

**Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze**



Bakalářská práce

# **Evoluční dynamika bičíků u zelených řas**

Alena Špirková

Praha 2009

Školitel:

Mgr. Marek Eliáš Ph.D.

# OBSAH

OBSAH.....	0
KLÍČOVÁ SLOVA.....	1
KEY WORDS.....	1
I.ABSTRAKT .....	1
I.ABSTRACT .....	1
II.ÚVOD .....	2
III. LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	3
III.1. POPIS ZELENÝCH ŘAS.....	3
III.2.BIČÍKOVÝ APARÁT .....	4
III.3. CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH SKUPIN ZELENÝCH ŘAS, JEJICH FYLOGENETICKÁ PŘÍBUZNOST, DISTRIBUCE BIČÍKATÝCH STÁDIÍ A JEJICH ZTRÁT .....	12
Fylogenetická příbuznost skupin v rámci Chlorofyt .....	13
Prasinophyceae .....	14
Ulvophyceae.....	15
Chlorophyceae.....	17
Trebouxiophyceae .....	21
IV. ZÁVĚR.....	23
V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	24
VI. PŘÍLOHY.....	29

## KLÍČOVÁ SLOVA

Chlorofyta, Prasinophyceae, Ulvophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae, Bičík, Bičíkový aparát, Reduktivní evoluce

## KEY WORDS

Chlorophytes, Prasinophyceae, Ulvophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae, Flagellum, Flagellar apparatus, Reductive evolution

## I. ABSTRAKT

Zelené řasy patří do podříše Viridiplantae, a to do dvou skupin:

- Chlorofyta, která se dále dělí na Prasinophyceae, Chlorophyceae, Trebouxiophyceae, Ulvophyceae a Pedinophyceae.

- Streptofyta, která obsahují zelené řasy ve skupině Charofyta, jež sestává z Mesostigmatophyceae/Chlorokybophyceae, Klebsormidiophyceae, Zygnematophyceae, Coleochaetophyceae a Charophyceae.

Většina zelených řas má bičík nebo je schopna tvořit bičíkatá stádia. Bičík je velmi konzervativní strukturou, která je ultrastrukturně podobná všem organismům, které mají bičíky. Absence bičíku se projevuje i v jaderné DNA tím, že desítky až stovky genů chybí ve srovnání s organismy, které bičíky nebo bičíkatá stádia tvoří, z čehož lze usuzovat, že vznik bičíku po jeho ztrátě není možný. Jelikož jsou však ztráty bičíkového aparátu uvnitř Viridiplantae zcela běžným jevem, lze usuzovat, že evoluce neprobíhá pouze směrem ke zdokonalování organismů, ale i směrem opačným.

Celkem došlo ve skupině Chlorofyta minimálně ke 30 nezávislým ztrátám bičíkového aparátu a to napříč všemi skupinami.

Uvnitř Streptofyt došlo ke ztrátám u Zygnematophyceae (Charophyta), skupin Pinopsida, Gnetophyta (jehličnany a gnetofyty) a u krytosemenných rostlin.

## I. ABSTRACT

Green algae which fall into the phylum of Viridiplantae form two groups:

-Chlorophytes – which are divided into Prasinophyceae, Chlorophyceae, Trebouxiophyceae, Ulvophyceae and Pedinophyceae.

- Streptophytes – which contain green algae in the group of Charophytes which divide into Mesostigmatophyceae/Chlorokybophyceae, Klebsormidiophyceae, Zygnematophyceae, Coleochaetophyceae and Charophyceae.

The majority of green algae has a flagellum or is able to create flagellated stages.

A flagellum is a highly conservative structure, which is ultra-structurally similar to all organisms which have flagella.

Absence of a flagellum is also shown in the nuclear DNA, tens to hundreds of genes are missing as compared with organisms which have flagella. So, we can suppose that the generation of a flagellum after this loss is not possible. The losses of the flagellum apparatus are highly common within the Viridiplantae and we can suppose that the evolution is not only for the better, but also to the contrary.

All in all, within the group of Chlorophytes, at least some 30 independent losses came about within all lineages.

Within the Streptophytes, losses took place within the Zygnematomyceae (Charophytes), the groups of Pinopsida, Gnetophyta and within Magnoliophyta.

## II. ÚVOD

Tato bakalářská práce se zabývá bičíkovým aparátem u zelených řas, jeho strukturou, funkcí, ale hlavně jeho distribucí napříč především skupinou Chlorofyta.

Pozornost věnuji hlavně ztrátám bičíkatých stádií. Ztráty bičíků jsou totiž velmi zajímavým dokladem reduktivní evoluce. Při ztrátě bičíkového aparátu dochází k velké ztrátě genů, řádově v desítkách až stovkách, a jeho opětovná tvorba by tedy musela znamenat, že buňka by byla schopná potřebné geny získat nebo vytvořit, což je jev tak nepravděpodobný, že můžeme brát v úvahu pouze jeho ztráty. Evoluce byla donedávna považována za proces „zdokonalování“, od jednoduššího ke složitějšímu organismu. Nicméně se projevuje, že evoluce probíhá i opačným směrem a jednou z prací, která to dokazuje, by měla být i tato bakalářská práce.

Dále hodnotím pomocí dostupných fylogenetických stromů příbuznost na úrovni kladů uvnitř jednotlivých řádů, ale i příbuznost řádů mezi sebou.

Taktéž tato práce obsahuje velmi stručný popis jednotlivých skupin Prasinophyceae, Chlorophyceae, Ulvophyceae a Trebouxiophyceae a krátký úvod k tomu, co jsou zelené řasy.

Řasám uvnitř Streptofyt (Charofyta) nevěnuji tolik pozornosti proto, že má diplomová práce by měla být zaměřena na bližší zkoumání tvorby bičíkatých stádií uvnitř Chlorofyt, především skupiny Trebouxiophyceae, která je počtem ztrát bičíků nejvýraznější.

Ráda bych také v úvodu poděkovala svému školiteli, Mgr. Marku Eliášovi, Ph.D., který mi věnoval nemálo svého volného času a vysvětlil mi princip izolování DNA, PCR, sekvenování DNA a molekulární taxonomii. Děkuji také Mgr. Pavlu Škaloudovi, Ph.D. za jeho pomoc při poznávání všemožných zákoutí morfologické diverzity skupiny Trebouxiophyceae a za pomoc s prací v laboratoři. A poslední poděkování patří Mgr. Ladislavu Hodačovi, který mě k řasám jako takovým přivedl, za jeho připomínky k samotné bakalářské práci a pomoc při zpracování obrazových příloh.

### III. LITERÁRNÍ REŠERŠE

#### III.1. POPIS ZELENÝCH ŘAS

Podříše Viridiplantae zahrnuje několik vývojových větví, z nichž zelené řasy začleňujeme do vývojových linií Chlorofyta a Charofyta (skupina uvnitř Streptofyt, zahrnující pouze řasy) (Příloha 1).

Vznik zelených řas se datuje dle různých autorů do doby asi před 600 miliony let (TAPPAN 1980) nebo dokonce před 1 500 miliony let (YOON et al. 2004).

Zelené řasy se vyznačují několika znaky – obsahují jeden nebo více plastidů, plastidy obsahují i parazitické *Polytoma* (Chlamydomonadales, Chlorophyceae) a *Prototheca* (Chlorellales, Trebouxiophyceae), ačkoliv v silně redukované formě a stávají se tak bezbarvými (LEE 2008, GRAHAM & WILCOX 2000, KALINA & VÁŇA 2005, PRÖSCHOLD & LELIAERT 2007)

Chloroplast zelených řas vznikl primární endosymbiózou, eukaryotický předek dnešních rostlin a řas pohltil gramnegativní bakterii – sinici – a inkorporoval ji do své buňky. Chloroplast má tedy dvě obalné membrány (obě od sinice) (MARGULIS 1992).

Obsahuje chlorofyl a a b, u skupiny Prasinophyceae může být obsažen také derivát chlorofylu c. Chloroplasty obsahují i další pigmenty jako například lutein,  $\beta$ -karoten či další karotenoidy, které mohou být obsaženy v takovém množství, že buňka získá jinou barvu než zelenou (např. *Trentepohlia* či *Haematococcus*). Karotenoidy mohou mít také protektivní funkci při nadměrném množství světla (GRAHAM & WILCOX 2000).

Chloroplast může a nemusí obsahovat pyrenoid, jenž obsahuje enzym RuBisCO.

Chloroplast Chlorofyt obsahuje tylakoidy v lamelách, Streptofyta tvoří grana (GRAHAM & WILCOX 2000, PRÖSCHOLD & LELIAERT 2007).

Chloroplast dosahuje variabilních tvarů, ale jednotlivý tvar je charakteristický pro daný rod a stává se tudíž důležitým morfologickým znakem při určování jednotlivých rodů.

Dalšími běžnými znaky u většiny zelených řas je bičík vyskytující se po dvou (*Chlamydomonas*) nebo v násobcích dvou (*Pyramimonas*, zoospory skupiny Oedogoniales) s tím, že bičíky mívají stejnou délku a bývají holé. Výjimkou jsou v tomto Pedinophyceae, (*Resultor*) a Prasinophyceae (*Trichloridella*), které mají počet bičíků lichý (GRAHAM & WILCOX 2000).

Zásobní látkou zelených řas je škrob (polysacharid složený z amylózy a amylopektinu), který se ukládá na povrchu pyrenoidu a mezi tylakoidy, což znamená v chloroplastu (LEE 2008, PRÖSCHOLD & LELIAERT 2007).

Přítomnost škrobu se ověřuje obarvením I<sub>2</sub>KI (Lugolův roztok), který barví škrob tmavomodře až černě a pomáhá k následnému odlišení zelených řas od jiných skupin, které škrob neobsahují (KŘÍSA & PRAŠIL 1994).

Chlorofyta mají uzavřenou mitózu, haplontní životní cyklus, zygota je tedy jediná diplontní buňka v cyklu. Stélky zahrnují volně žijící bičíkovce (*Chlamydomonas*), kokální řasy (*Trebouxia*), řasy tvořící kolonie (*Volvox*), kapsální (*Tetraspora*), trichální (*Ulothrix*), heterotrichální (*Draparnaldia*), sifonokladální (*Cladophora*) nebo sifonální (*Caulerpa*) řasy (KALINA & VÁŇA 2005). Žijí převážně ve vodním prostředí, mořském, sladkovodním, jsou terestrické, parazitické, symbionti lišejníků, korálů, mořských řas, rostlin, endosymbionti živočichů (GRAHAM & WILCOX 2000). Mohou žít na sněhu (*Chlamydomonas nivalis*), na skalách (*Prasiola*), na kůrách stromů (*Trentepohlia*) a také v prostředí s nízkým nebo vysokým pH (GRAHAM & WILCOX 2000).

Streptofyta mají zpravidla mitózu otevřenou, jsou předpokládaným předkem cévnatých rostlin (LEWIS & MCCOURT 2004). Životní cyklus je u podskupiny Charofyta haplontní. Stavba těla se projevuje rozlišenými pletivy. Vztahy mezi skupinami Charofyta a Embryofyta nejsou stále ještě úplně vyjasněné (LEWIS & MCCOURT 2004).

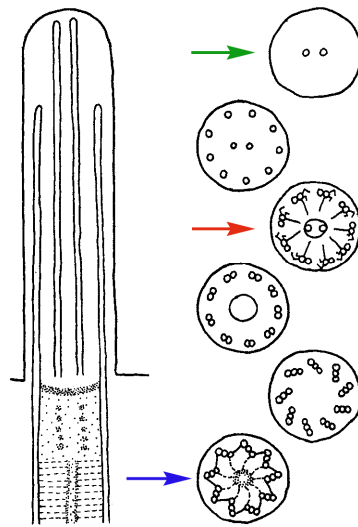
### III.2. BIČÍKOVÝ APARÁT

Monadoidní buňky, zoospory a bičíkaté gamety potřebují ke svému pohybu bičík. Bičík je velmi konzervovaná struktura, což dokazuje už skutečnost, že ultrastruktura bičíku je u většiny organismů stejná (ALBERTS et al. 1998). Struktura je to natolik složitá, že se dá usuzovat spíše na několik ztrát, než na opakovaný vznik.

Podle uspořádání bazálních tělísek se také dříve rozřazovaly rody do jednotlivých skupin (PRÖSCHOLD & LELIAERT 2007). Že je tento postup vesměs správný se potvrdilo s příchodem molekulární taxonomie. Pozice bazálních tělísek má tedy velkou vypovídací hodnotu.

Bičíky jsou u většiny zelených řas uspořádány v sudém počtu v násobcích dvou (2 *Chlamydomonas*, 4 *Tetraselmis*, 8 *Pyramimonas*, 16 *Pyramimonas*), ale u stefanokontních zoospor skupiny Oedogoniales mohou dosáhnout výrazně vyšších počtů (40 párů uspořádaných do kruhu). U skupiny Prasinophyceae a Pedinophyceae může být počet bičíků lichý (1 *Resutor*, 3 *Trichloridella*) (GRAHAM & WILCOX 2000).

Bičíky jsou stejně dlouhé, na konci se zužují a konce obsahují již pouze dvojici centrálních mikrotubulů (obr.1.)



Obr.1.

Zelená šipka znázorňuje řez bičíkem na jeho konci.

Červená šipka znázorňuje řez bičíkem v jeho střední části.

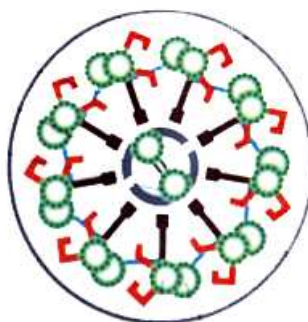
Modrá šipka znázorňuje řez bičíkem na jeho bazální části.

(Převzato a upraveno z

<http://biodidac.bio.uottawa.ca/ftp/BIODIDAC/Zoo/General/DIAGBW/Gene030b.gif>)

Bičíky mohou být pokryty polysacharidovými šupinami (*Halosphaera*), hustým krátkým vlášením (*Chlamydomonas*), ale nejčastěji bývají holé (zoospory *Myrmecea*) (LEE 2008).

Mikrotubulární strukturu bičíku nazýváme axonema a je složena z devíti obvodových a jedné centrální dvojice mikrotubulů (obr.2.).

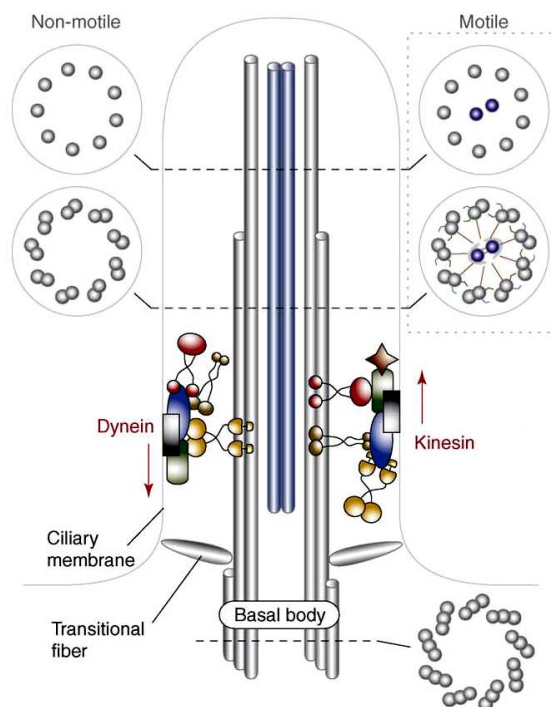


Obr.2.

Znázornění axonematu na průřezu.

(převzato a upraveno z <http://www.ufmt.br/bionet/conteudos/15.10.04/cito17b.jpg>)

Obsahuje dva důležité proteiny – nekontraktilní tubulin a kontraktilní dynein (mikrotubulární motor – adenosin trifosfatáza), který zajišťuje pohyb bičíku (obr.3.). Dvojice mikrotubulů jsou spojeny dyneinovými raménky, které s mikrotubuly pohybují tak, že po sobě mikrotubuly kloužou (INGLIS et al. 2006).



Obr.3.

Znázornění ultrastruktury bičíku.

Dynein - znázornění dyneinu a jeho umístění na mikrotubulu, šipka značí směr pohybu.

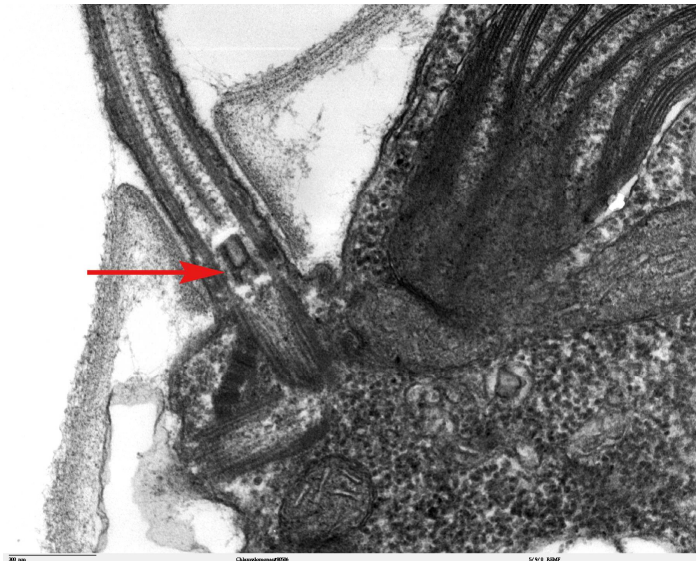
Kinesin - znázornění kinesinu a jeho umístění na mikrotubulu, šipka značí směr pohybu.

(Převzato a upraveno z INGLIS et al. 2006)

Bičík je ukotven v buňce bazálním tělískem.

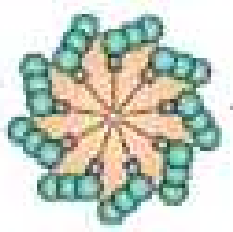


Rozhraní mezi volnou částí bičíku a bazálním tělískem se nazývá přechodná oblast, která má na podélném řezu tvar písmene H (obr.4).



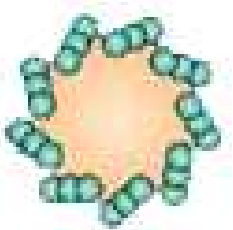
Obr.4.  
Podélný řez bičíkem  
Šipka směřuje k přechodné oblasti bičíku.  
(Převzato a upraveno z [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/68/Chlamydomonas\\_reinhardtii\\_Flagella\\_5\\_-\\_TEM.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/68/Chlamydomonas_reinhardtii_Flagella_5_-_TEM.jpg))

Končí zde axonema a její středová struktura je u skupiny Viridiplantae prstenec tvořící hvězdici (obr.5).



Obr.5.  
Znázornění přechodné oblasti na příčném průřezu.  
(Převzato a upraveno z <http://www.nature.com/nrm/journal/v8/n11/images/nrm2278-i1.jpg>)

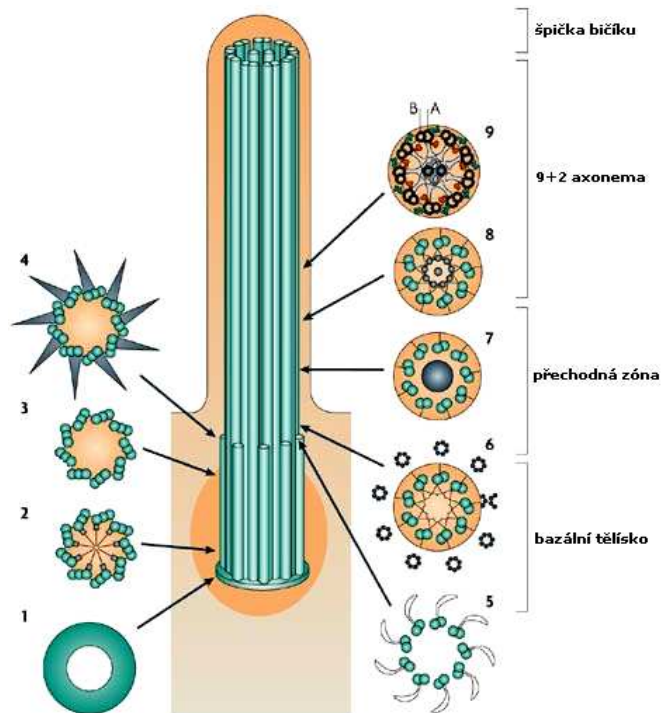
Část bazálního tělíska bližší k přechodné oblasti je složena z kruhu devíti vzájemně spojených mikrotubulárních tripletů (obr.6.).



Obr.6.

Znázornění mikrotubulárních tripletů v bazálním tělísku.

(Převzato a upraveno z <http://www.nature.com/nrm/journal/v8/n11/images/nrm2278-i1.jpg>)



Obr.7.

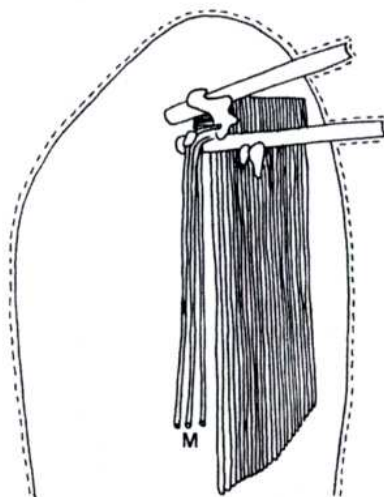
Znázornění uspořádání mikrotubulů na průřezu spolu se znázorněním jednotlivých pozic na bičíku.

(Převzato a upraveno z <http://www.nature.com/nrm/journal/v8/n11/images/nrm2278-i1.jpg>)

Bazální tělíska tvoří také další struktury.

Konkrétně pak mikrotubulární kořeny, které vyrůstají z určitých tripletů bazálního tělíska.

U Charofyt jsou uspořádány do širokého pásu mikrotubulů s malým sekundárním kořenem (obr.8.).



Obr.8.

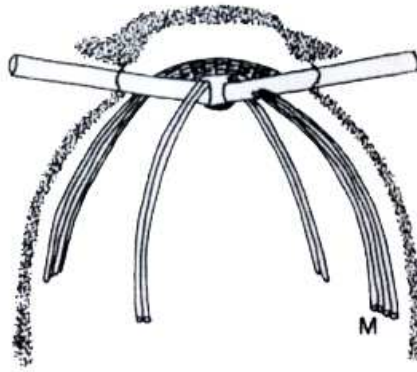
Uspořádání mikrotubulů u Charofyt.

M – mikrotubulární kořeny

(Převzato a upraveno z LEE 2008)

U Chlorophyceae (obr.9.) a Ulvophyceae (obr.10.) jsou pak mikrotubulární kořeny

uspořádány do čtyř skupin křížem uspořádaných mikrotubulárních kořenů (LEE 2008).

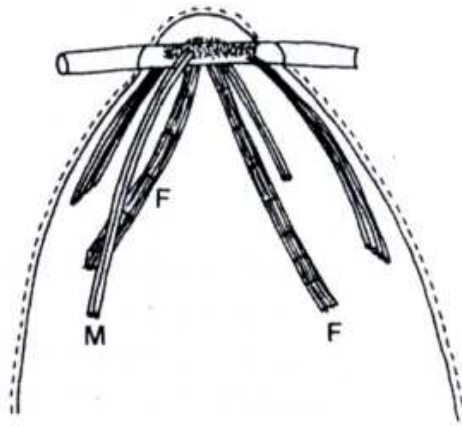


Obr.9.

Uspořádání mikrotubulárních a fibrilárních kořenů skupiny Chlorophyceae

M – mikrotubulární kořeny

(Převzato a upraveno z LEE 2008)



Obr.10.

Uspořádání mikrotubulárních a fibrilárních kořenů skupiny Ulvophyceae

M- mikrotubulární kořeny

F – fibrilární kořeny (rhizoplasty)

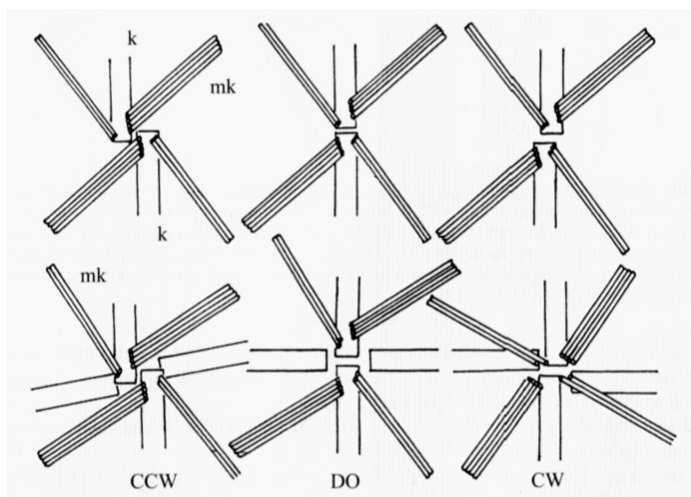
(Převzato a upraveno z LEE 2008)

Křížovité uspořádání se popisuje x-2-x-2, což znamená, že vždy 2 mikrotubulární kořeny jsou uspořádány po dvou a další dva po takovém počtu, které odpovídá x. Například

*Chlamydomonas moewusii* má uspořádání 4-2-4-2. Jeden z kořenů je často spojen s vnější membránou chloroplastu a pravděpodobně se podílí na fototaxi (GRAHAM & WILCOX 2000).

Další strukturou jsou rhizoplasty (fibrilární kořeny), které se skládají z filament přerušovaných pásy z elektron-denzního materiálu. Rhizoplasty probíhají od bazálního tělíska k jádru. Velikost filament v rhizoplastech je podobná aktino-myosinovým filamentům v živočišných svalových buňkách. A stejně tak způsob kontrakce. Rhizoplasty se objevují u Prasinophyceae, Chlorophyceae a Ulvophyceae, ale chybí u Charofyt (GRAHAM & WILCOX 2000). Charofyta mají jako typ bičíkových kořenů mnohvrstevnou strukturu (multilayered structure), která leží přímo pod bazálním tělískem. Skládá se z více nebo méně pravoúhlých tělísek uspořádaných v přední části buňky do čtyř vrstev, z nichž se vrstva nejbližší k plasmatické membráně skládá z mikrotubulárních kořenů a nejbzdálenější je složena z malých mikrotubulů (GRAHAM & WILCOX 2000).

Velmi důležitým znakem v morfologii zelených řas je uspořádání bazálních tělísek. Toto se hodnotí při pohledu na buňku shora. Bazální tělíska mohou mít CW (clockwise), CCW (counter-clockwise) a DO (directly opposed) orientaci (KALINA & VÁŇA 2005, GRAHAM & WILCOX 2000, LEE 2008, LEWIS & MCCOURT 2004). Při CW (clockwise) orientaci jsou bazální tělíska natočena po směru hodinových ručiček (uspořádání připomíná 7 hodin a 5 minut - 7/1). CW orientace je typická pro volně žijící bičíkovce, zoospory a bičíkaté gamety skupiny Chlorophyceae (KALINA & VÁŇA 2005). U CCW (counter-clockwise) orientaci jsou bazální tělíska v poloze za 5 minut 5 hodin (11/5). Typičtí zástupci tohoto uspořádání jsou zoospory a bičíkaté gamety skupin Ulvophyceae a Trebouxiophyceae (KALINA & VÁŇA 2005). DO (directly opposed) orientace má bazální tělíska v poloze 6 hodin (12/6). Tato orientace je považována za výchozí a je charakteristická pro zoospory skupiny Sphaeropleales (Chlorophyceae) (KALINA & VÁŇA 2005).



Obr.11.

Uspořádání bazálních tělísek a mikrotubulárních kořenů při CCW, DO a CW orientaci.  
 k – bazální tělísko, mk – mikrotubulární kořeny  
 (převzato a upraveno z KALINA & VÁŇA 2005)

Bazální tělíska jsou důležitou buněčnou strukturou zajišťující regeneraci a růst bičíku. Jejich replikace probíhá na začátku buněčného dělení a tento mechanismus je zajištěn různým stářím bazálních tělísek. 1 bazální tělísko je přejímáno z mateřské buňky a 2., mladší bazální tělísko, je uloženo v těsné blízkosti funkčního bičíku. Vlastní bičík vytváří v další fázi buněčného cyklu (KALINA & VÁŇA 2005).

Strukturu podobnou bazálním tělískům mají centrioly, které mají také s bazálními tělíska těsný vztah. V průřezu má centriola kruh z devíti mikrotubulárních tripletů.



Obr.12

Znázornění centriol na průřezu.

(Převzato a upraveno z

[http://1.bp.blogspot.com/\\_y8SFoG4hidM/R4ACI\\_ZjUI/AAAAAAAAABE/TjAVnay9jUU/s320/centriolesfigure1.jpg](http://1.bp.blogspot.com/_y8SFoG4hidM/R4ACI_ZjUI/AAAAAAAAABE/TjAVnay9jUU/s320/centriolesfigure1.jpg))

### III.3. CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH SKUPIN ZELENÝCH ŘAS, JEJICH FYLOGENETICKÁ PŘÍBUZNOST, DISTRIBUCE BIČÍKATÝCH STÁDIÍ A JEJICH ZTRÁT

Při dělení zelených řas do jednotlivých skupin se v průřezu algologickou literaturou nejčastěji setkáváme s dělením na Prasinophyceae, Ulvophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae a Charophyceae.

Podle dostupných článků jsem na základě jejich fylogenetických stromů sestavila tabulku 1. V tabulce jsem naznačila distribuci bičíkatých stádií v jednotlivých řádech / kladech.

Oddělení	Třída	Řád / Klad	Distribuce bičíkových stádií
<b>Chlorophyta</b>			
	<b>Prasinophyceae</b>	Chlorodendrales	++++
		Nephroselmidaceae	++++
		„Clade II ( <i>sensu</i> Viprey et al.)“	0
		Mamiellales	+++
		Pycnococcaceae	++++
		Pyramimonadales	++++
		Prasinococcales	0
	<b>Ulvophyceae</b>	Ulotrichales	++++
		Ulvales	++++
		Siphonocladales	++++
		Trentepohliales	++++
		Ignatius clade	++++
		Oltmannsiellopsidales	++++
		Caulerpales (=Bryopsidales)	++++
		Dasycladales	++++
		Cladophorales	+++
	<b>Chlorophyceae</b>	CW clade - Chlamydomonadales	++++
		DO clade - Sphaeropleales	+++
		Oedogoniales	++++
		Chaetopeltidales	++++
		Chaetophorales	++++
	<b>Trebouxiophyceae</b>	Prasiolales	+
		Trebouxiales	+++
		Microthamniales	++++
		Choricystis/Botryococcus clade	0
		Watanabea clade	0

		Chlorellales	+
		Coccomyxa clade	0
<b>Charophyta</b>			
	<b>Mesostigmatophyceae</b>	Mesostigmales	+
	<b>Chlorokybophyceae</b>	Chlorokybales	+
	<b>Klebsormidiophyceae</b>	Klebsormidiales	+
	<b>Zygnematophyceae</b>	Zygnematales	0
		Desmidiales	0
	<b>Coleochaetophyceae</b>	Colechaetales	+
	<b>Charophyceae</b>	Charales	+

Tab.1. Rozdělení zelených řas s využitím článků VIPREY et al. 2008, WATANABE & NAKAYAMA 2007, TURMEL et al. 2008, KARSTEN et al. 2005, HENLEY et al. 2004, RODRÍGUEZ et al. 2008, LEWIS & McCOURT 2004

Legenda:

Chlorofyta

++++ bičíková stádia se vyskytují u všech organismů v daném řádu / kladu

+++ bičíková stádia se vyskytují u většiny organismů v daném řádu / kladu

++ bičíková stádia se vyskytují přibližně u poloviny organismů v daném řádu / kladu

+ bičíková stádia se vyskytují v daném řádu / kladu výjimečně

0 žádná bičíková stádia nejsou v daném řádu / kladu známa

Charofyta

+ bičíková stádia jsou známa

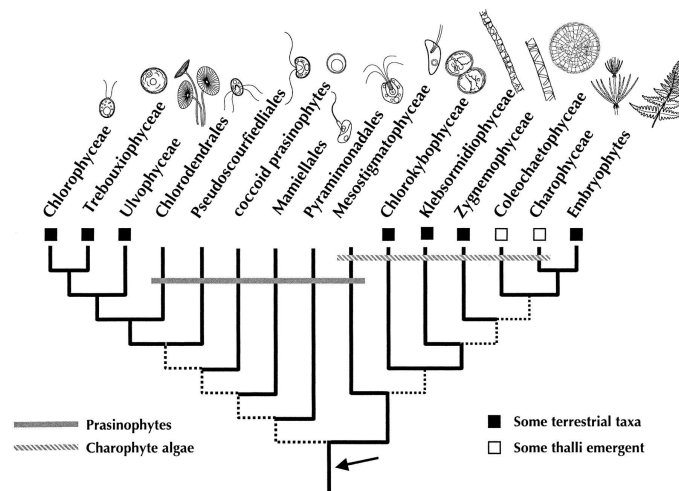
0 bičíková stádia známa nejsou

## Fylogenetická příbuznost skupin v rámci Chlorofyt

Fylogenetický strom LÓPEZ-BAUTISTY et al. 2002 byl sestaven podle sekvencí dostupných v GenBank. Je zaměřen v prvé řadě na skupinu Ulvophyceae, nicméně jsou na něm dobře vidět vztahy i mezi skupinami navzájem (Příloha 1).

Skupina Chlorophyceae je v něm sesterská s Trebouxiophyceae. Jejich společný předek je pak sesterský k Ulvophyceae. Na bázi stromu leží skupina Prasinophyceae, dá se tedy usuzovat, že se Ulvophyceae, Chlorophyceae a Trebouxiophyceae vyvinuly právě z Prasinophyceae.

Stejné vztahy mezi skupinami ukazuje i fylogenetický strom publikovaný v článku LEWIS & MCCOURT 2004.



Obr.13.  
Konsenzuální fylogenetický strom ukazující příbuznost mezi skupinami zelených řas. Strom zahrnuje i skupinu Streptofyta. Šipka ukazuje pravděpodobný vznik zeleného bičíkatého předka Viridiplantae. (Převzato z LEWIS & MCCOURT 2004)

## Prasinophyceae

Tato skupina byla definována v roce 1988 T. Christensenem ex Ø. Moestrup & J. Thronsen. Její název je odvozen od řeckého slova prasinós (πράσινος), což znamená zelený.

Skupina se dle dosavadních výsledků řadí na bázi zelených řas a pravděpodobně obsahuje původního předka zelených bičíkovců. Skupina je ale stále parafyletická.

Morfologie zástupců skupiny Prasinophyceae se vyznačuje fazolovitým až hvězdovitým habitem s jedním až osmi (*Pyramimonas* s 16ti) bičíky vloženými v mělké prohlubni v přední části buňky. Počet mikrotubulárních kořenů se pohybuje mezi 2–4 (GRAHAM & WILCOX 2000).

Primárně jsou to mořští bičíkovci, někteří zástupci jsou však kokální a ani bičíkatá stádia netvoří (*Bathycoccus*). Tvoří cysty zvané fykomata. Sladkovodní Prasinophyceae obsahují kontraktální vakuolu, pomocí které se zbavují přebytečné vody.



Všechna Prasinophyceae obsahují chloroplast, přesto jsou některá mixotrofy, což znamená, že jsou schopni jak fotosyntézy, tak fagocytózy (GRAHAM & WILCOX 2000, BELL & LAYBOURN-PARRY 2003).

Plastid je jednoduchý (ale může být i značně laločnatý), často s pyrenoidem. Někdy je přítomno stigma.

Doprovodný pigment prasinoxanthin některá Prasinophyceae ztratila.

Jejich povrch je pokryt organickými šupinami (může jich být i více než 7 typů), ale mohou být krytá i tékou připomínající buněčnou stěnu nebo nahá (GRAHAM & WILCOX 2000).

Další znaky, které se u Prasinophyceae vyskytují, ale nejsou pro tuto skupinu charakteristické, jsou dlouhý Golgiho aparát ležící mezi bazálními tělísky a jádrem a ejektilní extrusomy (GRAHAM & WILCOX 2000).

Zkoumáno bylo pouze několik rodů, a proto je konstrukce komplexní fylogeneze prakticky nereálná. Nicméně STEINKÖTTER et al. 1994 tvrdí, že ačkoliv se Prasinophyta od ostatních zelených řas oddělila relativně nedávno, nejsou monofyletická. To dokazuje i studie VIPREYHO et al. 2008.

Dříve byla mezi Prasinophyceae řazena taktéž *Mesostigma viride* (JOHN et al. 2008), nicméně tato byla přeřazena po molekulárních analýzách plastidového genomu dokonce do skupiny Streptofyta, a to na bázi Streptofyt, kde byla zjištěna její příbuznost s *Chlorokybus atmophyticus*, s nímž tvoří jeden klad (LEMIEUX et al. 2007).

Prasinophyceae se dále rozřazují do jednotlivých kladů – Chlorodendrales, které obsahují pouze bičíkovce, Nephroselmidiaceae, taktéž bičíkovci, Clade II zahrnuje *Picocystis salinarum*, u něž nejsou bičíková stádia známa. Dále pak klad Mamiellales obsahující jak bičíkatou *Mamiella*, tak kokální *Ostreococcus* a *Bathycoccus*, které bičíková stádia netvoří. Klad Pyramimonadales zahrnuje bičíkatá Prasinophyceae a Prasinococcales bezbičíkatý *Prasinococcus* (VIPREY et al. 2008).

Ztráta bičíků se tak dá odvodit z fylogenetického stromu v kladech II, Prasinococcales a uvnitř kladu Mamiellales (VIPREY et al. 2008, FAWLEY et al. 2000) (Příloha 2).

## Ulvophyceae

Skupina Ulvophyceae byla roku 1978 založena K. R. Mattoxem a K. D. Stewartem. Mezi Ulvophyceae patří největší a nejvýraznější ze zelených řas (GRAHAM & WILCOX 2000).

Většina z nich je mořských (*Ulva*, *Acetabularia*, *Halimeda*), jen minimum z nich je sladkovodních (*Ulothrix*). Mohou být terestrické (*Trentepohlia*) i parazitické (*Cephaleuros*). Mohou produkovat neurotoxiny (některé druhy *Caulerpa*) (GRAHAM & WILCOX 2000).

Tradiční dělení Ulvophyceae je do skupin Ulotrichales, Ulvales, Trentepohliales, Siphonocladales, Caulerpales a Dasycladales (GRAHAM & WILCOX 2000, LEE 2008).

LEE (2008) charakterizuje

Ulotrichales jako jednojaderné vláknité řasy s parietálním chloroplastem.

Ulvales jako jednojaderné buňky s parietálním chloroplastem, které mají dutou nebo listovitou stélku širokou jednu až dvě vrstvy buněk.

Cladophorales pak jako mnohojaderné vláknité řasy s perforovaným parietálním nebo síťkovitým chloroplastem.

Dasycladales mají stélku radiálně symetrickou, s přímou osou, která nese větve. Vegetativní stélku mají jednojadernou, před rozmnožováním se stává pak mnohojaderná, gamety se tvoří v operkulárních (otevřajících se víčkem, operkulem) cystách.

Caulerpales mají stélku coenocytickou a postrádají celulózu v buněčné stěně. Vždy přítomná jsou barviva sifonoxantin a sifonein.

Siphonocladales pak charakterizuje jako řasy s vlastním buněčným dělením a obsahující sifonoxantin.

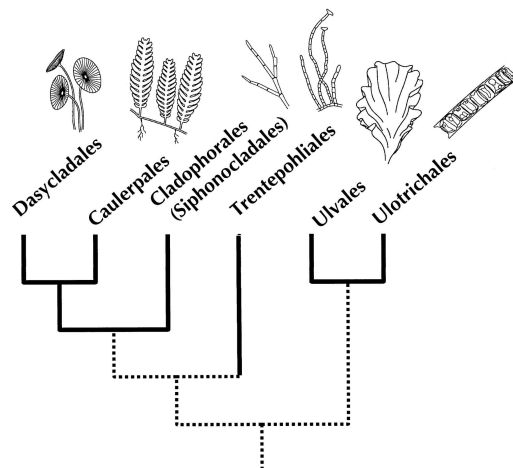
Další autoři řadí do Ulvophyceae ještě další skupiny, a to Trentepohliales LÓPEZ-BAUTISTA et al. (2002), Oltmannsiellopsidales a Ignatius klad (PRÖSCHOLD & LELIAERT 2007).

Všechna Ulvophyceae tvoří bičíkatá stádia (LEE 2008), nebyla pozorována pouze u *Spongiochrysis hawaiiensis* (RINDI et al. 2006). Jelikož jde ale pouze o jediný druh mezi Ulvophyceae, dá se předpokládat, že bičíkatá stadia pouze nebyla pozorována.

LEWIS & MCCOURT 2004 použili sekvence z publikací Hayden & Waaland 2002 a O'Kelly et al. 2004 a sestavili fylogenetický strom skupiny Ulvophyceae na základě sekvencí DNA.

Z něj je možno vyčíst, že Dasycladales a Caulerpales jsou sesterské a jejich předek byl příbuzný s Cladophorales a Siphonocladales (které jsou zde znázorněny na jedné větvi).

Ulvales a Ulotrichales jsou také navzájem sesterské. Nízká podpora ze strany molekulárních dat při rekonstrukci vztahů mezi předkem Cladophorales, Caulerpales a Dasycladales a Trentepohliales a také mezi Trentepohliales a předkem Ulvales a Ulotrichales znemožňuje s jistotou určit jejich vztahy (obr.14.).



Obr.14.

Konsenzuální fylogenetický strom sestavený na základě sekvencí DNA znázorňující předpokládanou a dostatečně podpořenou příbuznost skupin v rámci Ulvophyceae. (Převzato z LEWIS & MCCOURT 2004)

WATANABE & NAKAYAMA 2007 ve své práci řeší pozici *Ignatius tetrasporus* uvnitř Ulvophyceae. Jejich fylogenetický strom neobsahuje všechny skupiny Ulvophyceae, ale naznačuje vztahy mezi Siphonocladales, Trentepohliales, Dasycladales, Ulvales/Ulotrichales a klad, v němž leží *Ignatius tetrasporus* spolu s *Pseudocharacium americanum*, Ignatius clade. Větší vypovídací hodnotu má jejich fylogenetický strom zkonstruovaný Bayesovskou analýzou 18S rDNA než strom zkonstruovaný analýzou neighbor-joining. Z něj vychází Siphonocladales a Trentepohliales jako sesterská skupina s podporou 99%. Neighbor joining analýza udává jako sesterské skupiny Siphonocladales a Dasycladales, nicméně bootstrapová podpora je méně než 50%, lze tedy usuzovat, že sesterské jsou Siphonocladales a Trentepohliales a k nim nejbližší příbuzná skupina Dasycladales. Tyto tři skupiny jsou pak příbuzné Ulvales/Ulotrichales, Ignatius clade a Oltmannsiellopsidales. Nicméně toto není podpořeno dostatečnou bootstrapovou hodnotou a je třeba na tomto poli ještě dalších prací.

## Chlorophyceae

J. N. F. Wille popsal roku 1884 skupinu zelených řas, kterou nazval Chlorophyceae. Chlorophyceae v dnešním slova smyslu pak popsal K. R. Mattox a K. D. Stewart o sto let později, roku 1984.

Jedná se o značně diverzifikovanou skupinu zelených řas mnohých habitů. Od bičíkovců po řasy vláknité. Zahrnuje pět hlavních skupin: Chlamydomonadales (CW klad), Sphaeropleales (DO klad), Oedogoniales, Chaetophorales a Chaetopeltidales (TURMEL et al. 2008).

Basální tělíska mají uspořádání CW a DO (TURMEL et al. 2008). Počet bičíků dosahuje počtu od dvou (*Chlamydomonas*) až například 40 párů (stefanokontní zoospory u *Oedogoniales*) Některé řasy skupiny *Sphaeropleales* bičíky druhotně ztratily.

Chlorophyceae jsou monofyletickou skupinou a podporuje to i molekulární analýza 44 chloroplastových protein-kódujících genů a sekvence aminokyselin (TURMEL et al. 2008).

Ačkoliv skupina Chlamydomonadales (TURMEL et al. 2008) (někdy i *Volvocales*, NAKADA et al. 2008) byla vymezena již dříve na základě morfologických znaků, například uspořádání basálních tělísek CW, její existenci a to, že je monofyletická, podporují molekulární analýzy 18S rRNA (NAKADA et al. 2008), 18S rDNA (ALBERGHINA et al. 2006) (Příloha 3).

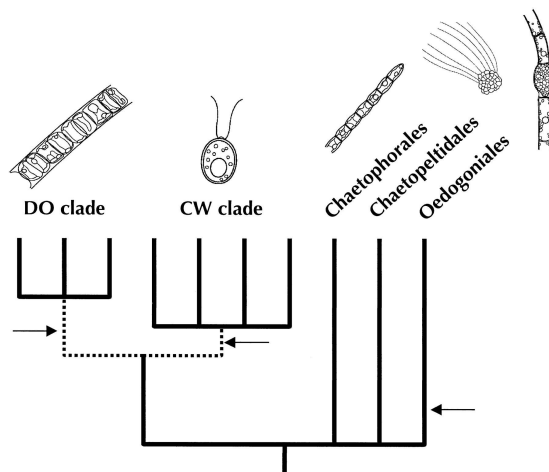
Tato skupina obsahuje výhradně řasy, u nichž jsou bičíkatá stádia známa, nejčastěji jsou to samotní bičíkovci (*Chlamydomonas*, *Volvox*), zřídka pak kokální řasy tvořící zoospory (*Golenkinia*).

Skupina *Chlamydomonadales* je sesterská k *Sphaeropleales*, dokazuje to Bayesovská analýza kombinovaných dat 18S a 28S rDNA (WATANABE et al. 2006) s posterior probablity 1.00. Potvrzuje to i analýza 44 chloroplastových protein-kódujících genů a sekvence aminokyselin (TURMEL et al. 2008) se 100% bootstrapem.

Skupina Sphaeropleales obsahuje bičíkovce, řasy tvořící zoospory (*Pediastrum*), ale i řasy, u kterých žádná bičíkatá stadia nejsou známa (*Scenedesmus*) (příloha 3).

Tato skupina je definována čeledí *Sphaeropleaceae*, která je však velmi divergentní a proto je monofylie *Sphaeropleales* velmi nejistá.

Příbuznosti řas uvnitř skupiny Chlorophyceae se věnují Lewis a McCourt, 2004. Jimi sestavený strom na základě sekvencí DNA naznačuje, že *Chlamydomonadales* (CW clade) a *Sphaeropleales* (DO clade) měli společného předka, který byl příbuzný ke skupinám *Chaetophorales*, *Chaetopeltidales* a *Oedogoniales* (obr.16.).



Obr.16.

Konsenzuální fylogenetický strom vytvořený na základě sekvencí DNA naznačující příbuznost uvnitř skupiny Chlorophyceae.

Přerušovaná čára indikuje slabou bootstrapovou podporu.

(Převzato z LEWIS & MCCOURT 2004)

Ke skupinám Chlamydomonadales a Sphaeropleales jsou pak podle analýzy 44 chloroplastových protein-kódujících genů (TURMEL et al. 2008) příbuzné skupiny Chaetophorales, Chaetopeltidales a Oedogoniales, jejichž vzájemná pozice ještě není úplně vyjasněná.

Dle Bayesovského stromu sestaveného pro kombinovaná data 18S a 28S rDNA (WATANABE et al. 2006) a analýzou maximum-likelihood jsou ke skupinám Chlamydomonadales a Sphaeropleales nejpříbuznější Chaetophorales s bootstrapovou podporou 100%.

Podle Bayesovského stromu pro 18S rDNA a analýzy maximum-likelihood jsou pak na stejné větvi jak Chlamydomonadales, Sphaeropleales, ale i Chaetopeltidales a Chaetophorales, které tedy musely mít společného předka, který byl bičíkovec.

Chaetophorales je skupina řas vyznačující se čtyřmi bičíky s kombinací bazálních tělísek CW a DO (TURMEL et al. 2008, MELKONIAN 1975, BUCHHEIM et al. 2001).

Tyto řasy mají větvenou nebo nevětvenou vláknitou vegetativní stélku (LEWIS & MCCOURT 2004, JOHN et al. 2002).

Chaetopeltidales mají také čtyři bičíky, nicméně s orientací bazálních tělísek DO a DO. (TURMEL et al. 2008, O'KELLY et al. 1994).

Vegetativní stélky jsou zploštělé (*Chaetopeltis*) nebo sarcinoidní (trojrozměrné „balíčky“) (*Floydiella*) (LEWIS & MCCOURT 2004).

Dříve se *Floydiella terrestris* nazývala *Planophila terrestris*, nicméně molekulární analýza prokázala, že *Planophila terrestris* není příbuzná s typovým druhem *Planophila laetevirens*

(tato patří do Ulotriconales) a došlo tedy k jejímu přejmenování na *Floydiella terrestris* (FRIEDL & O'KELLY 2002).

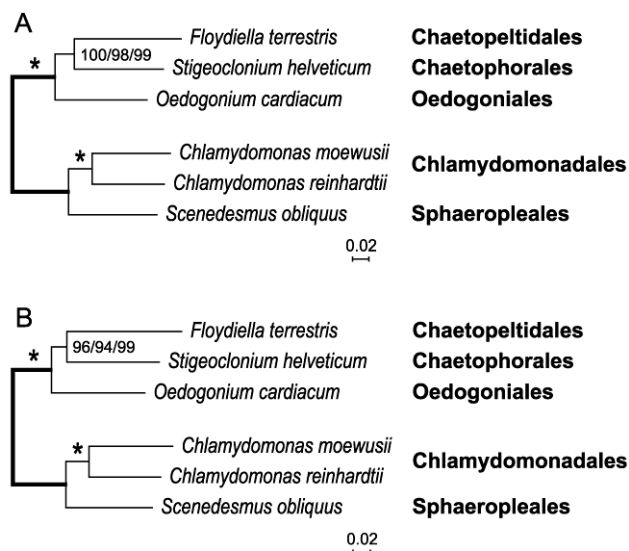
Oedogoniales tvoří zelené řasy, které vytváří stefanokontní zoospory (kruh bičíků na apikální straně buňky), mají speciální cytokinezi a zvláštní sexuální rozmnožování (GRAHAM & WILCOX 2000) Uspořádání basálních tělísek je odvozeno od DO uspořádání (ALBERGHINA et al. 2006).

Většina žije ve sladkých vodách, některé druhy *Oedogonium* jsou terestrické.

Oedogoniales jsou mezi zelenými řasami monofyletická skupina (ALBERGHINA et al. 2006) a zahrnuje rody *Bulbochaete* a *Oedocladium* s větvenou vegetativní stélkou a *Oedogonium*, s vegetativní stélkou nevětvenou.

*Oedogonium* je polyfyletické, na jedné větvi je sesterské s *Oedocladium*, na druhé s *Bulbochaete*. Nicméně u stromu konstruovaného z 18S rDNA sekvencí (ALBERGHINA et al. 2006) nejsou dostatečné bootstrapové hodnoty, dá se tedy předpokládat, že uspořádání v tomto kladu ještě není konečné.

V článku TURMEL et al. 2008 podle 44 chloroplastových protein-kódujících genů vychází Oedogoniales sesterské k Chaetopeltidales a Chaetophorales. V tomtéž článku, ale dle stromu zkonstruovaného na sekvencích aminokyselin jsou Oedogoniales sesterské pouze k Chaetophorales (obr.15.).



Obr.15.

Znázornění vztahů uvnitř Chlorophyceae

Strom A je sestaven na základě sekvencí aminokyselin pomocí analýzy maximum-likelihood. Strom B je sestaven na základě nukleotidových sekvencí (1. a 2. pozice kodonu) pomocí analýzy maximum-likelihood.

(Převzato z M. TURMEL et al. 2008)

## Trebouxiophyceae

Dříve byla tato skupina nazývána Pleurastrrophyceae (MATTOX & STEWART) s typovým organismem *Pleurastrum insigne*. Nicméně po molekulární analýze 18S rRNA (FRIEDL 1995) vyšlo najevo, že *Pleurastrum insigne* vůbec není s organismy v této skupině příbuzné a patří do skupiny Chlorophyceae.

Roku 1995 založil tedy T. Friedl skupinu Trebouxiophyceae, s typovým organismem *Trebouxia impressa* (FRIEDL 1995). Zahrnuje do této skupiny zelené řasy bez bičíkaté vegetativní stélky, jednobuněčné (*Chlorella*), sarcinoidní (*Pabia*) nebo vláknité řasy (*Microthamnion*). Plasmodesmata mezi buněčnými stěnami chybí. Pokud jsou vytvořené pohyblivé buňky, mají dva bičíky s bazálními tělísky v uspořádání CCW, s jednoduchým rhizoplastem který není fyzicky spojen s mikrotubulárními kořeny. Zoospory jsou bez buněčné stěny, téky, ale většinou úplně chybí. Asexuální rozmnožování probíhá pomocí zoospor nebo autospor, sexuální rozmnožování je známo jen u některých zástupců (FRIEDL 1995).

Jsou to řasy terestrické, symbionti lišejníků a sladkovodní (FRIEDL 1995). *Prototheca* je řasa parazitická (GRAHAM & WILCOX 2002). *Coccomyxa* může být parazitem slávky jedlé *Mytilus edulis*, volně žijící v mořském planktonu, sladkovodní, epifyt, lišejníkový symbiont, symbiont protozoí, ale i endofyt stromu *Ginkgo biloba* (RODRÍGUEZ et al. 2008).

Trebouxiophyceae mají tedy širokou morfologii i diverzitu.

KARSTEN et al. roku 2005 vypracovali fylogenetický strom podle sekvencí 18S rDNA pomocí analýzy maximum-likelihood, maximum-evolution a maximum-parsimony a rozdělili použité zástupce třídy Trebouxiophyceae do několika skupin – klad Prasiola, Trebouxiales, Choricystis/Botryococcus klad, Watanabea klad a Chlorellales. V něm jsou znázorněny jako sesterské Prasiola klad s Trebouxiales a Watanabea klad s Choricystis/Botryococcus klad. Tyto čtyři skupiny jsou pak sesterské k Chlorelalles. Že jsou Chlorellales monofyletické je podpořeno vysokou bootstrapovou hodnotou (ML 98%, ME 96%, MP 99%). Což ovšem neplatí pro skupinu čtyř výše zmíněných kladů (ML a ME méně než 75%, MP 88%).

Zajímavá je v tomto stromu i distribuce řas tvořících zoospory (Příloha 5). K ztrátě bičíkatých stadií dochází v průřezu celým stromem. Zoospory se nikdy nevyskytují v kladu Chlorelalles a Watanabea klad. V kladu Choricystis/Botryococcus jsou zoospory tvořeny pouze řasou *Paradoxia multiseta*, jedná se však o kontaminaci (viz níže), můžeme tedy

usuzovat, že ani klad Choricystis/Botryococcus neobsahuje řasy tvořící bičíkatá stádia. V kladu Trebouxiales je naopak distribuce zoospor běžným jevem. Výjimku tvoří *Lobosphaera tirolensis*, která je blíže příbuzná k „*Myrmecia incisa*“. Problémem této větve je to, že *Lobosphaera tirolensis* byla popsána roku 1964 Reisiglem a původní kmen, který byl uložen ve sbírce řas ASIB v Rakousku, se ztratil. Údajná „*Lobosphaera tirolensis*“ byla osekvenována (HANAGATA 2000, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/8117156>), nicméně se nejedná o původní kmen, nemůžeme tedy spoléhat na to, že se jedná o Reisiglovu *Lobosphaera tirolensis*, i proto, že leží na větvi s *Myrmecia incisa*, v jejímž životním cyklu se bičíková stádia objevují (REISIGL 1964), na rozdíl od *Lobosphaera tirolensis*, která žádná bičíková stádia netvoří (REISIGL 1964). Což by v případě, kdy by se jednalo o skutečnou Reisiglovu *Lobosphaera tirolensis*, znamenalo, že k ztrátě zoospor došlo velmi recentně, což je jev méně pravděpodobný, než chyba v morfologickém určení. Této problematice je tedy ještě třeba věnovat pozornost. Na základě toho, že „*Myrmecia incisa*“ leží na společné větvi s *Lobosphaera tirolensis*, byla nově diagnostikována jako *Lobosphaera incisa* (KARSTEN et al. 2005).

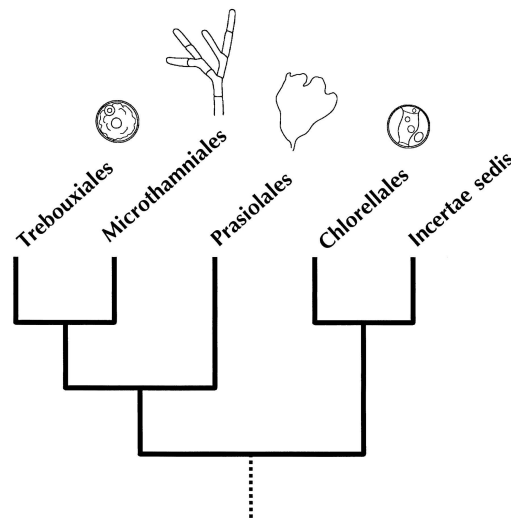
RODRÍGUEZ et al. roku 2008 zkonstruovali fylogenetický strom podle 18S rDNA, do něž zahrnuli 35 zástupců skupiny Trebouxiophyceae proto, aby zjistili, do které větve fylogenetického stromu patří jimi studovaná parazitická zelená řasa napadající *Mytilus edulis*. Tato řasa byla totiž velmi podobná *Coccomyxa parasitica*. Řasa se, dle očekávání, objevila v *Coccomyxa* kladu, nicméně její sekvence je podobnější *Coccomyxa glaronensis* (99%). „*Coccomyxa parasitica*“ se překvapivě objevuje v *Nannochloris* kladu, daleko od kladu *Coccomyxa*. Autoři tedy usuzují, že údajná *Coccomyxa parasitica* byla kontaminována a osekvenovaná byla tedy kontaminace, která spadá do kladu *Nannochloris*.

Kontaminace se však objevuje i v dalším případě, u *Paradoxia multiseta*. *Paradoxia multiseta* je řasa se slizovitými provazci tvořící kolonie dvou buněk, které jsou spojeny stopečkami. Údajná sekvence *Paradoxia multiseta* byla zveřejněna HENLEYM et al. 2004 (Příloha 4) a byla dále použita při konstrukci fylogenetického stromu v člancích RODRÍGUEZE et al. 2008 a KARSTENA et al. 2005 a zdá se ve fylogenetických stromech těchto autorů být příbuzná s *Nannochloris sp.* a *Choricystis sp.* *Paradoxia multiseta* je natolik odlišná od ostatních organismů v kladu, kde se nachází, že je jasné, že se jedná o kontaminaci, tato skutečnost je také všeobecně známa.

Kontaminace je tedy velkým problémem a je třeba při sekvenování DNA jednotlivých organismů sledovat i jejich morfologii a předpokládat možnost, že kultura mohla být kontaminována.



LEWIS & MCCOURT ve svém článku z roku 2004 naznačili příbuznost uvnitř skupiny Trebouxiophyceae. Tento fylogenetický strom sestavili na základě sekvencí 18S rDNA. Podle tohoto stromu jsou sesterské Trebouxiales s Microthamniales které měly společného předka s Prasiolales. Tyto tři skupiny měly pak společného předka s Chlorellales. V konsenzuálním stromu Lewise a McCourta se nachází také skupina pojmenovaná incertae sedis, kam autoři řadí Trebouxiophyceae, jejichž pozice ještě není známa (obr.17.).



Obr.17.

Velmi zjednodušený konsenzuální fylogenetický strom naznačující příbuznost uvnitř skupiny Trebouxiophyceae zkonstruovaný na základě sekvencí 18S rDNA. (Převzato z LEWIS & MCCOURT 2004)

Počet ztrát bičíkatých stádií jsem zpracovávala podle zatím nepublikovaného fylogenetického stromu ELIÁŠE et al. sestrojeného podle sekvencí 18S rDNA za použití metody maximum-likelihood, který obsahuje největší množství řas uvnitř Trebouxiophyceae (Příloha 6)

Všechny fylogenetické stromy skupiny Trebouxiophyceae vykazují velmi recentní ztráty bičíkatých stádií, což může mít několik odůvodnění, například ztráty genů, čímž buňky ztratí schopnost bičíkatá stádia tvořit.

#### IV. ZÁVĚR

U Chlorofyt došlo několikrát k nezávislým a opakovaným ztrátám uvnitř skupin Trebouxiophyceae, Chlorophyceae i Prasinophyceae. U skupiny Ulvophyceae se tato ztráta objevuje pouze jednou u *Spongiochrysis hawaiiensis*, otázkou však zůstává, zda

*Spongiochrysis hawaiiensis* opravdu nikdy bičíková stádia netvoří nebo zda nebyla pouze pozorována.

Nejvíce ztrát bičíkových stádií jsem zjistila u skupiny Trebouxiophyceae, dle dostupných fylogenetických stromů bylo těchto ztrát minimálně 24 a to uvnitř všech kladů.

U skupiny Chlorophyceae jsem pozorovala ztráty bičíkových stádií pouze uvnitř Sphaeropleales. U této skupiny jsem došla k nejméně 3 ztrátám.

U Ulvophyceae došlo k jedné jediné ztrátě bičíkových stádií.

Prasinophyceae ztratily bičíky v kladech Mamillellales, Prasinococcales a v kladu II (*Picocystis salinarum*).

U Chlorofyt došlo tedy minimálně k 28 nezávislým ztrátám a dá se předpokládat, že toto číslo ještě zdaleka není konečné.

U Streptofyt dochází k úplné ztrátě u Zygnematophyceae (uvnitř Charofyt), u pravděpodobného kladu Pinopsida+Gnetophyta (jehličnany a gnetofyty) a u krytosemenných rostlin. U Streptofyt došlo tedy ke třem naprostým ztrátám bičíkatých stádií.

Ztráty bičíků jsou zjevně naprosto běžným jevem a pozice jednotlivých skupin na fylogenetickém stromě naprosto nekoreluje s tímto jevem. Je tedy třeba objasnit, který faktor má na schopnost bičíky tvořit největší podíl, čemuž bych se ráda věnovala v diplomové práci.

## V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

**ALBERGHINA, J. S., VIGNA, M. S., CONFALONIERI, V. A.** (2006): Phylogenetic position of the Oedogoniales within the green algae (Chlorophyta) and the evolution of the absolute orientation of the flagellar apparatus. In: *Pl. Syst. Evol.*, Vol. 261 – p. – 151 – 163

**ALBERTS, B., BRAY, D., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WALTER, P.** (1998): *Základy buněčné biologie*. Espero Publishing, , pp. 630

**BELL, E. M. & LAYBOURN-PARRY, J.** (2003): Mixotrophy in the antarctic phytoflagellate, *Pyramimonas gelidicola* (Chlorophyta: Prasinophyceae). In: *J. Phycol.*, Vol. 39 Issue 4 – p. – 644 – 649

- BUCHHEIM, M. A., MICHALOPULOS, E. A., BUCHHEIM, J. A. (2001):** Phylogeny of the Chlorophyceae with special reference to the Sphaeropleales: A study of 18S and 26S rDNA data In: J. Phycol, Vol. 37 Issue 5 – p. – 819 – 835
- ETTL, H., GÄRTNER, G. (1995):** Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen. Gustav Fischer, Stuttgart, pp. 720
- ETTL, H., GÄRTNER, G. (1995): FRIEDL, T. (1995):** Inferring taxonomic position and testing genus level assignments in coccoid green lichen algae: a phylogenetic analysis of 18S ribosomal RNA sequences from *Dictyochloropsis reticulata* and from members of the genus *Myrmecia* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae cl. nov.). In: J. Phycol, Vol. 31 Issue 4 – p. – 632 – 639
- FRIEDL, T. & O'KELLY, CH. J. (2002):** Phylogenetic relationships of green algae assigned to the genus *Planophila* (Chlorophyta): evidence from 18S rDNA sequence data and ultrastructure. – In: Eur. J. Phycol., Vol. 37. – p. – 373 – 384
- GRAHAM, L. E. & WILCOX, L. W. (2000):** Algae. Prentice-Hall, USA, pp. 640.
- HENLEY, W. J., HIRONAKA, J. L., GUILLOU, L., BUCHHEIM, M. A., BUCHHEIM, J. A., FAWLEY, M. W., FAWLEY, K. P. (2004):** Phylogenetic analysis of the 'Nannochloris-like' algae and diagnoses of *Picochlorum oklahomensis* gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). In: Phycologia, Vol. 43 Issue 6. – p. – 641 – 652
- INGLIS, P. N., BOROEVICH, K. A., LEROUX, M. R. (2006):** Piecing together a ciliome. In: Trends in Genetics, Vol. 22 Issue 9 – p. – 491 – 500
- JOHN, D. M., WHITTON, B. A., BROOK, A. J. (2002):** The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press, UK, pp. 724
- KALINA, T. (1994):** Sinice a řasy. In: KRÍSA, B., PRÁŠIL, K. (eds.): Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta. – p. – 5 – 45

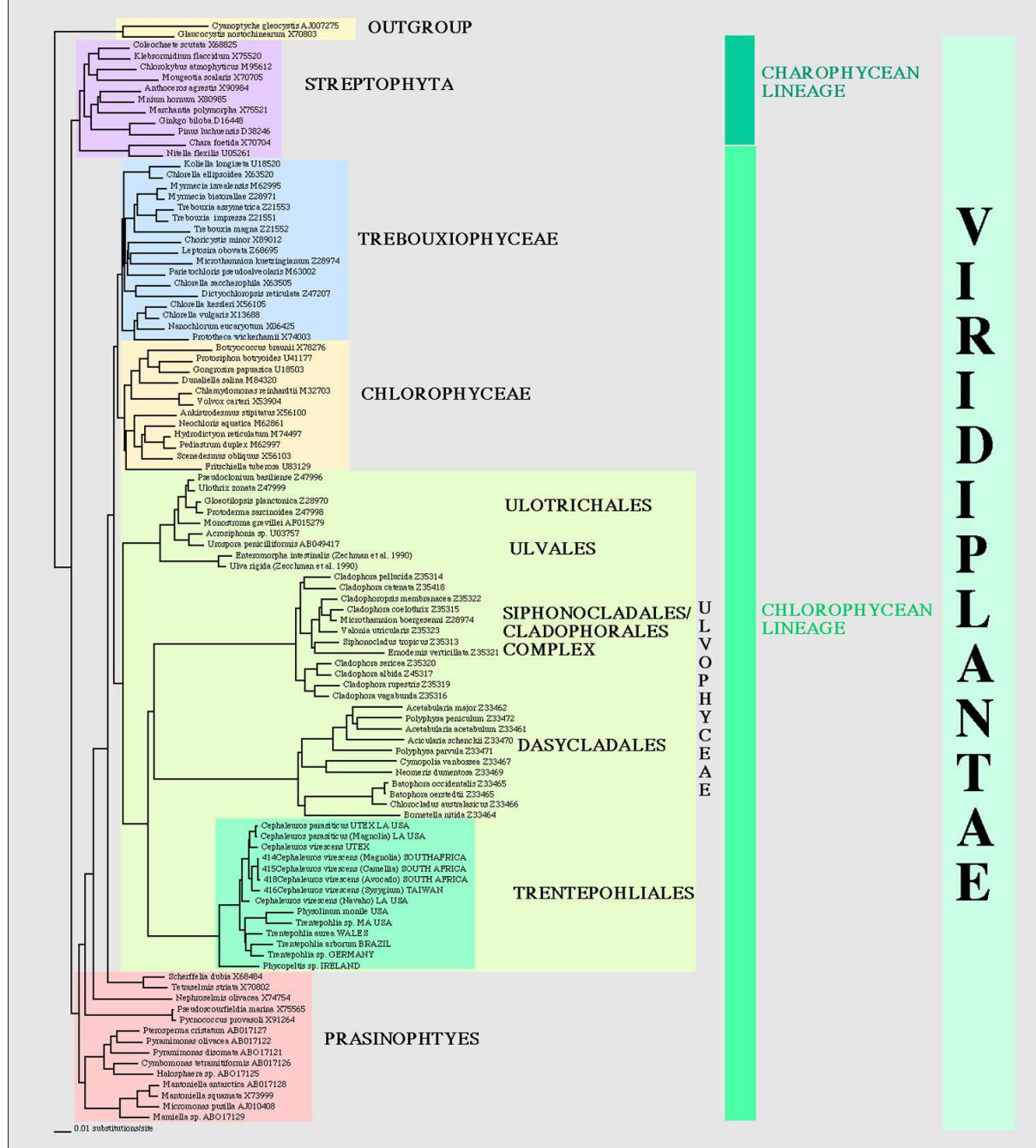
- KALINA, T. & VÁŇA, J.** (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, pp. 608
- KARSTEN, U., FRIEDL, T., SCHUMANN, R., HOYER, K., LEMBCKE, S.** (2005): Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta). In: J. Phycol., Vol. 41 – p. – 557 – 566
- KOMÁREK, J., FOTT, B.** (1983): Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. In: Das Phytoplankton des Süßwassers, Band 7 (1 Hälfte) (ed. G. Huber-Pestalozzi), Schweizerbart, Stuttgart, pp. 1044
- LEE, R. E.** (2008): Phycology. Cambridge University Press, UK, pp. 560
- LEMIEUX, C., OTIS, CH., TURMEL, M.** (2007): A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atmophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies. In: BMC Biology, Vol. 5 Issue 2
- LEWIS, L. A. & MCCOURT, R. M.** (2004): Green algae and the origin of land plants. In: American Journal of Botany, Vol. 91 Issue 10. – p. – 1535 – 1556
- LÓPEZ-BAUTISTA, J. M., WATERS, D. A. & CHAPMAN, R. L.** (2002): The Trentepohliales revisited. *Constancea* **83**.  
[http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez\\_etal/trentepohliales.html](http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez_etal/trentepohliales.html)
- MARGULIS, L.** (1992): Biodiversity: molecular biological domains, symbiosis and kingdom origins. In: BioSystems, Vol. 27 – p. – 39 – 51
- MELKONIAN, M.** (1975): Fine-structure of zoospores of *Fritschiella tuberosa* Iyeng (Chaetophorineae, Chlorophyceae) with special reference to flagellar apparatus. In: Protoplasma, Vol. 86 Issue 4 – p. – 391 - 404

- NAKADA, T., MISAWA, K., NOZAKI, H.** (2008): Molecular systematics of Volvocales (Chlorophyceae, Chlorophyta) based on exhaustive 18S rRNA phylogenetic analyses. In: *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 48 – p. – 281 – 291
- PRÖSCHOLD, T. & LELIAERT, F.** (2007): Systematics of the green algae: conflict of classic and modern approaches. In: *BRODIE, J. & LEWIS, J. (2007) Unravelling the algae: the past, present and future*, CRC Press – p. – 123 - 153
- REISIGL, H.** (1964): Zur Systematik und Ökologie alpiner Bodenalgae. *Plant Systematics and Evolution*, Vol. 111 Issue 4 – p. – 457 – 467
- RINDI, F., LÓPEZ-BAUTISTA, J. M., SHERWOOD, A. R., GUIRY, M. D.** (2006): Morphology and phylogenetic position of *Spongiochrysis hawaiiensis* gen. et sp. nov., the first known terrestrial member of the order Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta). In: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 56 – p. – 913 – 922
- RODRÍGUEZ, F., FEIST, S. W., GUILLOU, L., HARKESTAD, L. S., BATEMAN, K., RENAULT, T., MORTENSEN, S.** (2008): Phylogenetic and morphological characterisation of the green algae infesting blue mussel *Mytilus edulis* in the North and South Atlantic oceans. In: *Dis Aquat Org*, Vol. 81 – p. – 231 – 240
- STEINKÖTTER, J., BHATTACHARYA, D., SEMMELROTH, I., BIBEAU, C., MELKONIAN, M.** (1994): Prasinophytes form independent lineages within the Chlorophyta – evidence from ribosomal-RNA sequence comparison. In: *J. Phycol*, Vol. 30 Issue 2 – p. – 340 – 345
- TAPPAN, H.** (1980): *The Paleobiology of Plant Protists*. Freeman, San Francisco, pp.1028
- TURMEL, M., BROUARD, J.-S., GAGNON, C., OTIS, CH., LEMIEUX, C.** (2008): Deep division in the Chlorophyceae (Chlorophyta) revealed by chloroplast phylogenomic analyses. In: *J. Phycol*, Vol. 44 Issue 3 – p. – 739 – 750

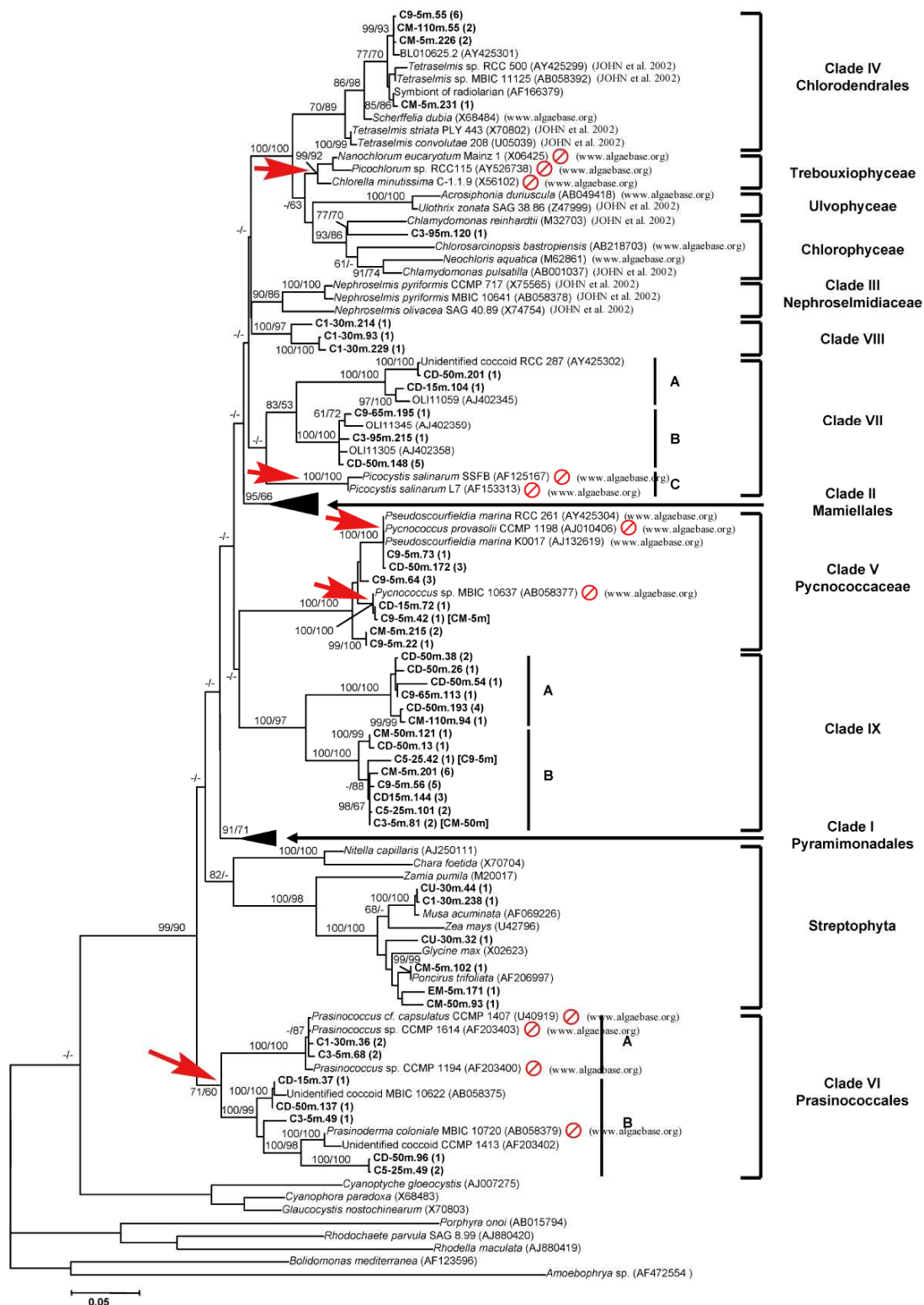
- VAN DEN HOEK, C., MANN, D. G., JAHNS, H. M.** (1997): *Algae, An introduction to phycology*. Cambridge University Press, UK, pp. 627
- VIPREY, M., GUILLOU, L., FERRÉOL, M., VAULOT, D.** (2008): Wide genetic diversity of picoplanktonic green algae (Chloroplastida) in the Mediterranean Sea uncovered by a phylum-biased PCR approach. In: *Environmental Microbiology*, Vol. 10 Issue 7 – p. – 1804 – 1822
- WATANABE, S., NAKAYAMA, T.** (2007): Ultrastructure and phylogenetic relationships of the unicellular green algae *Ignatius tetrasporus* and *Pseudocharacium americanum* (Chlorophyta). In: *Phycological Research*, Vol. 55 – p. – 1 – 16
- WATANABE, S., TSUJIMURA, S., MISONO, T., NAKAMURA, S., INOUE, H.** (2006): *Hemiflagellochloris kazakhstanica* gen. et sp. nov.: a new coccoid green alga with flagella of considerably unequal lengths from a saline irrigation land in Kazakhstan (Chlorophyceae, Chlorophyta). In: *J. Phycol*, Vol. 42 Issue 3 – p. – 696 – 706
- YOON, H. S., HACKETT, J. D., CINIGLIA, C., PINTO, G., BHATTACHARYA D.** (2004): A Molecular Timeline for the Origin of Photosynthetic Eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 21 Issue 5 – p. – 809 – 818

## VI. PŘÍLOHY

Figure 22. Maximum likelihood tree, estimated from Kimura two-parameter model of sequence evolution using Modeltest parameters. -lnL = 22774.1914. A total of 102 taxa with 1720 positions are represented in the phylogram. Genbank accession numbers are given after the scientific name.



Příloha 1.  
Fylogenetický strom ukazující příbuznost Chlorofyt.  
(Převzato z LÓPEZ-BAUTISTA et al. 2002)



## Příloha 2.

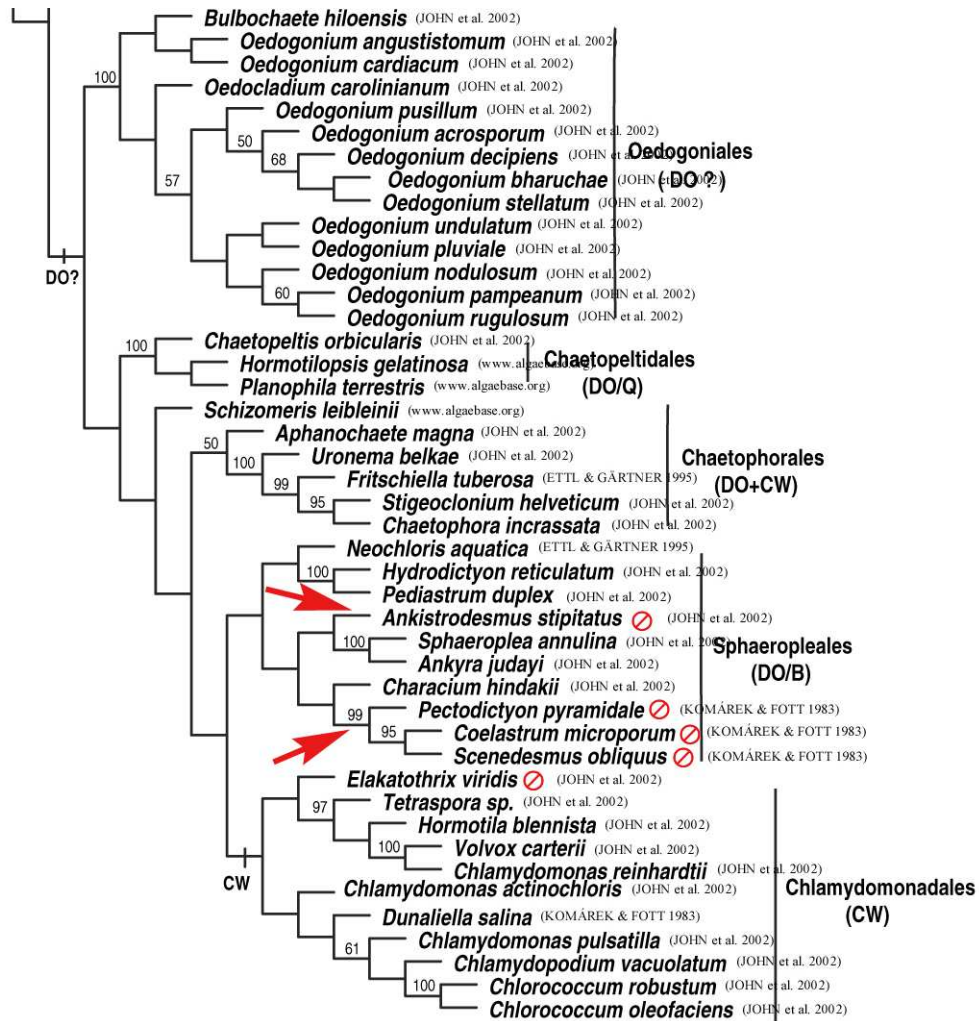
Fylogenetický strom skupiny Prasinophyceae se znázorněním ztrát bičkatých stádií.

Přeškrtnutý kruh znamená, že tento organismus nemá ve svém životním cyklu žádná bičkatá stádia. Šipka ukazuje na místo pravděpodobné ztráty bičíku.

Citace za jednotlivými rody jsou zdroje, ze kterých jsem čerpala při určování bičkatosti.

(Převzato z VIPREY et al. 2008)





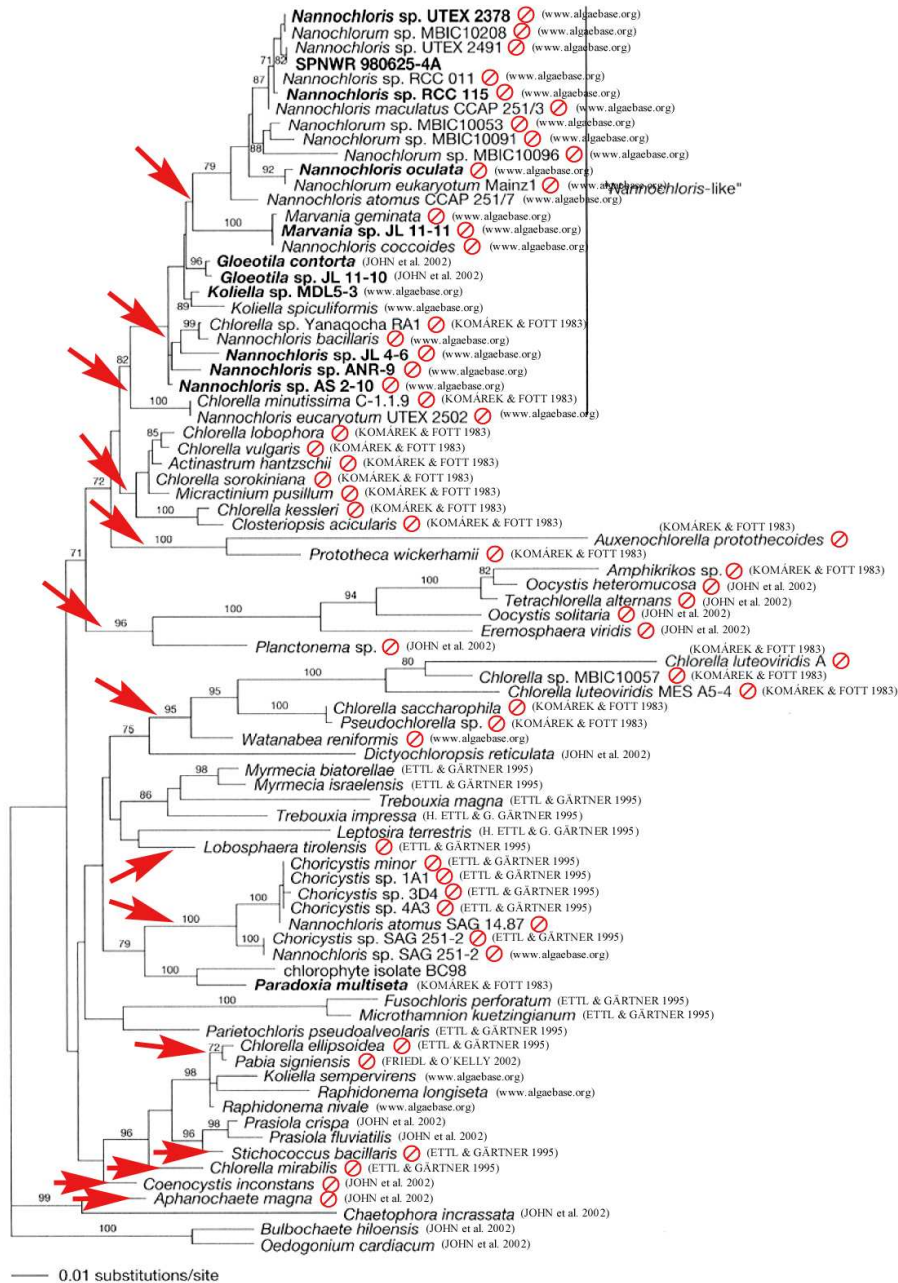
### Příloha 3.

Fylogenetický strom skupiny Chlorophyceae se znázorněním ztrát bičíkatých stádií.

Přeškrtnutý kruh znamená, že tento organismus nemá ve svém životním cyklu žádná bičíkatá stádia. Šipka ukazuje na místo pravděpodobné ztráty bičíku.

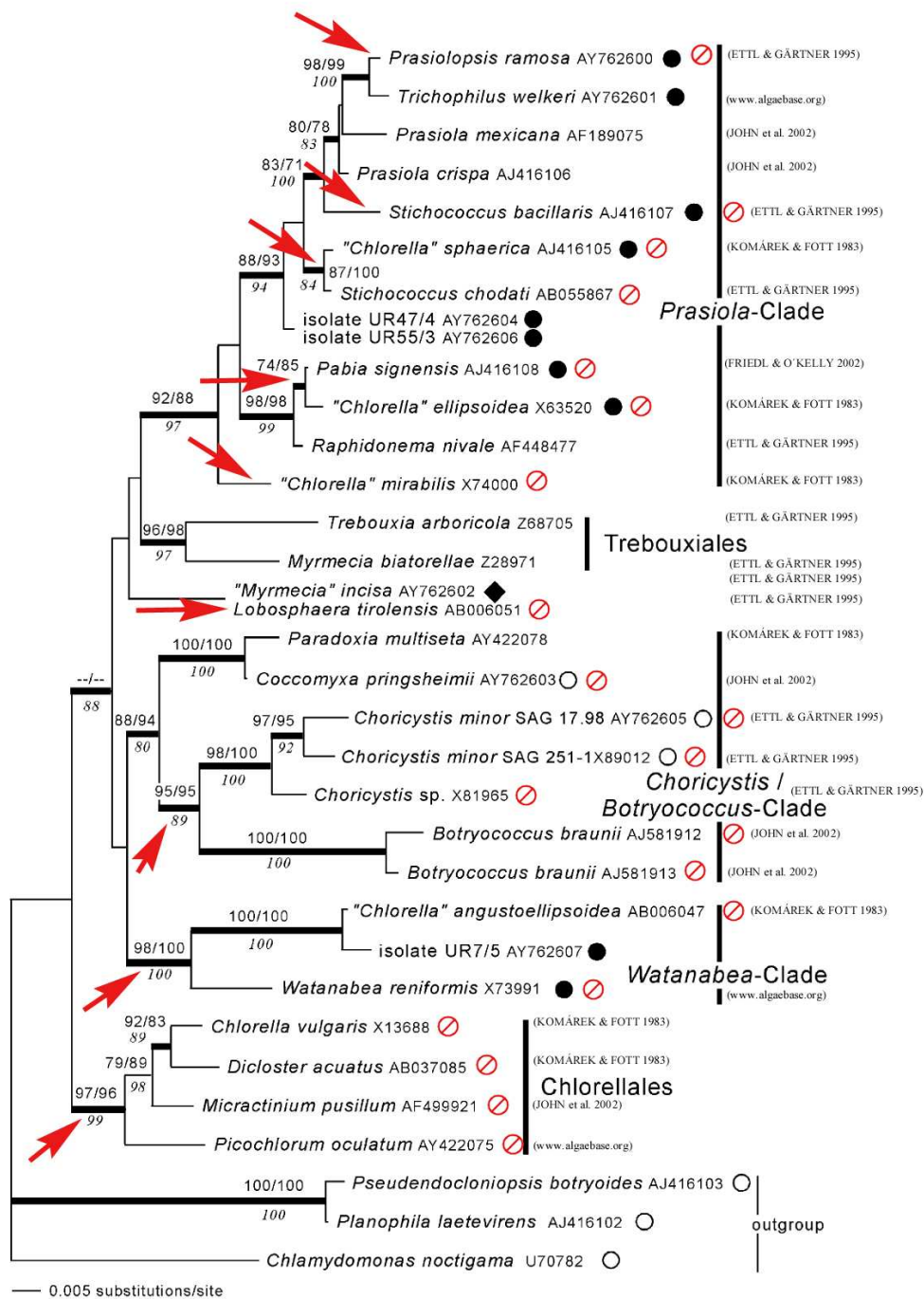
Citace za jednotlivými rody jsou zdroje, ze kterých jsem čerpala při určování bičíkatosti.

(Převzato z ALBERGHINA et al. 2006)



#### Příloha 4.

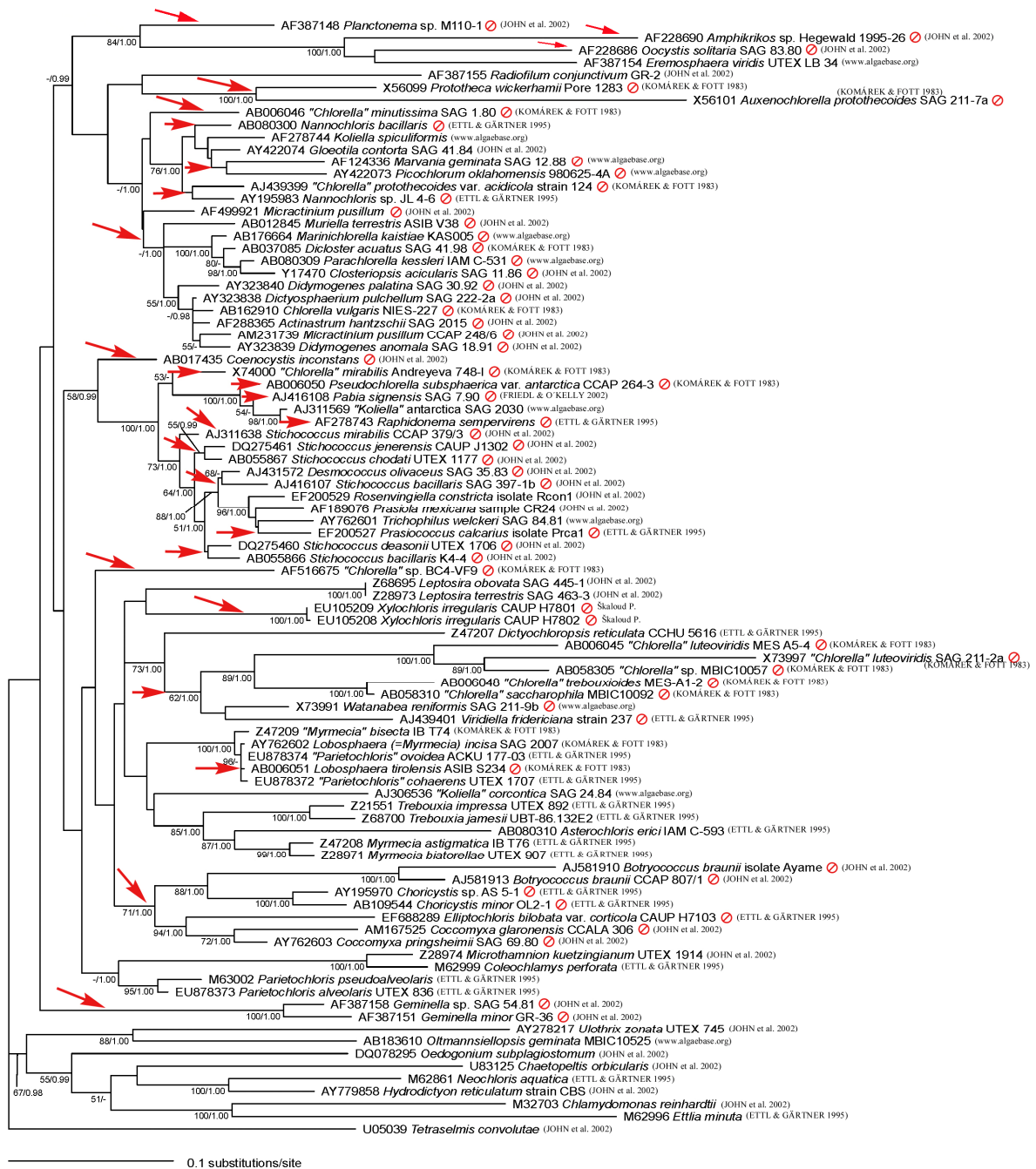
Fylogenetický strom skupiny Trebouxiophyceae se znázorněním ztrát bičíkatých stádií. Přeskrtnutý kruh znamená, že tento organismus nemá ve svém životním cyklu žádná bičíkatá stádia. Šipka ukazuje na místo pravděpodobné ztráty bičíku. Citace za jednotlivými rody jsou zdroje, ze kterých jsem čerpala při určování bičíkatosti. (Převzato z HENLEY et al. 2004)



## Příloha 5.

Fylogenetický strom skupiny Trebouxiophyceae se znázorněním ztrát bičíkatých stádií. Přeskrtnutý kruh znamená, že tento organismus nemá ve svém životním cyklu žádná bičíkatá stádia. Šipka ukazuje na místo pravděpodobné ztráty bičíku.

Citace za jednotlivými rody jsou zdroje, ze kterých jsem čerpala při určování bičíkatosti. (Převzato z KARSTEN et al. 2005)



## Příloha 6.

Fylogenetický strom skupiny Trebouxiophyceae se znázorněním ztrát bičíkatých stádií. Přeskrtnutý kruh znamená, že tento organismus nemá ve svém životním cyklu žádná bičíkatá stádia. Šipka ukazuje na místo pravděpodobné ztráty bičíku.

Citace za jednotlivými rody jsou zdroje, ze kterých jsem čerpala při určování bičíkatosti. (Převzato z ELIÁŠ et al., nepublikováno)