

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky

Charles University in Prague, Faculty of Science

Department of Botany

Doktorský studijní program: Botanika

Ph.D. Study Program: Botany

Autoreferát dizertační práce

Summary of the Ph.D. Thesis



Fylogenetický, morfologický a ekologický kontext
mikroevoluce penátních rozsivek.

Phylogenetic, morphological and ecological context
of microevolution in pennate diatoms.

Jana Veselá

Školitel/Supervisor: Jiří Neustupa

Praha, červen 2011

Abstrakt: Vizuální zhodnocení nespojitostí v morfologických znacích rozsivkových buněk je široce využíváno v objevování a vymezení druhů rozsivek. Multidisciplinární přístup v taxonomii rozsivek na úrovni druhů však objevil skrytou diverzitu v rámci tradičních morfologicky definovaných druhů. Tato práce tudíž zkoumala přírodní a klonální populace rozsivek různými tradičními a moderními přístupy, aby bylo možné posoudit diverzitu, ekologii a rozšíření rozsivkových druhů. Ačkoli detailní studium přírodních vzorků rozsivek bylo znesnadněno nejasnými morfologickými hranicemi mezi tradičními druhy, rozpoznaná diverzita byla poměrně vysoká a byl dokonce popsán nový druh rozsivky za využití morfologického druhového konceptu. Mnohorozměrné statistické analýzy ukázaly, že variabilita přírodních populací tradičních morfologicky definovaných druhů odráží v rámci regionu rozdíly především v lokálních podmínkách prostředí a v heterogenitě mikrobiotopů. Jelikož každý morfologicky definovaný rozsivkový druh je nejspíše komplexem druhů, v této práci byla zkoumána morfologická diverzita, genetická variabilita a/nebo reprodukční kompatibilita monoklonálních kultur v rámci dvou modelových tradičních druhů. Přestože izolované kmeny rozsivek byly kultivované ve stálých podmínkách, morfologická variabilita buněk byla relativně vysoká jak v rámci kmenů tak v rámci fylogenetických linií. Morfometrická studie naznačila, že tvarové změny, které jsou spojené se zmenšováním velikostí buněk během životního cyklu, mohou zastřít charakteristické morfologické znaky důležité pro identifikaci druhů. Mimoto byla vysoká i morfologická variabilita geneticky rozdílných kmenů a morfologie mezi jednotlivými fylogenetickými liniemi se v mnoha případech překrývala. Nicméně, je dobrý důvod věřit, že genetická variabilita v rámci modelových morfologicky definovaných druhů rozsivek představuje smysluplnou informaci o biologii rozsivek, jelikož fylogeneze byla v souladu s cytologickou, reprodukční a/nebo ekologickou diferenciací.

Abstract: Visual assessment of discontinuities in the morphological features of diatom cells has been widely used in the discovery and delimitation of diatom species. However, a multidisciplinary approach to species-level taxonomy has revealed hidden diversity within the traditional diatom morphospecies. Consequently, this work examined both the natural and clonal populations of diatoms by diverse traditional and modern approaches, in order to assess the diversity, ecology, and distribution of diatom species. Although a detailed investigation of natural diatom samples was confounded by uncertain morphological boundaries between the traditional diatom species, it recognized that the diversity was relatively high; even one new diatom species was described using the morphological species concept. The multivariate statistical analyses showed that the variation of natural communities of traditional diatom morphospecies reflected differences in the local environmental conditions, as well as microhabitat heterogeneity within a region. Since each diatom morphospecies is most likely a complex of sibling species, the two model traditional morphospecies were investigated, in order to assess morphological variation, genetic diversity, and/or the reproductive compatibility of monoclonal cultures. Even though isolated strains were cultivated under controlled conditions, the morphological variability of the cells was relatively high within the strains, as well as within the phylogenetic lineages. The morphometric study indicated that shape changes associated with the size diminution of diatoms during their life cycle might obscure characteristic morphological features that are important for species identification. Furthermore, the morphological variation of genetically differentiated strains was relatively high, and in many cases the morphology between particular phylogenetic lineages overlapped. Nonetheless, there is good reason to believe that genetic differentiation within model diatom morphospecies represented meaningful information about diatom biology, as the phylogeny was congruent with cytological, reproductive, and/or ecological differentiation.

OBSAH / CONTENTS

1	ÚVOD.....	1
1.1	Biologie rozsivek.....	1
1.2	Objevování a vymezení rozsivkových druhů	1
1.3	Rozšíření a ekologie rozsivek.....	2
2	SEZNAM ČLÁNKŮ	4
3	CÍLE PRÁCE	4
4	MATERIÁL A METODIKA	5
5	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	6
6	ZÁVĚRY	8
7	INTRODUCTION.....	9
7.1	Biology of diatoms	9
7.2	Discovery and delimitation of diatom species.....	9
7.3	Distribution and ecology of diatoms	10
8	LIST OF PAPERS	12
9	AIMS OF THE STUDY	12
10	MATERIAL AND METHODS.....	13
11	RESULTS AND DISCUSSION.....	14
12	CONCLUSIONS	16
13	POUŽITÁ LITERATURA / REFERENCES.....	17
14	CURRICULUM VITAE	22
15	SEZNAM PUBLIKACÍ / SELECTED PUBLICATIONS	24

1 ÚVOD

1.1 Biologie rozsivek

Rozsivky jsou jednobuněčné nebo koloniální protistní organismy s unikátními buněčnými stěnami (schránkami), které jsou téměř vždy tvořeny křemíkem. V rámci jejich životního cyklu se velikosti buněk populací zmenšují s každým vegetativním mitotickým dělením a maximální velikost bývá většinou obnovena pohlavním rozmnožováním. Rozsivky se vyskytují téměř ve všech vodních a v mnoha subaerických biotopech a zároveň jsou často hojné a taxonomicky rozmanité v přírodních vzorcích. Rozsivková společenstva jsou tudíž široce využívána jako ekologické indikátory prostředí (Round et al 1990; Mann 1999; Smol and Stoermer 2010).

1.2 Objevování a vymezení rozsivkových druhů

Morfologický druhový koncept

Taxonomie a systematika rozsivek je již od samotného objevu rozsivek založena na morfologii schránek a rozdílnosti ve velikosti, tvaru a ornamentaci schránek jsou považovány za taxonomicky specifické. Nicméně nestálá taxonomie využívající jak široký tak úzký morfologický koncept druhu (Mann 1999, 2010), fenotypová plasticita populací (Cerino et al. 2005; Leterme et al. 2010) a morfologické změny ovlivněné životním cyklem rozsivek (Edlund and Stoermer 1997; Meyer et al. 2001; Cox 2010) komplikují morfologické vymezení druhů. Tradiční a geometrická morfometrika ukázala, že vizuální hodnocení morfologie významně podhodnocuje komplexitu morfologické variability a tudíž tradičně vymezené druhy pravděpodobně představují komplexy druhů (Theriot and Ladewski 1986; Droop et al. 2000; Rhode et al. 2001; Pappas and Stoermer 2003; Beszteri et al 2005a). Nicméně nové přístupy v taxonomii rozsivek bylo nezbytné využít pro zhodnocení toho, zda morfologicky definované druhy představují smysluplné jednotky z hlediska evoluce.

Multidisciplinární přístup

Molekulárně genetické analýzy a křížící pokusy odhalily, že v rámci tradičních morfologicky definovaných druhů se skrývá značná diverzita, která bývá doprovázena nepatrnými morfologickými rozdíly (Behnke et al 2004; Mann et al 2004; Beszteri et al. 2005b, 2007;

Mann and Chepurnov 2005; Amato et al. 2007; Vanormelingen et al. 2007, 2008). Multidisciplinární přístup však může vést i k vzájemně nesouhlasným výsledkům co se týče vymezení hranic mezi druhy (např. Amato et al. 2007; Evans et al. 2008; Trobajo 2009). Jednou z možností, jak pojmout vzájemně si neodpovídající datové soubory, je zvolit pouze jeden z druhových konceptů. Druhou možností je akceptovat všechny přístupy jako důkazy speciace metapopulačních linií, přičemž čím více dokladů o rozrůzněnosti linií je podpořeno ekologickými, geografickými, morfologickými, molekulárními a reprodukčními daty, tím více je existence druhu podpořena (de Quieroz 2005, 2007).

1.3 Rozšíření a ekologie rozsivek

Dvě kontroverzní teorie

Současná diskuze týkající se diverzity a rozšíření rozsivek odráží otázku, zda se biogeografie mikrobiálních druhů zásadně liší od makroskopických organismů. První z teorií, ubikvitní model, má následující předpoklady o mikrobiálních druzích: i) jsou zastoupeny velkým množstvím jedinců; ii) jsou jednoduše a náhodně rozptýlovány přes různé prostorové vzdálenosti; iii) zachovávají si obdobné abundance na lokálním i globálním měřítku; iv) jsou schopni růst kdekoli, kde naleznou vhodný habitat; v) globální počet druhů je poměrně nízký (Finlay and Fenchel 1999; Finlay 2002; Finlay et al. 2004; Fenchel 2005). Druhá z teorií, mírný model endemického výskytu představuje alternativní pohled: i) mnohem větší podíl protistních organismů má omezený areál výskytu; ii) počet druhů je mnohem vyšší, než bylo doposud rozpoznáno (Chao et al. 2006; Foissner 2006; 2008).

Tradiční rozsivkové druhy

Přestože ubikvitní teorie byla aplikována také na rozsivky (Finlay et al. 2002), empirické doklady o globálním rozšíření rozsivek spíše podporují alternativní hypotézu, tj. množství druhů má omezené rozšíření ovlivněné historickými procesy (Mann and Droop 1996; Tyler 1996; Mann 1999; Kociolek and Spaulding 2000; Vanormelingen et al. 2008).

Ubikvitní model byl také zpochybněn na různých prostorových škálách. Přehled výsledků z tématicky zaměřených studií a meta-analýza Soininena (2007) naznačila, že environmentální faktory významně působí na rozsivková společenstva na lokálním prostorovém měřítku a jejich efekt se zmenšuje se zvyšující se vzdáleností. V dalších studiích bylo zjištěno, že

druhové bohatství rozsivek ve společenstvech je ovlivněn druhy vyskytujícími se v regionu (Passy 2009; Soininen et al. 2009) a také že velikosti rozsivek příliš neodráží frekvence výskytu druhů na různých prostorových škálách (Heino and Soininen 2006; Passy 2008).

Druhové komplexy

Případové studie zaměřené na ekologii a rozšíření kryptických druhů objevených v rámci tradičních rozsivkových druhů nasvědčují, že rozsivky mohou být široce rozšířené v rámci určitých klimatických podmínek nebo jejich distribuce může být geograficky omezena (Casteleyn et al. 2008; Kooistra et al. 2008; Mann et al. 2008). Dále bylo ukázáno, že abundance sympatrických populací modelových druhů rozsivek odrážejí sezónní změny (Orsini et al. 2004; Cerino et al. 2005; Kooistra et al. 2008) a také že genetický tok mezi přírodními populacemi není náhodný v závislosti na prostorovém měřítku (Evans et al. 2005, 2009; Rynearson 2009).

Experimentální kultivace heterotrofních protistních organismů ukázala, že ekofyziologická odpověď kultur souvisela s variabilitou lokálních podmínek prostředí a/nebo klimatických podmínek, ale nikoli s genetickým rozrůzněním (např. Lowe et al. 2005a, 2005b, 2007; Weisse et al. 2008). Na základě těchto poznatků zastánci ubikvitní teorie usoudili, že genetická variabilita odráží pouze akumulaci neutrálních mutací (Fenchel 2005; Fenchel and Finlay 2006).

2 SEZNAM ČLÁNKŮ

- I. Veselá J, Johansen JR (2009) The diatom flora of ephemeral headwater streams in the Elbsandsteingebirge region of the Czech Republic. *Diatom Research* 24: 443-477.
- II. Veselá J, Neustupa J, Pichrtová M, Pouličková A (2009) Morphometric study of *Navicula* morphospecies (Bacillariophyta) with respect to diatom life cycle. *Fottea* 9: 307-316.
- III. Pouličková A, Veselá J, Neustupa J, Škaloud P (2010) Pseudocryptic diversity versus cosmopolitanism in diatoms: a case study on *Navicula cryptocephala* Kütz. (Bacillariophyceae) and morphologically similar taxa. *Protist* 161: 353-369.
- IV. Veselá J, Urbánková P, Černá K, Neustupa J (subm) Ecological variation within traditional diatom morphospecies; diversity of *Frustulia rhomboides* sensu lato (Bacillariophyceae) in European freshwater habitats. *Journal of Phycology*.

3 CÍLE PRÁCE

Různé přístupy k biologii rozsivek byly využity pro zkoumání druhové diverzity, ekologie a rozšíření rozsivek. Hlavní cíle výzkumu byly následující:

- i) odhadnout diverzitu rozsivek na základě morfologického druhového konceptu (článek I) a multidisciplinárního přístupu ke studiu morfologicky definovaných druhů (články III, IV);
- ii) analyzovat kvalitativní a kvantitativní morfologickou variabilitu za využití detailního studia schránek (články II, III, IV);
- iii) identifikovat rozšíření a diverzitu na regionálním, lokálním a mikrobiotopovém měřítku (články I, III, IV);
- iv) zjistit, zda environmentální nároky významně ovlivňují diverzitu a rozšíření rozsivek (články I, IV);
- v) porovnat morfologické, fylogenetické, distribuční a ekologické datové soubory získané studiem druhových komplexů (články III, IV).

4 MATERIÁL A METODIKA

Vzorky byly odebrány z bentických biotopů v Evropě a v Austrálii. Parametry prostředí byly změřeny v terénu pomocí elektronických přístrojů. Monoklonální kultury získané izolací z přírodních vzorků byly kultivovány v tekutém médiu. Rozsivkové vzorky byly přečištěny a zality do nafraxu. Světelný mikroskop a/nebo skenovací elektronový mikroskop byl použit pro identifikaci morfologicky definovaných druhů a pro pozorování kultur.

Hodnoty optim a tolerancí (pH, vodivost) tradičních morfologicky definovaných druhů byly určeny pomocí vážených průměrů za využití programu WA CALIB (Line et al. 1994). Mnohorozměrné analýzy a testy umožnily srovnání variability rozsivkových společenstev na různých prostorových škálách.

Morfologické rozrůznění monoklonálních kultur bylo vyhodnoceno tradiční morfometrikou (délka, šířka, hustota strií rozsivkových schránek) a landmarkovou geometrickou morfometrikou (tvar schránek). Landmarky byly umístěny podél obrysu buněk a/nebo podél středové části. TPS software byl využit pro většinu geometricko-morfometrických analýz. Změny tvaru spojené s alometrií byly odstraněny mnohorozměrnou regresí. Statistické analýzy zhodnotily a ilustrovaly morfologickou variabilitu v rámci skupin a mezi skupinami.

Vzorky pro jadernou cytologii studované pomocí epifluorescenční mikroskopie byly fixovány roztokem PGA (Karnovsky 1965). Jádra byla barvena DAPI (4,6-diamino-2-phenylindole.2HCl; Sigma).

D1-D2 LSU oblast a/nebo ITS1-5.8S-ITS2 oblast jaderné rDNA byla amplifikována a sekvenována. Vzájemná poloha bází sekvencí LSU a ITS2 oblasti byla upravena manuálně na základě rRNA sekundární struktury oblastí. Fylogenetické analýzy byly provedeny metodami Bayesovská inference, maximální věrohodnost a maximální parsimonie.

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Morfologie tradičních druhů rozsivek

V článku I, byl přijat morfologický koncept druhů k odhadu druhové diverzity rozsivek v přírodních vzorcích. Diverzita druhů studovaného území byla poměrně vysoká v porovnání s obdobnými studii (Cantonati 1998; Werum & Lange-Bertalot 2004). Několik jedinců se navíc morfologicky značně odlišovalo od již dříve popsanych druhů. Jelikož vnitrodruhová fenotypická variabilita přírodních populací je ovlivněna jak změnami v životním cyklu tak genetickou diverzitou (Round et al. 1990; Edlund and Stoermer 1997), morfologie monoklonálních kultur byla studována za využití tradiční a geometrické morfometriky; články II-IV. Kmeny druhu *Navicula cryptocephala* sensu lato byly analyzovány pro kvantifikaci rozdílů v morfologii rozsivkových schránek v různých fázích životního cyklu (článek II). Přestože velké schránky (postiniciální buňky) byly významně odlišné od malých schránek (sexuálně kompetentní buňky), nealometrická složka tvarové variability byla charakteristická pro každý z kmenů. Morfologie monoklonálních kultur byla také analyzována v souvislosti s genetickou diferenciací v rámci tradičních druhů *Navicula cryptocephala* sensu lato (článek III) a *Frustulia rhomboides* sensu lato (článek IV). V souladu s výsledky jiných studií (např. Mann et al. 2004; Beszteri et al. 2005; Vanormelingen et al. 2008) bylo možné na základě průměrných znaků morfologie schránek určit význačné morfologické znaky mezi kmeny, které zastupovaly blízce příbuzné fylogenetické linie, .

Rozšíření a diverzita rozsivek na různých prostorových měřítcích

Za účelem odhadu diverzity rozsivek byla zjištěna prostorová variabilita společenstev tradičních morfologicky definovaných druhů na mikrobiotopové a lokální škále (článek I), charakter rozšíření fylogenetických linií morfologicky definovaných druhů byl studován na lokální a regionální škále (články III a IV). V článku I byly nalezeny významné rozdíly v druhové diverzitě a podobnosti mezi mikrobiotopy, odběrovými místy a lokalitami v rámci studovaného regionu. Významnost heterogenity substrátu, geografické vzdálenosti a prostorově (ne)korelovaných parametrů prostředí byla zjištěna také v mnoha jiných studiích (např. Stevenson & Hashim 1989; Townsend & Gell 2005, Soininen 2007). Fylogenetická identita kmenů izolovaných v Evropě a Austrálii naznačila, že linie druhu *Navicula cryptocephala* jsou široce rozšířené (článek III). Toto zjištění souhlasí s jinými současnými

studiemi, které zaznamenaly identické sekvence kmenů rozsivek izolovaných z geograficky vzdálených oblastí (Casteleyn et al. 2008; Kooistra et al. 2008; Trobajo et al. 2009). V článku IV byla detailně zkoumána diverzita a rozšíření evropských populací druhu *Frustulia rhomboides* sensu lato a výsledky ukázaly, že charakter rozšíření se liší mezi lokalitami a regiony ve frekvencích jednotlivých linií.

Ekologický pohled na rozšíření a diverzitu rozsivek

V článku I byly na základě mnohorozměrných statistických metod odhadnuty ekologické nároky morfologicky definovaných rozsivek vůči pH a vodivosti. Mimoto podobnost rozsivkových společenstev mezi lokalitami byla porovnána s geografickými a environmentálními vzdálenostmi. Prostorová autokorelace mezi rozsivkovými společenstvy nalezenými na různých lokalitách nebyla statisticky průkazná a druhové složení rozsivek bylo tudíž spíše ovlivněno lokálními parametry prostředí (Casamatta et al. 2002; Soininen 2007). V článku IV byl z frekvencí sekvencí fylogenetických linií druhu *Frustulia rhomboides* sensu lato objeven zjevný ekologický signál; rozšíření linií druhu *F. rhomboides* nejspíše odráží jejich specifické nároky vůči biotopu a specifické preference k určitým klimatickým podmínkám. Genetickou diverzitu tudíž nelze jednoznačně považovat za neutrální z hlediska ekologie, přestože bylo deklarováno, že funkční diverzita není spojena s genetickou diferenciací (Lowe et al. 2005b; Fenchel and Finlay 2006).

6 ZÁVĚRY

Hlavní výsledky této práce mohou být shrnuty následovně:

Důkladné morfologické studie přírodních populací rozsivek jsou hodnotné v souvislosti s taxonomií a ekologií, jelikož široce pojatý morfologický druhový koncept nebyl podpořen multidisciplinárním přístupem k vymezení druhů. Detailní mikroskopické studium přírodních vzorků umožnilo zjistit morfologickou variabilitu vzácných morfologicky definovaných druhů a dokonce popsat nový druh pro vědu.

Morfologické změny, které jsou spojeny se zmenšováním buněk rozsivek během jejich životního cyklu, významně ovlivnily tvarovou variabilitu buněk; rozdíly mezi velkými a malými buňkami byly významnější než rozdíly mezi jednotlivými kmeny. Alometrická složka tvarové variability by měla být tudíž brána v potaz při vymezení druhů.

Morfologicky podobné kmeny dvou modelových morfologicky vymezených druhů rozsivek byly odděleny molekulárně genetickými analýzami ve dvě a šest fylogenetických linií.

Ačkoli tradiční morfologický druhový koncept podhodnocuje diverzitu rozsivek, detailní zkoumání morfologie buněk rozsivek monoklonálních kultur odhalilo význačnou variabilitu, která byla korelovaná s genetickou diverzitou.

Genetická diferenciace blízce příbuzných modelových druhů rozsivek byla v souladu s reprodukční a cytologickou rozdílností.

Komplexy druhů v rámci tradičních morfologicky definovaných druhů byly široce rozšířené a v mnoha případech žily sympatricky. Nicméně, jednotlivé linie vykazovaly rozdílný charakter distribuce.

Početné molekulární zastoupení vzorků sympatrických a alopatrických populací modelového rozsivkového druhu naznačilo, že jednotlivé fylogenetické linie se liší ve svých ekologických nárocích.

Druhová diverzita rozsivek je spojená jak s environmentální tak s prostorovou heterogenitou. Specifická role faktorů prostředí a prostoru ve strukturování společenstev rozsivek byla závislá na měřítku; rozdílnost mikrobiotopů, biotopů, lokálních podmínek prostředí a/nebo regionálních klimatických podmínek významně ovlivnily diverzitu a rozšíření rozsivek.

7 INTRODUCTION

7.1 Biology of diatoms

Diatoms are unicellular or colonial photosynthetic protists, with unique cell walls (frustules), which are almost always silicified. In their diplontic life cycle, the cell sizes of populations generally decrease with each asexual mitotic division; and the maximum size is primarily restored by a sexual process. Diatoms occur in almost all aquatic (and many subaerial) habitats, and they are often remarkably abundant and taxonomically diverse in natural samples. Consequently, diatom assemblages have been widely used as environmental indicators (Round et al 1990; Mann 1999; Smol and Stoermer 2010).

7.2 Discovery and delimitation of diatom species

Morphological species concept

Diatom taxonomy and systematics has been based on frustule morphology since diatoms were first discovered; and discontinuities in size, shape, and ornamentation of the frustules were considered to be taxon specific. However, unstable taxonomy (Mann 1999, 2010), phenotypic plasticity (Cerino et al. 2005; Leterme et al. 2010), and life cycle changes (Edlund and Stoermer 1997; Meyer et al. 2001; Cox 2010) have complicated morphological delimitation of species. Conventional and geometric morphometry showed that visual assessment considerably underestimated the complexity of the morphological variation. Therefore, many traditional species were suggested as possible species complexes (Theriot and Ladewski 1986; Droop et al. 2000; Rhode et al. 2001; Pappas and Stoermer 2003; Beszteri et al. 2005a). Nonetheless, new approaches to diatom taxonomy and systematics were needed to evaluate whether morphospecies are meaningful units in the context of evolution.

A multidisciplinary approach

Molecular genetic techniques and breeding experiments supported an even narrower species concept (Behnke et al. 2004; Beszteri et al. 2005b, 2007; Mann and Chepurnov 2005). However, conflicting evidence regarding species boundaries were found by diatomists which had used morphological, biological, and phylogenetic species definitions to discover and delimit diatom species (e.g. Amato et al. 2007; Evans et al. 2008; Trobajo 2009). One solution

to the incompatible species definitions is to deny the differences between different approaches, i.e. to select just one species concept. A second solution is to accept all approaches as multiple lines of evidence for the speciation of metapopulation lineages; the diverse properties such as reproductive isolation, distinctive ecology, morphological differentiation, and the reciprocal monophyly of molecular markers may or may not be achieved during the process of speciation (de Quieroz 2005, 2007).

7.3 Distribution and ecology of diatoms

Two controversial theories

Recent discussions on the diversity and distribution of diatoms have reflected upon the question of whether the biogeography of microbial species fundamentally differs from that of macroscopic organisms. The first theory, the ubiquity model, makes the following assumptions about microbial species: i) they are represented by a large number of individuals; ii) they are easily and randomly dispersed across all spatial scales; iii) they maintain consistent patterns of local abundance or rarity on a global scale; iv) they grow wherever they have found a suitable habitat; v) their global species richness is relatively low (Finlay and Fenchel 1999; Finlay 2002; Finlay et al. 2004; Fenchel 2005). The second theory, the moderate endemism model, represents an alternative view proposing that: i) a much larger proportion of protists have biogeographies; ii) the real number of protist species is much larger than is known at present (Chao et al. 2006; Foissner 2006; 2008).

Traditional diatom species

Although the ubiquitous theory was also applied to diatoms (Finlay et al. 2002), empirical evidence about the distribution of diatom species at the global scale considerably supported the alternative hypothesis, i.e. that a number of species have a restricted distribution, influenced by historical processes (Mann and Droop 1996; Tyler 1996; Mann 1999; Kociolek and Spaulding 2000; Vanormelingen et al. 2008).

The ubiquitous model has also been challenged at different spatial scales. The review and meta-analysis of Soininen (2007) indicated that the relative importance of environmental and spatial factors on diatom community structure is inversely related to the spatial distance. Other diatom studies indicated that the diversity of diatom communities is enriched with the

regional species pool (Passy 2009; Soininen et al. 2009). Moreover, it was found that the size of the diatom species was a less important predictor of distribution frequency (Heino and Soininen 2006; Passy 2008).

Species complexes

The case studies on sibling species have suggested that marine planktonic diatoms are widely distributed within a particular climatic zone, or their distribution is geographically restricted (Casteleyn et al. 2008; Kooistra et al. 2008; Mann et al. 2008). Furthermore, it has been shown that abundances of sympatric populations of model species have reflected seasonal changes (Orsini et al. 2004; Cerino et al. 2005; Kooistra et al. 2008), and that levels of gene flow among natural populations could markedly differ over spatial scales (Evans et al. 2005, 2009; Rynearson 2009).

Experimental cultivation of heterotrophic protists demonstrated that the ecophysiological response (functional diversity) was related to the variations of local environmental conditions within habitats and/or to differences in climatic conditions; but not to genetic differentiation (e.g., Lowe et al. 2005a, 2005b, 2007; Weisse et al. 2008). In the context of these observations, advocates of the ubiquitous theory have concluded that genetic variation within microbial morphospecies reflected the accumulation of selectively neutral mutations (Fenchel 2005; Fenchel and Finlay 2006).

8 LIST OF PAPERS

- I. Veselá J, Johansen JR (2009) The diatom flora of ephemeral headwater streams in the Elbsandsteingebirge region of the Czech Republic. *Diatom Research* 24: 443-477.
- II. Veselá J, Neustupa J, Pichrtová M, Pouličková A (2009) Morphometric study of *Navicula* morphospecies (Bacillariophyta) with respect to diatom life cycle. *Fottea* 9: 307-316.
- III. Pouličková A, Veselá J, Neustupa J, Škaloud P (2010) Pseudocryptic diversity versus cosmopolitanism in diatoms: a case study on *Navicula cryptocephala* Kütz. (Bacillariophyceae) and morphologically similar taxa. *Protist* 161: 353-369.
- IV. Veselá J, Urbánková P, Černá K, Neustupa J (subm) Ecological variation within traditional diatom morphospecies; diversity of *Frustulia rhomboides* sensu lato (Bacillariophyceae) in European freshwater habitats. *Journal of Phycology*.

9 AIMS OF THE STUDY

In the present thesis, multiple approaches to diatom biology were used for the investigation of diatom species diversity, ecology, and distribution. The main objectives of the research were:

- i) to estimate the diversity of diatoms adopting the morphological species concept (paper I), and a multidisciplinary approach to study morphospecies (papers III, IV);
- ii) to analyze both the qualitative and quantitative morphological variability, using fine-grained investigations of frustules (papers II, III, IV);
- iii) to identify the patterns of distribution and diversity at the regional, local, and microhabitat scales (papers I, III, IV);
- iv) to assess whether environmental requirements considerably influence the diversity and distribution of diatoms (papers I, IV); and
- v) to compare the morphological, phylogenetic, distributional, and ecological data sets within species complexes (papers III, IV).

10 MATERIAL AND METHODS

Samples were taken from benthic habitats in Europe and Australia. Environmental variables were measured in the field using electronic devices. Monoclonal cultures obtained by isolation from natural samples were cultivated in liquid medium. Diatom samples were cleaned and mounted in Naphrax. Light microscope and/or scanning electron microscope was used for identification of morphospecies and for observation of cultures.

Optima and tolerance values (pH, conductivity) for traditional morphospecies were determined by using the weighted averaging program in WA CALIB (Line *et al.* 1994). Multivariate analyses and tests provided the comparisons of variability of diatom communities at different spatial scales.

Morphological differentiation of monoclonal cultures were evaluated using conventional morphometry (length, width and striae density of diatom frustules) and by landmark-based geometric morphometrics (shape of the frustules). Landmarks were placed along cell outline and/or along the central area. The TPS-series software (Rohlf 2007) was used for most geometric morphometric analyses. The allometric shape changes were removed by multivariate regression. Statistical analyses assessed and illustrated the morphological variability within and among groups.

Samples for nuclear cytology studied using epifluorescence microscopy (FM) were fixed with PGA solution (Karnovsky 1965). Nuclei were stained with DAPI (4,6-diamino-2-phenylindole.2HCl; Sigma).

D1-D2 LSU region and/or ITS1-5.8S-ITS2 region of the nuclear rDNA were amplified and sequenced. The alignments of the LSU and ITS2 regions were done manually on the basis of their rRNA secondary structures. Phylogenetic analyses were performed with Bayesian inference methods, maximum likelihood and maximum parsimony.

11 RESULTS AND DISCUSSION

Morphology of traditional diatom species

In paper I, the morphological species concept was adopted to estimate diatom species diversity of natural samples taken from ephemeral streams in a sandstone region. Species diversity of the region was relatively high in comparison with similar studies (Cantonati 1998; Werum & Lange-Bertalot 2004). Moreover, several specimens differed considerably in morphological characteristics from any species that had already been described. Since intraspecific phenotypic variation of natural populations is influenced both by life cycle changes and genetic differences (Round et al. 1990; Edlund and Stoermer 1997), the morphology of monoclonal cultures were examined, using conventional morphometry and geometric morphometrics; papers II-IV. Strains of *Navicula cryptocephala* sensu lato were analyzed, in order to quantify the differences in the morphology of diatom frustules at different stages of the life cycle (paper II). Although large frustules (postinitial cells) differed significantly from small frustules (sexually competent cells); the non-allometric component of valve shape variation was characteristic for each strain. The morphology of monoclonal cultures was also analyzed in the context of genetic differentiation within traditional species of *Navicula cryptocephala* sensu lato (paper III), and *Frustulia rhomboides* sensu lato (paper IV). In agreement with results of other studies (e.g., Mann et al. 2004; Beszteri et al. 2005; Vanormelingen et al. 2008), it was possible to determine the distinctive morphological features among strains, representing closely related phylogenetic lineages on the basis of the average characteristics of valve morphology.

Distribution and diversity of diatoms at different spatial scales

In order to estimate diatom diversity, spatial distribution patterns were determined for traditional morphospecies at both the microhabitat and local scales (paper I), as well as for the phylogenetic lineages of morphospecies at the local and regional scales (paper III, IV). In paper I, significant differences in species diversity and similarity were found among the microhabitats, sampling sites, and localities within a single region. In accordance, the importance of substrate heterogeneity, geographical distance, and spatially (un)correlated environmental factors was also demonstrated in many other studies (e.g., Stevenson & Hashim 1989; Townsend & Gell 2005, Soininen 2007). The phylogenetic identity of strains

isolated from Europe and Australia indicated that lineages of *Navicula cryptocephala* are widely distributed (paper III). This agrees with other recent studies, where identical sequences of diatom strains were recorded from geographically distant localities (Casteleyn et al. 2008; Kooistra et al. 2008; Trobajo et al. 2009). In paper IV, diversity and distribution of European populations of *Frustulia rhomboides* sensu lato were explored in detail, and the results showed that the distribution patterns varied in the frequencies of individual lineages among the localities and regions.

An ecological perspective on the distribution and diversity of diatoms

In paper I, the ecological requirements of diatom morphospecies, with respect to pH and conductivity, were estimated on the basis of multivariate statistical methods. Furthermore, the similarity of diatom assemblages among different localities was compared with the geographical and environmental distances. The spatial autocorrelation among diatom assemblages found at different localities was not significant; consequently, instead diatom species composition was influenced by environmental conditions at the local spatial scale (Casamatta et al. 2002; Soininen 2007). In paper IV, an obvious ecological signal emerged from the sequence frequencies of phylogenetic lineages of *Frustulia rhomboides* sensu lato; the distribution pattern of *F. rhomboides* lineages, most likely reflected their specific habitat requirements and their preferences for particular climatic conditions. Therefore, genetic diversity is not unambiguously neutral with respect to ecology, though it has been suggested that functional diversity is not associated with genetic differentiation (Lowe et al. 2005b; Fenchel and Finlay 2006).

12 CONCLUSIONS

The main results of this thesis can be summarized as follows:

Careful morphological studies of natural populations of diatoms are valuable in the contexts of both taxonomy and ecology, as the broad morphological species concept was not supported by the multidisciplinary approach to species delimitation. Detailed microscopic investigations of natural samples made it possible to assess the morphological variability of rare morphospecies, and even to describe new species to science.

Morphological changes associated with the size diminution of diatom cells during their life cycle considerably influenced the variability of cell shape; differences between large and small cells were more important than differences between individual strains. The allometric component of shape variability should therefore be considered in species delimitation.

Morphologically similar strains of two model diatom morphospecies were separated by molecular genetic analyses, into two and six phylogenetic lineages, respectively.

Although the traditional morphological species concept underestimates diatom diversity, fine-grained examination of the diatom cell morphology of monoclonal cultures revealed significant variability that was correlated with the genetic diversity.

Genetic differentiation of closely related model diatom species was congruent with reproductive and cytological variations.

Species complexes, within traditional morphospecies, were widely distributed; and in many cases lived sympatrically. Nonetheless, individual lineages showed different distribution patterns.

A thorough molecular sampling of sympatric and allopatric populations of model diatom morphospecies suggested that individual phylogenetic lineages differ in their ecological requirements.

The species diversity of diatoms was associated with both environmental and spatial heterogeneity. The particular roles of the environmental and spatial factors in the structuring of diatom communities are scale dependent; differences in microhabitats, biotopes, local environmental conditions, and/or regional climatic conditions considerably influenced both the diversity and distribution of diatoms.

13 POUŽITÁ LITERATURA / REFERENCES

- Amato A, Kooistra WHCF, Ghiron JHL, Mann DG, Pröschold T & Montresor M (2007) Reproductive isolation among sympatric cryptic species in marine diatoms. *Protist* 158: 193–207.
- Behnke A, Friedl T, Chepurnov VA & Mann DG (2004) Reproductive compatibility and rDNA sequence analyses in the *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyta). *Journal of Phycology* 40: 193–208.
- Beszteri B, Ács É & Medlin L (2005a) Conventional and geometric morphometric studies of valve ultrastructural variation in two closely related *Cyclotella* species (Bacillariophyta). *European Journal of Phycology* 40: 89–103.
- Beszteri B, Ács É, Medlin LK (2005b) Ribosomal DNA sequence variation among sympatric strains of the *Cyclotella meneghiniana* complex (Bacillariophyceae) reveals cryptic diversity. *Protist* 156: 317–333
- Beszteri B, John U, Medlin LK (2007) An assessment of cryptic genetic diversity within the *Cyclotella meneghiniana* species complex (Bacillariophyta) based on nuclear and plastid genes, and amplified fragment length polymorphisms. *European Journal of Phycology* 42: 47–60.
- Casteleyna G, Chepurnov VA, Leliaert F, Mann DG, Bates SS, Lundholm N, Rhodes L, Sabbea K & Vyverman W (2008) *Pseudo-nitzschia pungens* (Bacillariophyceae): A cosmopolitan diatom species? *Harmful Algae* 7: 241–257.
- Casamatta DA, Verb RG, Beaver JR & Vis ML (2002) An investigation of the cryptobiotic community from sandstone cliffs in southeast Ohio. *International Journal of Plant Sciences* 163: 837–845.
- Cantonati M (1998) Diatom communities of springs in the Southern Alps. *Diatom Research* 13: 201–220.
- Cerino F, Orsini L, Sarno D, Dell'Aversano C, Tartaglione L & Zingone A (2005) The alternation of different morphotypes in the seasonal cycle of the toxic diatom *Pseudo-nitzschia galaxiae*. *Harmful Algae* 4: 33–48.
- Chao A, Li PC, Agatha S & Foissner W (2006) A statistical approach to estimate soil ciliate diversity and distribution based on data from five continents. *Oikos* 114: 479–493.

- Cox EJ (2010) Morphogenetic information and the selection of taxonomic characters for raphid diatom systematics. *Plant Ecology and Evolution* 143: 271–277.
- de Queiroz K (2005) Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 6600–6607.
- de Queiroz K (2007) Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56: 879–886.
- Edlund MB & Stoermer EF (1997) Ecological, evolutionary, and systematic significance of diatom life histories. *Journal of Phycology* 33: 897–918.
- Evans KM, Chepurnov VA, Sluiman HJ, Thomas SJ, Spears BM & Mann DG (2009) Highly differentiated populations of the freshwater diatom *Sellaphora capitata* suggest limited dispersal and opportunities for allopatric speciation. *Protist* 160: 386–396.
- Evans KM, Kuhn SF, Hayes PK (2005) High levels of genetic diversity and low levels of genetic differentiation in North Sea *Pseudo-nitzschia pungens* (Bacillariophyceae) populations. *Journal of Phycology* 41: 506–514.
- Evans KM, Wortley AH, Simpson GE, Chepurnov VA & Mann DG (2008) A molecular systematic approach to explore diversity within the *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyta). *Journal of Phycology* 44: 215–231.
- Fenchel T (2005) Cosmopolitan microbes and their “cryptic” species. *Aquatic Microbial Ecology* 41: 49–54.
- Fenchel T & Finlay BJ (2006) The diversity of microbes: resurgence of the phenotype. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 361: 1695–1973
- Finlay BJ (2002) Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061.
- Finlay BJ, Esteban GF & Fenchel T (2004) Protist diversity is different? *Protist* 155: 15–22.
- Finlay BJ & Fenchel T (1999) Divergent perspectives on protist species richness. *Protist* 150: 229–233.
- Foissner W (2006) Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing protists. *Acta Protozoologica* 45: 111–136.
- Foissner W (2008) Protist diversity and distribution: some basic considerations. *Biodiversity and conservation* 17: 235–242.

- Heino J & Soininen J (2006) Regional occupancy in unicellular eukaryotes: a reflection of niche breadth, habitat availability or size-related dispersal capacity? *Freshwater Biology* 51: 672–685.
- Karnovsky MJ (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137.
- Kociolek JP & Spaulding SA (2000) Freshwater diatom biogeography. *Nova Hedwigia* 71: 223–241.
- Kooistra WHCF, Sarno D, Balzano S, Gu H, Andersen RA & Zingone A (2008) Global diversity and biogeography of *Skeletonema* species (Bacillariophyta). *Protist* 159: 177–193.
- Leterme SC, Ellis AV, Mitchell JG, Buscot M, Pollet T, Schapira M & Seuront L (2010). Morphological flexibility of *Cocconeis placentula* (Bacillariophyceae) nanostructure to changing salinity levels. *Journal of Phycology* 46: 715–719.
- Line JM, Ter Braak CJF & BIRKS HJB (1994) WA CALIB version 3.3 – a computer program to reconstruct environmental variables from fossil assemblages by weighted averaging and to derive sample-specific errors of prediction. *Journal of Paleolimnology* 10: 147–152.
- Lowe CD, Kemp SJ, Díaz-Avalos C & Montagnes DJS (2007) How does salinity tolerance influence the distributions of *Brachionus plicatilis* sibling species? *Marine Biology* 150: 337–386.
- Lowe CD, Day A, Kemp SJ & Montagnes DJS (2005a) There are high levels of functional and genetic diversity in *Oxyrrhis marina*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 250–257.
- Lowe CD, Kemp SJ & Montagnes DJS (2005b) An interdisciplinary approach to assess the functional diversity of free-living microscopic eukaryotes. *Aquatic Microbial Ecology* 41: 67–77.
- Mann DG (1999) The species concept in diatoms. *Phycologia* 38: 437–495.
- Mann DG (2010) Discovering diatom species: is a long history of disagreements about species-level taxonomy now at the end? *Plant Ecology and Evolution* 143: 251–264.
- Mann DG & Droop SJM (1996) Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia* 336: 19–32.
- Mann DG & Chepurnov VA (2005) Auxosporulation, mating system, and reproductive

isolation in *Neidium*. *Phycologia* 44: 335–350.

Mann DG, McDonald SM, Bayer MM, Droop SJM, Chepurnov VA, Loke RE, Ciobanu A & Hans Du Buf JM (2004) The *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyceae): morphometric analysis, ultrastructure and mating data provide evidence for five new species. *Phycologia* 43: 459–482.

Mann DG, Thomas SJ & Evans KM (2008) Revision of the diatom genus *Sellaphora*: a first account of the larger species in the British Isles. *Fottea* 8: 15–78.

Meyer B, Wulf M & Hakansson H (2001) Phenotypic variation of life-cycle stages in clones of three similar *Cyclotella* species after induced auxospore production. *Diatom Research* 16: 343–361.

Orsini L, Procaccini G, Sarno D & Montresor M (2004) Multiple rDNA ITS-types within the diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae) and their relative abundances across a spring bloom in the Gulf of Naples. *Marine ecology-progress series* 271: 87–98.

Passy SI (2008) Species size and distribution jointly and differentially determine diatom densities in U.S. streams. *Ecology* 89: 475–484.

Passy SI (2009) The relationship between local and regional diatom richness is mediated by the local and regional environment. *Global Ecology and Biogeography* 18: 383–391.

Rohlf FJ (2007) TPS Series - Department of Ecology and Evolution, State University New York at Stony Brook, New York. Available from <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>

Round FE, Crawford RM & Mann DG (1990) *The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 758 pp.

Rynearson TA, Lin EO & Armbrust EV (2009) Metapopulation structure in the planktonic diatom *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae). *Protist* 160: 111–121.

Smol JP & Stoermer EF [Eds] (2010) *The diatoms: Applications for the environmental and earth science*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 667 pp.

Stevenson RJ & Hashim S (1989) Variation in diatom community structure among habitats in sandy streams. *Journal of Phycology* 25: 678–686.

Soininen J (2007) Environmental and spatial control of freshwater diatoms - a review. *Diatom Research* 22: 473–490.

Soininen J, Heino J, Kokocinski M & Muotka T (2009) Local-regional diversity relationship

- varies with spatial scale in lotic diatoms. *Journal of Biogeography* 36: 720–727.
- Townsend SA & GELL PA (2005) The role of substrate type on benthic diatom assemblages in the Daly and Roper Rivers of the Australian wet/dry tropics. *Hydrobiologia* 548: 101–115.
- Trobajo R, Clavero E, Chepurnov VA, Sabbe K, Mann DG, Ishihara S & Cox EJ (2009) Morphological, genetic and mating diversity within the widespread bioindicator *Nitzschia palea* (Bacillariophyceae). *Phycologia* 48: 443–459.
- Tyler PA (1996) Endemism in freshwater algae, with special reference to the Australian region. *Hydrobiologia* 336: 127–135.
- Vanormelingen P, Chepurnov VA, Mann DG, Cousin S, Sabbe K & Vyverman W (2007) Congruence of morphological, reproductive and ITS rDNA sequence data in some Australasian *Eunotia bilunaris*. *European Journal of Phycology* 42: 61–79.
- Vanormelingen P, Chepurnov VA, Mann DG, Sabbe K & Vyverman W (2008a) Genetic divergence and reproductive barriers among morphologically heterogeneous sympatric clones of *Eunotia bilunaris* sensu lato (Bacillariophyta). *Protist* 159: 73–90.
- Vanormelingen P, Verleyen E & Vyverman W (2008b) The diversity and distribution of diatoms: from cosmopolitanism to narrow endemism. *Biodiversity and Conservation* 17: 393–405.
- Weisse T, Strüder-Kypke MC, Berger H & Foissner W (2008) Genetic, morphological, and ecological diversity of spatially separated clones of *Meseres corlissi* Petz & Foissner, 1992 (Ciliophora, Spirotrichea). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 55: 257–270.
- Werum M & Lange-Bertalot H (2004) Diatoms in springs from Central Europe and elsewhere under the influence of hydrogeology and anthropogenic impacts. In: Lange-Bertalot H [ed.], *Iconographia Diatomologica* 13, 417 pp., A.R.G. Gantner Verlag K.G.

14 CURRICULUM VITAE

Jana Veselá (1982)

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky, Benátská 2, Praha 2, CZ-128 01

e-mail: vesela6@natur.cuni.cz

Vzdělání a praxe:

Od roku 2008: pozice vědeckého pracovníka, Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Od roku 2007: doktorské studium v programu Botanika. Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

2006 - 2007: pozice odborného pracovníka, Botanický ústav Akademie věd České republiky, Oddělení experimentální fykologie a ekotoxikologie, Brno.

2002 - 2007: Magisterské studium v programu Biologie, specializace: Systematika a ekologie bezcévných rostlin, Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Název diplomové práce: Ekologie a rozšíření sinic a řas malých vodních tuků NP České Švýcarsko.

Zahraniční stáže:

16. ledna - 12. února 2007, a 9. září - 1. října 2007: výzkumná skupina dr. Jeffrey R. Johansena, Department of Biology, John Carroll University, Cleveland, Ohio, USA.

Jana Veselá (1982)

Charles University in Prague, Faculty of Science

Department of Botany, Benátská 2, Prague 2, CZ-128 01

e-mail: vesela6@natur.cuni.cz

Study and practice:

From 2008: Position of research worker at the Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague.

From 2007: PhD. study in Botany, Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague.

2006 - 2007: Position of technical worker / laboratory assistant, Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Department of Experimental Phycology and Ecotoxicology, Brno.

2002 - 2007: Undergraduate study in Biology, specialization: Systematics and ecology of non-vascular plants, Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague. Title of the diploma thesis: Ecology and distribution of cyanobacteria and algae in small streams of Bohemian Switzerland National Park.

Study abroad:

16th January - 12th February 2007, and 9th September - 1st October 2007: Dr. Jeffrey R. Johansen research group, Department of Biology, John Carroll University, Cleveland, Ohio, USA.

15 SEZNAM PUBLIKACÍ / SELECTED PUBLICATIONS

Svoboda D, Peksa O, Veselá J (2011) Analysis of the species composition of epiphytic lichens in Central European oak forests. *Preslia* 83: 129–144.

Pouličková A, Veselá J, Neustupa J, Škaloud P (2010) Pseudocryptic diversity versus cosmopolitanism in diatoms: a case study on *Navicula cryptocephala* Kütz. (Bacillariophyceae) and morphologically similar taxa. *Protist* 161: 353–369.

Svoboda D, Peksa O, Veselá J (2010) Epiphytic lichen diversity in Central European oak forests: Assessment of the effects of natural environmental factors and human influences. *Environmental Pollution* 158: 812–819.

Řeháková K, Zapomělová E, Prášil O, Veselá J, Medová H, Oren A (2009) Composition changes of phototrophic microbial communities along the salinity gradient in the solar saltern evaporation ponds of Eilat, Israel. *Hydrobiologia* 636: 77–88.

Prášil O, Bína D, Medová H, Řeháková K, Zapomělová E, Veselá J, Oren A (2009) Emission spectroscopy and kinetic fluorometry studies of the phototrophic microbial communities along the salinity gradient in the solar saltern evaporation ponds of Eilat, Israel. *Aquatic Microbial Ecology* 56: 285–296.

Veselá J, Neustupa J, Pichrtová M, Pouličková A (2009) Morphometric study of *Navicula* morphospecies (Bacillariophyta) with respect to diatom life cycle. *Fottea* 9: 307–316.

Pišková A, Grygar T, Veselá J, Oberhänsli H (2009) Diatom assemblage variations in the Aral Sea core C2/2004 over the past two millennia. *Fottea* 9: 333–342.

Pichrtová M, Veselá J (2009) Silica-scaled chrysophytes in the Elbe Sandstone Region, Czech Republic. *Fottea* 9: 101–106.

Veselá J, Johansen JR (2009) The diatom flora of ephemeral headwater streams in the Elbsandsteingebirge region of the Czech Republic. *Diatom Research* 24: 443–477.

Veselá J (2009) Spatial heterogeneity and ecology of algal communities in an ephemeral sandstone stream in the Bohemian Switzerland National Park, Czech Republic. *Nova Hedwigia* 88: 531–547.