

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

**Taxonómia rodu *Coccomyxa* s.l. a výskyt
týchto organismov v terestrických epifytických
mikrobiotopoch ČR**

(bakalárska práca)

Katarína Nemjová
Školitel: Jiří Neustupa

2007

Pod'akovanie

Ďakujem Jiřimu Neustupovi za vedenie mojej práce a odborné pripomienky, Pavlovi Škaloudovi za ochotu odpovedať na moje otázky a snahu poradiť, mojim rodičom za psychickú a finančnú podporu, Jane Brejchovej za jej neuveriteľnú trpezlivosť, ľuďom z algologického pracoviska za tvorivé pracovné prostredie a všetkým, čo mali so mnou pochopenie.

Obsah

1.	Abstrakt	4
	Abstract.....	4
2.	Kľúčové slová.....	4
3.	Úvod.....	5
4.	Vývoj taxonomie rodu <i>Coccomyxa</i> s. l.	6
5.	Detailní morfológický rozbor rodu <i>Coccomyxa</i>	10
5.1.	Kolónie	12
5.2.	Fyziologické a morfológické zmeny buniek.....	13
6.	Prehľad druhov a ich stručné vymedzenia.....	14
7.	Podobné rody a druhy	15
8.	Epifytické spoločenstvá na ihliciach nahosemenných stromov.....	23
9.	Vlastná práca.....	25
9.1.	Metodika	26
9.2.	Výsledky a diskusia.....	27
10.	Záver.....	29
11.	Literatúra.....	30
12.	Prílohy	35

1. Abstrakt

Táto bakalárska práca zjednocuje doterajšie znalosti o taxonomii rodu *Coccomyxa* s.l. V práci prechádzam od popísania rodu Schmidlem (1901) a jeho zaradenia do vtedajšieho systému organizmov podľa rôznych autorov (Jaag 1933, Fott 1974, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995) na základe morfológických znakov a typu rozmnožovania, cez problémy spojené so zaradením a popisovaním nových taxonov patriacich do rodu, až k súčasnému zaradeniu rodu do triedy Trebouxiophyceae na základe molekulárnych znakov (Lohtander et al. 2003, Zoller & Lutzoni 2003). V súčasnosti sa do rodu radí 23 taxonov (Guiry & Guiry 2007), avšak tento počet nie je konečný a jasne definovaný. Pretože je rod *Coccomyxa* tvarovo veľmi variabilný a jeho bunky sú ľahko zameniteľné za bunky iných rodov a druhov (Jaag 1933, Fott 1974, Broady 1987, Ettl & Gärtner 1995), je jedna kapitola venovaná popisu morfológicky podobných taxonov. V práci sú ďalej spracované údaje o výskyte týchto a podobných terestrických epifytických organizmov na povrchu ihlíc nahosemnených stromov. Metodika, ktorá viedla k získaniu vlastných kmeňov rodu *Coccomyxa* s. l. z ihličia je rozvedená na konci práce.

Abstract

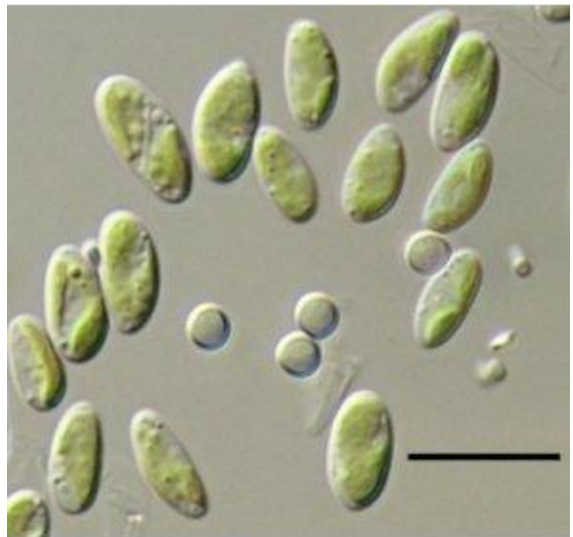
This thesis synthesizes our knowledge on the genus *Coccomyxa* since its description by Schmidle (1901) and its classification close to *Dactylococcus* in Protococcoideae (Chodat 1913) till the present classification into class Trebouxiophyceae on the base of molecular data (Lohtander et al. 2003, Zoller & Lutzoni 2003). Over 23 species are circumscribed in this genus (Guiry & Guiry 2007), but the real species diversity still remains unclear. *Coccomyxa*-cells are very variable in the shape and size, so they could easily be recognised as species of other morphologically similar genera (Jaag 1933, Fott 1974, Broady 1987, Ettl & Gärtner 1995). One chapter also takes heed to the ecology of these and other epiphytic organisms on the gymnospermous trees needles. My own cultures of *Coccomyxa* come from these epiphytic cover and in the end of the work I have described the methods, that lead to an acquiring of cultures.

2. Klíčové slová

Coccomyxa, *Pseudococcomyxa*, taxonomie, morfológie, epifytické společenství na jehlicích

3. Úvod

Rod *Coccomyxa* je zelená riasa, radená do triedy Trebouxiophyceae na základe molekulárnych znakov (Zoller & Lutzoni 2003, Lohtander et al. 2003) Do rodu patrí 23 platných druhov (Guiry & Guiry 2007). Zástupci tohto rodu majú bunky malých rozmerov (do 14 μm), variabilného tvaru, najčastejšie elipsovitého tvaru, umiestnené jednotlivo alebo po niekoľko v slize (Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995) (Obr. 1). V bunke je jeden parietálny chloroplast, bez



Obr. 1 *Coccomyxa* izolovaná z kôry stromu *Ehretia javanica* z horského tropického lesa na Jáve
mierka 10 μm

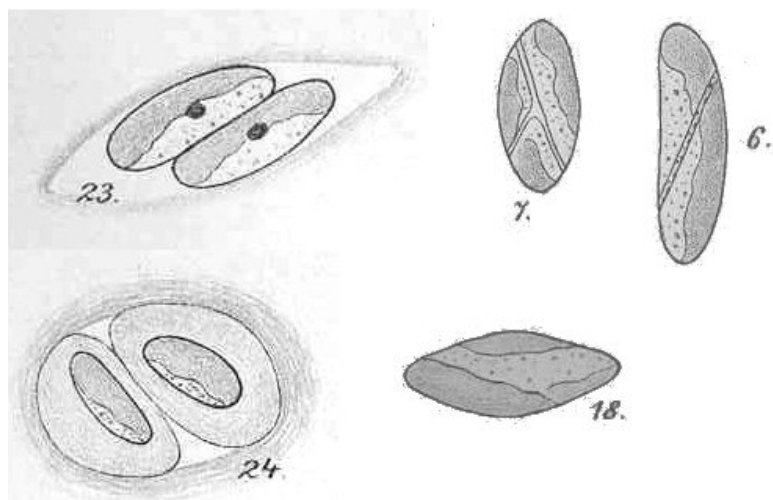
pyrenoidu. Rod sa rozmnožuje jedine tvorbou autospor, najčastejšie tvorí 2 alebo 4 autospory, ktoré sa uvoľňujú zoslizovaním materskej steny sporangia. (Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995). Rod je považovaný za kozmopolitný, väčšina druhov je terestrických, len niekoľko málo druhov preferuje iný typ prostredia (Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995).

Systematické zaradenie tohto rodu bolo obtiažne už od jeho popísania. Problémy so zaradením boli spojené s malými rozmermi buniek a hustým slizovým obalom, ktorý znemožňoval jednoznačné pozorovanie. Systém organizmov bol postavený na morfológických znakoch a spôsobe rozmnožovania. U mikroskopických organizmov sú to ťažko pozorovateľné a rozlišiteľné štruktúry v bunkách. Preto boli medzi rôznymi autormi nezhody o zaradení niektorých organizmov a jednotliví zástupci relatívne často striedali svoje postavenie v systéme, nielen v rámci čeľade, ale i medzi jednotlivými oddeleniami (Kostikov & Hoffmann 2002).

4. Vývoj taxonomie rodu *Coccomyxa* s. l.

Schmidle popísal rod na základe typového druhu *Coccomyxa dispar* z machu spod jedlí ako slizovito-lepkavý povlak, s hlavným náleziskom pri Heidelbergu (Schmidle 1901).

Rod *Coccomyxa* má bunky rozptýlené jednotlivito, alebo po dvoch prípadne po štyroch v širokom, zdanlivo bezštruktúrnom slize. Bunky sú malých rozmerov, variabilného tvaru, ale vždy dlhšie ako širšie, na dlhších stranách niekedy nerovnomerne sprehýbané, so zaoblenými koncami, alebo ku koncom zúženými (Obr. 1). Chloroplast je parietálny, chlorofylovo zelený, často neprilieha k dlhšej strane bunkovej steny, neobsahuje pyrenoid. V strede bunky sa nachádza malé jadro. Bunka sa delí šikmo v materskej bunkovej stene, často v krížovom usporiadaní, takže vzniknú 4 dcérine bunky. Schmidle



Obr. 2 *Coccomyxa dispar* Schmidle, typový druh rodu, pôvodné kresby (Schmidle 1901)

(1901) za typový druh rodu ustanovil *Coccomyxa dispar* Schmidle (Obr. 2). Tento názov sa však v súčasnosti považuje za synonymum, pretože platný názov taxonu je *Coccomyxa confluens* (Kützing) Fott (Fott 1974), keďže ten istý organizmus už bol popísaný ako

Gloeocapsa confluens Kützing (Hoek 1963, Fott 1974). Už Hoek (1963) navrhoval zaradiť *G. confluens* Kützing do rodu *Coccomyxa* a poukazoval na podobnosť tohto druhu s typovým druhom *C. dispar*, okrem toho navrhoval do druhu zaradiť aj *Gloeocapsa montana* Kützing, pretože *G. montana* a *G. confluens* sú skoro nerozlišiteľné (Hoek 1963). Fott (1974) zaradil rod *Coccomyxa* do čeľade Palmogloeaceae, rád Chlorococcales. Toto svoje rozhodnutie zakladá na podobnosti s bunkami *Palmogloea protuberans* Kützing, uloženými v koncentrickom slize, málokedy štruktúrovanom. Avšak v bunkách *P. protuberans* sa nachádza pyrenoid (Fott & Nováková 1971). Komárek & Fott (1983) však o 9 rokov neskôr radia rod na základe morfológických znakov do čeľade Radiococcaceae (synonymum Palmellaceae Lemm. 1915) podčeľad'

Radiococcoideae (Ettl & Gärtner 1995). Toto zaradenie na základe morfológických znakov sa až do súčasnosti nezmenilo (Kostikov et al. 2002).

S taxonomickým zaradením a členením rodu boli už od vzniku rodu spojené problémy. Predpokladalo sa, že do tohto rodu je zahrnutých viac rodov (Jaag, 1933).

Chodat (1913) radil rod *Coccomyxa* do Protococcoideae, Oocystaceae, pretože u druhu *Coccomyxa dispar* nepozoroval pravé bunkové delenie (ako u rodu *Pleurococcus*), ale rozmnožovanie autosporami (Jaag 1933). Tým nadviazal na Schmidleho výrok o blízkych príbuzenských vzťahoch rodu *Coccomyxa* s rodmi *Raphidium* a *Dactylothece*. Schmidle predpokladal, že aj druh *Dactylococcus natans* (= *D. lacustris* Chod.) patria do rodu, pretože nemajú pyrenoid (Schmidle 1901). Chodat (1913) na základe Schmidleho popisov zaradil do tohto rodu nové druhy fotobiontov lišajníkov *Coccomyxa solorinae*, *C. solorinae saccatae*, *C. solorinae croceae* a zástupcov voľne žijúcich druhov *C. viridis* a *C. thallosa* (Jaag 1933).

Oproti Chodatovým pozorovaniam Printz (1927) popisoval pozorovania tvorby priečnej priehradky u *Coccomyxa dispar*, ako je to pri pravom delení rastlinnej bunky, a preto radil rod *Coccomyxa* medzi Pleurococcaceae. Druhy, ktoré tvoria autospory, napr. *Coccomyxa lacustris* (Chod.) Pascher, navrhoval zaradiť do čeľade Tetrasporaceae alebo do Oocystaceae (Jaag 1933).

Jaag (1933) sa rozhodol zhrnúť všetky dovtedy získané znalosti, utriediť ich, overiť ich pravdivosť a doplniť chýbajúce znalosti. V roku 1933 vydal monografiu rodu *Coccomyxa* Schmidle. V tomto diele sa zamerával hlavne na štúdium fotobiontov lišajníkov. Pozorovaním stielky lišajníkov a symbiotických rias poukazoval na možnú príbuznosť jednotlivých fotobiontov z rodu *Peltigera* a *Solorina*, aj fotobiontov z lišajníkov *Icmadophila* a *Baeomyces* a *Botrydina vulgaris* do blízkosti fotobiontov z Peltigeraceae. Potvrdil správnosť zaradenia fotobiontov lišajníkov *C. solorinae*, *C. solorinae saccatae*, *C. solorinae croceae* do tohto rodu (Jaag 1933).

Po podrobných štúdiách fotobiontov lišajníkov sa Jaag zaoberal ich podobnosťou s voľne žijúcimi *Coccomyxa*. Študoval morfológickú závislosť na vonkajších podmienkach, nároky a vzťahy k výžive, tvarové závislosti buniek na kultivačných podmienkach a vzťah k dedičnosti, v rámci vtedajších znalostí o genetike. Tento široký záber ho nútil nielen k priamym pozorovaniam, ale aj k porovávaniu paralelných kultúr, ktorými podložil svoje poznatky o jednotlivých druhoch.

Rovnaké organizmy tohto rodu boli v tom období v literatúre uvedené pod rôznymi menami a radené do iných systematických skupín. Jaag (1933) sa snažil tieto

nezrovnalosti na základe pozorovaní identifikovať a tak jednoznačne zaradiť rod *Coccomyxa* a určiť jeho platných zástupcov.

Po pozorovaní originálneho materiálu sa prikláňa k Chodatovmu názoru, a radí rod do Protococcoideae a považuje za úplne scestné radiť rod *Coccomyxa* do Pleurococcaceae. Pravé bunkové delenie v rode *Coccomyxa* nebolo pozorované žiadnym iným autorom, okrem Printza.

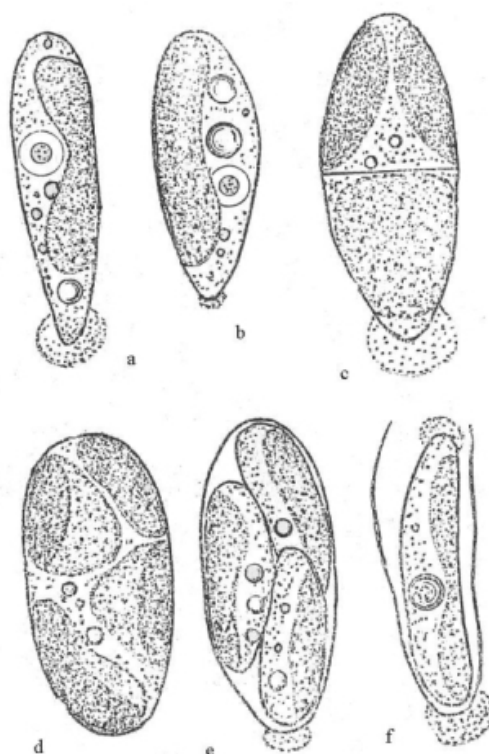
Jaag (1933) popísal veľké množstvo nových druhov, mnohé z nich sú stále platnými taxonmi rodu, niektoré z nich sú basionymami, niektorí zástupci boli preklasifikovaní do iných rodov. Tak sa stalo aj s *C. simplex* (Pringsheim) Mainx.

Na základe odlišnej tvorby slizu Fott (1981) preklasifikoval druh *C. simplex* (Pringsheim) Mainx do dovtedy monotypického rodu *Pseudococcomyxa* a premenoval *P. adhearens* na *P. simplex* (Mainx) Fott. Fott (1981) predpokladal, že do tohto rodu budú preradení aj iní zástupci rodu *Coccomyxa*, ktorí majú slizovú čiapočku (*C. glaronensis*, *C. ovalis*, *C. pringsheimii*, *C. solorinae-bisporae*,

C. subellipsoidea). Pri popise Fott rozšíril aj dovtedy popisovanú veľkosť z 7-10 μm x 2-3 μm na 5,4-12,6 μm x 2-4 μm (Mainx 1928, Jaag 1933, Fott 1981). Koršíkov (1953)

zaradil rod do čeľade Ankistrodesmaceae, trieda Chlorophyceae. Do tejto čeľade patria jednobunkové riasy s pretiahnutým, alebo oválnym tvarom, ktoré tvoria sliz buď na jednom, alebo na oboch koncoch bunky. Sliz drží pospolu 2 - 4 - 8 buniek. Čeľad Ankistrodesmaceae postavil do príbuznosti s čeľadou Oocystaceae (Koršíkov 1953). Komárek & Fott (1983), Ettl & Gärtner (1995) radia tento rod do čeľade Chlorellaceae podčeľad' Ankistrodesmoideae. Týmto priradením k *Chlorella* sa systematické zaradenie priblížilo k súčasnému zaradeniu *Coccomyxa* a *Chlorella* do Trebouxiophyceae.

V súčasnosti sa predpokladá, že tvorba slizu nie je znakom, ktorý by rozdeľoval tieto rody. Obe rody *Coccomyxa* a *Pseudococcomyxa* tvoria jednu spoločnú fylogenetickú



Obr. 3 *Pseudococcomyxa simplex*, pôvodná kresba (Koršíkov 1953): a, b vegetatívne bunky; c, d delenie buniek; e autosporangium, f po uvoľnení autospor zo sporangia v materskej stene zostala jedna bunka

skupinu, a pravdepodobne sa obe rody zlúčia do rodu *Pseudococcomyxa*, pretože k tomuto názvu existuje typová kultúra (Friedl 2006, ústne vyjadrenie).

Ani v súčasnosti nie je jasné zaradenie rodu. Po poslednej revízii čeľade Radiococcaceae na základe morfológických znakov je rod *Coccomyxa* stále jej súčasťou (Kostikov et al. 2002). Základné rozdelenie tejto skupiny zelených kokálnych v slize žijúcich rias, rozmnožujúcich sa autosporami, s hladkou bunkovou stenou a s chýbajúcim vegetatívnym delením bunky, je postavené na ľahko pozorovateľných znakoch ako sú schopnosť tvoriť okrúhle bunky, prítomnosť alebo neprítomnosť pyrenoidu, počet autospor a spôsob uvoľňovania autospor z bunkovej steny autosporangii. Ako ďalšie pomocné znaky sa rozlišuje schopnosť tvoriť trubicovité rozkonárené kolónie, počet chloroplastov a schopnosť tvoriť ploché alebo sarcinoidné kolónie (Kostikov et al. 2002).

Iní súčasní autori radia rod *Coccomyxa* do triedy Chlorophyceae, rád Chlorococcales, čeľaď Chlorococcaceae, ku kokálnym nepohyblivým zeleným riasám, často tvoriacim kolónie alebo cenóbia, rozmnožujúcich sa autosporami (Guiry & Guiry 2007, John & Tsarenko 2002). Fylogenetické štúdie na rDNA malej ribozomálnej podjednotke (SSU) však ukazujú na príslušnosť do triedy Trebouxiophyceae (Graham & Wilcox 2000, Trémouillax-Guiller et al. 2002, Lohtander et al. 2003, Friedl 2006, ústne vyjadrenie). Trieda Trebouxiophyceae bola vyčlenená z Chlorophyceae na základe molekulárnych znakov. Z morfológických znakov triedu definuje hlavne postavenie bičkových koreňov CCW (counterclockwise) a metacentrická mitóza (Friedl 1995).

Fylogenetickým štúdiám boli zatiaľ podrobené iba fotobionty lišajníkov. Zástupci rodu *Coccomyxa* môžu vytvárať symbiotické vzťahy nielen s hubami v lišajníkoch, ale bol zistený aj organizmus blízko príbuzný rodu *Coccomyxa*, žijúci endosymbioticky v *Ginkgo biloba* (Trémouillax-Guiller et al. 2002).

Z húb najčastejšie do symbiôzy vstupujú zástupci skupiny Ascomycota a tvoria až 99% všetkých lišajníkov, zvyšné 1% mykobiontov lišajníkov tvoria zástupci z oddelenia Basidiomycota. Tento nepomer je kvôli skoršiemu vzniku symbiôzy v oddelení Ascomycota. U lišajníkov sa predpokladal kongruentný vývoj mykobionta a fotobionta, avšak výsledky analýz tomu nenasvedčujú (Zoller & Lutzoni 2003). Z ich výsledkov je zrejmé, že voľne žijúci zástupci rodu *Coccomyxa* sú príbuznejší zástupcom, ktorí tvoria symbiôzy v lišajníkoch z Peltigeraceae (Basidiomycota) ako zástupci *Coccomyxa* z lišajníka *Omphalina* (Ascomycota). Táto bližšia príbuznosť je možno dôsledkom neskoršieho vzniku mutualistického vzťahu u Basidiomycota, pretože *Coccomyxa* z lišajníkov tvorených mykobiontom z Ascomycota sa oddelili v evolúcii skôr

a vyvíjali sa dlhšiu dobu samostatne, kdežto *Coccomyxa* voľne žijúce a *Coccomyxa* žijúce v symbióze s Peltigeraceae (Basidiomycota) sa mohli ešte nejakú dobu vyvíjať súčasne. Tieto závery však autori vyvodzujú pre celú skupinu Ascomycota len zo štúdie jediného rodu celej skupiny lichenizovaných Ascomycota. Symbiotická *Coccomyxa* z lišajníka *Omphalina* je pravdepodobne *C. subellipsoidea*, pretože fylogenetická analýza podľa ITS sekvencie ich slučovala do jednej skupiny (clade). Táto príbuznosť bola silne podporená bootstrapom u maximum likelihood a maximum parsimony analýzy (Zoller & Lutzoni 2003).

ITS je konzervovaná časť DNA, fylogenetické analýzy prevedené na inom úseku DNA môžu priniesť úplne iné výsledky.

Na malú variabilitu v sekvencii ITS upozorňuje aj Lohtander et al. (2003), keď jej vo fylogenetickej analýze fotobiontov z *Nephroma* a *Peltigera* vyšli skoro zhodné sekvencie. Preto sa pre svoje štúdie rozhodla radšej použiť SSU rDNA. Fotobiont z *Nephroma arcticum* je blízko príbuzný fotobiontovi z *Peltigera britannica* a endofytu z *Ginkgo biloba*. Tripartitné (mykobiont, sinica, zelená riasa) *Nephroma* lišajníky majú ako fotobionta zástupcov rodu *Coccomyxa*. Izolované zelené riasy z *Nephroma* a *Peltigera* tvorili sesterskú skupinu ku *Coccomyxa glaronensis* a dvom kmeňom endofytov vyizolovaných z *Ginkgo biloba*. Spoločnou sesterskou skupinou k nim tvorili dva kmene *Nanochloris*. Z vyizolovaných zelených rias až 98% symbióz tvorili zástupci z Trebouxiophyceae (Lohtander et al. 2003). Aj Friedl (1995) pri popísaní triedy Trebouxiophyceae sa vyjadruje o skupine zelených lichenizovaných rias. Napriek tomu, že vďaka použitiu molekulárných markrov v systematike týchto organizmov sa naše znalosti posunuli o kus dopredu, a môžeme jednoznačne zaradiť rod *Coccomyxa* do triedy Trebouxiophyceae, ešte stále nie je jednoznačne určené druhové zloženie rodu a chýbajú fylogenetické analýzy voľne žijúcich zástupcov.

5. Detailní morfologický rozbor rodu *Coccomyxa*

Bunky sú tvarovo a veľkostne veľmi variabilné, vždy dlhšie než širšie, na oboch koncoch zaguľatené, alebo sa zužujúce. Bunky sú buď rovné alebo mierne konvexné. Často môžu byť vajcovité, vretenovité, niekedy nepravidelne zhrubnuté, či majú rôzne výrastky, alebo výbežky (Schmidle 1901, Komárek & Fott 1983). Bunky majú prostrednú dĺžku 7 - 12µm a 4 – 10 µm prostrednú šírku (Jaag 1933).

Bunková stena je hladká, 40 – 100nm široká. Jej šírka sa líši nielen medzi jednotlivými druhmi, ale aj medzi jedincami jedného druhu. Plazmatická membrána neprilieha tesne k bunkovej stene, ale tvorí invaginácie obsahujúce jemné granulózne štruktúry (Peveling 1976). Uprostred bunky sa nachádza ťažko viditeľné malé jadro (Schmidle 1901, Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995). V bunkách sa nachádza jediný chloroplast, ktorý vyplní polovicu objemu bunky (Peveling 1976). Chloroplast je parietálny, často hrncovitý, alebo žliabkovitý. Kryje povrch celej bunky, ale necháva väčšinou voľnú dlhšiu stenu bunky (Schmidle 1901, Jaag 1933, Fott 1974, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995). Medzi tylakoidmi sa zriedkavo vyskytujú škrobové zrnká (Peveling 1976). V hyalinnej časti bunky sú pozorovateľné drobné zrníčka, nejasného pôvodu (Schmidle 1901, Jaag 1933). S hematoxylinom, ani s jódom sa nefarbili. Pravdepodobne to sú tukové kvapky (zásobné látky) (Schmidle 1901, Jaag 1933).

Pyrenoid sa u rodu *Coccomyxa* nevyskytuje (Schmidle 1901, Fott 1974, Komárek & Fott 1983, Graham & Wilcox 2002, Kostikov et al. 2002). Jaag (1933) však v čerstvom materiáli *C. dispar* pozoroval prítomnosť pyrenoidu. Tento pyrenoid ležal neďaleko stredu chromatoforu, bol veľký a zreteľný, farbilo sa v periférnej zóne jódom na typickú modrú farbu. Pri použití hematoxylinu nepozoroval žiadne zrníčka, podobne ako Schmidle (Schmidle 1901, Jaag 1933). Vďaka tomuto pozorovaniu a pozorovaniu čistých kultúr dospel Jaag (1933) k záveru, že do rodu *Coccomyxa* musia byť zahrnuté i druhy obsahujúce pyrenoid, pokiaľ všetky ostatné znaky odpovedajú znakom rodu (Jaag 1933). O tom, že prítomnosť pyrenoidu nie je relevantným znakom sa u skupiny Selenastraceae vyjadruje aj Krienitz et al. (2001).

Mitochondrie majú tubulárne kristy, čo svedčí o intenzívnej syntéze lipidov prebiehajúcej v bunke (Trémouillax-Guiller et al. 2002).

Dôležitým znakom pri popisovaní a determinovaní rodu je spôsob jeho rozmnožovania. Rod *Coccomyxa* je definovaný rozmnožovaním pomocou autospor. Najčastejšie sú autosporangia s dvoma autosporami, ale môžu sa vyskytnúť aj štvor- až osemsporové autosporangia (Fott 1974, Komárek & Fott 1983, Kostikov et al. 2002). Autospory sú uložené šikmo alebo seriálne (Komárek & Fott 1983). Autospory sa uvoľňujú po zoslizovaní steny sporangia, vytvorením zhľukov podobných *Gloeocapsa* kolóniám (Kostikov et al. 2002).

Bunkové delenie sa začína delením chloroplastu, ktoré prebieha šikmo dohora. V takto vytvorenom hyalinom priestore bunky sa začne tvoriť slizový obal. Materská membrána

sa na delení nezúčastňuje. Konce dceriných buniek sa zaoblia a bunky zostanú vedľa seba v trochu posunutej paralelnej pozícii. Často súčasne s delením materskej bunky prebieha aj delenie ešte nie celkom oddelených buniek dceriných v tzv. krížovom usporiadaní, takže vzniknú 4 dceriné bunky (Schmidle 1901).

Podľa Jaaga (1933) ide o tvorbu 4 alebo 2 autospor vnútri materskej membrány, tá je skôr alebo neskôr zahlienená až zmizne, ako u typických Protococcoideae, napr. u *Raphidium*. Bunkové delenie prebieha pomerne rýchlo, materská membrána je veľmi tenká, rýchlo sa rozpustí, alebo u *C. confluens* sa zahliení a nabobtná. Nabobtnaná membrána sama dodáva hlienovitý obal. Podobne je to aj u *C. lacustris*, avšak u fotobiontov lišajníkov sa sliz tvorí materskou bunkovou membránou. Jaag (1933) pozoroval materskú membránu po zafarbení tušou, avšak na Schmidleho obrázkoch bunkového delenia rodu *Coccomyxa* vôbec nie je zakreslená (Obr. 2).

Jadro sa delí v metacentrickom usporiadaní (Friedl 1995, Graham & Wilcox 2000).

Zoospory pozorovala Acton u *C. subellipsoidea* (Jaag 1933). Jaag (1933) však pochyboval o dôveryhodnosti týchto dát, pretože pyrenoid obsahujúce bunky popísané a zakreslené Acton, neboli riasy trvale žijúce s *Botrydina vulgaris*, ale riasy, ktoré sa do pozorovaného materiálu primiešali, ale neboli príbuzné s rodom *Coccomyxa*. Druh *C. subellipsoidea* nepovažuje za správne určený druh ani John & Tsarenko (2002).

Bunky rodu *Coccomyxa* ležia vždy v slizovom obale. Sliz je zdanlivo bez štruktúry, bunky sú v ňom rozptýlené jednotlivo, alebo po dvojiciach prípadne po švoriciach (Schmidle 1901, Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Fott 1974, Ettl & Gärtner 1995).

Rod má kozmopolitné rozšírenie, väčšina zástupcov je terestrická a tvorí makroskopické alebo mikroskopické nárasty na pôde, v rašelinistiach, alebo žije epifyticky na machoch a lišajníkoch, na borke stromov (Schmidle 1901, Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995, Neustupa et al. 2002). Veľkú časť druhov tvoria fykobionti lišajníkov (Jaag 1933, Ettl & Gärtner 1995, Graham & Wilcox 2000). Niektorí zástupci sú akvatickí (*C. litoralis*, *C. lacustris*, *C. chodati*) a druh *C. ophiurae* žije paraziticky v *Ophioglypha* (Echinoderm) (Jaag 1933).

5.1. Kolónie

Pre kultúry *Coccomyxa* sú charakteristické kruhové tmavozelené kolónie, vyvíjajúce sa najmenej 2-3 mesiace. Kolónie priliehajú pevne k substrátu a od okraja ku stredu sa jemne

gombíkovito zdvíhajú, majú celistvý okraj bez zárezov, vyvýšení a rýhovania, s hladkým povrchom a vysokým leskom (Jaag 1933).

Rozdiely vo vzhľade kolónií nie sú príliš výrazné, ale sú dostatočne zreteľné, aby sa v spojení s inými znakmi podieľali na rozlišovaní medzi jednotlivými klonmi.

Jaag (1933) pozoroval a porovnával kultúry na cukornatom médiu, pretože rozdiely v kolóniách jednotlivých klonov boli zreteľnejšie a výraznejšie, ako pri pestovaní na necukornatom médiu. Druhovú rozdiely v bunkách pozoroval na oboch médiách (Jaag 1933).

Medzi jednotlivými klonmi pozoroval rozdiely vo farbe, v svetlejších odtieňoch a s prímiesou žltej, napriek tomu, že patria k jednému typu. Tieto rozdiely nie sú dané vonkajšími podmienkami, pretože i paralelných kultúrach si zachovávali pôvodnú farbu (Jaag 1933).

Po rozvoji jednotlivých klonov rodu *Coccomyxa* na pevnom médiu sa prejavili rozdiely v zafarbení kolónií. Zmeny zafarbenia v priebehu času sú charakteristické pre jednotlivé systematické jednotky (druh, klon, kmeň). Podľa zmeny zafarbenia kolónie sa dá odhadnúť vek kolónie a predošlé pôsobenie na kolóniu. Pozvoľne sa vytrácajúce zafarbenie je fyziologicky spôsobené zmenou v chlorofyle a ďalšími farbivami napríklad karoténmi, xantofylami atď.. Ďalším dôvodom zmeny zafarbenia je ukladanie produktov asimilácie v blízkosti cytoplazmatickej membrány (Jaag 1933).

Všeobecné zmeny zafarbenia sú časté a pravidelné u voľne žijúcich *Coccomyxa* druhov. U *Coccomyxa* druhov z lišajníkov nenastávajú viditeľné zmeny. Zmeny zafarbenia sa Jaagovi zdali byť dobrým systematickým znakom.

5.2. Fyziologické a morfológické zmeny buniek

Tvar a veľkosť buniek sú výrazne ovplyvnené zložením média a teplotou pri ktorej sú kultúry pestované. Jednotlivé riasy vyžadujú pre svoj rozvoj rôzne minerálne média. Napriek tomu, že sú to autotrofné organizmy, organické média zvyšujú rastovú rýchlosť a vedú k prejavu špecifických vlastností rodov. Preferovanie organických médií u zelených rias nie je zvláštnosťou. Živné média pomermi látok neodpovedajú ich skutočnému zastúpeniu v prírode (Jaag 1933).

Na cukornatom médiu sa kolónie *Coccomyxa* klonov navzájom odlišujú, na médiu bez sacharidov nie sú rozdiely medzi kolóniami klonov pozorovateľné. Kolónia narastie približne do veľkosti 4-7mm v priemere, je pravidelná, plochá a morfológicky ďalej

nečlenená. Kultúry do 6 mesiacov majú jasný lesk, ktorý s vekom strácajú. Kolónie si zachovávajú tmavozelenú farbu, ktorá ani po roku nevybledne (Jaag 1933).

Jaag (1933) považoval zmenu farby za jeden zo systematických znakov. Čím je kultúra staršia, tým nadobúda druhovo typickejšiu farbu. V priebehu času sa vždy stáva svetlejšiou (nikdy nie tmavšou).

Coccomyxa má len nepatrné nároky na teplotu. Bunky rodu *Coccomyxa* najrýchlejšie rastú v prvých troch mesiacoch pri teplotách medzi 15 až 24°C, v ďalšom vývoji sa im však darí lepšie pri nižších teplotách medzi 9 a 12°C. Pri nižších teplotách je prírastok biomasy menší a pri teplotách vyšších ako 33°C sa riasy nerozmnožujú vôbec (Jaag 1933).

Teplota má významný vplyv na vzhľad buniek. Pri nižších teplotách majú bunky pekný zdravý tvar, sú normálnej veľkosti a sviežej zelenej farby, chromatofor obopína skoro celý povrch bunky, pri vyšších teplotách je neforemný a zrníčkovitý. Pri vyšších teplotách ako 27°C sú stále častejšie obrovské guľovité formy buniek, na mnohých jedincoch sú pozorovateľné prívesky, ktoré vznikajú po anomálnom delení bunky. Nad 30°C sú bunky neforemné a len ťažko sa dajú zaradiť ku *Coccomyxa*, obsah ich buniek je plazmolýzovaný, zatiaľ čo si bezfarebná bunková stena zachováva normálny tvar (Jaag 1933). Tieto pokusy boli robené na *Coccomyxa* druhoch z mierneho podnebného pásma, *Coccomyxa* druhy získané z tropických oblastí budú pravdepodobne vyššie teploty znášať lepšie, a práve naopak na nižšie teploty reagovať citlivo.

6. Prehľad druhov a ich stručné vymedzenia

Do rodu sa radí 23 platných taxonov, oveľa viac druhov však bolo popísaných (Jaag 1933, Guiry & Guiry 2007). V súčasnosti je mnoho týchto názvov označených iba ako synonymá, či basionymá. Niekoľko pôvodných zástupcov rodu *Coccomyxa* bolo preradených do iných rodov.

Typovým druhom rodu je *Coccomyxa confluens* (Kützinger) Fott (Fott 1974, Ettl & Gärtner 1995). Schmidle (1901) tento typový druh popísal ako *Coccomyxa dispar*, avšak Fott (1974) zistil, že tento organizmus už bol popísaný niekoľko rokov predtým ako *Gloeocapsa confluens* Kützinger. Túto podobnosť si už predtým všimol Hoek (1963), ktorý navrhoval do tohto rodu radiť aj *G. montana*, s bunkami skoro nerozlíšiteľnými

od *G. confluens* (Hoek 1963, Fott 1974). Bunky tohto druhu žijú v masívnom slize. Môžeme ich nájsť aerofytických biotopoch (Jaag 1933, Ettl & Gärtner 1995).

Jediný zástupca popísaný z morského pobrežia je *C. litoralis*. Tento zástupca si svoje výnimočné postavenie drží aj tým, že v strede chloroplastu má pyrenoid (Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995). Prítomnosť alebo neprítomnosť pyrenoidu nie je podstatným rozlišovacím znakom rodu (Jaag 1933, Krienitz 2001). Jaag (1933) radí do rodu ešte *C. ophiurae*, *C. naegeliana*, *C. raysisiae*, ktoré tiež majú pyrenoid. Podľa Guiry & Guiry (2007) sú tieto názvy iba basionymami.

Tri druhy sú parazitické: *C. parasitica* Stevenson & South (Stevenson & South 1974), *C. ophiurae* Rosenvinge (Jaag 1933) a *C. astericola* Rosenvinge (Stevenson & South 1974). Všetky tri parazitujú na morských bezstavovcoch. Do rodu *Coccomyxa* sú teraz radení iba *C. parasitica* a *C. astericola* (Guiry & Guiry 2007). Stevenson & South (1974) nepredpokladajú, že by tieto druhy mohli byť jedným druhom, avšak s rôznymi hostiteľmi. Skôr sa prikláňajú k možnosti, že parazitický spôsob života je len vylepšením voľne žijúcich druhov. Dosiaľ sa však ani jedna z nich nenašla vo voľnej prírode (Stevenson & South 1974). Stevenson & South (1974) predpokladajú, že by mohla byť v planktone v okolí výskytu napadnutej *Placopecten magellanicus* objaviť *C. litoralis*, alebo jej podobná v mori žijúca *Coccomyxa*. Tento predpoklad však dosiaľ nikto nepotvrdil.

Jaag (1933) vo svojej monografii rodu rozpracoval koncepty druhov veľmi podrobne. V ďalších publikáciách venujúcich sa tejto problematike sa už už tieto druhy nespomínajú. Sú to *C. peltigerae*, *C. mucigena*, *C. peltigerae venosae*, *C. solorinae saccatae*, *C. ovalis*, *C. tirolensis*. Jaag (1933) rozdelil druh *C. solorinae saccatae* na dva podobné druhy *C. glaronensis* a *C. ovalis*. Niektoré z názvov uvádzajú Guiry & Guiry (2007) ako basionymá.

V tabuľke uvádzam prehľad taxonov a ich stručných charakteristík (Príloha 1).

7. Podobné rody a druhy

Rod *Coccomyxa* je veľmi variabilný a ťažko sa rozlišuje od iných podobne vyzerajúcich zástupcov z tried Trebouxiophyceae, Chlorophyceae a Xanthophyceae. V Tab. 1 uvádzam prehľad podobných rodov, v ďalšom texte sa ich popisu venujem podrobnejšie a uvádzam aj jednotlivé druhy, s ktorými je možné si ich spliešť.

rod	trieda	rád	čel'ad'
<i>Pseudococcomyxa</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Oocystaceae
<i>Neocystis</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Radiococcaceae
<i>Palmellococcus</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Oocystaceae
<i>Chlorella</i>	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae
<i>Pseudochlorella</i>	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae
<i>Pseudochlorococcum</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Oocystaceae
<i>Pilidiocystis</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Oocystaceae
<i>Elliptochloris</i>	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae
<i>Choricystis</i>	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae
<i>Nanochloropsis</i>	Eustigmatophyceae	Eustigmatales	
<i>Coenocystis</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Radiococcaceae
<i>Ellipsoidion</i>	Xanthophyceae	Mischococcales	Pleurochloridaceae
<i>Monodus</i>	Xanthophyceae	Mischococcales	Pleurochloridaceae
<i>Fasciculochloris</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Chlorococcaceae
<i>Tetracystis</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Chlorococcaceae

Tab. 1 Zoznam podobných rodov a ich taxonomické zaradenie

Pseudococcomyxa Koršikov (Obr. 3)

Tento rod popísal Koršikov (1953) a zaradil doňho jediný druh *Pseudococcomyxa adhaerens* Koršikov, ktorý ako sa ukázalo bol už predtým popísaný druh *Coccomyxa simplex* (Pringsheim) Mainx (Mainx 1928), preto ho Fott (1981) premenoval na *P. simplex* (Mainx) Fott. Druhým zástupcom rodu je *P. ellipsoidea* Hindák (Hindák 1984). V ďalšom období budú pravdepodobne obidva rody *Pseudococcomyxa* a *Coccomyxa* znovu zlúčené (Friedl 2006, ústne vyjadrenie).

Bunky tohto rodu takisto ako u rodu *Coccomyxa* sa vyznačujú vysokou tvarovou variabilitou, sú elipsovité, oválne, vajcovité, niekedy nesymetrické. Veľkosť buniek u *P. simplex* je 7- 10µm x 2- 4µm. Chloroplast je parietálny, tmavozelený, konvexný na dlhšej strane bunky, neobsahuje pyrenoid. V bunke nie sú viditeľné škrobové zrná, ale ako zásobné látky sú dobre viditeľné tukové kvapky (Mainx 1928, Jaag 1933, Fott 1981, Ettl & Gärtner 1988, 1995). Broady (1987) v elektronovom mikroskope pozoroval malé škrobové zrnká. Prítomnosť škrobových zrn odlišuje tento druh od morfológicky rovnakého druhu *Monodopsis subterranea* z Eustigmatophyceae (Broady 1987). Najčastejšie tvorí 2 alebo 4 autospor (Hindák 1984), niekedy 8 (Broady 1987). Od rodu *Coccomyxa* sa odlišuje rozdielnym uvoľňovaním autospor - rupturou bunkovej steny autosporangia, a nie zoslizovatením bunkovej steny, ako je to u *Coccomyxa*. Po uvoľnení autospor zo steny sporangia, v ňom často zostáva 1 bunka, ktorá sa ďalej vyvíja (Obr. 3f, Obr. 4) (Koršikov 1953, Broady 1987). Bunky sa nevyskytujú v slizovom obale, ale tvoria

len slizovú čiapočku, pomocou ktorej sa prichytávajú k substrátu. Takto spojených môže byť aj niekoľko buniek (2 - 4 - 8). Avšak najčastejšie sú bunky samostatné.

P. ellipsoidea sa od typového druhu líši pravidelnejšími bunkami, len slabo asymetrickými s menšou veľkosťou 3,5 – 7 x 1,5 – 3,5 μm a tvorbou sférických diskov na bunkovej stene. Tieto disky sa najčastejšie tvoria na 1 konci bunky, avšak môžu sa vyskytnúť súčasne aj na druhom konci bunky. Pôvod a zloženie týchto diskov nie je známe. Tvar chloroplastu, neprítomnosť pyrenoidu, typ rozmnožovania a uvoľňovania autospor je rovnaký ako u *P. simplex* (Hindák 1984).

Typový druh *P. simplex* bol popísaný z kultúry *Paramecium bursaria*, vyskytuje sa aj vo vodných kultúrach cievnatých rastlín, v zásobných fľašách s destilovanou vodou alebo zásobnými roztokmi rôznych chemikálií, druh je rozšírený aj v prírode, u nás nebol zaznamenaný ako dominanta (Mainx 1928, Jaag 1933, Fott & Komárek 1958, Sládečková 1959, Fott 1981, Ettl & Gärtner 1988, 1995).

Avšak je rozšírený v neakvatických biotopoch v Antarktíde, v chasmo-endolitických spoločenstvách, nárastových spoločenstvách na granitových horninách, v rašliništiach, ako epifyty na machoch, lišajníkoch a stromoch (Jaag 1933, Hindák 1984, Broady 1987, Ettl & Gärtner 1995, Neustupa & Albrechtová 2003).



Obr. 4 *Pseudococcomyxa* vegetatívna bunka v stene sporangia, mierka 10μm

Neocystis Hindák

Zástupca tohto rodu *Neocystis brevis* (Vischer) Kostikov et Hoffmann bol tiež radený do rodu *Coccomyxa*. Pôvodne popísaný ako *Nephrodiella brevis* Vischer sa radil medzi Xanthophyceae, Mischococcales (Gärtner & Schragl 1988), avšak po zistení, že obsahuje chlorofyl b (Šesták 1963), bol preklasifikovaný na *Coccomyxa brevis*, na základe variabilných, najčastejšie elipsovitých, výrazne prehnutých a zaoblených, nepravidelných, často fazuľovitých buniek, s nerovnako zaoblenými pólmi buniek, niekedy aj citrónovitých, hruškovitých, alebo mierne prehnutých do S (Gärtner & Schragl 1988). Veľkosť buniek je 6 – 11 μm x 2,5 – 6 μm (6 -18 x 2,5 - 9 μm vrátane obrovských buniek). V bunke sa nachádza jeden, niekedy 2 parietálne doskovité alebo miskovité chloroplasty bez pyrenoidu, vyplňujúce 2/3 bunky. V bunkách sú niekedy viditeľné 1 – 3 olejové kvapky alebo vakuoly a málo zreteľné jadro. Bunky sú jednotlivo alebo po niekoľko rozmiestnené v slize (Gärtner & Schragl 1988, Ettl & Gärtner 1995, Kostikov

& Hoffmann 2002). V autosporangióch sa môže tvoriť nepárny počet autospor a tento znak odlišuje *Neocystis brevis* od podobných druhov rodu (Kostikov & Hoffmann 2002). Najčastejšie sa však tvoria 4 autospory (2, 3, 8), autospory sú mierne podlhovasté, najčastejšie cylindricky-rovné, elipsovito-dorzoventrálne alebo elipsovito-ohnuté, autosporangia sú 6,2 – 10,5µm x 5,1 – 9,1µm veľké (Kostikov & Hoffmann 2002). Stena sporangia po uvoľnení autospor zostáva viditeľná ako 2 spojené alebo oddelené kusy (Kostikov & Hoffmann 2002). Nájdeme ich v kyslom humuse a v pôde (Ettl & Gärtner 1995).

Choricystis (Skuja) Fott

Bunky sú jednotlivé, zriedkavo po dvoch, široko elipsovité, alebo obličkovitého tvaru, s parietálnym korýtkovitým chloroplastom. Bunky neobsahujú pyrenoid. Netvorí sliz a to ich odlišuje od rodu *Coccomyxa* (Hindák 1984). Jediným terestrickým druhom je *Choricystis minor* (Skuja) Fott (Ettl & Gärtner 1995). Synonymom k tomuto názvu je *Coccomyxa minor* (Guiry & Guiry 2007). Bunky sú 1,5-6 µm dlhé a 1-3 µm široké (Ettl & Gärtner 1995). Fawley et al. (2005) však popisuje oveľa menšie rozpätie 1,5 až 3 µm, avšak hovorí o planktónnom spoločenstve. Rozmnožuje sa 2 autosporami, ktoré sa uvoľňujú ruptúrou bunkovej steny sporangia (Hindák 1984). *C. minor* sa vyskytuje na kôre stromov a na pôde (Ettl & Gärtner 1995). Bunky sú malé a ťažko rozlišiteľné od podobného rodu *Nanochloris* (Fawley et al. 2005). Výsledky molekulárnych štúdií 18S rDNA a rbcL genu poukazujú na vyššiu variabilitu v rámci rodu a na možnosť výskytu kryptických druhov. NJ analýza rozdelila rod *Choricystis* na 3 zreteľne molekulárne definované skupiny (bootstrap 100%) (Fawley et al. 2005). Napriek tomu, že je rod popísaný tak, že netvorí sliz, niektoré kmene, použité pre analýzu 18S rDNA a rbcL genu, tvorili slizový povlak. Tento znak je dôležitým pre rozlíšenie rodov *Choricystis* a *Neocystis*. Analýza 18S rDNA a rbcL genu však tieto kmene zhlukovala do jednej skupiny (clade) s *Choricystis* (Fawley 2005). Tvorba slizu je zároveň rozlišovacím znakom rodu *Choricystis* a *Coccomyxa* (Hindák 1984).

Nanochloropsis

Bunky má okrúhle alebo mierne vajcovité s priemerom 2 – 4 µm. Chloroplast má tylakoidy po trojiciach a neobsahuje pyrenoid, ale na rozdiel od iných zástupcov Eustigmatophyceae nemá vencovú lamelu okolo chloroplastu. Bunky obsahujú jedine

chlorofyl a a prídavný pigment violaxantin. Pravdepodobne je kozmopolitne rozšírený v oceánskom pikoplanktone (Hoek et al. 1995).

Elliptochloris Tschermak-Woess

Bunky sú jednotlivé, elipsovité, vajcovité až guľovité s korýtkovitým chloroplastom, bez pyrenoidu. Rodu *Coccomyxa* sú podobné druhy *E. bilobata* Tschermak-Woess s rozmermi až 13 µm x až 10,5 µm, žijúci ako fykobiont lišajníkov *Catolechia wahlenbergii* a *Protothelenella* druhov a *E. subsphaerica* (Reisingl), ktorý má pyrenoid a rozmery jeho buniek sa pohybujú medzi 5-10 µm x 2,5-7 µm (Ettl & Gärtner 1995). Výsledky fylogenetických analýz naznačujú, že rod *Elliptochloris* by mohol byť blízko príbuzný rodu *Coccomyxa* (Friedl 2006, ústne vyjadrenie).

Chlorella Beijerinck

Niektoré štádiá rodu *Chlorella* sa dajú zameniť s *Coccomyxa* formami. Jaag (1933) spomína predovšetkým *Ch. lichina* Chod. a *C. cladoniae* Chod., ktorých autospory sú často pravidelne elipsoidné a tieto obrysy si dlho zachovávajú. Druhy *Ch. lichina* a *C. cladoniae* však v inej literatúre, autory vôbec nepopisujú (Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1988, 1995). Príslušnosť buniek k rodu *Chlorella* jednoznačne určuje prítomnosť jedného alebo niekoľkých pyrenoidov. Neprítomnosť pyrenoidu jednoznačne rozlišuje *Coccomyxa* druhy od *Chlorella* (Jaag 1933). Zo súčasne popisovaných druhov sú bunkám rodu *Coccomyxa* najpodobnejšie *Chlorella saccharophila* (Krüger) Migula a *Ch. ellipsoidea* Gerneck. *Ch. saccharophila* má cylindricky-elipsovité alebo vajcovito-elipsovité bunky s jemným páskovitým alebo hrncovitým chloroplastom s nezreteľným nahým pyrenoidom, preto sa ťažko odliší od buniek *Coccomyxa*. Bunky sú veľké 3.5 - 10.2 (-12.2)µm dlhé a 2-7 (11.9)µm široké. V autosporangiu sa tvorí 2 - 32 autospor (Ettl & Gärtner 1988). *Ch. ellipsoidea* má elipsovité až široko vajcovité bunky, chloroplast je hrncovitý v dospelých bunkách korýtkovitý s centrálnym pyrenoidom, niekedy sa v bunkách objavujú olejové kvapky, alebo vakuoly. Bunky sú 2-15µm dlhé a 1.5-13µm široké. V autosporangiu sa nachádza 4 - 64 autospor. *Ch. ellipsoidea* je známa ako fykobiont lišajníka *Woessia fusaroides* (Ettl & Gärtner 1995). *Ch. ellipsoidea* spolu s *Ch. luteoviridis* sa od ostatných druhov *Chlorella* odlišuje tým, že je schopná tvoriť nepárny počet autospor podobne ako *Neocystis brevis* (Kostikov & Hoffmann 2002).

Palmelococcus Chodat

(*Chlorella* Beijerinck 1890= *Chlorococcum* Meneghini 1842 (nomen cons) (Ettl & Gärtner 1995))

Mladé bunky sú vajcovité, elipsoidné, alebo široko elipsoidné, zriedkavo nepravidelné. Dospelé bunky sú najčastejšie guľovité, málokedy vajcovité, elipsovité, alebo široko elipsovité, alebo elipsovito-okrúhle (Ettl & Gärtner 1988, Ettl & Gärtner 1995). Bunková stena je hladká a hyalinná. Chloroplast je hrncovitý, na okrajoch môže byť jemne členený. Väčšinu buniek rodu *Coccomyxa* odlišíme neprítomnosťou pyrenoidu, avšak niektoré druhy r. *Coccomyxa* pyrenoid obsahujú. U r. *Palmellococcus* je pyrenoid celistvý, alebo v niektorých prípadoch dierovaný (rešetovitý), s vydutou škrobovou obálkou, alebo je obklopený niekoľkými škrobovými zrnami. Zriedkavo je pyrenoid zdvojený alebo sú prítomné pyrenoidové satelity. Jadro sa nachádza v lumen chloroplastu. U dospelých buniek sú 2 pulzujúce vakuoly, v apikálnom otvore chloroplastu. Pokiaľ sú v bunke potravné vakuoly, pulzujúce vakuoly často chýbajú. V bunkách sa nikdy netvoria olejové kvapky (Ettl & Gärtner 1988).

Kolónie rodu *Coccomyxa* tvoria na pevnom médiu pravidelné gombíkovité kolónie, s hladkým a lesklým povrchom, mladé kultúry hlboko tmavozelenej farby. Naproti tomu *Palmellococcus* tvorí kolónie s menej vyklenutým povrchom ako kolónie *Coccomyxa*, ich farebný odtieň je výrazne svetlejší a nejednotný na ploche kolónie (Jaag 1933).

Pseudochlorella Lund

Bunky sú jednotlivo, alebo niekedy po skupinách uložené v slize. Tvar buniek je elipsovité až skoro guľovité, bunková stena je tenká a hladká. Bunky obsahujú jeden korýtkovitý alebo doskovitý chloroplast, s okrúhlym pyrenoidom. V autosporangiu je 2 - 16 elipsovitých autospor. V terestrickom prostredí žije jediný druh *Pseudochlorella pyrenoidosa* (Zeitler) Lund ako lišajníkový symbiont *Lecidea* druhov. Jeho bunky sú buď guľaté bunky s priemerom 2,5-12µm, alebo elipsovité bunky s rozmermi 5-12 µm x 4-10 µm (Ettl & Gärtner 1995)

Pseudochlorococcum Archibald

Bunky sú elipsovito vajcovité, dorsiventrálné, až skoro okrúhle s nástenným rýhovaným chloroplastom, s časťou podobnou pyrenoidu. V autosporangiu je 2-16 autospor. Vyskytuje sa v pôde. Zástupci podobný r. *Coccomyxa* sú *Pseudochlorococcum typicum*

s rozmermi 4,5 μ m x 7 μ m a *Pseudochlorococcum polymorphum* s rozmermi 5 - 13,5 (15) μ m x 3,5 - 8 (11) μ m (Ettl & Gärtner 1995).

Pilidiocystis Bohlin

(*Ourococcus bicaudatus* Grobéty=*Dactylococcus bicaudatus* Al. Braun)

Tento rod tvorí často elipsovité formy pripomínajúce bunky rodu *Coccomyxa*. V bunkách obidvoch rodov je ťažko rozoznateľný pyrenoid, preto sa v prírodnom vzorku obtiažne rozoznávajú. Čisté kultúry sa rozlíšia ľahko, *Pilidiocystis* má na väčšine buniek na oboch pólach bunky štetinovité privesky, ktoré sa u *Coccomyxa* druhov nikdy nevyskytujú. V mnohých prípadoch je možné rozlíšiť *Pilidiocystis* zafarbením pyrenoidu (Jaag 1933).

Coenocystis Korschikoff

Bunky rodu *Coenocystis* sa od rodu *Coccomyxa* odlišujú jedine orientáciou autospor v autosporangiu, a to ich paralelným alebo posunutým postavením (Komárek & Fott 1983). Mikroskopické kolónie žijú v nezreteľnom homogénnom slize. Bunky *Coccomyxa* sa dajú spliesť jedine s druhom *Coenocystis oleifera* Broady (= *Sphaerocystis oleifera*), ktorý má elipsovité bunky 7 - 11 μ m s parietálnym chloroplastom, na okrajoch laločnatým, s jedným pyrenoidom, rozptýlené v slize po 2, 4, 8 alebo 16 (Ettl & Gärtner 1995).

Ellipsoidion Pascher

Bunky sú jednotlivo, alebo po skupinách, po rozpustení materskej steny, v princípe elipsovité, s 1 alebo viacerými parietálnymi chloroplastami korýtkového, prstencovitého, alebo doskovitého tvaru. Pyrenoid obsahuje jedine druh *E. solitare* (Geitler) Pascher, ostatné druhy sú bez pyrenoidu. Najčastejšie tvorí 2 alebo 4 autospory, zriedkavo 8. Bola preukázaná tvorba zoospor. Vyskytujú sa na pôde a na kôre stromov (Ettl & Gärtner 1995). Podobnú veľkosť buniek ako u *Coccomyxa* a 1 chloroplast majú títo zástupci : *E. perminimum* Pascher s rozmermi 3-6 μ m x 2 μ m, *E. anulatum* Pascher s bunkami niekedy polyedrickými až 14 μ m x 6-9 μ m a *E. simplex* s rozmermi 9-15 μ m x 6-9 μ m (Ettl & Gärtner 1995).

Monodus Chodat

Bunky tohto rodu majú často asymetrický, kvapkovitý tvar, jedna strana bunky je zaoblená, opačná strana je zašpičatela, buď ostro, alebo len jemne. Niekedy sú bunky elipsovité. V bunke má 1 alebo viac (2-8) parietálnych chloroplastov, korýtkového až guľatého tvaru. Pyrenoid bol pozorovaný len raz. Rozmnožuje sa pomocou autospor, zriedkavo pomocou zoospor, boli pozorované aj aplanospory (Ettl & Gärtner 1995). Zo zástupcov sa na *Coccomyxa* druhy podobajú: *M. pyreniger* Pascher – s bunkami elipsovitými až skoro vajcovitými s asymetrickou stavbou. Bunky sú 12-15 µm x až 9 µm veľké. Chloroplast je na jednej strane vyklenutý, na okraji niekedy tvorí laloky, v strede má veľký zreteľný pyrenoid, čím sa odlišuje od mnohých *Coccomyxa* druhov, vyskytuje sa v kyslých degradujúcich pôdach, v Rumunsku a Československu; *M. unipapilla* Reising s bunkami citronovitými, 7-9 µm x 3,5-4,5 µm veľkými, pravdepodobne tvorí slabý slizový obal, chloroplast je parietálny opaskovitý, vyskytuje sa na zemi; *M. coccomyxa* Pascher s bunkami so zreteľne odlišiteľnou brušnou a chrbtovou stranou, šikmo pretiahnuto vajcovitými, s 1 žliabkovitým až korýtkovitým chloroplastom často na chrbtovej strane bunky, bunky až 15 µm x až 7 µm veľké, je to typická pôdna riasa, v Európe je rozšírená; *M. coccomyxoides* Pascher s neforemnými bunkami, nepravidelne vajcovitými, na koncoch široko zaoblenými, s viac chloroplastami (4 - 10), až 12 µm x 5 - 7 µm (Ettl & Gärtner 1995); *Monodus subterraneus* J. B. Petersen (= *Monodopsis subterreanea*) morfológicky ľahko zameniteľný za *Pseudococcomyxa simplex*, ale oproti *P. simplex* má nezreteľný pyrenoid hlboko v chloroplaste, neobsahuje chlorofyl b a škrobové zrná, naproti tomu *P. simplex* niekedy tvorí malé škrobové zrníčka (Broady 1987). Tento druh bol preradený do triedy Eustigmatophyceae pod názvom *Monodopsis subterranea*. Ostatní zástupci rodu sú naďalej radení do triedy Xanthophyceae (Guiry & Guiry 2007).

Fasciculochloris boldii Mc Lean & Taylor

Mladé bunky sú oválne až elipsovité, v slizovom obale s jedným chloroplastom, ktorý je v mladosti žliabkovitý až miskovitý, neskôr hrncovitý so zárezmi a nepravidelnými lalokmi. Obsahuje pyrenoid so škrobovým obalom, 2 pulzujúce vakuoly a jadro v lumen chloroplastu. Rozmnožuje sa pomocou zoo- a aplanospor. Bunky majú 7,5 – 14 µm v priemere. Tvorí nepravidelné zhľuky buniek 15 x 18 µm (- 26 x 28 µm) veľké. Oproti *Coccomyxa* druhom má širšiu bunkovú stenu (1 µm) (Ettl & Gärtner 1995).

Tetracystis Brown & Bold

Mladé bunky sú elipsovité alebo vajcovité, dospelé bunky sú skôr elipsovito-guľaté až guľaté, majú masívny hrncovitý chloroplast, niekedy perforovaný, alebo lalokovitý. Obsahujú jeden až niekoľko pyrenoidov. Rozmnožujú sa pomocou zoospor, aplanospor a autospor. Bunky druhu *Tetracystis extentrica* Brown & Bold majú podobný tvar ako *Coccomyxa*, sú však oveľa väčšie 13-16µm, mladé bunky sú elipsoidné, oválne v dospelosti sa zaguľatujú, často sa vyskytujú v dvojiciach, štvoricich až osmicich. Vyskytuje sa na granitových pôdach (Ettl & Gärtner 1995).

Oocystis naegeli

Jaag (1933) popisuje ešte morfológickú podobnosť buniek tohto druhu s rodom *Coccomyxa*. Avšak pri snahe vyhľadať tento druh v súčasne platnej literatúre, som našla jediný údaj, že tento názov je basionym (Guiry & Guiry 2007), iní autori ho neuvádzajú (Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995). Napriek tomu uvádzam popis a rozlíšenie podľa Jaaga (1933). Bunky tejto riasy majú elipsoidné bunky na póloch s pravidelne zaokrúhlenými koncami. Oproti ostatným *Oocystis* A. Braun druhom jej chýba pyrenoid a typické zhrnutia na póloch bunky. Jaag (1933) aj Chodat (1913) uvádzajú veľkosť buniek podobnú ako priemerná veľkosť buniek rôznych druhov. Pascher (1915) však uvádza veľkosť buniek medzi 10 – 39µm dlhé a 10 - 26µm široké. Bunky rodu *Coccomyxa* sú však maximálne 14µm dlhé. Podľa čoho sa dá tento druh odlíšiť od *Coccomyxa* druhov však už Jaag (1933) neuvádza.

8. Epifytické spoločenstvá na ihliciach nahosemenných stromov

Coccomyxa a ostatné spomínané skupiny organizmov sú riasy vyskytujúce sa v terestrickom prostredí. Riasy sú však pôvodne vodné organizmy. Novému prostrediu sa prispôbili jednoduchým tvarom bunky, tak aby bol ich pomer povrchu k objemu, čo najmenší, aby zabránili stratám vody. K tomu im často napomáha aj slizový obal, ten často slúži aj na uchytenie k substrátu.

V ďalšom texte sa zameriam na výskyt týchto organizmov na ihliciach ihličnanov. Pretože je to relatívne nový fenomén, dosiaľ sa týmto problémom zaoberalo len niekoľko prací. Prvé zmienky o epifytických spoločenstvách zelených rias na ihliciach ihličnanov

pochádzajú z 80. rokov minulého storočia (Bråkenhielm & Qinghong 1995, Poikolainen et al. 1998).

Epifytické spoločenstvá predstavujú spoločenstvá mikroorganizmov, tvorené niekoľkými zástupcami rias, húb a bakterií. Najčastejšími sú zelené riasy *Apatococcus lobatus* (Chodat) Petersen, *Desmococcus viridis*, *Pleurococcus viridis* Agardh (Brück 1983, Bråkenhielm & Qinghong 1995, Söchting 1997, Neustupa & Albrechtová 2003). Okrem nich v týchto spoločenstvách žijú *Pseudococcomyxa* sp., *Choricystis minor* a *Chlorella angusto-ellipsoidea* Hanagata, Karube & Chihara (Neustupa & Albrechtová 2003). Výskyt jedinej riasy s filamentárnou stielkou bola zaznamenaný z Dánska, autor sa zmieňuje takisto o výskyte v severnom Nemecku a na Novom Zélande. Je to pravdepodobne nový druh (Söchting 1997). Z ríše Fungi sú najčastejšími kvasinkové organizmy (Starmer et al. 1991), zastúpené sú aj druhy *Scolecotecha cornuta* Söchting & Sutton a *Capronia* sp. (Söchting 1997). Rozvoj epifytických spoločenstiev na ihliciach súvisí s klimatickými zmenami a so znečistením ovzdušia, hlavne so zvýšenou koncentráciou zlúčenín dusíka v ovzduší (Bråkenhielm & Qinghong 1995, Poikolainen et al. 1998, Neustupa & Albrechtová 2003). Naproti tomu je zaujímavejšia skutočnosť, že množstvo zelených rias na ihliciach korelovalo s koncentráciou SO₂ v ovzduší (Poikolainen et al. 1998). Kyslý dážď obsahujúci síru a amoniak narušuje kutikulu ihlic a tie sú potom prístupnejšie pre osídlenie zelenými riasami. Avšak síra zároveň poškodzuje aj bunky rias, a preto je súčasný pokles koncentrácie SO₂ v ovzduší priaznivý pre masívny rozvoj týchto epifytických spoločenstiev (Poikolainen et al. 1998). Vzťah medzi zvýšeným množstvom síry v ovzduší si všimol už Brück (1983) na epifytických spoločenstvách na kôre stromov v Kolíne. Medzi znečistením ovzdušia a inými faktormi ovplyvňujúcimi rozvoj epifytických spoločenstiev je obtiažne rozlíšiť, ktorý z nich má na rozvoj zelených rias významný vplyv. Často tieto faktory interkorelujú a štatistickými metódami sa ťažko rozlíšia (Bråkenhielm & Qinghong 1995, Poikolainen et al. 1998). Geografické premenné (nadmorská výška, zemepisná šírka a dĺžka) majú vplyv skôr na rozšírenie zelených rias, ale na ich masívny rozvoj a abundanciu má väčší vplyv koncentrácia dusíka a síry (Bråkenhielm & Qinghong 1995). Vzdušná vlhkosť a dĺžka vegetačnej sezóny má tiež vplyv na výskyt rias. Rozvoju rias prospieva teplá a vlhká jeseň (Bråkenhielm & Qinghong 1995). Brück (1983) vo svojej štúdii epifytických spoločenstiev na borke listnatých stromov ukazuje na masívnejší rozvoj zelených rias smerom do stredu mesta, tento rozvoj koreluje s vyššou teplotou a zníženou vlhkosťou, avšak najväčší rozvoj zaznamenal na kôre stromov pri rieke Rýn. Intenzívnejší rozvoj

zelených rias smerom do centra by sa dal vysvetliť nie zníženou vlhkosťou, ale zvýšenou koncentráciou SO₂ v ovzduší, ktorá narušuje materiál a sprístupňuje ho pre spoločenstvá rias. Søchting (1997) si myslí a jeho štúdie tomu nasvedčujú, že na rozvoj nárastových spoločenstiev má významnejší vplyv humidita a osvetlenie ihlíc ako množstvo dusíka v ovzduší. Tvrdí, že jeho koncentrácia v ovzduší je v študovanom území dostatočná pre rozvoj zelených rias na ihliciach (Søchting 1997). Pretože ihličie je viac-ročné (niektoré až 11-ročné), tak spady dusíka zostávajú zachované na ihliciach do nasledujúcich období, kde sú následne k dispozícii pre organizmy nárastových spoločenstiev. Epifytické spoločenstvá sa vyskytujú častejšie na ihliciach rodu *Picea*, ako na ihliciach rodu *Pinus* (Gorransson 1988). Smrek vďaka hustšiemu pokryvu viacerých ročníkov ihlíc ako borovica zadržiava viac vlhkosti vo svojej korune. Preto je pravdepodobnejší výskyt nárastových spoločenstiev na starších stromoch a ihliciach (Søchting 1997, Poikolainen et al. 1998). Najmasívnejší rozvoj epifytických mikrobiálnych spoločenstiev bol zaznamenaný na 3- až 4-ročných ihliciach. Rozvoj hubových spoločenstiev nastupuje pomalšie, a svoje maximum dosahuje po 4 až 5 rokoch. Po 8 rokoch života ihlice dosahuje 2. maximum spoločenstvo rias. Stupeň napadnutia hubou koreluje so snižujúcou sa hrúbkou riasovej pokrývky (Søchting 1997).

Epifytické spoločenstvá rias sa dajú využiť ako bioindikátory znečistenia ovzdušia (Brück 1983, Bråkenhielm & Qinghong 1995, Poikolainen et al. 1998, Neustupa & Albrechtová 2003). Hlavne rod *Pseudococcomyxa* by mohol byť dobrým bioindikátorom, pretože sa vyskytoval jedine na lokalite, kde ihličie žltlo a rýchlo opadávalo, čo predpokladá väčšie znečistenie. *Pseudococcomyxa* však nikdy nebola dominantou (Neustupa & Albrechtová 2003). Aby sa nejaký druh alebo epifytické spoločenstvo stalo dobrým bioindikátorom museli by sa jednoznačne oddeliť vplyvy antropogenných činiteľov a prírodných podmienok (Bråkenhielm & Qinghong 1995, Poikolainen et al. 1998).

9. Vlastná práca

V rámci mojej bakalárskej práce som sa snažila nielen spracovať literárnu rešerš o rode *Coccomyxa*, ale aj získať vlastné kmene rodu, ktoré využijem pri fylogenetických analýzach. Okrem toho som pozorovala morfológiu buniek 2 kmeňov H102, H103 zo zbierky CAUP (Zbierka rias Univerzity Karlovy) a 2 kmeňov získaných od môjho školiteľa E13-a, E20-a.

9.1. Metodika

Vzorky som odoberala z lokalit: Praha (9), Klet'- Blanský les (4), Ondřejov – Říčany (5), Kokořínsko (4), Medník (1). Podrobný popis lokalit je uvedený v Prílohe 2. V Tab. 2 uvádzam lokality, z ktorých sa mi podarilo získať čisté kultúry.

lokality	popis lokality	strom	vek ihlice (v rokoch)	kmene	rod
CH5	les u obce Ondřejov	borovica	2	CH5A, CH5B	<i>Chlorella</i>
KL10	vrchol Klete, z výšky stromu 3-4m	smrek	2	KL10A - KL10D	<i>Coccomyxa</i>
KL11	vrchol Klete, z výšky stromu 1,5m	smrek	2	KL11A	<i>Coccomyxa</i>
C2C	výsypky, Chvaletice	x	x	C2C-P	<i>Pseudococcomyxa simplex</i>
BZ	Botanická záhrada UK	smrek	1	BZ-E	?
V1	Vrbodol, Kokořínsko	smrek	2	V1A	<i>Coccomyxa</i>

Tab. 2 Popis lokalit, z ktorých som získala kultúry

Zo smreku v hrudnej výške som odoberala 4 - 8 ihlíc, na ktorých bol viditeľný pokryv riasami, do eppendorfky. Najneskôr do 2 dní som z odobratých ihlíc odizolovala epifytické spoločenstvo: na sterilnej Petriho miske som pomocou sterilnej pinzety vybrala 4 najviac porastené ihlice, tie som spolu s balotinami (priemer 0,5mm) a tekutým BBM (Bold's basal medium) médiom v eppendorfke zvrtovala. Po uvoľnení rias z ihlíc som tekutinu nasala sterilnou pipetou a preniesla na Petriho misku s agarom (BBM). Tam som ju rozotrela po ploche misky pomocou sterilnej sklenej hokejky. Riasy som pestovala pri laboratórnej teplote 21°C a dennom osvetlení.

Na prípravu Petriho misiek a šikmých agarov som používala 2N Bold's basal medium (BBM) (Kalina 1994). Petriho misky som najprv vysterilizovala v sušičke od firmy Memmert, 0,5h pri 160°C. Do 700 ml destilovanej vody som napipetovala po 10ml zásobných roztokov $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl a 20 ml roztoku NaNO_3 . Potom som pridala po 1ml zásobných roztokov EDTA, FeSO_4 , H_3BO_3 a zmesi stopových prvkov: $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MoO_3 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Pridala som ešte 1,5 ml vitamínu B12 a 8 - 10 ml pôdneho dekoktu a doplnila destilovanou vodou na 1000ml. Agar som varila z 0,5l BBM s 8 - 10g agaru v 1,5l sklenenej banke v topnom hniezde THS 1000 f. Brněnská drutěva.

Po narastení kolónií na Petriho miskách som sa snažila určovať jednotlivé riasy a izolovať riasy rodu *Coccomyxa* a *Pseudococcomyxa*. Izolovala som pomocou sterilnej ihly buď na ďalšiu Petriho misku, alebo na šikmý agar, keď sa mi podarilo vyizolovať priamo čistú kolóniu.

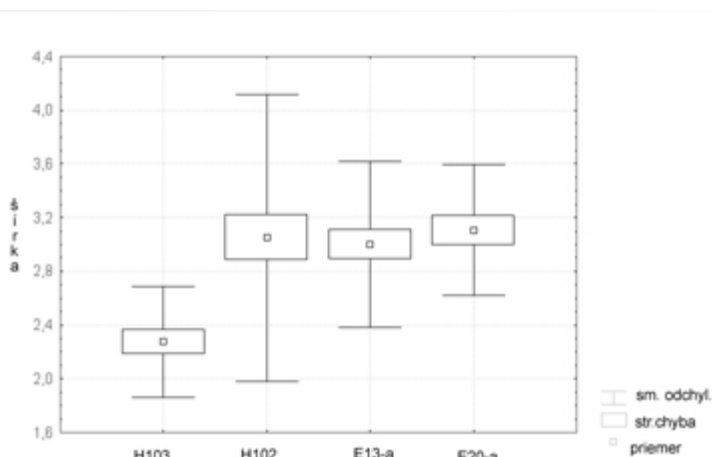
kmeň	lokalita	získal	rok
H102	z kultúry <i>Paramecium bursaria</i>	Pringsheim	pred 1928
H103	zmáčané pieskovcové skaly, Adršpach, ČR	Punčochářová	1970
E13-a	z kôry stromu <i>Ehretia javanica</i> , horský tropický les, Jáva, 1500 mnm	Neustupa	2006
E20-a	z kôry stromu <i>Cleistocalyx operculata</i> , horsky tropický les, Java, 1500 mnm	Neustupa	2006

Tab. 3 Popis kultúr z CAUP

Na pozorovanie morfológie buniek som používala kultúry získané z kmeňov zo zbierky CAUP a od školiteľa (Tab. 3). Pozorovala som ich mikroskopom Olympus CX 31, s maximálnym zväčšením 1000x s použitím imerzného oleja. Bunky som farbila metylenou modrou kvôli zafarbeniu slizového obalu a na zviditeľnenie pyrenoidu som používala chloraljód. Pomocou programov Past a Statistica som vyhodnotila po 268 pozorovanií šírky a dĺžky buniek. Fotila som na mikroskope Olympus BX 51 s fotoaparátom Olympus C-5060 so zväčšením 1000x s imerzným olejom a Nomarského kontrastom. Fotografie som upravila v programe GIMP 2.2 a Photoshop 5.0.

9.2. Výsledky a diskusia

Kolónie na miskách začali rásť po 2 až 4 týždňoch. Ako prvé sa na miske objavili kolónie rodov *Apatococcus*, *Stichococcus* a *Bracteacoccus*. Kolónie rodu *Coccomyxa* a *Pseudococcomyxa* začali byť viditeľné až po 2 až 3 mesiacoch. Získala som 5 čistých kultúr: CH5A (*Chlorella elipsoidea*), KL10A (*Coccomyxa*), KL11A



Graf 1 Box-ploty pre šírky buniek jednotlivých kmeňov program Statistica (StatSoft 1998)

(*Coccomyxa*), C2C-P (*Pseudococcomyxa*), BZ-E. V kultúre BZ-E mám veľmi tvarovo variabilnú riasu, ktorú sa mi nepodarilo určiť.

Pozorovania morfológie buniek (dĺžky a šírky buniek) kmeňov získaných zo zbierky som vyhodnotila v Programu Past (Hammer et al. 2001), a potom aj pomocou programu Statistica (StatSoft 1998), kde som využila metodu jednocestnej ANOVy s 5% hladinou signifikantnosti. Dĺžky buniek sa signifikantne nelíšili medzi jednotlivými kultúrami, avšak rozdiel medzi šírkami buniek jednotlivých kultúr bol signifikantný na 5% hladine testu. Šírka buniek kultúry H103 sa preukázateľne líšila od širok buniek ostatných kultúr (Graf 1). Pretože rozdiel mohol byť spôsobený rodielnym vekom kultúr vyhodnotila som potom iba údaje získané z kultúr naočkovaných v jeden deň. Aj napriek tomuto opatreniu vyšiel test signifikantne s p-hodnotou 0,001535 (Tab. 4).

	df Effect	MS Effect	df Error	Error	F	p-level
šírka	3	3,268252	104	0,595427	5,488922	0,001535

Tab. 4 Výsledné parametre jednocestnej ANOVA z údajov o šírke buniek z kultúr H102, H103, E13-a, E20-a naočkovaných v jeden deň; df stupne voľnosti, MS priemerný štvorec

Kultúra H103 a H102 sú kultúry toho istého morfológického druhu *Pseudococcomyxa simplex*. Bunky v tejto kultúre majú síce podobný rozptyl dĺžok ako bunky v H102, avšak sú oveľa užšie ako u H102 a ostatných kultúrach. Zároveň majú bunky z kultúry H103 viditeľne svetlejšiu farbu a v bunkách sa nachádza väčšie množstvo zásobných látok. Tieto morfológické a fyziologické rozdiely by mohli poukazovať na genetickú variabilitu medzi oboma kultúrami. Rozdiel v morfológii a fyziológii však môže byť spôsobený aj masívnou kontamináciou kultúry H103 hubou z oddelenia Ascomycota. A tieto fyziologické a morfológické zmeny by mohli byť adaptáciami buniek na znížený prísun živín a na možné ovplyvňovanie hubou. Literatúra, ktorá by sa venovala problematike takejto interakcie neexistuje. Preto sa snažím kultúru H103 vyčistiť a potom ju podrobiť fylogenetickým analýzám a ďalším pozorovaniam morfológie.

Zároveň som si pri pozorovaní všimla, že u kultúry E13-a sa autospory neuvolňujú zoslizovatením steny sporangia, ale stena sporangia zostáva viditeľná ako je to u rodu *Pseudococcomyxa*. Avšak tento a ďalšie znaky, ktoré rozlišujú rody *Coccomyxa* a *Pseudococcomyxa* nie sú až tak relevantné pretože na základe fylogenetických analýz budú tieto rody znovu zlúčené (Friedl 2006, ústne vyjadrenie).

10. Záver

Fylogenetické štúdie ukázali, že rod *Coccomyxa* patrí do triedy Trebouxiophyceae. Tieto analýzy sa však venovali iba druhom izolovaných z lišajníkov (Lohtander et al. 2003, Zoller & Lutzoni 2003). Voľne žijúcim druhom sa dosiaľ žiadna fylogenetická štúdia nevenovala. Veľká morfológická variabilita nemusí byť len zdrojom ťažkostí pri určovaní, ale môže poukazovať aj na vysokú diverzitu v rámci rodu, a prítomnosť kryptických druhov (Friedl 2006, ústne vyjadrenie). Morfológické znaky však nemusia vôbec súhlasiť s fylogenetickým vývojom a vznikom jednotlivých druhov a rodov (Huss et al. 1999, Krienitz et al. 2001). Výsledky prác mnohých autorov nasvedčujú, že použitie genu pre 18S rRNA je vhodným molekulárnym markrom na štúdium diverzity na úrovni nižších taxonomických jednotiek v rámci triedy Trebouxiophyceae (Huss et al. 1999, Krienitz et al. 2001, Lohtander et al. 2003, Zoller & Lutzoni 2003). Trieda Trebouxiophyceae bola vyčlenená z Chlorophyceae na základe molekulárných znakov (Friedl 1995). Ale vyznačuje sa aj spoločnými morfológickými znakmi: CCW orientácia bazálnych teliesok bičikov u bičikátých štádií, vegetatívne bunky sú nepohyblivé a môžu byť buď jednotlivé bunky alebo tvoriť sarcinoidnú alebo filamentárnu stielku. Je to jediná skupina rias s metacentrickou mitózou (Friedl 1995). Ostatné morfológické znaky používané na rozlíšenie nižších taxonomických jednotiek už nevystihujú fylogenetický pôvod danej skupiny organizmov, napríklad prítomnosť, či neprítomnosť pyrenoidu u Selenastraceae (Krienitz et al. 2001) alebo biochemické znaky napríklad hydrogenázová aktivita v rode *Chlorella* s.l. (Huss et al. 1999), neboli dobrým znakom na určenie fylogenetických vzťahov medzi týmito organizmami. Preto by som ďalej chcela použiť metódy molekulárnej fylogenetiky a na základe 18S rDNA študovať diverzitu voľne žijúcich epifytických *Coccomyxa* druhov.

11. Literatúra

Bråkenhielm S. & Qinghong L. 1995: Spatial and temporal variability of algal and lichen epiphytes on trees in relation to pollutant deposition in Sweeden. *Water, Air and Soil Pollution* 79: 61 – 74

Broady P. A. 1987: The morfology, distribution and Ecology of *Pseudococcomyxa simplex* (Mainx) Fott (Chlorophyta, Chlorellaceae), a Widespread Terrestrial Antarctic Alga. *Polar Biol.* 7: 25 - 30

Brück H. 1983: Der Einfluss der Grossstadt auf die Verbreitung rindenbewohnender Grünalgen am Beispiel von Köln. *Decheniana (Bonn)* 136: 1-4

Ettl H. & Gärtner G. 1988: Chlorophyta II Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales, Susswasserflora von Mitteleuropa, Band 10, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Ettl H. & Gartner G. 1995: Syllabus der Boden-, Luft-, und Flechtenalgen, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York

Fawley M. W., Fawley K.P., Owen H. A. 2005: Diversity and ecology of small coccoid green algae from Lake Itasca, Minnesota, USA, including *Meyerella planctonica*, gen. et sp. nov.. *Phycologia* 44 (1): 35 - 48

Fott B. 1974: Taxonomie der palmelloiden Chlorococcales (Familie Palmogloeaceae). *Preslia* 46: 1-31

Fott B. 1981: Nomenklatorische Änderungen bei einigen Chlorokokkalalgen. *Preslia* 53: 1 – 7

Fott B. & Komárek J. 1958: Über eine häufig übersehene Grünalge: *Pseudococcomyxa adhaerens* Koršikov. *Preslia* 30: 76 – 77

Fott B. & Nováková M 1971: Taxonomy of the palmelloid genera *Gloeocystis* Nägeli and *Palmogloea* Kützing (Chlorophyceae). *Arch. Protistenk., Jena* 113: 322 - 333

- Friedl T. 1995: Inferring taxonomic positions 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.). J. Phycol. 31: 632 - 639
- Gärtner G. & Schragl A. 1988: Zur Taxonomie von *Coccomyxa brevis* nov. comb. (Chlorophyceae, Chlorococcales), früher *Nephrodiella brevis* Vischer (Xanthophyceae, Mischococcales). Nova Hedwigia 46, 3 – 4: 511 – 517
- Görasson A. 1988: Luftalger och lavar indikerar luftföroreningar. Summary: Airborne algae and lichens indicate air pollutants. Statens naturvårdsverket Rapport 3562. Swedish Environmental Protection Agency, Laboratory of Environmental Control, Uppsala, pp. 1 – 17 ex Poikolainen J., Lippo H., Hongisto M., Kubin E., Mikkola K., Lindgren M. 1998: On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland. Environmental Pollution 102, S1: 85 – 92
- Graham L. E., Wilcox L. W. 2000 : Algae. Prentice-Hall, Upper Saddle river, New Jersey. 640pp., p 452
- Guiry M.D. & Guiry G.M. 2007. AlgaeBase version 4.2. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 18 March 2007
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Hindák F. 1984: Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). III. Biol. Práce 30. Veda, Bratislava
- Hoek, C Van Den 1963: Nomenclatural Typification of some Unicellular and Colonial Algae. Nova Hedwigia 6, Band IV: 277 – 296
- Hoek, C Van Den, Mann D. G., Jahns H. M. 1995: Algae An introduction to phycology. Cambridge University Press, pp 131 - 132

Huss V. A. R., Frank C., Hartmann E. C., Himmer M., Kloboucek A., Seidel B. M., Wenzeler P., Kessler E. 1999: Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella* sensu lato (Chlorophyta). *J. Phycol.* 35: 587 - 598

Chodat R. 1913: *Monographies d'algues en culture pure*. Berne, K.-J. WYSS, Libraire-éditeur. pp. 224 – 234

Jaag O. 1933: *Coccomyxa Schmidle Monographie einer Algengattung, Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz*, Bern Buchdruckerei Buehler & Co.

Jahn, R. & Kusber, W.-H. (2007): *AlgaTerra Information System* [online]. Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem, FU-Berlin. 25 April 2007 [cited date]. Available from <<http://www.algaterra.org>>

John, D.M. & Tsarenko, P.M. (2002). Order Chlorococcales. In: *The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. (John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. Eds), pp. 327-409. Cambridge: Cambridge University Press.

Kalina T. 1994: *Laboratorní kultivace sinic a řas in Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu. kolektiv autorů. Reprodukční a knihářské pracoviště PřF UK Praha*, pp. 39 - 41

Komárek J. & Fott B. 1983: *Das Phytoplankton des Süßwassers*, Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchner (Nägele u. Obermiller)

Kostikov I., Darienko T., Lukešová A., Hoffmann L. 2002: Revision of the classification system of Radiococcaceae Fott ex Komárek (except the subfamily Dictyochlorelloideae) (Chlorophyta). *Algological Studies* 104, 23 - 58

Kostikov I. & Hoffmann L. 2002: What is *Nephrodiella brevis* Vischer? *Algological Studies* 104, 1-21

Koršikov O. A. 1953: *Vyznačnik prisnovodnich vodorostej ukrajinskoi rsr V*, Kiev

- Krienitz L., Ustinova I., Friedl T., Huss V. A. R. 2001: Traditional generic concepts versus 18s rRNA gene phylogeny in the green algal family Selenastraceae (Chlorophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 37, 852 - 865
- Lohtander K., Oksanen I., Rikkonen J. 2003: Genetic diversity of green algal and cyanobacterial photobionts in *Nephroma* (Peltigerales). *Lichenologist* 35(4), 325 – 339
- Mainx F. 1928: Einige neue Chlorophyceen (Tetrasporales und Protococcales). *Archiv für Protistenkunde* 64: 93-95
- Neustupa J., Nováková S., Šejnohová L., Škaloud P., Řežáčková M. 2002: Algae from aquatic, peat bog, and aerial biotops in the catchment area of the River Křemelná in Šumava National Park. *Czech Phycology, Olomouc*, 2: 47 -60
- Neustupa J. & Albrechtová J. 2003: Aerial algae on spruce needles in the Krušné Hory Mts., Czech Republic. *Czech Phycology, Olomouc*, 3: 161 – 167
- Pascher A. 1915: Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Heft V. Chlorophyceae II, Einzellige Chlorophyceengattungen unsicherer Stellung. Verlag von Gustav Fischer in Jena
- Peveling E. & Galun M. 1976: Electron-microscopical studies on the fycobiont *Coccomyxa Schmidle*. *New Phytol.* 77, 713 – 718
- Poikolainen J., Lippo H., Hongisto M., Kubin E., Mikkola K., Lindgren M. 1998: On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland. *Environmental Pollution* 102, S1: 85 – 92
- Printz H. 1927: Chlorophyceen in Engler – Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien. 3 Bd. 2. Auflage ex Jaag O. 1933: *Coccomyxa Schmidle* Monographie einer Algengattung, Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz, Bern Buchdruckerei Böhler & Co.
- Schmidle W. 1901: Ueber drei Algengenera. *Berichte d. Deutsch. Bot. Ges.* 19
- Sládečková A. 1959: On the Spontaneous Growth of *Pseudococcomyxa adhaerens* (Chlorophyceae) in Chemical Solution. *Ecology* Vol. 40, No. 4: 732-733

Søchting U. 1997: Epiphylllic cover on spruce needles in Denmark. *Ann. Bot. Fennici* 34: 157 – 164

Stamer W. T., Fogleman J. C., Lachance M.-A. 1991: The Yeast Community of Cacti. In Andrews J. H., Hirano S.S.: *Microbial Ecology of Leaves*. Brock, Springer Seres in Contemporary Bioscience

StatSoft, Inc. (1998) *STATISTICA for Windows* (Computer program manual). Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, [email:info@statsoft.com](mailto:info@statsoft.com), WEB: <http://www.statsoft.com>

Stevenson R. N. & South G. R. 1974: *Coccomyxa parasitica* sp. Nov. (Coccomyxaceae, Chlorococcales), a parasite of giant scallops in Newfoundland. *Br. Phycol. J.* 9: 319 – 329

Šesták Z. 1963: Použití papírové chromatografie chlorofylů a karotenoidů v algologii. *Preslia* 35: 123 - 134

Trémouillax-Guiller J., Rohr T., Rohr R., Huss V. A. R. 2002: Discovery of an endophytic alga in *Ginkgo biloba*, *American Journal of Botany* 89(5): 727-733

Zoller & Lutzoni 2003: Slow algae, fast fungi: exceptionally high nucleotide substitution rate differences between lichenized fungi *Omphalina* and their symbiotic green algae *Coccomyxa*, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29 (2003) 629-640

12. Prílohy

Príloha 1 Zoznam druhov rodu *Coccomyxa* a prehľad ich známych charakteristik

Druh	poznámka	Chloroplast	Dĺžka buniek	dĺžka/šírka	Sliz	Zpôsob života	Bunky	Autospory/autosporangia
<i>C. confluens</i> (Kuntzig) Fott	synonymum <i>C. dispar</i> Schmidle, <i>Gloecapsa confluens</i> Kützing	Zreteľne vymedzený, parietálny, korýtkovitý	6 – 14 ?(2,5-16)	2,9±0,4	Hojný, rozsiahly, vrstvy slizu okolo jednotlivých skupín buniek, ktoré vznikli postupným delením buniek, môže mať až 20cm	Aerofyticky na machu (močiari alebo bažine)	voľne uložené v slize	2 - 4 autospory, na jednej strane prehnuté
<i>C. lacustris</i> (Chod.) Pascher	synonymum <i>C. natans</i> (Chod.) Schmidle, u Guriy neverené, <i>Dactylococcus Lacustris</i> Chod., <i>D. natans</i> Chod.	Parietálny, nezahľuje celý povrch bunky	5,0 - 7,0	2,2±0,3	Zreteľný sliz, menšieho objemu, rozsahu ako <i>C. dispar</i> ,	Plankton jazier	v kolonii len niekoľko buniek 2-20 pri sebe	(2) - 4 autospory
<i>C. subglobosa</i> Pascher		Nápadne úzky, alebo páskovitý	(3,7) 6 – 8 - (10)	1,4	Tvorba slizu podobná ako u <i>C. dispar</i> , nevrstevnatý, riedky a homogénny	Epifyt na <i>Sphagnum</i> , a iných machoch, rozšírený, bahňité pôdy	obľejšie bunky jako <i>C. lacustris</i> , skoro okrúhle bunky, na jednej strane často prehnuté	2 - 8 autospor
<i>C. pallescens</i> Chod.	Cystococcus?	Korýtkovitý, svieža zelená farba, s vekom redukcia na niekoľko častí, súčasne zosvetlie)	7 – 8,99	2,2±0,29	bez slizu	Epifyt na <i>Cladonia gracilis</i>	bunky relativne veľké, oválne, na póloch zaoblené, v strede širšie, svetlejšie než <i>C. viridis</i> , <i>C. solorinae saccatae</i> , <i>C. thallosa</i>	

<i>C. Chodatii</i> Jaag	basionym (Guiry & Guiry 2007)	hlbinnej tmavozelenej farby, akoby nevyvinutý, nerozpadáva sa	6,69 – 8,31	2,6±0,2	bez slizu	Ženevské jazero	vretenovité, menšie a užšie bunky s nepravidelnejším tvarom ako <i>C. rayssiae</i>	Autospory okrúhle
<i>C. Rayssiae</i> Chod. et Jaag	basionym (Guiry & Guiry 2007)	Hlbinnej tmavozelenej farby, s vekom sa rozpadá na množstvo zrníčok, má pyrenoid	6,2 – 11,1	1,6 - 3,4	slizový obal	Epifyt na lišajníkoch, z Rumunska	bunky veľké široko eliptické, na póloch pravidelne zaoblené, s vekom sa v strede pás alebo nepravidelne bunka sfarbí na hnedo	Podľa pohľadu nepatrí do <i>C.</i>
<i>C. viridis</i> Chod.	basionym (Guiry & Guiry 2007)	bledej nevýraznej farby, suchej trávy	5,9 – 9,1	1,2 - 2,8	slizový obal	Epifyt na <i>Sphaerophorus coralloides</i>	stredne veľké, široko oválne, vajcovité, v strede silne vyduté, najväčšia zo všetkých epifytických <i>C.</i> na lišajníkoch	
<i>C. thallosa</i> Chod.	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)	dobře vyvinutý dlhotrvajúci chromatofor, pokrývajúci 1/2 alebo 2/3 bunky	7,5 - 13,2	1,8 - 4,0	sliz	fykobiont <i>Peltigera aptosa</i> , <i>Solorina saccata</i>	veľké a nápadne pretiahnuté, v novom médiu sa môžu pri tvorbe slizu usporiadať do provazcov, ľahko odlišiteľná	v slize zostávajú skupiny buniek, ktoré vznikli ako autospory po bezprostrednom rozpade materskej membrány
<i>C. Corbierei</i> Wille	basionym (Guiry & Guiry 2007)	parietálny	5,0-14,0	1,9	vrstevnatý sliz, podobný ako u <i>C. dispar</i>	na vlhkom dreve	vretenovité, zaoblené konce, niekedy dorziventálne sploštené	Hypnoblasty – odpočívajúce štádiá, 7 - 9 μm v priemere

<i>C. olivacea</i> Petersen	basionym (Guiry & Guiry 2007)	parietálny, svetlo zelený	8,00 - 10,00		1	Sliz, hnedo-oranžový, solídny, želatinovej konzistencie, okolo buniek vo veľkom množstve	kriedové a vápencové skaly, preferuje malé dutinky	skoro sférické, po delení sa začínajú predlžovať v smere delenia	len 2 autospory
<i>C. Naegeliana</i> (Artari) Wille	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)	má pyrenoid	10		1,6	sliz	aerofytická na kôre stromov, vlhkých skalách, kyslých pôdach, rašeliništiach		
<i>C. ophiurae</i> Rosenvinge		zelený, laterálne predĺžený, má pyrenoid	6,0 - 8,0		3,2		echinoderm: <i>Ophioglypha</i>	vretenovité, parazitické	2, zriedkavo 4 autospory
<i>C. litoralis</i> (Hansg.) Wille		žltavý, alebo olivovo-zelený, parietálny, doskovitý, oblý, uložený na strane bunky, v strede pyrenoid	(2,0) - 4,5 10,0		2,2	bezštruktúrny, riedky sliz	hranica záplavovej zóny v Nórsku	pozdĺžne vajcovité, na koncoch zaoblené, alebo trojhranné	2 - (4) autospor
<i>C. curvata</i> Broady	basionym (Guiry & Guiry 2007)	bledo zelený, široko laločnatý	5,0-9,0			jemne sliz, bez vrstvenia	so sinicami na vlhkých skalách (Antarktisa)	po 2, alebo 4, obličkovitého alebo hruškovitého, najčastejšie cylindrického tvaru	slabo obličkovité, niekedy hruškovité, stena sporangia zostáva dlho viditeľná
<i>C. gloeobotrydiformis</i> Reisinger	basionym (Guiry & Guiry 2007)	parietálny, často 2-laločnatý, svetložltozelený, u starších buniek sa rozpadá na 2-3 časti	(3)- 5,5-6,5-(13,0)		šírka 2,8 - 5	tenký tekutý sliz	pôda, skaly, kôra stromov, Himaláje	široko elipsovité až vajcovité	2-4 (16) autospor

<i>C. parasitica</i> Stevenson & South	pravé meno, basionym	parietálny, páskovitý	1.0 - 11,0		tenký slizový obal	paraziticky v <i>Placopecten</i> <i>magellanicus</i> Gmelin	tyčinkovitý, oválne, klobásové, sférické, alebo srpkovité	2, 4, 8, v 14- dňových kultúrach aj 16, autospory podlhovasté
<i>C. arvernensis</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)	pokrýva skoro celý povrch bunky, tmavo zelený	4,9 - 8,6	1,6±0,43		epifyt na <i>Acarospora</i> <i>fusca</i>	variabilný tvar, podlhovasté,	
<i>C. turicensis</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)		4,2-8,1	3,0±0,19		epifyt na <i>Parmelia</i> <i>subaurifera</i>	nezvyčajne úzke, na póloch zaoblené	
<i>C. epiphytica</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)		5,3 - 11,6	1,9±0,2		epifyt na <i>Aspilicia</i> <i>cinereo-</i> <i>rufescens</i>	veľké a široké	
<i>C. subsphaerica</i> Chod. Et Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)		4,2 - 9,1	1,0 - 2,4	bez slizu	epifyt na lišajníkoch	bunky skoro okrúhle, oválne až pozdĺžne pretiahnuté	nie viac ako 4 autospory
<i>C. elongata</i> Chod. Et Jaag	basionym (Guiry & Guiry 2007)					zo Ženevy, z Prahy	veľmi úzke a často na koncoch zašpicatené	
<i>C. gracilis</i> Chod.	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)					epifyt na <i>Cladonia</i> <i>gracilis</i>		
<i>C. peligerae</i> Warén	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)					fykobiont u <i>Peltigera</i> <i>aphtosa</i>		
<i>C. peltigerae venosae</i> Jaag	nie je u (Guiry & Guiry 2007)		5,4 - 9,3	2,2±0,31		fykobiont u <i>Peltigera</i> <i>venosa</i>	úzke a menšia jako u iných, guľovité formy sú zriedkavé	
<i>C. solorinae croceae</i> Chod.	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)		5,1 - 8,2	1,7 - 3,02		fykobiont u <i>Solorina</i> <i>crocea</i>		

<i>C. solorinae saccatae</i> Chod.	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995), basionym (Guiry & Guiry 2007)						fykobiont u <i>Solorina saccata</i>		
<i>C. solorinae</i> Chod.	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995), basionym (Guiry & Guiry)						fykobiont u <i>S. saccata</i> alebo <i>S. crocea</i>		
<i>C. glaronensis</i> Jaag	<i>C. solorinae saccatae</i> Chod.		7,1±0,83	1,4±0,18	slizová čiapočka		fykobiont u <i>Solorina saccata</i>		
<i>C. ovalis</i> Jaag	<i>C. solorinae saccatae</i> Chod.	zreteľný korýtkovitý chloroplast	4,6 - 7,2	1,0 - 1,8	slizová čiapočka		fykobiont u <i>Solorina saccata</i>	najokrúhlejšia zo všetkých	2 - 4 autospory v materskej membráne, ktorá sa neskôr rozpustí
<i>C. solorinae bisporae</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995), basionym (Guiry & Guiry 2007)		5,3 - 12,4	1,2 - 3,0	slizová čiapočka		fykobiont u <i>Solorina bispora</i>	pravidelne oválne bunky	najčastejšie po 2 autospory
<i>C. icmadophilae</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995)						fykobiont <i>Icmadophila ericetorum</i>		
<i>C. pringsheimii</i> Jaag	<i>Coenochloris pringsheimii</i> Bourrelly, basionym (Guiry & Guiry 2007)				slizová čiapočka		fykobiont u <i>Botridyna vulgaris</i>		
<i>C. subellipsoidea</i> Acton	basionym (Guiry & Guiry 2007)		7,2±0,65	3,5±0,48	slizová čiapočka		fykobiont u <i>Botridyna vulgaris</i> (= <i>Omphalina</i>)	širokooválne až skoro guľovité bunky	4 bunkové

<i>C. mucigena</i> Jaag	nejasné postavenie (Ettl & Gärtner 1995), basionym (Guiry & Guiry 2007)	masívny parietálny chloroplast, hrnovitého tvaru	6,3 - 8,6	šírka 3 - 6		fykobiont z <i>Peltigera aphantosa</i>	elipsovité až jemne vajcovité či okrúhle, bunke sú 1 - 3 vakuoly	2 -4 autospory, stena sporangia zostáva viditeľná aj po uvoľnení autospor
-------------------------	---	--	-----------	-------------	--	--	--	---

V tabuľke Príloha 1 sú použité údaje z týchto zdrojov: Jaag 1933, Komárek & Fott 1983, Ettl & Gärtner 1995, Fott 1974, 1981, Mainx 1927, Guiry & Guiry 2007, Jahn & Kusber 2007

Príloha 2 Zoznam lokalit a zistených druhov

lokality	označenie	strom	vek ihlice	zistené rody a druhy
Praha - Kunratický les	1	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Kunratický les	2	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Kunratický les	3	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Kunratický les	4	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Hvězdova (Pankrác)	5	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Petřín (Újezd)	6	<i>Picea</i>	3	x
Praha - Petřín (Újezd)	7	<i>Picea</i>	2, 3	x
Blanský les - Klet'	KL8	<i>Picea</i>	3, 4	x
Blanský les - Klet'	KL9	<i>Picea</i>	2	<i>Apatococcus, Stichococcus allas, S. bacillaris, Chlorella</i>
Blanský les - Klet'	KL10	<i>Picea</i>	1, 2	<i>Coccomyxa, Pseudococcomyxa</i>
Blanský les - Klet'	KL11	<i>Picea</i>	1, 2	<i>Pseudococcomyxa</i>
Blanský les - Klet'	KL12	kôra smreku		<i>Chlorella, Stichococcus</i>
Ondřejov	CH1	<i>Picea</i>	2, 3	<i>Apatococcus</i>
Ondřejov	CH2	<i>Picea</i>	2	<i>Apatococcus, Stichococcus bacillaris</i>
Ondřejov	CH3	<i>Pinus</i>	1	x
Ondřejov	CH4	<i>Picea</i>	2	<i>Stichococcus bacillaris</i>
Ondřejov	CH5	<i>Pinus</i>	2	<i>Chlorella</i>
Botanická zahrada UK	BZ	<i>Picea</i>	2	<i>Chlorella ellipsoidea, Nanochloropsis</i>
Kokořínsko - Želízy	Ž1	<i>Picea</i>	3	<i>Pseudococcomyxa, Apatococcus, Bracteacoccus, Keratococcus, Stichococcus, Radiococcus</i>
Kokořínsko - Želízy	K1	<i>Picea</i>	3	<i>Stichococcus, Bracteacoccus, Coccomyxa</i>
Kokořínsko - Zimořský důl	K2	<i>Picea</i>	3	<i>Stichococcus, Chlorella, Bracteacoccus</i>
Kokořínsko - Vrbodol	V1	<i>Picea</i>	2	<i>Stichococcus</i>
Petrov - Medník	M1	<i>Picea</i>	2	<i>Stichococcus, Pseudococcomyxa</i>
Praha - Průhonický park	P1	<i>Taxus</i>	1	<i>Apatococcus</i>