

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



**Martin Pošmourný**

Vliv vysychání na streptofytní řasy – mechanismy stresové odolnosti

The effect of desiccation on streptophyte algae - mechanisms of stress resistance

**Bakalářská práce**

Školitel: RNDr. Martina Pichrtová Ph.D.

Praha 2016

**PROHLÁŠENÍ:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 13.5.2016

Martin Pošmourný

## PODĚKOVÁNÍ

Za vždy ochotnou a odbornou pomoc při zpracování této práce a hlavně za milou trpělivost velice děkuji RNDr. Martině Pichrtové Ph.D. Své rodině děkuji za podporu při studiu. A veliký dík patří také Františku Brezíkovi, bez kterého bych tuto práci nikdy nedokončil.

## Obsah:

Úvod .....	6
Streptofytní řasy - obecná charakteristika .....	7
1 Nedostatek vody v buňce .....	8
2 Důsledky vysychání .....	9
2.1 Strukturální změny .....	9
2.2 Fyziologické změny .....	10
2.3 Dvě roviny odolnosti proti nedostatku vody .....	12
3 Význam stresové odolnosti streptofytních řas .....	13
3.1 Ekologický: půdní krusty - významný producent biomasy a fixátor dusíku a uhlíku, pionýrské sukcesní stádium, půdotvorný efekt .....	13
3.2 Evoluční: kolonizace souše, vznik evolučních novinek .....	14
4 Stresová odolnost jednotlivých skupin streptofytních řas .....	15
4.1 Chlorokybophyceae .....	15
4.2 Klebsormidiophyceae .....	16
4.3 Charophyceae .....	20
4.4 Coleochaetophyceae .....	21
4.5 Zygnematophyceae .....	22
5 Shrnutí .....	25
6 Seznam použité literatury .....	26
7 Obrazová příloha .....	29

## ABSTRAKT

V této bakalářské práci jsem se věnoval odolnosti streptofytních řas proti vysychání. Přesto, že se této oblasti doposud věnovalo jen pár lidí, v posledních letech bylo na toto téma publikováno značné množství prací. Byly zjištěny zajímavé informace a objeveny nové skutečnosti. Výzkum pokračuje stále dál a tak by bylo užitečné se poohlédnout, na co všechno se přišlo. Věřím, že porozumění tomuto fenoménu je klíčové pro pochopení některých událostí ve vývoji přírody a uvědomění si, jak houževnatý dokáže život být na samých hranicích svého možného výskytu.

Pokusil jsem se utřídit současné vědomosti o mechanismech stresové odolnosti streptofytních řas a doufám, že získaný přehled mi do budoucna pomůže lépe se v dané problematice orientovat.

Doposud bylo pozorováno několik přístupů k obraně proti vysychání. Prevence vysušení, adaptace na nedostatek vody a tolerance úplného vyschnutí. Mezi preventivní způsoby obrany patří vytváření shluků buněk, kobercovitých porostů, či sekrece slizového obalu. Jako adaptaci na nedostatek vody řasy vyvinuly složitější odpovědi v podobě změn ultrastruktury, či regulaci fyziologických procesů. Např. *Klebsormidium* je schopné během půlhodiny nastartovat výrobu značného množství kalózy a zabudovat ji do buněčné stěny. Tím získá potřebnou pružnost, aby v důsledku rapidního úbytku vody nedošlo k mechanickému poškození jeho ultrastruktury. Bylo zjištěno, že vysychání urychluje proces fotoinhibice. Výsledky výzkumů naznačují, že některé odpovědi na stresové podmínky jsou druhově specifické a že si streptofyta své předpoklady pro dobytí souše nesou stále s sebou.

In this thesis I dealt streptophyta algae resistance against desiccation. Even though the area previously devoted only a few people. Considerable amount of work in recent years has been published on the subject. They were found interesting information and discovered new facts. Research continues on and on, and it would be useful to look at what was observed. I believe that understanding this phenomenon is the key to understanding some of the events in the evolution of nature and realizing how tough life can be on the very border of its possible occurrence. I tried to sort out the current knowledge about the mechanisms of stress resistance streptophyta algae and hope that I obtained an overview will help me understand better this issues.

So far, it has been observed several approaches to defend against drying. Preventing drying, adaptation to water shortage and tolerance to desiccation. Among the preventive methods of defense include creating clusters of cells, multi-layered mats or secretion mucilage. As an adaptation to the lack of water algae evolved more complex answers in the form of changes in ultrastructure, or regulation of physiological processes.

*Klebsormidium* is capable of half an hour to start the production of significant quantities callose and incorporate it into the cell wall. This will give the necessary flexibility, that due to rapid loss of water, avoid mechanical damage to the ultrastructure. It was found that drying accelerates photoinhibition. The research results suggest that some responses to stress conditions are species specific and that streptofyta its assumptions for the conquest of the land still carry with them.

**Klíčová slova:**

Streptofytní řasy, vysychání, stresová odolnost, tolerance k vyschnutí, buněčná stěna, akinety, mechanismy obrany

## Úvod

Alpínské ledovce, dočasná řečiště, chladné pláně ale i čerstvě odkrytá syrová půda. Všechna tato stanoviště mají něco společného, jsou tu drsné podmínky k životu v podobě málo dostupné vody, silného slunečního záření a vysoké, ale i nízké teploty. Tyto lokality jsou v mnoha směrech extrémní. A přesto mají společnou ještě alespoň jednu věc. Často se na nich vyskytuje skupina organismů, které jsou schopny takové podmínky přežít. Dokonce tam dokáží žít trvale. Patří mezi ně i streptofytní řasy, organismy, které jsou nejbližšími příbuznými dávného předka, který jako první kolonizoval pevninu.

Přechod na souš musel klást na pionýrský druh obrovské nároky, a přesto se dokázal s tak velkým stresem vyrovnat. Předpoklady pro odolnost proti takovému stresu po něm pravděpodobně zdědili i jeho dnešní nejbližší příbuzní. Právě proto je zajímavé se jejich stresovou odolností, potažmo mechanismy, které jim takovou odolnost propůjčují zabývat. Pomůže nám to osvětlit jednu z nejdůležitějších událostí v historii přírody.

## 1 Streptofytní řasy - obecná charakteristika

*Streptofyta* jsou vývojová větev linie *Viridiplantae*, pod kterou patří vyšší rostliny a streptofytní řasy, neboli *Charophyta*. *Charophyta* jsou tedy parafyletickou skupinou, neboť mají společného předka, ale nezahrnují všechny jeho potomky, tedy vyšší rostliny. Charakteristická je pro ně přítomnost fragmoplastu, mikrotubulární struktury vymezující prostor, kde se mateřská buňka rozdělí na dvě dceřiné. Mikrotubulární charakter fragmoplastu umožňuje dopravu materiálu na stavbu střední lamely, která svými kvalitami nemá daleko od plnohodnotné buněčné stěny. Vznik fragmoplastu zřejmě umožňuje lepší regulaci dělení v rámci poměrně rigidní buněčné stěny a je tak dobrým předpokladem pro mnohobuněčnost.

Streptofytní řasy jsou jednobuněčné i mnohobuněčné stélkaté zelené rostliny. Jejich buňky obsahují především chlorofyl *a* a *b*. Obsahují i další pigmenty ale ty většinou chloroplasty nepřekrývají, takže jsou streptofytní řasy převážně zelené. Tylakoidy tvoří grana. Zásobní látkou je většinou škrob.

Streptofytní řasy jsou primárně sladkovodní a jsou považovány za nejbližší příbuzné prvních rostlin kolonizujících souš. (*Jan de Vries et al. 2016*)

Druhou vývojovou větví linie *Viridiplantae* jsou *Chlorophyta*. *Chlorophyta* byly původně na rozdíl od streptofyt mořskými organismy, ale později se i v jejich řadách vyvinuly sladkovodní druhy. Od streptofyt se liší třeba tím, že tylakoidy netvoří grana, ale srůstají v lamely. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

Na následujícím fylogenetickém stromě můžeme vidět současnou představu o příbuzenských vztazích v rámci skupin *Chlorophyta* a *Streptophyta*. (*Obr. 1.*)

## 2 Nedostatek vody v buňce

Přítomnost vody je nutnou podmínkou pro život. Její nedostatek značně stěžuje život všem organismům na planetě. V přírodě je nedostatek vody pro streptofytní řasy způsobován mnoha příčinami. Tou asi nejběžnější je nadměrný odpar způsobený buď vysokými teplotami, nebo nízkou vzdušnou vlhkostí. Další příčinou je nedostatek srážek. Hned několika způsoby může způsobit nedostatek vody mráz. Tání či zamrznání vody ve vyšších polohách může ovlivnit průtok vody, potažmo výšku hladiny potoků v polohách nižších. Pak platí prostý fakt, že zamrzlá voda je pro buňku nedostupná. A třetí cestou jak mráz ovlivní vodní režim buňky je ta, že s postupně zamrzající vodou roste koncentrace rozpuštěných látek ve vodě zatím nezamrzlé, čímž stoupá její osmotický potenciál. (*B.Fuller 2004*) Jako poslední příčinu nedostatku vody uvedu salinitu, ta může být způsobena nadměrným odparem, zamrznáním nebo lokálními podmínkami na stanovišti.

Nedostatek vody jako stres bychom tedy mohly rozdělit do dvou základních kategorií. Dlouhodobější-sezónní nedostatek, který většinou nastupuje pozvolna, ale trvá déle. A krátkodobý-nárazový nedostatek způsobený nenadálou událostí - poklesem vodní hladiny, rychlou změnou počasí či náhlou změnou lokálních podmínek, která může být zapříčiněna celou paletou událostí. Mezi příčiny krátkodobého nedostatku vody můžeme zařadit také periodické změny teploty, osvitů či výšky hladiny vody během dne.

Odlišné parametry těchto dvou typů stresové zátěže kladou na řasy odlišné nároky a vedou ke vzniku odlišných odpovědí a rozvoji jiných strategií.



### 3 Důsledky vysychání

Pro správné porozumění mechanismům stresové odolnosti streptofytních řas bychom se měli nejprve podívat, jaké následky nedostatku vody, potažmo vysychání, v buňce má.

#### 3.1 Strukturální změny

Voda v buňce plní hned několik funkcí a její nedostatek vede ke změnám v ultrastruktuře. (*Karsten 2012*) Považovat ji pouze za rozpouštědlo by bylo chybou. Přítomnost vody je například nezbytná pro správnou konformaci a funkčnost většiny membrán a biomolekul. (*Holzinger 2013*) Pokud množství vody v cytoplazmě výrazně poklesne, začne docházet k agregaci proteinů, dojde ke vzniku kovalentních vazeb a k denaturaci proteinů. (*Agrawal 2009*) Postupně dojde k narušení integrity organel a k zániku buňky. Ať už řízenou cestou apoptózy, nebo dojde k nekróze (*F. Kaplan 2011,2012, Holzinger, Karsten 2013, Pichrtová 2014*) Integritu organel dokáže vážným způsobem narušit i zamrzání. A to hned dvěma způsoby.

Jeden z efektů zamrzání vody je zvyšování koncentrace roztoku v okolí buňky, čímž roste osmotický tlak v buňce, který může vyústit v poškození organel.

Druhý efekt je mechanické poškození buněčných struktur v důsledku tvorby krystalků ledu přímo uvnitř buňky. (*B.Fuller 2004, Elster et al. 2008*) Často pozorované zahuštění cytoplazmy různými cukry, polyalkoholy a oligosacharidy (*F.Kaplan 2012*) stejně jako zvýšení koncentrace osmoticky aktivních látek může souviset se snahou snížit teplotu tání potažmo zamrzání a zabránit tvorbě krystalků ledu. Popřípadě díky vyššímu osmotickému potenciálu zadržet déle vodu a zajistit hydrataci některých strukturálních proteinů, či membrán, pro něž je, jak už bylo řečeno, hydratace nutnou podmínkou pro udržení třídimenzionální struktury, potažmo jejich funkčnosti. (*Karsten 2010*)

Při vysychání také dochází k těžkému poškození F-aktinových vláken. (*Holzinger et al. 2011*) Rozpad tubulárního aparátu však můžeme chápat jako adaptaci na vysušení. Právě ztráta rigidity, kterou buňce tubulární aparát propůjčuje, umožňuje buňce spolu s pružností buněčných stěn a přepážek reagovat na ztrátu vody celkovým smrštěním buňky. Tím se buňka vyvaruje protržení protoplastu a dalším mechanickým poškozením.

Nabízí se otázka, zda je možné oddělit od sebe jevy probíhající v buňce následkem vysychání na prosté následky nedostatku vody a na funkční adaptace. Pravděpodobně žádná takto ostrá hranice neexistuje. V průběhu evoluce se jednotlivé nutné reakce, založené na fyzikální a chemické podstatě buněčných komponent, zapojily do více či méně složitých reakcí buňky na stres. Nám tak nezbyvá, než chápat celý proces komplexně, a uvědomit si, že v buňce souvisí všechno se vším a stresová odolnost je výsledkem celé řady různě provázaných pochodů a reakcí, které na konci vedou k přežití buňky, či nikoliv. Příkladem složitosti těchto dějů může být fotoinhibice, které se budu věnovat v další kapitole.

### 3.2 Fyziologické změny

Veškeré fyziologické pochody v buňce jsou ovlivněny její celkovou kondicí. Pokud nejsou podmínky ideální, má to vliv na celkovou kondici buňky a následně to ovlivní fyziologické pochody v ní probíhající. Například pokles vzdušné vlhkosti snižuje schopnost příjmu  $\text{CO}_2$ . (*Bertsch 1966*) Oxid uhličitý je pro fotoautotrofní organismy zdrojem uhlíku, který tvoří převážnou část biomasy buňky. Pokles vzdušné vlhkosti tak nejen buňku vysušuje, ale navíc může zhoršit přístup ke zdroji základního stavebního kamene pro většinu syntetických procesů v buňce.

Mezi tyto procesy patří také syntéza nových D1 proteinů pro fotosystém II. Funkce fotosystému II je úzce spjata s calvinovým cyklem. Pokud tedy dojde k omezení příjmu  $\text{CO}_2$  sniží se spotřeba ATP potažmo NADPH. Nadbytek NADPH vede logicky k nedostatku  $\text{NADP}^+$ .  $\text{NADP}^+$  je příjemcem  $e^-$ .

Pokud nemá buňka dostatečné množství  $\text{NADP}^+$  které by absorbovalo elektrony, tyto elektrony dále reagují za vzniku volných kyslíkových radikálů označovaných jako ROS. Mezi ROS patří i peroxid vodíku  $\text{H}_2\text{O}_2$ , který působí inhibičně na syntézu prekurzorů proteinu D1.

V důsledku vysychání tedy dochází k tvorbě volných kyslíkových radikálů, kterou nazýváme oxidativní stres a pro buňku je nežádoucí. Oxidativní stres vede k celé řadě poškození buněčných struktur a to včetně DNA. (*Ron Mittler 2002*)

Výkon fotosystému II je daný rovnováhou mezi množstvím světlem poškozených D1 proteinů a množstvím těchto proteinů nově syntetizovaných. S poklesem množství funkčních D1 proteinů se dále zpomaluje fotosyntéza, čímž opět klesá množství fixovaného  $\text{CO}_2$ , tato zpětnovazebná reakce vede nakonec k tomu, že fotosyntéza se poměrně rychle zastaví, dojde k tzv. fotoinhibici. Jde tedy o jakýsi regulační systém, který tlumí fotosyntézu v momentě, kdy množství jejím prostřednictvím přijímané energie přesáhne schopnost buňky takové množství energie zpracovat. Jako je tomu například při nedostatku vody. (*Obr.2.*) (*Takahashi and Murata 2008*) Je však třeba mít na zřeteli, že k fotoinhibici může dojít z mnoha dalších důvodů a mnoha jinými způsoby.

Omezení fotosyntézy jako následek vysychání byl ukázán v pokusu na *Klebsormidium dissectum*, kde byl měřen kvantový výtěžek fotosystému II během vysychání a během následné re-hydratace. Experiment byl rozdělen na několik částí. V první byla zkoumána odpověď na náhlé vysušení a následnou re-hydrataci, 3h vysoušení a 3h re-hydratace. V další části schopnost regenerace fotosystému po týdenním a třítýdenním vysoušení při různých úrovních vzdušné vlhkosti (100%, 55%, 5%). Ve všech případech došlo k omezení či úplné inhibici fotosyntézy s různými parametry následné rekonvalescence. (*Karsten, Holzinger 2011*)

### 3.3 Dvě roviny odolnosti proti nedostatku vody

Můžeme, a měli bychom, se snažit rozlišit mezi dvěma typy tolerance k nedostatku vody. Tolerance k dehydrataci, tj. situaci, kdy se buňkám nedostává vody v dostatečném množství a ty se snaží jejím dalším ztrátám v maximální míře zabránit a k vysušení tj. úplné ztrátě vody.

Organismy tolerantní k dehydrataci se snaží za každou cenu udržet vnitřní homeostázi. Snaží se tedy využít každé příležitosti, aby se ztrátě vody vyhnuli. V přírodě to vypadá tak, že ze svých vláken formují mnohvrstevnaté koberce, kde blíže povrchu nacházející se vrstvy chrání spodní vrstvy před světlem a brání nadměrnému odparu (*Holzinger 2013*). Podobně fungují i půdní krusty (*Š.Chmelár 2011*) Řasy si také vytváří slizové obaly a tlusté buněčné stěny. (*K.Herburger 2015, A.Holzinger 2011, M.Pichrtová 2014*) Vyvinuly se i funkční fyziologické odpovědi na úrovni regulace exprese jednotlivých genů. Které přispívají k udržení homeostáze (*P.Mulo 2012*). Velice zajímavá je schopnost *Coleochaete* naprosto změnit svůj fenotyp, pokud je vystavena aeroterestrickým podmínkám. (*Linda E. Graham, 2012*). Elegantním způsobem jak se vyhnout ztrátě vody během nepříznivých podmínek je tvorba odolných stádií (oospory, pre-akinety, akinety), která dokáží dlouhá období nedostatku vody přečkat. (*M.O.Morison 1985*)

Tolerance k vysušení naopak znamená, že organismus je schopný vyschnout na úroveň 10% obsahu vody, ale i méně, a po re-hydrataci opět obnovit své fyziologické funkce. (*Oliver et al., 2010*) Tato schopnost není záležitostí pouze řas. Tolerantní k vyschnutí jsou lišejníky, mechy (*Roser et al. 1992*), vyšší rostliny tzv. resurrection plants. (*G.Bianchi 1991*), ale i živočichové např. želvušky, které přežijí pokles vnitřního obsahu vody až na 2% původní hodnoty. (*L.Rebecchi 2007, J.C.Wright 1988*)

## 4 Význam stresové odolnosti streptofytních řas

### 4.1 Ekologický: půdní krusty - významný producent biomasy a fixátor dusíku a uhlíku, pionýrské sukcesní stádium, půdotvorný efekt

Ekologický význam stresové odolnosti streptofytních řas spočívá v tom, že tato jim umožňuje přežít i na územích, která svými tvrdými podmínkami brání ve výskytu ostatním rostlinám. Tato houževnatost jim dává nejen velice důležitou roli v osidlování nových stanovišť, ale i významnou úlohu coby primárních producentů na takovýchto lokalitách. Řasy spolu se sinicemi, houbami a heterotrofními bakteriemi vytváří heterogenní společenstva, takzvané půdní krusty. (*U. Karsten, A. Holzinger 2012, Š. Chmelár 2014*) Tento typ agregace jim přináší mnohé výhody v podobě stabilnějšího vodního režimu, vzájemného stínění a tedy ochrany proti UV záření či koloběhu prvků a metabolitů. Vzájemný vztah všech členů těchto společenstev můžeme označit za synergismus. (*Malachová 2004*) Další ekologický význam půdních krust, potažmo tedy stresové odolnosti členů těchto společenstev patřících mezi streptofytní řasy, se zakládá na zpevnění nejsvrchnějších vrstev půd a tedy v omezení eroze. (*Wynn-Williams 1990*) Nezanedbatelným přínosem půdních krust coby raného sukcesního stádia, nebo s ohledem k lokálním podmínkám, jako stádia finálního, je fixace uhlíku - celosvětově 6% a dusíku - celosvětově 40%. Přesto, že jsou tato čísla významná, půdní krusty zůstávají dále velice málo prozkoumanými společenstvy. (*Elster, Kováčik 2008*)

Ekologicky významná je také schopnost tvořit odolná vegetativní stádia, která se mohou šířit větrem a umožňují šíření na nová stanoviště. (*Holzinger 2009, Pichrtová 2014*)

## 4.2 Evoluční: kolonizace souše, vznik evolučních novinek

Přechod rostlin na souš je bezpochyby jednou z nejdůležitějších událostí v evoluci života na zemi. V kontextu posledních studií, dle kterých jsou nejbližšími příbuznými vyšších rostlin právě streptofytní řasy (S. Wodniok 2011, Turmel et al. 2007), jeví se prozkoumání jejich ochranných mechanismů jako klíčové pro pochopení, způsobu jakým probíhala kolonizace souše rostlinami.

Jako krásný příklad toho, že výzkumy na tomto poli mohou přinést světlo do dějů probíhajících před 500-470 miliony let a přiblížit nám dosud tajemný způsob přechodu rostlin na souš, nám poslouží zajímavý objev, který učinila Linda E. Graham v roce 2012 při pokusu na *Coleochaete*. (Linda E. Graham, 2012)

Pokus spočíval v kultivaci dvou druhů *Coleochaete*, která je považována za obligátně vodní řasu, ve vlhkých aeroterestrických podmínkách na minerálním médiu a na křemičitém písku. Takto kultivované *Coleochaete orbicularis* a *scutata* vykazaly na obou podkladech morfologii naprosto odlišnou od své vodní formy. V aeroterestrických podmínkách tvořily mnohvrstevné shluky buněk, jakési hromádky. Které na svém povrchu nesly jednovrstevné mnohobuněčné laloky. Období primitivních "lísteků" s chemicky odolnými buněčnými stěnami. Celá tato struktura se nápadně podobá mikrofosilním záznamům záhadného předka z období paleozoika. Je tedy možné, že právě za těmito fosilními nálezy se skrývají streptofytní předchůdci dnešních suchozemských rostlin. Na obrázku 3. můžete vidět rozdíl v morfologiích *Coleochaete* kultivované v aquatických a terestrických podmínkách. (Linda E. Graham 2012)

Z uvedeného by mohlo vyplývat, že z evolučního hlediska byla významnější schopnost avoidance, neboli snaha uniknout vyschnutí, než tolerance k úplnému vyschnutí. Právě avoidance, jakožto složitější řešení stresu z dehydratace, přináší vznik nových komplexnějších struktur odlišných funkcí. Ty mohli dále podléhat evolučnímu tlaku a být tak zdrojem evolučních novinek a mohli dát postupně vzniknout úplně novým formám života.

## 5 Stresová odolnost jednotlivých skupin streptofytních řas

V této kapitole se budu věnovat jednotlivým skupinám streptofytních řas, které se vždy pokusím lehce charakterizovat. Následně uvedu mechanismy, které vyvinuli během evoluce v boji proti vysychání.

### 5.1 Chlorokybophyceae

#### Charakteristika Chlorokybophyceae

Zahrnují zatím jediný rod, *Chlorokybus*. Patří mezi jedny z morfologicky nejjednodušších streptofytních řas. Vyskytuje se ve vlhkých terestrických podmínkách a v půdě. Tato řasa je typická vytvářením malých sarcionoidních balíčků buněk, které jsou spojeny a obaleny slizovou pochvou. (Škaloud 2009) (Obr.4.) Rozmnožují se asexuálně pomocí pohyblivých zoospor. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

#### Mechanismy stresové odolnosti u Chlorokybophyceae

Právě tvorbu těchto balíčků a vytváření slizové pochvy můžeme považovat za způsob ochrany před vysycháním. (Rogers et al.,1980) Avšak žádné studie, které by se zabývaly odolností rodu *Chlorokybus* před vysycháním zatím nebyly vypracovány. Pro konkrétnější závěry tak chybí potřebná data.

## 5.2 Klebsormidiophyceae

### Charakteristika rodu Klebsormidiophyceae

*Klebsormidium* je celosvětově rozšířený rod s poměrně širokou ekologickou valencí. (D.Ryšánek a kol. 2015, Herburger 2015) Můžeme ho nalézt jak v řekách, potocích či rašeliništích, tak i na takových lokacích jako kůra stromů, skály, omítky nebo v půdách. Je pro něj typická vláknitá stélka tvořená buňkami s nástěnným chloroplastem a pyrenoidem. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

### Mechanismy stresové odolnosti u Klebsormidiophyceae

#### *Klebsormidium*

*Klebsormidium* je pravděpodobně díky své kosmopolitnosti (U.Karsten, A. Holzinger 2012) jednou z nejtestovanějších řas v oblasti odolnosti vůči vysychání. Byla na něm provedena celá řada experimentů, které dobře dokumentují jeho schopnost přizpůsobit se těm nejdřsnějším podmínkám.

Pro *Klebsormidia* je typická tvorba mnohvrstevnatých kobercovitých porostů. (Karsten, Holzinger 2012, Karsten et al. 2013) Takováto agregace umožňuje ochranu spodnějších vrstev před nadměrným odparem vody a slunečním zářením. Tomu, že je *Klebsormidium* na takovouto strategii dobře adaptováno nasvědčují i poměrně nízké nároky na intenzitu světla pro efektivní fotosyntézu.

Asi nejnápadnější reakcí na vysychání u *Klebsormidia* je scvrknutí buněk. A to výrazné, *K. crenulatum* se na příčné ose dokáže smrštít z téměř 9,5 $\mu$ m na 5,9 $\mu$ m, což je zhruba 60% původní šířky. (Obr.5) (Holzinger 2011) *K. dissectum* se smrští dokonce i podélně. Po jednodenním vysoušení při 5% vzdušné vlhkosti se *K. dissectum* smrštilo v podélné ose na 65% a v příčné na 46% hodnot naměřených u kontrolního vzorku. Schopnost takového smrštění je u *Klebsormidií* dána zvláštním složením buněčných stěn a přepážek. Ty neobsahují tolik celulózy a glykosidických vazeb jako tomu je u jiných embryofyt. Naopak obsahují větší množství kalózy, což vysvětluje jejich obrovskou pružnost. (Holzinger 2013)



Že jde v případě obsahu kalózy o jednoznačnou adaptaci na vysoušení ukazují nejnovější studie. Ty porovnávaly změnu množství kalózy v buněčných stěnách u *Zygnemy* a *Klebsormidia* během vysoušecího experimentu. Ukázalo se, že *Klebsormidium* je schopné reagovat na vysoušení okamžitou syntézou kalózy. Zatímco u *Zygnemy* nic takového pozorováno nebylo. *K. crenulatum* vykázalo po 210 minutách více jak 200% přírůstek množství kalózy. (Obr.6.) (Herburger, Holzinger 2015)

Smrštění buňky v takovém rozsahu by ale nebylo možné, pokud by zůstal zachovaný cytoskelet. Jeho rozpad byl také pozorován. (Obr.7.) (Holzinger et al. 2011) Nerozpadá se jen cytoskelet, rozpadají se i celá vlákna na jednotlivé buňky. Výhoda rozpadu na jednotlivé buňky je nejspíš ve snadnějším zapojení jednotlivých buněk do půdní krusty, která může poskytnout vhodný úkryt před prouděním vzduchu či osvitem. (Karsten 2012)

Jakkoliv je takováto flexibilita úctyhodná a umožní *Klebsormidium* přežít náhlou ztrátu vody, pro přežití sezónních období nedostatku by to nestačilo. Přesto dokáže *Klebsormidium* vydržet celé týdny a měsíce. Vyvinulo totiž celou řadu fyziologických adaptací.

Mezi takové adaptace jistě patří vysoký osmotický potenciál cytosolu. Ten je v porovnání s ostatními zelenými řasami nezvykle vysoký. K plazmolýze u *K. crenulatum* došlo až při koncentraci roztoku sorbitolu 800mM. A u *K. nittens* při koncentraci 600mM. K tak silnému osmotickému potenciálu přispívá i, při vysychání zvýšená, produkce nízkomolekulárních sacharidů a oligosacharidů jako jsou seróza, glukóza, fruktóza, xylóza, galaktóza, manóza, inositol, glycerol, mannitol a sorbitol. Tak silný osmotický potenciál však nemůže být dán pouze obsahem těchto cukrů, neboť těch je po vysoušení pouhých 1,2% sušiny. Co je

příčinou takto silného osmotického potenciálu by mělo být předmětem dalších studií. (Kaplan 2012)

Vysoký osmotický potenciál má také *K. rivulare*, které po 4 týdnech vysoušení vykazuje až 350% nárůst osmolitů. Po této době došlo také k tvorbě tzv. akinet. Buněk, které mají až čtyřnásobně ztlustlé buněčné stěny, vysoký obsah škrobových zrn a zásobu lipidů. Akinety mají redukováné vakuoly a menší množství chlorofylu. Jsou schopné přečkat dlouhá nepříznivá období, po jejichž uplynutí z nich opět vyrostou vláknité stélky. (M. Morison 1985, Nagao 2008)

### *Interfilum*

Další pokusy byly provedeny na *Interfilu*, které je dalším ze zástupců Klebsormidiophyceae. Všechny testované kmeny vykázaly postupný pokles měřeného kvantového výtěžku fotosyntézy s následnou inhibicí. Lišily se však v časech nástupu těchto jevů. Velký rozdíl byl mezi kmeny vyskytujícími se v podobě solitérních buněk a kmeny tvořícími agregované shluky. U samostatně se vyskytujících buněk došlo k inhibici poměrně záhy. Zatímco shluky buněk odolávaly déle. To ukazuje, že agregace buněk je efektivní obranou proti vysychání. (Karsten. 2014)

### *Hormidiella* , *Entransia*

Další méně běžní zástupci klebsormidiophyceae. Těmto rodům dosud příliš velká pozornost věnována nebyla. Je to nejspíše tím, že se nevyskytují tak často jako dva předešlé. Přesto i tyto řasy byly podrobeny výzkumu efektivity fotosyntézy při různých stresových zátěžích. Oba rody jsou dobře přizpůsobeny podmínkám, ve kterých se vyskytují.

*Entransia* je řasa vyskytující se v šeru limnetických zón. Z toho také pramení větší efektivita využití světla a naopak méně pružná reakce na přebytek světla.

Rekonvalescence *Entransie* po vysušení a následné re-hydrataci byla sice horší, než u sesterské *Hormidielly*, ale lepší, než u jiných sladkovodních řas.

*Hormidiella* je řasa vyskytující se v půdách vysychajících stanovišť. Jako taková je tedy citlivější na změny osvitů a teploty a reaguje na ně pružněji, tj. podobně jako ostatní aeroterestrické řasy. V porovnání s *Entransií* ji vysušení ovlivnilo méně. Po re-hydrataci vykazovala fotosyntéza stejné hodnoty jako před vysušením. (*Herburger 2015*)

## 5.3 Charophyceae

### Charakteristika rodu Charophyceae

Zástupci řadící se do řádu charophyceae, česky *Parožnatky* žijí většinou v čistých stojatých a především sladkovodních vodách. Jejich stélka patří k těm nejsložitějším ze streptopfytních řas, je pletivná a dělená na články a uzliny. K podkladu je přichycená tzv. rhyzoidy. Růst zajišťuje jedna vrcholová buňka tzv. terminála, která odděluje vždy jednu článkovou buňku a buňku uzliny. Článeková buňka roste pouze do délky a bývá dlouhá i několik cm. Buňka uzliny se dále dělí a vytváří tak boční větve v přeslenu.

Buněčná stěna je často inkrustována vápníkem. Charophyceae se rozmnožují pohlavně i nepohlavně. Pohlavní rozmnožování je oogamní. Nepohlavní rozmnožování je umožněno fragmentací stélky, odnožováním či přítomností speciálních tělísek, která se nacházejí mezi rhyzoidy. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

### Mechanismy stresové odolnosti u Charophyceae

Jediné odolné stádium v životním cyklu *Parožnatek* je oospora. Ta je často inkrustována uhličitánem vápenatým. Takto inkrustované schránky jsou velice estetické a jsou nazývány gyrogonity. (Obr.8.) Jsou uzpůsobeny k tomu, aby přežily anoxické prostředí na dně jezera, vysušení i pozření ptákem, jehož trusem jsou následně šířeny. Oospory jsou schopné přežít v sedimentu několik let a v příznivých podmínkách opět vyklíčit.

## 5.4 Coleochaetophyceae

### Charakteristika rodu Coleochaetophyceae

*Coleochaete* je vláknitá řasa jejíž stélka je tvořena heterotrichálními vlákny, která se sdružují v disk. Rozmnožují se pohlavně i nepohlavně. K nepohlavnímu rozmnožování dochází fragmentací stélky, nebo zoosporami. Pohlavní rozmnožování je oogamie. Při pohlavním rozmnožování vzniká zygospora, která je tvořena zygotou obklopenou sterilními vlákny. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

### Mechanismy stresové odolnosti u Coleochaetophyceae

Z těchto vláken vznikne časem korovitá vrstva zajišťující ochranu před vnějším stresem. *Coleochaete* tvoří tzv. algaenan, sporopoleninu podobnou látku, která chrání zygosporu před UV zářením a vyschnutím. (*Delwiche et al. 1989*)

*Coleochaete* vystavená aeroterestrickým podmínkám, v laboratoři například na agarovém médiu, nebo křemičitém písku, vykazuje morfologii naprosto odlišnou od stélky, kterou tvoří ve vodě. Místo diskovité stélky tvořené jednou vrstvou buněk, vzniklou stočením bohatě větvených vláken, vytvoří mnohvrstevnaté shluky buněk. Tyto hromádky mají na svém povrchu laloky tvořené jednou vrstvou buněk připomínající primitivní lístečky. (*Obr.9.*) Buňky této aeroteresticé formy mají ztlustlé, chemicky odolné buněčné stěny. (*L.Graham 2012*)

## 5.5 Zygnematophyceae

### Charakteristika rodu Zygnematophyceae

Třída Zygnematophyceae je čistě sladkovodní skupina kokálních a vláknitých řas. Dělíme je na Zygnematales a Desmidiales, jejichž zástupce nalezneme spíše ve vodách s nižším pH.

Zygnematales tvoří většinou nevětvenou vláknitou stélku, jejíž fragmentace slouží k nepohlavnímu rozmnožování. Buňky ve vláknu jsou odděleny septem, jehož středový otvor je zakryt fragmoplastem. Pohlavní rozmnožování se nazývá konjugace. Ke konjugaci může dojít mezi dvěma buňkami různých vláken (tzv. skalariformní konjugace), nebo mezi sousedními buňkami téhož vlákna (konjugace laterální). Při konjugaci vystupují jako gamety protoplasty sterilních buněk, které se amébovitě pohybují ve vymezeném prostoru. Po jejich splynutí dochází ke karyogamii, tím vznikne odolná zygospora obalená tlustou buněčnou stěnou. Po přečkání nepříznivých podmínek dochází v zygospoře k meiotickému dělení a vyklíčení.

Desmidiales jsou jednobuněčné řasy, žijící samostatně či v koloniích. Jejich buňky jsou uprostřed rozděleny zářezem na dvě tzv. semicely. Nepohlavní rozmnožování probíhá rozestoupením semicel, v prostoru vzniklém mezi nimi dojde k rozdělení jádra. Dceřiná jádra se oddělí septem a nově vzniklé buňky si následně dotvoří druhou semicelu. Pohlavní rozmnožování je opět konjugace. Dvě buňky se k sobě přiblíží, obklopí se slizovým obalem. Následně se poloviny buněk rozestoupí a dojde ke splynutí protoplastů. Vzniklá zygota se opět obalí a vzniká odolná zygospora. (<http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>)

## Mechanismy stresové odolnosti u Zygnematophyceae

### Zygnematales

Podobně jako někteří zástupci Klebsormidiophyceae tak i mezi Zygnematophyceae jsou řasy, které vytváří mnohvrstevné kobercovité nárosty, kde svrchní vrstvy stíní vrstvy spodní a vytváří jim tak přívětivější podmínky k životu. O tom, že je takové řešení účinné svědčí měření na *Spyrogiře*, které provedli Berri a Lembi. Při svém experimentu měřili úroveň záření dopadajícího na svrchní stínící vrstvu a poté úroveň záření pod touto vrstvou. Úroveň záření v zastíněné oblasti byla 30x nižší. Když byl poté měřen výkon fotosyntézy, byl naměřen vyšší v zastíněné oblasti. Z toho plyne, že tato nízká úroveň záření je pro průběh fotosyntézy optimální. (Berri a Lembi 2000) *Zygnema* je taktéž adaptována na nízkou úroveň záření a i ona vytváří kobercovité porosty. (Herburger et al. 2015) *Zygonium ericetorum* dokonce vytváří speciální typ buněk bohatších na pigment, které se vyskytují ve svrchních vrstvách a lépe tak absorbují sluneční záření, čímž chrání nejen sebe, ale také účinněji stíní spodní vrstvy. (A. Holzinger et al. 2010)

Výše zmiňovaná strategie bývá označována jako tzv. self-protection. Další způsob jak se bránit uschnutí, který můžeme pozorovat u Zygnematophyceae je přečkání nepříznivých podmínek v podobě nějakého odolného vytrvalého stádia. Často je to nějakým způsobem specializovaná buňka. U Zygnematophyceae jich je hned několik. První z nich je zygospora, která vzniká pohlavním rozmnožováním. Buněčná stěna zygospory má tři vrstvy, přičemž pro stresovou odolnost je klíčová prostřední vrstva obsahující algaenan, což je sporopoleninu podobná látka zajišťující odolnost proti vyschnutí a UV záření. (L. Graham 2012)

Další specializované buňky, které však nevznikají sexuálním rozmnožováním, ale z vegetativních buněk jsou pre-akinety. (Obr.11) Charakteristické jsou sekundárně ztlustlou buněčnou stěnou, zvýšeným množstvím škrobových zrn a lipidů, redukováným chloroplastem. (McLean 1971, Holzinger et al. 2011, Herburger et al. 2015)

Vznik pre-akinet není indukován ani tak nedostatkem vody jako spíše nedostatkem dusíku. S rostoucím stářím populace přibývá i pre-akinet, což může být dáno i postupným vyčerpáváním zdrojů. Pokud jsou pre-akinety při své genezy vystaveny

mírnému vysychání, jsou schopny se na takovou zátěž adaptovat. Takzvaně se otuží. Otužilé pre-akinety jsou pak schopny snést intenzivní vysoušení při 10% relativní vzdušné vlhkosti.

Pre-akinety jsou pro přežití *Zygnemy* v drsných podmínkách klíčové, neboť zygospory v těžkých podmínkách vznikají jen zřídka. Výhodou pre-akinet je, že nejde o spící stádia, takže mohou v případě návratu příznivých podmínek nastartovat své fyziologické funkce a dát vzniknout novým vláknům. Po rozpadu vláken mohou být také roznášeny větrem, či ptáky, což napomáhá šíření. (Pichrtová 2014)

## Desmidiáles

O schopnosti desmidiáles čelit vysychání toho dosud příliš napsáno nebylo. I přesto jsou některé takové případy evidovány. Konkrétně *Staurastrum habeebense*, jehož vegetativní stádia mají ztlustlé buněčné stěny, příznivý poměr mezi plochou buňky a jejím oběmem a produkují sliz. (Obr.10) Tak dokáží přežít bez vody i několik měsíců. (J. Šťastný 2008)



## 6 Shrnutí

U streptofytních řas bylo pozorováno velké množství adaptací a mechanismů, které řasám umožňují vyrovnat se s mnohdy drsným prostředím v místě jejich výskytu. Veškeré pozorované mechanismy stresové odolnosti bych rozdělil do tří základních skupin.

V první skupině je prevence, snaha organismu vyhnout se ztrátě vody. Tak činí například agregací buněk a tvorbou slizového sekretu. Nebo vzájemným stíněním, ať už jde jen o shluk jednobuněčných řas nebo tvorbu kobercových nárostů řas vláknitých, kde vrchní vrstva stíní vrstvy spodní. Často pozorované sekundární ztlustnutí buněčné stěny je také preventivním mechanismem ochrany proti vyschnutí. Zapojení buněk do půdní krusty, či rozpad vlákna na jednotlivé buňky usnadní ukrytí do stínu. Do mechanismů preventivních bych zahrnul i tvorbu odolných stádií, jako jsou zygospory, oospory, akinety, či pre-akinety.

Druhá skupina mechanismů se dá nazvat adaptace na vysychání. Mezi tyto mechanismy patří třeba schopnost *Klebsormidia* velice rychle zareagovat na ztrátu vody produkcí kalózy, která zajistí pružnost buněčných stěn a umožní tak buňce smrštění potažmo zachování vnitřních struktur nepoškozených. Patří sem také produkce osmoticky aktivních látek, které zvýší osmotický potenciál vnitřního prostředí buňky a tím v něm udrží větší množství vody, která zabrání denaturaci biomolekul a membrán. Schopnost regulovat úroveň fotosyntézy zcela jistě přispívá udržení stabilního vodního režimu buňky a brání poškození buněčného aparátu kyslíkovými radikály.

Posledním mechanismem jsou opravy a následná rekonvalescence. Množství nutných oprav závisí na tvrdosti podmínek, kterým byla řasa vystavena, a na účinnosti obranných mechanismů vyjmenovaných výše. Čím lépe je řasa adaptována, ať už svou evoluční historií, či jen tím, že se otužila během mírnějšího stresu, tím rychleji se zotavuje. Jinak strukturovaný přehled příčin vysychání a možných odpovědí na ně nám poskytne (*Obr.12*) z jednoho staršího review.

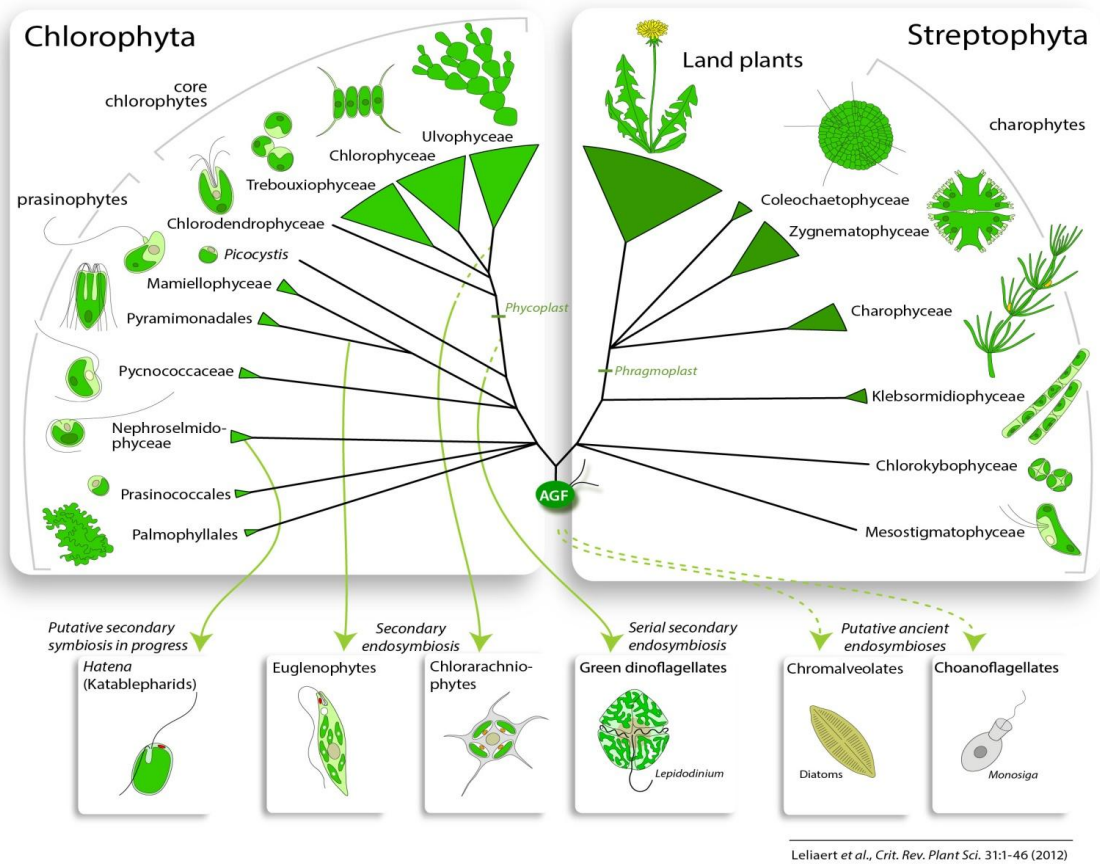
## 7 Seznam použité literatury

1. S.Wodniok, H.Brinkmann, G.Glockner, A.J.Heidel, H.Philippe, M.Melkonian a B.Becker (2011) Origin of land plants: Do conjugating algae hold the key? *BMC Evolutionary Biology*
2. L.E.Graham, P.Arancibia-Avila, W.A.Taylor, P.K.Strother a M.E.Cook (2012) Aeroterrestrial *Coleochaete* (Streptophyta, Coleochaetales) Models early plant adaptation to land, *American Journal of Botany* 99(1):130-144
3. Š.Chmelár (2011) Mikrobiální půdní aktivity v půdách spontánně vznikajících na obnažené hornině, Diplomová práce
4. David D. Wynn-Williams (1990) Microbial colonization processes in antarctic fellfield soils-an experimental overview, *Proc. NIPR Symp. Polar Biology*, 3, 164-178
5. K.Malachová (2005) Ekologie mikroorganismů. Ostrava: Ostravská univerzita, 86 s.
6. J.Elster, P.Degma, L.Kováčik, L.Valentová, K.Šrámková a A.B.Pereira (2008) Freezing and desiccation resistance in the filamentous green alga *Klebsormidium* from the Antarctic, Arctic and Slovakia, *Biologia* 63/6:843-851
7. U.Karsten, A.Holzinger (2012) Light, temperature, and desiccation effects on photosynthetic activity, and drought-induced ultrastructural changes in The green alga *Klebsormidium dissectum* (Streptophyta) from a high alpine soil crust
8. A.Bertsch (1966) CO<sub>2</sub> Gaswechsel der Grünalge *Apatococcus lobatus*, *Planta* 70, 46-72
9. A.Holzinger (2009) Desiccation tolerance on green algae: Implications of Physiological adaptation and structural requirements
10. Jan de Vries et al. (2016) *Streptophyte Terrestrialization in Light of Plastid Evolution*
11. Rogers, C.E., Mattox, K. R., and Stewart, K. D. (1980) The zoospore of Chlorokybus atmophyticus, a charophyte with sarcinoid growth habit. *Am.J.Bot.* 67: 774–783
12. Ryšánek, D., Hřčková, K. and Škaloud, P. (2015), Global ubiquity and local endemism of free-living terrestrial protists: phylogeographic assessment of the streptophyte alga *Klebsormidium*. *Environ Microbiol*, 17: 689–698.
13. Mulo, P., Sakurai, I., and Aro, E. M. (2012). Strategies for psbA gene expression in cyanobacteria, green algae and higher plants: from transcription to PSII repair. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 247–257
14. Pichrtová (2014) Stress resistance of polar hydro-terrestrial algae *Zygnema* spp. (Zygnematophyceae, Streptophyta)
15. D. J. Roser, D.R. Melick, H.U. Ling and R.D. Seppelt (1992) Australian Polyol and sugar content of terrestrial plants from continental Antarctica. *Antarctic Sci* 4
16. F.Kaplan, L.Lewis, J.Wastian et al. (2011) Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta).
17. B.Fuller (2004) Cryoprotectants : The essential antifreezes to protect life in the frozen state

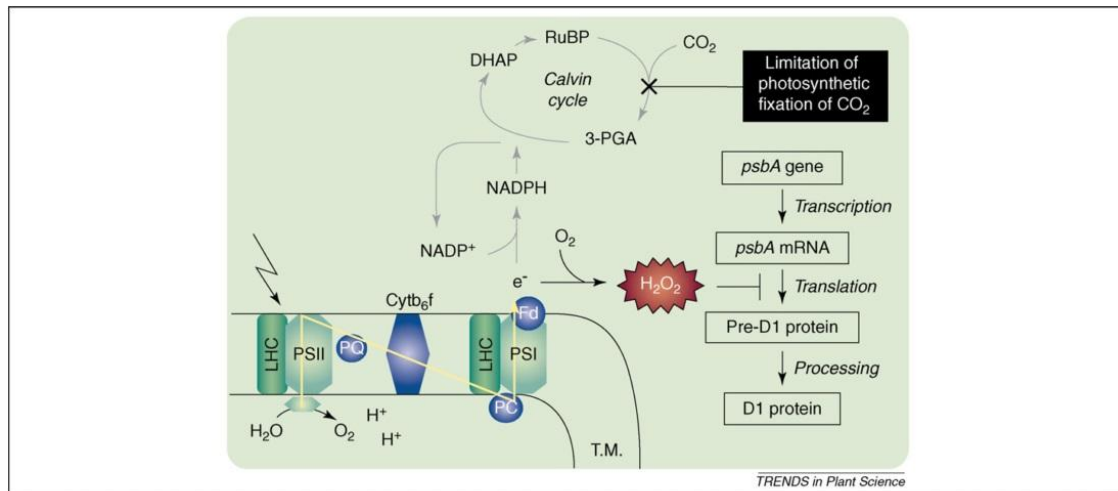
18. L.Rebecchi, T Altiero, L Guidetti (2007) Anhydrobiosis: the extreme limit of desiccation tolerance
19. F.Kaplan, L.Lewis, K.Herburger (2012) Osmotic stress in Arctic and Antarctic strains of the green alga *Zygnema* (Zygnematales, Streptophyta): Effects on photosynthesis and ultrastructure.
20. A.Holzinger, U.Karsten (2013) Desiccation stress and tolerance in green algae:consequences for ultrastructure, physiological and molecular mechanisms
21. Holzinger A., Lütz C., and Karsten U. (2011). Desiccation stress causes structural and ultra-structural alterations in the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium crenulatum* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) isolated from an alpine soil crust. *J. Phycol.* 47, 591–602.
22. Elster, Degma, Kováčik (2008), Freezing and desiccation injury resistance in the filamentous green alga *Klebsormidium* from the Antarctic, Arctic and Slovakia, *Biologia* 63/6: 843—851
23. S.Agrawal (2009) Factors affecting spore germination in algae - review. *Folia Microbiol.* 54 (4), 273–302
24. U.Karsten, C. Lütz. A. Holzinger (2010) Ecophysiological performance of the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium crenulatum* (Charophyceae, Streptophyta) isolated from an Alpine soil crust with an emphasis on desiccation stress
25. Ron Mittler (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science* , Volume 7 , Issue 9 , 405 – 410
26. K.Herburger, A. Holzinger (2015) Localization and Quantification of Callose in the Streptophyte Green Algae *Zygnema* and *Klebsormidium*: Correlation with Desiccation Tolerance
27. M. Nagao, K. Matsui a M. Uemura (2008), *Klebsormidium flaccidum*, a charophycean green alga, exhibits cold acclimation that is closely associated with compatible solute accumulation and ultrastructural changes. *Plant, Cell & Environment*, 31: 872–885.
28. U. Karsten, K. Herburger, A. Holzinger (2014) Dehydration, temperature, and light tolerance in members of the aeroterrestrial green algal genus *Interfilum* (Streptophyta) from biogeographically different temperate soils
29. K. Herburger, A. Holzinger, U. Karsten (2015) *Entransia* and *Hormidiella*, sister lineages of *Klebsormidium* (Streptophyta), respond differently to light, temperature, and desiccation stress
30. Delwiche, Graham, Thomson (1989) Lignin-like compounds and sporopollenin in *Coleochaete*, an algal model for land plant ancestry
31. Škaloud (2009) Species composition and diversity of aero-terrestrial algae and cyanobacteria of the Boreč Hill ventaroles, *Fottea* 9(1): 65–80
32. U. Karsten, F. Rindi (2010) Ecophysiological performance of an urban strain of the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium* sp. (Klebsormidiales, Klebsormidiophyceae)

33. Berri a Lembi (2000) Effects of temperature and irradiance on the seasonal variation of a *Spirogyra* (Chlorophyta) population in a Midwestern Lake (U.S.A.) *Journal of Phycology* 36(5):841 - 851
34. K. Herburger, L. Lewis, A. Holzinger (2015) Photosynthetic efficiency, desiccation tolerance and ultrastructure in two phylogenetically distinct strains of alpine *Zygnema* sp. (Zygnematophyceae, Streptophyta): Role of pre-akinete formation, *Protoplasma*
35. A. Holzinger, A. Tschnaikner, D. Remias (2010) Cytoarchitecture of the desiccation-tolerant green alga *Zygogonium ericetorum*. *Protoplasma* (2010) 243:15–24
36. Obecné charakteristiky ze stránek , <http://www.sinicearasy.cz/134/Charophyceae>

## 8 Obrazová příloha



Obr. 1 (Leliaert et al. 2012)



**Figure 1.** A hypothetical scheme for inhibition of the synthesis of the D1 protein upon limitation of the photosynthetic fixation of CO<sub>2</sub>. When the photosynthetic fixation of CO<sub>2</sub> is limited, electrons from PSI tend to be transferred to molecular oxygen. This results in the production of superoxide, which is converted to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by superoxide dismutase. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibits the repair of photodamaged PSII by inhibiting the synthesis of the precursor to the D1 protein (pre-D1) at the translation step. Abbreviations: cyt<sub>b</sub><sub>6</sub>f, cytochrome b<sub>6</sub>f complex; DHAP, dihydroxyacetone phosphate; e<sup>-</sup>, electron; LHC, light-harvesting complex; 3-PGA, glycerate-3-phosphate; PC, plastocyanin; PQ, plastoquinone; pre-D1 protein, precursor to D1 protein; RuBP, ribulose-1,5-bisphosphate; TM, thylakoid membrane.

Obr. 2 (S.Takahashi 2008)

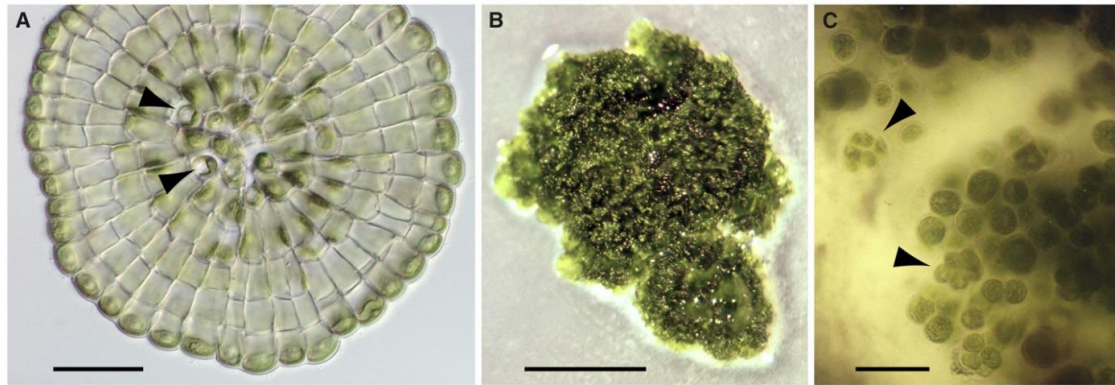


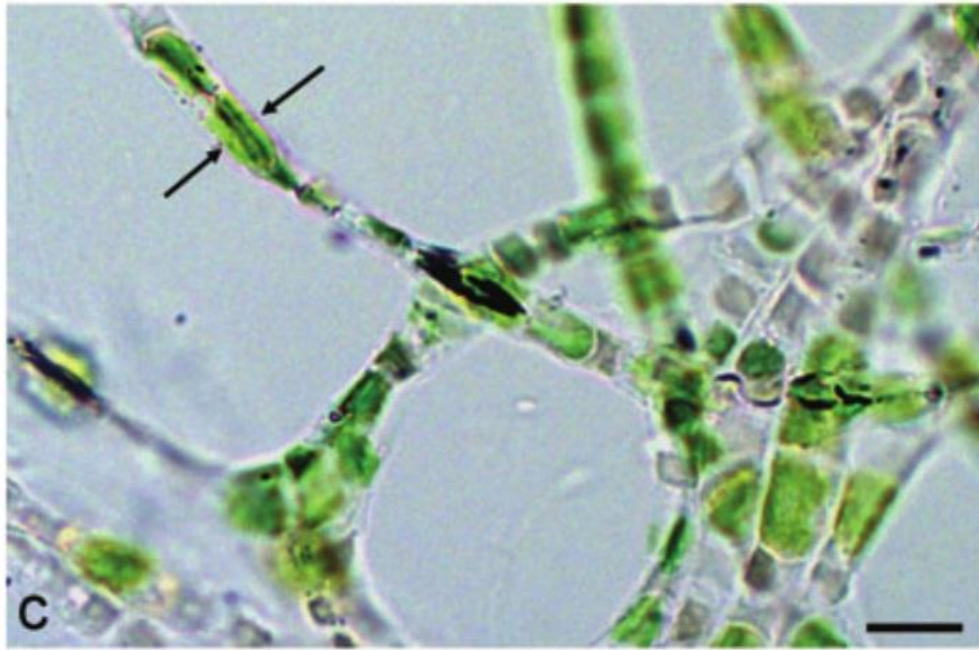
Fig. 1. Differing morphologies of *Coleochaete orbicularis* grown in aquatic vs. subaerial conditions. (A) Typical monostromatic, discoid body of *C. orbicularis* grown in the laboratory in aquatic media, viewed with differential interference contrast microscopy. Cells having C-shaped plastids (arrowheads) are hair cells, with hairs projecting upward from the plane of focus. Bar = 50  $\mu\text{m}$ . (B) Typical three-dimensional mounded body having "leafy lobes" of *C. orbicularis* grown on agar, in subaerial conditions, viewed with a stereomicroscope. Bar = 500  $\mu\text{m}$ . (C) Single cells or multicellular aggregates (arrowheads) produced by *C. orbicularis* grown on the surface of quartz sand under subaerial conditions, viewed with compound microscope. Bar = 40  $\mu\text{m}$ .

Obr. 3 (L.Graham 2012)



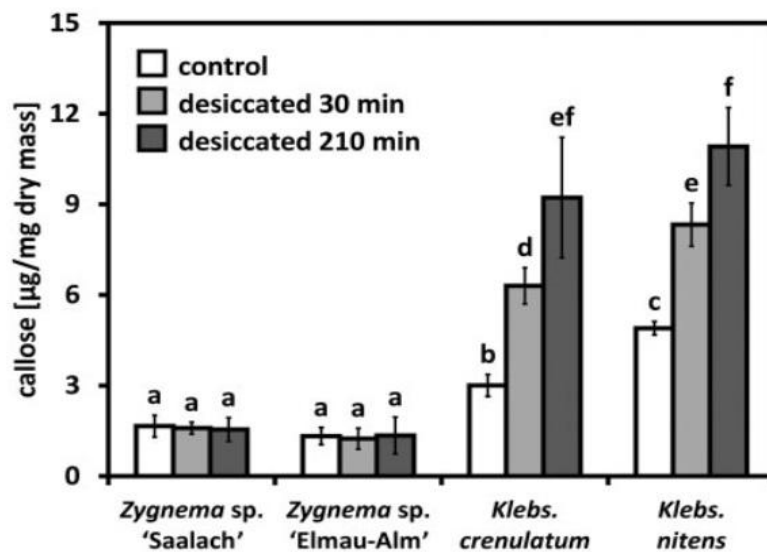
Obr. 4 *Chlorokybus atmophyticus* (foto Pavel Škaloud, <https://botany.natur.cuni.cz/skaloud/Charo/Chlatm.htm>)





**Obr. 5 (c)** One-day desiccated (5% relative air humidity [RH]) algal filaments observed in immersion oil in the light microscope; note the shrinkage of the cell diameter (arrows)

(Holzinger et al. 2011)



**Fig. 1** Comparison of the callose content in two *Zygnema* and *Klebsormidium* strains (control and desiccated for 30 and 210 min) determined by colorimetric quantification ( $n = 4 \pm SD$ ). Callose content is expressed in  $\mu\text{g}$  of pachyman equivalents per mg of algal dry mass. Significant differences between groups are indicated by lower case letters. Data were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test ( $P < 0.001$ ).

**Obr. 6** (Herburger 2015)

STRUCTURAL EFFECTS OF DESICCATION IN *KLEBSORMIDIUM*

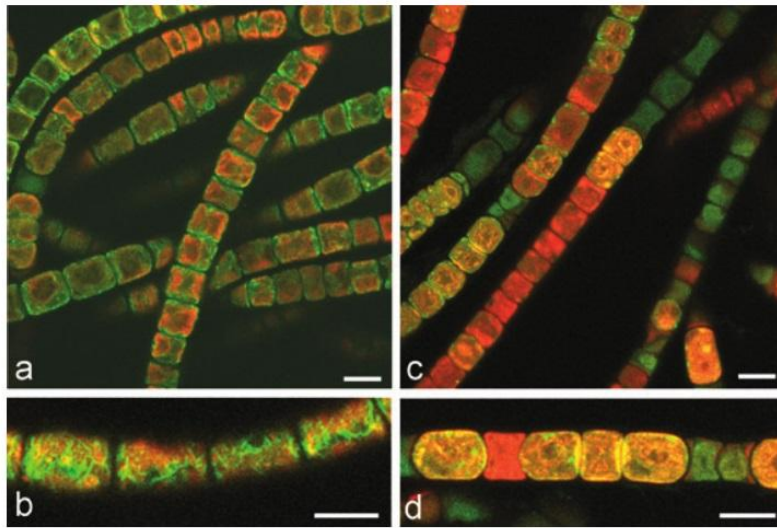


FIG. 2. Actin microfilament (MF) visualization in *Klebsormidium crenulatum* after Alexa Phalloidin staining. (a) MFs (green) in cells from liquid culture. (b) Fine network of cortical MFs in cells obtained from liquid culture. (c) Cells desiccated for 1 d (5% relative air humidity [RH]), no MF network remaining, instead dotlike batches of fluorescence. (d) Detail desiccated as (c) showing individual damaged cells. Scale bars, 10  $\mu\text{m}$ .

*Obr. 7 (Holzinger et al. 2011)*



*Obr. 8 Gyrogonity (https://www.niwa.co.nz/freshwater-and-estuaries)*



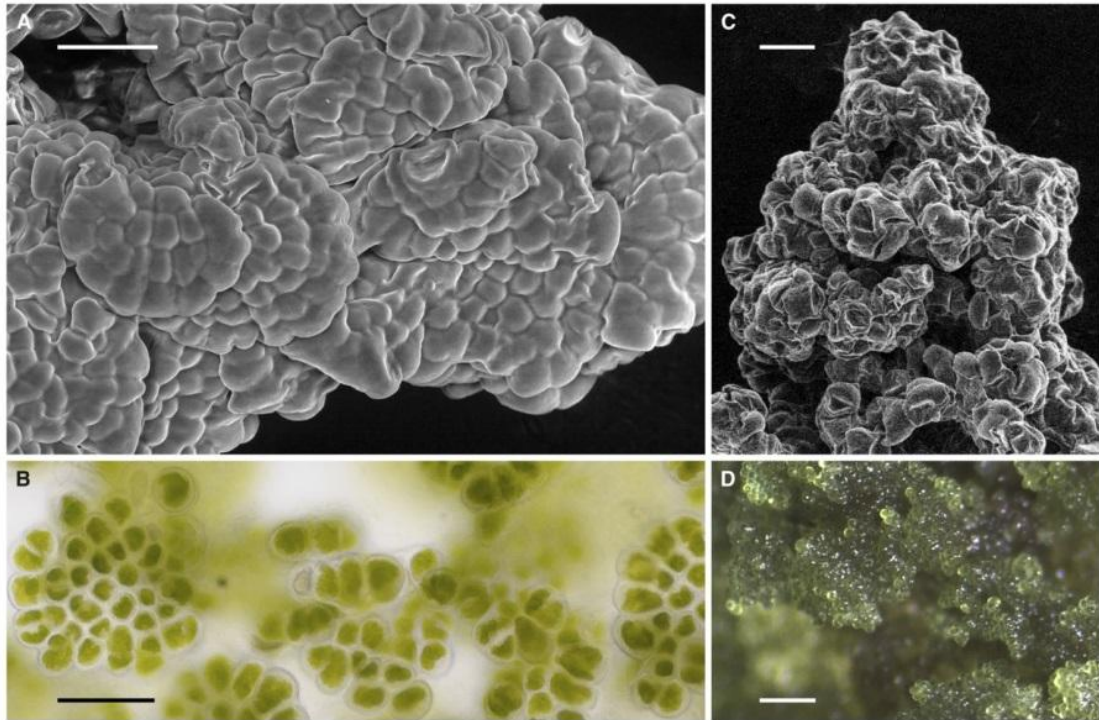


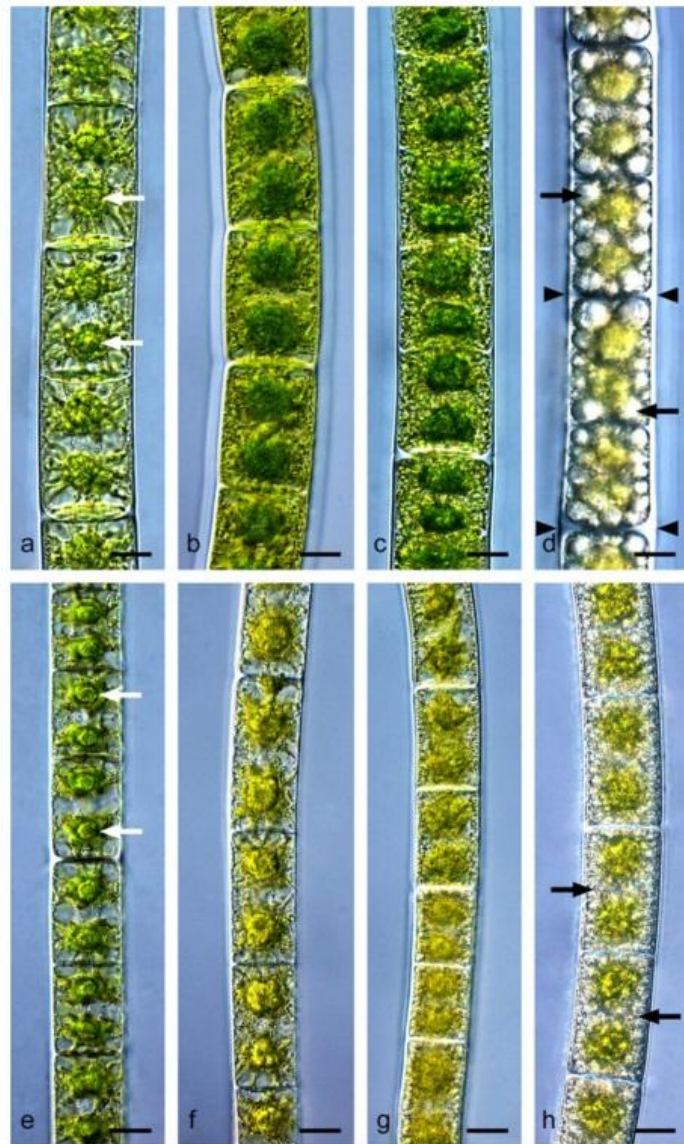
Fig. 2. SEM and LM comparisons of aeroterrestrial *Coleochaete orbicularis* occurring as "leafy lobes" or irregular clusters. (A) SEM showing multicellular "leafy lobes." Bar = 50 µm. (B) Light micrograph showing multicellular "leafy lobes." Bar = 50 µm. (C) SEM showing an irregular mound of cells. Bar = 50 µm. (D) Stereoscope view of a cellular mound. Bar = 200 µm.

Obr. 9 (*L.Graham 2012*)

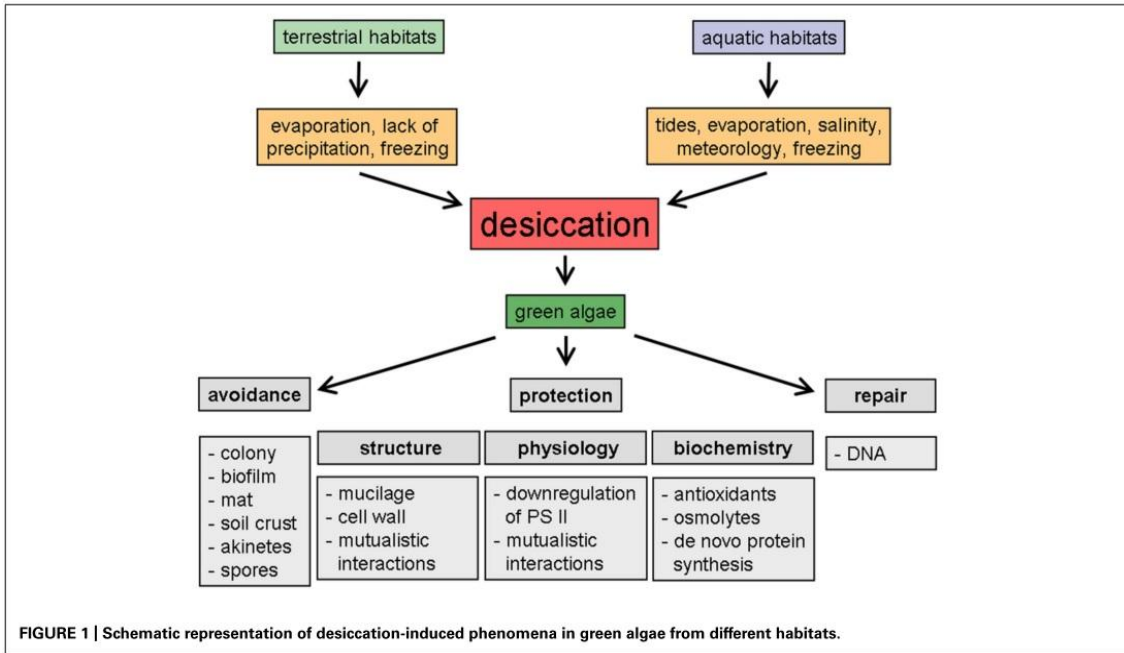


Obr. 10 *Staurastrum habeebense*  
([http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Chlorophyta/Staurastrum/Prostaurastrum/sp\\_20/sp\\_01b.html](http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Chlorophyta/Staurastrum/Prostaurastrum/sp_20/sp_01b.html))

**Fig. 2** Morphology of **a-d** *Zygnema* sp. 'Saalach' and **e-h** *Zygnema* sp. 'Elmau-Alm' from cultures of different age (**a, e** 1 month; **b, f** 6 months; **c, g** 9 months; **d, h** 15 months). **a** Young vegetative cells, pyrenoids are marked with *arrows*, (**b**) beginning pre-akinetete formation, **c** pre-akinetetes, **d** pre-akinetetes of old cultures, accumulation of starch grains and lipid bodies (*arrow*) and thickened cell walls (*arrowheads*), **e** young vegetative cells, pyrenoids marked with *arrows*, **f** older vegetative cells, **g** pre-akinetetes, **h** pre-akinetetes filled with storage compounds (*arrows*). Bars 10  $\mu$ m



Obr. 11(Herburger 2015)



Obr. 12 (Holzinger 2013)