocha* je charakteristický tvorbou křemičitých koster. Tyto struktury se dobře zachovávají ve fosilním záznamu a toho můžeme využít při jejich datování, které sahá do období křídly (Graham & Wilcox 2000).

Třída Dictyochophyceae donedávna zahrnovala tři řády, a to Dictyochales, Pedinellales a Rhizochromulinales (Graham & Wilcox 2000). Před několika lety byl ustanoven nový řád Florenciellales (Edwardsen et al. 2007), jehož typovým rodem je *Florenciella parvula*, pikoplanktonní bičíkovec, původně řazený do řádu Dictyochales.

Zároveň se jedná o nejmenšího známého zástupce třídy Dictyochophyceae (Eikrem et al. 2004).

U zástupců této třídy se mi nepodařilo nalézt literární doklady pohlavního procesu, avšak některé práce se odkazují na literaturu, ve které autoři zvažují možnost, že k pohlavnímu procesu dochází (Tsutsui et al. 2009).

### 4.3. Pelagophyceae

Pelagophyceae jsou výhradně mořské organismy, u nichž můžeme najít různé typy stélek (od bičíkatých až po vláknité) (Kalina & Váňa 2005). Andersen et al. (1993) tuto třídu ustanovili na základě izolace pikoplanktonního druhu *Pelagomonas calceolata* z Tichého oceánu. Během evoluce u něj došlo k sekundární redukci některých morfologických znaků, především bičíkového aparátu. Později byly popsány také ekonomicky významné druhy, které vytvářejí tzv. *brown tide*. Výše zmínění zástupci patří do řádu Pelagomonadales. Kromě něj se do této třídy řadí také řád Sarcinochrysidales (Saunders et al. 1997). Ten obsahuje rody, které se mnohými znaky podobají zástupcům třídy Phaeophyceae (kapitola 4.16.). Narozdíl od chaluh u třídy Pelagophyceae pohlavní rozmnožování není známo.

### 4.4. Bolidophyceae

Bolidophyceae jsou jednobuněční pikoplanktonní bičíkovci. Oba známé druhy mají velmi jednoduchou vnitřní strukturu buněk a heterokontní bičíky, typické pro všechny stramenopilní organismy. Vzhledem k velikosti buňky dokáží pomocí dlouhého bičíku vyvinout poměrně vysokou rychlost pohybu (Guillou et al. 1999a).

Molekulární data jasně ukazují, že se jedná o sesterskou skupinu k rozsivkám (kapitola 4.5.). Blízkému vztahu k rozsivkám nasvědčuje i podobné složení fotosyntetických pigmentů, kde stejně tak jako u rozsivek převažuje karotenoid fukoxantin (Guillou et al. 1999a). Tato skutečnost však může činit mírné obtíže při odhadování abundance v otevřeném oceánu (Guillou et al. 1999b).

Z toho bychom mohli usuzovat, že předek rozsivek zřejmě vypadal velmi podobně jako dnešní zástupci rodu *Bolidomonas*. Zároveň se však vynořuje řada otázek o evoluci rozsivek. Vegetativní buňky rozsivek totiž postrádají bičíky a mají schopnost produkovat vnější křemičitou stěnu, tzv. frustulu. Tyto znaky nebyly u Bolidophyceae pozorovány. U Bolidophyceae zůstává neobjasněno, zda se také rozmnožují pohlavně, stejně tak jako jejich

příbuzní. Ichinomiya et al. (osobní sdělení) však na základě sekvencí genů 18S rDNA a rbcL zjistili, že do této třídy spadá *Triparma laevis*, pikoplanktonní mořská řasa reprezentující řád Parmales, který se tradičně klade do třídy Chrysophyceae. Zástupci tohoto řádu mají na svém buněčném povrchu křemičité destičky a nejsou u nich známa žádná bičíkatá stádia (Booth & Marchant 1987). Zde se tedy nabízí možnost, že by tyto organismy (včetně druhu *Triparma laevis*) spolu s bičíkovci rodu *Bolidomonas* mohly představovat pouze různá stádia životního cyklu těchto organismů. Právě takto to totiž vypadá u centrických rozsivek. V životním cyklu centrických rozsivek se střídají křemičitá kokální stádia s bičíkatými stádii, která postrádají buněčnou stěnu (Graham & Wilcox 2000). Bičíkatá stádia vznikají při pohlavním procesu a mají značně redukovanou stavbu bičíku. Vše tak nasvědčuje tomu, že bičíkovci *Bolidomonas* představují pouze samčí pohlavní buňky organismů z řádu Parmales. To by znamenalo, že u nich také dochází k pohlavnímu procesu. K potvrzení této domněnky by však jednak bylo potřeba provést studii zaměřenou na ploidiu buněk těchto organismů a potom také podrobit fylogenetické analýze i další druhy z řádu Parmales.

#### **4.5. Bacillariophyceae (rozsivky)**

Rozsivky jsou jednobuněčné kokální řasy, které se vyskytují jednotlivě nebo se spojují a vytvářejí kolonie. Zcela unikátním znakem je schopnost vytvářet křemičitou frustulu. Při buněčném dělení dochází u jedné ze dvou dceřinných buněk k zmenšování velikosti až do chvíle, kdy dosáhne určité, druhově specifické hranice (Mann 1999). Původní velikost je obnovena při pohlavním rozmnožování. K jeho indukci jsou však potřeba i specifické podmínky prostředí. V případě jejich absence buňka umírá (Chepurnov et al. 2008).

U centrických rozsivek je pohlavní rozmnožování oogamické, u penátních izogamické. Z odlišnosti obou strategií vyplývá, že v některých aspektech jako je indukce gametogeneze, se mohou obě skupiny zcela lišit (Chepurnov et al. 2008).

#### **4.6. Eustigmatophyceae**

Eustigmatophyceae jsou jednobuněčné kokální řasy obývající sladkovodní, mořské i terestrické prostředí. Tato skupina byla ustanovena jako samostatná třída poté, co se ukázalo, že několik druhů, tradičně řazených do třídy Xanthophyceae, vykazuje zcela odlišné ultrastrukturální znaky zoospor i vegetativních buněk (Hibberd & Leedale 1971). Patrně nejvýraznějším znakem, který u příslušníků této skupiny můžeme pozorovat, je přítomnost

velkého extraplastidiálního stigmatu v apikální části zoospor. Tato struktura se stala základem pro pojmenování celé třídy. Vyčlenění z Xanthophyceae bylo podpořeno i analýzou pigmentového složení plastidů (Whittle & Casselton 1975). Tuto skutečnost později potvrdila i molekulární analýza, která ukázala, že Eustigmatophyceae představují monofyletickou skupinu, která však není příbuzná třídě Xanthophyceae (Andersen et al. 1998).

Rozmnožování u této skupiny probíhá nepohlavně, nejčastěji pomocí nepohyblivých autospor, zřídka k němu slouží bičíkaté zoospory (Hibberd & Leedale 1971). Pohlavní proces nebyl doposud pozorován.

V současné době známe pouze zlomek předpokládané druhové diverzity této skupiny. Databáze AlgaeBase (Guiry & Guiry 2010) uvádí o něco více než třicet druhů, pro zařazení některých (např. rod *Ellipsoidion* tradičně řazený do třídy Xanthophyceae) však nejsou k dispozici žádné publikované doklady. Velké množství nepopsaných druhů se jistě skrývá v přírodě, a dá se také očekávat, že řada druhů je stále nesprávně umístěna ve třídě Xanthophyceae. Teprve jejich přezkoumání moderními metodami pomůže ozřejmit celou situaci.

#### 4.7. Synchronophyceae

Formálně třída Synchronophyceae obsahuje jediný popsáný druh, *Synchroma grande*, který byl izolován z přílivových tůní na Kanárských ostrovech. Améboidní buňky obsahují několik plastidů, z nichž každý je obalen dvěma membránami. Plastidy jsou umístěny ve společném periplastidiálním prostoru a celý komplex je obalen dalšími dvěma membránami. Přítomnost čtyř plastidových membrán ukazuje na to, že tento komplex zcela jistě vznikl sekundární endosymbiózou (Horn et al. 2007).

Horn et al. (2007) však do své studie o Synchronophyceae nezahrnuli sekvenční data z blízké příbuzných organismů, na což nejprve poukázali Patil et al. (2009), kteří s pomocí fylogenetických analýz prokázali, že nejbližším příbuzným *S. grande* je fotofagotrofní améba *Chlamydomyxa labyrinthuloides*. Během životního cyklu této řasy nedochází k tvorbě stomatocyst (Cavalier-Smith & Chao 2006). Jejich absence byla použita také jako výlučný znak Synchronophyceae, čímž se liší od sesterské skupiny Chrysophyceae s.l. (kapitola 4.8.) (Horn et al. 2007). Tvorba stomatocyst byla naopak prokázána u rodu *Leukarachnion*, který je sesterský k oběma předchozím druhům (Grant et al. 2009). Od předchozích dvou rodů liší také tím, že se živí pouze heterotrofně. Ani u jednoho z výše zmíněných druhů není známo pohlavní rozmnožování. Popis taxonů, které jsou příbuzné *S. grande*, však neodpovídá

přesnému popisu třídy Synchronophyceae, mělo by dojít k formálnímu přehodnocení této třídy. To by však mělo následovat až poté, co budeme mít k dispozici molekulární data z organismů, které by alespoň na základě morfologických podobností mohly náležet do této třídy (Grant et al. 2009).

#### **4.8. Chrysophyceae s.l. (zlativky)**

Chrysophyceae je z taxonomického hlediska jednou z nejstarších tříd v rámci Stramenopiles. Původně obsahovala i druhy, které byly s rozvojem moderních technik, jako je elektronová mikroskopie, spektrofotometrie a molekulárně fylogenetická analýza, přeřazeny do samostatných tříd. Na základě zjištěných znaků postupně došlo k vytvoření nového systému uspořádání organismů. Ustanoveny byly Haptophyta, Choanoflagellata, Dictyochophyceae, Pelagophyceae, Chrysomerophyceae, Phaeothamniophyceae (Bailey et al. 1998) a nově i Pinguiphyceae (Kawachi et al. 2002a). Třída Chrysophyceae v minulosti zahrnovala řád Synurales, který později Andersen (1987) vyčlenil jako samostatnou třídu Synurophyceae. To učinil na základě rozdílnosti biochemických a ultrastrukturálních znaků. Dodnes probíhají diskuse, zda by Synurophyceae neměli být umístěni zpět mezi Chrysophyceae s.l. Ve všech fylogenetických stromech se totiž třída Chrysophyceae s.str. jasně ukazuje jako parafyletická, což je patrné i na Obr. 5 v příloze.

Chrysophyceae je skupina především sladkovodních bičíkovců s jednobuněčnými volně žijícími i koloniálními zástupci (Graham & Wilcox 2000). Jsou zde však i amébovitě formy a druhy žijící ve slizu. Charakteristickým znakem této skupiny organismů je schopnost vytvářet křemičitá odpočívající stádia, tzv. stomatocysty. Stejného složení jsou i šupiny na vnějším povrchu buněk některých zástupců a jejich struktura je klíčová pro determinaci druhu.

Pohlavní rozmnožování zlativek je doprovázeno tvorbou odpočívajících stomatocyst. Tímto způsobem vzniklé stomatocysty se označují jako zygospory. Zygospory jsou stejně jako stomatocysty vzniklé asexuálně (autogamicky) charakteristické přítomností dvou jader. Většina asexuálně vzniklých stomatocyst však obsahuje pouze jediné jádro (Sandgren 1981).

Význam stomatocyst zůstával dlouho neznámý. Stejně tak i význam pohlavního procesu, protože nebyl znám faktor, který by byl zodpovědný za jeho indukci. I z tohoto důvodu je dodnes často považován za vzácnou událost (Sandgren & Flanagin 1986). Dalším důvodem by mohlo být to, že samčí gamety mnohdy postrádají morfologické znaky daného druhu. V přírodních vzorcích je proto takřka nemožné rozlišit tyto gamety od vegetativních

buněk jiného druhu. To platí zejména pro koloniální zástupce a druhy s lorikou (Sandgren 1981). Pohlavní rozmnožování zlativek tak možná v přírodě probíhá mnohem častěji, než by se mohlo zdát.

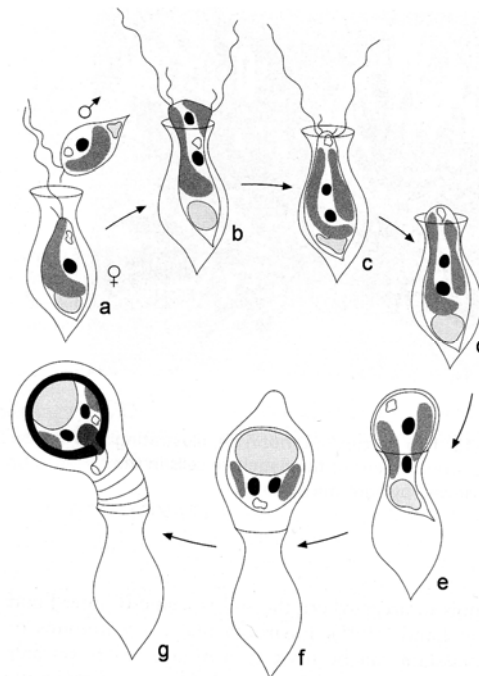
Kultivace těchto organismů nebyla dříve možná, a to kvůli tomu, že se nedařilo vyvinout médium, které by jejich růst podporovalo (Sandgren & Flanagin 1986). První práce se proto zabývají především studiem těchto organismů z přírodních populací. V planktonu byla nalézána pouze jednotlivá stádia pohlavního procesu. Nejčastěji se jednalo o zygoty, ke kterým zůstaly připojeny dvě prázdné loriky. V některých případech byla pozorována i samotná kopulace hologamet, při níž vegetativní buňky slouží jako gamety. To však bylo popsáno jen u několika rodů, např. u *Kephyriopsis* (Kristiansen 1960) a *Chrysoykos* (Kristiansen 1965).

Velkým přínosem pro studium stomatocyst se stala možnost pěstovat tyto řasy *in vitro*. To nám zároveň umožnilo cíleně definovat kultivační podmínky. Výhodou je také to, že tyto pokusy můžeme provádět opakovaně, aniž bychom museli brát v úvahu další faktory. Tímto způsobem se podařilo objasnit to, v jaké fázi životního cyklu jsou stomatocysty vytvářeny a současně také jejich reprodukční význam. K tomu byly použity klonální kultury dvou koloniálních zástupců – mixotrofního druhu *Dinobryon cylindricum* (Sandgren 1981) a autotrofního druhu *Synura petersenii* (Sandgren & Flanagin 1986). Jak se ukázalo, pohlavní rozmnožování má u obou druhů řadu podobných znaků. *Dinobryon* i *Synura* jsou rody heterothalické a dioecické, kde každý klon produkuje pouze jeden typ gamet. K samotné fúzi jsou tedy potřeba dva kompatibilní klony. Takovýchto kompatibilních klonů existuje v přírodě mnoho, což je zřejmé i z provedených pokusů na obou druzích, při kterých pouze malá část buněk podstoupila pohlavní rozmnožování. Zygosporý jsou u obou druhů výsledkem splynutí samostatných, volně plovoucích samčích gamet s gametami samičími, které jsou připojeny k samičí kolonii. Mezistádiem tohoto procesu je pohyblivá planozygota, která dalším vývojem v zygosporu ztrácí všechny bičíky a produkuje křemičitou stěnu. Vzniklé dvojjaderné zygosporý vstupují do dormance. K samotné karyogamii a meiózi, jak se předpokládá, dochází až během klíčení zygosporý. Životní cyklus je tedy pravděpodobně haplontní (Sandgren 1981, Sandgren & Flanagin 1986).

Pohlavní rozmnožování u *Dinobryon cylindricum* je anizogamické (Obr. 1), při němž nahé samčí gamety splývají s gametami samičími, které zůstávají ve vlastní nálevkovité lorice. Výsledkem tohoto splynutí je čtyřbičíkatá planozygota, která obsahuje dva plastidy a dvě jádra. Tato buňka později ztrácí bičíky, pohybuje se k ústí loriky a mění se na křemičitou zygosporu (Sandgren 1981).



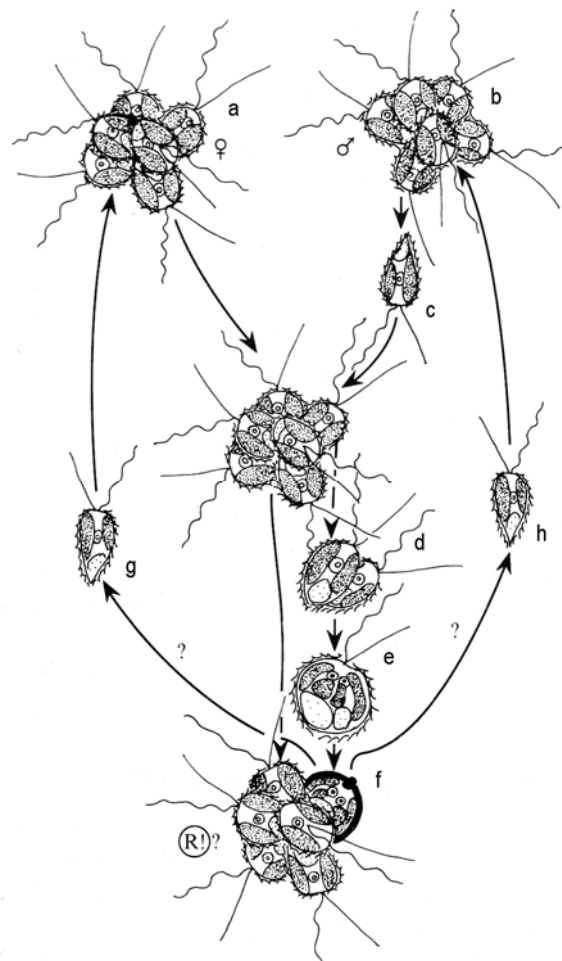
Bylo prokázáno, že samičí klony tohoto druhu produkují feromony, které způsobí gametogenezi samčích buněk, ty pak opustí loriku, plavou směrem k opačně laděné gametě a následně s ní splynou (Sandgren 1981). Ne všechny buňky keříčkovité kolonie jsou ovšem schopny na tento podnět reagovat. Obvykle je tento efekt možný pouze u buněk druhé a třetí řady. Naproti tomu buňky staré nebo naopak ty nedávno rozdělené reagovaly mnohem pomaleji na přítomnost kompatibilního klonu. Schopnost produkovat gamety se tedy mění s věkem vegetativních buněk. Jak se navíc zdá, feromon je samičí gametou zřejmě uvolňován kontinuálně. Pohlavní rozmnožování by proto mohlo být zahájeno kdykoliv, pokud by byl v blízkosti přítomen kompatibilní klon (Sandgren 1981).



Obr. 1. Schématické znázornění pohlavního rozmnožování a s ním spojené tvorby zygospor u *Dinobryon cylindricum*. a – počáteční kontakt samčí a samičí gamety; b – hologamie; c – čtyřbičíkatá planozygota se dvěma plastidy a dvěma jádry; d – planozygota ztrácí bičíky; e – planozygota se pohybuje směrem k otevřenému konci loriky a vylučuje váčky k tvorbě vznikající stěny zygospor; f – nezralá zygospora; g – zralá zygospora s křemičitou stěnou. Upraveno podle Graham & Wilcox (2000), popis z Sandgren (1981).

U druhu *Synura petersenii* je pohlavní rozmnožování izogamické (Obr. 2) (Sandgren & Flanagin 1986). V přítomnosti kompatibilního klonu se samčí kolonie se rozpadají na buňky, které slouží jako hologamety. Ty se však mohou samy uvolňovat z rodičovské kolonie a následně splývají s gametami samičími, které jsou buď také samostatné, nebo zůstávají součástí samičí kolonie. Během počáteční fáze plasmogamie, při níž dochází k laterálnímu splynutí gamet, má každá buňka jeden pár bičíků. Vrstvy křemičitých šupin, které pokrývají

povrch gamet, se navzájem promíchávají a vzniklá buňka si tuto vrstvu ponechává. Čtyřbičíkatá planozygota dalším vývojem ztrácí nejprve dva své bičíky a podstupuje tvarové změny (symetrizaci organel v buňce a fúzi chrysolaminaranových vakuol). Později dochází ke ztrátě zbývajících dvou bičíků a tvorbě křemičité stěny. Zygosporu můžeme pozorovat buď jako samostatný objekt, nebo je ke kolonii připojena na tomtéž místě, kde byla buňka, která vystupovala jako samičí gameta. Součástí samičí kolonie tak mohou v jednu chvíli být různá stádia pohlavního procesu (Sandgren & Flanagin 1986).



Obr. 2. Pohlavní rozmnožování a tvorba zygospor u *Synura petersenii*. a – samičí kolonie; b – samčí kolonie; c – samčí gameta plave k samičí gametě poté, co se uvolnila z kolonie; d – rané stádium plasmogamie, probíhající laterálním splýváním gamet; e – dvojbičíkatá planozygota obsahující čtyři plastidy, dvě jádra a dvě chrysolaminaranové vakuoly; f – zrání stomatocysty se odehrává v místě, které bylo původně obsazeno samičí gametou; klíčení stomatocysty by mohlo být doprovázeno meiózou; g, h – dceřinné buňky. Upraveno podle Hoek et al. (1995).

U obou předchozích druhů byly v experimentálních podmínkách pozorovány jak sexuálně, tak asexuálně vzniklé stomatocysty. Přestože jsou morfologicky nerozlišitelné, vznik každého typu přitom závisí na vlivu určitého stresového faktoru a také na typu klonu.

Jak se zjistilo, tvorba asexuálně vzniklých stomatocyst je inhibována nedostatkem fosforu (Sandgren 1981). K jejich tvorbě může docházet během stacionární i exponenciální fáze. Naopak, tvorba zygospor není přímo závislá na žádném environmentálním faktoru. Tím se zlativky odlišují od ostatních skupin řas. Tyto faktory však ovlivňují růstovou rychlost vegetativních buněk kompatibilních klonů. Počet gamet, které se mohou zúčastnit pohlavního rozmnožování, tak závisí na této rychlosti. Tvorba cyst probíhá během exponenciálního růstu buněk a pokračuje tak dlouho, dokud k tomu budou mít oba klony dostatečný počet buněk. K tomuto procesu by tak daleko častěji mohlo docházet ve sladkých vodách s ne příliš velkými fluktuacemi populací (Sandgren 1981, Sandgren & Flanagin 1986).

U druhů, které byly zmíněny výše, bylo zaznamenáno anteriorní splývání buněk. Kristiansen (1961) předpokládá, že hologamety mohou vzájemně splývat i prostřednictvím svých kaudálních konců. Pod mikroskopem totiž pozoroval *buňky* *Mallomonas caudata* a na základě předchozích pozorování stejného jevu jiným autorem se domnívá, že jde o stádium kopulace buněk. Avšak, jak sám přiznává, žádné jiné stádium nepozoroval. Přitom si lze velmi snadno představit, že mohl zaměnit kaudální fúzi buněk s buněčným dělením, tedy cytokinezí. Z tohoto důvodu nemůžeme s jistotou tvrdit, že jde o další typ izogamního splývání buněk u této skupiny.

#### **4.9. Raphidophyceae (chloromonády)**

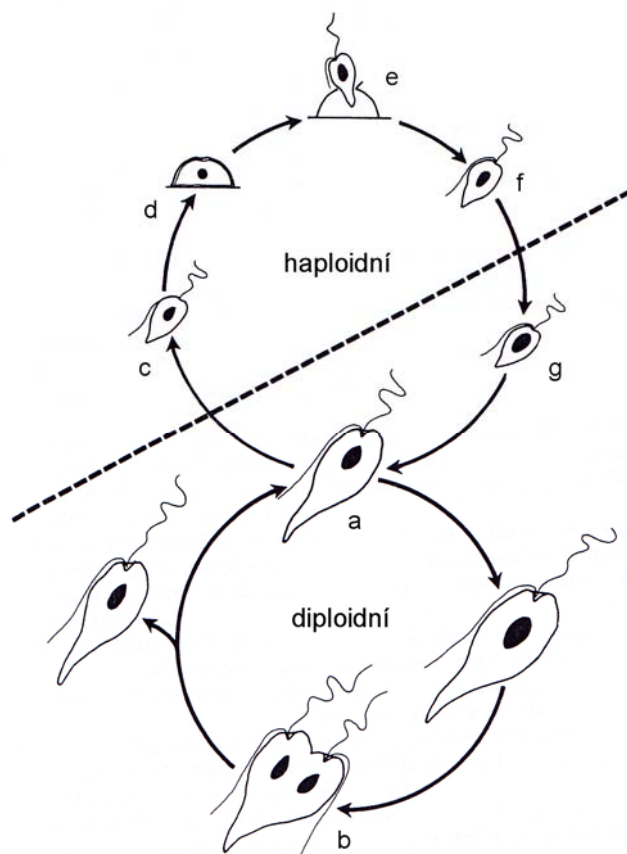
Raphidophyceae je poměrně malá skupina jednobuněčných bičíkovců. Jejich buňky jsou diferencovány na endoplasmu a ektoplasmu, která obsahuje řadu plastidů, vymrštěitelné trichocysty a sliz produkující mukocysty (Kalina & Váňa 2005). Fylogenetická analýza potvrdila, že zástupci této třídy vznikly v mořském prostředí, kde žije také většina doposud známých druhů a k přechodu do sladkovodního prostředí došlo v evoluci pouze jednou (Yamaguchi et al. 2010). V současné době rozeznáváme pět rodů mořských (*Chattonella*, *Chlorinimonas*, *Fibrocapsa*, *Haramonas* a *Heterosigma*) a tři rody sladkovodní (*Gonyostomum*, *Merotricha* a *Vacuolaria*). V minulosti byl do této třídy řazen také mořský rod *Olisthodiscus*, avšak podle ultrastrukturálních a molekulárních znaků se nyní zdá, že zřejmě tvoří samostatnou linii na úrovni třídy (Yamaguchi et al. 2010).

Všichni zástupci s výjimkou dvou rodů, které byly izolovány z mořských písčinych pláží, žijí v planktonu (Yamaguchi et al. 2010). Tento habitat obývá také *Fibrocapsa*, která je na základě sekvence malé ribozomální podjednotky DNA (18S rDNA) považována za bazální rod této třídy. Předek Raphidophyceae tak zřejmě vykazoval podobné znaky jako *Fibrocapsa*.

Planktonní formy jsou tedy původní, teprve druhotně a patrně zcela nezávisle došlo u dvou rodů k přizpůsobení se životu v písku. Stejně tak se jako plesiomorfni znak jeví i přítomnost fukoxantinu, který chybí u sladkovodních zástupců. Ke změně pigmentového složení plastidů tak došlo právě vlivem adaptace na sladkovodní a písčité prostředí (Yamaguchi et al. 2010).

Některé druhy mohou vytvářet vegetační zbarvení vody (tzv. *red tide*), které je často velmi toxické pro vodní živočichy a způsobuje velké ekonomické škody. Z tohoto důvodu se většina pozornosti soustředí zejména na výzkum vegetativních stádií těchto organismů. K pochopení toho, za jakých podmínek jsou tato stadia vytvářena, je třeba znát i ostatní fáze životního cyklu. Ten se podařilo objasnit pouze u několika druhů. Mezi nimi i u dvou druhů rodu *Chattonella* – *C. antiqua* a *C. marina* (Yamaguchi & Imai 1994). Při studiu byla využita epifluorescenční mikroskopie, kdy bylo měřeno relativní množství DNA v jádrech jednotlivých stádiích životního cyklu. Tímto způsobem se daly rozlišit náhlé změny jaderného obsahu, tedy i buňky haploidní od diploidních. V životním cyklu těchto dvou druhů se střídají planktonní vegetativní stadia s bentickými dormantními stadii (Obr. 3). Vegetativní buňky, které jsou diploidní, se za normálních podmínek rozmnožují asexuálně. V případě, že je v růstovém médiu nedostatek živin, prodělávají meiotické dělení a tvoří haploidní buňky. Ty se začnou vlivem nízkých světelných podmínek měnit v cysty. Po ukončení období dormance dochází k excystaci a během velmi krátké doby také k diploidizaci. Vzniklé diploidní buňky dorůstají do velikosti běžných vegetativních buněk. Nicméně o tom, jakým způsobem dochází k diploidizaci, stále nevíme. Žádné splynutí buněk totiž nebylo pozorováno. Životní cyklus je diplontní (Yamaguchi & Imai 1994).

Životní cyklus byl studován také u sladkovodního druhu *Gonyostomum semen* (Cronberg 2005, Figueroa & Rengefors 2006). Podobně jako u mořských zástupců, i u tohoto druhu dochází během životního cyklu k alternaci mezi planktonními a bentickými stadii. Cysty v tomto případě představují encystované vegetativní buňky, které vznikly splynutím gamet. K meiózi dochází ve stadiu cysty. Během excystace se uvolňují gamety, ty později splývají a vznikají diploidní vegetativní buňky. Vlivem nepříznivých podmínek mohou tyto buňky vytvářet také asexuální cysty (Figueroa & Rengefors 2006). Jejich tvorba je indukována dlouhodobou nepřítomností světelných podmínek, a stejně tak jako u sexuálně vzniklých cyst i vyčerpáním dusíku a fosforu z prostředí. V některých aspektech zde tedy můžeme najít jisté shody s mořskými zástupci.



Obr. 3. Schématické znázornění možného životního cyklu u *Chattonella antiqua* a *C. marina*. a – vegetativní buňka; b – mitoticky se dělící buňka; c – meioticky vzniklá buňka před encystací; d – cysta; e – excystace; f – haploidní excystovaná buňka; g – diploidní buňka vzniklá diploidizací. Upraveno podle Yamaguchi & Imai (1994).

#### 4.10. Pinguiphyceae

Řasy třídy Pinguiphyceae jsou charakteristické produkcí neobvykle vysokého množství nenasycených mastných kyselin. Tato vlastnost vedla k tomu, že Kawachi et al. (2002) použili latinské slovo „Pingue“ (v češtině znamená tuk) jako základ pro pojmenování této třídy. Všech pět doposud známých zástupců je jednobuněčných a žije v mořském planktonu. Morfologicky a ultrastrukturně se však vzájemně odlišují. Jejich stélka je monadoidní se dvěma heterokontními bičíky (*Phaeomonas*), kapsální (*Glossomastix*), kokální s lorikou (*Polypodochrysis*) i bez ní (*Pinguicoccus* a *Pinguiochrysis*). U dvou druhů byly pozorovány zoospory. Pohlavní buňky či samotné rozmnožování pozorováno nebylo (Kawachi et al. 2002).

Jak již bylo uvedeno, tyto druhy mají, podobně jako Eustigmatophyceae (kapitola 4.6.), uvnitř svých buněk velké množství mastných kyselin. Jejich lokalizace je však neznámá (Andersen et al. 2002). Můžeme proto očekávat, že výzkum této skupiny bude stoupat.

#### 4.11. Chrysomerophyceae

Chrysomerophyceae jsou mořské organismy, které obývají zejména bentické prostředí (Cavalier-Smith et al. 1995). Zástupci této třídy byli původně řazeni do třídy Chrysophyceae (kapitola 4.8.), a to jako řád Chrysomeridales. Nedávno provedená molekulárně fylogenetická analýza ukázala, že Chrysomerophyceae tvoří bazální linii PX kladu (Kai et al. 2008). Tato studie také naznačila, že by sem mohl patřit také rod *Tetrasporopsis*, v současné době řazený do třídy Phaeothamniophyceae (kapitola 4.13.). Jejich vzájemná příbuznost bude upřesněna až při bližším studiu ultrastruktury a pigmentového složení. Pohlavní rozmnožování není známo.

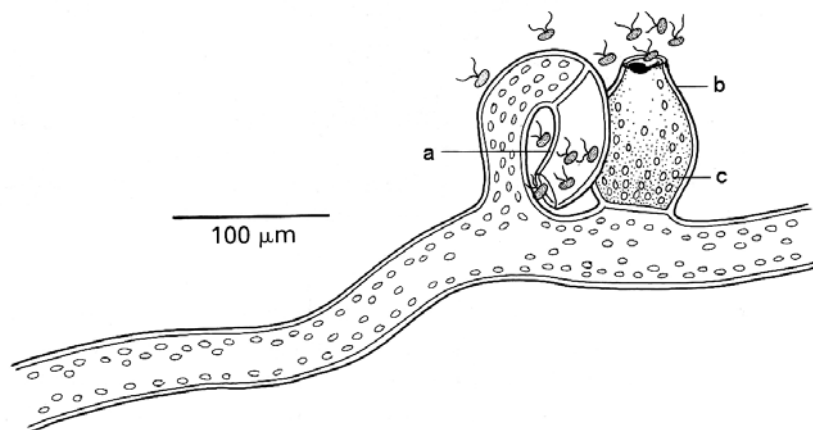
#### 4.12. Xanthophyceae (různobrvky)

Xanthophyceae jsou sladkovodní organismy, které často obývají také vlhké půdní prostředí. Z hlediska morfologie stélky představují velmi diverzifikovanou skupinu, jejíž systém je postaven právě na typu stélek (Kalina & Váňa 2005). Je zřejmé, že tato klasifikace neodpovídá evoluční historii jednotlivých taxonů. To také potvrdila řada studií. Mezi nimi i recentně publikovaná práce, ve které se autoři zaměřili na kokální, trichální a coenocytické zástupce a provedli u nich multigenovou fylogenetickou analýzu (Maistro et al. 2009). Ukázalo se, že zde můžeme rozlišit čtyři klady, avšak pouze jeden odpovídá současnému členění organismů v rámci této třídy. I přes tuto skutečnost je stále používán morfologický druhový koncept.

U většiny druhů je známo pouze nepohlavní rozmnožování. Pohlavní rozmnožování bylo zaznamenáno u tří rodů – *Tribonema*, *Botrydium* a *Vaucheria*. U prvních dvou rodů dochází k izogamii či anizogamii, u třetího zmíněného k oogamii (Lee 2008).

Sifonální řasa rodu *Vaucheria* se vyskytuje ve sladkých vodách a některé druhy žijí také na mořském pobřeží (Smith 1938). K tvorbě pohlavních orgánů často dochází u jedinců rostoucích ve vlhké půdě nebo pomalu tekoucí vodě. Sladkovodní druhy, kterých je většina, jsou homothalické. Mořské jsou naopak heterothalické. Antheridia a oogonia homothalických druhů vyrůstají na stélce blízko sebe, a mohou být buď přisedlá k hlavní stélce (Obr. 4), nebo nesená laterálními větvemi. Antheridia jsou vytvářena o něco dříve než oogonia. Jejich zakončení se stáčí do podoby háčku. Současně se vytváří přepážka, která odděluje protoplast antheridia od zbytku cytoplasmy hlavního vlákna. Ve vzniklém prostoru dochází k tvorbě

spermatozoidů. Podobně i oogonium je od zbytku cytoplasmu separováno buněčnou stěnou. Dozrává v něm pouze jediná vaječná buňka. Spermatozoidy jsou nejprve uvolňovány z antheridia a několik jich následně vstupuje skrze apikální pór do oogonia, avšak pouze jediný splývá s vaječnou buňkou. Ke splnutí gamet dochází poměrně rychle. Vzniklá oospora si vytváří silnou buněčnou stěnu, koncentruje olejové kapky a vstupuje do dormance. V tomto stavu přetrvává několik měsíců. Předpokládá se, že tvorbě nových vláken předchází meióza. Životní cyklus je patrně diplontní (Smith 1938).



Obr. 4. Pohlavní rozmnožování u xanthofytní coenocytické řasy *Vaucheria* sp. a – antheridium; b – oogonium, do něhož pronikají samčí gamety; c – samičí gameta. Upraveno podle South & Whittick (1987).

#### 4.13. Phaeothamniophyceae

Třída Phaeothamniophyceae zahrnuje organismy, původně klasifikované jako zástupci Chrysophyceae a Xanthophyceae (Bailey et al. 1998). Je proto zřejmé, že se většina druhů vyskytuje ve sladkovodním prostředí. Také typ stélek mají podobný (kokální, trichální a kapsální). Z těchto dvou tříd byli vyjmuti na základě molekulárních dat, ultrastrukturálních znaků a pigmentového složení plastidů. Konkrétně se jedná např. o specifickou kombinaci fukoxanthinu a heteroxanthinu a absenci chrysolaminaranové vakuoly. Za zcela unikátní znak byla považována také přítomnost váčků neznámého složení pod plasmatickou membránou (Bailey et al. 1998). Tvorba těchto váčků ovšem není charakteristická pouze pro Phaeothamniophyceae. Kai et al. (2008) je prokázali také u druhu *Aurearena cruciata*. Stejní autoři také na základě molekulárních dat poukázali na to, že je tato třída polyfyletická. Nesprávně jsou zde umístěny dva rody. *Pleurochloridella* je sesterská ke Xanthophyceae a je ji nejspíš vhodné považovat za bazální linii této třídy. Rod *Tetrasporopsis* se nyní jeví jako

blízký příbuzný třídy Chrysomerophyceae. Je však možné, že dalším sekvenováním zástupců Chrysomerophyceae, se ukáže, že *Tetrasporopsis* patří přímo do této třídy. Z toho vyplývá, že schopnost vytvářet váčky mohl mít již společný předek zástupců PX kladu, a že jde tedy o synpleziomorfní znak (Kai et al. 2008).

Doposud je známo pouze vegetativní rozmnožování (Bailey et al. 1998).

#### **4.14. Aurearenophyceae**

Aurearenophyceae je zatím poslední popsaná třída ochrofytních řas (Kai et al. 2008). Tato třída je monotypická, s jediným druhem *Aurearena cruciata*, který byl izolován z písčných pláží Japonska. Získané kmeny se podařilo kultivovat a pozorovat buněčný cyklus. Ten se skládá z pohyblivých bičíkatých buněk, které v reakci na fyzikální podněty (např. zrnka písku) pohltní oba bičíky a ponechají si je pod buněčnou stěnou. Z každé takové buňky se uvolní flagelátní buňka, která následně prodělává buněčné dělení. Pohlavní rozmnožování však nebylo pozorováno (Kai et al. 2008).

#### **4.15. Schizocladiphyceae**

Třída Schizocladiphyceae má pouze jediného zástupce, a tím je mořská řasa *Schizocladia ischiensis* (Kawai et al. 2003). Ta byla izolována z Neapolského zálivu ve Středozemním moři. Její větvená vláknitá stélka svým tvarem velmi připomíná některé zástupce tříd Xanthophyceae a Phaeothamniophyceae. Utrastrukturální, biochemická a molekulární data však naznačují, že nejbližšími příbuznými této skupiny jsou Phaeophyceae. S nimi sdílí i společné prostředí. Je tedy pravděpodobné, že se obě skupiny vyvinuly ze společného předka (Kawai et al. 2003).

Narozdíl od chaluh u této řasy nebylo pozorováno pohlavní rozmnožování. Součástí stélky jsou struktury, které se podobají uniloculárním sporangiím, ve kterých probíhá meiotické dělení u Phaeophyceae. Ovšem to, zda u nich k tomuto procesu také dochází, nevíme. Neznáme ani ploidii buněk tohoto druhu, proto nemůžeme určit, zda se jedná o gametofyt či sporofyt (Kawai et al. 2003).

Důležitými znaky, které odlišují *S. ischiensis* od Phaeophyceae je přítomnost celulózy a mezibuněčných spojů (plasmodesmat) v buněčných stěnách a přechodné zóny bičíku u Phaeophyceae. Tyto znaky chybí u tohoto druhu. Naopak, obě skupiny mají ve svých buněčných stěnách algináty (Kawai et al. 2003).



#### 4.16. Phaeophyceae (chaluhy)

Phaeophyceae jsou mořské řasy s vláknitou či parenchymatickou stélkou. Jedná se o jedinou chromalveolátní linii, u níž se vyvinula pravá mnohobuněčnost (Yoon et al. 2009). To se odehrálo zcela nezávisle na vzniku mnohobuněčnosti u rostlin. Přestože jsou obě skupiny od sebe velmi vzdálené a každá prošla odlišnou evoluční historií (Yoon et al. 2004), u evolučně mladších chaluhy se vyvinuly struktury analogické rostlinným kořenům, stonkům, listům a dalším komplexním orgánům (Yoon et al. 2009).

Phaeophyceae dnes zahrnují okolo 1 800 druhů. Předchozí systém byl založen na morfologických znacích. Molekulární fylogenetika však ukázala, že některé taxony, původně považované za bazální, jsou ve skutečnosti odvozené. K sekundárnímu zjednodušení došlo např. u řádu Ectocarpales (Yoon et al. 2009).

Chaluhy jsou spolu s rozsivkami nejčastěji studovanou třídou ochrofytních řas. Vzhledem k tomu, že jsou mnohobuněčné, některé druhy se staly vhodnými modelovými organismy, mimo jiné ve vztahu k pohlavnímu rozmnožování. Životní cykly, které jsou poměrně komplikované, ukazují na značnou variabilitu v rámci třídy. Během životního cyklu, s výjimkou řádu Fucales, dochází k rodozměně, tj. alternaci gametofytu se sporofytem. K tvorbě gamet dochází uvnitř mnohobuněčných plurilokulárních gametangií. V každé komůrce se vyvíjí jedna pohlavní buňka. Samičí gamety produkují feromony, a lákají tak gamety samčí. Později dochází buď k izogamii, anizogamii, nebo oogamii, která je méně častá. K meiózi dochází v unilokulárních sporangiích (Graham & Wilcox 2000).

## 5. Závěr

Pohlavní rozmnožování je zcela unikátním znakem eukaryot. Jeho výzkumu u protist bylo donedávna věnováno velmi málo pozornosti. U většiny protist nebylo nikdy pozorováno, a tak se předpokládalo, že u většiny z nich se opravdu nevyskytuje. Zejména v posledním desetiletí stoupá počet prací, které dokazují, že k pohlavnímu rozmnožování opravdu může docházet. Navíc, prokázání pohlavního rozmnožování u bazálních linií eukaryot, jako je např. *Giardia*, by mohlo naznačovat, že k jeho vzniku došlo v ranné evoluci eukaryot. Všechny ostatní organismy, by se asexuálními staly teprve druhotně.

Nicméně jeho distribuci u současně žijících eukaryot neznáme. Studie provedené u různých skupin eukaryot by mohly naznačovat, že sexualita protist patrně nebude tak vzácná, jak se myslelo.

## 6. Použitá literatura

- Andersen, R.A., Saunders, G.W., Paskind, M.P. & Sexton, J.P. (1993): Ultrastructure and 18S rRNA gene sequence for *Pelagomonas calceolata* gen. et sp. nov. and the description of a new algal class, the Pelagophyceae classis nov. *Journal of Phycology* 29: 701-715
- Andersen, R.A., Brett, R.W., Potter, D. & Sexton, J.P. (1998): Phylogeny of the Eustigmatophyceae based upon 18 rDNA, with emphasis on *Nannochloropsis*. *Protist* 149: 61-74
- Andersen, R.A., Potter, D. & Bailey, C. (2002): *Pinguicoccus pyrenoidosus* gen. et sp. nov. (Pinguiphyceae), a new marine coccoid alga. *Phycological Research* 50: 57-65
- Andersen, R.A. (2004): Biology and systematics of heterokont and haptophyte algae. *American Journal of Botany* 91: 1508-1522
- Archibald, J.M. (2009): The puzzle of plastid evolution. *Current Biology* 19: R81-R88
- Armbrust, E.V. & Galindo, H.M. (2001): Rapid evolution of a sexual reproduction gene in centric diatoms of the genus *Thalassiosira*. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 3501-3513
- Bailey, J.C., Bidigare, R.R., Christensen, S.J. & Andersen, R.A. (1998): Phaeothamniophyceae classis nova: a new lineage of chromophytes based upon photosynthetic pigments, rbcL sequence analysis and ultrastructure. *Protist* 149: 245-263
- Booth, B.C. & Marchant, H.J. (1987): Parmales, a new order of marine chrysophytes, with descriptions of three new genera and seven new species. *Journal of Phycology* 23: 245-260
- Burki, F., Shalchian-Tabrizi, K. & Pawlowski, J. (2008): Phylogenomics reveals a new „megagroup“ including most photosynthetic eukaryotes. *Biology Letters* 4: 366-369
- Carr, M., Leadbeater, B.S.C. & Baldauf, S.L. (2010): Conserved meiotic genes point to sex in the Choanoflagellates. *Journal of Eucaryotic Microbiology* 57: 56-62
- Cavalier-Smith, T., Chao, E.E. & Allsopp, M.T.E.P. (1995): Ribosomal RNA evidence for chloroplast loss within Heterokonta: pedinellid relationships and a revised classification of ochristan algae. *Archiv für Protistenkunde* 145: 209-220
- Cavalier-Smith, T. & Chao, E.E.Y. (2006): Phylogeny and megasystematics of phagotrophic heterokonts (kingdom Chromista). *Journal of Molecular Evolution* 62: 388-420

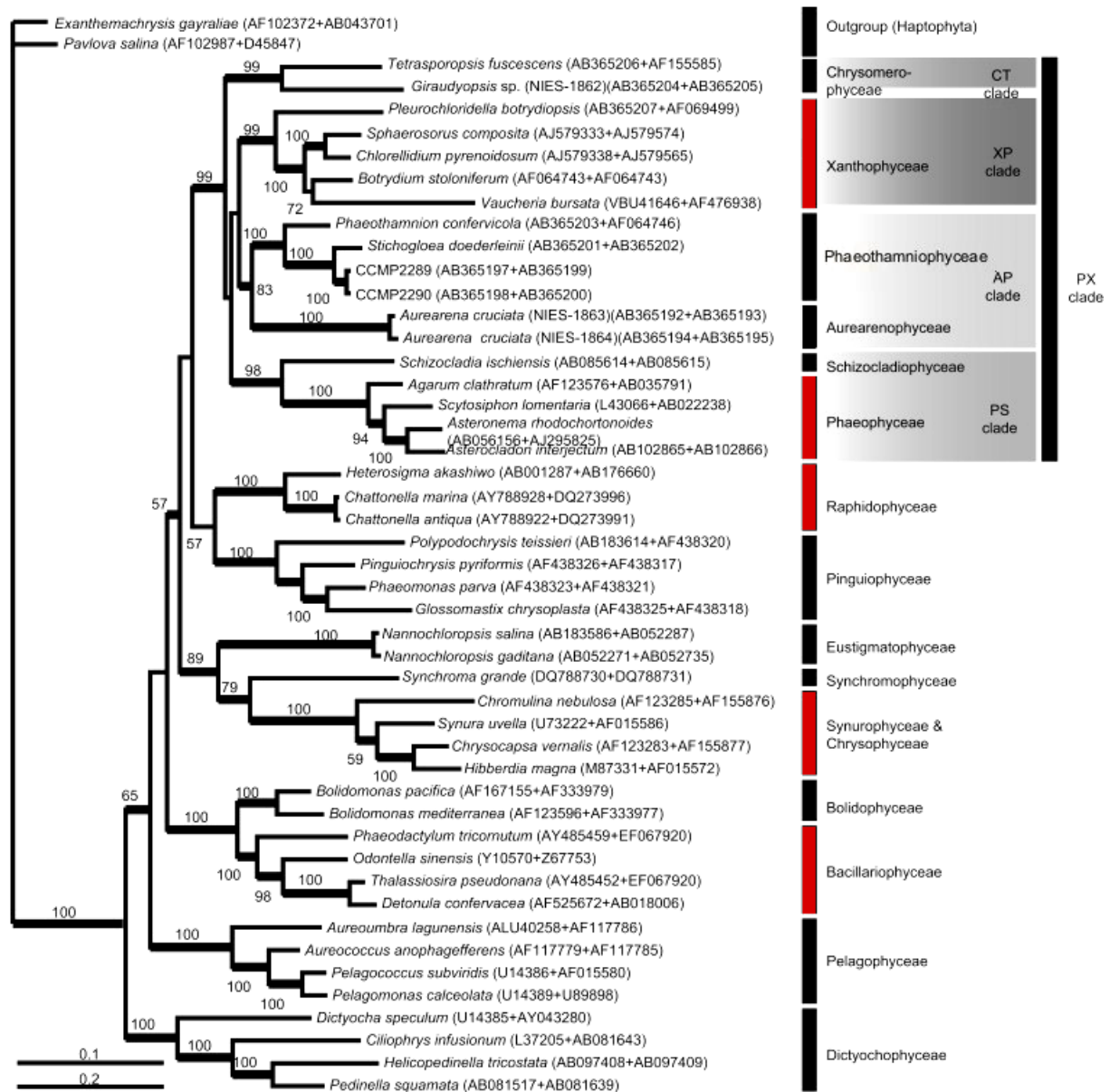
- Chepurnov, V.A., Mann, D.G., von Dassow, P., Vanormelingen, P., Gillard, J., Inzé, D., Sabbe, K. & Vyverman, W. (2008): In search of new tractable diatoms for experimental biology. *BioEssays* 30: 692-702
- Cronsberg, G. (2005): The life cycle of *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae). *Phycologia* 44: 285-293
- Dunthorn, M. & Katz, L.A. (2010): Secretive ciliates and putative asexuality in microbial eukaryotes. *Trends in Microbiology* 18: 183-188
- Edwardsen, B., Eikrem, W., Shalchian-Tabrizi, K., Riisberg, I., Johnsen, G., Naustvoll, L. & Thronsen, J. (2007): *Verrucophora farcimen* gen. et sp. nov. (Dictyochophyceae, Heterokonta) – a bloom-forming ichthyotoxic flagellate from the Skagerrak, Norway. *Journal of Phycology* 43: 1054-1070
- Eikrem, W., Romari, K., Latasa, M., Le Gall, F., Thronsen, J. & Vaultot, D. (2004): *Florenciella parvula* (Dictyochophyceae) a small flagellate isolated from the English Channel. *Phycologia* 43: 658-668
- Ekelund, F. & Rønn, R. (2008): If you don't need change, maybe you don't need sex. *Nature* 453: 587
- Figueroa, R.I. & Rengefors, K. (2006): Life cycle and sexuality of the freshwater raphidophyte *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae). *Journal of Phycology* 42: 859-871
- Graham, L.E. & Wilcox, L.W. (2000): *Algae*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey., 640 pp
- Grant, J., Tekle, Y.I., Anderson, O.R., Patterson, D.J. & Katz, L.A. (2009): Multigene evidence for the placement of a heterotrophic amoeboid lineage *Leukarachnion* sp. among photosynthetic Stramenopiles. *Protist* 160: 376-385
- Grimsley, N., Péquin, B., Bachy, C., Moreau, H. & Piganeau, G. (2010): Cryptic sex in the smallest eukaryotic marine green alga. *Molecular Biology and Evolution* 27: 47-54
- Guillou, L., Chrétiennot-Dinet, M.J., Medlin, L.K., Claustre, H., Loiseaux-de Goër, S. & Vaultot, D. (1999a): *Bolidomonas*: a new genus with two species belonging to a new algal class, the Bolidophyceae (Heterokonta). *Journal of Phycology* 35: 368-381
- Guillou, L., Moon-Van Der Staay, S.Y., Claustre, H., Partensky, F. & Vaultot, D. (1999b): Diversity and abundance of Bolidophyceae (Heterokonta) in two oceanic regions. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 4528-4536
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2010): *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 10 May 2010

- Hibberd, D.J. & Leedale, G.F. (1971): A new algal class – the Eustigmatophyceae. *Taxon* 20: 523-525
- Hoek, C. van den, Mann, D.G. & Jahns, H.M. (1995): *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, 627 pp
- Honda, D. & Inouye, I. (2002): Ultrastructure and taxonomy of a marine photosynthetic stramenopile *Phaeomonas parva* gen. et sp. nov. (Pinguiphyceae) with emphasis on the flagellar apparatus architecture. *Phycological Research* 50: 75-89
- Honda, D., Shono, T., Kimura, K., Fujita, S., Iseki, M., Makino, Y. & Murakami, A. (2007): Homologs of the sexually induced gene 1 (sig1) product constitute the stramenopile mastigonemes. *Protist* 158: 77-88
- Horn, S., Ehlers, K., Fritzsche, G., Gil-Rodríguez, M.C., Wilhelm, C. & Schnetter, R. (2007): *Synchroma grande* spec. nov. (Synchromophyceae class. nov., Heterokontophyta) an amoeboid marine alga with unique plastid complexes. *Protist* 158: 277-293
- Kai, A., Yoshii, Y., Nakayama, T. & Inouye, I. (2008): Aurearenophyceae classis nova, a new class of Heterokontophyta based on a new marine unicellular alga *Aurearena cruciata* gen. et sp. nov. inhabiting sandy beaches. *Protist* 159: 435-457
- Kalina, T. & Váňa, J. (2005): *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum, Praha, 606 pp
- Kawachi, M., Inouye, I., Honda, D., O'Kelly, C.J., Bailey, J.C., Bidigare, R.R. & Andersen, R.A. (2002a): The Pinguiphyceae classis nova, a new class of photosynthetic stramenopiles whose members produce large amounts of omega-3 fatty acids. *Phycological Research* 50: 31-47
- Kawachi, M., Noël, M.H. & Andersen, R.A. (2002b): Re-examination of the marine „chrysophyte” *Polypodochrysis teissieri* (Pinguiphyceae). *Phycological Research* 50: 91-100
- Kawai, H., Maeba, S., Sasaki, H., Okuda, K. & Henry, E.C. (2003): *Schizocladia ischiensis*: a new filamentous marine chromophyte belonging to a new class, Schizocladiphyceae. *Protist* 154: 211-228
- Keeling, P.J. (2004): Diversity and evolution history of plastids and their hosts. *American Journal of Botany* 91: 1481-1493
- Keeling, P.J. (2009): Chromalveolates and the evolution of plastids by secondary endosymbiosis. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 56: 1-8
- Kristiansen, J. (1961): Sexual reproduction in *Mallomonas caudata*. *Botanisk Tidsskrift* 57: 306-309

- Kristiansen, J. (1965): Occurrence and ecology of *Chrysolykos planctonicus*, a chrysomonad with sexual reproduction. *Botanisk Tidsskrift* 61: 98-105
- Lee, R.E. (2008): *Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, 547 pp
- Maistro, S, Broady, P.A., Andreoli, C. & Negrisolo, E. (2009): Phylogeny and taxonomy of Xanthophyceae (Stramenopiles, Chromalveolata). *Protist* 160: 412-426
- Malik, S.B., Pightling, A.W., Stefaniak, L.M., Schurko, A.M. & Logsdon, J.M.Jr (2008): An expanded inventory of conserved meiotic genes provides evidence for sex in *Trichomonas vaginalis*. *PLoS ONE* 3: 1-13
- Mann, D.G. (1999): The species concept in diatoms. *Phycologia* 38: 437-495
- Marshall, W.L. & Berbee, M.L. (2010): Population level analyses indirectly reveal cryptic sex and life-history traits of *Pseudoperkinsus tapetis* (Ichthyosporae, Opisthokonta) a unicellular relative of the animals. *Molecular Biology and Evolution*, in press
- Patil, V., Brate, J., Shalchian-Tabrizi, K. & Jakobsen, K.S. (2009): Revisiting the phylogenetic position of *Synchroma grande*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 56: 394-396
- Ramesh, M.A., Malik, S.B. & Logsdon, J.M. Jr (2005): A phylogenomic inventory of meiotic genes: evidence for sex in *Giardia* and an early eukaryotic origin of meiosis. *Current Biology* 15: 185-191
- Riisberg, I., Orr, R.J.S., Kluge, R., Shalchian-Tabrizi, K., Bowers, H.A., Patil, V., Edvardsen, B. & Jakobsen, K.S. (2009): Seven gene phylogeny of heterokonts. *Protist* 160: 191-204
- Sandgren, C.D. (1981): Characteristics of sexual and asexual resting cyst (statospore) formation in *Dinobryon cylindricum* Imhof (Chrysophyceae). *Journal of Phycology* 17: 199-210
- Sandgren, C.D. & Flanagan, J. (1986): Heterothallic sexuality and density dependent encystment in the chrysophycean alga *Synura petersenii* Korsh. *Journal of Phycology* 22: 206-216
- Saunders, G.W., Potter, D. & Andersen, R.A. (1997): Phylogenetic affinities of the Sarcinochrysidales and Chrysomeridales (Heterokonta) based on analyses of molecular and combined data. *Journal of Phycology* 33: 310-318
- Schurko, A.M. & Logsdon, J.M. Jr (2008): Using a meiosis detection toolkit to investigate ancient asexual „scandals“ and the evolution of sex. *BioEssays* 30: 579-589
- Schurko, A.M., Neiman, M.N. & Logsdon, J.M. Jr (2009): Signs of sex: what we know and how we know it. *Trends in Ecology & Evolution* 24: 208-217

- Simpson, A.G.B. & Roger, A.J. (2004): The real „kingdoms“ of eukaryotes. *Current Biology* 14: R693-R696
- Smith, G.M. (1938): *Cryptogamic Botany: Volume I. Algae and Fungi*. McGraw-Hill, New York and London, 545 pp
- South, G.R. & Whittick, A. (1987): *Introduction to Phycology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp 341
- Tsutsui, H., Takahashi, K., Nishida, S. & Nishiwaki, N. (2009): Intraspecific morphological variation with biometry of *Distephanus speculum* (Silicoflagellata). *Marine Micropaleontology* 72: 239-250
- Vaulot, D., Eikrem, W., Viprey, M. & Moreau, H. (2008): The diversity of small eukaryotic phytoplankton ( $\leq 3 \mu\text{m}$ ) in marine ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* 32: 795-820
- Vos, M. (2009): Why do bacteria engage in homologous recombination. *Trends in Microbiology* 17: 226-232
- Yamaguchi, M. & Imai, I. (1994): A microfluorometric analysis of nuclear DNA at different stages in the life history of *Chattonella antiqua* and *Chattonella marina* (Raphidophyceae). *Phycologia* 33: 163-170
- Yamaguchi, H., Nakayama, T., Murakami, A. & Inouye, I. (2010): Phylogeny and taxonomy of the Raphidophyceae (Heterokontophyta) and *Chlorinimonas sublosa* gen. et sp. nov., a new marine sand-dwelling raphidophyte. *Journal of Plant Research* 123: 333-342
- Yoon, H.S., Hackett, J.D., Ciniglia, C., Pinto, G. & Bhattacharya, D. (2004): A molecular timeline for the origin of photosynthesis eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution* 21: 809-818
- Yoon, H.S., Andersen, R.A., Boo, S.M. & Bhattacharya, D. (2009): Stramenopiles, In: Schaechter, M. (ed) *Encyclopedia of Microbiology*, San Diego State University, San Diego, pp721-731
- White, M.J.D. (1978): *Modes of speciation*. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 455 pp
- Whittle, S.J. & Casselton, P.J. (1975): The major chloroplast pigments of the algal classes Eustigmatophyceae and Xanthophyceae. I. Eustigmatophyceae. *British Phycological Journal* 10: 179-191

## Příloha



Obr. 5. Fylogenetický strom skupiny Ochrophyta, zkonstruovaný na základě sekvencí 18S rDNA a *rbcL* s použitím metody maximální věrohodnosti (ML) a Bayesiánských statistických analýz. Barevně jsou vyznačeny třídy, u jejichž zástupců bylo pozorováno či jinými způsoby prokázáno pohlavní rozmnožování. Upraveno podle Kai et al. (2008).