

# Autoreferát disertační práce

Diverzita evropských sladkovodních druhů buchaneček:  
fylogenetické vztahy, morfologie a ekologie

Martin Krajíček

Školitel: **RNDr. Martin Černý, Ph.D.**



**Přírodovědecká fakulta**  
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE



Praha, 2014



# Summary of the Ph.D. Thesis

Diversity of European freshwater cyclopoid species:  
phylogeny, morphology and ecology

Martin Krajíček

Adviser: **RNDr. Martin Černý, Ph.D.**



**Faculty of Science**  
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE



Prague, 2014



## Abstrakt (česky)

Buchanky jsou spolu s vznášivkami a plazivkami součástí největší a velmi druhově bohaté skupiny korýšů a patří mezi nejpočetnější živočichy ve světových vodách vůbec. Historie jejich výzkumu sahá až do počátku 19. století, kdy byly popsány první druhy. Od té doby se začala jejich taxonomie pomalu vyvíjet, přibývaly nové metody výzkumu, jakož i taxonomické znaky, které ale mohly být do jisté míry i nejednoznačné či matoucí. Během posledních desetiletí se staly dostupnými molekulárně genetické techniky sekvenování DNA, které nabídly taxonomům novou nezávislou metodu. Tato práce obsahuje studie týkající se morfologie, taxonomie, ekologie, možností kolonizace a rozšíření buchaneček, přičemž jednotlivo elementem těchto prací je právě použití molekulárních metod.

**Kapitola 1** shrnuje základní znalosti o taxonomii, morfologii a biologii buchaneček a tvoří tím úvod pro následující části obsahující čtyři studie představené formou samostatných publikací. Taxonomie buchaneček rodu *Cyclops* je založena převážně na morfologických znacích, které však někdy mohou být nejednoznačné. Zároveň se zde vyskytují některé problematické druhové skupiny. **Kapitola 2** tak představuje unikátní výsledky první rekonstrukce fylogenetických vztahů patnácti druhů buchaneček rodu *Cyclops*, které jsou založené na rozsáhlém souboru sekvenčních dat šesti jaderných a mitochondriálních genů. Navíc jsou zde shrnuty morfologické znaky klíčové k rozlišení všech těchto druhů. **Kapitola 3** se zabývá srovnáním mitochondriální sekvenční variability u dvou druhů korýšů: buchanečky *Eucyclops serrulatus* a perloočky *Daphnia longispina* z horských jezer ve východní Evropě. Diskutovány jsou také schopnosti šíření a kolonizace obou druhů. **Kapitola 4** nastoluje otázku kosmopolitního rozšíření a možnosti antropogenního zavlečení sladkovodního druhu buchanečky *Macrocyclops albidus*. Tento problém je opět řešen s využitím molekulárních a morfologických metod. Poslední článek představený v **Kapitole 5** je zaměřen na západoaustralské druhy buchanečky *Diacyclops* ze skupiny *alticola*. Možnost velikostní diferenciace a monofylie této skupiny je zkoumána na základě molekulárních dat sekvencí DNA. Závěrečná **Kapitola 6** shrnuje metody využitelné při studiu klanonožců, přičemž speciální pozornost je věnována technikám sekvenace DNA.

## Abstract (in English)

Cyclopoids are together with Calanoids and Harpacticoids a part of the largest, very diverse group of crustaceans and the most numerous aquatic metazoans of the world. The history of their research goes as far back as to the beginning of 19th century when the first cyclopoid copepods were described. The taxonomy of cyclopoids started to develop gradually since that time, adding new and more detailed methods and morphological characters, as well as a certain degree of taxonomical confusion. In last decades, the molecular-genetic techniques of DNA sequencing have become available offering a new independent tool for taxonomists. This work contains different studies concerning the morphology, taxonomy, ecology, distribution and colonisation of cyclopoid copepods, with the use of molecular tools as a uniting element.

**Chapter 1** of this thesis summarizes basic knowledge about the taxonomy, morphology and biology of cyclopoid copepods and introduces the following chapters containing four studies presented as single publications. The taxonomy of copepods of the genus *Cyclops* is based mainly on the morphology which is sometimes ambivalent and some of the most problematic species groups are presented here. **Chapter 2** presents our unique results, the first reconstruction of phylogenetic relationships among 15 *Cyclops* species based on a comprehensive dataset of DNA sequences of six mitochondrial and nuclear markers. Additionally, a summarization of morphological microcharacters useful for species delineation is provided. In **Chapter 3** the mitochondrial sequence variation of two crustacean species, the cyclopoid *Eucyclops serrulatus* and the cladoceran *Daphnia longispina* from East European mountain lakes is compared, and their dispersal ability and patterns of colonisation are discussed. **Chapter 4** questions the cosmopolitan distribution and possible anthropogenic translocation of a freshwater copepod *Macrocyclus albidus* using molecular and morphological traits. The last paper, presented in **Chapter 5**, is focussed on the West Australian *Diacyclops* species of the *alticola*-group, and discuss the size differentiation and monophyly of these species using a molecular sequence data. Finally, in **Chapter 6** different methods useful in the research of copepods are summarized with a special emphasis on the DNA sequencing.

## Úvod

Klanonožci (tvoření skupinou buchanky, vznášivky a plazivky) jsou největší a velmi druhově bohatou skupinou korýšů tvořící jednu z nejpočetnějších komunit živočichů ve vodním prostředí. Jsou to velmi starobyklí členovci, ale jelikož jen velmi obtížně fosilizují, je veliká vzácnost najít je ve starších sedimentech. Obývají moře i sladné vody včetně extrémních lokalit, jako podmořské horké prameny, chladné arktické vody, fytoelmy či podzemní a jeskynní vody. Klanonožci mohou být volně žijící, symbiotičtí či parazitičtí na ostatních vodních živočiších. Ve vodních ekosystémech tvoří často dominantní složku zooplanktonu a tudíž hrají klíčovou roli jako sekundární producenti.

První buchanky popsal Jurine v roce 1820 z Ženevského jezera jako *Monoculus quadricornis viridis* (dnes nazývaný *Megacyclops viridis*) a *Monoculus quadricornis fuscus* (dnes *Macrocyclus albidus*). Hlavním badatelem zabývajícím se výzkumem sladkovodních klanonožců byl zoolog a taxonom Fridrich Kiefer. Prováděl dlouhodobé studie na Bodamském jezeře v jižním Německu. Popisoval také nové druhy ze vzorků zooplanktonu nasbíraného během četných vědeckých expedic do Turecky, Indie a Mongolska. Provedl revizi rodu *Acanthocyclops* a napsal monografii zaměřenou na sladkovodní planktonní druhy buchank a vznášivek.

Elrich K. Einsle, Kieferův žák, se také stal velmi významným kopepodologem. Prováděl četné studie zaměřené na diapauzu, sezónní dynamiku a kolonizaci nových druhů zooplanktonu. Studoval mezidruhovou a vnitrodruhovou variabilitu klanonožců pomocí morfologických a morfometrických metod. Zavedl použití metody pozorování diminuace chromatinu a alozymové elektroforézy v taxonomii buchank. Einsle také provedl revizi skupiny *Cyclops abyssorum* a popsal vzory v ornamentaci trnečků na hlavové straně koxy čtvrtého páru plovacích nohou a doložil důležitost tohoto znaku pro taxonomii druhů rodu *Cyclops*.

Molekulárně genetické techniky sekvenování DNA, které se staly dostupné během posledních desetiletí i pro taxonomy, umožňují podílet se jak na redeskripcích, tak studiu problematických druhových komplexů. Tyto metody navíc ukazují na značnou variabilitu v sekvencích DNA běžných druhů klanonožců, čímž otevírají možnosti pro další studie.

## Introduction

Copepods are the largest, very diverse group of crustaceans and the most numerous metazoans in the world water community. They are very ancient arthropods, but because of poor fossilization their remains are rarely found in the sediments. They inhabit both sea and continental waters, including localities with extreme conditions like hot hydrothermal vents, cold polar ice-waters, phytotelmat or interstitial waters and subterranean caves. Copepods can be free-living, symbionts or parasites on other water animals. In water ecosystems they often form the dominant part of the zooplankton and as such they play an important role as secondary producers.

The first cyclopoid copepods were described by Jurine in 1820 from Lake Geneva as *Monoculus quadricornis viridis* (called *Megacyclops viridis* now) and *Monoculus quadricornis fuscus* (now *Macrocyclops albidus*). The main researcher dealing with freshwater copepods in the 20th century was zoologist and taxonomist Fridrich Kiefer. He performed long term studies on the zooplankton in Lake Constance and its surroundings in South Germany. He described new species from samples collected during numerous scientific expeditions to Turkey, India and Mongolia, he made a revision of the genus *Acanthocyclus* and wrote a monograph on freshwater plankton-dwelling cyclopoids and calanoids.

Elrich K. Einsle, Kiefer's student, also become a very important copepodologist. Einsle carried out many ecological studies focussed on diapause, seasonal dynamics and the invasion of new zooplankton species. He studied interspecific and intraspecific variation of copepods using morphological and morphometric approaches. He established the use of chromatin diminution and enzyme electrophoresis in copepod taxonomy. Einsle also made a revision of the *Cyclops abyssorum*-group and described the patterns of spinule ornamentation on the caudal side of coxa of fourth swimming leg as an important character for *Cyclops* species differentiation.

Most importantly, the molecular-genetic techniques of DNA sequencing have become available in last decades offering a new independent tool for taxonomists, allowing species re-descriptions as well as detailed studies of problematic species complexes. These DNA techniques have also revealed large sequence divergences in many common copepod species opening potential areas for future studies.



## Cíle práce

Tato práce je zaměřena na různé aspekty buchanek týkající se morfologie, taxonomie, ekologie, rozšíření a kolonizace, přičemž použití molekulárních metod je jednotícím elementem všech přiložených prací. Dizertace se skládá z následujících, většinou již publikovaných rukopisů:

The genus *Cyclops* in Europe: an integrative taxonomy approach

reveals two new species and confirms thirteen others [*manuscript*]

Congruent patterns of lineage diversity in two species complexes of

planktonic crustaceans, *Daphnia longispina* (Cladocera) and *Eucyclops serrulatus* (Copepoda), in East European mountain lakes [*published*]

When anthropogenic translocation meets cryptic speciation globalized

bouillon originates; molecular variability of the cosmopolitan freshwater cyclopoid *Macrocyclops albidus* (Crustacea: Copepoda) [*published*]

First molecular data on the Western Australian *Diacyclops* (Copepoda,

Cyclopoida) confirm morpho-species but question size differentiation and monophyly of the *alticola*-group [*published*]

## Aims of the thesis

This thesis is focussed on different aspects of cyclopoids concerning the morphology, taxonomy, ecology, distribution and colonisation, while the use of molecular tools is the uniting element. Even though the molecular-genetic techniques of DNA sequencing have been available for more than two decades, just a few genetic studies on the freshwater cyclopoid copepods have been done. The studies presented in this thesis should contribute to filling this gap. There are four major questions this thesis deals with:

- Morphological and molecular characterization of species of the genus *Cyclops* in Europe. Does the species delineation based on the currently used morphological characters match lineages resulting from the analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences? Is there a possibility to discover new, yet undescribed lineages? Do these lineages differ in any morphological character?
- The comparison of the mitochondrial sequence variation of the cyclopoid *Eucyclops serrulatus* and the cladoceran *Daphnia longispina* collected from East European mountain lakes. Is the difference in life cycle and dispersal ability of these species reflected in diverse patterns of haplotype diversity? Do remote mountain lakes harbour any cryptic lineages?
- Molecular and morphological variability of *Macrocyclus albidus* populations from Europe, USA, Australia and New Zealand. Is this species' distribution cosmopolitan or is there any evidence of cryptic speciation? Are the molecular tools useful for testing the hypothesis of anthropogenic translocation of freshwater copepods associated with early shipping activities?
- Molecular sequence characterization of three West Australian *Diacyclops* species of the *alticola*-group. Do mitochondrial sequence lineages correspond with recently described morpho-species? Is the *alticola*-group a monophyletic taxon?



## Europass - životopis



### Osobní údaje

Příjmení / Jméno **Krajíček Martin**  
Adresa Pod Višňovkou 1704/6, Praha 4, 140 00  
Mobilní telefon +420 721427308  
E-mail m.krajicek@gmail.com  
Datum narození 11. března 1983

### Požadované zaměstnání vědecko-výzkumný pracovník - hydrobiolog

### Pracovní zkušenosti

Období	1/3/2009 - 28/2/2012
Povolání nebo vykonávaná funkce	samostatný technik
Hlavní pracovní náplň	údržba počítačů, techniky a katedrového vozidla, terénní odběry vzorků
Název a adresa zaměstnavatele	Katedra ekologie PřF UK (Viničná 7, 128 43 Praha 2)
reference	Lenka Krejčířiková (221 95 1804, lenka.krejcirikova@natur.cuni.cz) Martin Černý (221 95 1807, 608 900 882, martin.cerny@natur.cuni.cz)
Období	1/9/2001 - dosud
Povolání nebo vykonávaná funkce	externí pracovník oddělení Foto
Hlavní pracovní náplň	vzdělávací výukové programy pro školy, cestopisné projekce
Název a adresa zaměstnavatele	DDM Praha 4 - Hobby centrum 4 (Bartáková 1200/4, 140 00 Praha 4)
reference	Tomáš Vopálenský (241 731 510 linka 25, 602 864 256, vopalensky@hobbycentrum4.cz)
Období	1/9/2002 - 30/9/2011
Povolání nebo vykonávaná funkce	vedoucí kolektivu dětí a mládeže, environmentální výchova (dobrovolná činnost)
Název a adresa zaměstnavatele	01/14 ZO ČSOP „Natura, quo vadis?“ (Rektorská 22, 108 00 Praha 10)
reference	Tomáš Klouček (274 779 218, 603 426 895, tomas@klo.cz)

### Vzdělání a odborná příprava

Období	1/10/2007 - dosud
Dosažená kvalifikace	doktorské studium
Hlavní předměty / profesní dovednosti	obor ekologie, připravovaná dizertační práce: Diversity of european freshwater copepod species - phylogeny, ecology and phylogeography
Název organizace	Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra ekologie (Viničná 7, 128 43 Praha 2)
Období	01/10/2001 - 15/9/2007
Dosažená kvalifikace	Magistr v oboru biologie

Hlavní předměty / profesní dovednosti specializace hydrobiologie, dipl. práce: Genetická variabilita středoevropských buchanek r. Cyclops  
 Název organizace Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra ekologie (Viničná 7, 128 43 Praha 2)

## Znalosti a dovednosti

Mateřský jazyk **čeština**

Další jazykové znalosti

Sebehodnocení  
 Evropská úroveň (\*)

**angličtina**

**rumunština**

**francouzština**

**srbština**

Porozumění				Mluvení				Psaní	
Poslech		Čtení		Ústní interakce		Samostatný ústní projev			
C1	zkušený uživatel	C1	zkušený uživatel	B2	samostatný uživatel	B2	samostatný uživatel	C1	zkušený uživatel
B1	samostatný uživatel	A2	uživatel základů jazyka	A2	uživatel základů jazyka	A2	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka
A2	uživatel základů jazyka	A2	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka
A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka	A1	uživatel základů jazyka

(\*) Společný evropský referenční rámec pro jazyky

Organizační schopnosti a dovednosti zkušenost s řízením projektů (úspěšně dokončený grant GAUK), smysl pro organizaci (vedení týmu při zahraničních odběrech vzorků z horských jezer ve 12 evropských zemích)

Technické znalosti a dovednosti na velmi dobré úrovni (laboratorní a odběrové přístroje, projekční technika a fototechnika)

Počítačové znalosti a dovednosti znalost práce v systémech Linux a Windows, pokročilá práce s nástroji Microsoft Office a Open Office, dobrá znalost grafických programů (Adobe Lightroom, Photoshop, Indesign), základní znalost tvorby webu (Wordpress)

Umělecké schopnosti a dovednosti fotografie (autorské projekce, výstavy)

Další schopnosti, znalosti a dovednosti nezávislé cestování, sport

Řidičský průkaz A1, B

## Přílohy Seznam publikací:

\*E. Hamrová, \***M. Krajíček**, T. Karanovic, M. Černý, A. Petrussek: Congruent patterns of lineage diversity in two species complexes of planktonic crustaceans, *Daphnia longispina* (Cladocera) and *Eucyclops serrulatus* (Copepoda), in East European mountain lakes. Zoological Journal of the Linnean Society 166 (2012) 754–767, **IF=2.43**

\* společně první autorství

T. Karanovic and **M. Krajíček**: When anthropogenic translocation meets cryptic speciation globalised bouillon originates; Molecular variability of the cosmopolitan freshwater cyclopoid *Macrocyclus albidus* (Crustacea: Copepoda). Annales de Limnologie - International Journal of Limnology 48 (2012) 63–80, **IF=0.93**

T. Karanovic and **M. Krajicek**: Molecular phylogenies of the Western Australian Diacyclops species do not suggest size differentiation as a major evolutionary force for copepod crustaceans in subterranean habitats. *Crustaceana* 85 (2012) 1549–1569, **IF=0.46**

### **Príspevky na konferenciách a odborných setkáních:**

**M. Krajicek** (2013): Co prozradí genetika buchanek? Setkání mladých limnologů IV, 12.-14.4.2013, Hamr u Třeboně, Česká republika (prezentace)

T. Karanovic & **M. Krajicek** (2011): Anthropogenic translocation of freshwaters cyclopoid copepods associated with early shipping activities. 11th International Conference on Copepoda 11.-15.7.2011, Merida, Mexico (prezentace)

E. Hamrová, J. Mergeay, **M. Krajicek** & A. Petrusek (2011): Patterns of diversity in the *Daphnia longispina* complex in East European mountain lakes. 9th International Symposium on Cladocera, 2.-8.10.2011, Pallanza, Italy (prezentace)

T. Karanovic & **M. Krajicek** (2010): Anthropogenic translocation of freshwaters cyclopoid copepods associated with early shipping activities. 7th International Crustacean Congress, 20.-25.6.2010, Qingdao, China (prezentace)

**M. Krajicek** (2009): Genetická variabilita střeoevropských buchanek r. *Cyclops*. 15. konference České a Slovenské limnologické společnosti, 22.-26.9.2009, Třeboň, Česká republika (prezentace)

J. Fott, P. J. Juračka, **M. Krajicek** (2009): Buchanky rodu *Cyclops* (Copepoda) v České Republice a na Slovensku: morfologické znaky. 22.-26.9.2009, Třeboň, Česká republika (poster)

**M. Krajicek** & M. Cerny (2008): Genetic diversity of *Cyclops* (Crustacea, Copepoda) species in Central and South-Eastern Europe. 3rd International Symposium of the Ecologists of the Republic of Montenegro, 8.-10.10.2008, Herceg Novi, Montenegro (poster)

**M. Krajicek** & M. Cerny (2008): Genetic diversity of central European *Cyclops* (Crustacea, Copepoda) species. 10th International Conference on Copepoda, 13.-19.7.2008, Pattaya, Thailand (poster)  
- získáno ocenění „Excellent Student Poster Award“

### **Získané granty:**

**M. Krajicek** & M. Cerny: Fylogeografie horských populací buchanek a vznášivek v rámci Evropy. Grant GAUK 3370/2008. 2008 – 2010  
- projekt zahrnoval odběry zooplanktonu z 50 ledovcových jezer Balkánu, Skandinávie, Pyrenejí

### **Terénní práce v rámci jiných projektů:**

**Šumava** (2010, 2011): odběry na Plešném jezeře v rámci projektu: Limitující faktory a omezení biologického zotavování z acidifikace: Jaká je budoucnost horských ekosystémů Šumavy? Grant GA ČR 206/07/1200. 2007 – 2011

**Morava** (2006, 2007): odběry zooplanktonu z poráčnických tůň v rámci projektu: Eurocores/EuroDiversity „Connectivity, dispersal and priority effects as drivers of biodiversity and ecosystem function in pond and pool communities“ (BIOPOOL). Grant GA ČR DIV/06/E007. 2005 – 2008

**Vysoké Tatry** (2004, 2007): odběry zooplanktonu z horských jezer v rámci projektu: EURO-LIMPACS – Integrated Project to Evaluate the Impacts of Global Change on European Freshwater Ecosystems. GOCE-CT-2003-505540. Grant EC. 2004 – 2009

### **Účast na výuce předmětů:**

Mikroskopická technika – MB160C45 (úloha počítání mikroskopických objektů)

Terénní cvičení z ekologie – MB162T02 (hydrobiologické úlohy)

