

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Ekologická a evoluční biologie



Václav Cedrik Belza

Vysychání u zelených řas: mechanismy a získání tolerance

Desiccation in green algae: mechanisms and acquisition of tolerance

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Martina Pichrtová Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování:

Rád bych poděkoval své školitelce RNDr. Martině Pichrtové Ph.D., zejména za vstřícnost a ochotu s jakou moji práci vedla a také za užitečné a cenné rady které mi poskytla. Dále bych poděkoval aligátorky samici Otýlii za motivaci k dokončení práce v těžkých chvílích.

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,

Václav Cedrik Belza

Abstrakt:

Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o mechanismech, které udávají některým zeleným řasám schopnost tolerovat i silné vysychání. Poskytuje komplexní přehled od vymezení desikačního stresu a jeho účinku v řasových buňkách, přes mechanismy, které zelené řasy uplatňují v obraně, až po evoluční pozadí a také syntézu nových poznatků o akvizici odolnosti během života a faktorech, které ji podmiňují. V první části je vymezen desikační stres a procesy, kterými může poškozovat buňky řas. Jsou zde zahrnuty jak účinky morfologického, tak fyziologického i molekulárního rázu. V druhé kapitole jsou rozebrány jednotlivé mechanismy, které se v obraně před vysycháním uplatňují. Od mechanismů cílících na zábranu ztráty vody (produkce slizu, úprava propustnosti buněčné stěny), přes mechanismy, které zvyšují toleranci desikace (akumulace antioxidantů, stabilizace proteinů a fosfolipidů apod.) až po tvorbu rezistentních životních stádií. Třetí část je věnována evolučně-historickému pozadí, které stojí za vznikem odolnosti k vysychání jako takové a přehledu u jakých skupin zelených řas je dnes pozorovatelná. Poslední kapitola je syntézou moderních poznatků o zisku odolnosti k vysychání během životního cyklu řasy a diskutuje jak možnost postupné aklimace, tak i roli jiných faktorů, například míry záření či vliv jiného stresu (například nedostatku dusíku).

Klíčová slova: desikace, zelené řasy, odolnost k vysychání, aklimace, antioxidanty

Abstract:

This thesis summarizes the current knowledge of the mechanisms that allow green algae to tolerate even severe desiccation. It provides a comprehensive overview, ranging from the definition of desiccation stress and its impacts on algal cells, through mechanisms that algae employ in defense, to the evolutionary background as well as a synthesis of recent research on the acquisition of desiccation tolerance and factors conditioning it. The first chapter defines the desiccation stress itself and breaks down the processes by which it can damage algal cells, including both morphological and physiological effects. The second chapter discusses diverse mechanisms involved in protection against desiccation. From mechanisms aimed at prevention of water loss (e.g. mucilage production or modification of cell wall permeability), through mechanisms that cause desiccation tolerance (e.g. accumulation of antioxidants, stabilization of proteins and phospholipids etc.), to the formation of resilient life stages. The third chapter is devoted to the evolutionary-historical background behind the emergence of desiccation tolerance per se and overview in which green algal groups it is observable today. The last section is a synthesis of modern knowledge regarding acquisition of desiccation tolerance during algal life and discusses both the possibility of gradual acclimation and the role of other factors, such as light exposure or the effect of other stresses (e.g. nitrogen deficiency).

Keywords: desiccation, green algae, desiccation tolerance, acclimation, antioxidants

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Desikační stres	2
2.1. Vymezení desikace a překryv s jinými stresy	2
2.2. Vliv desikace na buňky	3
2.2.1. Vliv vysychání na membrány a vnitřní prostředí buňky.....	3
2.2.2. Fotoinhibice v důsledku vysychání.....	4
2.2.3. Reaktivní formy kyslíku	4
2.3. Rehydratační stres	6
3. Mechanismy obrany proti vysychání	7
3.1. Vyhnutí se vyschnutí	7
3.1.1. Seskupování do větších komplexů.....	7
3.1.2. Morfologická přizpůsobení.....	8
3.1.3. Úprava tonicity.....	9
3.2. Tolerance vyschnutí	11
3.2.1. Morfologické adaptace.....	11
3.2.1.1. Flexibilizace buněčné stěny	11
3.2.1.2. Změna ve vakuomu.....	12
3.2.1.3. Plastoglobuly.....	13
3.2.2. Antioxidační aktivita.....	13
3.2.2.1. Karotenoidy.....	14
3.2.2.2. Tokoferoly.....	15
3.2.2.3. Antioxidační enzymy	15
3.2.2.4. Další podpůrné neenzymatické antioxidanty	16
3.2.3. Ochrana makromolekul.....	17
3.2.3.1. Stabilizátory	17
3.2.3.2. Skelný stav	19
3.2.4. Regulace proteomu	20
3.3. Rezistentní stádia	21
4. Získ tolerance vysychání v evoluční historii a diverzita.....	23
5. Získání tolerance vysychání.....	26
5.1. Získání tolerance postupnou aklimací	26
5.2. Faktory ovlivňující získ tolerance.....	27

6. Závěr a shrnutí	29
Seznam použité literatury	30

1. Úvod

Řasy představují nesmírně diversifikovanou skupinu organismů. Jedná se o polyfylum, které pod sebou vymezuje eukaryotní fotosyntetické taxony napříč superskupinami. V historii se jim podařilo kolonizovat nejrůznější prostředí; od původního moře, přes sladké vody, až po oblasti terestrické. Kolonizace nových prostředí s sebou ovšem nesla také nové výzvy a podmínky se kterými se musely vyrovnat. Jelikož, jako každý jiný eukaryotický organismus, potřebuje i řasa ke svému fungování vodu, stal se právě její nedostatek jednou ze základních komplikací při dobývání nových nik. Dodnes tomuto stresovému faktoru musí čelit řasy z mořského litorálu, kde jsou vzhledem ke slapovým jevům nezdědka vystaveny suchu [1]. Podobně také řasy z periodicky vysychajících sladkých vod [2]. Ještě více je však tento stres limitující pro řasy z terestrických prostředí, ať už z povrchů vytvořených člověkem, jako jsou budovy či sochy [3], [4] nebo přirozených, jako je kůra stromů [5], skály či půda [2]. V takových prostředích se jasně nejúspěšnějšími, staly zelené řasy, které dnes tvoří naprostou většinu terestrických řas.

Přizpůsobení na nedostatek vody existuje mnoho a zahrnují jak změny strukturální, tak i fyziologické, a patrně musely v jisté míře fungovat již u předchůdců, kteří před několika sty miliony lety kolonizovali suchou zem [6]. Položili tak základ pro budoucí rozvoj terestrických fotosyntetických organismů a s tím i pro většinu moderních suchozemských ekosystémů.

Ač byly v mnoha ních terestrické zelené řasy nahrazeny vyššími rostlinami, zůstávají i dnes zásadními primárními producenty. Důležité jsou i z hospodářského hlediska. Právě metabolity související s jejich přežíváním v silně stresových podmínkách, nalézají využití v biotechnologiích, kosmetickém či farmaceutickém průmyslu [7], [8].

Nutno podotknout, že v době globálních změn klimatu, kdy některé oblasti planety budou pravděpodobně více a více zasaženy aridizací a desertifikací [9], je také výzkum mechanismů, které stojí za tolerancí vůči vysychání, bezesporu důležitý a mohl by přinést nové vhledy i pro produkci hospodářských plodin.

Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o mechanismech obrany proti vyschnutí u zelených řas a jejich zisku. Měla by poskytnout komplexní přehled problematiky, tedy jakým způsobem vysychání řasám škodí, jaké mechanismy se uplatňují v obraně, jaké je za tím evoluční pozadí a jakými faktory či mechanismy je zisk tolerance k vysychání podmíněn.

2. Desikační stres

2.1. Vymezení desikace a překryv s jinými stresy

Termín desikace označuje pro organismy stav silného vysušení. Jelikož je vysoušení v buňkách graduální proces, je jen obtížné stanovovat přesnou hranici, kdy se jedná o pouhou dehydrataci a kdy již o desikaci [10]. Přesto je však vhodné rozlišovat mezi jistou desikací částečnou a úplnou, jelikož odráží jiný fyziologický kontext. Zatímco při částečné desikaci buňky zachovávají energetický metabolismus i přes neideální podmínky, při úplné desikaci je tento metabolismus prakticky nedetekovatelný [11]. V takovém případě tedy již neprobíhá fotosyntéza a buňky pouze přečkávají sucho bez primární produkce [12]. Zejména pro účely vymezení, které organismy jsou schopny takové podmínky přežít, je v literatuře obvykle užívána arbitrární hranice pro úplnou desikaci. Tou je vyschnutí pod $0,1 \text{ g (H}_2\text{O)} \cdot \text{g}^{-1}$ (suché hmotnosti) [11], [13]. Tato hodnota také přibližně odpovídá vzduchu při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ a 50% relativní vlhkosti a odpovídá vodnímu potenciálu přibližně -100 MPa [14], [15].

S podmínkami, při kterých opravdu klesne podíl vody v buňkách na takto nízkou hladinu, se mohou řasy běžně setkat v různých prostředích, kde také mohou být vysušeny z odlišných příčin. Zatímco řasy v terestrickém prostředí se do takového stavu dostanou nejčastěji v důsledku nadměrného odparu, nedostatku srážek či zamrznutí, v prostředí vodním (například pobřeží moří) mohou být příčinou i slapové jevy nebo salinita [2], [16]. Charakter vysychání v mořském litorálu tak může být dost jiný než daleko na pevnině. Zejména dehydratace vlivem salinity se v určitých aspektech liší. Buňky jsou po celou dobu stále v kontaktu s vodou, jen jim osmotický potenciál prostředí neumožňuje její využití. To ovšem nevede běžně k tak silnému vysušení, jako v důsledku výparu [2], [17]. Dalším klíčovým rozdílem je, že při vysychání v důsledku odpařování se nemění poměr jednotlivých iontů (ač se jejich celková koncentrace zvyšuje), zatímco u solného stresu ano [2]. V ostatních ohledech jsou si však tyto dva stresy velmi podobné, a proto i funkční odpověď na ně bývá téměř shodná.

Překryv efektů jiných typů stresů s vysycháním také nesmí být opomenut. Jelikož dehydratace vede ke zintenzivnění účinku ostatních stresů, zejména světelného [18], je také velká část přizpůsobení řas na desikaci ve skutečnosti pouze adaptacemi na minimalizaci světelného poškození. Řasy, které jsou vystaveny pouze desikaci, ale nikoliv ozáření, se tak s tímto stresem vyrovnají lépe než ty, které jsou současně i ozařovány (přesto, že je použita míra osvětlení, která by za normálních podmínek nečinila problém) [19]. To potvrzuje fakt, že se jednotlivé stresy ve svých účincích překrývají a stejně tak i reakce řas na ně mohou být shodné.

2.2. Vliv desikace na buňky

Desikace představuje pro buňky závažný stres. Běžné fungování je narušeno několika způsoby, které jsou rozebrány v následujících podkapitolách. Mezi tyto komplikace patří:

- 1) Zhuštění cytoplazmy a s tím související snížení mobility molekul [20], [21], [22].
- 2) Narušení struktury membrán a konfigurace enzymů či jiných makromolekul [20].
- 3) Indukce tvorby silně reaktivních kyslíkových molekul, které mohou v buňce způsobit závažná poškození [13], [23], [24], [25].

V důsledku výše popsaných procesů je také inhibována a následně zcela omezena fotosyntéza [4], [12]. Pokud je však buňka nadále vystavena světelné excitační energii, dochází k fotoinhibici [26].

2.2.1. Vliv vysychání na membrány a vnitřní prostředí buňky

Ztráta vody v buňce vede mimo jiné ke snižování turgoru a případně i k celkovému zmenšování objemu [27]. Zelená řasa *Klebsormidium crenulatum* je schopna při desikaci zmenšit průměr svých buněk až na 60 % [28]. Lajos et al. [29] mezitím ukazují, že zelené řasy rodu *Zygnema* a *Klebsormidium* jsou schopné zmenšit při vysychání objem buněk až o 80 %. Takové zmenšování ovšem může vést k plazmolýze [30], a tedy i k narušení struktur jako jsou plazmodezmy či samotné membrány [27]. Rovněž může být zmenšující se membrána degradována, což je problém zejména při následné rehydrataci (viz kap. 2.3.) [27].

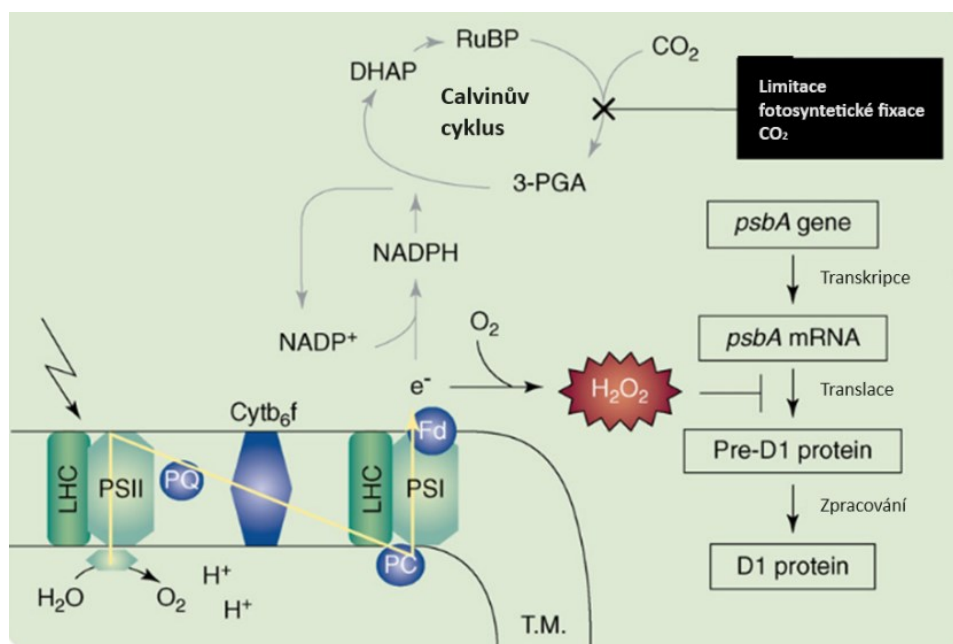
Zmenšování vnitřního prostoru buňky také nevyhnutelně vede ke zvyšování koncentrace metabolitů v cytoplazmě. Celkově se tak stává rigidnější a snižuje se molekulární mobilita a kinetika většiny procesů [31]. To může mít za specifických podmínek i pozitivní efekt, neboť se tak zpomaluje i denaturace proteinů [32]. Na druhou stranu ovšem nadměrná akumulace komponent cytoplazmy, vede k častějším kolizím, které mohou vyústit v degradaci proteinů či fúzi membrán [20] a ve výsledku ke ztrátě kompartmentalizace a k buněčné smrti. Konformace membrán je také alterována zvýšenou koncentrací elektrolytů a funkce organel jako je chloroplast tím může být narušena [33]. Metabolická poškození, například v důsledku Maillardovy reakce [13], či kvůli dehydrataci snižující se specifitě některých enzymů [34] k poškození buňky přispívají také.

Pokud obsah vody v buňce klesne až pod $0,3 \text{ g (H}_2\text{O)} \cdot \text{g}^{-1}$ (suché hmotnosti), viskozita cytoplazmy exponenciálně vzrůstá a později se dostane do takzvaného „skelného stavu“ (glassy state) [32]. V takovém stavu má cytoplazma termodynamické vlastnosti kapaliny, ale současně

jiné fyzikální vlastnosti pevné látky [32]. Zde jsou makromolekuly téměř imobilizovány a degradační procesy jako denaturace proteinů výrazně zpomaleny. Proto je správné vytvoření skelného stavu zcela zásadním pro dlouhodobé udržení vyschlých tkání.

2.2.2. Fotoinhibice v důsledku vysychání

K poškození proteinů fotosystému II dochází i za standardních podmínek zcela běžně. Buňky mají opravný systém, který spočívá v degradaci a následně opětovné syntéze proteinu D1 [35]. Fotoinhibice nastává, když je rovnováha tohoto systému narušena. Jak ukazují Takahashi a Murata [36], narušení fixace CO₂ vede k inhibici syntézy D1 proteinů, a tak i k fotoinhibici (Obr. 1). Samotné narušení fixace CO₂ může být způsobeno například právě vysycháním.

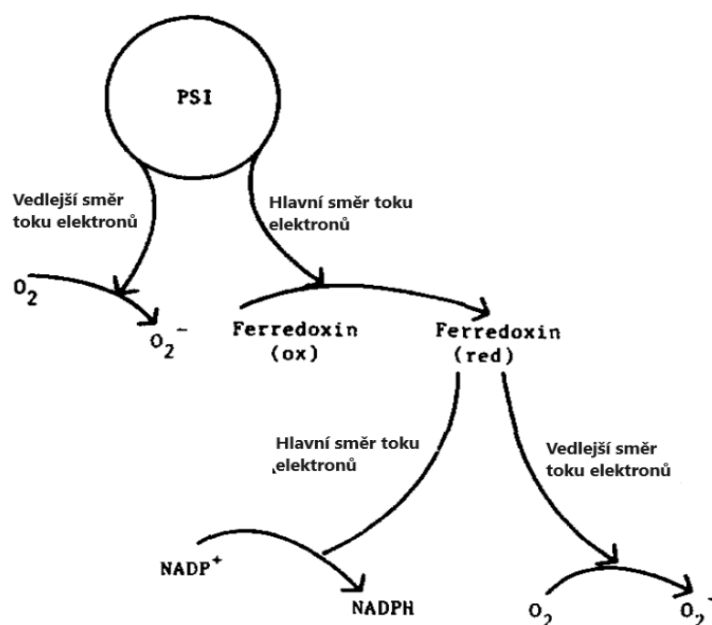


Obr. 1: Hypotetické schéma, znázorňující, jak limitace fixace CO₂ vede k inhibici syntézy proteinu D1. Upraveno podle [36].

2.2.3. Reaktivní formy kyslíku

Desikační stres vede k tvorbě silně reaktivních forem kyslíku [23], [24]. Tyto molekuly mohou vznikat ve dvou základních podobách; jako kyslíkové radikály a odvozené neradikály. V literatuře je pro tyto látky souhrnně používáno označení ROS (reactive oxygen species) [37]. Nejčastěji se v buňkách řas, v souvislosti s desikačním stresem, setkáme se singletovým kyslíkem, superoxidem, hydroxylovým radikálem a peroxidem vodíku [25]. Přesto, že jsou některé ROS používány jako signální molekuly, a hrají tedy důležitou roli v metabolismu řas, představují pro buněčné struktury kvůli své extrémní reaktivitě značné nebezpečí.

ROS vznikají v buňce nejčastěji v místech silného toku elektronů, tedy v mitochondriích, chloroplastech nebo peroxizomech [25], [38]. V chloroplastech může být při nedostatku vody snadno přeexcitován chlorofyl, který následně dává vzniknout singletovému kyslíku [39]. Stejně tak může k úniku elektronů a vzniku ROS dojít i kdekoliv v rámci elektronového transportního řetězce. Nejčastěji tak, že je místo standardního předání elektronu z fotosystému I na ferredoxin a následné redukce NADP^+ na NADPH , elektron využit na redukci kyslíku (Obr 2.). K tomu může dojít například pokud neprobíhá Calvinův cyklus dostatečně rychle a nestíhá se tedy obnovovat dostatečné množství NADP^+ (tedy například v důsledku desikačního stresu) [36]. Podobným způsobem mohou ROS vzniknout i v mitochondriích nebo peroxizomu, či v jiných metabolických drahách v plastidech, a to zejména při nedostatku vody [25], [38], [39].



Obr. 2: Schéma znázorňující možné směry toků elektronů z redukovaného fotosystému I.

Upraveno podle [39].

Nebezpečí pro buňky představují ROS z několika důvodů. Takto reaktivní molekuly narušují strukturu proteinů, například oxidací thiolové skupiny v aminokyselině cysteinu [2]. Poškozují nukleové kyseliny hydroxylací jejich bází, a mohou tedy působit i jako mutageny [39]. Inaktivují množství enzymů, důležitých například pro syntézu aminokyselin [24] nebo pro správné fungování Calvinova cyklu [40]. Někdy navíc za vzniku jiného typu ROS (například v důsledku Fentonovy reakce) [24]. Celkově tedy mají na fungování buňky negativní vliv a vedou často i k její smrti. Velká část přizpůsobení řas, potýkajících se s desikací, je právě proto na obranu proti ROS.

2.3. Rehydratační stres

Ačkoliv vysychání představuje pro řasy, jak popsáno výše, nepříznivou situaci, neznamená prvotní rehydratace konec stresu. Značná část poškození buňky se totiž projeví právě až při opětovné rehydrataci, a proto je také pro organismy tolerující vysychání zcela zásadní, aby se uměly vyrovnat i s touto částí desikačního stresu. Rehydratace je pro buňky problémová z několika důvodů.

Obnova fotosyntetické aktivity

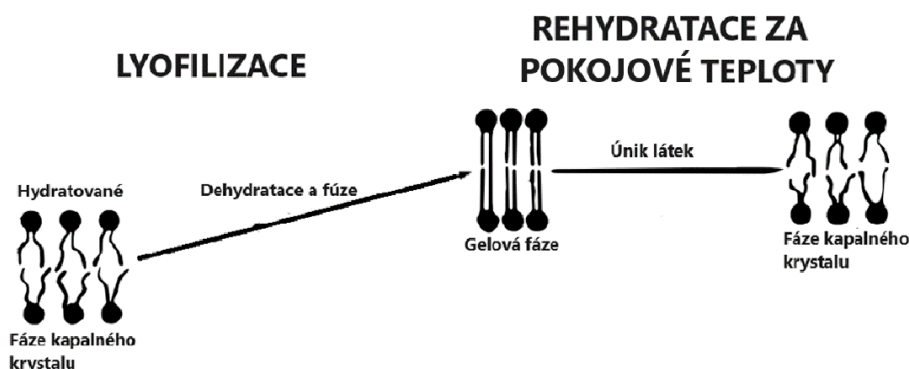
Během vysychání je fotosyntetická aktivita snižována, ať už z důvodu poškození fotosyntetického aparátu (viz kap. 2.2.) nebo přímé ochranné regulace buňkou (viz kap. 3.2.4.). Při rehydrataci je obnovena i fotosyntéza, avšak ne vždy je na to buňka připravena. Pokud například neprobíhá standardně Calvinův cyklus, dochází k produkci ROS a poškození [36].

Tlak vody

Při silném vysušení a následném vystavení hypotonickému prostředí, začne do buněk obvykle dle pravidel osmózy proudit velké množství vody. Její tlak však může vést k poškození membrán, které jej neunesou. Bez dostatečné permeability tak může tento proud vody způsobit rozsáhlá poškození [41].

Narušení propustnosti membrán

Membránové fosfolipidy jsou v běžném stavu hydratované. Pokud je vlivem desikace tato voda odebrána, zintenzivní se Van der Waalsovy interakce mezi sousedními lipidy. V návaznosti na to se také výrazně posune teplota pro přechod mezi jednotlivými fázemi. V suché podobě se tak fosfolipidy dostávají do gelové fáze [42]. Při následné rehydrataci dochází opět ke změně fází, během které je ale membrána propustná (Obr 3.) a může tak dojít k masivnímu úniku látek z buňky [20].



Obr. 3: Diagram ilustrující únik látek při přechodu mezi fázemi, způsobeném vysušením fosfolipidů. Upraveno podle [42].

3. Mechanismy obrany proti vysychání

Jelikož jsou škodlivé jevy, popsané v první kapitole, často letální, mají zelené řasy mnohá přizpůsobení, která jim umožňují tuto nepřízeň překonat. Tyto adaptace mohou nabývat různých podob. V první řadě se dají rozdělovat dle jejich strategie na mechanismy vedoucí k vyhnutí se vyschnutí a mechanismy vedoucí k toleranci vyschnutí. Řasy užívají zpravidla kombinaci obou těchto strategií a dokážou díky tomu přežít i v silně aridních oblastech, kde je koncentrace vody v prostředí řádově nižší, než by pro ně bylo ideální [43]. Na rozdíl od vyšších rostlin také řasy nedělají opravná pletiva, kterými by mohly nahradit struktury poškozené desikací a musí se tedy chránit jako celek.

3.1. Vyhnutí se vyschnutí

Jedním ze způsobů, jakým se mohou řasy vyhnout poškození způsobenému desikací, je vyhnout se ztrátě vody jako takové. Kromě aktivní hydrotaxe u bičíkovců (kteří jsou v rámci zelených řas hojně zastoupeni) k tomu slouží mechanismy, které zabraňují úniku vody z buněk. To může být zprostředkováno různými způsoby, které jsou rozepsány v následujících podkapitolách.

3.1.1. Seskupování do větších komplexů

Jednou ze základních metod, jak se vyhnout ztrátě vody, je seskupení do většího útvaru, který ztrácí vodu pomaleji. Mnoho zelených řas tak tvoří vrstevnaté biofilmy [4], [44], [45], agreguje do kolonií nebo se stává součástí půdních krust [46]. V takových uskupeních se buňky zastíňují a řasy v nižších vrstvách nejsou cílem tak intenzivního osvitů. Jelikož také celá vícevrstevná struktura vysychá pomaleji než pouhý jednovrstevný povrch, jsou tak alespoň některé řasy déle chráněny před vyschnutím [46]. Například zelená řasa *Zygonium ericetorum* tvoří povrchy, kde buňky ve svrchních vrstvách chrání buňky pod nimi před vysycháním a díky akumulaci fenolů také před UV [47]. Tvorba takovýchto povrchů je známá i u mnoha dalších řas, například *Klebsormidium* [45], *Spirogyra* [48] či *Ulva*, v případě které, horní vrstva často zcela vybledne a zůstává tak jen jako ochranná vrstva [49].

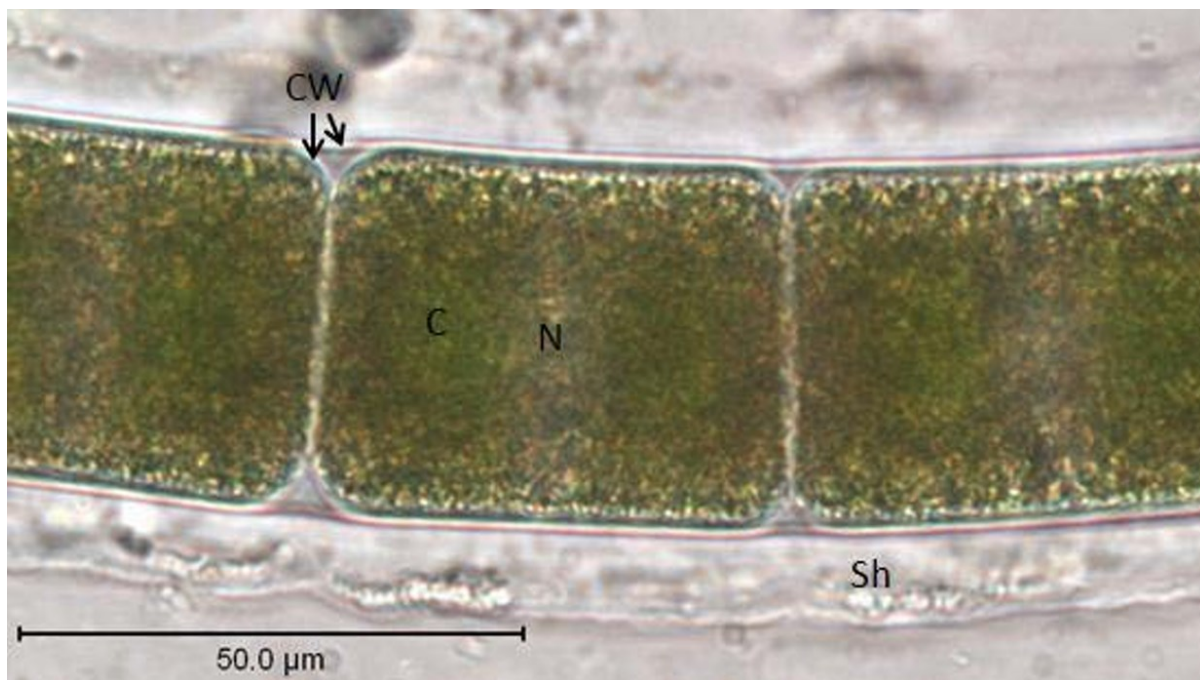
Specifickým prostředím, kde se k účinku vzájemného překrývání přidávají i další organismy, jsou půdní krusty. Zde sdílí řasy prostředí se sinicemi, houbami, lišejníky, mechy a dalšími organismy a „hromadná“ obrana proti vysychání tak umožňuje jejich přežití i v prostředích, kde je voda zcela zásadně limitující [50].

3.1.2. Morfologická přizpůsobení

Jednotlivé řasy se mohou před ztrátou vody chránit změnou složení své buněčné stěny nebo produkcí slizu, který je chrání. Pasivní vlastnost, která však také stojí za zmínku, je také typicky morfologicky jednoduchý tvar řas, které v prostředích s nedostatkem vody žijí. Běžně se jedná o jednoduchá vlákna či kulovité nebo oválné buňky. Poměr povrchu ku objemu je pro ztrátu vody velmi důležitý, a proto je nízká morfologická diverzita terestrických řas možná výsledkem konvergentní evoluce [3].

Další možností, jak zabránit úniku vody, je úprava buněčné stěny. Částečně může pomoci zesílení její tloušťky, která také koreluje s propustností vody [51], čehož také zelené řasy využívají [52], [53]. Morison a Sheath [52] ukazují, že tímto způsobem může buňka svou stěnu nechat ztloustnout i několikanásobně. Mnohem efektivnější je ale změna jejího složení tak, aby lépe zadržovala vodu, například zvýšením podílu homogalaktouronanu či jiných pektinových komponent [54], [55]. K omezení desikačního stresu ale v buněčné stěně přispívají i algenany. Nutno dodat, že řasy zvyklé na různou dynamiku cyklů vysychání/rehydratace mají také rozdílnou skladbu buněčných stěn [56].

Samotná buněčná stěna však nemusí poskytovat dostatečnou ochranu, a proto mnoho řas také tvoří vrstvu slizu, která je izoluje od desikačních účinků prostředí a zároveň slouží jako zásobárna vody [57]. Produkce extracelulárních polysacharidů a slizu byla pozorována u různých skupin řas, z vybraných rodů například *Desmotetra* [58], *Zygnema* [53], [59], *Interfilum* [60], *Netrium* [55], *Chlorokybus* [61] nebo *Gloeocystis* [57]. Sliz je chemicky tvořen zejména polysacharidy, například pektinem [55], ale nachází se zde i algenany a další látky [55], [62]. Fuller [53] ukazuje zmožnění slizové vrstvy na povrchu buněk v reakci na vysychání.



Obr. 4: Mikrofotografie, ukazující zesílenou buněčnou stěnu (CW) a vrstvu slizu (Sh) obklopující vlákno *Zygnema irregulare* po vysychání. Podle [53]

3.1.3. Úprava tonicity

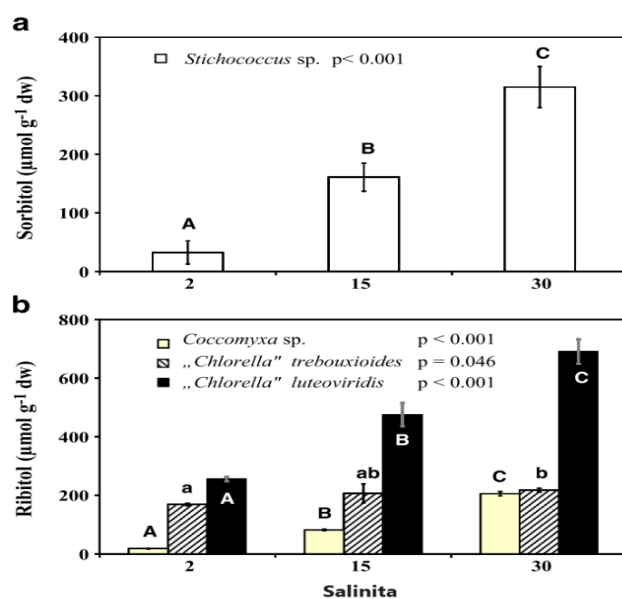
Při nedostatku vody nebo v hypertonickém prostředí, z buňky uniká voda dle běžných pravidel osmózy. Řasy však mohou v reakci na dehydrataci akumulovat osmoticky aktivní látky a tím dosáhnout změny tonicity a výsledně i zabránit ztrátě vody. Existuje široká škála látek, které zelené řasy akumulují a jejich chemická podstata se značně různí. Mezi nejčastější osmolyty, které se v této souvislosti v řasách akumulují, patří neredukující sacharidy (sacharóza, trehalóza či sacharidy rafinózové řady), aminokyseliny (například prolin) [63] a cukerné alkoholy neboli polyoly (ribitol, mannitol, sorbitol a další). Pokud tyto látky ani ve vyšších koncentracích neinterferují s enzymatickou činností buňky a mohou být bezpečně používány jako osmolyty, označují se za takzvané kompatibilní soluty. Z výše uvedených látek by zařazení do těchto solutů bylo problematické například pro sacharózu, která ve vyšších koncentracích ovlivňuje činnost některých enzymů, například isocitrátdehydrogenázy [12]. Naprostá většina těchto látek také není syntetizována jen za účelem jejich osmotického využití, obvykle hrají důležitou roli v ochraně makromolekul, při utváření stabilního vnitřního prostředí nebo při zbavování se reaktivních forem kyslíku (viz kap. 3.2.2.). Obecně se koncentrace těchto nízkomolekulárních látek při desikačním nebo solném stresu rapidně zvyšují [52].

Oligosacharidy jsou patrně nejčastějšími osmolyty, které buňky při vysychání akumulují. Existuje řada studií, které potvrzují jejich využití jako osmolytů během desikace [12], [64], [65]. Zejména významná je sacharóza [12]. Její zvýšené koncentrace po cyklu desikace-rehydratace toto jen potvrzují [66]. Neméně významné jsou však i jiné sacharidy, jako trehalóza [65] nebo oligosacharidy rafinózové řady [67].

Polyoly jsou rovněž významné a zejména pro řasy z oddělení Chlorophyta často zásadní ve stresové osmoregulaci. Gustavs et al. [68] ukazují, že jejich množství opravdu koreluje s mírou osmotického stresu (viz obr. 5) a patrně slouží k jeho překonání. Mezi konkrétní polyoly u kterých byla prokázána funkce organických osmolytů, patří například ribitol [44], [68], sorbitol [64], [69], glycerol [70], mannitol [71] dulcitol [72] či erythritol [44].

U zelených řas se poměry jednotlivých osmolytů často liší a mnoho taxonů například používá specifický osmolyt, který jeho sesterský taxon nevyužívá, díky čemuž může studium osmolytů nacházet využití i v chemotaxonomii. Cukerné alkoholy například nejsou obsaženy u charofyt [68], ovšem s výjimkou glycerolu [73]. To je zvláštní, jelikož u Embryophyta opět polyoly ve velkém k nalezení jsou [74]. Podobně u řas z třídy Trebouxiophyceae jsou využívány různé polyoly různými rody. Jak ukazují Gustavs et al. [44], zatímco například rod *Apatococcus* využívá ribitol i erythritol, tak rod *Chloroidium* jen ribitol a rod *Prasiola* sorbitol.

Celkově mají tedy řasy k dispozici mnoho látek, které lze využít pro snížení osmotického gradientu, a zpomalit tím ztrátu vody, což může být v suchých podmínkách pro přežití klíčové.



Obr. 5: Grafy znázorňující vzrůstající hladiny polyolů sorbitolu a ribitolu v závislosti na rostoucí salinitě. Podle [68].

3.2. Tolerance vyschnutí

I přes řadu mechanismů, které mají za cíl omezit ztrátu vody z buněk, je při desikaci prakticky nemožné vyhnout se jí zcela. V takovém případě je potřeba zabránit poškození, které by v důsledku dehydratace mohlo vznikat (viz kap. 2.). Právě to, zda se buňka dokáže vyrovnat s desikačním a rehydratačním stresem a zda je schopna dostatečně odstínit poškození z něj, vymezuje skupinu organismů, které označujeme za tolerantní vůči desikaci. Hranice míry dehydratace, pro kterou již organismus stanovujeme jako „tolerantní“, je nastavena na hodnotu $0,1 \text{ g (H}_2\text{O)} \cdot \text{g}^{-1}$ (suché hmotnosti) [11]. Kromě značného množství řas, je schopnost přežít takové vyschnutí známá i u lišejníků, mechů, cévnatých rostlin, ale i živočichů [11]. Pro přežití řasy je v tomto případě zásadní ochrana buněčné stěny, enzymů, antioxidační činnosti, ale také ochrana před světelným stresem, který je vysycháním umocněn. Strategie využití jednotlivých mechanismů, či obecně to, zda jsou využívány hlavně mechanismy s cílem vyhnout se vyschnutí nebo jeho tolerance, se v rámci jednotlivých linií řas podstatně liší. Některé spoléhají primárně jen na jednu z těchto strategií, jiné využívají kombinaci obojího.

3.2.1. Morfologické adaptace

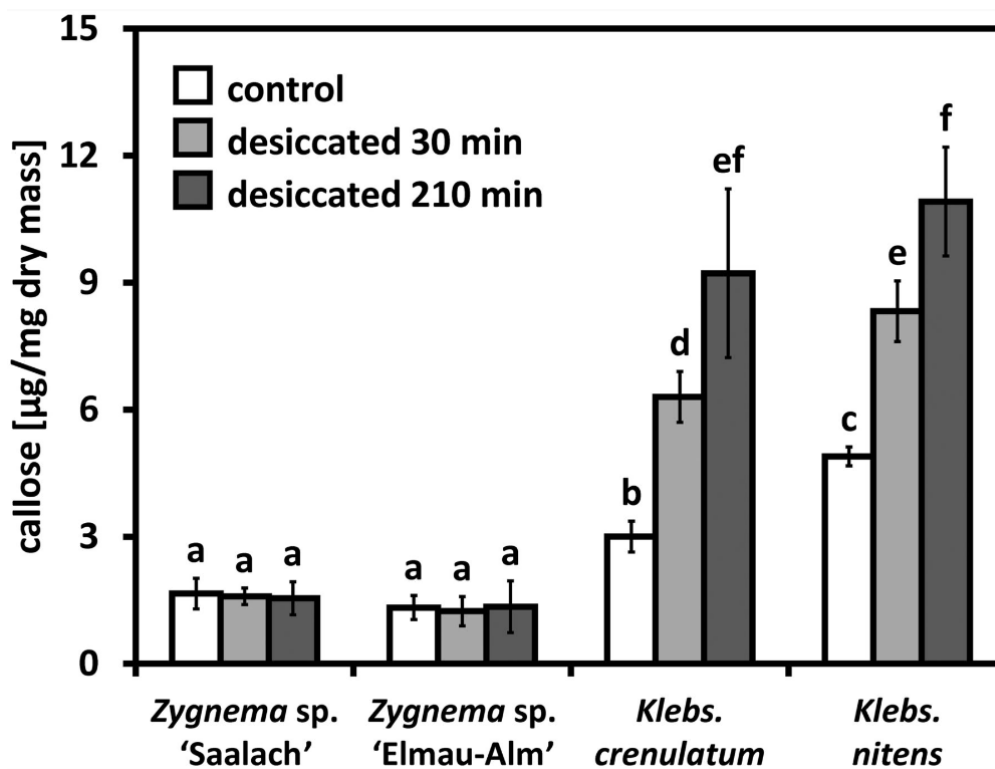
V první řadě řasy disponují adaptacemi, které souvisí s jejich morfologií. Mezi ně patří úprava složení buněčné stěny pro větší flexibilitu, změna morfologie chloroplastů, tvorba plastoglobulů či rozdělení vakuol.

3.2.1.1. Flexibilizace buněčné stěny

Vzhledem k tomu, že při vysychání dochází ke snižování turgoru, hrozí buňce plazmolýza, a tedy i poškození či přetržení plazmodezmů [27]. Je tedy vhodné snížit rigiditu buněčné stěny a tím do určité míry umožnit její prohýbání společně s plazmalemou [28]. Flexibilní buněčná stěna je pro toleranci desikace důležitá, ukazuje se to jak u aeroterestrických, tak u litorálních řas [28], [75]. Rigidita buněčné stěny je dána jejím složením. Zejména vyšší podíl pektinů (konkrétně homogalaktouronanu) propůjčují stěně větší flexibilitu [13], [76]. Podobně také hraje roli podíl hemicelulóz [77], obsah polymerů obsahujících arabinózu (arabinogalaktanových proteinů, pektino-arabinanů či arabinoxylanů) [78] a u některých řas, zejména u Zygnematophyceae, také extensin nebo expansin [76], [79].

U některých řas se také v souvislosti s flexibilizací buněčné stěny zdá klíčový polysaccharid kalóza. Ta je velmi důležitá při reparačních mechanismech, například při poškození patogenem, suchem či zátěži toxickými kovy [80]. Je tedy velmi efektivní i při opravě membrán a dalších struktur. Její akumulace u vysychajících řas tudíž zajišťuje efektivní opravu buněčné stěny při

jejím smršťování a díky tomu jí v určité míře také propůjčuje vyšší flexibilitu [81]. Herburger a Holzinger [82] ukazují, že se v zelené řase rodu *Klebsormidium* během desikace opravdu zastoupení kalózy výrazně zvyšuje (obr. 6). Mezitím v řase rodu *Zygnema* se nezvyšuje téměř vůbec, patrně jelikož *Zygnema* pro flexibilizaci buněčné stěny využívá extensinů, expansinů a dalších látek, které se u *Klebsormidia* nenachází [76]. Jelikož je kalóza syntetizována na plazmalemě [83], může efektivně opravovat buněčnou stěnu jen dokud nedojde k plazmolýze a odtržení plazmalemy. Zvláště důležitá je depozice kalózy v místech kontaktu více buněk, zde je totiž mechanické namáhání při vysychání největší [82].



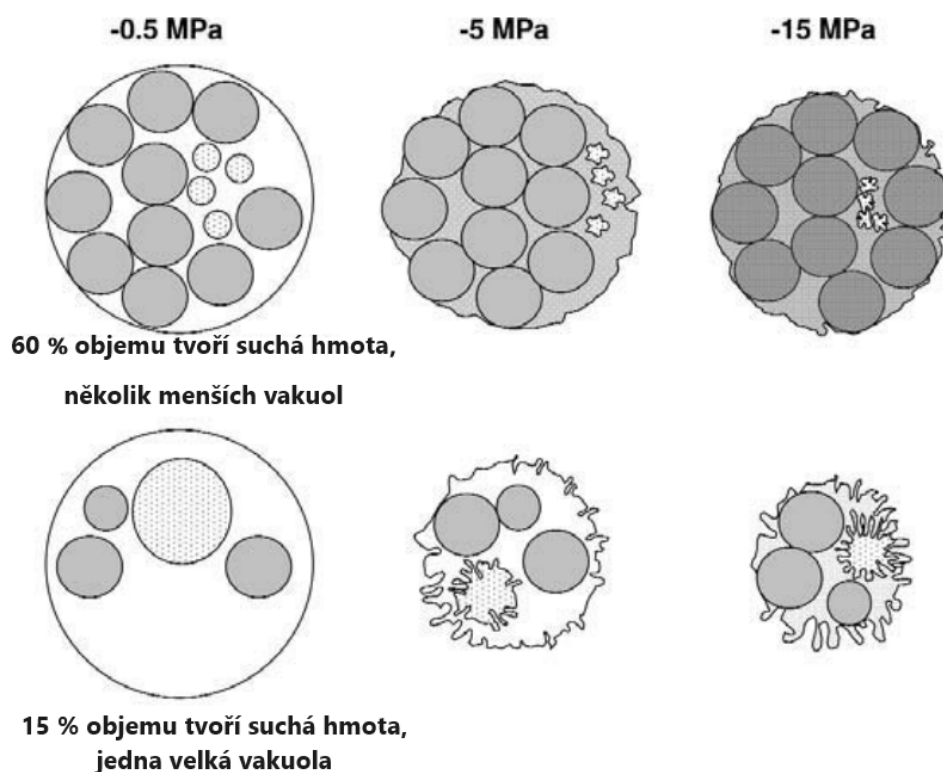
Obr. 6: Zvyšující se hladina kalózy při postupné desikaci řas rodu *Klebsormidium* a nezvyšující se u rodu *Zygnema*. Podle [82].

3.2.1.2. Změna ve vakuomu

U řas i vyšších rostlin je při vysychání často pozorováno rozdělení centrální vakuoly na několik menších [84], [85]. Mění se tak významně její poměr povrchu ku objemu, což je zásadní, jelikož musí buňka syntetizovat nový tonoplast, kvůli větší celkové délce vakuolární membrány [86]. Několik malých vakuol poskytuje buňce větší mechanickou stabilitu než jedna velká [87]. Při silném osmotickém tlaku by navíc mohla velká vakuola lehce prasknout, což by pro buňku mohlo být letální. Toto riziko je u několika menších vakuol potlačeno [88].

3.2.1.3. Plastoglobuly

Velmi často je u řas po desikaci pozorováno zvýšené množství plastoglobulů [28], [89]. Tyto lipoproteinové částice jsou součástí membrán thylakoidů a jejich zvýšená abundance během stresu není náhodná. Zaprvé svým objemem napomáhají udržení mechanické stability. Obsah pevných částic značí větší stabilitu (viz obr. 7) a právě plastoglobuly tomuto v buňce napomáhají [88]. Rovněž je tento mechanismus úzce provázán s typem vakuomu (viz předchozí podkapitola). Zadržují také obsahují množství látek, které se také v ochraně před desikací uplatňují (například tokoferoly, karotenoidy, triacylglyceroly) [90]. V této souvislosti je ovšem důležité, že plastoglobuly zvyšují svou abundanci i při ostatních stresech, například světelném či při zvýšené toxicitě prostředí a nemohou být tedy chápány jako specifická adaptace proti vysychání [90].



Obr. 7: Zmenšování buňky osmotickým tlakem. Různý charakter zmenšování pro buňky s vysokým a nízkým podílem suché hmoty. Upraveno podle [88].

3.2.2. Antioxidační aktivita

Desikace vede k nadměrné produkci reaktivních forem kyslíku (viz kap. 2.2.3.), které mohou způsobovat značná poškození. Aby buňka těmto poškozením předešla, produkuje látky, které s ROS reagují a neutralizují je. Taková antioxidační činnost samozřejmě není jevem výlučným

jen pro zelené řasy, a proto je řada těchto bazálních mechanismů k nalezení i napříč různými eukaryotickými superskupinami [91].

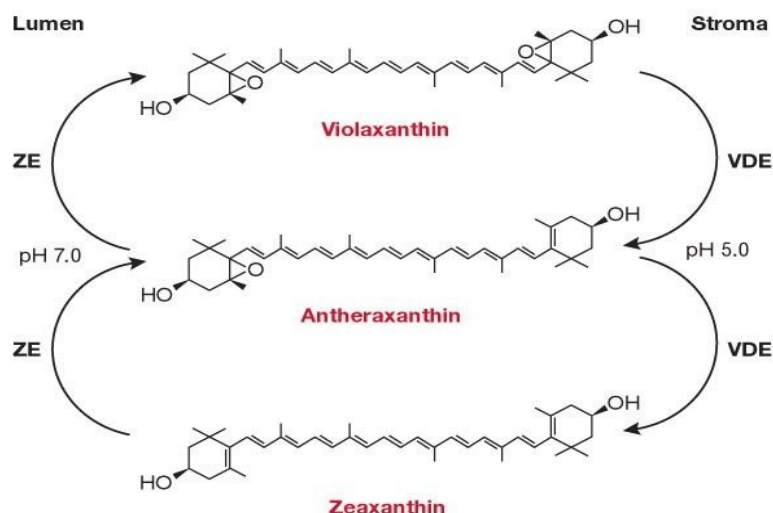
3.2.2.1. Karotenoidy

Karotenoidy hrají v ochraně před ROS naprosto zásadní roli. Jejich antioxidační význam spočívá jednak v konkurenčním zachytávání přicházejících fotonů a tím znemožnění přílišné excitace chlorofylu a vzniku ROS [92], dále v oxidaci excitovaného chlorofylu a opět zábraně vzniku ROS [39] a nakonec, pokud se jejich vzniku zabránit nepodaří, mají roli i jako zhášče již existujících ROS [93]. Jelikož je k samotné ochraně před vznikem ROS zapotřebí dostatečná proximita mezi daným karotenoidem a chlorofylem, kterému hrozí přeexcitování, je tato forma ochrany atributem primárních karotenoidů, které jsou integrovány v komplexech fotosystémů, tedy například zeaxantinu nebo β -karotenu [94]. Sekundární karotenoidy, které zde nejsou a jsou lokalizovány volně v cytosolu (jako například astaxantin), plní roli spíše „vychytávačů“ již existujících ROS [93].

Zeaxantin je v souvislosti s desikací patrně tím nejvýznamnějším primárním karotenoidem. Jeho produkce je přímo vyvolaná desikací. V rámci xantofylového cyklu totiž dochází k přechodům mezi violaxantinem a zeaxantinem (viz obr. 8). Enzym, který způsobuje přechod ze zeaxantinu na violaxantin (zeaxantin epoxidáza) je však inhibován desikačním stresem [95], zatímco antagonistická violaxantin deepoxidáza je funkční i při velmi nízkém obsahu vody. Přechod k zeaxantinu tak při dehydrataci probíhá častěji. Zeaxantin chrání před vznikem ROS tak, že se váže na protonované proteiny ve světlosběrné anténě fotosystému II a konkuruje tak v zachytávání elektronů jeho reakčnímu centru [92].

Astaxantin je dalším důležitým karotenoidem. Jeho role spočívá především ve zhášení ROS v cytosolu a ochraně membrán [93]. Nejčastěji vychytává singletový kyslík [94] a vzhledem k vysoké abundanci v buňkách pod stresem [96] je patrně pro ochranu při desikaci velmi důležitý. Podobné antioxidační účinky vykazují i jeho estery, které mohou tvořit i naprostou většinu všech karotenoidů v buňce (v extréměch až 98 %) [97].

K ochraně před ROS samozřejmě ale přispívají i další karotenoidy, jako lutein či β -karoten [91].



Obr. 8: Xantofylový cyklus, VDE = violaxantin deepoxidáza, ZE = zeaxantin epoxidáza. Podle [98].

3.2.2.2. Tokoferoly

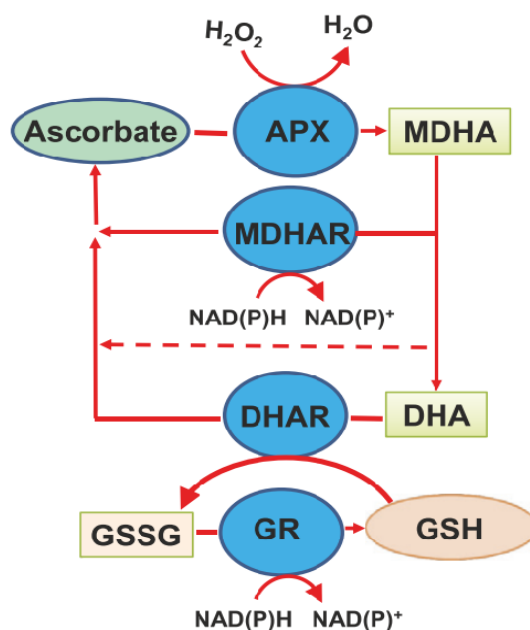
Tokoferoly (souhrnně s tokotrienoly označovány jako vitamín E) jsou také zásadními antioxidanty. Stejně jako astaxantin jsou také lipofilní, a proto jsou ve velkém množství k nalezení v plastoglobulech [90]. Jejich antioxidační činnost se částečně překrývá s účinkem zeaxantinu a proto Havaux et al. [99], [100] pozorovali, že při nedostatku jednoho z těchto metabolitů je výrazně zvýšena produkce druhého a naopak. Nejčtenější z možných variant je α -tokoferol [13]. 1 molekula α -tokoferolu je před svou degradací schopna vychytat až 120 molekul singletového kyslíku [101]. Kromě této ochrany také hraje roli v reparačních mechanismech fotosystému II a v ochraně membrán před degradací [102].

3.2.2.3. Antioxidační enzymy

Buňka má k dispozici i enzymy, které slouží ke zbavování se ROS. Některé se účastní větších cyklů, společně s neenzymatickými složkami, jiné konají samotné.

- **Superoxid dismutáza (SOD)** je jedním z předních enzymů, které mají antioxidační činnost. Slouží především ke zhašení superoxidového radikálu, ovšem za vzniku peroxidu vodíku, který musí být dále zpracován [37].
- **Kataláza** slouží k rozkladu peroxidu vodíku. Její činnost je nezávislá na ostatních antioxidantech a rozkládá H_2O_2 za vzniku vody a kyslíku [103].
- **Askorbát peroxidáza** je významná zejména pro její účast v askorbát-glutathionovém cyklu (viz obr. 9). Zde za vstupu askorbátu a peroxidu vodíku, vytváří monodehydroaskorbát a vodu, čímž se také škodlivého H_2O_2 zbavuje [104].

K fungování tohoto cyklu jsou ale dále potřeba enzymy glutathion reductáza a dehydroaskorbát reductáza [104].



Obr. 9: Askorbát-glutathionový cyklus. APX – askorbát peroxidáza, MDHA – monodehydroaskorbát, DHA – dehydroaskorbát, DHAR – dehydroaskorbát reductáza, GR – glutathion reductáza, GSH – redukovaná forma glutathionu, GSSG – glutathion disulfid. Upraveno podle [104].

3.2.2.4. Další podpůrné neenzymatické antioxidanty

Kromě výše zmíněných antioxidantů, které mají hlavní roli ve zhášení ROS jsou zde ještě další podpůrné látky, které často mají jinou primární funkci, ale mimo tu plní i roli jako antioxidanty.

- **MAAs** (Mycosporine-like amino acids) jsou drobné sekundární metabolity, které mají primární roli v ochraně před nadměrným UV zářením [105], [106], ale některé z nich (například mykosporin-glycin) také fungují jako antioxidanty [107].
- **Glutathion** je tripeptid, který působí v buňkách jako antioxidant. Jednak svou přímou oxidací, kdy vychytává ROS a přechází z podoby GSH do GSSG nebo účastí ve výše zmíněném askorbát-glutathionovém cyklu. Je také důležitý pro udržování správné osmoregulace v cytosolu, a proto také hraje roli při vyrovnávání se s rehydratačním stresem [13], [108]. Proto je také jeho koncentrace v buňkách výrazně zvýšena během vysychání [18].
- **Putrescin a polyaminy** mají v řasách také antioxidační účinky [109].

- **Fenoly** mají primární funkci v ochraně před UV, nicméně některé fungují jako antioxidanty a zejména chrání lipidy před peroxidací [110], [111].
- **Polyoly** mají kromě své funkce v osmoregulaci a v ochraně makromolekul také roli ve zhášení ROS [112].
- **Prolin** jako jedna z mála aminokyselin také vykazuje přímý antioxidační účinek. Mimo to má také roli v udržování turgoru a v ochraně proti UV [63].

3.2.3. Ochrana makromolekul

Protože vysychání může v buňkách vést k poškození proteinů a membrán, je zapotřebí ochranných adaptací, nejčastěji v podobě metabolitů, které dané makromolekuly stabilizují a zabrání jejich degradaci. Kromě toho mohou taky některé látky pouze dopomáhat k vytvoření prostředí ve kterém k poškození nedochází tak často.

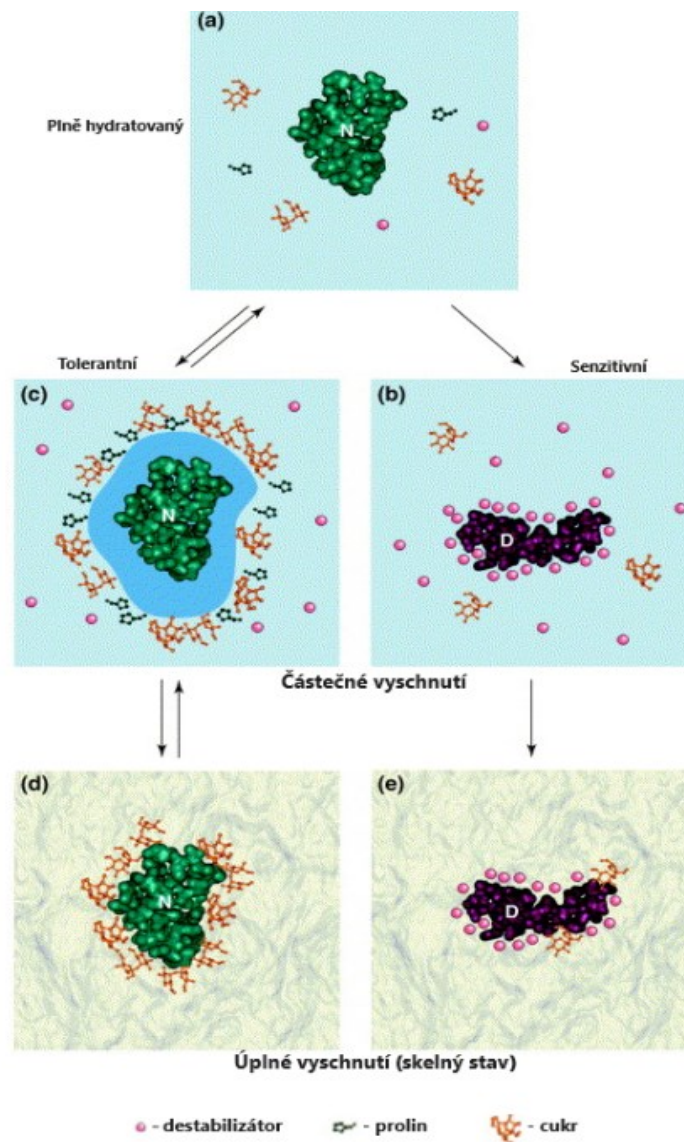
Specifickým typem ochrany je aktivace akvaporinů, které zvyšují permeabilitu membrán a snižují riziko poškození v důsledku rehydratačního stresu [18], [41], [113].

3.2.3.1. Stabilizátory

Základními způsoby ochrany proteinů či fosfolipidů před desikací jsou vytvoření hydratačního obalu, nahrazení stavební funkce vody nebo stabilizací a opravou již poškozených proteinů. Existuje řada látek, které k této přímé ochraně makromolekul přispívají.

Neredukující sacharidy

Některé oligosacharidy, zejména trehalóza a sacharóza chrání proteiny a fosfolipidy před poškozením, nahrazením strukturní funkce vody a tvorbou hydratačního obalu. Na tyto účely je využívána především trehalóza. V případě fosfolipidů se trehalóza váže svými -OH skupinami na fosfátové hlavičky a nahrazuje tak stavební funkci vody [42]. Tím brání zintenzivnění Van der Waalsových interakcí a stabilizuje fosfolipidovou vrstvu. Sacharóza je stejné funkce schopna také, ačkoliv je jí potřeba pro stejný výsledek vyšší hladina [114]. Při ochraně proteinu vytvoří sacharidy hydratační obal, který udržuje strukturu proteinu i při silné dehydrataci buňky (viz obr. 10). Pokud však podíl vody v buňce klesne pod 30 %, je i z tohoto obalu voda odstraněna a neredukující sacharidy (především trehalóza a sacharóza) podobně jako v případě fosfolipidů zastoupí funkci vody a svými -OH skupinami se navážou na polární konce proteinů [115]. Trehalóza je poměrně inertní a při vysychání oproti jiným sacharidům lépe přechází do stavu vitifikace než krystalizace, což je pro ochranou funkci důležité [22].



Obr. 10: Mechanismus stabilizace struktury proteinu během desikace. Cukry v buňce tolerantní k desikaci (c,d) vytváří hydratační obal a při úplném vyschnutí nahrazují roli vody, čímž je na rozdíl od senzitivní buňky zabráněno destabilizaci proteinu. Upraveno podle [20]

LEA proteiny

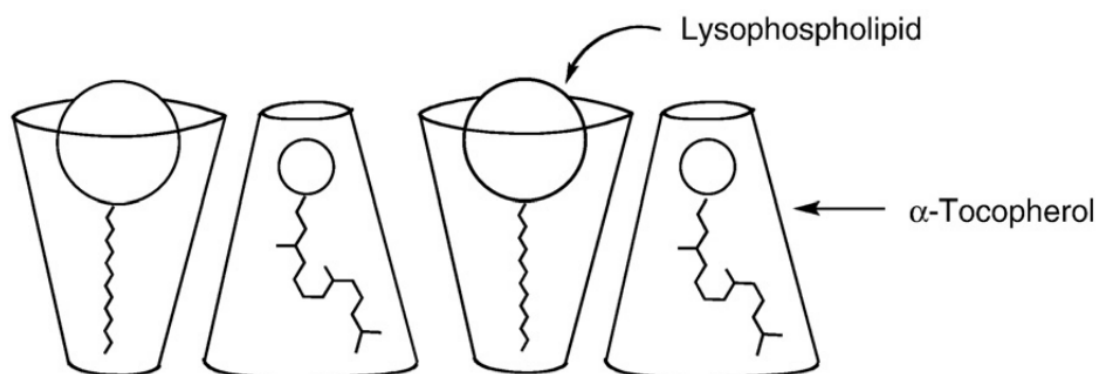
LEA proteiny (late embryogenesis abundant proteins) jsou skupinou malých a silně hydrofilních proteinů, které mají v ochraně proteinů a membrán podobnou roli jako výše zmíněné disacharidy. Vytváří kolem proteinů také hydratační obal, který udržuje proteiny v nedegradované podobě [116]. Pokud je desikace příliš intenzivní, fungují LEA proteiny jako chaperony, které brání ostatním proteinům v agregaci a případné denaturaci [117]. Nefungují takto ale všechny LEA proteiny, jak ukazují Holzinger et al. [67], některé z nich jsou při desikaci dokonce potlačeny.

Proteiny tepelného šoku

Proteiny tepelného šoku neboli HSP (heat shock proteins) jsou molekuly reagující na širokou škálu stresů. Fungují jako chaperony a při desikaci mají zejména význam ve stabilizaci proteinů. Pomáhají správnému skládání proteinů, které jsou úplně nebo částečně neuspořádané [118]. Brání také agregaci a nechtěným interakcím mezi nimi [13]. Díky těmto podpůrným účinkům jejich abundance během desikace roste [84].

Tokoferoly

Kromě jejich výše zmíněné antioxidační funkce, tokoferoly také stabilizují fosfolipidové membrány. Během desikace dochází k častější peroxidaci fosfolipidů, a tedy i častějšímu vzniku lysofosfolipidů, které svou asymetrií membránu zakřivují a negativně tak ovlivňují její propustnost a fluiditu. Tokoferoly tyto asymetrie vyrovnávají a udržují tak membránu funkční (viz obr. 11) [102].



Obr. 11: Schéma komplementarity lysofosfolipidů a α -tokoferolu. Tokoferol vyrovnává asymetrii lysofosfolipidu a tím stabilizuje membránu. Podle [102].

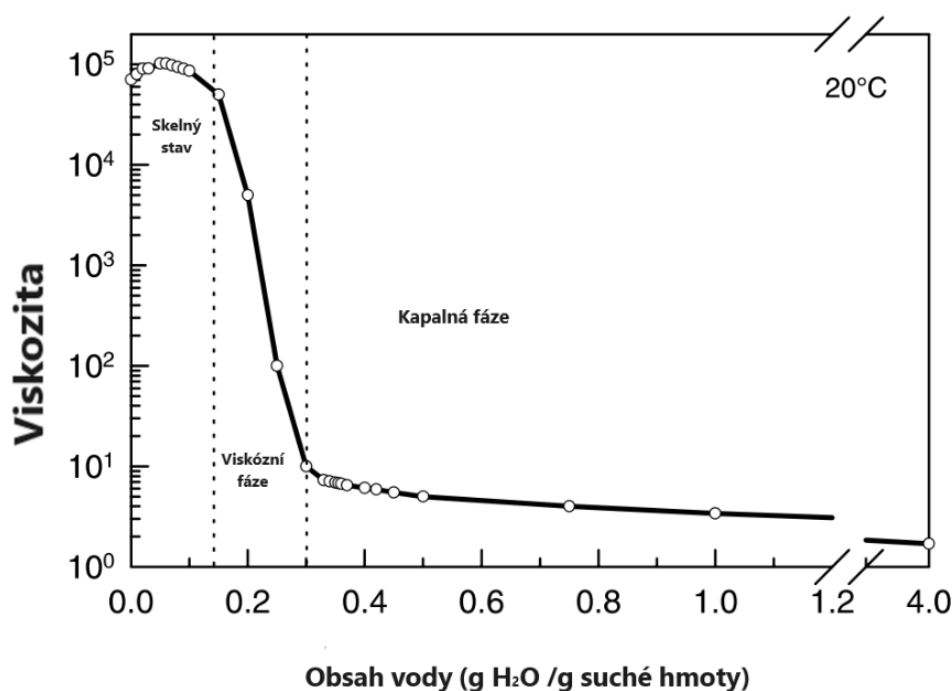
Další podpůrné stabilizátory

Mimo výše zmíněné látky, mají podobné ochranné vlastnosti ještě další. Často však pouze doplňkové k jejich jiné hlavní funkci. Například polyolům je připisována schopnost stabilizace proteinů a tvorby hydratačních obalů [119]. Prolin má zase společně s cukry funkci tvorby stabilizačních hydratačních obalů (viz obr. 10).

3.2.3.2. Skelný stav

Skelný stav (glassy state) je přechodný stav cytoplazmy, kdy dosáhne během vysychání extrémní viskozity. V takovém stavu má poté částečně vlastnosti kapaliny (například relativní pozice molekul je v podstatě náhodná) a částečně pevné látky (mechanické vlastnosti) [120]. Jelikož je v takovém stavu dramaticky snížena molekulární kinetika je skelný stav výhodný

pro zachování makromolekul během desikace. Nízká kinetika znamená totiž také výrazně nižší tempo degračních procesů a ke škodlivým reakcím tak dochází méně často [32]. Tento stav nastává, pokud obsah vody v buňce klesne pod přibližně $0,1-0,15 \text{ g (H}_2\text{O)} \cdot \text{g}^{-1}$ (suché hmotnosti). Již od $0,3 \text{ g (H}_2\text{O)} \cdot \text{g}^{-1}$ (suché hmotnosti) se ale viskozita cytoplazmy zvyšuje exponenciálně (viz obr. 12). Pro vznik této amorfní hmoty, je také zapotřebí účast cukrů (především sacharózy a trehalózy) a LEA proteinů [120]. Vliv má samozřejmě i okolní teplota [120].



Obr. 12: Graf závislosti viskozity cytoplazmy na obsahu vody v buňce. Při hodnotě 0,3 je patrná změna fáze. Upraveno podle [120].

3.2.4. Regulace proteomu

Pro přežití vyschnutí je kromě akumulace ochranných látek také důležitá regulace syntézy některých proteinů, které by během desikace byly neúčinné nebo dokonce vedly k poškození. Řasy tolerantní vůči desikaci na to mají metabolismus uzpůsoben lépe, a proto se také při vyschnutí vychyluje podstatně méně než u řas senzitivních [66]. Například je pro řasu vhodné snížit expresi proteinů, souvisejících s fotosyntézou a asimilací uhlíku [84], [121] neboť činnost přeexcitovaného světlosběrného komplexu může vést ke vzniku ROS. Snižuje se tedy v buňkách obsah chlorofylu [96], enzymu RuBisCO [122], ale i dalších struktur s fotosyntézou souvisejících [121]. Holzinger et al. [67] ale naproti tomu ukazují, že někdy může být

transkriptů souvisejících s fotosyntézou po desikaci i více, možná se související přípravou na rehydrataci a obnovu asimilační činnosti.

Kromě toho je také snížena produkce proteinů souvisejících s replikací DNA, syntézou aminokyselin a kofaktorů, energetickým metabolismem a reakcí na podněty [67], [121]. Je však otázkou, jestli jsou to regulace buňkou cílené nebo je jen syntéza některých těchto proteinů citlivá na vysychání, jak nastiňují Gasulla et al. [84]. [52] ukazují, že celkový obsah proteinů se po desikaci může snížit i o 10 %, navzdory tomu, že buňka produkuje značné množství proteinů určených k ochraně.

Celkově je tedy správná regulace syntézy a degradace specifických proteinů také důležitá a ukazuje se, že se bez ní řasy tolerující desikaci neobejdou [121].

3.3. Rezistentní stádia

Při vystavení desikačnímu či jinému stresu, tvoří zelené řasy řadu rezistentních typů buněk, kterýchžto úděl je přecházení kritického období. Existuje mnoho různých typů těchto stádií, která se liší vznikem i morfologií. Pro základní rozlišení je potřeba dělit na ty, které vznikly nepohlavní cestou (cysty, aplanospory, akinety...) a pohlavní cestou (oospory, zygospor...). Společná je pro ně zesílená buněčná stěna a zvýšená akumulace zásobních látek. Jejich vznik je také indukován právě vysycháním [53]. Pokud toto rezistentní stádium přečká stresové období, následně obnovuje svou metabolickou činnost a buďto přechází do podoby standardní vegetativní buňky nebo se meioticky dělí. Taková germinace je ovšem poměrně náročná, a proto řasy rostoucí v těch nejkritičtějších prostředích, jako jsou ledovce, typicky netvoří rezistentní pohlavní spory ani jiná stádia, která mají specializovanou buněčnou stěnu [23]. Stres je v takových místech přítomný prakticky neustále, a tudíž získávají větší výhodu ty řasy, které se s ním umí vyrovnat v rámci vegetativních buněk [123]. Naproti tomu strategie rezistentních pohlavních spor je vhodná do prostředí s výraznou sezónní dynamikou (například pro vodní řasy v periodicky vysychajících prostředích) [19].

Mezi hlavní rezistentní formy, které zelené řasy tvoří patří:

- **Akinety**; odvozené vegetativní buňky, které tvoří specializovanou ztloustlou buněčnou stěnu (podobnou stěnám zygospor), akumulují ve velké míře fenoly a lipidy a vyskytují se samostatně od vlákna [23], [85].
- **Preakinety**; buňky podobné akinetám, které ale zůstávají ve vláknech [85]. Jedná se o staré vegetativní buňky se zesílenou buněčnou stěnou, sníženou fyziologickou aktivitou

a omezeným dělením [59], [85]. Jsou typické pro Zygnematophyceae. Nicméně rod *Klebsormidium* tvoří rezistentní buňky podobného typu [52].

- **Palmeloidní stádia**; nepohyblivá stádia bičíkatých řas. U zelených řas typická pro Chlorophyceae. Často přechodná stádia pro tvorbu cyst, například u řasy *Haematococcus lacustris* (dříve *pluvialis*) [94].
- **Oospory**; rezistentní zygoty u třídy Charophyceae. Jsou specifické inkrustací buněčných stěn a tvorbou vápenatého obalu [23]. Jedná se o jediné životní stádium Charophyceae, které je odolné vůči desikaci.
- **Zygospory**; dormantní zygoty u tříd Coleochaetophyceae a Zygnematophyceae [23].
- **Aplanospory**; rezistentní vegetativní buňky, vzniklé odtržením protoplastu od buněčné stěny a vytvořením stěny nové [23].

Velká část těchto odolných forem je běžná pro Zygnematophyceae, které jsou také proto často dominantní v těch nejnáročnějších podmínkách [124]. Herburger et al. [54] také ukazují, že preakinety mají opravdu výrazně lepší toleranci vůči vysychání než běžné mladé vegetativní buňky.

4. Zisk tolerance vysychání v evoluční historii a diverzita

Dnes je tolerance vysychání záležitostí společnou pro skupiny řas napříč fylogenetickým stromem. Jelikož jsou zelené řasy velice starou skupinou a k prvnímu osidlování souše došlo již před stovkami milionů let, je i velká část odpovídajících mechanismů zakořeněna velmi bazálně. Nejstarší přímé fosilní důkazy datují první terestrické rostliny do rozmezí dapingian-darriwilian, tedy přibližně 470 milionů let zpět [125]. Terestrické formy, například chlorofytních řas, však mohou být i značně starší. Geochemické cykly a další nepřímé důkazy poukazují na existenci fotosynteticky aktivních mikrobiálních povrchů, již před přibližně 850 miliony lety [125]. Zda byly součástí těchto povrchů i zelené řasy, je předmětem debat a fosilně tento fakt nebyl doložen. Přesto však taková představa není nepravděpodobná. Ukazuje se také, že již poslední společný předek streptofyt pravděpodobně desikaci toleroval [126]. Vzhledem k tomu, že rozdělení linií Chlorophyta a Streptophyta je datováno na přibližně 900 mil. let př. n. l. [127], ukazoval by tento závěr na velmi starou toleranci vyschnutí.

Samotná tolerance byla patrně v evoluci zelených řas mnohokrát získána i ztracena. V rámci chlorofytní linie, je známá u všech tří hlavních tříd (Chlorophyceae, Trebouxiophyceae a Ulvophyceae), zatímco u bazálních „prasinofyt“ není vůbec (což neznamená, že například netvoří sliz nebo nedělají palmeloidní stádia). Je samozřejmě také úzce propojena s terestrickým výskytem. Četnost výskytu odolnosti vůči desikaci u různých tříd zelených řas je znázorněna na obr. 13.

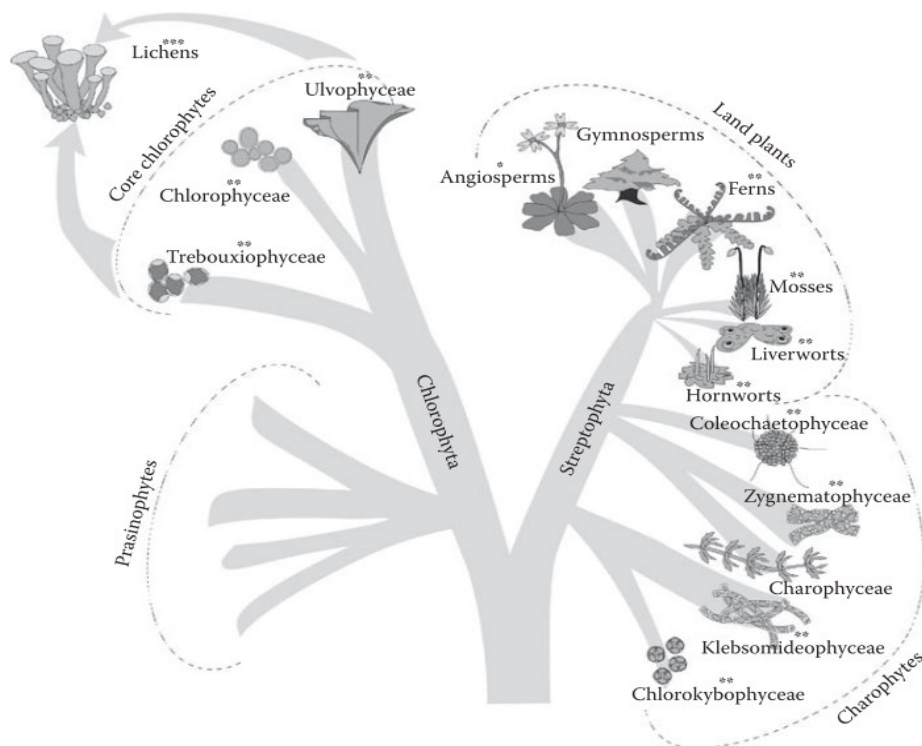
Ve třídě Ulvophyceae jsou terestričtí zástupci v řádech Scotinosphaerales [128], Ignatiales [128], Ulvales (zde ne přímo terestričtí, ale obývající supralitorál) [75], Cladophorales [129] a nejvýznamněji u Trentepohliales [5]. Právě poslední zmiňovaný řád zahrnuje pouze terestrické zástupce, kteří žijí jak volně aeroterestricky, tak i jako parazité, ale i jako fotobionti lišejníků.

Nejvýznamnější terestrickou chlorofytní třídou jsou Trebouxiophyceae. Významní aeroterestričtí zástupci jsou v řádu Chlorellales. Rody *Apatococcus* nebo *Chlorella* tvoří často dominantní pokryvy v aeroterestrických podmínkách [5]. Klíčový je také řád Trebouxiales, především pro časté symbiózy v lišejnících. Již rod *Trebouxia* je jedním z nejčastějších lišejníkových fotobiontů [130]. Dalšími významnými rody jsou ale i *Asterochloris* *Vulcanochloris* nebo *Myrmecia*. Důležití fotobionti jsou však i v jiných řádech, například *Elliptochloris* z řádu Prasiolales nebo *Symbiochloris*. Kromě interakcí v lišejníku ale některé z těchto řas žijí i volně aeroterestrickým způsobem. Kromě nich najdeme i striktně solitérní

erestrické řasy v řádech Prasiolales a Watanabeales [131], [132]. Zajímavý a důležitý je i aerofytický rod *Coccomyxa*.

Ve třídě Chlorophyceae se s terestrickými zástupci setkáme ve všech řádech s výjimkou Chaetopeltidales. V žádném z nich ale netvoří většinu diverzity, a jedná se spíše vybrané zástupce. V řádu Sphaeropleales se jedná o jednorodové čeledě Bracteacoccaceae (s rodem *Bracteacoccus*) [133] a Chromochloridaceae (s rodem *Chromochloris*) [134]. U řádu Chlamydomonadales je to například sněžná řasa *Sanguina* nebo půdní řasa *Chlorococcum* [135], [136]. U řádu Chaetophorales například *Fritschiella* [137] a u Oedogoniales přímo některé druhy rodu *Oedogonium* [138] nebo rod *Oedocladium*. Zajímavostí jsou pak terestrickí zástupci u kladu Jenufa [139].

V rámci řas streptofytních jsou terestrickí zástupci v třídách Zygnematomyceae, Klebsormidiophyceae [140] a Chlorokybophyceae [141]. Zejména Zygnematomyceae jsou opravdu důležité a v extrémním prostředí povrchu ledovců tvoří dominantní pokryv (rody *Mesotaenium*, *Cylindrocystis*, *Ancylonema*) [142]. Jsou také specifické tvorbou různých velmi rezistentních stádií, díky kterým drsné podmínky přežívají. Příklady významných rodů, které přežívají vysychání jsou například *Zygnema* nebo *Zygogonium*.



Obr. 13: Evoluční strom Viridiplantae, zobrazující frekvenci tolerance vůči desikaci u jednotlivých skupin: Žádná, *Málo častá, **Častá, ***Velmi častá. Podle [21].

Pomíjivost této tolerance může být také demonstrována jinými fenomény. Například Terlova et al. [89] ukazují, že i blízce příbuzné taxony mohou vykazovat zcela jinou odpověď na vysychání. Podobně také rozdíly v konkrétních produkovaných obranných látkách ukazují často nezávislý vznik. Zatímco Chlorophyta akumulují při vysychání jako významné osmolyty polyoly, u streptofytních řas takto využívány prakticky nejsou [2], [45]. Například u Klebsormidiophyceae je pro osmotickou regulaci mnohem klíčovější sacharóza (citace). Zeaxantin je hojně jako fotoprotektant a antioxidant využíván například u Trebouxiophyceae a Klebsormidiophyceae, ale ne u Zygnematophyceae [143]. Ty naproti tomu akumulují fenolické látky (citace). Některé LEA proteiny jsou společné pro Chlorophyta i Streptophyta, jiné se objevují až u Streptophyta a některé dokonce až u vyšších rostlin [18]. I přes tyto a další rozdíly je ale velká část ochrany proti vysychání založena na bazálních mechanismech, které jsou společné od Chlorophyta až po Embryophyta [18]. Komplexní přehled o rozdílech v obranných metabolitech mezi třídami a odděleními zelených řas bohužel není možný, jelikož důkladné studium vysychání je prozatím realizováno jen u vybraných skupin a rodů.

5. Získání tolerance vysychání

Míra tolerance vysychání se liší nejen mezi různými druhy řas, ale také může výrazně variovat v rámci jediného druhu. Zdá se, že přinejmenším část obranných mechanismů není u řas vrozená a musí být získána v průběhu životního cyklu. Různé faktory tak toto získávání ovlivňují a utváří pro jednotlivé populace odlišné možnosti tolerovat desikaci. Ne každý abiotický faktor však způsobuje rozdíly v toleranci, například nadmořská výška patrně roli nehraje, jak ukazují Karsten et al. [144].

Některé procesy jistě budou dané genetikou daného druhu a budou v buňkách stále aktivní. Tyto mechanismy se označují v literatuře jako konstitutivní. Takové mechanismy jsou efektivní při rychlých a prudkých změnách vlhkosti, kdy by pomalá aklimace nestačila. Jak například ukazují Gasulla et al. [84], *Asterochloris erici* je schopen přežít i rychlé a silné vysušení. Některé ochranné látky jsou akumulovány konstitutivně, například MAAs [145], ač i u nich může být vyšší koncentrace indukovatelná externími vlivy jako je osvit [132], [145]. Podobně, zastoupení polyolů má určitý preventivní pasivní charakter. Hell et al. [146] ukazují, že zástupci rodů *Coccomyxa* a *Trebouxia* akumulují polyol arabitól, jehož koncentrace se však s postupnou aklimací na vysychání snižuje a je nahrazena jinými polyoly. Mechanismy umožňující přežití silné a rychlé desikace mohou být praktické pro šíření větrem [147] a proto jich také řasy využívají. Naproti tomu některé, patrně běžně tolerantní k desikaci nejsou a musí tuto vlastnost získat, například *Haematococcus lacustris*, jak ukazují [96].

5.1. Získání tolerance postupnou aklimací

Z literatury je patrné, že některé druhy řas projevují v různých životních stádiích či při pomalém navozování vysychání, rozdílnou toleranci. Vystavení řasy delší periodě mírného sucha může zásadně zvýšit šance na přežití jinak letálního vyschnutí. Délka a míra vysychání výrazně ovlivňuje, jakým způsobem bude řasa schopna jej přežít a obnovit svou fotosyntetickou činnost [148], [149]. Ukazuje se, že vzorky z oblastí s vyšší mírou desikace, mají i v laboratoři následně zvýšenou odolnost [150]. Podobně Pichrtová et al. [59] ukazují, že kmeny pěstované terestrickým způsobem (na agaru) snášejí desikaci lépe než ty z kapalného média. To zcela jasně poukazuje na možnost aklimace. Postupné zlepšování tolerance k desikaci při mírném sušení také pozorovali Roach et al. [96]. Jistou aklimaci popisují i Hell et al. [146], kteří také zaznamenali, že při opakovaných cyklech desikace-rehydratace se postupně mění složení obsažených polyolů a dalších obranných látek (například došlo k posunu

poměrů polyolů s nárůstem mannitolu na úkor arabitolu). Je možné, že právě postupná aklimace je požadována, aby řasa stihla udělat změny ve svém metabolismu a naakumulovat dostatek správných obranných látek, například proteinů, jak argumentují Gray et al. [19]. V této souvislosti je také významné stáří vlákn. Rippin et al. [113] pozorovali na zelené řase *Zygnema*, že pouze vlákna stará alespoň několik měsíců tvořila preakinety a byla schopna přežít rapidní vysychání, zatímco mladá vlákna ne. K podobným závěrům dospěli i Herburger et al. [85]. Podstatné také je, že řasy jsou schopny nastartovat mechanismy vedoucí k toleranci desikace i na základě velmi jemných podnětů. Jakýkoliv drobný stres i sebemenší pokles v hydrataci může tuto kaskádu procesů spustit [96] a je tedy patrné, že se nejedná o pouhou selekci či pasivní reakci.

5.2. Faktory ovlivňující zisk tolerance

Kromě prosté aklimace existují také jiné mechanismy, kterými lze navodit nebo alespoň zvýšit odolnost vůči vysychání. Typická je jiná forma stresu, která vede k vytvoření odolného stádia a díky tomu i vyšší odolnosti vůči suchu. Reakce na stresy se často velmi překrývají, a proto například akumulace specifických látek bude zvyšovat jak odolnost proti suchu, tak proti teplotě nebo záření. Například Vávrová et al. [151] ukazují, že desikací navozená odolná stádia řasy *Haematococcus lacustris* také zvládají lépe teplotní extrémy.

Takto může být tolerance vysychání navozena například kultivací za nedostatku dusíku. Při depleci dusíku dochází totiž ke změnám buněčného metabolismu. Snižuje se celková produkce proteinů [52] a naproti tomu se tvoří více lipidů a sacharidů [152], které (viz kap. 3.) mají mnohá využití v ochranných sférách. Více lipidů také znamená více triacylglycerolů, a tedy i více na ně vázaných ochranných látek, jako jsou tokoferoly nebo astaxantin [153]. Nedostatek živin také vede k tvorbě odolných preakinety [59], [85], které lépe snáší suchu a běžná aklimace k vysychání je akcelerována. Například protein, který je zodpovědný za aktivaci nefotochemického zhášení ROS byl také u řasy rodu *Chlamydomonas* nalezen ve vyšší míře při kultivaci s omezeným dusíkem [154]. Pozitivní vliv nedostatku dusíku na akvizici tolerance k vysychání rozvádí Pichrtová et al. [59]. Zde autoři představují, že kultury řas pěstované v depleci dusíku ztrácí při vysychání fyziologickou aktivitu pomaleji než kontrolní alternativa. Což je také výsledek toho, že před vysycháním začínaly na nižším výtěžku. Nicméně po dostatečně dlouhé desikaci, řasy pěstované bez dusíku svým výtěžkem převyšovaly kontrolu, což poskytuje důkaz o lepší aklimaci při předchozím vystavení stresu. Jak však argumentují Roach et al. [96], nedostatek dusíku jistě zisk tolerance akceleruje, ale není její nutnou prerekvizitou.

Kromě živinové deplece má také vliv míra ozáření. Není překvapením, že například míra zhášení ROS se liší v závislosti na osvitu. Fernández-Marín et al. [155] například pozorovali rozdíl ve zhášení ROS u lišejníků rodu *Lobaria* ve slunnějším dubovém lese a stinnější bučině. Ozáření indukuje akumulaci ochranných látek, jako jsou astaxantin [96], fenoly [47] nebo MAAs [132], [145]. Roach et al. [96] na svých výsledcích argumentují, že je světlo dokonce pro získání tolerance naprosto zásadní a kultury řasy *Haematococcus lacustris* (dříve *pluvialis*), které byly sušeny ve tmě toleranci nezískaly. Autoři toto odůvodňují právě na světle závislou akumulací tokoferolů a astaxantinu. Naproti tomu Gray et al. [19] ovšem na skupině chlorofytních řas ukazují, že ty, které byly sušeny ve tmě, obnovovaly svůj kvantový výtěžek lépe než ty, které byly sušené za světla a přisuzují tuto skutečnost zintenzivnění světelného stresu desikací. Je tedy možné, že světlo není pro toleranci sucha nezbytné univerzálně pro všechny zelené řasy, ale pouze pro některé. U některých také má přinejmenším význam pro urychlení získání tolerance a s vyšším osvitem se do jisté meze zvyšuje i akviziční rychlost [96].

6. Závěr a shrnutí

Vysychání je fenomén, se kterým se zelené i jiné řasy musí potýkat v různých prostředích. Taková místa působí na řasy nebyvalým stresem, který citelně omezuje schopnost asimilace a života jako takového.

Pro pochopení obranných mechanismů je nutno pochopit, jak vlastně desikační stres na řasy působí. Jeho důsledky zahrnují fotoinhibici, zvýšenou tvorbu reaktivních forem kyslíku, změnu v propustnosti membrán, zhušťování cytoplazmy a indukci interakcí, degradujících proteiny a také vysoký osmotický tlak při rehydrataci.

Na obranu před těmito obtížemi, mají řasy řadu specifických i nespecifických adaptací. Nejjednodušší možností je pokus vyhnout se dehydrataci a zajistit si dostatek vody i v nehostinných podmínkách. Toho lze docílit akumulací do větších seskupení (jako jsou biofilmy), úpravou propustnosti buněčné stěny, tvorbou slizu či akumulací osmolytů (např. polyolů či sacharidů) a úpravou své tonicity. Pokud však ke ztrátě vody dojde, je nutnost vyrovnat se s dehydratací. Proti poškození buněčné stěny se lze bránit např. její flexibilizací. Proti kyslíkovým radikálům pomocí antioxidantů. Proti denaturaci proteinů a fosfolipidů akumulací stabilizačních molekul. Stejně tak je ale důležitá i jejich efektivní degradace. Zejména pro terestrické řasy je poté klíčová tvorba rezistentních stádií, jako jsou akinety či zygospory,

Získ těchto mechanismů proběhl v evoluci mnohokrát a patrně byl důležitý již pro organismy staršího paleozoika. Proto je také k nalezení napříč fylogenetickým stromem a umožnil kolonizaci souše a vývoj dnes tak významných vyšších rostlin.

Ne každá řasa je ale rezistentní ve své základní podobě a u některých je potřeba jisté aklimace. Postupným otužováním může být tolerance k vysychání získána rychleji nebo dokonce výhradně. Rovněž mají na získ této tolerance i jiné vlivy jako například míra osvětlení. Kromě toho je ale také kvůli překryvu mechanismů obrany, možno ji navodit působením jiného stresu (například deplecí živin).

Tato práce komplexně shrnuje reakce zelených řas na desikační stres. Od důsledků stresu, přes mechanismy obrany až po jejich evoluci a případné získání. Vhodným rozšířením do budoucna by mohl být pohled ekologický, například jak velkou roli hraje desikace v utváření niky nebo také více komparativní přístup (jak moc se liší obranné mechanismy napříč taxony).

Seznam použité literatury

- [1] R. N. Haring, M. N. Dethier, and S. L. Williams, 'Desiccation facilitates wave-induced mortality of the intertidal alga *Fucus gardneri*', *Mar Ecol Prog Ser*, vol. 232, pp. 75–82, 2002, doi: 10.3354/meps232075.
- [2] A. Holzinger and U. Karsten, 'Desiccation stress and tolerance in green algae: consequences for ultrastructure, physiological and molecular mechanisms', *Front Plant Sci*, vol. 4, 2013, doi: 10.3389/fpls.2013.00327.
- [3] U. Karsten and R. Schumann, 'Aeroterrestrial algae growing on man-made surfaces: What are the secrets of their ecological success?', in *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*, vol. 11, Springer, Dordrecht, 2007, pp. 583–597. doi: 10.1007/978-1-4020-6112-7_32.
- [4] N. Häubner, R. Schumann, and U. Karsten, 'Aeroterrestrial microalgae growing in biofilms on facades—response to temperature and water stress', *Microb Ecol*, vol. 51, no. 3, pp. 285–293, Apr. 2006, doi: 10.1007/s00248-006-9016-1.
- [5] U. Lüttge and B. Büdel, 'Resurrection kinetics of photosynthesis in desiccation-tolerant terrestrial green algae (Chlorophyta) on tree bark.', *Plant Biol*, vol. 12, no. 3, pp. 437–444, May 2010, doi: 10.1111/j.1438-8677.2009.00249.x.
- [6] J. de Vries and J. M. Archibald, 'Plant evolution: landmarks on the path to terrestrial life', *New Phytologist*, vol. 217, no. 4, pp. 1428–1434, Mar. 2018, doi: 10.1111/nph.14975.
- [7] M. Stoyneva-Gärtner, B. Uzunov, and G. Gärtner, 'Enigmatic microalgae from aeroterrestrial and extreme habitats in cosmetics: The potential of the untapped natural sources', *Cosmetics*, vol. 7, no. 2, pp. 1–22, Jun. 2020, doi: 10.3390/cosmetics7020027.
- [8] R. Sathasivam, R. Radhakrishnan, A. Hashem, and E. F. Abd Allah, 'Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine', *Saudi J Biol Sci*, vol. 26, no. 4, pp. 709–722, May 2019, doi: 10.1016/j.sjbs.2017.11.003.
- [9] J. C. Brito *et al.*, 'Unravelling biodiversity, evolution and threats to conservation in the Sahara-Sahel', *Biological Reviews*, vol. 89, no. 1, pp. 215–231, Feb. 2014, doi: 10.1111/brv.12049.
- [10] K. M. Chen, H. J. Gong, G. C. Chen, S. M. Wang, and C. L. Zhang, 'Gradual drought under field conditions influences the glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat', *J Plant Growth Regul*, vol. 23, no. 1, pp. 20–28, 2004, doi: 10.1007/s00344-003-0053-4.
- [11] P. Alpert, 'The Limits and Frontiers of Desiccation-Tolerant Life', *Integr Comp Biol*, vol. 45, pp. 685–695, 2005, doi: 10.1093/icb/45.5.685.
- [12] U. Karsten, C. Lütz, and A. Holzinger, 'Ecophysiological performance of the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium crenulatum* (Charophyceae, Streptophyta) isolated from an Alpine soil crust with an emphasis on desiccation stress', *J Phycol*, vol. 46, no. 6, pp. 1187–1197, Dec. 2010, doi: 10.1111/j.1529-8817.2010.00921.x.
- [13] M. J. Oliver, J. M. Farrant, H. W. M. Hilhorst, S. Mundree, B. Williams, and J. D. Bewley, 'Desiccation Tolerance: Avoiding Cellular Damage During Drying and Rehydration', *Annu Rev Plant Biol*, vol. 71, pp. 435–460, 2020, doi: 10.1146/annurev-arplant-071219.
- [14] D. F. Gaff, 'Responses of desiccation tolerant "resurrection" plants to water stress', in *Structural and functional responses to environmental stresses water shortage*, 1989, pp. 255–268. [Online]. Available: <https://eurekamag.com/research/002/210/002210717.php>

- [15] M. C. F. Proctor, ‘Comparative ecophysiological measurements on the light responses, water relations and desiccation tolerance of the filmy ferns *Hymenophyllum wilsonii* Hook. and *H. tunbrigense* (L.) Smith’, *Ann Bot*, vol. 91, no. 6, pp. 717–727, 2003, doi: 10.1093/aob/mcg077.
- [16] P. E. Verslues, M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, J. Zhu, and J. K. Zhu, ‘Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status’, *Plant Journal*, vol. 45, no. 4, pp. 523–539, Feb. 2006, doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x.
- [17] W. S. Chang, M. Van De Mortel, L. Nielsen, G. N. De Guzman, X. Li, and L. J. Halverson, ‘Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions’, *J Bacteriol*, vol. 189, no. 22, pp. 8290–8299, Nov. 2007, doi: 10.1128/JB.00727-07.
- [18] B. Becker, X. Feng, Y. Yin, and A. Holzinger, ‘Desiccation tolerance in streptophyte algae and the algae to land plant transition: Evolution of LEA and MIP protein families within the Viridiplantae’, *J Exp Bot*, vol. 71, no. 11, pp. 3270–3278, Jun. 2020, doi: 10.1093/jxb/eraa105.
- [19] D. W. Gray, L. A. Lewis, and Z. G. Cardon, ‘Photosynthetic recovery following desiccation of desert green algae (Chlorophyta) and their aquatic relatives.’, *Plant Cell Environ*, vol. 30, no. 10, pp. 1240–1255, Oct. 2007, doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01704.x.
- [20] F. A. Hoekstra, E. A. Golovina, and J. Buitink, ‘Mechanisms of plant desiccation tolerance’, *Trends Plant Sci*, vol. 6, no. 9, pp. 431–438, 2001, doi: 10.1016/S1360-1385(01)02052-0.
- [21] B. Fernandez-Marin, A. Holzinger, and J. I. García-Plazaola, ‘Photosynthetic strategies of desiccation-tolerant organisms’, in *Handbook of Photosynthesis*, Third., M. Pessarakli, Ed., 2016, pp. 719–738.
- [22] D. T. Welsh, ‘Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate’, *FEMS Microbiol Rev*, vol. 24, no. 3, pp. 263–290, 2000, doi: 10.1111/j.1574-6976.2000.tb00542.x.
- [23] A. Holzinger and M. Pichrtová, ‘Abiotic stress tolerance in charophyte green algae: New challenges for omics techniques’, *Front Plant Sci*, vol. 7, no. 678, pp. 1–17, 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.00678.
- [24] M. Kumar *et al.*, ‘Desiccation induced oxidative stress and its biochemical responses in intertidal red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta)’, *Environ Exp Bot*, vol. 72, no. 2, pp. 194–201, Sep. 2011, doi: 10.1016/j.envexpbot.2011.03.007.
- [25] R. Scheibe and E. Beck, ‘Drought, Desiccation, and Oxidative Stress’, in *Plant Desiccation Tolerance*, vol. 215, 2011, pp. 209–231. doi: 10.1007/978-3-642-19106-0_11.
- [26] P. C. Wieners, O. Mudimu, and W. Bilger, ‘Desiccation-induced non-radiative dissipation in isolated green lichen algae’, *Photosynth Res*, vol. 113, no. 1–3, pp. 239–247, Sep. 2012, doi: 10.1007/s11120-012-9771-4.
- [27] M. A. Bisson and G. O. Kirst, ‘Osmotic Acclimation and Turgor Pressure Regulation in Algae’, *Naturwissenschaften*, vol. 82, pp. 461–471, 1995, doi: 10.1007/BF01131597.
- [28] A. Holzinger, C. Lütz, and U. Karsten, ‘Desiccation stress causes structural and ultrastructural alterations in the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium crenulatum* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) isolated from an alpine soil crust’, *J Phycol*, vol. 47, no. 3, pp. 591–602, Jun. 2011, doi: 10.1111/j.1529-8817.2011.00980.x.
- [29] K. Lajos, S. Mayr, O. Buchner, K. Blaas, and A. Holzinger, ‘A new microscopic method to analyse desiccation-induced volume changes in aeroterrestrial green algae’, *J Microsc*, vol. 263, no. 2, pp. 192–199, Aug. 2016, doi: 10.1111/jmi.12409.

- [30] F. Kaplan, L. A. Lewis, J. Wastian, and A. Holzinger, ‘Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta)’, *Protoplasma*, vol. 249, no. 3, pp. 789–804, Jul. 2012, doi: 10.1007/s00709-011-0324-z.
- [31] J. Buitink, M. A. Hemminga, and F. A. Hoekstra, ‘Characterization of molecular mobility in seed tissues: An electron paramagnetic resonance spin probe study’, *Biophys J*, vol. 76, no. 6, pp. 3315–3322, 1999, doi: 10.1016/S0006-3495(99)77484-9.
- [32] J. Buitink and O. Leprince, ‘Intracellular glasses and seed survival in the dry state’, *C R Biol*, vol. 331, no. 10, pp. 788–795, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.crvi.2008.08.002.
- [33] J. Wiltens, U. Schreiber, and W. Vidaver, ‘Chlorophyll fluorescence induction: an indicator of photosynthetic activity in marine algae undergoing desiccation’, *Canadian Journal of Botany*, vol. 56, no. 2, pp. 2787–2794, 1978, doi: 10.1139/b78-334.
- [34] A. D. Hanson, C. S. Henry, O. Fiehn, and V. De Crécy-Lagard, ‘Metabolite Damage and Metabolite Damage Control in Plants’, *Annu Rev Plant Biol*, vol. 67, pp. 131–152, Apr. 2016, doi: 10.1146/annurev-arplant-043015-111648.
- [35] E.-M. Aro, I. Virgin, and B. Andersson, ‘Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover’, *Biochim Biophys Acta*, vol. 1143, no. 2, pp. 113–134, 1993, doi: 10.1016/0005-2728(93)90134-2.
- [36] S. Takahashi and N. Murata, ‘How do environmental stresses accelerate photoinhibition?’, *Trends Plant Sci*, vol. 13, no. 4, pp. 178–182, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.tplants.2008.01.005.
- [37] B. Halliwell, ‘Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life’, *Plant Physiol*, vol. 141, no. 2, pp. 312–322, 2006, doi: 10.1104/pp.106.077073.
- [38] C. Dinakar, D. Djilianov, and D. Bartels, ‘Photosynthesis in desiccation tolerant plants: Energy metabolism and antioxidative stress defense’, *Plant Science*, vol. 182, no. 1, pp. 29–41, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.plantsci.2011.01.018.
- [39] B. Halliwell, ‘Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts’, *Chem Phys Lipids*, vol. 44, pp. 327–340, 1987, doi: 10.1016/0009-3084(87)90056-9.
- [40] W. M. Kaiser, ‘Reversible inhibition of the calvin cycle and activation of oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide’, *Planta*, vol. 145, no. 4, pp. 377–382, 1979, doi: 10.1007/BF00388364.
- [41] F. C. Carniel *et al.*, ‘New features of desiccation tolerance in the lichen photobiont *Trebouxia gelatinosa* are revealed by a transcriptomic approach’, *Plant Mol Biol*, vol. 91, no. 3, pp. 319–339, Jun. 2016, doi: 10.1007/s11103-016-0468-5.
- [42] J. H. Crowe, F. A. Hoekstra, and L. M. Crowe, ‘Anhydrobiosis’, *Annu Rev Physiol*, vol. 54, pp. 579–599, 1992, doi: 10.1146/annurev.ph.54.030192.003051.
- [43] L. A. Lewis, ‘Chlorophyta on Land’, in *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*, 2007, pp. 569–582. doi: 10.1007/978-1-4020-6112-7_31.
- [44] L. Gustavs, M. Görs, and U. Karsten, ‘Polyol patterns in biofilm-forming aeroterrestrial green algae (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)’, *J Phycol*, vol. 47, no. 3, pp. 533–537, Jun. 2011, doi: 10.1111/j.1529-8817.2011.00979.x.
- [45] U. Karsten and F. Rindi, ‘Ecophysiological performance of an urban strain of the aeroterrestrial green alga *Klebsormidium* sp. (Klebsormidiales, Klebsormidiophyceae)’, *Eur J Phycol*, vol. 45, no. 4, pp. 426–435, Nov. 2010, doi: 10.1080/09670262.2010.498587.
- [46] U. Karsten and A. Holzinger, ‘Green algae in alpine biological soil crust communities: Acclimation strategies against ultraviolet radiation and dehydration’, *Biodivers Conserv*, vol. 23, no. 7, pp. 1845–1858, 2014, doi: 10.1007/s10531-014-0653-2.

- [47] S. Aigner, D. Remias, U. Karsten, and A. Holzinger, ‘Unusual phenolic compounds contribute to ecophysiological performance in the purple-colored green alga *Zygonium ericetorum* (Zygnematophyceae, Streptophyta) from a high-alpine habitat’, *J Phycol*, vol. 49, no. 4, pp. 648–660, 2013, doi: 10.1111/jpy.12075.
- [48] G. H. Kim, M. Yoon, and T. A. Klotchkova, ‘A moving mat: Phototaxis in the filamentous green algae *Spirogyra* (Chlorophyta, Zygnemataceae)’, *J Phycol*, vol. 41, no. 2, pp. 232–237, Apr. 2005, doi: 10.1111/j.1529-8817.2005.03234.x.
- [49] K. Bischof, G. Peralta, G. Kräbs, W. H. Van de Poll, J. L. Pérez-Lloréns, and A. M. Breeman, ‘Effects of solar UV-B radiation on canopy structure of *Ulva* communities from southern Spain’, *J Exp Bot*, vol. 53, no. 379, pp. 2411–2421, 2002, doi: 10.1093/jxb/erf091.
- [50] J. Belnap, B. Büdel, and O. L. Lange, ‘Biological Soil Crusts: Characteristics and Distribution’, in *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*, 2001, pp. 3–30. doi: 10.1007/978-3-642-56475-8_1.
- [51] N. Kamiya, M. Tazawa, and T. Takata, ‘Water permeability of the cell wall in *Nitella*’, *Plant Cell Physiol*, vol. 3, no. 3, pp. 285–292, Sep. 1962, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078964.
- [52] M. O. Morison and R. G. Sheath, ‘Responses to desiccation stress by *Klebsormidium rivulare* (Ulotrichales, Chlorophyta) from a Rhode Island stream’, *Phycologia*, vol. 24, no. 2, pp. 129–145, 1985, doi: 10.2216/i0031-8884-24-2-129.1.
- [53] C. L. Fuller, ‘Examining morphological and physiological changes in *Zygnema irregulare* during a desiccation and recovery period’, Master’s Thesis, California State University San Marcos, 2013.
- [54] K. Herburger, A. Xin, and A. Holzinger, ‘Homogalacturonan accumulation in cell walls of the green alga *Zygnema* sp. (charophyta) increases desiccation resistance’, *Front Plant Sci*, vol. 10, Apr. 2019, doi: 10.3389/fpls.2019.00540.
- [55] M. Eder and U. Lütz-Meindl, ‘Analyses and localization of pectin-like carbohydrates in cell wall and mucilage of the green alga *Netrium digitus*’, *Protoplasma*, vol. 243, no. 1, pp. 25–38, Jul. 2010, doi: 10.1007/s00709-009-0040-0.
- [56] D. C. Centeno, A. F. Hell, M. R. Braga, E. M. del Campo, and L. M. Casano, ‘Contrasting strategies used by lichen microalgae to cope with desiccation-rehydration stress revealed by metabolite profiling and cell wall analysis’, *Environ Microbiol*, vol. 18, no. 5, pp. 1546–1560, May 2016, doi: 10.1111/1462-2920.13249.
- [57] K. L. Shephard, ‘Evaporation of water from the mucilage of a gelatinous algal community’, *British Phycological Journal*, vol. 22, no. 2, pp. 181–185, 1987, doi: 10.1080/00071618700650221.
- [58] G. Hoon Kim *et al.*, ‘Freshwater and terrestrial algae from Ny-Ålesund and Blomstrandhalvøya island (Svalbard)’, *Arctic*, vol. 64, no. 1, pp. 25–31, 2011, doi: 10.14430/arctic4077.
- [59] M. Pichrtová, J. Kulichová, and A. Holzinger, ‘Nitrogen limitation and slow drying induce desiccation tolerance in conjugating green algae (Zygnematophyceae, Streptophyta) from polar habitats.’, *PLoS One*, vol. 9, no. 11, p. e113137, Jan. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0113137.
- [60] U. Karsten, K. Herburger, and A. Holzinger, ‘Dehydration, temperature, and light tolerance in members of the aeroterrestrial green algal genus *Interfilum* (Streptophyta) from biogeographically different temperate soils’, *J Phycol*, vol. 50, no. 5, pp. 804–816, Oct. 2014, doi: 10.1111/jpy.12210.
- [61] P. Škaloud, ‘Species composition and diversity of aero-terrestrial algae and cyanobacteria of the Boreč Hill ventaroles’, *Fottea*, vol. 9, no. 1, pp. 65–80, 2009, doi: 10.5507/fot.2009.006.

- [62] D. S. Domozych, M. Ciancia, J. U. Fangel, M. D. Mikkelsen, P. Ulvskov, and W. G. T. Willats, 'The cell walls of green algae: A journey through evolution and diversity', *Front Plant Sci*, vol. 3, May 2012, doi: 10.3389/fpls.2012.00082.
- [63] S. Hayat, Q. Hayat, M. N. Alyemni, A. S. Wani, J. Pichtel, and A. Ahmad, 'Role of proline under changing environments', *Plant Signal Behav*, vol. 7, no. 11, pp. 1456–1466, Nov. 2012, doi: 10.4161/psb.21949.
- [64] C. Medwed *et al.*, 'Ecophysiological, morphological, and biochemical traits of free-living *Diplosphaera chodatii* (Trebouxiophyceae) reveal adaptation to harsh environmental conditions', *Protoplasma*, vol. 258, no. 6, pp. 1187–1199, 2021, doi: 10.1007/s00709-021-01620-6.
- [65] R. H. Reed, D. L. Richardson, S. R. C. Warr, and W. D. P. Stewart, 'Carbohydrate Accumulation and Osmotic Stress in Cyanobacteria', *Microbiology (N Y)*, vol. 130, no. 1, pp. 1–4, Jan. 1984, doi: 10.1099/00221287-130-1-1.
- [66] S. Aigner, E. Arc, M. Schletter, U. Karsten, A. Holzinger, and I. Kranner, 'Metabolite Profiling in Green Microalgae with Varying Degrees of Desiccation Tolerance', *Microorganisms*, vol. 10, no. 5, 2022, doi: 10.3390/microorganisms10050946.
- [67] A. Holzinger, F. Kaplan, K. Blaas, B. Zechmann, K. Komsic-Buchmann, and B. Becker, 'Transcriptomics of desiccation tolerance in the streptophyte green alga *Klebsormidium* reveal a land plant-like defense reaction', *PLoS One*, vol. 9, no. 10, Oct. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0110630.
- [68] L. Gustavs, A. Eggert, D. Michalik, and U. Karsten, 'Physiological and biochemical responses of green microalgae from different habitats to osmotic and matric stress', *Protoplasma*, vol. 243, pp. 3–14, 2010, doi: 10.1007/s00709-009-0060-9.
- [69] L. M. Brown and J. A. Hellebust, 'Sorbitol and proline as intracellular osmotic solutes in the green alga *Stichococcus bacillaris*', *Canadian Journal of Botany*, vol. 56, no. 6, pp. 676–679, Mar. 1978, doi: 10.1139/b78-074.
- [70] A. K. Cowan, P. D. Rose, and L. G. Horne, '*Dunaliella salina*: A model System for Studying the Response of Plant Cells to Stress', *J Exp Bot*, vol. 43, no. 12, pp. 1535–1547, 1992, doi: 10.1093/jxb/43.12.1535.
- [71] P. D. Hare, W. A. Cress, and J. Van Staden, 'Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress', *Plant Cell Environ*, vol. 21, pp. 535–553, 1998, doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x.
- [72] U. Karsten, J. A. West, G. Zuccarello, and G. O. Kirst, 'Physiological ecotypes in the marine alga *Bostrychia radicans* (Ceramiales, Rhodophyta) from the east coast of the U.S.A.', *J Phycol*, vol. 30, no. 2, pp. 174–182, Apr. 1994, doi: 10.1111/j.0022-3646.1994.00174.x.
- [73] D. J. Roser, D. R. Melick, H. U. Ling, and R. D. Seppelt, 'Polyol and sugar content of terrestrial plants from continental Antarctica', *Antarct Sci*, vol. 4, no. 4, pp. 4–13, 1992, doi: 10.1017/S0954102092000610.
- [74] N. Noiraud, L. Maurousset, and R. Lemoine, 'Transport of polyols in higher plants', *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 39, no. 9, pp. 717–728, Sep. 2001, doi: 10.1016/S0981-9428(01)01292-X.
- [75] A. Holzinger, K. Herburger, F. Kaplan, and L. A. Lewis, 'Desiccation tolerance in the chlorophyte green alga *Ulva compressa*: does cell wall architecture contribute to ecological success?', *Planta*, vol. 242, no. 2, pp. 477–492, Aug. 2015, doi: 10.1007/s00425-015-2292-6.

- [76] I. Sørensen *et al.*, ‘The charophycean green algae provide insights into the early origins of plant cell walls’, *Plant Journal*, vol. 68, no. 2, pp. 201–211, Oct. 2011, doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04686.x.
- [77] Y. Neeragunda Shivaraj *et al.*, ‘Perspectives on structural, physiological, cellular, and molecular responses to desiccation in resurrection plants’, *Scientifica*, vol. 2018. Hindawi Limited, 2018. doi: 10.1155/2018/9464592.
- [78] J. P. Moore *et al.*, ‘Arabinose-rich polymers as an evolutionary strategy to plasticize resurrection plant cell walls against desiccation’, *Planta*, vol. 237, no. 3, pp. 739–754, Mar. 2013, doi: 10.1007/s00425-012-1785-9.
- [79] K. Vannerum *et al.*, ‘Transcriptional analysis of cell growth and morphogenesis in the unicellular green alga *Micrasterias* (Streptophyta), with emphasis on the role of expansin’, *BMC Plant Biol*, vol. 11, no. 1, p. 128, Dec. 2011, doi: 10.1186/1471-2229-11-128.
- [80] B. Wang, M. Andargie, and R. Fang, ‘The function and biosynthesis of callose in high plants’, *Heliyon*, vol. 8, no. 4, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09248.
- [81] P. Steiner, S. Obwegeser, G. Wanner, O. Buchner, U. Lütz-Meindl, and A. Holzinger, ‘Cell Wall Reinforcements Accompany Chilling and Freezing Stress in the Streptophyte Green Alga *Klebsormidium crenulatum*’, *Front Plant Sci*, vol. 11, Jun. 2020, doi: 10.3389/fpls.2020.00873.
- [82] K. Herburger and A. Holzinger, ‘Localization and Quantification of Callose in the Streptophyte Green Algae *Zygnema* and *Klebsormidium*: Correlation with Desiccation Tolerance’, *Plant Cell Physiol*, vol. 56, no. 11, pp. 2259–2270, 2015, doi: 10.1093/pcp/pcv139.
- [83] D. P. S. Verma and Z. Hong, ‘Plant callose synthase complexes’, *Plant Mol Biol*, vol. 47, no. 6, pp. 693–701, 2001, doi: 10.1023/A:1013679111111.
- [84] F. Gasulla *et al.*, ‘The response of *Asterochloris erici* (Ahmadjian) Skaloud et Peksa to desiccation: A proteomic approach’, *Plant Cell Environ*, vol. 36, no. 7, pp. 1363–1378, Jul. 2013, doi: 10.1111/pce.12065.
- [85] K. Herburger, L. A. Lewis, and A. Holzinger, ‘Photosynthetic efficiency, desiccation tolerance and ultrastructure in two phylogenetically distinct strains of alpine *Zygnema* sp. (Zygnematophyceae, Streptophyta): role of pre-akinete formation’, *Protoplasma*, vol. 252, no. 2, pp. 571–589, Mar. 2015, doi: 10.1007/s00709-014-0703-3.
- [86] C. Vander Willigen, N. W. Pammenter, S. G. Mundree, and J. M. Farrant, ‘Mechanical stabilization of desiccated vegetative tissues of the resurrection grass *Eragrostis nindensis*: does a TIP 3;1 and/or compartmentalization of subcellular components and metabolites play a role?’, *J Exp Bot*, vol. 55, no. 397, pp. 651–661, Jan. 2004, doi: 10.1093/jxb/erh089.
- [87] W. S. Iljin, ‘Drought Resistance in Plants and Physiological Processes’, *Annu Rev Plant Physiol*, vol. 8, no. 1, pp. 257–274, Jun. 1957, doi: 10.1146/annurev.pp.08.060157.001353.
- [88] C. Walters and K. L. Koster, ‘Structural Dynamics and Desiccation Damage in Plant Reproductive Organs’, in *Plant Desiccation Tolerance*, 2007, pp. 251–280. doi: 10.1002/9780470376881.ch9.
- [89] E. F. Terlova, A. Holzinger, and L. A. Lewis, ‘Terrestrial Green Algae Show Higher Tolerance to Dehydration than Do Their Aquatic Sister-Species’, *Microb Ecol*, vol. 82, no. 3, pp. 770–782, Oct. 2021, doi: 10.1007/s00248-020-01679-3.
- [90] M. I. Arzac, B. Fernández-Marín, and J. I. García-Plazaola, ‘More than just lipid balls: quantitative analysis of plastoglobule attributes and their stress-related responses’, *Planta*, vol. 255, no. 3, Mar. 2022, doi: 10.1007/s00425-022-03848-9.

- [91] M. Havaux and J. I. García-Plazaola, ‘Beyond Non-Photochemical Fluorescence Quenching: The Overlapping Antioxidant Functions of Zeaxanthin and Tocopherols’, in *Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria*, vol. 40, B. Demmig-Addams and G. Garab, Eds., Springer, Dordrecht, 2014, pp. 583–603. doi: 10.1007/978-94-017-9032-1_26.
- [92] U. Heber and V. A. Shuvalov, ‘Photochemical reactions of chlorophyll in dehydrated Photosystem II: two chlorophyll forms (680 and 700 nm)’, *Photosynth Res*, vol. 84, pp. 85–91, 2005, doi: 10.1007/s11120-005-0413-y.
- [93] M. Kobayashi, T. Kakizono, N. Nishio, S. Nagai, Y. Kurimura, and Y. Tsuji, ‘Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*’, *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 48, no. 3, pp. 351–356, Sep. 1997, doi: 10.1007/s002530051061.
- [94] S. Boussiba, ‘Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular physiology and stress response’, *Physiol Plant*, vol. 108, pp. 111–117, 2000, doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x.
- [95] B. Fernández-Marín, L. Balaguer, R. Esteban, J. M. Becerril, and J. I. García-Plazaola, ‘Dark induction of the photoprotective xanthophyll cycle in response to dehydration’, *J Plant Physiol*, vol. 166, no. 16, pp. 1734–1744, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.jplph.2009.04.019.
- [96] T. Roach, N. Böck, N. Rittmeier, E. Arc, I. Kranner, and A. Holzinger, ‘Acquisition of desiccation tolerance in *Haematococcus pluvialis* requires photosynthesis and coincides with lipid and astaxanthin accumulation’, *Algal Res*, vol. 64, May 2022, doi: 10.1016/j.algal.2022.102699.
- [97] S. Boussiba, W. Bing, J.-P. Yuan, A. Zarka, and F. Chen, ‘Changes in pigments profile in the green alga *Haematococcus pluvialis* exposed to environmental stresses’, *Biotechnol Lett*, vol. 21, no. 7, pp. 601–604, 1999, doi: 10.1023/A:1005507514694.
- [98] I. Szabó, E. Bergantino, and G. M. Giacometti, ‘Light and oxygenic photosynthesis: Energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation’, *EMBO Rep*, vol. 6, no. 7, pp. 629–634, Jul. 2005, doi: 10.1038/sj.embor.7400460.
- [99] M. Havaux, J.-P. Bonfils, C. Lütz, and K. K. Niyogi, ‘Photodamage of the Photosynthetic Apparatus and Its Dependence on the Leaf Developmental Stage in the npq1 Arabidopsis Mutant Deficient in the Xanthophyll Cycle Enzyme Violaxanthin De-epoxidase’, *Plant Physiol*, vol. 124, no. 1, pp. 273–284, Sep. 2000, doi: 10.1104/pp.124.1.273.
- [100] M. Havaux, F. Eymery, S. Porfirova, P. Rey, and P. Dörmann, ‘Vitamin E Protects against Photoinhibition and Photooxidative Stress in Arabidopsis thaliana’, *Plant Cell*, vol. 17, no. 12, pp. 3451–3469, Dec. 2005, doi: 10.1105/tpc.105.037036.
- [101] S. R. Fahrenholtz, F. H. Doleiden, A. M. Trozzolo, and A. A. Lamola, ‘On the quenching of singlet oxygen by α -tocopherol’, *Photochem Photobiol*, vol. 20, no. 6, pp. 505–509, Dec. 1974, doi: 10.1111/j.1751-1097.1974.tb06610.x.
- [102] J. Atkinson, R. F. Epand, and R. M. Epand, ‘Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review’, *Free Radic Biol Med*, vol. 44, no. 5, pp. 739–764, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.010.
- [103] M. Rezayian, V. Niknam, and H. Ebrahimzadeh, ‘Oxidative damage and antioxidative system in algae’, *Toxicol Rep*, vol. 6, pp. 1309–1313, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.toxrep.2019.10.001.
- [104] C. H. Foyer and K. Kunert, ‘The ascorbate–glutathione cycle coming of age’, *J Exp Bot*, Jan. 2024, doi: 10.1093/jxb/erae023.
- [105] W. M. Bandaranayake, ‘Mycosporines: are they nature’s sunscreens?’, *Nat Prod Rep*, vol. 15, no. 2, pp. 159–172, 1998, doi: 10.1039/a815159y.

- [106] A. Hartmann, K. Glaser, A. Holzinger, M. Ganzera, and U. Karsten, ‘Klebsormidin A and B, Two New UV-Sunscreen Compounds in Green Microalgal *Interfilum* and *Klebsormidium* Species (Streptophyta) From Terrestrial Habitats’, *Front Microbiol*, vol. 11, no. 499, Mar. 2020, doi: 10.3389/fmicb.2020.00499.
- [107] H. Kageyama and R. Waditee-Sirisattha, ‘Antioxidative, Anti-Inflammatory, and Anti-Aging Properties of Mycosporine-Like Amino Acids: Molecular and Cellular Mechanisms in the Protection of Skin-Aging’, *Mar Drugs*, vol. 17, no. 4, p. 222, Apr. 2019, doi: 10.3390/md17040222.
- [108] F. Q. Schafer and G. R. Buettner, ‘Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple’, *Free Radic Biol Med*, vol. 30, no. 11, pp. 1191–1212, Jun. 2001, doi: 10.1016/S0891-5849(01)00480-4.
- [109] D. Chen, Q. Shao, L. Yin, A. Younis, and B. Zheng, ‘Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses’, *Front Plant Sci*, vol. 9, Jan. 2019, doi: 10.3389/fpls.2018.01945.
- [110] C. Jimenez-Lopez *et al.*, ‘Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits’, *Food Chem*, vol. 341, p. 128262, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128262.
- [111] U. Takahama, ‘Redox Reactions between Kaempferol and Illuminated Chloroplasts’, *Plant Physiol*, vol. 71, no. 3, pp. 598–601, Mar. 1983, doi: 10.1104/pp.71.3.598.
- [112] B. Orthen, M. Popp, and N. Smirnoff, ‘Hydroxyl radical scavenging properties of cyclitols’, *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences*, vol. 102, pp. 269–272, Dec. 1994, doi: 10.1017/S0269727000014226.
- [113] M. Rippin, B. Becker, and A. Holzinger, ‘Enhanced desiccation tolerance in mature cultures of the streptophytic green alga *Zygnema circumcarinatum* revealed by transcriptomics’, *Plant Cell Physiol*, vol. 58, no. 12, pp. 2067–2084, Dec. 2017, doi: 10.1093/pcp/pcx136.
- [114] J. H. Crowe, L. M. Crowe, J. F. Carpenter, and C. Aurell Wistrom, ‘Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars’, *Biochemical Journal*, vol. 242, no. 1, pp. 1–10, Feb. 1987, doi: 10.1042/bj2420001.
- [115] J. F. Carpenter and J. H. Crowe, ‘An infrared spectroscopic study of the interactions of carbohydrates with dried proteins’, *Biochemistry*, vol. 28, no. 9, pp. 3916–3922, May 1989, doi: 10.1021/bi00435a044.
- [116] A. Banerjee and A. Roychoudhury, ‘Group II late embryogenesis abundant (LEA) proteins: structural and functional aspects in plant abiotic stress’, *Plant Growth Regulation*, vol. 79, no. 1. Springer Netherlands, pp. 1–17, May 01, 2016. doi: 10.1007/s10725-015-0113-3.
- [117] K. Goyal, L. J. Walton, and A. Tunnacliffe, ‘LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress’, *Biochem J*, vol. 388, pp. 151–157, 2005, doi: 10.1042/BJ20041931.
- [118] G. J. Lee, N. Pokala, and E. Vierling, ‘Structure and in Vitro Molecular Chaperone Activity of Cytosolic Small Heat Shock Proteins from Pea’, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, no. 18, pp. 10432–10438, May 1995, doi: 10.1074/jbc.270.18.10432.
- [119] F.-F. Liu, L. Ji, L. Zhang, X.-Y. Dong, and Y. Sun, ‘Molecular basis for polyol-induced protein stability revealed by molecular dynamics simulations’, *J Chem Phys*, vol. 132, no. 22, Jun. 2010, doi: 10.1063/1.3453713.
- [120] J. Buitink and O. Leprince, ‘Glass formation in plant anhydrobiotes: Survival in the dry state’, *Cryobiology*, vol. 48, no. 3, pp. 215–228, Jun. 2004, doi: 10.1016/j.cryobiol.2004.02.011.

- [121] E. L. Peredo and Z. G. Cardon, ‘Shared up-regulation and contrasting down-regulation of gene expression distinguish desiccation-tolerant from intolerant green algae’, *Proceedings of the National Academy of Science*, vol. 117, no. 29, pp. 17438–17445, 2020, doi: 10.1073/pnas.1906904117/-/DCSupplemental.
- [122] M. J. Oliver, R. Jain, T. S. Balbuena, G. Agrawal, F. Gasulla, and J. J. Thelen, ‘Proteome analysis of leaves of the desiccation-tolerant grass, *Sporobolus stapfianus*, in response to dehydration’, *Phytochemistry*, vol. 72, no. 10, pp. 1273–1284, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.phytochem.2010.10.020.
- [123] D. Remias, A. Holzinger, S. Aigner, and C. Lütz, ‘Ecophysiology and ultrastructure of *Ancylonema nordenskiöldii* (Zygnematales, Streptophyta), causing brown ice on glaciers in Svalbard (high arctic)’, *Polar Biol*, vol. 35, no. 6, pp. 899–908, Jun. 2012, doi: 10.1007/s00300-011-1135-6.
- [124] L. Procházková, T. Řezanka, L. Nedbalová, and D. Remias, ‘Unicellular versus Filamentous: The Glacial Alga *Ancylonema alaskana* comb. et stat. nov. and Its Ecophysiological Relatedness to *Ancylonema nordenskiöldii* (Zygnematophyceae, Streptophyta)’, *Microorganisms*, vol. 9, no. 5, p. 1103, May 2021, doi: 10.3390/microorganisms9051103.
- [125] C. H. Wellman and P. K. Strother, ‘The terrestrial biota prior to the origin of land plants (embryophytes): A review of the evidence’, *Palaeontology*, vol. 58, no. 4, pp. 601–627, Jul. 2015, doi: 10.1111/pala.12172.
- [126] A. M. C. Bowles, J. Paps, and U. Bechtold, ‘Evolutionary Origins of Drought Tolerance in Spermatophytes’, *Front Plant Sci*, vol. 12, Jun. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.655924.
- [127] C. Jackson, A. H. Knoll, C. X. Chan, and H. Verbruggen, ‘Plastid phylogenomics with broad taxon sampling further elucidates the distinct evolutionary origins and timing of secondary green plastids’, *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-017-18805-w.
- [128] A. Del Cortona and F. Leliaert, ‘Molecular evolution and morphological diversification of ulvophytes (Chlorophyta)’, *Perspectives in Phycology*, vol. 5, no. 1, pp. 27–43, Jun. 2018, doi: 10.1127/pip/2017/0075.
- [129] F. Rindi, J. M. López-Bautista, A. R. Sherwood, and M. D. Guiry, ‘Morphology and phylogenetic position of *Spongiochrysis hawaiiensis* gen. et sp. nov., the first known terrestrial member of the order Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta)’, *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 56, no. 4, pp. 913–922, Apr. 2006, doi: 10.1099/ijms.0.63977-0.
- [130] F. Lutzoni and J. Miadlikowska, ‘Lichens’, *Current Biology*, vol. 19, no. 13, pp. R502–R503, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.cub.2009.04.034.
- [131] H. Reisiigl, ‘Zur Systematik und Ökologie alpiner Bodenalgae’, *Österreichische Botanische Zeitschrift*, vol. 111, no. 4, pp. 402–499, Aug. 1964, doi: 10.1007/BF01372910.
- [132] V. Hotter, K. Glaser, A. Hartmann, M. Ganzera, and U. Karsten, ‘Polyols and UV-sunscreens in the Prasiola-clade (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) as metabolites for stress response and chemotaxonomy’, *J Phycol*, vol. 54, no. 2, pp. 264–274, Apr. 2018, doi: 10.1111/jpy.12619.
- [133] L. A. Gaysina, ‘Influence of pH on the Morphology and Cell Volume of Microscopic Algae, Widely Distributed in Terrestrial Ecosystems’, *Plants*, vol. 13, no. 3, p. 357, Jan. 2024, doi: 10.3390/plants13030357.
- [134] O. C. DöNZ, ‘*Chlorella zofingiensis*, eine neue Bodenalge’, *Berichte der Schweizerischen Gesellschaft*, vol. 43, no. 1, pp. 127–131, 1934.
- [135] T. A. Klochkova, S.-H. Kang, G. Y. Cho, C. M. Pueschel, J. A. West, and G. H. Kim, ‘Biology of a terrestrial green alga, *Chlorococcum* sp. (Chlorococcales, Chlorophyta), collected from

- the Miruksazi stupa in Korea’, *Phycologia*, vol. 45, no. 3, pp. 349–358, May 2006, doi: 10.2216/04-58.1.
- [136] E. Fjerdningstad and K. Kemp, ‘Trace element analyses of *Chlamydomonas sanguinea* lagerh. Found at the “Steingletscher” glacier, Switzerland’, *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, vol. 37, no. 2, pp. 370–375, Sep. 1975, doi: 10.1007/BF02503412.
- [137] A. J. Brook, ‘Occurrence of the Terrestrial Alga, *Fritschiella tuberosa*, Iyengar, in Africa’, *Nature*, vol. 169, no. 4305, pp. 754–754, May 1952, doi: 10.1038/169754a0.
- [138] A. K. Mahato, ‘On two new terrestrial species of *Oedogonium* (Chlorophyceae, Oedogoniales)’, *Feddes Repert*, vol. 110, no. 5–6, pp. 465–470, Jan. 1999, doi: 10.1002/fedr.19991100519.
- [139] Y. Němcová, M. Eliáš, P. Škaloud, L. Hodač, and J. Neustupa, ‘*Jenufa* gen. nov.: A new genus of coccoid green algae (Chlorophyceae, incertae sedis) previously recorded by environmental sequencing’, *J Phycol*, vol. 47, no. 4, pp. 928–938, Aug. 2011, doi: 10.1111/j.1529-8817.2011.01009.x.
- [140] M. Pierangelini, D. Ryšánek, I. Lang, W. Adlassnig, and A. Holzinger, ‘Terrestrial adaptation of green algae *Klebsormidium* and *Zygnema* (Charophyta) involves diversity in photosynthetic traits but not in CO₂ acquisition’, *Planta*, vol. 246, no. 5, pp. 971–986, 2017, doi: 10.1007/s00425-017-2741-5.
- [141] C. E. Rogers, K. R. Mattox, and K. D. Stewart, ‘The Zoospore of *Chlorokybus Atmophyticus*, a Charophyte with Sarcinoid Growth Habit’, *Am J Bot*, vol. 67, no. 5, p. 774, May 1980, doi: 10.2307/2442669.
- [142] Y. Yoshimura, S. Kohshima, and S. Ohtani, ‘A Community of Snow Algae on a Himalayan Glacier: Change of Algal Biomass and Community Structure with Altitude’, *Arctic and Alpine Research*, vol. 29, no. 1, pp. 126–137, 1997, doi: 10.1080/00040851.1997.12003222.
- [143] C. K. Lunch, A. M. Lafountain, S. Thomas, H. A. Frank, L. A. Lewis, and Z. G. Cardon, ‘The xanthophyll cycle and NPQ in diverse desert and aquatic green algae’, *Photosynth Res*, vol. 115, no. 2–3, pp. 139–151, Jul. 2013, doi: 10.1007/s11120-013-9846-x.
- [144] U. Karsten, T. Pröschold, T. Mikhailyuk, and A. Holzinger, ‘Photosynthetic performance of different genotypes of the green alga *Klebsormidium* sp. (Streptophyta) isolated from biological soil crusts of the Alps’, *Arch Hydrobiol Suppl Algal Stud*, vol. 142, pp. 45–62, May 2013, doi: 10.1127/1864-1318/2013/0102.
- [145] U. Karsten, T. Friedl, R. Schumann, K. Hoyer, and S. Lembecke, ‘Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta)’, *J Phycol*, vol. 41, no. 3, pp. 557–566, Jun. 2005, doi: 10.1111/j.1529-8817.2005.00081.x.
- [146] A. F. Hell *et al.*, ‘Polyols-related gene expression is affected by cyclic desiccation in lichen microalgae’, *Environ Exp Bot*, vol. 185, May 2021, doi: 10.1016/j.envexpbot.2021.104397.
- [147] W. A. Marshall and M. O. Chalmers, ‘Airborne dispersal of antarctic terrestrial algae and cyanobacteria’, *Ecography*, vol. 20, no. 6, pp. 585–594, Dec. 1997, doi: 10.1111/j.1600-0587.1997.tb00427.x.
- [148] F. Gasulla, P. G. De Nova, A. Esteban-Carrasco, J. M. Zapata, E. Barreno, and A. Guéra, ‘Dehydration rate and time of desiccation affect recovery of the lichenic algae *Trebouxia erici*: Alternative and classical protective mechanisms’, *Planta*, vol. 231, no. 1, pp. 195–208, 2009, doi: 10.1007/s00425-009-1019-y.
- [149] U. Karsten and A. Holzinger, ‘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', *Microb Ecol*, vol. 63, no. 1, pp. 51–63, Jan. 2012, doi: 10.1007/s00248-011-9924-6.
- [150] M. Pichrtová, T. Hájek, and J. Elster, 'Osmotic stress and recovery in field populations of *Zygnema* sp. (Zygnematophyceae, Streptophyta) on Svalbard (High Arctic) subjected to natural desiccation', *FEMS Microbiol Ecol*, vol. 89, no. 2, pp. 270–280, 2014, doi: 10.1111/1574-6941.12288.
- [151] K. Vávrová, Y. Němcová, and M. Pichrtová, 'Desiccation and temperature tolerance of green and red *Haematococcus lacustris* (Chlamydomonadales, Chlorophyta) akinetes', *Hydrobiologia*, vol. 851, no. 5, pp. 1169–1181, Mar. 2024, doi: 10.1007/s10750-023-05381-6.
- [152] H. Chen, Y. Zheng, J. Zhan, C. He, and Q. Wang, 'Comparative metabolic profiling of the lipid-producing green microalga *Chlorella* reveals that nitrogen and carbon metabolic pathways contribute to lipid metabolism', *Biotechnol Biofuels*, vol. 10, no. 153, 2017, doi: 10.1186/s13068-017-0839-4.
- [153] X. Li *et al.*, 'A galactoglycerolipid lipase is required for triacylglycerol accumulation and survival following nitrogen deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*', *Plant Cell*, vol. 24, no. 11, pp. 4670–4686, 2012, doi: 10.1105/tpc.112.105106.
- [154] R. Miller *et al.*, 'Changes in Transcript Abundance in *Chlamydomonas reinhardtii* following Nitrogen Deprivation Predict Diversion of Metabolism', *Plant Physiol*, vol. 154, no. 4, pp. 1737–1752, Dec. 2010, doi: 10.1104/pp.110.165159.
- [155] B. Fernández-Marín, J. M. Becerril, and J. I. García-Plazaola, 'Unravelling the roles of desiccation-induced xanthophyll cycle activity in darkness: a case study in *Lobaria pulmonaria*', *Planta*, vol. 231, no. 6, pp. 1335–1342, May 2010, doi: 10.1007/s00425-010-1129-6.