

**Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze**

**Katedra botaniky**

obor: systematika a ekologie bezcévných rostlin

**Diplomová práce**

**Aero-terestrické sinice a řasy ventarol**

**NPP Borečský vrch**

Pavel Škaloud

Praha 2004

Školitel: RNDr. Jiří Neustupa, PhD.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, s použitím citované literatury.

Pavel Škaloud

*»Jak jmenujete ten vrch tam za vsí?« ptali jsme se učitele z blízké osady, nás provázejícího. »Tot' Borecký vrch, pravé to unikum našeho Středohoří. Koho neodstraší cesta velmi obtížná, aby vylezl na hřbet znělcovými balvany posetý, ten spatří na vrcholu okrouhlou prohlubeň zvící vozového kola, zcela kamením zasypanou. V zimě vyniká z místa toho velmi příjemné teplo, až 14 °R., a když vše kolem hluboko leží pod sněhem, skví se bod ten nejbujnější zelení. Jest prý to kráter vyhaslé sopky. Lidé v sousední vsi Újezdě si povídají, že otvor ten býval kdysi bezedný, ale že pro rozličné pověrečné obyčeje a pověsti rozkázáno bylo jej zasypati. Dlouho nechtělo se to při tom všem úsilí dařiti, až konečně mocný balvan náhodou v prohlubenině se vzepřev, zasypání její umožnil... «*

F. A. Borovský, 1892



# Obsah

<b>1</b>	<b>PŘEDMLUVA</b> .....	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÝCH LOKALIT</b> .....	<b>7</b>
3.1	CELKOVÉ FYZICKOGEOGRAFICKÉ A PŘÍRODNÍ POMĚRY .....	7
3.2	NÁRODNÍ PŘÍRODNÍ PAMÁTKA BOREČSKÝ VRCH .....	8
3.2.1	Mechanismus vzniku a princip ventarol.....	9
3.2.2	Popis jednotlivých odběrových míst .....	11
3.3	OSTATNÍ LOKALITY .....	12
3.3.1	Kamenec.....	12
3.3.2	Kolný.....	13
3.3.3	Kóta 490 u Třebušína .....	14
3.3.4	Plešivec .....	14
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODY</b> .....	<b>16</b>
4.1	ODBĚR VZORKŮ .....	16
4.2	MĚŘENÍ ZÁKLADNÍCH FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PARAMETRŮ .....	16
4.2.1	Měření teploty vzduchu.....	16
4.2.2	Měření vlhkosti vzduchu a půdy .....	17
4.2.3	Stanovení pH půdy .....	17
4.3	ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ PRO NÁSLEDNOU DETERMINACI SINIC A ŘAS.....	18
4.3.1	Kultivace směsných vzorků .....	18
4.3.2	Izolace, kultivace a determinace sinic a řas ze směsných vzorků .....	18
4.3.3	Preparace rozsivek .....	19
4.3.4	Zpracování vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii.....	20
4.4	METODY STUDIA MORFOLOGIE A ŽIVOTNÍCH CYKLŮ VE SVĚTELNÉM MIKROSKOPU .....	20
4.4.1	Cytologické metody .....	20
4.4.2	Pozorování zoospor .....	21
4.4.3	Mikrofotografie .....	21
4.5	METODY EXPERIMENTÁLNÍHO STUDIA KMENŮ RODU <i>KLEBSORMIDIUM</i> .....	22
4.5.1	Studium variability morfolgie buněk během životního cyklu .....	22
4.5.2	Studie vlivu fyzikálně-chemických parametrů na morfolgii buněk.....	22
4.6	METODY STUDIA MORFOLOGIE CHLOROPLASTU POMOCÍ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE .....	23
4.6.1	Příprava a pozorování materiálu.....	23
4.6.2	Rekonstrukce struktury chloroplastu.....	23
4.7	METODY ANALÝZY DAT.....	24
4.7.1	Mnohorozměrné ordinační metody .....	24
4.7.2	Ostatní statistické metody .....	26
<b>5</b>	<b>FLORISTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>28</b>
5.1	ÚVOD.....	28
5.2	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	28
5.2.1	Cyanobacteria.....	31
5.2.2	Chromophyta.....	34
5.2.2.1	<i>Bacillariophyceae</i> .....	34
5.2.2.2	<i>Chrysophyceae</i> .....	34
5.2.2.3	<i>Xanthophyceae</i> .....	36
5.2.3	Eustigmatophyta.....	37
5.2.4	Chlorophyta.....	38
5.2.4.1	<i>Chlamydoophyceae</i> .....	38
5.2.4.2	<i>Chlorophyceae</i> .....	39
5.2.4.3	<i>Ulvophyceae</i> .....	47
5.2.5	Charophyta.....	49
5.2.5.1	<i>Charophyceae</i> .....	49
5.2.5.2	<i>Zygnemaphyceae</i> .....	50
5.3	ZÁVĚR .....	52

<b>6</b>	<b>EKOLOGICKÁ ČÁST</b> .....	<b>54</b>
6.1	ÚVOD .....	54
6.2	DLOUHODOBÁ STUDIE ČTYŘ LOKALIT VE VENTAROLOVÉ OBLASTI NPP BOREČ .....	54
6.2.1	Výsledky měření .....	54
6.2.2	Výsledky statistických analýz .....	57
6.2.2.1	<i>Vnitřní struktura dat</i> .....	57
6.2.2.2	<i>Vliv proměnných prostředí</i> .....	63
6.2.3	Diskuse .....	70
6.3	JEDNORÁZOVÝ PRŮZKUM VENTAROL ČESKÉHO STŘEDOHŘÍ .....	72
6.3.1	Výsledky měření .....	72
6.3.2	Výsledky statistických analýz .....	73
6.3.2.1	<i>Vnitřní struktura dat</i> .....	73
6.3.2.2	<i>Srovnání podobnosti algoflóry ventarolových lokalit</i> .....	75
6.3.3	Diskuse .....	76
6.4	ZÁVĚR .....	78
<b>7</b>	<b>TAXONOMICKÁ ČÁST</b> .....	<b>79</b>
7.1	ÚVOD .....	79
7.2	TAXONOMICKÁ STUDIE DVOU DRUHŮ RODU <i>KLEBSORMIDIUM</i> .....	79
7.2.1	Úvod .....	79
7.2.2	Přehled studovaných kmenů .....	80
7.2.3	Výsledky .....	80
7.2.3.1	<i>Celková morfologie a životní cyklus</i> .....	80
7.2.3.2	<i>Variabilita morfologie buněk během životního cyklu</i> .....	82
7.2.3.3	<i>Vliv fyzikálně-chemických parametrů na morfologii buněk</i> .....	84
7.2.3.4	<i>Charakteristika zoosporangií a klíčení zoospor</i> .....	86
7.2.3.5	<i>Výsledky statistických analýz</i> .....	87
7.2.4	Diskuse .....	89
7.2.5	Závěr .....	91
7.3	KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE CHLOROPLASTU ZELENÉ ŘASY <i>DICTYOCHLOROPSIS</i> .....	91
<b>8</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>104</b>

## Summary

This diploma thesis is focused on the algal composition of the specific aero-terrestrial habitats – ventarols. The ventarols are the unique localities with characteristic winter warm air flow, occurred in some debris fields as a compound of very complex air circulation. In the Czech Republic, the ventarols are mainly concentrated in České Středohoří Mountains. The most famous ventarol locality is located at the top of the Boreč Hill, where the study area was established.

The results of the study are divided into three parts. In the first part, the algal composition of ventaroles is discussed. In total, 114 species of algae and cyanophytes were determined at all localities. Common aero-terrestrial species, several freshwater and one thermal species were found. Furthermore, three algal species probably represent new taxa.

The second part is concerning on the ecological aspects of ventarol biotopes. The effects of temperature, moisture and soil pH are discussed. In contrast with control localities, each ventarol locality differs a lot in algal composition and physico-chemical parameters.

In the third part of the thesis, two taxonomically problematic groups of algae were studied. First, the species boundaries between *Klebsomidium nitens* and *K. flaccidum* species are discussed. The distinct features to divide these two species were not found. For that reason, the species are considered to be synonymic. Finally, the chloroplast morphology and ontogeny of three species of the genus *Dictyochloropsis* were investigated by using light and confocal microscopy. The distinct morphological stages during the chloroplast ontogeny were identified in all investigated species.

## 1 Předmluva

Tato diplomová práce se zabývá algoflorou velmi zajímavých a jedinečných aero-terestrických biotopů – tzv. ventarol. Hlavní část diplomové práce je rozdělena do tří částí. **Floristická** část se zabývá jednotlivými druhy sinic a řas, které byly determinovány během studia algoflory ventarolových oblastí Borče i v rámci jednorázového průzkumu vybraných ventarolových oblastí Českého Středohoří. Zabývá se rozdílem mezi floristickým složením ventarol a okolních lokalit a výskytem vzácných či jinak zajímavých druhů sinic a řas. V **ekologické** části jsou studovány faktory prostředí ventarolových lokalit a jejich vliv na jednotlivé druhy i skupiny sinic a řas. Kromě studia fyzikálně-chemických parametrů (teplota, vlhkost či pH) byl testován vliv vzdálenosti ventarolových oblastí Českého Středohoří na druhovou podobnost vzorků. **Taxonomická** část pojednává o problematickém rozlišení velice podobných druhů *Klebsormidium nitens* a *K. flaccidum*, které patří mezi nejhojněji se vyskytující řasy aero-terestrických biotopů. Dále se tato kapitola zabývá morfologií a ontogenezí chloroplastu tří druhů rodu *Dictyochloropsis*, studovaných pomocí konfokální mikroskopie. Tato část je napsána v anglickém jazyce a v současnosti přijata k publikaci v časopisu *Phycologia*.

Na tomto místě bych rád poděkoval RNDr. **Jiřímu Neustupovi**, PhD. za vedení práce a za to, že mě naučil izolačním, kultivačním i studijním metodám. Dále mu chci poděkovat za cenné rady a nápady během celého období mého studia. Děkuji také svým kolegům z algologické laboratoře, RNDr. **Yvonne Němcové** PhD., Mgr. **Sylvii Novákové**, **Lucii Ošlejškové** a Mgr. **Lence Šejnohové** za poskytnuté rady ohledně determinace druhů, věnování několika řasových kmenů, jakož i za vytvoření příjemné atmosféry v laboratoři. Za velmi cennou pomoc při determinaci některých druhů sinic a řas bych rád poděkoval RNDr. **Tomáši Kalinovi**, CSc., Prof. **Jiřímu Komárkovi**, CSc., Ing. **Aleně Lukešové**, CSc. a Prof. **Jørgenu Kristiansenovi**. Nemalý dík pak patří Mgr. **Báře Radochové** a RNDr. **Lucii Kubínové**, CSc. za jejich velkou pomoc se zpracováním a studiem řas na konfokálním mikroskopu. Velmi rád bych také poděkoval RNDr. **Lence Němcové**, CSc. a jejímu muži za jejich hodnotné informace o ventarolových lokalitách, zorganizování exkurze po Českém Středohoří a poskytnutí fotografií ventarol. Za cenné rady ohledně statistického zpracování dat bych chtěl ze srdce poděkovat Prof. **Tomáši Herbenovi**, CSc.

Velmi bych chtěl poděkovat mé rodině za psychickou a finanční podporu během celého studia. Svě sestře moc děkuji za celodenní obětavou pomoc při dopravě k ventarolovým lokalitám. Můj největší dík pak patří **Magdě Řezáčové** za její velkou podporu a pochopení, jakož i za důkladné pročtení celé práce.

Tato práce byla financována granty FRVŠ č. 2826/2003, GA UK č. 139/2002/B-Bio a výzkumným záměrem č. J13/98113100004 MŠMT. Některé výsledky diplomové práce byly publikovány v odborných časopisech (ŠKALOUD & RADOCHOVÁ 2004; ŠKALOUD et al. in press).

## 2 Úvod

Problematice kamenitých sutí v ČR se v minulosti věnovalo velké množství autorů z různých vědních oborů (KLIKA 1951; BRABEC 1971, 1973; PUJMANOVÁ 1989; RŮŽIČKA & ZACHARDA 1994; SÁDLO & KOLBEK 1994; ČEŘOVSKÝ & HOLEC 1996). Zajímavým fenoménem kamenných sutí je jejich režim pohybu vzduchu, projevující se vznikem letních ledových jam a zimních exhalací teplého vzduchu, tzv. ventarol. Oba úkazy jsou již velmi dlouho známy a jejich záznamy se objevují v literatuře již přes dvě stě let (KUBÁT 1971). Nejznámější a nejprozkoumanější oblastí výskytu ledových jam a ventarol u nás je bezesporu České Středohoří. Ač jsou oproti ledovým jamám ventaroly velmi vzácným úkazem, nevyskytují se pouze v Českém Středohoří, ale také například v Krkonoších (KUBÁT 1972, 1974).

První literární zmínku o ventarolách najdeme již v 18. století v práci SCHALLERA (1785), který se zabýval ledovými jámami na Plešivci. Pozornosti ale neušly ani četné ventaroly vyskytující se v horní části několika vrchů Českého Středohoří. Nejznámějším místem pak byl Borečský vrch s několika ventaroly na temeni, ze kterých zvláště za velmi mrazivých zimních dnů vycházel oblak teplého vzduchu, viditelný i ze vzdálenosti několika kilometrů. Není nikterak překvapivé, že se tyto ventarolové vývěry těšily velkému zájmu místních obyvatel a byly opředeny mnoha pověrami. Některé ventaroly byly v minulosti uměle zvětšovány v touze dostat se ke zdroji teplého vzduchu, aby poté byly zčásti či úplně zasypany z obav jejich špatného vlivu (BOROVSKÝ 1892).

První literární zmínka o borečských ventarolách pochází z roku 1833. Tehdy byl tento jev spojován s dohasínající sopečnou činností a v exhalovaném vzduchu se předpokládala vysoká koncentrace oxidu siřičitého a oxidu uhličitého (KUBÁT 1971). Pečlivým rozбором unikajícího plynu bylo však již v roce 1881 dokázáno, že se složením v podstatě neliší od vzduchu nasyceného vodními parami (KUČERA 1999). Existovaly i další domněnky vzniku ventarol v souvislosti s podzemními vodami. Skutečnost je ale taková, že celý kopec funguje jako jeden teplotně dynamický systém, ve kterém se během roku otepluje či ochlazuje vzduch, proudící puklinami v masivu Borče (více viz kapitola 3.2.1).

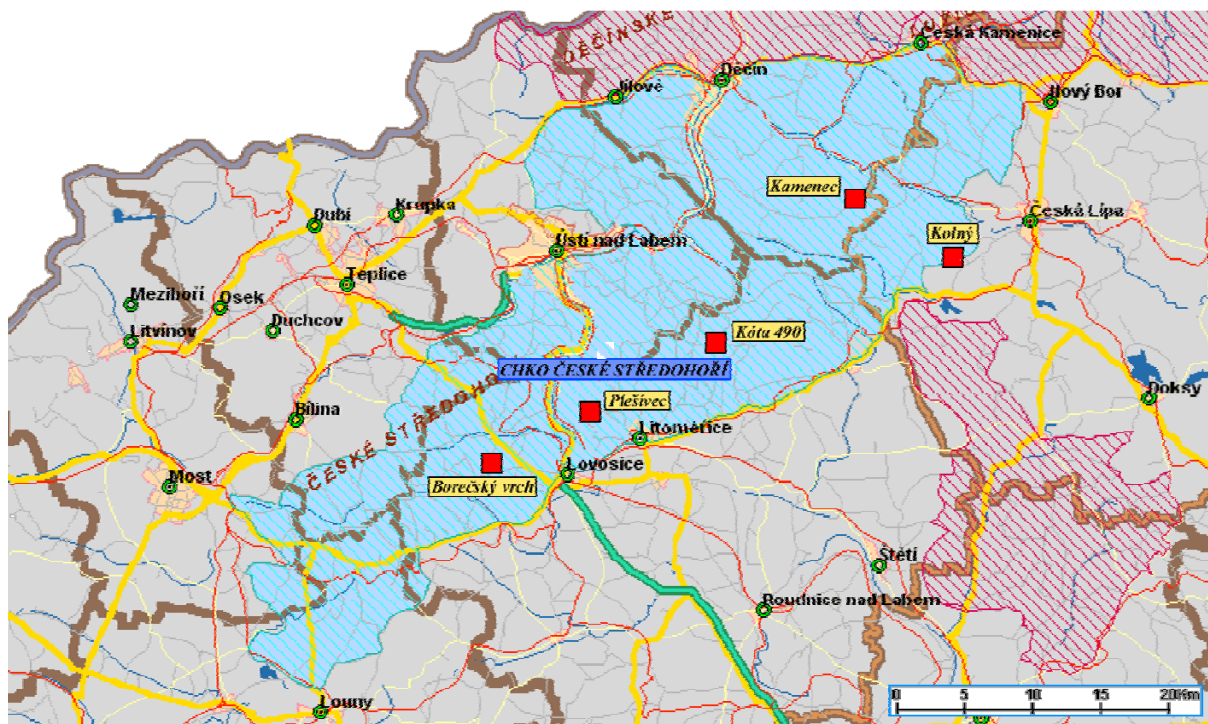
Sutě na svazích Borče byly v minulosti podrobeny jak botanickému, tak zoologickému průzkumu. Mechorosty a lišejníky zde studovali PILOUS (1959), PUJMANOVÁ (1990), NĚMCOVÁ (2001) či SOLDÁN & kol. (2003). Faunistický seznam brouků borečských sutí publikovali NOVOTNÝ & NOVOTNÝ (1966) či RŮŽIČKA (2003). Studovány byly i ventaroly na vrcholu Borče. ANKERT (1917) zde v lednu naměřil vysoký rozdíl teplot ventarol vůči okolí a na dně ventarol našel mnoho druhů měkkýšů. V dubnu 1948 ventaroly prozkoumal LOŽEK (1954), který rovněž sledoval výraznou aktivitu měkkýšů, navíc ve ventarole pozoroval výskyt mladého exempláře mloka skvrnitého (*Salamandra salamandra*). O borečských ventarolách jako unikátním přírodním úkazu referovali DRAHOŠ (1957), ŠIMR (1957), JÍRA (1966), VÁNĚ (1991) či KUČERA (1999).



### 3 Charakteristika sledovaných lokalit

#### 3.1 Celkové fyzickogeografické a přírodní poměry

Všechny zkoumané lokality patří do geomorfologického celku České Středohoří (Obr. 1). Tento celek představuje plochou hornatinu až členitou vrchovinu se střední výškou 363 m n.m. Současný reliéf je výsledkem třetihorní sopečné činnosti, při níž roztavené sopečné horniny pronikly souvrstvími starších druhohorních uloženin (hlavně pískovců a slínovců) a následně v nich utuhly. Jsou to především čediče, tefrity, trachyandezity, žnělce a trachyty. České Středohoří představuje kernou stupňovitou hrást s nejvyšší krou uprostřed vyzdvíženou výrazně nad okolní terén. Nejvyšší vrcholy se tedy nalézají na této kře. Během formování pohoří vytvářelo husté magma rozsáhlé podpovrchové lakolity a žíly. Tyto sopečné útvary byly rozsáhlou erozí a denudací vypreparovány z měkkých pískovců a slínovců a ve snížené krajině vystupují jako kupovité či kuželovité dominanty. Reliéf se proto vyznačuje mimořádně velkou výškovou členitostí. Typická výška je 250 – 720 m n.m. v západním Milešovském a 400 – 630 m n.m. ve východním Verneřickém Středohoří. Nejnižším bodem je koryto řeky Labe v Děčíně (121,9 m n.m.), nejvyšší bod tvoří vrchol Milešovky s 836,5 m n.m.



Obr. 1 – Mapa CHKO České Středohoří s vyznačenou polohou studovaných lokalit.

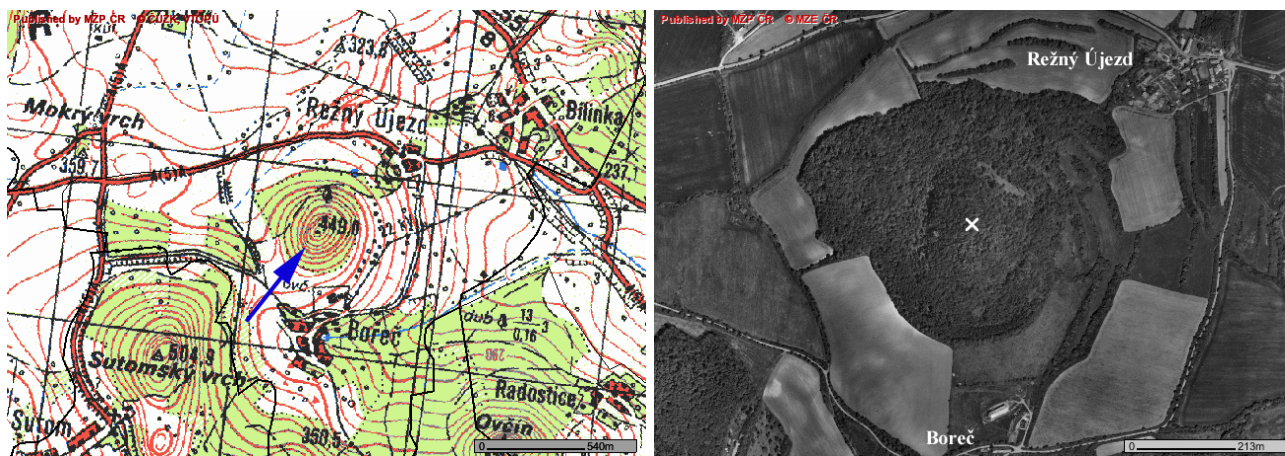
Všechny zkoumané lokality spadají do mírně teplé oblasti, do klimatických rajónů MT7 – MT11 (QUITT 1971). V zimních měsících se průměrné denní teploty pohybují v rozmezí od -2 do -3 °C, v letních měsících mezi 17 – 19 °C. Srážkový úhrn činí 500 – 1000 mm ročně, více srážek se vyskytuje ve vegetačním období. K zajímavému fenoménu oblasti patří strmý srážkový spád, kdy jsou roční

srážkové průměry v severovýchodní části téměř o 100 % vyšší než na jihozápadu Českého Středohoří. Z hlediska fytogeografického členění ČR spadají dvě zkoumané lokality do termofytika (Borečský vrch a Plešivec), ostatní lokality se nacházejí ve fytogeografické oblasti mezofytikum (SKALICKÝ 1988).

Roku 1976 bylo území o výměře 1063,17 km<sup>2</sup> prohlášeno za CHKO. Oblast protáhlého tvaru zaujímá 84 % výměry horopisného celku České Středohoří. V CHKO bylo k 1. 1. 2001 vyhlášeno 39 maloplošných chráněných území s přísnějším ochranným režimem. Dále je evidován výskyt 106 zvláště chráněných druhů rostlin a 166 druhů živočichů. V rámci CHKO je vyhlášeno 114 památných stromů, 28,4 % území zaujímají lesy. Botanicky patří České Středohoří mezi nejpestřejší oblasti České Republiky.

### 3.2 Národní přírodní památka Borečský vrch

NPP Borečský vrch (449 m n.m.) se nachází asi 5 km západně od Lovosic, v oblasti Kostomlatského Středohoří, 0,5 km severně od obce Rezný Újezd (Obr. 2). Rezervace o výměře 18,66 ha byla vyhlášena v roce 1951 za účelem ochrany rostlinných společenstev teplých strání, skal a hájů na suti s mikroexhalacemi vodních par na temeni Borče.



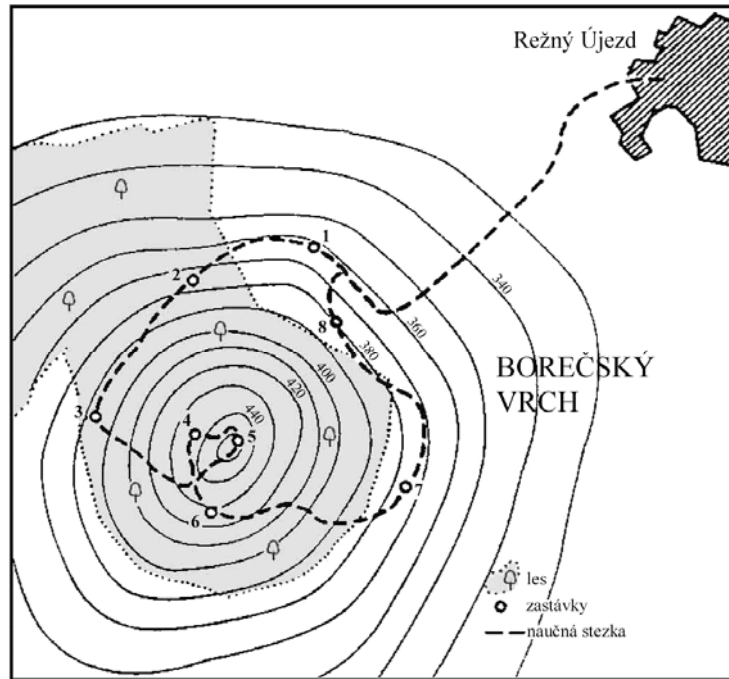
Obr. 2 – Poloha NPP Borečský vrch (šipka) a přibližná pozice studovaných lokalit (křížek).

Geologický podklad tvoří znělec (fonolit), který je ve srovnání s čedičovými horninami nebo opukami zřetelně kyselejší (obsahuje větší množství oxidu křemičitého).

Vrchol Borče představuje klasickou a v ČR pravděpodobně neznámější lokalitu ventarol, zimních výronů teplého vzduchu z horních částí puklinového systému. Rozdíl teplot uvnitř ventarol vůči okolnímu prostředí může být až 25 °C, což představuje největší naměřený rozdíl teplot ze všech známých ventarolových lokalit v ČR (KUBÁT 1971, 1974; KUČERA 1999; NĚMCOVÁ 2001). Lokalita je pozoruhodná především díky unikátnímu výskytu rostlinných a živočišných druhů, které nesnášejí pokles teplot pod 0 °C, takže představuje během zimního období jejich jediné útočiště. Nachází se zde například středomořská játrovka borečka vzácná (*Targionia hypophylla*), což je jediná známá lokalita

tohoto druhu v České Republice (Obr. 1.g). Z dalších význačných rostlinných druhů se zde vyskytují lomikámen růžicovitý (*Saxifraga decipiens*), koniklec otevřený (*Pulsatilla patens*) či hvozdík pyšný (*Dianthus superbus*). Zoologicky zajímavý je výskyt vzácně se vyskytujícího střevlíčka *Leistus montanus* a střevlíka *Pterostichus negligens* KUBÁT (1971).

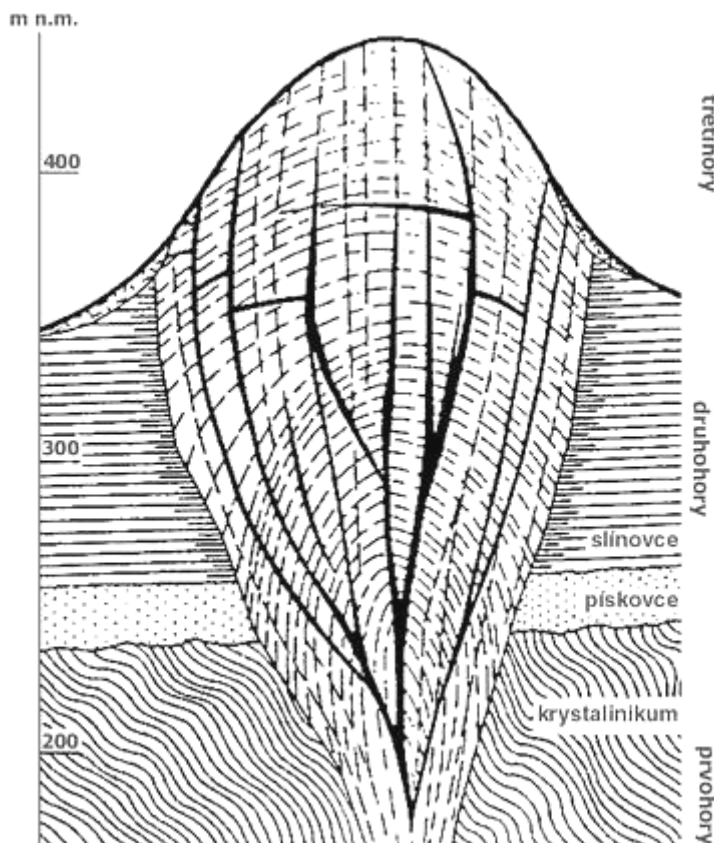
Chráněným územím prochází naučná stezka, která začíná v obci Režný Újezd (Obr. 3).



**Obr. 3** – Schematická mapka NPP Borečský vrch s vyznačenou trasou naučné stezky (upraveno podle KUČERY 1999).

### 3.2.1 Mechanismus vzniku a princip ventarol

Pro vysvětlení vzniku ventarol je důležité popsat geologický vývoj Borče, který začal před 27 –



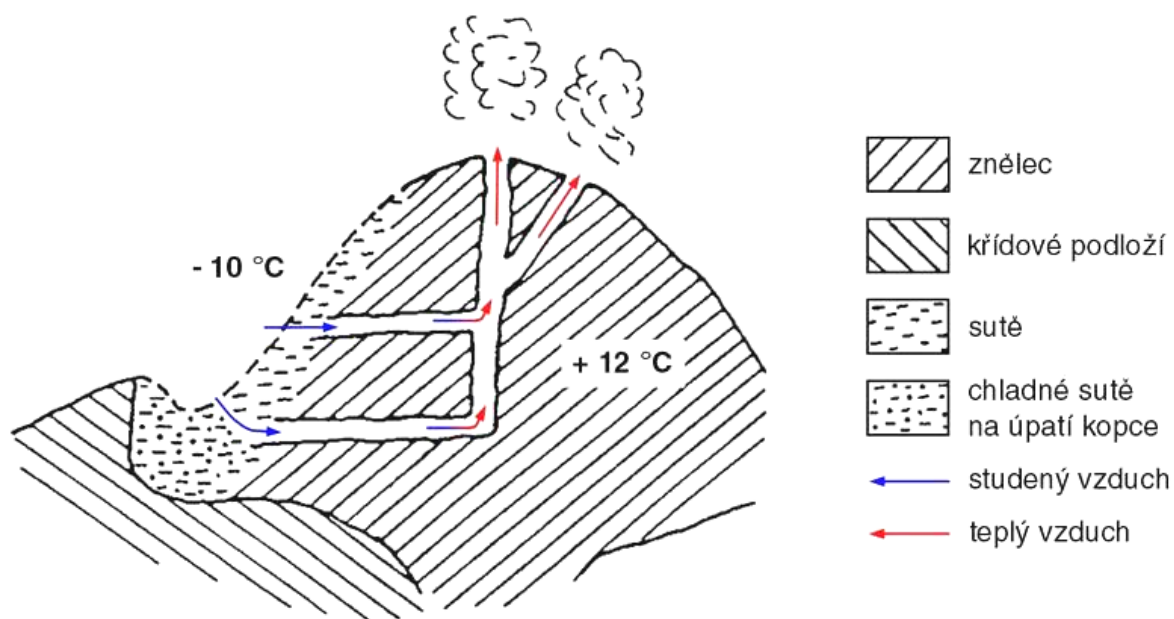
**Obr. 4** – Zjednodušené schéma puklinového systému Borče (upraveno podle VÁNEHO 1992)

37 miliony lety (KUČERA, 1999). V té době trhlinami v zemské kůře proudilo horké magma z nitra Země směrem k povrchu. Vzrůstající tlak plynů, který se v trhlinách tvořil, zapříčinil vznik dalších trhlin, které dosahovaly až k zemskému povrchu. Toto narušení celistvosti hornin otevřelo další cestu magmatu směrem vzhůru. Snížený odpor nadloží poté umožnil vytvoření velké dutiny, naplněné magmatem. Ten postupně ztuhl a zformoval lakolitové těleso hruškovitého tvaru. Při tuhnutí magmatu vznikala

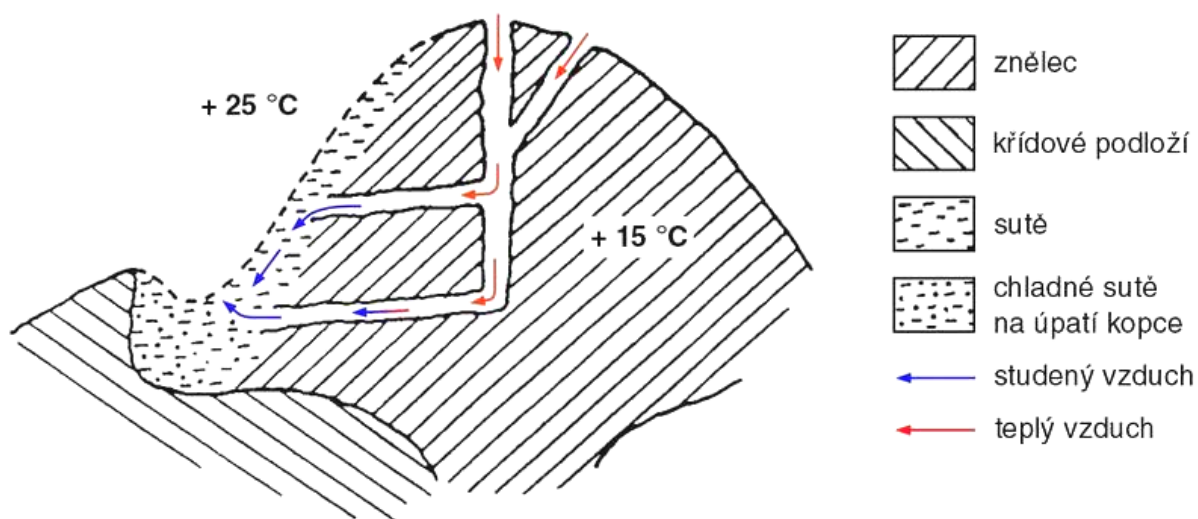
v tělese znělce pnutí, která byla způsobena změnami objemu hmoty v různých částech tělesa. Pnutí se poté v chladnoucí hornině projevilo rozpuštěním znělcového masivu. Během následujících milionů let byl postupně znělcový útvar erozními silami vypreparován z okolních sedimentů do současné podoby.

Ve čtvrtohorách utváření povrchu Borče značně ovlivnily periglaciální klimatické podmínky. V důsledku mrazového zvětrávání znělce na povrchu pukaly, a tak se celý masiv pokryl vrstvou sutí. Mrazovým zvětráváním se rozšiřovaly i pukliny uvnitř znělcového tělesa a umožnily tak vznik ledových jam a ventarol, které jsou důsledkem proudění vzduchu vzniklými puklinami (Obr. 4).

Proudění vzduchu puklinovým systémem je založeno na stejném principu jako v dynamických jeskyních nebo v obyčejném komíně. V zimě, kdy je vnitřek kopce teplejší než ovzduší, stoupá teplejší, a tedy i lehčí vzduch puklinami kopce vzhůru, uniká otvory na temeni a na jeho místo je při úpatí nasáván vzduch chladnější (Obr. 5). Ten se opět ohřeje, stoupá vzhůru atd. Postupným



**Obr. 5** – Princip zimního proudění vzduchu puklinovým systémem Borče (upraveno podle KUČERY 1999).



**Obr. 6** – Princip letního proudění vzduchu puklinovým systémem Borče (upraveno podle KUČERY 1999).

nasáváním studeného vzduchu klesá pozvolna teplota horniny uvnitř kopce i teplota exhalovaného vzduchu ventarol z 16 °C na 9 °C (JÍRA 1966, KUBÁT 1971). Za horkých letních dnů je naopak teplota uvnitř kopce relativně nižší. Chladnější, a tedy i těžší vzduch puklinami v kopci klesá a uniká při úpatí v oblasti ledových jam (Obr. 6). Na jeho místo je vrcholovými otvory nasáván vzduch z okolí. Procházející teplý vzduch pomalu zahřívá masív kopce, proto stoupá i teplota vzduchu exhalovaného na úpatí (z -4 °C až nad 0 °C).

### 3.2.2 Popis jednotlivých odběrových míst

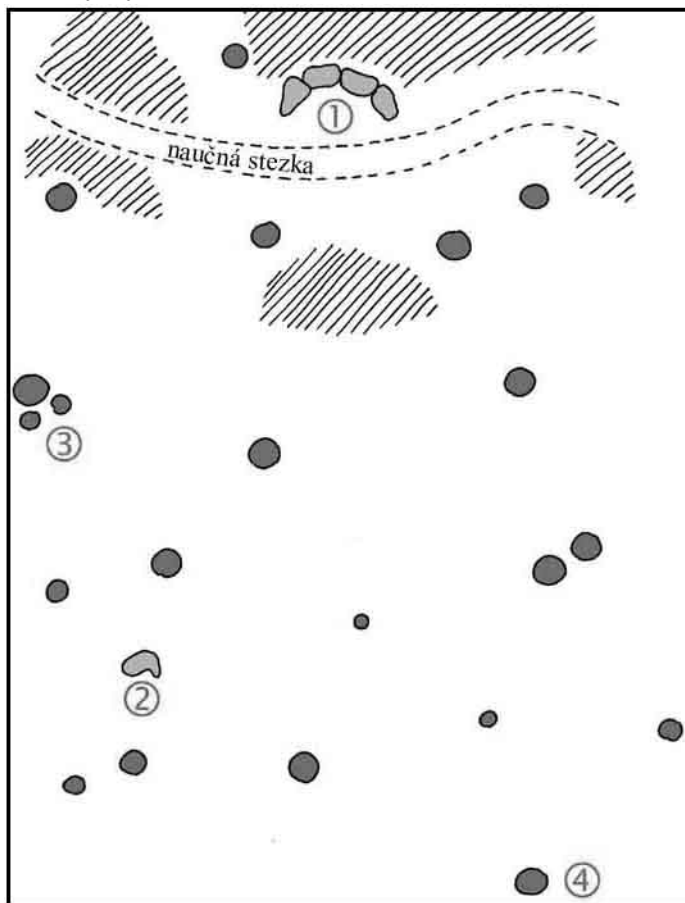
Pro odběr vzorků byla na temeni Borče v oblasti hustého výskytu ventarolových vývěrů vytyčena 4 odběrová místa (viz Obr. 7). 2 odběrová místa tvořily ventaroly se silnými zimními exhalacemi, zbylá 2 místa představovaly kontrolní oblasti bez výskytu ventarol:

**Odběrové místo 1** (Obr. I.a) – velká ventarola o ploše cca 2 m<sup>2</sup> u naučné stezky naproti informační tabuli č. 5. Ventarola byla pravděpodobně v minulosti uměle zvětšena do současné velikosti. Geografické souřadnice: 50°30'51,3'' s.š., 13°59'19,4'' v.d., 443 m n.m.

**Odběrové místo 2** (Obr. I.b) – malá ventarola o ploše cca 0,5 m<sup>2</sup> metrů na jih od naučné stezky. Geografické souřadnice: 50°30'51,9'' s.š., 13°59'19,8'' v.d., 441 m n.m.

**Odběrové místo 3** (Obr. I.c) – oblast o ploše 1 m<sup>2</sup> bez ventarolových vývěrů západně od odběrového místa 2. Geografické souřadnice: 50°30'51,7'' s.š., 13°59'20,2'' v.d., 443 m n.m.

**Odběrové místo 4** (Obr. I.d) – oblast o ploše 1 m<sup>2</sup> bez ventarolových vývěrů na východ od odběrového místa 2. Geografické souřadnice: 50°30'52,1'' s.š., 13°59'19,0'' v.d., 439 m n.m.



**Obr. 7** – Poloha odběrových míst ve ventarolové lokalitě na temeni Borče. Šedé plochy znázorňují jednotlivé stromy, šrafovaně jsou znázorněny křovinaté oblasti.

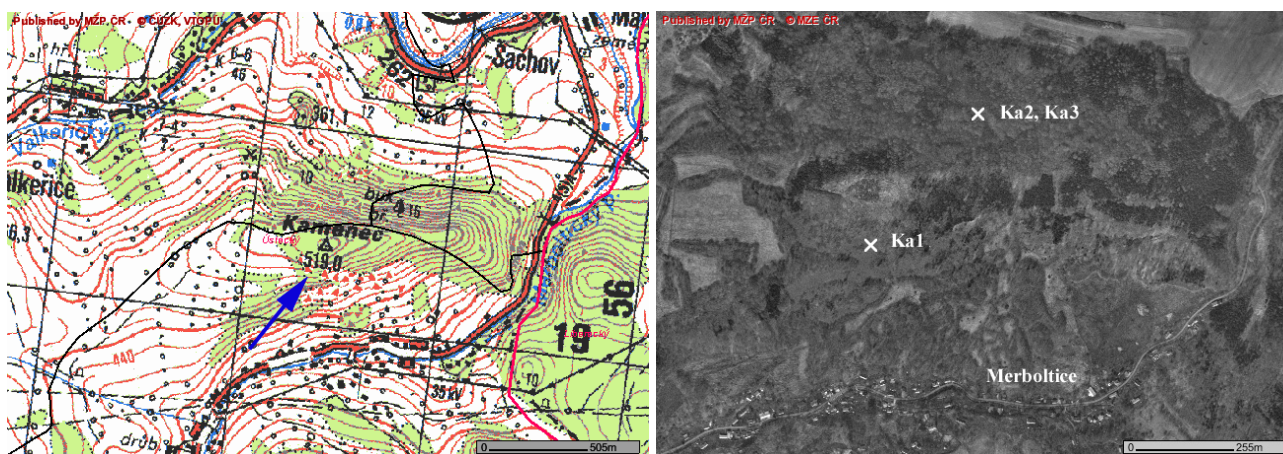
V rámci jednorázového odběru z několika ventarol Českého Středohoří byly na Borči odebrány vzorky z další lokality, pracovně označené **B5** (Obr. I.e). Jedná se o velkou ventarolu se silnými

zimními exhalacemi o ploše cca 3 m<sup>2</sup>, situovanou v blízkosti naučné stezky asi 20 m severozápadně od informační tabule č. 5. Geografické souřadnice: 50°30'50,6'' s.š., 13°59'19,9'' v.d., 441 m n.m.

### 3.3 Ostatní lokality

#### 3.3.1 Kamenec

Kamenec (519 m n.m., 50°42,05' s.š., 14°21,24' v.d.) se nachází mezi obcemi Merboltice, Valkeřice a Starý Šachov, ve východní části Verneřického Středohoří, 13 km západně od České Lípy (Obr. 8). Lokalita je součástí přírodní rezervace Kamenná hůra o rozloze 56,8 ha. Rezervace byla vyhlášena v roce 1993 za účelem ochrany sutí s výskytem horských druhů rostlin v relativně malé nadmořské výšce. Na severní chladnější suti bylo zjištěno velké druhové bohatství mechorostů s výskytem arkticko-alpinských druhů (NĚMCOVÁ 2001). Geologický podklad tvoří bazický olivínický nefelinit.



Obr. 8 – Poloha vrchu Kamenec (šipka) a přibližná pozice 3 studovaných ventarolových lokalit (křížky).

Na svazích kopce se nalézají 2 rozsáhlá suťová pole – jižní teplejší s menším výskytem mikroexhalací teplého vzduchu v horní části sutě a severní chladnější s vyvinutými ledovými jámami v dolní části a mikroexhalacemi ve střední a horní části sutě. Ventaroly mají ojedinělý mozaikovitý výskyt, k tvorbě rozsáhlých ventarolových oblastí se silnými zimními exhalacemi zde nedochází.

V rámci jednorázového průzkumu ventarol byly odebrány vzorky z následujících míst:

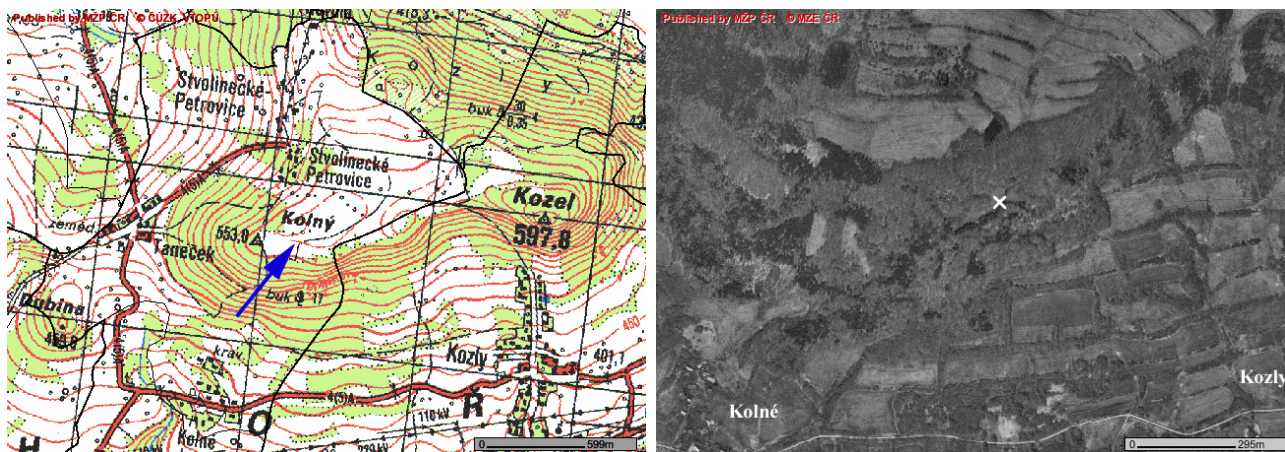
**Ka1:** Ventarola na konci rozsáhlého suťového pole na jižním svahu Kamence; 300 m severně od obce Merboltice. Odběrové místo o ploše cca 6 m<sup>2</sup> bylo nápadné absencí sněhové pokrývky a zvýšenou teplotou vzduchu vůči okolí. Vzorky byly náhodně odebrány z celé plochy ventaroly.

**Ka2:** Ventarola na okraji suťového pole na severním svahu Kamence; 0,7 km jižně od parkoviště u obce Starý Šachov. Odběrové místo se nachází v zalesněné okrajové části sutě. Jedná se o malou ventarolu o ploše cca 1 dm<sup>2</sup> s mozaikovitým výskytem druhů *Plagiochila asplenioides* a *Brachythecium rutabulum*.

**Ka3:** Ventarola ve střední části otevřeného suťového pole na severním svahu Kamence (Obr. II.a). Jedná se o hlubokou, nepřístupnou štěrbinu o ploše cca 15 dm<sup>2</sup> s mechovými polštáři *Polytrichum juniperinum* a *Anastrophyllum saxicola* (Obr. II.b). Odběrové místo představuje pravděpodobně největší ventarolu Kamence s nejsilnějšími zimními exhalacemi. Ventarola byla během let 1989 – 1993 podrobně zkoumána (NĚMCOVÁ, 2001), včetně celoročního měření průběhu teplot. Absolutně nejnižší naměřená teplota dosahovala -3°C (15.1.1989), dne 3.1.1993 byla naměřená teplota uvnitř této ventaroly v porovnání s ostatními sledovanými lokalitami vyšší v průměru o 16 °C.

### 3.3.2 Kolný

Vrch Kolný (563 m n.m., 50°39,54' s.š., 14°26,31' v.d.) se nachází 1,5 km západně od obce Kozly, ve východní části Verneřického Středohoří, 7 km jihozápadním směrem od České Lípy (Obr. 9). Geologický podklad tvoří bazický nefelinický bazanit.



Obr. 9 – Poloha vrchu Kolný (šipka) a přibližná pozice studovaných ventarolových lokalit (křížek).

Na jižním svahu kopce se nachází dlouhé suťové pole, členěné zarostlými částmi na mnoho malých, oddělených úseků. V dolní části sutě se nacházejí menší ledové jámy a ojedinělé ventaroly menší velikosti se vyskytují v horní části suťového pole. Větší ventarolové oblasti se silnými zimními exhalacemi zde nebyly nalezeny.

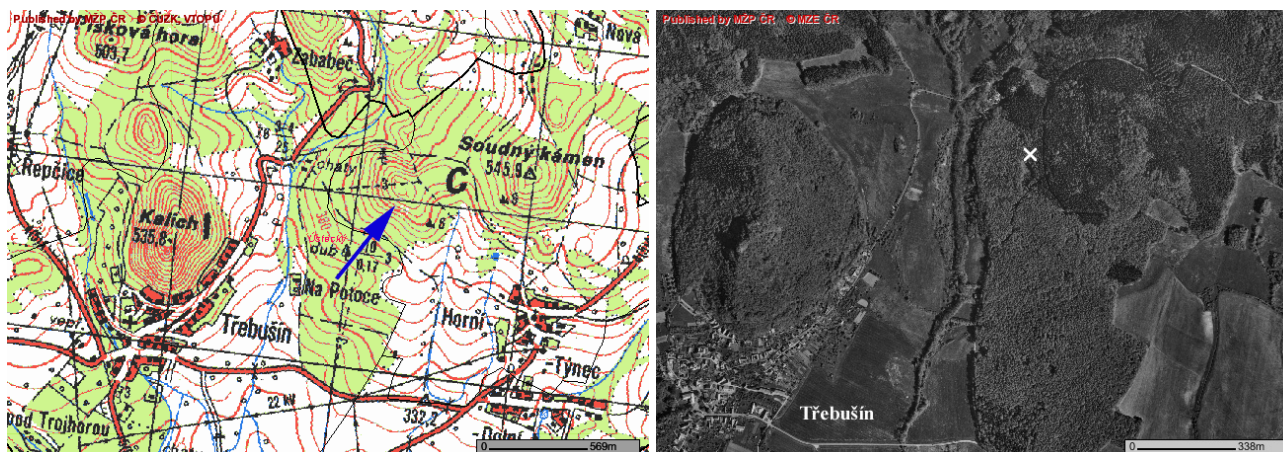
V rámci jednorázového průzkumu ventarol byly odebrány vzorky z těchto dvou odběrových míst:

**Ko1:** Malá ventarola v horní části zalesněné sutě na jižním svahu Kamence (Obr. II.c-d); 1 km západně od obce Kozly, cca 0,5 km od východního okraje lesa. Ventarola o ploše cca 1 dm<sup>2</sup> představuje malou skulinu mezi suťovými kameny s občasným výskytem druhu *Plagiothecium nemorale*.

**Ko2:** Malá oblast mikroexhalací o ploše cca 1 m<sup>2</sup> v horní části otevřeného suťového pole, několik metrů pod ventarolou Ko1. Z mechorostů zde byl zjištěn výskyt druhů *Polytrichum formosum*, *Pohlia nutans* a *Plagiothecium nemorale*.

### 3.3.3 Kóta 490 u Třebušína

Kóta 490 (50°36,49' s.š., 14°13,69' v.d.) se nachází 1,75 km severovýchodně od obce Třebušín, v západní části Verneřického Středohoří, 10,5 km severovýchodním směrem od Litoměřic (Obr. 10). Geologický podklad tvoří neutrální sodalitický trachyt.



Obr. 10 – Poloha Kóty 490 (šipka) a přibližná pozice studované ventarolové lokality (křížek).

Na západním svahu jmenované kóty se nacházejí velmi silné exhalace teplého vzduchu, unikající jednak ze skalní rozsedliny, jednak z řídce porostlé suti na mnoha místech v okolí. Geologickým podkladem, charakterem místa exhalací i jejich intenzitou je tato lokalita velice podobná ventarolovým oblastem Borče.

V rámci jednorázového průzkumu ventarol byly vzorky odebrány z jediného odběrového místa T1. To představuje velkou, nepřístupnou skalní rozsedlinu o šířce 40 – 60 cm, dlouhou až cca 10 metrů (Obr. II.e). Vzorky byly odebrány z vnitřní strany střední části pukliny, kde byl viditelný masový rozvoj zelených kokálních řas z čeledi Radiococcaceae (Obr. II.f). Kromě řasových nárostů se na stěnách pukliny řídce vyskytovaly mechové rostlinky druhů *Dicranella heteromalla* a *Pohlia nutans*. Ve velkém množství zde byl zjištěn výskyt lišejníku *Micarea lignaria*.

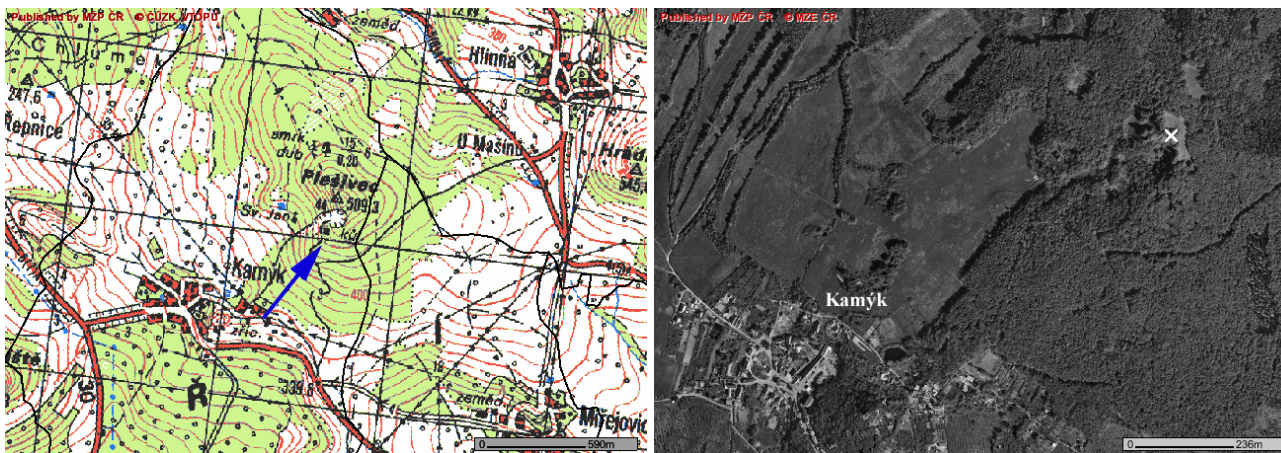
### 3.3.4 Plešivec

PP Plešivec (509 m n.m., 50°33,89' s.š., 14°05,55' v.d.) se nachází severovýchodním směrem od obce Kamýk, v západní části Verneřického Středohoří, 4 km severozápadně od Litoměřic (Obr. 11). Území o rozloze 32,7 ha bylo v roce 1993 vyhlášeno za přírodní památku za účelem ochrany sutí s ledovými jámami při úpatí. Geologickým podkladem je zde bazický olivínický čedič.

Na svazích kopce se nalézají 2 suťová pole, orientovaná na sever a na jihozápad. V dolní části obou sutí se vyskytují velké ledové jámy, které patří mezi nejdéle známé z celého Českého středohoří (SCHALLER 1785). Část jihozápadní sutě s ledovými jámami však byla v minulosti narušena činností bývalého lomu. Na příkrých suťových svazích se ojediněle nacházejí místa se zimními



mikroexhalacemi, na temeni Plešivce se vyskytuje rozsáhlá oblast ventarol s velkou hustotou mikroexhalací. Velké ventaroly se silnými zimními exhalacemi zde nalezeny nebyly.



**Obr. 11** – Poloha vrchu Plešivec (šipka) a přibližná pozice studovaných ventarolových lokalit (křížek).

V rámci jednorázového průzkumu ventarol byly odebrány vzorky z těchto dvou odběrových míst:

**P11:** Rozsáhlé ventarolové pole na temeni s mnoha mikroexhalacemi, vycházejícími z horní části sutě. Vzorky z odběrového místa o ploše cca 20 m<sup>2</sup> byly náhodně odebírány z celé plochy sledované oblasti. Většinu plochy zaujímal kamenné pole bez sněhové pokrývky, bez výrazného výskytu mechových polštářů.

**P12:** Ventarola v horní části jihozápadní sutě, cca 20 metrů od vrcholu kopce. Jedná se o výraznou oblast zimních exhalací o ploše cca 0,5 m<sup>2</sup>, těsně pod modře značenou turistickou trasou. V odběrové oblasti nebyly nalezeny žádné mechorosty, vzorky byly tedy odebrány pouze z povrchu kamenů a malého množství půdy.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Odběr vzorků

Pro studium algoflóry ventarol NPP Borečský vrch jsem si na temeni Borče vytyčil 4 odběrová místa (viz kap. 3.2.2), která byla pravidelně navštěvována po dobu 2 let (od 21.12.2000 do 8.2.2003). Z těchto odběrových míst byly v rámci celé plochy náhodně odebírány vzorky ze tří mikrobiotopů: **půda** (odebrán vzorek z půdního horizontu 0 – 2 cm), **kámen** (mechanicky seškrábnutý povrch kamene sterilním nožem) a **mech** (jednotlivé mechové rostlinky; v zimních odběrech byla také odebírána zkondenzovaná voda z mechových polštářů uvnitř ventarol - Obr. I.f). Tyto vzorky byly přesunuty do sterilních plastových zkumavek a přeneseny do laboratoře, kde byly během 24 hodin zpracovány.

Pro studium odlišností řasové flóry různých ventarolových oblastí byl v únoru a březnu roku 2003 uskutečněn jednorázový odběr z 11 ventarol na 5 lokalitách Českého Středohoří (Boreč, Kamenec, Kolný, Kóta 490 a Plešivec; viz kap. 3.2.2 – 3.3.4). Pokud to bylo možné, vzorky byly opět odebírány ze všech tří mikrobiotopů. Na některých lokalitách však nebylo možné odebrat půdní vzorek či vzorek mechu.

### 4.2 Měření základních fyzikálně-chemických parametrů

#### 4.2.1 Měření teploty vzduchu

Od 30. 8. 2001 byla na všech sledovaných lokalitách měřena teplota vzduchu. Teplota ventarolových odběrových míst byla měřena uvnitř ventarolových vývěřů, teplota kontrolních odběrových míst byla měřena těsně nad povrchem půdy. Použity byly 2 digitální teploměry: Svelin TM977H a HAMA DT 06. Výsledná zaznamenaná teplota představuje průměr obou naměřených hodnot. Pro porovnání byla při každém odběru měřena také teplota ve vybrané ledové jámě na úpatí Borče. Teplota vzduchu byla stejným způsobem měřena i v rámci jednorázového odběru vzorků z 11 ventarolových lokalit.

V rámci jednoho roku byl kontinuálně sledován průběh teplot odběrového místa 2. V této ventarole byl umístěn teploměr HAMA DT 06, který umožňuje zaznamenání maximální a minimální teploty v daném období. V tříměsíčních periodách mezi jednotlivými odběry byly tímto teploměrem zaznamenávány minimální a maximální teploty uvnitř ventaroly i ve 2 metry vzdálené oblasti bez ventarolových vývěřů.

### 4.2.2 Měření vlhkosti vzduchu a půdy

Počínaje pátým odběrem dne 27. 10. 2001 byla na zkoumaných lokalitách měřena vlhkost vzduchu a vlhkost půdy.

Vlhkost vzduchu ventarolových odběrových míst byla měřena uvnitř ventarolových vývěřů, teplota kontrolních odběrových míst byla měřena těsně nad povrchem půdy. Použit byl digitální teploměr a vlhkoměr Svelin TM977H, který byl schopen zaznamenat vlhkost vzduchu do 99 %. Pokud byla vlhkost vzduchu příliš vysoká a vlhkoměr ji nebyl schopen změřit, byla vzdušná vlhkost považována za 100%.

Půdní vlhkost byla stanovena následujícím způsobem (KRÁLOVÁ & kol. 1991): Z každé zkoumané lokality jsem odebral cca 15 g jemnozrnné půdy do uzavíratelných plastických zkumavek, čímž jsem minimalizoval případné změny obsahu vody během přepravy vzorků do laboratoře. Do tří hodin po odebrání půdních vzorků byla přesně stanovena jejich hmotnost. Poté byly tyto vzorky za občasného promíchávání sušeny po dobu 1-2 hodin při 105 °C. Po dosažení konstantní hmotnosti byly vysušené vzorky opět zváženy. Výsledná vlhkost půdy byla spočítána podle vzorce

$$W_{hm} = \frac{m_A - m_B}{m_A} \cdot 100$$

kde hodnota  $m_A$  představuje hmotnost půdy před vysušením a  $m_B$  hmotnost půdy po vysušení. Výsledné číslo vyjadřuje vlhkost půdy udanou ve hmotnostních procentech. Při 50% vlhkosti půdy by tedy voda tvořila polovinu hmotnosti analyzovaného vzorku.

### 4.2.3 Stanovení pH půdy

U všech půdních vzorků, odebraných od 27. 10. 2001, byla stanovena hodnota acidity (pH) půdního výluhu. Tato hodnota je dána poměrem  $H^+$  a  $OH^-$  iontů.

Hodnotu pH půdy jsem stanovil následujícím způsobem (KRÁLOVÁ & kol. 1991): K vysušené jemnozrnné půdě jsem přilil převařenou destilovanou vodu (zbavenou obsahu  $CO_2$ ) v poměru 1 g půdy ku 2,5 ml vody. Vzniklou suspenzi jsem po dobu 20 minut míchal na magnetické míchačce MM2A Laboratorní přístroje Praha. Hodnotu pH jsem stanovil pomocí pH metru WTW 330, vybaveného pH-kombinovanou elektrodou s vestavěným čidlem teploty SenTix 41.

### 4.3 Zpracování vzorků pro následnou determinaci sinic a řas

#### 4.3.1 Kultivace směsných vzorků

Při přímém pozorování odebraných vzorků je vzhledem k malé hustotě mikroorganismů a velkého množství znečišťujících částic možné zaznamenat jen mizivé množství sinic a řas, přítomných ve sledované lokalitě. Většinou se jedná o jednotlivé buňky chlorokokálních řas, které je nemožné správně determinovat z malého množství přítomných buněk. Proto jsem všechny vzorky před jejich studiem kultivoval pomocí dvou následně zmíněných metod (NEUSTUPA 1999). Výjimku tvořilo pouze několik zimních vzorků z ventarolových vývěřů, kde jsem přímo pozoroval algoflóru ve vodním vzorku, odebraném z mechových polštářů naplněných zkondenzovanou vodou.

První metodou byla kultivace vzorků na agarových plotnách. Jako živné médium bylo použito Bold's Basal Medium (BBM) obohacené půdním dekoktem (BISCHOFF & BOLD 1963) s přidavkem vitamínové směsi DY IV vitamínové solution (ANDERSEN et al. 1997). V případě půdních vzorků jsem přelil 0,5 g půdy 50 ml destilované vody a po dobu 15 minut míchal na magnetické míchačce MM2A. Ze vzniklé suspenze jsem odebral 1 ml (většinou u vzorků z odběrových míst 3 a 4) či 0,1 ml (většinou u vzorků z odběrových míst 1 a 2) roztoku. Tento objem suspenze jsem s kapkou destilované vody rozetřel na agarových plotnách. V případě ostatních vzorků jsem odebraný materiál smíchal s dostatečným množstvím destilované vody (podle množství vzorku) a za dodání malého množství skleněných kuliček o průměru 0,5 mm (Sigma) třepal na homogenizéru Griffin & George Ltd. Vzniklá suspenze byla rozetřena na agarové plotny, přičemž bylo dbáno na to, aby kapka roztoku nanesená na agarovou plotnu byla zcela čirá. V případě rozetření suspenze s viditelným zeleným zabarvením by docházelo k masovému rozvoji řasových kolonií, které by pak nebylo možné izolovat do čistých kultur. Metodou kultivace na agarových plotnách byly většinou izolovány řasy ze skupiny Chlorophyceae.

Druhou metodou kultivace směsných vzorků bylo jejich přelití tekutým BBM s přidavkem půdního dekoktu a vitamínového roztoku. Vzorky s živným roztokem byly umístěny do skleněných zkumavek, vystavených slunečnímu světlu. Při použití této metody docházelo k velkému rozvoji sinic a rozsivek.

#### 4.3.2 Izolace, kultivace a determinace sinic a řas ze směsných vzorků

Mikrokolonie sinic a řas narostlé na agarových plotnách jsem vypichoval sterilní jehlou do zkumavek s šikmým agarem za účelem získání jednodruhových kultur. V případě kontaminace těchto kultur jinými řasami jsem izolát roztíral na další sterilní agarové plotny. Sinice a řasy narostlé ve zkumavkách s tekutým BBM jsem se pokoušel buďto přímo determinovat nebo izolovat po rozetření na sterilních agarových plotnách.

Izolované jednodruhové kultury jsem pěstoval ve zkumavkách se šikmým agarem při teplotě 25 °C za stálého osvětlení zářivkovou trubicí Philips TLD 18W/33. Jednotlivé narostlé kmeny jsem přechovával ve zkumavkách s šikmým agarem či tekutým BBM v lednici Helkama HJK 200 LO za teploty 15 °C při denním osvětlení.

Vzorky sinic a řas jsem pozoroval ve světelném mikroskopu NfpK Carl Zeiss Jena. Jako základní příručka pro determinaci eukaryotických řas mi sloužila zatím nejúplnější monografie aeroterestrických řas od autorů Ettl & Gärtner (1995). Další zdroje k determinaci jednotlivých skupin sinic a řas tvořily následující publikace:

**Cyanophyta** – Häusler (1982); Geitler (1932); Komárek & Anagnostidis (in prep); Migula (1907).

**Bacillariophyceae** – Genkal (1992); Houk (2003); Krammer (2000); Krammer & Lange-Bertalot (1986, 1988, 1991a, 1991b); Lange-Bertalot (2001)

**Chrysophyceae** – Preisig & Hibberd (1982)

**Xanthophyceae a Eustigmatophyceae** – Ettl (1978)

**Chlorophyta** – Andreeva (1998); Ettl (1983); Ettl & Gärtner (1988); Fott & Nováková (1969); Hindák (1996); Johnson & John (1990); Komárek & Fott (1983); Koršíkov (1953); Kostikov et al. (2002); Lenzenweger (1996); Lokhorst (1996); Prescott et al. (1972); Printz (1964); Punčochářová & Kalina (1981); Růžicka (1981); Starmach (1972); West & West (1908).

### 4.3.3 Preparace rozsivek

Pro správnou determinaci je u většiny druhů rozsivek nutné zachytit některé důležité struktury, vyskytující se na jejich křemičitých schránkách. Ty jsou ale často dobře viditelné jen na prázdných frustulách. Proto jsem u všech studovaných vzorků použil metodu oxidace v peroxidu vodíku (Krammer & Lange-Bertalot 1986), díky které jsem získal prázdné schránky rozsivek, vyskytujících se na dané lokalitě.

K determinaci rozsivkového složení jsem použil směsné vzorky, kultivované ve zkumavkách s tekutým BBM. Po cca 4 měsících, kdy došlo k masovému rozvoji sinic a řas, jsem odebral asi 5ml vzorek roztoku. Ten jsem zahustil centrifugací a přelil 33% roztokem peroxidu vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Po 1 hodině nasycování byl roztok přelit do kádinky o objemu 500 ml a přidavkem malého množství dichromanu draselného (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) byla provedena oxidace peroxidu vodíku. Prudce exotermní reakcí došlo ve vzorku k vypálení organické hmoty uvnitř rozsivkových schránek. Vzniklý oranžový roztok byl poté metodou postupné centrifugace promyt destilovanou vodou, dokud nedošlo k jeho odbarvení. Po prohlédnutí ve světelném mikroskopu byly některé bohaté či jinak zajímavé vzorky nakapány na krycí skličko a po odpaření vody zality syntetickou pryskyřicí Naphrax (LABO – MS s.r.o.). Po ztvrdnutí pryskyřice tento postup umožňoval lepší zobrazení struktur rozsivkových schránek ve světelném mikroskopu.

#### 4.3.4 Zpracování vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii

Pro studium vybraných druhově bohatých vzorků byl mimo světelné mikroskopie použit také transmisní elektronový mikroskop (TEM). Tato metoda umožnila detailnější studii druhů šupinatých chrysomonád a rozsivek s malými rozměry frustul.

Prvním krokem zpracování vzorků bylo odstranění přebytečného organického materiálu metodou bouřlivé reakce peroxidu vodíku s dichromanem draselným, používanou při preparaci rozsivek (viz kapitola 4.3.3). Po promytí vzorku destilovanou vodou metodou postupné centrifugace byl získaný pelet naředěn a nakapán na elektronmikroskopické měděné síťky, potažené podpůrnou formvarovou blankou. Koncentrace buněk v roztoku byla před nanesením na síťky zkontrolována pomocí světelného mikroskopu (při malém zvětšení). Po zaschnutí byly síťky šikmo pokoveny chrómem ve vysokovakuovém odpařovacím zařízení Polaron pod úhlem 18-20 stupňů. Síťky se studovaným materiálem byly následně prohlíženy a fotografovány transmisním elektronovým mikroskopem Philips 300.

### 4.4 Metody studia morfologie a životních cyklů ve světelném mikroskopu

#### 4.4.1 Cytologické metody

Při detailním studiu jednotlivých izolovaných kmenů jsem používal některé cytologické metody určené ke zvýraznění jednotlivých struktur řasové buňky.

Ke zvýraznění tvaru a struktury buněčné stěny (například při studiu zelené řasy *Scotiellopsis oocystiformis* s velmi jemnými ztlustlinami buněčné stěny) jsem použil metodu nigrosinových roztěrů (KALINA 1994). Vzorek s buňkami byl na podložním skle smíchán s 2% roztokem nigrosinu. Vzniklá suspenze byla poté pomocí dalšího podložního skla rozetřena do tenké vrstvy a vysušena. Roztěr buněk se zvýrazněnými strukturami buněčné stěny lze pozorovat přímo bez krycího sklíčka při největším možném zvětšení s použitím imersního oleje.

Pro zviditelnění slizovitého obalu okolo některých řas či při pozorování klíčení zoospor (kde je velmi důležitá pozice slizovitého terčíku) jsem použil roztok černé vytahovací tuše (GAMA a.s.).

Jako problematické bylo v některých případech rozhodnutí, zda studovaný kmen řasy ve svém chloroplastu obsahuje pyrenoid či nikoliv. U druhů s obaleným pyrenoidem se jeho existence dala při velkém zvětšení za použití Nomarského diferenčního kontrastu snadno určit pomocí různě utvářené škrobové obálky. Jiná situace však nastala u druhů, jejichž chloroplast mohl obsahovat nahý chloroplast, jehož povrch škrobovými zrny pokryt není a tudíž není ve světelném mikroskopu viditelný. Ani použití barvicích technik pomocí roztoku laktofenolu v modři na bavlnu (ETTL 1983) či roztoků chloraljódu nebo karbolfuchsinu (KALINA 1994) nepřineslo jasné rozhodnutí ohledně přítomnosti pyrenoidu v chloroplastu. Jako nejvhodnější postup pro zjištění nejen přítomnosti, ale i

tvaru a polohy pyrenoidu v chloroplastu jsem zvolil sledování řasové buňky pomocí konfokálního mikroskopu, kde se projevila odlišná fluorescence chloroplastu a pyrenoidového tělíska (více viz kapitola 4.6.1.).

### 4.4.2 Pozorování zoospor

Pro získávání zoospor se mi nejvíce osvědčila následující metoda: Čisté kultury řas jsem sterilně přeočkoval na agarové plotny s médiem BBM (bez přídavku vitamínové směsi či půdního dekoktu). Na agarových plotnách jsem řasové kultury pěstoval při teplotě 25 °C za stálého osvětlení zářivkovou trubicí Philips TLD 18W/33. Po 2 – 3 týdnech, kdy na agarových plotnách došlo k masovému nárůstu zkoumané kultury, jsem opatrně sebral vrstvu buněk bez agarového média pomocí žiletky, vysterilizované v ohni. Takto získanou masu řas jsem pomocí sterilní jehly přenesl do 2 skleněných zkumavek s destilovanou vodou a se směsí destilované vody a čerstvého média BBM v poměru 3:1. Vzniklou suspenzi jsem následně zcentrifugoval, aby všechny řasové buňky klesly na dno zkumavky. Takto připravené zkumavky jsem umístil do tmy a nízké teploty okolo 10 °C.

Po třech dnech jsem zkumavky pravidelně prohlížel. Během několika dní až několika týdnů se ve zkumavkách začaly tvořit zoospory, patrně jako makroskopicky viditelná zelená vrstvička u hladiny. Vzniklé zoospory jsem odsál pipetou z hladiny a pozoroval ve světelném mikroskopu. Pro lepší pozorování jsem často zoospory fixoval po dobu 5 – 10 vteřin parami jódu (KALINA 1994). Pro studium zoosporangií jsem naopak pipetou odebral vzorek řas z dolní části zkumavky.

Při studiu druhů rodu *Klebsormidium* jsem po vytvoření zoospor zkumavku se směsí destilované vody a BBM média vystavil stálému osvětlení a po několika týdnech opatrně seškrábnul vrstvičku klíčících zoospor těsně pod hladinou roztoku. Klíčení zoospor jsem pozoroval v roztoku černé tuše, kterým jsem obarvil slizovité terčíky mladých vláken.

### 4.4.3 Mikrofotografie

Sinice a řasy jsem fotografoval ve světelném mikroskopu Olympus BX 51 bez barevných filtrů za použití Nomarského diferenčního kontrastu, který zvýraznil povrchové i vnitřní struktury sledovaných objektů (použití filtrů snižuje účinnost zobrazení pomocí výše zmíněného kontrastu). Při pozorování zoospor jsem několikrát použil fázový kontrast ke zvýraznění bičíků. Mikrofotografie byly pořizovány pomocí fotografického zařízení Olympus Z300 na barevný film Agfacolor 100 (Agfa) či pomocí digitálního fotoaparátu Olympus Camedia Digital Camera C-5050 Zoom. Digitální fotografie byly snímány ve kvalitě HQ s rozlišením 2048 x 1536 pixelů a dále upravovány pomocí počítačového programu Adobe Photoshop® 6.0 CE (Adobe Systems Incorporated, 1989-2001).

Vzhledem k malým rozměrům fotografovaných objektů byly fotografie ve většině případů pořizovány za největšího možného zvětšení, tj. při použití 100x zvětšujícího imerzního objektivu.

## 4.5 Metody experimentálního studia kmenů rodu *Klebsormidium*

### 4.5.1 Studium variability morfologie buněk během životního cyklu

Změna rozměrů a morfologie buněk během stárnutí populace byla pozorována u šesti náhodně vybraných kmenů K 9, K 13, K 16, K 29, K43 a K 49. Kmeny byly vybrány tak, aby zahrnovaly co největší spektrum rozměrů buněk. Kmeny byly naočkovány na agarové plotny s médiem BBM (bez přídavku půdního dekoktu či vitamínů) a následně kultivovány při teplotě 25 °C za stálého osvětlení zářivkovou trubicí Philips TLD 18W/33. Po dobu 1 měsíce, celkem šestkrát, byla každý týden z agarové plotny odebrána malá část rostoucí populace a pozorována ve světelném mikroskopu NfPK Carl Zeiss Jena. Při každém pozorování byla zaznamenána průměrná délka a šířka buněk, jejich tvar a počet buněk na vlákno. Průměr délky a šířky byl vždy spočítán z 50 náhodně vybraných buněk v celém vzorku. Při posuzování délky vláken byl zaznamenán počet buněk nejkratšího a nejdelšího vlákna.

### 4.5.2 Studie vlivu fyzikálně-chemických parametrů na morfologii buněk

Vliv fyzikálně-chemických parametrů (teplota, vlhkost, osvětlení a pH) na rozměry buněk byl studován u kmenů K 13 a K 21. Oba kmeny byly nejdříve kultivovány na agarových plotnách při teplotě 25 °C za stálého osvětlení zářivkovou trubicí Philips TLD 18W/33. Po jednoměsíční kultivaci byla z povrchu agaru opatrně seškrábnuta narostlá kultura každého kmene a smíchána s destilovanou vodou (0,05 g řasy ku 100 ml destilované vody). Po řádném rozmíchání na magnetické míchače byly vždy 2 ml vzniklé suspenze přeneseny na povrch půdy do připravených Erlenmayerových baněk či zkumavek. Celkem bylo použito 24 baněk o objemu 500 ml a 8 zkumavek. V každé baňce bylo smícháno 5 g půdy s 15 ml (16 baněk), 2,5 ml (4 baňky) či 50 ml (4 baňky) destilované vody. Alobalem uzavřené baňky byly třikrát autoklávovány. Ve zkumavkách bylo 5 g půdy přelito destilovanou vodou 1 cm pod okraj zkumavky a rovněž třikrát autoklávováno. Před posledním autoklávováním bylo pH roztoku upraveno na 4,5 přidáním roztoku HCl (4 zkumavky) či na 8,5 pomocí roztoku NaOH (zbylé 4 zkumavky). Do poloviny takto připravených baněk a zkumavek byly odpipetovány 2 ml suspenze kmene K 13, do zbylé poloviny stejný objem suspenze kmene K 21.

Pro studium vlivu teploty byly oba kmeny přeneseny do 4 baněk s 15 ml destilované vody (celkem tedy 8 baněk). 2 baňky každého kmene byly uchovávány v laboratoři při průměrné teplotě 26,5 °C (maximální výkyvy teploty  $\pm 3,5$  °C), zbylé 2 baňky byly přeneseny do místnosti s průměrnou teplotou 8 °C (maximální výkyvy teploty  $\pm 4$  °C). Oba kmeny byly vystaveny dennímu osvětlení. Pro studium vlivu vlhkosti byl každý kmen přenesen do 2 baněk s 2,5 ml a 2 baněk s 50 ml destilované vody. Všechny baňky pak byly uchovávány při teplotě 25 °C za denního osvětlení. Vliv osvětlení byl studován přenesením každého kmene do 4 baněk s 15 ml destilované vody. Obě baňky byly umístěny v blízkosti trvalého zdroje světla (zářivková trubice Philips TLD 18W/33), 2 baňky každého kmene



však byly obaleny několika vrstvami alobalové folie, zamezující přístupu světla. Při studiu vlivu pH byl každý kmen přenesen do 2 zkumavek s pH 4,5 a do dvou zkumavek s pH 8,5. Každý měsíc bylo pH všech zkumavek upravováno na tutéž hodnotu přidáním cca 0,02 ml roztoků HCl či NaOH.

Kmeny byly ve výše zmíněných podmínkách uchovávány po dobu 4 měsíců (od 7. 2. 2003 do 19. 6. 2003). Po uplynutí této doby byl ze všech baněk a zkumavek odebrán vzorek půdy a pozorován ve světelném mikroskopu NfPK Carl Zeiss Jena. U obou kmenů pak byl zaznamenán rozsah šířky a délky buněk v závislosti na různých experimentálních podmínkách.

### 4.6 Metody studia morfologie chloroplastu pomocí konfokální mikroskopie

#### 4.6.1 Příprava a pozorování materiálu

Kmeny řas určené ke studiu na konfokálním mikroskopu jsem několik měsíců před vlastním pozorováním sterilně přeočkoval do zkumavek s šikmým agarem a pěstoval za stálého osvětlení při teplotě 25 °C. Před vlastním pozorováním jsem vzorek řasové kultury přenesl do destilované vody mezi podložní a krycí sklo i s částí agarového média. Tím jsem zamezil případnému pohybu buněk ve vzorku během vlastního pozorování.

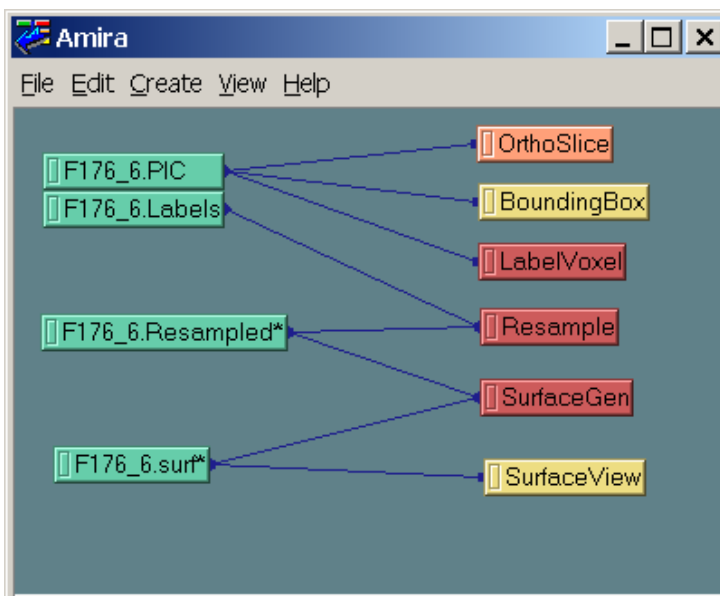
K pozorování struktury chloroplastu byl pravidelně využíván konfokální mikroskop Biorad MRC-600 s Argon-Kryptonovým laserem, umístěný ve Fyziologickém ústavu AV ČR. Struktura chloroplastu byla zviditelněna pomocí autofluorescence chlorofylu, který byl excitován laserem o vlnové délce 488 nm. Buňky řas byly pozorovány při největším možném zvětšení za použití 100x imersního objektivu, upevněného na inverzním fluorescenčním mikroskopu Nikon. Jednotlivé snímky řas byly pořizovány jako seriální řezy o tloušťce 0,5 či 1 µm. Během snímání byl postupně upravován kontrast a výtěžek excitovaného záření, což umožnilo lepší zachycení struktury chloroplastu v celém objemu buňky.

Výsledné konfokální snímky byly pozorovány pomocí počítačového programu Confocal Assistant 4.02 (Todd Clark Brelje 1994-1996) a dále upraveny programem Adobe Photoshop® 6.0 CE.

#### 4.6.2 Rekonstrukce struktury chloroplastu

Pomocí programu Amira 3.0. (TGS Template Graphic Software, Inc., 1999-2002) jsem z konfokálních snímků vytvářel 3-D rekonstrukce chloroplastu pomocí následující metody (Obr. 12): Do programu jsem nahrál soubor, obsahující seriální řezy chloroplastu studované řasy (soubor s koncovkou PIC). K tomuto souboru jsem připojil modul **OrthoSlice**, umožňující sledování jednotlivých řezů, a modul **BoundingBox**, zobrazující rozměry daných snímků v 3-D prostoru. Pro vytvoření rekonstrukce chloroplastu je nutné v každém snímku označit oblast, která bude považována za součást zobrazovaného objektu. V případě chloroplastu se jedná o bílé oblasti snímků, v místech

autofluorescence chlorofylu. Připojením modulu **LabelVoxel** byla tato oblast automaticky vybrána zvolením jistého stupně šedi, který vyjadřuje hranici mezi zobrazovaným objektem a jeho okolím. Protože ale hranice chloroplastů na konfokálních snímcích nebyly ostré a fluorescence chlorofylu byla v různých rovinách jiná, bylo nutné tyto automaticky vytvořené hranice poupravit. To jsem učinil ve vzniklém souboru Labels nástrojem Image Segmentation Editor. Poté jsem ve všech snímcích vyhledal povrch objektu nástrojem Smooth labels – 3D volume. Kvůli velmi složité struktuře chloroplastu sledovaných kmenů řas jsem následně zmenšil rozlišení vzniklého souboru připojením modulu **Resample**. Vlastní 3D rekonstrukci chloroplastu jsem provedl připojením modulu **SurfaceGen** k souboru Resampled. Tento modul vytvořil trojrozměrnou rekonstrukci povrchu chloroplastu vytvořením velkého množství (sta tisíce) vzájemně pospojovaných malých trojúhelníků. Ke vzniklému souboru surf jsem nakonec připojil modul **SurfaceView**, zobrazující výsledný tvar rekonstruovaného chloroplastu. Pomocí nástroje Image Segmentation Editor bylo možné přidáním materiálu vybrat další objekty (jako například pyrenoid), či sledovaný chloroplast rozdělit na několik dílů (vrstev). Modul **SurfaceView** poté umožnil tyto další objekty zobrazovat samotné či v jejich různé kombinaci.



**Obr. 12** - Schéma zapojení modulů v programu Amira 3.0. při rekonstrukci struktury chloroplastu.

pospojovaných malých trojúhelníků. Ke vzniklému souboru surf jsem nakonec připojil modul **SurfaceView**, zobrazující výsledný tvar rekonstruovaného chloroplastu. Pomocí nástroje Image Segmentation Editor bylo možné přidáním materiálu vybrat další objekty (jako například pyrenoid), či sledovaný chloroplast rozdělit na několik dílů (vrstev). Modul **SurfaceView** poté umožnil tyto další objekty zobrazovat samotné či v jejich různé kombinaci.

## 4.7 Metody analýzy dat

### 4.7.1 Mnohorozměrné ordinační metody

Floristická data spolu s naměřenými hodnotami prostředí byla vyhodnocena pomocí mnohorozměrných ordinačních technik. Ty umožňují zjednodušení mnohorozměrného prostoru nalezením malého počtu hypotetických veličin (ordinačních os), které postihnou co největší část variability sledovaných dat.

Při jednotlivých analýzách floristického složení borečských lokalit byla použita data ve dvou formách. V některých případech byla analyzována floristická data včetně informace o tom, v kterém mikrobiotopu se jednotlivé druhy nalézaly (dále viz **data A**). Jelikož však byly tyto mikrobiotopy součástí jednotlivých odběrů prováděných v časovém sledu na stejných lokalitách, výsledná floristická

data měla velmi složitou strukturu. Tato struktura dat představuje tzv. dvojitě split-ploty, jejichž následná statistická analýza je velmi složitá. Ve většině případů (samozřejmě kromě samotného testu vlivu mikrobiotopů na druhové složení řas) byla proto tato data zjednodušena následujícím způsobem: Jednotlivé mikrobiotopy byly brány jako 3 podplochy jednotlivých odběrů, s jejichž pomocí byl umožněn detailnější průzkum algoflóry studovaných lokalit. Tyto podplochy tudíž nemusejí v analýzách týkajících se parametrů ploch či jednotlivých odběrů figurovat samostatně. Ve většině analýz byl proto výskyt druhů v daném odběru brán jako součet abundancí druhu v jednotlivých mikrobiotopech (dále viz **data B**). Tím byly nejen zpřesněny údaje o výskytu jednotlivých druhů, ale navíc data obsahovala údaje o jejich frekvenci.

Před vlastní analýzou dat je velmi důležité rozhodnutí, zda použít lineární či unimodální ordinační modely odpovědí druhů na parametry prostředí. Jinak řečeno, je důležité zjistit, zda je vliv charakterů prostředí na výskyt druhů lineární, či zda mají studované druhy vytvořena maxima výskytu pouze v jisté části gradientu. Lineární techniky jsou poté vhodnější pro krátké gradienty, zatímco unimodální pro gradienty dlouhé. Odhad délky gradientu je možné získat pomocí korespondenční analýzy (DCA), kde je tato informace obsažena ve výstupu jako *lengths of gradient*. Pokud je největší uvedené číslo větší než 4, je třeba použít unimodální techniku. Je-li naopak délka gradientu menší než 3, je obvykle vhodnější metoda lineární (HERBEN & MÜNZBERGOVÁ 2003). Pomocí této analýzy byla na základě floristických dat B odhadnuta délka gradientu (viz Tab. 1).

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total inertia
Eigenvalues	: 0.411	0.153	0.121	0.074	2.336
Lengths of gradient	: 2.629	1.989	1.549	2.1	

**Tab. 1** – Část výstupu DCA analýzy s informací o délce gradientu prostředí.

Z výsledku analýzy je patrné, že hodnota nejdelšího gradientu prostředí je nižší než 3, a tudíž je odezva druhů spíše lineární. Pro studium floristických dat byly tudíž ve všech případech použity lineární mnohorozměrné analýzy PCA a RDA. Toto rozhodnutí bylo podepřeno i samotnou formou floristických dat, která byla pořizována na čtyřech velmi blízkých odběrových místech v rámci jedné lokality (vrcholek Borče). Lineární analýzy byly použity i při analýze floristického složení pěti ventarol Českého Středoohoří, kde se odhadnutá délka gradientu rovnala 2,553.

Ke zhodnocení dat byla použita jak nepřímá, tak přímá gradientová analýza. Při nepřímé analýze je cílem výpočtu nalézt hypotetické veličiny prostředí, které postihují největší část variability dat. Tyto hypotetické proměnné jsou vyjádřeny ordinačními osami v mnohorozměrném prostoru, přičemž první osa vždy vysvětluje největší podíl variability v datech. Vzhledem ke krátkému gradientu prostředí byla v tomto případě použita analýza hlavních komponent (PCA). Přímá gradientová analýza se od nepřímé liší tím, že ordinační osy neznázorňují největší variabilitu v datech, ale jsou definovány

jako lineární kombinace měřených hodnot prostředí. Jednotlivé osy tudíž postihují pouze tu část variability dat, která se dá vysvětlit předem danými parametry prostředí. Přímé techniky navíc umožňují testovat signifikaci vlivu těchto parametrů na variabilitu dat pomocí Monte Carlo permutačních testů. Vzhledem ke krátkému gradientu byla data analyzována pomocí redundanční analýzy (RDA).

Data byla analyzována programem Canoco for Windows 4.5 (TER BRAAK & ŠMILAUER 1998), ordinační diagramy byly znázorněny pomocí programu CanoDraw for Windows 4.0 (TER BRAAK & ŠMILAUER 2002).

#### 4.7.2 Další statistické metody

Pro testování vlivu vzájemné vzdálenosti ventarol na druhové složení vzorků pěti ventarolových oblastí Českého Středoohoří byl použit **Mantelův test** (MANTEL 1967). Tento test je založen na porovnávání korelace mezi dvěma maticemi dat. Při testování vlivu vzdálenosti lokalit první matice reprezentuje prostorové vzdálenosti mezi jednotlivými oblastmi. Druhá matice představuje vzájemnou podobnost druhového složení těchto oblastí. Podobnost druhového složení dvou vzorků byla vypočítána podle vzorce indexu floristické podobnosti, tzv. Sørensenova indexu (SØRENSEN 1948). Ten je definován jako

$$IS_j = \frac{2c}{A + B}$$

kde hodnoty **A** a **B** představují počty druhů ve dvou vzorcích a hodnota **c** je počet druhů společných pro oba vzorky. Index podobnosti může nabývat hodnot od 0 do 1, vyšší hodnota znamená větší floristickou podobnost vzorků. Při hodnotě  $IS_j = 1$  jsou oba vzorky svým druhovým složením totožné, při hodnotě  $IS_j = 0$  nemají oba vzorky žádný společný druh. Testování vztahu dvou matic se provádí randomizačním permutačním testem. Pro výpočet Mantelova testu byl použit program Mantel nonparametric test calculator 2.0 (Adam Liedloff, 1999).

Při posuzování podobnosti ventarolových lokalit Českého Středoohoří či izolovaných kmenů rodu *Klebsormidium* byla použita **shluková analýza**. Ta výpočtem vzdáleností jednotlivých objektů vytvoří sekundární matici podobností, znázorněnou jako dendrogram. Podobnost mezi objekty je pak nepřímě úměrná délce větví, kterými jsou spojeny (MARHOLD & SUDA 2002). Při analýze byla použita metoda průměrné vzdálenosti (paired group method). Podobnost objektů byla spočítána pomocí euklidovské vzdálenosti. Shluková analýza byla počítána s pomocí programu Past 1.20 (Hammer & Harper, 2004). Shluková analýza ventarolových oblastí Českého Středoohoří byla počítána s daty o floristickém složení jednotlivých lokalit, při studiu podobností kmenů rodu *Klebsormidium* byla použita data o průměrné délce a šířce buněk, charakteru otvorů v buněčné stěně zoosporangia, typu klíčení zoospor a mikrobiotopu naleziště (kódovaným jako soustava umělých binárních proměnných, tzv. dummy

variables). Jelikož byly hodnoty těchto znaků nepoměrné, data byla před samotnou analýzou standardizována (aritmetická střední hodnota 0, směrodatná odchylka rozdělení 1).

S pomocí **kanonické diskriminační analýzy** byla testována hypotéza, zda je možné pomocí charakteru otvorů v buněčných stěnách zoosporangií či typem klíčení zoospor odlišit 36 izolovaných kmenů rodu *Klebsormidium* na dvě různé skupiny. Diskriminační analýza umožňuje sledovat vztahy mezi objekty v prostoru definovaném kanonickými osami. Je podobná ordinačním metodám (např. analýze hlavních komponent - PCA), liší se však v tom, že kanonické osy jsou vedeny ve směru největší variability mezi předem definovanými skupinami (HEBÁK & HUSTOPECKÝ 1987; MARHOLD & SUDA 2002). Pro výpočet diskriminační analýzy byl opět použit program Past 1.20 (Hammer & Harper, 2004). Při analýze byla použita stejná data jako u předešlé shlukové analýzy. Standardizaci dat prováděl program již automaticky. Pro testování hypotéz byl použit Hotellingův  $T^2$  test.

## 5 Floristická část

### 5.1 Úvod

Tato část diplomové práce se zabývá jednotlivými druhy sinic a řas, které byly determinovány během studia algoflóry ventarolových oblastí Borče i v rámci jednorázového průzkumu vybraných ventarolových oblastí Českého Středohoří. Cílem této části je snaha o co nejdetailnější popis druhového složení ventarol, srovnání druhového složení s kontrolními oblastmi mimo ventarolové vývěry, popřípadě nalezení specifických druhů sinic a řas, typických pro tyto biotopy.

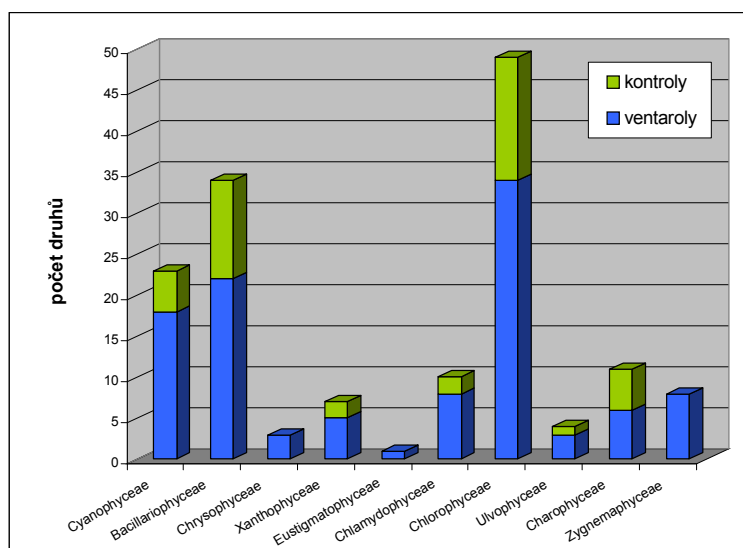
Několik kmenů sinic a řas se přes jejich izolaci či získání detailních informací o životním cyklu podařilo přesně určit pouze do rodu, či souhrn znaků těchto kmenů neodpovídal charakteristice žádného popsaného druhu. Buňky některých určených druhů rovněž vykazovaly vzácně se vyskytující či dosud nezdokumentovanou morfologickou variabilitu v rámci populace. V případě publikování pouhého výčtu druhových jmen nalezených taxonů bez obsáhlejší dokumentace nalezených kmenů sinic a řas by bylo ztíženo případné budoucí srovnání těchto výsledků s jinými studiemi. Z tohoto důvodu jsou všechny nalezené druhy v příloze dokumentovány kresbou, fotografií, či oběma způsoby.

Pro velké množství nalezených druhů sinic a řas jsou v následujících kapitolách uvedeny a diskutovány především taxonomicky náročné izoláty, hojně se vyskytující skupiny sinic a řas, či ty druhy, jejichž nález byl výjimečný či z některého hlediska zajímavý.

Jednotlivé izolované kmeny byly určovány pomocí literatury uvedené v kapitole 4.3.2.

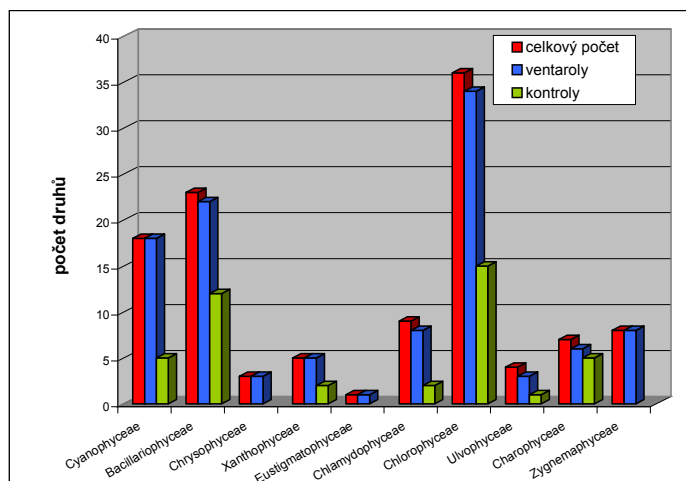
### 5.2 Výsledky a diskuse

V rámci dlouhodobého studia ventarol NPP Boreč bylo během 26 měsíců učiněno 10 odběrů z každé ze 4 odběrových míst ve studované ventarolové oblasti. Na každém odběrovém místě byly samostatně odebrány vzorky ze tří mikrobiotopů, celkem tedy bylo analyzováno 120 vzorků. V průměru bylo v každém odběru determinováno 19 druhů sinic a řas. Největší zaznamenaný počet druhů v jednom odběru byl 64 (ventarola 1 – 11.1.2003).



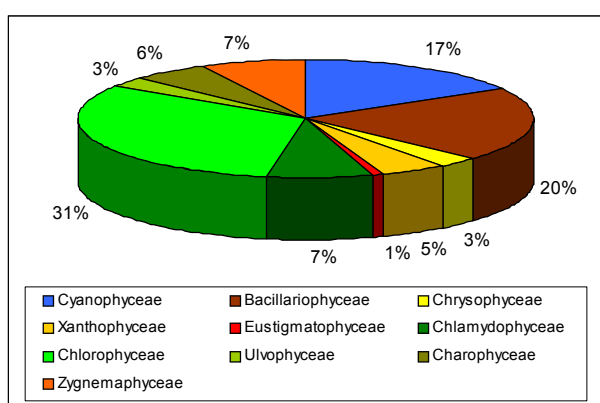
**Obr. 13** – Poměrné zastoupení sinic a řas ve ventarolech a kontrolních lokalitách na vrcholu Borče.

Pouze v jednom odběru (kontrolní místo 3 – 18. 2. 2001) nebyl zaznamenán žádný druh. Celkově bylo ve všech lokalitách nalezeno 114 druhů sinic a řas (seznam všech nalezených druhů spolu s odkazy na jejich ilustrace či fotografie je uveden v Tab. 18). Zatímco většina druhů (108) byla nalezena ve ventarolách, z kontrolních lokalit jich bylo izolováno pouhých 42. Porovnání výskytu druhů ve ventarolových a kontrolních lokalitách je pro jednotlivé třídy sinic a řas zobrazeno na Obr. 13. Nejvíce nalezených druhů ve

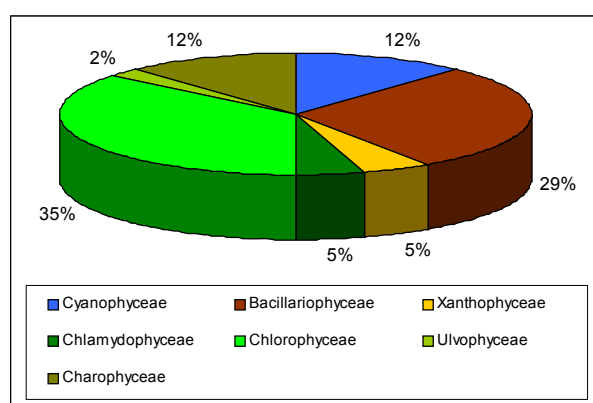


**Obr. 14** – Celkový počet nalezených druhů v jednotlivých třídách sinic a řas a jejich výskyt ve ventarolech a kontrolních lokalitách.

všech lokalitách náleželo do třídy Chlorophyceae, druhou a třetí nejpočetnější skupinu tvořily rozsivky a sinice. Ty byly sice velmi početné ve ventarolách, na kontrolních lokalitách však bylo nalezeno čtyřikrát méně druhů. Zástupci tří řasových skupin (Zygnematales, Chrysophyceae a Eustigmatophyceae) byli nalezeni pouze ve ventarolových lokalitách. Na Obr. 14 je znázorněno srovnání počtu druhů sinic a řas, nalezených na ventarolových a kontrolních lokalitách, s celkovým počtem nalezených druhů daných skupin. Z grafu je patrné, že pouze malý počet druhů byl nalezen na kontrolních odběrových místech. Naproti tomu druhy typické pro ventarolové lokality byly nalézány ve velkém množství. U některých skupin (např. u sinic) byl celkový počet druhů ve všech lokalitách shodný s počtem druhů, nalezených pouze ve ventarolách. V těchto skupinách tedy nebyl nalezen jediný druh, vyskytující se pouze mimo ventaroly.



**Obr. 15** – Celkové zastoupení sinic a řas ve ventarolách.

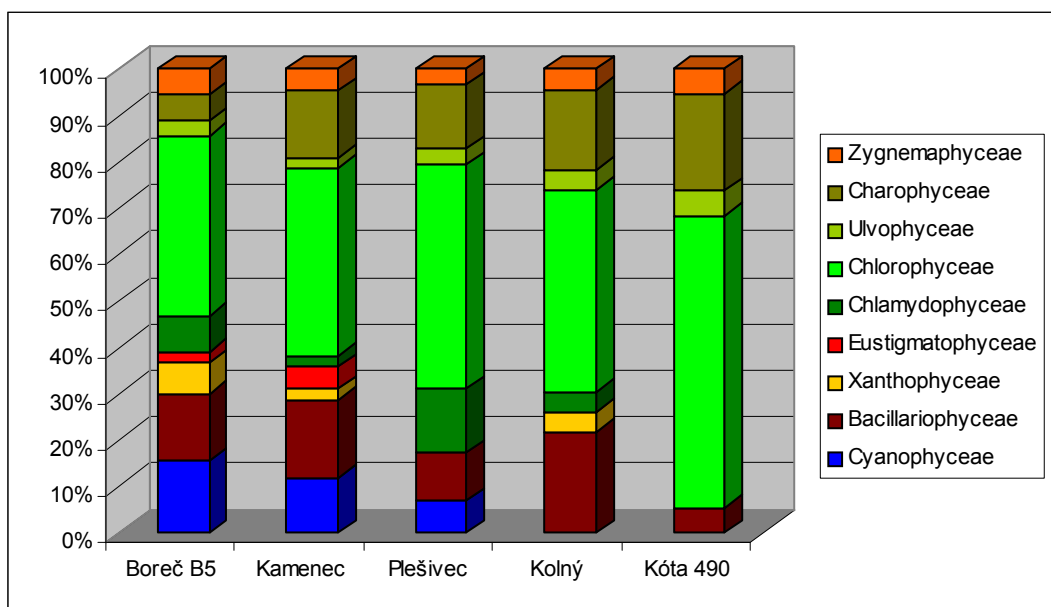


**Obr. 16** – Celkové zastoupení sinic a řas v kontrolních lokalitách.

Na Obr. 15 a 16 je znázorněno procentuální zastoupení druhů v rámci 10 tříd sinic a řas, vyskytujících na Borči ve ventarolových a kontrolních lokalitách. Nejmarkantnější je rozdíl v relativní četnosti druhů, patřících do tříd Zygnematales a Charophyceae. Krásivky byly nalezeny pouze ve

ventarolách, kde tvořily 7 % všech nalezených druhů. Naproti tomu vláknité zelené řasy ze skupiny Charophyceae tvořily výraznější složku algoflóry kontrolních lokalit. Dominantnější skupinu kontrolních lokalit také tvořily rozsivky, relativní četnost ostatních skupin však byla na obou lokalitách velmi podobná. Velmi zajímavý je tento fakt u sinic, jejichž absolutní počet druhů byl v kontrolních lokalitách velmi malý (viz Obr. 13). Relativní výskyt této skupiny vůči ostatním třídám řas byl však v porovnání s ventaroly pouze o 5 % nižší.

Během jednorázového průzkumu ventarol Českého Středohoří bylo provedeno dalších 9 odběrů na pěti vybraných ventarolových lokalitách. Při odběru byl opět brán důraz na získání vzorků z různých mikrobiotopů. V některých lokalitách však nebylo možné získat vzorek půdy (ventaroly Ka2, Ka3, Ko1, Ko2) či stélky mechu (ventarola Pl2), tudíž bylo celkem analyzováno pouze 22 odebraných vzorků. V průměru bylo v každém odběru determinováno 18 druhů sinic a řas. Největší počet druhů zaznamenaný v jednom odběru byl 64 (Boreč – lokalita B5), nejmenší 10 (Kolný –



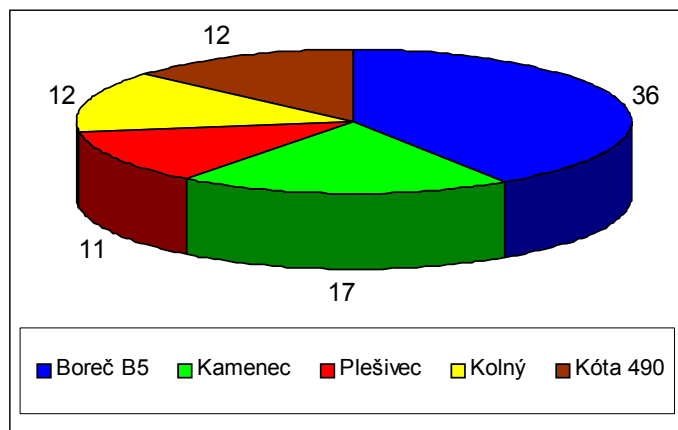
**Obr. 17** – Poměrné zastoupení jednotlivých skupin sinic a řas ve ventarolech na pěti vybraných lokalitách Českého Středohoří.

lokalita Ko2). Celkem bylo determinováno 109 druhů. Na Obr. 17 je zachycen poměrný výskyt druhů jednotlivých tříd sinic a řas ve ventarolách jednotlivých oblastí. Z grafu je patrné, že relativní četností skupin i jejich pestrostí jsou si velmi podobné ventaroly na Borči a na Kamenci. Pouze v těchto lokalitách byly například nalezeny druhy ze třídy Eustigmatophyceae. Ostatní lokality jsou si již méně podobné. Ve ventarolách na Plešivci nebyly nalezeny žádné různobrvky, na lokalitách Kolný a Kóta 490 u Třebušína se nevyskytoval žádný druh sinic. Nejvíce se relativní četností skupin od ostatních oblastí odlišovala ventarola na Kótě 490, kde byly nalezeny druhy jen z pěti řasových tříd. Nejpočetněji zde byly zastoupeny zelené řasy ze skupiny Chlorophyceae. S ventaroly na Borči a na Kamenci tuto lokalitu pojil relativně vysoký výskyt řas z čeledi Radiococcaceae, které na povrchu kamenů tvořily viditelné slizovité nárosty. Ve všech lokalitách bylo zaznamenáno pouze několik málo



druhů krásivek. V některých ventarolách na Kamenci, Plešivci a ve ventarole na Kótě 490 však tyto druhy představovaly dominující složku algoflóry (viz kapitola 5.2.5.2).

Na Obr. 18 je zachycen průměrný počet druhů nalezených na jednotlivých ventarolových lokalitách Českého Středohoří. Na grafu jsou vyneseny průměrné počty druhů, které byly izolovány ze všech odebraných vzorků na každé lokalitě (přestože bylo například na lokalitě B5 celkově nalezeno 64 druhů, tyto druhy byly izolovány ze tří vzorků, odebraných v jednotlivých mikrobiotopech). Z grafu jasně vyplývá, že druhově nejbohatší lokalitou byla ventarola B5, nacházející



**Obr. 18** – Průměrný počet druhů nalezených ve všech odebraných vzorcích na pěti vybraných lokalitách Českého Středohoří.

se ve vrcholové oblasti Borče. Druhou nejbohatší oblast představovaly ventaroly na Kamenci, které byly borečské lokalitě nejpodobnější i v rámci relativního poměru nalezených druhů sinic a řas (viz Obr. 17). Přesto však bylo na Kamenci nalezeno až o polovinu méně druhů, než na Borči. Ostatní tři ventarolové oblasti byly druhově poměrně chudé, s průměrným výskytem 12 druhů ve vzorku.

Celkově bylo na všech lokalitách na Borči i v jiných oblastech Českého Středohoří nalezeno 136 různých druhů sinic a řas. Nejvíce nalezených druhů náleželo do třídy **Chlorophyceae** (47 druhů), poté následovaly skupiny **Bacillariophyceae** (24 druhů), **Cyanobacteria** (20 druhů), **Chlamydoephyceae** (12 druhů), **Zygnemaphyceae** (10 druhů), **Xanthophyceae** a **Charophyceae** (obě skupiny po 7 druzích). Pouze 3 nalezené druhy patřily do skupin **Chrysophyceae**, **Eustigmatophyceae** a **Ulvophyceae**.

### 5.2.1 Cyanobacteria

Celkem bylo nalezeno 21 druhů ze 7 rodů vláknitých sinic. Mezi nimi převažovaly sinice s jednoduchou vláknitou stélkou bez akinet či heterocyt (rody *Phormidium* a *Leptolyngbya*). V žádném vzorku nebyla nalezena sinice s kokální organizací stélky.

Ve dvou vzorcích, odebraných z ventarolové lokality 2 ve vrcholové oblasti Borče, byly nalezeny vlákna druhu *Beggiatoa minima* (HÄUSLER 1982). Tento organismus se vyznačuje velmi úzkými vlákny a jejich poměrně rychlým oboustranným pohybem. Vlákna jsou široká pouze 0,7 µm, jejich délka však dosahuje až 75 µm. Jednotlivé buňky jsou ve světelném mikroskopu velmi špatně odlišitelné, jejich cytoplazma obsahuje poměrně velké množství bezbarvých granulí. Druhy rodu *Beggiatoa* se většinou vyskytují v sirných pramenech, RODINA (1963) však uvádí nález velké populace z oligotrofních jezer poblíž Ladožského jezera.

*Fischerella thermalis* – Ve ventarolové oblasti 1 byla často nalézána vláknitá sinice s pravým větvením postranních vláken (čeled' Stigonemataceae). Mladá vlákna jsou vždy jednořadá, u starších vláken dochází ke spirálnímu stočení trichomů uvnitř vláken až ke vzniku mnohořadosti osových vláken. Vznik takovýchto mnohořadých vláken je typický pro rod *Fischerella*, šířka vláken pohybující se mezi 7 – 10 (u jednořadých) – 14  $\mu\text{m}$  (u mnohořadých) je charakteristická pro druh *Fischerella thermalis*. Tento poměrně vzácně se vyskytující druh byl izolován z horkých pramenů v Yellowstonském národním parku v USA, byl nalezen také v alkalických termálních pramenech na Islandu či v horkých pramenech v oblasti Whakarewarewa na Novém Zélandě. (GEITLER 1932; CASTENHOLZ 1969; RIPPKA et al. 1979). Jeho stabilní výskyt na Borči je proto velmi zajímavý.

Velice podobná sinice byla v České Republice nalezena na hořících haldách u Sokolova (KOMÁREK & ROSA 1957). Autoři sice nalezenou sinici determinovali jako *Sommierella cossyrensis*, pro kterou je charakteristická jednořadost osových vláken. Se správností tohoto určení ale v publikaci sami polemizují. Izolovaný kmen totiž vykazoval vysokou morfologickou variabilitu a v určitém stádiu se vytvářela mnohořadá vlákna, charakteristická pro rod *Fischerella*. Při porovnání morfologie a rozměrů vláken s údaji, uvedenými ve zmíněné publikaci, se mi oba nálezy zdají identické. Jediným rozdílem je mírně častější výskyt mnohořadých vláken u mnou izolované sinice. To však, jak autoři diskutují, může být způsobeno nižší teplotou vzduchu ve ventarolách (průměrná roční teplota v borečské ventarole je 16,6 °C, oproti 39 °C naměřenými na lokalitě u Sokolova). Domnívám se tedy, že v obou případech se jedná o druh *Fischerella thermalis*.

Téměř ve všech vzorcích, odebraných z ventarolové lokality 1, byla nalezena vláknitá sinice s nepravým větvením postranních vláken, *Hassalia byssoidea*. Okolo vláken se často tvořily tenké bezbarvé pochvy, které byly u starých kultur výrazně žlutohnědě zbarveny. Trichomy jsou tvořeny cylindrickými buňkami, vždy výrazně kratšími než je jejich šířka. Délka a šířka buněk se pohybuje v rozmezí 3-5 x 10-11  $\mu\text{m}$ , šířka celých vláken dosahuje maximálně 15  $\mu\text{m}$ . Heterocyty se zpravidla tvoří na bázi postranních vláken, většinou jednotlivě, zřídka i po dvojicích. Celková morfologie stélky je velmi podobná i u zástupců rodů *Tolypothrix* a *Scytonema*. Od těchto rodů se však druhy rodu *Hassalia* odlišují tvorbou symetricky uspořádaných, křehkých a lehce rozpadavých postranních vláken. Nalezený druh *Hassalia byssoidea* je kosmopolitně rozšířen, většinou se vyskytuje na vlhkých skalách, pařezech stromů, či v půdě (MIGULA 1907; GEITLER 1932).

Rod *Nostoc* – Z několika vzorků, odebraných ve ventarolové lokalitě 1, byl izolován druh *N. calcicola*. Jednotlivé slizovité kolonie obsahují středně dlouhá, poměrně rozpadavá vlákna. Ta jsou z počátku rovná, 3  $\mu\text{m}$  široká, tvořená z poměrně dlouhých, cylindrických buněk. Po dvou až třech týdnech se v kulturách objevují tlustší, často spirálovitě stočená vlákna o průměru 5-6  $\mu\text{m}$ , jejichž buňky jsou výrazně kratší. U starších kultur velmi často dochází k tvorbě akinet kulovitěho tvaru, sdružených po několika desítkách v přibližně 15  $\mu\text{m}$  širokých provazcích. Tento druh je nalézán na povrchu vlhkých půd či vlhkých skal (GEITLER 1932), zajímavý je pak zvláště jeho častý výskyt ve sklenících (MIGULA 1907). Na stejné ventarolové lokalitě byl v šesti odběrech zaznamenán druh

*N. edaphicum*. Vyznačuje se tvorbou většinou kulovitých slizovitých kolonií, nepřesahujících v průměru 0,5 mm. V nich se vyskytují výrazně stočená vlákna, složená z kulovitých buněk o průměru 2-5  $\mu\text{m}$ . Ve dvou vzorcích byla také nalezena rovná, 2-3  $\mu\text{m}$  tlustá několikabuněčná vlákna, morfologicky velmi odlišná od vláken ve slizovitých koloniích. Tato vlákna, vytvářející se především v tekutých médiích, představují počáteční stádia nových kolonií. *N. edaphicum* reprezentuje typický půdní druh rodu *Nostoc* (HROUZEK et al. 2003). To potvrzuje i nález této sinice výhradně v půdních vzorcích.

V půdním vzorku, odebraném z ventarolové lokality 1, byly nalezeny vlákna sinice *Oscillatoria* cf. *curviceps*. Jednotlivé trichomy modrozelené barvy jsou přímé či mírně zvlněné, velmi zřídka se kolem nich vytváří tenká, nevýrazná pochva. Buňky jsou výrazně kratší než delší, jejich šířka dosahuje 9  $\mu\text{m}$ , délka buněk se pohybuje v rozmezí 1-1,5  $\mu\text{m}$ . Vnitřek buněk je výrazně světlejší a granulózní. Koncová buňka má široce zakulacený tvar, koncová část vlákna je buď rovná, či mírně ohnutá. Výše popsané znaky velmi odpovídají druhu *Oscillatoria curviceps* (GEITLER 1932), pouze rozměry izolovaného druhu jsou nepatrně menší. Tento druh, jako i většina ostatních zástupců rodu *Oscillatoria*, se nejčastěji vyskytuje ve stojatých či mírně tekoucích vodách, příkopech a močálech. Jeho výskyt na Borči je proto velmi zajímavý. MIGULA (1907) našel tento druh také na vlhkém tlejícím listí, které představuje prostředí velmi podobné vlhkým ventarolovým lokalitám.

Rod *Phormidium* – Tato sinice představovala nejpočetnější rod jak ve frekvenci výskytu, tak i v počtu zaznamenaných druhů. Ve ventarolových lokalitách bylo nalezeno mnoho morfotypů, odlišujících se různou šířkou trichomů, barvou, morfologií koncové buňky či uspořádáním aerol uvnitř buněk. Většinu těchto morfotypů se mi podařilo přenést do čistých kultur, ve kterých byla pozorována vysoká variabilita v rozměrech buněk či v barvě. Díky této kultivaci se mnoho těchto morfotypů prokázalo jako různé formy stejného druhu. Celkem tedy bylo nalezeno 9 různých druhů rodu *Phormidium*. Nejčastěji byly ve ventarolových lokalitách nalézány druhy *P. autumnale* a *Phormidium* sp. 2.

U druhu *Phormidium* sp. 2 byla navíc zaznamenána výrazná morfologická variabilita v odběrovém místě 1. ventaroly. Během podzimu 2002 se v buňkách začaly objevovat obdélníkovité struktury různé velikosti. Původ těchto struktur byl nejistý, pravděpodobně se však jednalo o endosymbiotické bakterie či krystaly, schopné růstu. V každém případě byla přítomnost těchto struktur doprovázena výraznou změnou morfologie – původně hnědá barva se změnila na šedozelenou, současně s tím došlo k redukci počtu aerol u buněčných přepážek, které byly výrazným znakem tohoto druhu před uvedenou změnou. Zajímavá byla velmi rychlá změna morfologie vláken, která proběhla během několika měsíců. Nejprve jsem dokonce oba morfotypy považoval za samostatné druhy a teprve samotná kultivace izolovaného kmene prokázala identitu těchto morfotypů. Pomocí světelného mikroskopu bohužel nelze přesně určit identitu neznámých struktur uvnitř buněk sinice. Pokud by se však jednalo o endosymbiotickou bakterii, přímo se nabízí srovnání s nedávno vytvořenou endosymbiotickou teorií (MARGULIS & SAGAN 2002), vysvětlující speciální události symbiózou dvou mikroorganismů. Na druhé straně se však se stejnou pravděpodobností může jednat o ukázkou velké

fenoplasticity sinic a jakýchsi dvou morfotypů jednoho druhu, kdy jeden je charakteristický produkcí blíže neurčitelné krystalické látky.

## 5.2.2 Chromophyta

### 5.2.2.1 Bacillariophyceae

Ve všech sledovaných lokalitách bylo celkem nalezeno 23 druhů rozsivek. Vedle druhů hojných a typických pro aero-terestrické substráty (*Hantzschia amphioxys*, *Nitzschia palea*, *Pinnularia borealis* či *Navicula mutica*) byly ve ventarolových lokalitách nalezeny i méně běžné druhy (např. *Aulacoseira granulata* či *Tabellaria flocculosa*). Tři druhy rozsivek (*Eunotia implicata*, *Neidium alpinum* a *Pinnularia sudetica*) nebyly nikdy dříve na aero-terestrických lokalitách pozorovány (ETTL & GÄRTNER 1995) a jedná se tedy o jejich první nález mimo vodní prostředí. *Eunotia implicata* byla nalezena pouze v jednom zimním odběru ve ventarole 1. Rozsivka byla determinována ze vzorku mechu, který byl prosycen kondenzovanou vodou ze stoupajících teplých par. V tomto období zde tedy vzniklo přechodné vodní prostředí, které je potřebné pro přežití nalezeného druhu. Ostatní dvě rozsivky, *Neidium alpinum* a *Pinnularia sudetica*, byly nalezeny v půdních vzorcích v různých ročních obdobích a jejich výskyt tedy není způsoben zvýšenou vlhkostí prostředí. Nález druhu *Pinnularia sudetica* je také zajímavý tím, že se jedná o rozsivku s relativně velkými rozměry schránek (až 61 µm), což je pro půdní rozsivky velmi netypické (PETERSEN 1935).

Ve velkých ventarolách (odběrové místo 1 a B5) byly velmi často nalézány dva druhy centrické rozsivky *Orthoseira* – *Orthoseira dendroteres* a *O. roeseana*. V malé ventarole a na kontrolních odběrových místech se zmíněné druhy vyskytovaly jen výjimečně či vůbec. Nejmarkantněji byl tento rozdíl vidět v zimním období, kdy docházelo ve velkých ventarolách k výraznému přemnožení druhů rodu *Orthoseira*. V mechových vzorcích tvořily buňky těchto dvou druhů až 90 % všech nalezených řas. Druhy rodu *Orthoseira* se typicky vyskytují ve vlhkých mechových polštářích či na smáčených skalách (ETTL & GÄRTNER 1995). Zástupci tohoto rodu byly také nalezeny na stěnách jeskyň, v ČR například v jeskyni Kůlna v Moravském Krasu (HOUK 1993). Je možné, že masový výskyt obou druhů rodu *Orthoseira* ve velkých ventarolách souvisí nejen s nárůstem vzdušné vlhkosti v zimních obdobích (v menší ventarole byla vlhkost vzduchu také zvýšena), ale i s částečným jeskynním charakterem borečských ventarol.

### 5.2.2.2 Chrysophyceae

Z důvodu detailnějšího floristického průzkumu lokalit byl pro studium vybraných druhově bohatých vzorků použit také transmisní elektronový mikroskop (TEM). Tato metoda byla rovněž použita v případě výskytu buněk blíže nespecifikovaných bezbarvých bičíkovců.

Díky tomuto pozorování se ve ventarolových odběrových místech podařilo zachytit výskyt tří druhů zlativek. Protože však nebylo možné pravidelně zkoumat všechny odebrané vzorky pomocí TEM, nebyl výskyt těchto druhů zahrnut do následujících ekologických studií. Přesto jsou tyto výsledky náhodného pozorování cenné a přinášejí informace o celkové druhové diverzitě sledovaných lokalit.

Ve stejném vzorku bylo nalezeno několik ostnů druhu *Paraphysomonas vestita*. Jedná se o kosmopolitně rozšířený druh, který je často nalézán v mořských i sladkých vodách (PREISIG & HIBBERD 1982). V terestrickém prostředí však byl nalezen pouze jednou, a to pouze pomocí světelného mikroskopu (EKELUND & PATTERSON 1997). Nález šupin v půdním vzorku z ventaroly potvrzuje výskyt tohoto heterotrofního bičíkovce i mimo vodní prostředí.

Dočasný několikaměsíční vznik tohoto vodního prostředí v mechových polštářích při ústí ventarolových vývěřů je pravděpodobně dostatečný pro výskyt některých druhů, žijících pouze ve vodě. To platí i pro další dva nalezené druhy zlativek.

Pomocí TEM byla ve vzorku mechu z ventarolové lokality 1 nalezena buňka druhu *Spiniferomonas* sp. (Obr. 3: b). Tento bičíkovec, žijící ve sladkých vodách, má typicky utvářené šupiny i ostny, jejichž tvar a struktura jsou charakteristické pro jednotlivé druhy tohoto rodu. Ve vzorku však byly nalezeny pouze ostny a určení do druhu je tudíž nemožné.

Jedním z nejzajímavějších nálezů, učiněných během dvouletého studia algoflóry ventarol Borče, je objev chrysomonádní šupiny ve vzorku mechu, odebraného ve ventarolové lokalitě 1. S velkou pravděpodobností se jedná o kaudátní šupinu druhu *Synura multidentata*. I když je pro správné určení mnoha druhů šupinatých chrysomonád potřebné získat údaje o morfologii velkého množství šupin, tento druh se od ostatních zástupců rodu *Synura* odlišuje právě specifickou strukturou kaudátních šupin. Ty se vyznačují přítomností vyvýšeného masivního submarginálního anteriorního žebra, které může být na anteriorním konci šupin přerušené (PÉTERFI & MOMEU 1977).

Výskyt druhu *S. multidentata* je stejně jako u ostatních zástupců rodu *Synura* striktně vázán na vodní prostředí. Mimoto se jedná o velmi vzácně se vyskytující druh, který doposud nebyl nalezen na území ČR, ačkoliv tradice floristického výzkumu šupinatých chrysomonád učinila z našeho území jednu z nejprozkoumanějších oblastí celého světa (NĚMCOVÁ et al. 2003). Již z tohoto důvodu by byl nález druhu *S. multidentata* na našem území velmi zajímavý, objev tohoto druhu na vrcholu Borče je však více než pozoruhodný. Jelikož se během dalších let již v žádném vzorku zkoumaném pomocí elektronové mikroskopie nepodařilo nalézt žádné další šupiny, populace tohoto druh se pravděpodobně na Borči vyskytovala pouze přechodně. Křemičité šupiny podléhají během času korozi, nalezená šupina však nejevila známky tohoto opotřebování, což značí její malé stáří a minimalizuje možnost zavlečení pouze jediné šupiny z jiné lokality výskytu. V blízkém okolí Borče se nalézají pouze dvě trvalé vodní plochy – zastíněná studánka na úpatí kopce a značně eutrofní nádrž v obci Režný Újezd. Tyto dvě lokality však nepředstavují refugia tohoto vzácného druhu a žádné větší stojaté vodní plochy se v okolí Borče nevyskytují. Jako nejpravděpodobnější se tedy jeví přechodný

výskyt malé populace druhu *S. multidentata* ve vodním prostředí, který se během zimních exhalací mezi lety 2000-2001 po několik měsíců udržoval v mechových rostlinkách. Po ukončení zimních exhalací mohou buňky tohoto druhu ve ventarolech přežívat po mnoho let v podobě cyst. Je možné, že za několik let nastanou podmínky, umožňující opětovné krátkodobé vytvoření populace druhu *S. multidentata* v borečských ventarolech. Otázkou však zůstává, kdy tyto blíže nespecifikované podmínky nastanou a zda je tato populace skutečně schopná dlouhodobého přežití v prostředí ventarol.

### 5.2.2.3 Xanthophyceae

Během studia bylo celkově nalezeno 7 druhů různobrvků, na pravidelně zkoumaných lokalitách ve ventarolové oblasti Borče bylo nalezeno pouze 5 druhů.

Ve vzorku půdy z odběrového místa B5 jsem našel několik buněk vzácně se vyskytujícího druhu *Botrydiopsis pyrenoidosa* s charakteristicky utvářenými chloroplasty s pyrenoidy, viditelnými pouze u mladých buněk. Ze dvou lokalit, navštívených během jednorázového průzkumu ventarol Českého Středohoří, jsem izoloval řasu, prozatímně nazvanou jako *Botrydiopsis* sp. Jedná se o kokální řasu s průměrem buněk dosahujícím až 50  $\mu\text{m}$ , obsahující mnoho deskovitých chloroplastů. U mladých buněk a autospor se chloroplasty vyskytují v jedné vrstvě pod buněčnou stěnou, a připomínají tak některé druhy zelené řasy *Bracteacoccus*. V dospělosti se však chloroplasty vytvářejí v celém lumenu buňky, kde se po několika shlukují do výrazných sloupcovitých struktur. Takovéto uspořádání chloroplastů je velice neobvyklé a neodpovídá žádnému popsanému druhu zelených řas či různobrvků. Kvůli přítomnosti takto uspořádaných chloroplastů i u mladých a rostoucích buněk je velmi nepravděpodobné, že se jedná o mladá zoosporangia. Zoospory se navíc nepovedlo přes různé metodické postupy z těchto buněk vyvolat a studovaná řasa se rozmnožovala pouze pomocí autospor. Kvůli tomuto faktu je také zařazení této řasy do třídy Xanthophyceae velmi problematické.

Z různobrvků se na zkoumaných lokalitách nejčastěji vyskytovaly druhy rodu *Xanthonema*. Nalézány byly ve všech zkoumaných odběrových místech, více se však vyskytovaly ve ventarolách. Druhy rodu *Xanthonema* se často ve velké míře vyskytují v polárních oblastech, kde tvoří nezanedbatelnou část veškeré místní algoflóry (BROADY et al. 1997). Proto je velice zajímavý její stálý výskyt v teplém prostředí ventarol na vrcholu Borče. Z hlediska ekologie této řasy by pravděpodobnější lokalitou výskytu byly ledové jámy na úpatí kopce, kde teplota celoročně neklesá pod 8 °C. Kvůli ověření tohoto předpokladu jsem proto na jaře roku 2002 uskutečnil jeden odběr z ledové jámy v dolní části severozápadního suťového pole. Ve vzorku bylo nalezeno mnoho vláken několika druhů rodu *Xanthonema*, které zde spolu se zelenou vláknitou řasou *Klebsormidium* tvořily většinu všech nalezených buněk řas. Z ledových jam byly izolovány stejné druhy, jaké byly nalezeny ve ventarolových oblastech na vrcholu kopce. Ač jsou pravděpodobně neoptimálnějšími oblastmi výskytu tohoto rodu lokality s nízkými teplotami (nebyl nalezen žádný literární údaj o výskytu tohoto

rodu v tropických oblastech), některé druhy rodu *Xanthonema* vykazují širokou ekologickou valenci s možností výskytu jak v prostředí ledových jam, tak v oblasti teplých ventarol.

Morfologie vláken je u rodu *Xanthonema* velice variabilní a jejich vzhled či počet chloroplastů v buňkách závisí na stáří studované kultury. V určovacích klíčích (např. Ettl 1978) je však při determinaci jednotlivých druhů velmi často dáván důraz na variabilní počet chloroplastů, a určení druhů je tím velmi ztíženo. Dva druhy, které jsem často izoloval z odběrových míst na vrcholku Borče, jsem nakonec určil jako *X. montanum* a *X. solidum*. V buňkách prvně zmíněného druhu jsou podle určovacích klíčů přítomny dva chloroplasty. To jsem však pozoroval jen u mladých, rostoucích vláken. Buňky starších vláken obsahují 6 – 8 jednotlivých chloroplastů, ve velmi mladých vláknech se naopak vyskytuje pouze jediný chloroplast. Studovaný kmen také vykazuje velkou variabilitu v délce jednotlivých buněk či celých vláken. Menší variabilita se vyskytuje i u druhu *X. solidum*, kde mladá vlákna obsahují průměrně 4 chloroplasty, u starších buněk je však možné nalézt až 8 jednotlivých chloroplastů. Při určování jednotlivých druhů rodu *Xanthonema* je tedy velmi důležité zachytit celkovou variabilitu buněk během celého životního cyklu.

### 5.2.3 Eustigmatophyta

Celkově byly nalezeny 3 druhy řas ze skupiny Eustigmatophyceae, z toho 1 druh na pravidelně sledovaných lokalitách na vrcholu Borče, další dva druhy pak byly nalezeny v rámci jednorázového průzkumu ventarol Českého Středoohoří. Stejně jako u skupiny Chrysophyceae byly všechny nalezené druhy izolovány pouze z ventarolových odběrových míst.

Rod *Eustigmatos* – Z několika odběrů na ventarolové lokalitě 1 byl izolován druh *E. polyphem*. Buňky tohoto druhu mají variabilní tvar, většinou jsou kulovité, v kulturách se však objevovaly i buňky oválné, elipsoidní či asymetrické. Jejich průměr se pohybuje v rozmezí 5-15(-22)  $\mu\text{m}$ . V buňkách je přítomen jeden laločnatý chloroplast s pyrenoidem. Ve starších buňkách se v cytoplazmě vyskytuje jedna či několik vakuol, obalených malými zrníčky zásobních látek. V některých buňkách je v cytoplazmě navíc přítomno jedno velké zrno oranžové barvy. Ve dvou ventarolech na Kamenci byly nalezeny buňky druhu *E. magnus*. Jejich morfologie je velmi podobná předchozímu druhu. Od něj se druh odlišuje pouze občasnou tvorbou velkých buněk, dosahujících v průměru až 45  $\mu\text{m}$ . Oba izolované druhy patří mezi typické půdní řasy, často nacházené v půdních vzorcích různých biotopů jak ve světě (Ettl 1978; Ettl & Gärtner 1995), tak i v ČR (Lukešová & Komárek 1987; Lukešová & Hoffmann 1996; Neustupa 2001). Ve ventarolových lokalitách se však tyto druhy nevyskytovaly pouze ve vzorcích půdy, ale také na aerofytických substrátech.

V borečské ventarole B5 byl nalezen další druh, patřící do skupiny Eustigmatophyta, *Vischeria stellata*. Buňky kulovitěho, zřídka elipsoidního tvaru dosahují v průměru 15  $\mu\text{m}$ . Barva a celková morfologie buněk je velmi podobná druhům rodu *Eustigmatos*. Izolované kmeny se však od těchto druhů odlišují uspořádáním buněčné stěny u některých buněk. Na povrchu buněčné stěny se tvoří

výrazně ztlustlé rýhy, pravidelně uspořádané po celém povrchu buňky. Nejmarkantněji jsou tyto ztlustliny vytvořeny u mladých buněk. S jejich růstem pak jsou tyto rýhy méně nápadné, snižuje se také jejich počet. U dospělých vegetativních buněk je povrch buněčné stěny většinou hladký. Buňky tohoto druhu se v kultuře rozmnožují tvorbou 2 – 4 kulovitých autospor. Izolovaný druh patří mezi poměrně hojnou půdní řasu (ETTL & GÄRTNER 1995).

Všechny nalezené druhy této skupiny se typicky vyskytují v terestrických biotopech (ETTL & GÄRTNER 1995). To, že byly během této studie nalezeny pouze ve ventarolových lokalitách pravděpodobně vypovídá o vztahu jejich výskytu k vyšší teplotě či vlhkosti prostředí. Výskyt druhu *E. polyphem* byl navíc výrazně pozitivně korelován s obdobím zimních exhalací (Obr. 30, více viz kapitola 6.2.2.2.).

## 5.2.4 Chlorophyta

Nejvíce izolovaných taxonů (celkem 62 druhů) náleží do skupiny Chlorophyta. Na pravidelně zkoumaných lokalitách bylo nalezeno 48 druhů z této skupiny (45 druhů ve ventarolových lokalitách, 18 druhů na kontrolních odběrových místech), stejný počet druhů byl izolován během jednorázového průzkumu ventarol Českého Středohoří.

Mezi nejčastěji nacházené druhy patřily kokální řasy *Coelastrella vacuolata*, *Chlorococcum infusionum*, *Kentrosphaera gibberosa*, *Pseudococcomyxa simplex*, *Scotiellopsis oocystiformis* a druhy rodu *Chlorella*.

Celkem 41 druhů bylo nalezeno pouze ve ventarolových lokalitách. Nejvýrazněji byl tento fakt pozorován u zástupců třídy Chlamydophyceae, či u řas s kapsální stélkou, patřících do čeledi Radiococcaceae, kde bylo všech 8 nalezených druhů izolováno pouze z ventarolových odběrových míst. V následujícím přehledu je použit systém tříd a řádů podle ETTLA & GÄRTNERA (1995).

### 5.2.4.1 Chlamydophyceae

Rod *Chlamydomonas* – celkem bylo nalezeno 6 druhů tohoto rodu. Všechny izolované druhy byly již dříve nalezeny na aero-terestrických substrátech (ETTL & GÄRTNER 1995). Vedle často se vyskytujících půdních druhů (jako např. *Chlamydomonas meslinii*) byly na studovaných lokalitách nalezeny i druhy vzácné. Takovým druhem je například *Chlamydomonas carrizoensis*, popsáný z půdního vzorku v americkém státě Texas (CHANTANACHAT & BOLD 1962). Druh, charakteristický několika pyrenoidy v chloroplastu a jádrem posazeným v zadní části buňky, nebyl předtím v Evropě ještě nikdy nalezen. Dalším velmi vzácným druhem je *Chlamydomonas pseudintermedia*, pouze jednou nalezený v několika půdních vzorcích na Islandu (BEHRE & SCHWABE 1970). Oba tyto druhy byly nalezeny pouze ve ventarolových lokalitách, stejně jako většina ostatních druhů. Ze vzorků odebraných na kontrolních lokalitách byl izolován pouze jediný druh rodu *Chlamydomonas*.



Rod *Chlorococcum* – ze vzorků z pravidelně sledovaných ventarolových lokalit byl velice často izolován druh *Chlorococcum infusionum*. Izolované kmeny se velmi často nepohlavně rozmnožovaly pomocí zoospor cylindrického tvaru, tvořených ve velkém počtu uvnitř velkých kulovitých zoosporangií. Tento druh představuje jednu z velmi rozšířených půdních řas, hojně nacházenou na nejrozličnějších substrátech po celém světě (ETTL & GÄRTNER 1995). Na několika ventarolových lokalitách byl během jednorázového odběru nalezen *Chlorococcum schizochlamys* s charakteristicky utvářeným chloroplastem s jedním, centrálně uloženým pyrenoidem. Chloroplast má u dospělých buněk hvězdicovitý tvar, připomínající stavbu některých druhů rodu *Trebouxia*. Při pohledu na vnější povrch buňky tento chloroplast tvoří výrazné podélné laloky. Dalším druhem, izolovaným z ventaroly na vrcholu Plešivce, je *Chlorococcum lobatum*, vyznačující se výrazně ztlustlou buněčnou stěnou dospělých buněk (ETTL & GÄRTNER 1988). Všechny nalezené druhy byly izolovány z ventarolových lokalit, pouze *Ch. infusionum* byl dvakrát nalezen na kontrolních lokalitách.

Z prvního vzorku, odebraného z povrchu kamene na ventarolové lokalitě 1, byla izolována vzácně se vyskytující řasa *Radiosphaera minuta*, charakteristická komplikovaně utvářeným chloroplastem (HERNDON 1958). Ten má u oválných mladých buněk a autospor lalokovitou strukturu ve tvaru písmene H a připomíná tak buněčnou stavbu některých druhů rodu *Chlamydomonas*. U dospělých buněk kulovitého tvaru je chloroplast axiální, s mnoha laloky vybíhajícími k buněčné stěně. Ve středu chloroplastu se nachází výrazný pyrenoid. V laterální pozici mezi laloky je přítomno veliké jádro s viditelným jadérkem. Buňky se rozmnožují tvorbou 4 – 16 autospor či pomocí zoospor. Od podobného druhu *Radiosphaera negevensis* se tato řasa odlišuje větší velikostí buněk a strukturou chloroplastu v zoosporách a mladých oválných buňkách (OCAMPO-PAUS & FRIEDMANN 1966; ETTL & GÄRTNER 1995).

#### 5.2.4.2 Chlorophyceae

##### 1. Řád Chlorellales

Rod *Bracteacoccus* – ve ventarolových i kontrolních lokalitách byly celkem nalezeny 4 druhy tohoto rodu. Ačkoliv se u všech druhů podařilo zachytit průběh celého životního cyklu včetně tvorby zoospor, druhové určení dvou nejčastěji se vyskytujících druhů bylo velmi problematické. Buňky druhu *Bracteacoccus cf. grandis* dosahují velikosti až 72 µm v průměru a obsahují velké množství čočkovitých chloroplastů. U autosporangií a velmi mladých buněk se v buňce vyskytuje několik parietálních chloroplastů, u dospělých buněk se však chloroplasty tvoří v celém lumenu buněk, které pak připomínají autosporangia. Toto autosporangiím podobné stadium buňky se však vyskytuje u všech rostoucích vegetativních buněk, a přetrvává dlouhou dobu bez tvorby autospor. Tato buněčná organizace byla pozorována u všech izolovaných kmenů ze 7 studovaných lokalit a pravděpodobně nepředstavuje zralá autosporangia. Naopak se jedná o typický vzhled rostoucích vegetativních buněk.

Tvarem a velikostí buněk či zoospor tento druh nejvíce připomíná *Bracteacoccus grandis*. U tohoto druhu jsou však chloroplasty dospělých buněk většinou parietální a nevyplňují celý obsah buňky (BISCHOFF & BOLD 1963). Zoospory izolovaného druhu, které jsou tvarem typické pro rod *Bracteacoccus*, také nikdy netvořily více bičíkových párů, které u typové kultury druhu *B. grandis* pozoroval KOUWETS (1993).

Dalším neurčeným druhem je *Bracteacoccus sp.*, který se často vyskytoval ve ventarolových lokalitách na vrcholu Borče. Tvar a velikost buněk či zoospor neodpovídají žádnému popsanému druhu. Izolovaný kmen je však velmi podobný druhu *Bracteacoccus sp. A*, který izoloval BROADY (1979) ze vzorku půdy z Antarktidy. Rozměry buněk i morfologie zoospor s laterálně uloženým stigmatem je u obou kmenů identická. Druh však zatím zůstává nepopsaný. Ostatní dva nalezené druhy byly určeny jako *B. pseudominor* a *B. minor*. U druhu *B. minor* jsem pozoroval charakteristické zoospory pŕlměsíčitého tvaru.

Ze vzorků, odebraných na ventarolové lokalitě 1 byl často izolován druh, prozatímně nazvaný jako *Coleochlamys sp.*, s velmi variabilním tvarem buněk. V izolovaných kulturách se nacházely buňky jak kulovitého tvaru (o průměru 4 – 14  $\mu\text{m}$ ), tak buňky vejčité, oválné až zcela cylindrické (dosahujících v délce až 22  $\mu\text{m}$ ). Tato tvarová odlišnost byla pozorována i v rámci celých kolonií, kde se kulovité buňky nacházely ve střední části kolonie, zatímco cylindrické buňky byly tvořeny na jejím okraji. Buňky obsahují pouze jeden páskovitý chloroplast, který je u většiny kulovitých i oválných buněk velmi podobný chloroplastu druhu *Chlorella luteoviridis* (FOTT & NOVÁKOVÁ 1969). U některých cylindrických buněk se na okraji chloroplastu vytváří několik zářezů. Chloroplast ve světelném mikroskopu neobsahuje viditelný pyrenoid. Absence pyrenoidu byla potvrzena i pomocí konfokálního mikroskopu. Izolovaný kmen se rozmnožuje pomocí autospor, tvořených v autosporangiih dvojího typu. Autosporangia prvního typu jsou kulovitá a obsahují 8 – 16 cylindrických autospor. Často se však tvoří i oválná autosporangia, obsahující několik autospor kulovitého tvaru s výrazným páskovitým chloroplastem. Tyto kulovité autospory dosahují nestejně velikosti, vždy jedna buňka je mnohem větší než ostatní autospory. Tato větší buňka také často zůstává v mateřské buněčné stěně sporangia i po uvolnění ostatních autospor. Přítomností takovéto autospory i tvarem některých buněk se izolovaný kmen podobá druhům rodu *Coleochlamys*, které však v chloroplastu obsahují pyrenoid a tvoří oválné autospory (KORŠIKOV 1953; SCHUSSNIG 1955; KOMÁREK & FOTT 1983). Tvarovou variabilitou buněk a tvorbou buněk cylindrického tvaru při okraji kolonií také zkoumaný kmen připomíná druhy rodu *Botryokoryne* (REISIGL 1964; KOMÁREK & FOTT 1983). Buňky těchto druhů však v chloroplastu obsahují pyrenoid a při nepohlavním rozmnožování tvoří pouze autospory stejné velikosti i podobného tvaru. Zoospory se zatím nepodařilo získat, proto bude izolovaný kmen podroben dalšímu detailnímu studiu. Pravděpodobně se však jedná o nový druh, patřící do jednoho z výše zmíněných rodů.

Rod *Dictyochloropsis* – celkově dva druhy tohoto rodu byly nalezeny na ventarolových i kontrolních lokalitách. Jedná se o jediný rod zelených řas, jehož zástupci byly nalezeni vícekrát na

kontrolních lokalitách než ve ventarolových odběrových místech. Pro druhy rodu *Dictyochloropsis* je charakteristický komplikovaný, síťovitý chloroplast. Ten je nejsložitěji utvářený u druhu *Dictyochloropsis splendida*, který byl několikrát také nalezen na sledovaných lokalitách. U izolovaných kmenů byl zachycen celý životní cyklus včetně tvorby autospor. Kmeny také byly použity pro detailnější studii ontogeneze složitého chloroplastu pomocí konfokální mikroskopie (více viz kapitola 7.3.). Druh *D. splendida* byl popsán z aerofytické lokality (GEITLER 1966), nalezen byl i jako fykobiont ve stélce lišejníků (TSCHERMAK-WOESS 1978).

Rod *Chlorella* – celkem bylo ze všech lokalit izolováno 5 druhů rodu *Chlorella*. Všechny nalezené druhy jsou kosmopolitní a často se vyskytují na aero-terestrických biotopech. Izolovaný kmen *Chlorella cf. luteoviridis* se rozměrem buněk a páskovitým tvarem chloroplastu velmi podobá druhu *Ch. luteoviridis*, liší se však stavbou pyrenoidu a velikostí autospor. Ve srovnání s originální kulturou typového kmene druhu (CAUP H 1963) je pyrenoid u izolovaného druhu velice špatně viditelný a u většiny buněk není vidět vůbec. V autosporangiiích se tvoří 4 – 8 stejně velikých autospor, které však u tohoto druhu mají být nestejně veliké (FOTT & NOVÁKOVÁ 1969). Druhovú determinace izolátu je tedy díky těmto odlišnostem nejasná.

Rod *Kentrosphaera* – ve vzorcích, odebraných na ventarolové lokalitě 1, bylo pokaždé nalezeno mnoho buněk druhu *Kentrosphaera gibberosa*. Tato kokální řasa se vyznačuje složitě utvářeným síťovitým chloroplastem, v jehož středu se nachází jeden či několik pyrenoidů. Buňky izolovaného kmene mají nepravidelný tvar a při kultivaci na agarových plotnách se na jednom konci buňky vytváří ztlustlý výběžek buněčné stěny. Zoospory pozorovány nebyly, často však docházelo k tvorbě autospor kulovitého tvaru, které jsou charakteristické pro varietu *Kentrosphaera gibberosa* var. *gibberosa* (PUNČOCHÁŘOVÁ 1992). Tato řasa byla během studia nalezena několikrát také na kontrolních lokalitách, její výskyt byl však v porovnání s ventarolou minimální a ojedinělý. Druhy rodu *Kentrosphaera* se většinou vyskytují ve vodním prostředí (KOMÁREK & FOTT 1983), izolovány byly i z půdy (WATANABE 1983; GRONDIN & JOHANSEN 1995). Všeobecně je však jejich výskyt vzácný (PUNČOCHÁŘOVÁ 1992) a nález velké populace druhu *K. gibberosa* ve ventarole je tudíž ekologicky velmi zajímavý.

Z půdního vzorku, odebraného z ventarolové lokality B5, byl izolován další druh tohoto rodu označený jako *Kentrosphaera sp.*, který se nepochybně neliší od žádného dosud popsaného druhu. Buňky tohoto izolátu mají charakteristické rysy rodu *Kentrosphaera*, jako jsou velmi komplikovaně utvářený hvězdicovitý chloroplast či tvorba dlouhých výběžků buněčné stěny. Pro izolovaný kmen je velmi charakteristický protáhlý tvar vegetativních buněk, který začíná být patrný i u velmi mladých autospor. Délka buněk, dosahující až 280 µm, je většinou 10x větší než jejich šířka. Buněčná stěna je hladká, na jednom konci buňky se u dospělých buněk vytváří ztlustlina buněčné stěny, která v některých případech dosahuje délky až 40 µm. Chloroplast je u autospor a mladých buněk parietální, při následném růstu buňky začíná být centrální s velmi složitou strukturou. Chloroplast obsahuje vždy dva pyrenoidy, vyskytující se ve stejné vzdálenosti od jádra, které se nachází přibližně ve středu buňky.

Pyrenoidy tvoří dvě hlavní centra axiálního chloroplastu, ze kterých jsou do všech stran vytvářeny chloroplastové laloky. Některé laloky propojují obě centra chloroplastu, jiné vybíhají do koncových částí buněk. K povrchu buňky se pak z těchto laloků vytváří velké množství chloroplastových výběžků, viditelných při zaostření na vnější povrch buňky. U vegetativních buněk chloroplast nikdy nevyplňuje celý objem buňky. V koncové části, kde dochází k tvorbě výběžku buněčné stěny, je vnitřní prostor buňky vyplněn pouze vakuolizovanou protoplazmou. Izolovaný druh se rozmnožuje nepohlavně, tvorbou kulovitých autospor o průměru 5 – 10 µm. Protože se tento druh nepochybně podobá žádnému dosud popsanému druhu rodu *Kentrosphaera* (BRUNNTHALER 1915; KOMÁREK & FOTT 1983; PUNČOCHÁŘOVÁ 1992) a je od všech ostatních druhů velmi dobře odlišitelný na základě výše specifikovaných znaků, jedná se pravděpodobně o nový, dosud nepopsaný druh.

Rod *Myrmecia* – Na všech zkoumaných lokalitách se poměrně často vyskytovala kokální řasa *Myrmecia bisecta*. Buňky tohoto druhu obsahují velmi charakteristický chloroplast, utvářený ze dvou laloků, spojených pouze velmi malým můstkem (REISIGL 1964). U starších buněk již tento můstek vytvořen není a buňky obsahují dva samostatné chloroplasty. Zajímavá je velká vakuolizace cytoplazmy většiny buněk, kterou jsem pozoroval u všech izolovaných kmenů a která tento druh výrazně odlišuje od všech ostatních nalezených kokálních zelených řas. Takovouto organizaci cytoplazmy pozoroval u některých buněk již REISIGL (1964) při popisu tohoto druhu. Ze vzorků, odebraných na lokalitě Ko2, byl izolován další druh tohoto rodu. Buňky se strukturou chloroplastu, tvořenou dvěma asymetrickými laloky s nepravidelnými okraji, velmi podobají druhu *Myrmecia incisa* (REISIGL 1964; KOMÁREK & FOTT 1983). Izolovaný kmen se však odlišuje menší velikostí buněk a občasnou tvorbou dalších chloroplastových laloků, prolamujících se do vnitřního lumenu buňky. Protože se nepodařilo získat zoospory, je příslušnost izolovaného kmene k druhu *Myrmecia incisa* zatím nejasná.

Na dvou ventarolových lokalitách, zkoumaných v rámci jednorázového průzkumu ventarol, byla nalezena kokální řasa *Oocystis parva*. Vegetativní buňky s charakteristickými ztlustlinami buněčné stěny obsahují jeden chloroplast s centrálním pyrenoidem. Tento druh byl doposud nalézán pouze ve sladkovodních biotopech (KOMÁREK & FOTT 1983) a jeho přítomnost v některých ventarolách je s velkou pravděpodobností důsledkem částečně vodního charakteru tohoto biotopu.

Druh *Podohedra bicaudata*, charakteristický stopkou na bazálním a krátkým zašpičatělým výběžkem na apikálním konci buňky, byl na Borči izolován pouze z ventarolových lokalit. Tento druh je, jako i ostatní zástupci rodu *Podohedra*, často nalézán ve vlhkých biotopech, typicky ve slizovitých nárostech, tvořených jinými kokálními řasami (ETTL & GÄRTNER 1995; NEUSTUPA et al. 2002). V borečských ventarolách byl většinou tento druh nacházen ve stejných odběrech, jako druhy rodů *Coccomyxa*, *Eutetramorus* či *Sphaerochlamydella*, které okolo svých buněk vytvářejí výrazné slizovité obaly.

Ve vzorku, získaného z povrchu kamene na ventarolové lokalitě 2, byl zaznamenán ojedinělý výskyt cenobií druhu *Scenedesmus soli*. Tento druh byl ve ventarole objeven pouze jednou, a to

v zimním období, kdy se zde díky proudícímu teplému vzduchu udržovala stálá 100% vlhkost vzduchu. Druhy rodu *Scenedesmus* se často vyskytují ve sladkých vodách, v aero-terestrickém prostředí jsou však velmi vzácné. Některé druhy se však typicky vyskytují právě v takovémto prostředí. To platí i pro druh *S. soli*, který byl poprvé izolován ze vzorku půdy (KOMÁREK & FOTT 1983).

Velmi rozšířenou řasou ventarolových lokalit, nalézanou téměř ve všech odběrech, byla kokální zelená řasa *Scotiellopsis oocystiformis*, charakteristická buňkami oválného tvaru s podélnými žebry ztlustlé buněčné stěny. V kontrolních odběrových místech byla naopak tato řasa nalezena pouze v jediném případě. Tyto závěry korespondují s údaji v literatuře (PUNČOCHÁŘOVÁ & KALINA 1981; Ettl & GÄRTNER 1995), podle kterých jsou typickými lokalitami tohoto druhu vlhké aero-terestrické biotopy (např. smáčené skály).

Rod *Trebouxia* – Celkem byly nalezeny 3 druhy tohoto rodu, s ojedinělým výskytem jak ve ventarolách, tak v kontrolních lokalitách. Druhy rodu *Trebouxia* se většinou vyskytují jako fykobionti lišejníků, zřídka ale také jako volně žijící aero-terestrické řasy (Ettl & GÄRTNER 1995). Někteří lichenologové však spekulují o výskytu volně žijících populací v přírodě a podle jejich pojetí jsou druhy rodu *Trebouxia* neschopné dlouhodobě přežít bez houbového partnera (AHMADJIAN & HALE 1973). Ze tří nalezených kmenů byly do druhu determinovány následující dva: Druh *Trebouxia arboricola*, nalezený ve dvou vzorcích z kontrolního odběrového místa 3, byl již v minulosti s velkou pravděpodobností nalezen na aero-terestrické lokalitě (Ettl & GÄRTNER 1995). Druhý izolovaný druh, *Trebouxia potteri*, je však znám pouze jako fykobiont několika druhů lišejníků. Kmen byl dvakrát izolován z mechového vzorku na ventarolové lokalitě 2. Vzhledem k tomu, že všechny kultury druhů rodu *Trebouxia* byly získány až nepřímou izolací na agarových plotnách a druh nebyl pozorován přímo ve vzorku mechu, je možné, že byl tento kmen izolován z části stélky či izidie některého lišejníku.

### Čeleď Radiococcaceae

Zelené kokální řasy patřící do této skupiny se vyznačují tvorbou výrazného slizovitého obalu okolo svých buněk, pomocí kterého jsou jednotlivé buňky seskupeny do makroskopických kolonií (FOTT 1959). Při nepohlavním rozmnožování se tvoří pouze autospory, k tvorbě zoospor nedochází (KOMÁREK 1979; KOMÁREK & FOTT 1983). Tato skupina byla nedávno na základě morfologických znaků podrobena důkladné taxonomické revizi, přičemž bylo v rámci čeledi vytvořeno několik nových rodů (KOSTIKOV et al. 2002). Přestože některé molekulární znaky poukazují na polyfyletický charakter čeledi Radiococcaceae (WOLF et al. 2003), z morfologického hlediska se jedná o dobře vyhraněnou skupinu zelených kokálních řas.

Na všech sledovaných lokalitách, jak z pravidelně sledovaných odběrových míst na vrcholu Borče, tak i v rámci jednorázového průzkumu ventarol Českého Středohoří, bylo celkově nalezeno 8 druhů kokálních řas, patřících do této čeledi. Všechny druhy byly izolovány výhradně z ventarolových

lokalit, a to pouze ze vzorků, odebraných v zimních měsících, kdy na sledovaných lokalitách docházelo k výrazným exhalacím teplého a vlhkého vzduchu. Tím byly druhy patřící do skupiny Radiococcaceae ekologicky velmi dobře odlišitelné od ostatních kokálních zelených řas a jsou proto zpracovány společně v rámci této podkapitoly.

Rod *Eutetramorus* – celkem ze šesti ventarolových odběrových míst byly izolovány dva druhy tohoto rodu – *E. cf. fottii*, vyznačující se kulovitými buňkami, dosahujícími až 20  $\mu\text{m}$  v průměru; a *E. cf. planctonicus*, jehož buňky byly o poznání menší (v průměru maximálně do 9  $\mu\text{m}$ ). Oba izolované druhy tvoří slizovité kolonie, ve kterých se nachází kulovité buňky s jedním parietálním chloroplastem jednoduché stavby, obsahujícím výrazný pyrenoid. Oba druhy se rozmnožují tvorbou 4 – 8 (–16) oválných či kulovitých autospor. Sliz, ve kterém se buňky nachází, je tvořen rozpuštěním mateřské buněčné stěny autosporangii, zbytky této buněčné stěny nejsou v koloniích přítomny. Všechny tyto výše popsané znaky oba izolované druhy řadí do rodu *Eutetramorus* (KOMÁREK & FOTT 1983; KOSTIKOV et al. 2002), jehož zástupci však doposud nebyly v aero-terestrickém prostředí nalezeny (ETTL & GÄRTNER 1995). Druhovú determinace druhů, které se typicky vyskytují pouze ve vodním prostředí, je tím velmi ztížena. Druhy rodu *Eutetramorus* se kromě rozdílných velikostí buněk rozlišují také tvarem slizovitých kolonií, vytvářených v přirozeném vodním prostředí (KORŠIKOV 1953; KOMÁREK & FOTT 1983). Tvar kolonií je však u izolovaných kmenů i po přenesení do tekutých kultur velmi variabilní a nelze ho při konečné druhové determinaci využít. Oba izolované kmene se tedy kvůli chybějícím informacím o přirozeném tvaru kolonií nepodařilo přesně determinovat do některého stávajícího druhu, morfologií a velikostí buněk se však izoláty nejvíce podobají druhům *E. fottii* a *E. planctonicus*. I přes nepřesnou determinaci je ale nález planktonních druhů rodu *Eutetramorus* v několika ventarolách Borče i Českého Středohoří ekologicky velice zajímavý a poukazuje na některé jedinečné vlastnosti tohoto biotopu.

Ze vzorku půdy ve ventarolové oblasti 2 byly při posledním odběru izolovány kulovité buňky ve slizovém obalu, dosahující v průměru 15  $\mu\text{m}$ . Buňky se rozmnožují tvorbou 4 – 8 kulovitých či oválných autospor, zoospory pozorovány nebyly. Sliz se tvoří postupným rozvolněním mateřské buněčné stěny autosporangii bez vzniku jednotlivých fragmentů. Buňky vždy obsahují několik oválných parietálních chloroplastů, u dospělých buněk je vytvořeno zpravidla 8 chloroplastů, staré buňky jich však mohou obsahovat více. Tato charakteristika odpovídá rodu *Phacomyxa*, který se od ostatních rodů radiokokálních řas liší právě přítomností několika chloroplastů ve vegetativních buňkách (KOMÁREK & FOTT 1983; KOSTIKOV et al. 2002). Jediný popsáný druh tohoto rodu, *Phacomyxa sphagnicola* (SKUJA 1956), se však morfologicky velmi liší od druhu, izolovaného z ventarolové lokality. Dospělé buňky druhu *P. sphagnicola* obsahují méně chloroplastů, jejich tvar je oválný, nepravidelně kulovitý či asymetrický, zatímco vegetativní buňky izolovaného kmene jsou striktně kulovité. Touto morfologií buněk je studovaná řasa podobná také druhu *Heleochloris mucosa*. Jedná se však o řasu, rozmnožující se pomocí zoospor či 4 kulovitých autospor. Od izolovaného kmene se buňky tohoto druhu liší také tvarem chloroplastu, který je pouze jeden, rozdělený do

několika laloků, připomínajících oddělené chloroplasty (KOMÁREK & FOTT 1983). U studovaného kmene naproti tomu většina dospělých buněk obsahovala několik samostatných chloroplastů. S největší pravděpodobností tedy izolovaná řasa patří do rodu *Phacomyxa*. Jelikož jsou však buňky morfologicky dosti odlišné od jediného druhu tohoto rodu, jedná se patrně o nový, dosud nepopsaný druh.

Rod *Sphaerochlamydella* – druhy tohoto poměrně nově vzniklého rodu se od ostatních radiokokálních řas odlišují tvorbou kulovitých dospělých buněk, absencí pyrenoidu v jediném parietálním chloroplastu a slizovitým obalem vzniklým rozpuštěním buněčné stěny autosporangia (KOSTIKOV et al. 2002). V obou studovaných ventarolech na temeni Borče i ve třech dalších ventarolových odběrových místech Českého Středohoří byl nalezen druh *Sphaerochlamydella minutissima* s malými kulovitými buňkami, 2-8  $\mu\text{m}$  v průměru. Buňky obsahují jeden chloroplast často rozdělený na dva přibližně stejně velké laloky, což představuje typický znak tohoto druhu (BROADY 1982). V prostoru mezi laloky chloroplastu se mnohdy vytváří jedno či dvě kulovitá zrnka zásobních látek. Buňky se rozmnožují tvorbou 4 – 8 oválných autospor, přičemž mateřská buněčná stěna autosporangia se velmi rychle rozvolňuje a přetváří na slizovitý obal okolo mladých autospor.

Z pravidelně sledované ventarolové lokality 1 na vrcholu Borče a z dalších čtyř ventarol Českého Středohoří byl izolován pravděpodobně jiný druh tohoto rodu, *Sphaerochlamydella* sp. Buňky získaných kmenů jsou velmi podobné druhu *S. minutissima*, odlišují se však od něj v několika znacích. Velikost buněk izolovaného druhu je větší, jejich průměr dosahuje až 13  $\mu\text{m}$ . Chloroplast je rozdělen na dva laloky, které však jsou na rozdíl od druhu *S. minutissima* přimknuty těsně k sobě, přičemž nedochází k tvorbě zřetelné štěrbin. Tento tvar je velmi podobný struktuře chloroplastu u chlorokokální řasy *Mychonastes homosphaera* (KALINA & PUNČOCHÁŘOVÁ 1987). Jiný je také tvar granulí zásobních látek. Nikdy nedochází ke vzniku jedné velké granule jako u předchozího druhu, v prostoru okolo jádra se většinou vytváří několik malých zrníček zásobních látek. Charakter rozmnožování je stejný, dochází k tvorbě 4 – 8 elipsoidních autospor. Izolovaný kmen se nepodobá žádnému druhu rodu *Sphaerochlamydella*, v některých ohledech je ale velmi podobný druhu *S. minutissima*. S velkou pravděpodobností se však jedná o dva rozdílné druhy. Výše popsané znaky, odlišující tyto dva druhy, jsou ve všech izolovaných kulturách stále a nedochází ke změně morfologie buněk jednoho druhu směrem k druhému.

## 2. Řád Chaetophorales

Z několika ventarolových lokalit byl při jednorázovém průzkumu algoflóry ventarol Českého Středohoří izolován druh *Desmococcus* sp. Buňky této řasy jsou pospojovány do nepravidelně kulovitých několikabuněčných kolonií či tvoří krátká mnohořadá vlákna. Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 10-15  $\mu\text{m}$ , průměr kolonií dosahuje maximálně 50  $\mu\text{m}$ . Buňky obsahují v mládí parietální,

posléze centrálně uložený chloroplast, obsahující ve svém středu jeden pyrenoid. Ten je pokryt velkým množstvím malých kulovitých škrobových zrn. Chloroplast dospělých vegetativních buněk má výrazně zvlňný okraj, tvořící na povrchu chloroplastu paralelně uspořádaná žebra. Izolovaná řasa se rozmnožuje dělením vegetativních buněk na dvě přibližně stejné poloviny, vzniklé buňky zůstávají spojené a dalším postupným dělením dávají vzniku několikabuněčným koloniím. Vznik aplanospor ani zoospor jsem nepozoroval.

Výše popsaná morfologie spolu s absencí tvorby bičíkatých rozmnožovacích stádií komplikovaly rodové zařazení izolovaného kmene. Tvar chloroplastu dospělých buněk se shodoval s popisem rodu *Prasiococcus*. Ten v současnosti obsahuje pouze jediný popsáný druh, *P. calcarius* (ETTL & GÄRTNER 1995), vyskytující se kosmopolitně subaerofyticky ve vlhké půdě či na vápenatých, zřídka i nevápenatých skalách (BELCHER 1969). Tento druh se však od izolované řasy odlišuje celkovým tvarem a velikostí kolonií. Pravděpodobně se však ani nejedná o nový, dosud nepopsáný druh tohoto rodu (BROADY, osobní sdělení).

Tvarem kolonií či tvorbou sarcinoidních balíčků buněk a krátkých vláken se izolovanému druhu nejvíce podobají druhy rodu *Desmococcus*. Tento rod v současnosti obsahuje dva aero-terestrické druhy s kosmopolitním rozšířením (ETTL & GÄRTNER 1995). Izolovaný kmen se však celkovou morfologií nepochybně neliší od žádného z těchto dvou popsáných druhů. Chloroplast v buňkách obou druhů rodu *Desmococcus* je vždy parietální, zatímco většina dospělých buněk izolovaného kmene obsahovala chloroplast centrální. Mimoto, zřetelná paralelně uspořádaná žebra na povrchu chloroplastu, představující výrazný znak izolovaného kmene, nebyla pozorována u žádného druhu rodu *Desmococcus* (BROADY & INGERFELD 1993; ETTL & GÄRTNER 1995), ani u druhu *Prasiococcus calcarius* (VISCHER 1953; LUND 1966; BELCHER 1969; BROADY 1979). Je možné, že se jedná o dosud nepopsáný druh sarcinoidní zelené řasy nejasného rodového určení.

Rod *Dilabifilum* – Z pravidelně sledované ventarolové lokality 1 byly celkem izolovány dva druhy tohoto rodu. Pro zástupce rodu *Dilabifilum* je charakteristická dvojitá podoba stélky, kterou v první fázi tvoří rozvětvená vlákna, sestávající z dlouhých, cylindrických buněk. U starších kultur poté dochází ke zkracování a zduření těchto buněk, následované rozpadem celých vláken. Rod je rovněž charakterizován tvorbou čtyřbičíkatých zoospor, které však u některých druhů nebyly pozorovány (JOHNSON & JOHN 1990). Celkem ze čtyř odběrů byl izolován druh *Dilabifilum printzii* (TSCHERMAK-WOESS 1970), vyznačující se velmi dlouhými a úzkými koncovými buňkami vláken mladých stélek, či nepřilíš frekventovanou tvorbou postranních vláken. U zduřelých buněk starších vláken často dochází k zesílení buněčné stěny. Zduřelé nepravidelně kulovité buňky se začínají tvořit jak interkalárně tak terminálně na koncích postranních vláken, což je pro tento druh charakteristické (JOHNSON & JOHN 1990). Nepohlavní rozmnožování této vláknité řasy zatím nebylo nikdy pozorováno. Kvůli absenci zoospor je tudíž taxonomické zařazení druhu do rodu *Dilabifilum* diskutabilní, v mnoha publikacích je tento druh uváděn pod jménem *Pseudendoclonium printzii* (ETTL & GÄRTNER 1995).



Z ventarolové lokality 1 byl dvakrát izolován další zástupce tohoto rodu, *Dilabifilum sp.* Mladé stélky jsou stejně jako u předchozího druhu tvořeny dlouhými cylindrickými buňkami, u dospělých vláken však dochází k hojně tvorbě hustě uspořádaných postranních vláken. Krátká postranní vlákna jsou většinou tvořena jedinou buňkou, která má na bazálním konci výrazně ztlustlou buněčnou stěnu. Tato jednobuněčná postranní vlákna se v určitém stádiu vývoje vytváří v dosti hojném počtu a dávají tak vzniku „kartáčoidnímu“ vzhledu stélky. Po dosažení určité délky se cylindrické buňky postranních vláken rozdělují na několik buněk téměř kulovitého tvaru. Ty se ve stáří dále dělí a vytváří velké shluky tlustostěnných buněk. Od druhu *D. printzii* se tedy tento druh výrazně odlišuje vzhledem stélky u starých kultur a většími rozměry buněk. U žádného z izolovaných kmenů se nepodařilo vyvolat zoospory, tudíž je umístění této vláknité řasy do rodu *Dilabifilum* pouze přibližné na základě podobné morfologie stélky.

Ze vzorků, odebraných z povrchu kamene ve dvou ventarolových lokalitách, byla izolována vzácně se vyskytující vláknitá řasa *Rhexinema paucicelulare*. Stélka této řasy je tvořena několikabuněčnými rozpadavými vlákny, sestávajícími z buněk velmi variabilního tvaru. Krátká postranní vlákna jsou často tvořena hruškovitými buňkami s rozšířenou bazální částí. Buňky obsahují jeden parietální chloroplast s výrazným pyrenoidem. Druh byl poprvé izolován a poté několikrát nalezen ve vzorcích z vodního prostředí. LUKEŠOVÁ (1991) tento druh našla ve vzorku polní půdy, pokryté 20cm vrstvou sněhu. Vzhledem k předchozím nálezům předpokládá, že se jedná o druh preferující vodní prostředí, s možným výskytem v aero-terestrickém biotopu s dostatečným přísunem vody (např. ze sněhu). Tento předpoklad potvrzuje i vlastní nález druhu z ventarolových lokalit, kde v době zimního odběru docházelo k výrazným exhalacím vodních par.

### 5.2.4.3 Ulvophyceae

Ve všech třech ventarolách na vrcholku Borče byla nalezena vláknitá zelená řasa *Fottea sp.* Tato řasa se ve ventarolách vyskytovala pouze v zimním období, kdy docházelo k výrazným výronům teplého a vlhkého vzduchu. Buňky tohoto organismu byly uvnitř ventaroly nalezeny pouze v kapičkách kondenzované vody v mechových polštářích, zřídka byly pozorovány i v řasových nárostech na vlhkém povrchu kamenů.

Buňky se v přírodním materiálu vyskytují zřídka jednotlivě, většinou jsou ve společném slizovitém obalu, obsahujícím zpravidla 4-50 jednotlivých buněk. Ve slizu pak jsou rovnoměrně rozprostřeny, ke vzniku vláken nedochází. Mladé slizovité kolonie jsou kulovité až elipsoidní, starší buňky se vyskytují v nepravidelných koloniích variabilního tvaru. Buňky jsou vždy cylindrické, 6-7  $\mu\text{m}$  široké a 10-21  $\mu\text{m}$  dlouhé. Obsahují pouze jediný páskovitý chloroplast, který je u všech nalezených buněk výrazně spirálovitě stočen. Takto stočený chloroplast, který neobsahuje pyrenoid, vyplňuje téměř celý prostor pod buněčnou stěnou včetně obou konců buněk. V centrální části některých buněk je dobře patrné kulovité jádro s jadérkem. K nepohlavnímu rozmnožování dochází

příčným dělením na dvě stejně veliké dceřiné buňky. Záhy po vegetativním dělení dochází k jejich separaci v rámci slizovité kolonie bez následného vzniku krátkých vláken.

Výše popsaný kmen ve všech morfologických znacích odpovídá charakteristice rodu *Fottea*, jehož zástupci se vyznačují tvorbou slizovitých kolonií, ve kterých se nacházejí solitérní cylindrické či kulovité buňky, rozmnožující se pouze příčným dělením buněk na dvě části (HINDÁK 1968). Rod v současnosti obsahuje 6 druhů, odlišujících se tvarem a velikostí buněk či přítomností pyrenoidu v parietálním chloroplastu (HINDÁK 1981; BROADY 1979). Nalezený kmen se nejvíce podobá typovému druhu *Fottea cylindrica*, který tvoří cylindrické buňky s parietálním chloroplastem bez pyrenoidu. Buňky tohoto druhu však dosahují menších rozměrů, rovněž u tohoto druhu nedochází ke spirálovitému stočení parietálního chloroplastu. Právě stočený páskovitý chloroplast představuje nejvýraznější znak, odlišující popsaný druh od všech ostatních druhů rodu *Fottea*.

Přítomnost spirálovitě stočeného chloroplastu představuje u několika vláknitých řas důležitý morfologický znak, odlišující druh od ostatních zástupců rodu. Tak je tomu například u některých druhů rodu *Koliella* (HINDÁK 1996) či *Tribonema* (ETTL 1956). Při důkladném studiu morfologie a ontogeneze chloroplastu se však některé tyto druhy ukázaly jako možné morfotypy jiných, blízkých příbuzných druhů (LOKHORST 2003, ŠEJNOHOVÁ 2003). Z tohoto důvodu byla proto při každém výskytu nalezené vláknité řasy velmi detailně zachycena celková variabilita chloroplastu v rámci celé populace. Protože se doposud nepodařilo studovaný kmen kultivovat, buňky byly pozorovány pouze z přírodních vzorků, odebraných na sledované lokalitě. Během tříletého studia byl ve všech buňkách nalezen pouze charakteristicky spirálovitě stočený chloroplast. Protože v žádném vzorku nedocházelo ke změně tvaru chloroplastu, s velkou pravděpodobností se v tomto případě nejedná o variabilitu v rámci jiného druhu. Jelikož spirálovitý chloroplast nebyl pozorován u žádného dosud popsaného druhu rodu *Fottea*, domnívám se proto, že nalezená populace ve ventarolové lokalitě představuje nový druh tohoto rodu.

Rod *Geminella* – Během floristické studie byly celkem nalezeny dva druhy tohoto rodu. První druh, *G. interrupta*, byl izolován pouze ze dvou ventarolových lokalit. Tento druh byl nalezen celkem v šesti vzorcích, nejčastěji odebraných z povrchu kamenů. Je zajímavé, že druh se ve ventarolových lokalitách vyskytoval pouze v zimních měsících, kdy docházelo k proudění teplého a vlhkého vzduchu, a kdy byly jednotlivé kameny vždy pokryty tenkou vrstvičkou kondenzované vody. Jedná se o první nález tohoto druhu v aero-terestrickém prostředí (ETTL & GÄRTNER 1995; HINDÁK 1996), což je velmi pravděpodobně způsobeno několikaměsíčním vznikem vodního filmu na povrchu kamenů, umožňujícího výskyt i takových druhů, které se jinak v aero-terestrických biotopech nevyskytují.

Mnohem častěji izolovanou vláknitou řasou byla *G. terricola*, typická krátkými, slizem obalenými vlákny nepravidelného tvaru a charakteristickým tvarem chloroplastu s výrazně zvlněnými okraji. Tento druh byl na Borči izolován jak z ventarolových, tak z kontrolních odběrových míst. Při jednorázovém průzkumu ventarol Českého Středohoří byla *G. terricola* nalezena ve všech ventarolových lokalitách. Tento druh patří ve světě i u nás mezi jednu z rozšířených a často

izolovaných vláknitých zelených řas terestrických biotopů (LUKEŠOVÁ & KOMÁREK 1987; LUKEŠOVÁ & HOFFMANN 1996; NEUSTUPA 2001). Velmi zajímavá je proto její absence ve ventarolové lokalitě 2, kde nebyla nalezena ani v jednom z 30 odebraných vzorků.

### 5.2.5 Charophyta

Během studia bylo celkem nalezeno 17 různých druhů řas, patřících do této skupiny. Ze třídy Charophyceae bylo izolováno 7 druhů, z nichž většinu tvořily zástupci vláknitých rodů *Klebsormidium* a *Stichococcus*. Jednotlivé druhy těchto dvou rodů patřily k nejhojněji nacházeným řasám na sledovaných lokalitách, a to jak na ventarolových, tak na kontrolních odběrových místech. Odlišný výskyt řas byl zaznamenán u třídy Zygnemaphyceae, kde bylo všech 10 druhů nalezeno pouze ve ventarolových lokalitách. U této skupiny byl navíc zaznamenán výrazný vztah k typu mikrobiotopu, kdy byla naprostá většina druhů nalezena pouze ve vzorcích odebraných z povrchu kamenů či ve vzorcích mechových rostlinek. Více než polovina druhů se navíc ve ventarolových lokalitách vyskytovala pouze v zimních měsících v období exhalací teplého a vlhkého vzduchu. Nejčastěji byly ve ventarolových lokalitách nalézány druhy *Cosmarium obliquum* a *Euastrum crassangulatum*.

#### 5.2.5.1 Charophyceae

Rod *Klebsormidium* - druhy tohoto rodu patří mezi velmi rozšířené aero-terestrické řasy s kosmopolitním rozšířením. Ve studovaných lokalitách byly nalezeny celkem tři druhy – *K. cf. flaccidum*, *K. cf. nitens* a *K. mucosum*. První dva uvedené druhy patří mezi nejčastěji nacházené řasy ve všech studovaných lokalitách, jak ve ventarolových, tak i v kontrolních odběrových místech. Druhy *K. flaccidum* a *K. nitens* jsou morfologicky velmi podobné, hlavními znaky pro jejich odlišení jsou šířka vláken, tvar otvorů v prázdných zoosporangiích a typ klíčení zoospor (LOKHORST 1996). Během vlastního studia však bylo izolováno několik kmenů, které nejpravděpodobněji představují přechodové formy mezi těmito druhy (více viz kapitola 7.2.).

Poslední zmíněný druh, *K. mucosum*, byl na sledovaných lokalitách nalezen pouze několikrát, oproti předchozím dvěma druhům ve velmi malém počtu. Od druhů *K. flaccidum* a *K. nitens* se izolované kmeny tohoto druhu odlišují výrazně širšími vlákny se ztlustlou a zhrublou buněčnou stěnou a občasnou tvorbou mnohořadých částí vláken.

Rod *Stichococcus* – velmi častým druhem zelených vláknitých řas, nalezeným na všech pravidelně sledovaných lokalitách, byl *S. minor*. Cylindrické buňky tohoto druhu se vyskytují buď jednotlivě, či spojené do krátkých, několikabuněčných vláken. Obsahují jeden parietální chloroplast s nahým, jen v některých buňkách viditelným pyrenoidem. U některým starších kultur dochází k tvorbě asymetrických, ve středu zduřelých či trojúhelníkovitých buněk, obsahujících několik

chloroplastů. Tyto tvarové malformace jsou pravděpodobně způsobeny vysokým stářím buněk či nedostatkem některých potřebných živin. Ettl & Gärtner (1995) druh *S. minor* uvádí pouze jako formu druhu *S. bacillaris*, Hindák (1996) však oba druhy odlišuje na základě jiného tvaru pólů buněk, které jsou u *S. minor* více zploštělé. Tento tvar koncových částí buněk je charakteristický i pro druh, izolovaný z odběrových míst na vrcholku Borče.

Pouze na kontrolní lokalitě 4 a v jedné ventarolové lokalitě na Kamenci byl nalezen další druh tohoto rodu, *S. minutus* (Ettl & Gärtner, 1995). Od druhu *S. minor* se odlišuje kratší délkou buněk, které jsou často oválné či kulaté. I v dobře rostoucích kulturách izolovaných kmenů nedochází k tvorbě krátkých vláken, jako tomu je u předchozího druhu.

Posledním nalezeným druhem byl *S. undulatus*, izolovaný ze tří ventarolových lokalit. Tento zajímavý druh se vyznačuje tvorbou dlouhých vláken, která na agarových plotnách vytvářejí výrazné vzdušné smyčky (Vinatzer 1975). Při izolaci aero-terestrických řas ze zkoumaných lokalit je tento druh na agarových plotnách velmi dobře rozpoznatelný podle žlutozelených chomáčovitých kolonií. Při mikroskopickém pozorování kolonie sestávají z velkého množství vzdušných vláken, připomínajících kolonie některých vláknitých půdních hub. Buňky izolovaných kmenů jsou cylindrické, často lehce zakulacené, délka buněk se pohybuje v rozmezí 4 – 14  $\mu\text{m}$ , jejich šířka je mezi 2-3  $\mu\text{m}$ . Tato řasa byla v minulosti několikrát nalezena ve vzorcích půdy v Itálii a Rakousku, pravděpodobně se však nejedná o běžný a rozšířený druh rodu *Stichococcus*.

### 5.2.5.2 Zygnemaphyceae

Rod *Cosmarium* – ve ventarolových lokalitách byly celkem nalezeny tři druhy tohoto rodu, v kontrolních lokalitách se nevyskytoval žádný zástupce tohoto rodu i celé třídy Zygnemaphyceae. *C. decedens* bylo nalezeno pouze v jediném odběru z ventarolové lokality 1, v době začínajících exhalací teplých a vlhkých par. Tento druh je většinou nacházen na povrchu vlhkých skal či ve stélkách mechů (Ettl & Gärtner 1995; Williamson 2000). Tato ekologie odpovídá i nálezům ve ventarolové lokalitě, kde byl druh *C. decedens* nalezen ve vzorku mechu, jehož stélka byla zvlhčena kondenzovanou vodou z ventarolových par. Dalším druhem, nalezeným pouze v jednom vzorku ze stejné ventaroly, bylo *C. undulatum*. Buňky tohoto druhu byly nalezeny ve vzorku, získaného z povrchu vlhkého kamene v době zimních exhalací. To se shoduje s ekologií taxonu, nalézaného ve vlhkých, aero-terestrických biotopech (Ettl & Gärtner 1995).

Třetím nalezeným druhem rodu *Cosmarium* bylo *C. obliquum* var. *trigonum*. Buňky tohoto druhu se na rozdíl od předchozích dvou zmíněných taxonů vyskytovaly ve ventarolách velmi často a představovaly vůbec nejhojněji nacházené zástupce třídy Zygnemaphyceae. V pravidelně sledovaných ventarolových lokalitách byla tato krásivka nalezena kromě jediné výjimky ve všech odběrech. Buňky nalezeného druhu mají velmi charakteristický tvar, netypický pro zástupce rodu *Cosmarium*. Jejich

tvár je obdélníkový, mezi jednotlivými semicelami mírně zúžený. Zářez ve střední části buněk je při bočním pohledu na jedné straně zřetelně hlubší než na straně druhé. Někdy není druhý zářez vyvinut vůbec a buňky mají výrazně asymetrický tvar. Okraje semicel jsou rovné či nepatrně konvexní, vytvářející v okolí zářezu dva malé výstupky. Všechny buňky mají při vertikálním pohledu trojúhelníkovité semicely, což je charakteristické pro formu *trigonum*. Tato forma byla popsána z Irsku (WEST & WEST 1908) a podle dostupné literatury nebyla od té doby nalezena na žádné jiné lokalitě. Její hojný výskyt ve dvou sledovaných ventarolových lokalitách na vrcholku Borče je proto velmi pozoruhodný. Všechny buňky studované populace navíc vykazovaly pouze trojúhelníkovitý tvar semicel, nikdy nebyly nalezeny buňky jiných popsaných forem tohoto druhu. Je tedy otázkou, zda se opravdu jedná pouze o formu s jiným tvarem, či tato populace představuje samostatný druh. Tvar semicel, u kterého během tříletého studia nedocházelo k žádné změně, by spíše poukazoval na genetickou stálost tohoto znaku a tudíž na možnost nahlížet na tuto formu spíše jako na samostatný druh.

Druhým nejčastěji nacházeným druhem krásivek bylo *Euastrum crassangulatum*. Buňky tohoto druhu se vyskytovaly pouze na ventarolové lokalitě 1, kde byly nalézány mezi mechovými rostlinkami či ve vzorcích odebraných z povrchu kamenů. Tvar a rozměry nalezených buněk přesně odpovídají popisu tohoto druhu, včetně výskytu 4 výrazných bradavčitých výrůstků ve všech čtyřech lalocích každé semicely. Druh *E. crassangulatum* byl popsán z Brazílie, v Evropě byl zaznamenán pouze zřídkka (RŮŽIČKA, 1981). Tento druh byl nalezen pouze ve vodním prostředí, převážně v kyselých jezerech horských a chladných oblastí. Borečská ventarola je tedy první aero-terestrickou lokalitou, kde byla tato krásivka nalezena.

Rod *Mesotaenium* – ve ventarolových lokalitách byly nalezeny celkem tři druhy tohoto rodu. První izolovaný kmen, označený jako *M. cf. endlicherianum*, byl nalezen v několika vzorcích z ventarolové lokality 1 a ve dvou dalších ventarolách Českého Středohoří. Ve vzorku, získaného z povrchu skály ve ventarole T1 (Kóta 490 u Třebušína), tato řasa tvořila dominující složku algoflóry, přičemž jednotlivé kolonie buněk byly viditelné pouhým okem. Buňky tohoto druhu jsou oválné či cylindrické se zakulacenými konci buněk. Šířka a délka buněk se pohybuje v rozmezí 8-12  $\mu\text{m}$  x 28-50  $\mu\text{m}$ . Jeden či dva jednoduché páskovité chloroplasty obsahují vždy po jednom pyrenoidu. Izolovaný kmen se tvarem i rozměry velmi podobá druhu *M. endlicherianum*, k přesné determinaci tohoto druhu je však nutné znát tvar a velikost zygospor, které se bohužel ve vzorku ani v kultuře nepodařilo zaznamenat.

Ve dvou ventarolových lokalitách, nacházejících se v horní části vrchů Kamenec a Kolný, byly nalezeny slizovité kolonie s buňkami druhu *M. chlamydosporum*. Na obou lokalitách byla tato krásivka výrazně dominantní (stejně jako druh *M. cf. endlicherianum*). Buňky jsou často oválné, občas cylindrické s široce zakulacenými konci. Šířka buněk se pohybuje mezi 15-17  $\mu\text{m}$ , jejich délka je v rozmezí 18-35  $\mu\text{m}$ . Buňky obsahují jeden či dva páskovité chloroplasty, které ve svém středu obsahují vždy jeden pyrenoid. Zygospor, jejichž velikost nepřesahuje 40  $\mu\text{m}$ , mají nepravidelný tvar

a na svém povrchu nevytváří papily. Celková charakteristika nalezeného kmene je shodná s popisem druhu *M. chlamydosporum* (PRESCOTT et al. 1972). Tento rozšířený druh je často nacházen na povrchu vlhkých substrátů, například na smáčených skalách, dřevě či lesní cestách (ETTL & GÄRTNER 1995), jeho nález ve ventarolách tedy potvrzuje jeho úzkou vazbu na vlhké aero-terestrické biotopy. U některých buněk bylo pozorováno mírně nafialovělé zbarvení cytoplasmy, které je charakteristické pro varietu *M. chlamydosporum* var. *violascens* (KRIEGER 1937).

Ve ventarole na vrcholku Plešivce bylo nalezeno několik další buněk, patřících do rodu *Mesotaenium*. Buňky jsou velmi podobné druhu *M. chlamydosporum*. Jejich tvar je cylindrický se široce zaoblenými konci, délka těchto buněk se pohybuje v rozmezí 30-35  $\mu\text{m}$ . Buňky však jsou na rozdíl od předchozího druhu užší, jejich šířka je v rozmezí 12-16  $\mu\text{m}$ . Ač je tento kmen díky užším buňkám výrazně odlišný od buněk druhu *M. chlamydosporum* nalezených ve ventarolech na lokalitách Kamenec a Kolný, je možné, že se stále jedná o tentýž druh. Podle literárních údajů se šířka buněk druhu *M. chlamydosporum* může pohybovat v dosti širokém rozmezí, zahrnujícím i hodnoty, naměřené u tohoto izolovaného kmene (ETTL & GÄRTNER 1995).

Při čtyřech odběrech byly ve ventarolové lokalitě 1 na vrcholku Borče nalezeny buňky druhu *Penium spinospermum*. Tento druh byl ve ventarole objeven pouze v zimním období, v době výrazných ventarolových exhalací. Buňky jsou oválné, či krátce cylindrické, s hladkou buněčnou stěnou. Jejich šířka a délka se pohybuje v rozmezí 11-15 x 18-32  $\mu\text{m}$ . Buněčná stěna je složena ze dvou částí, jejich překryv ve středu buňky je však velmi nezřetelný. V každé polovině buňky je přítomen jeden centrální, axiální chloroplast s výraznými podélnými žebry. Každý chloroplast obsahuje jeden kulovitý pyrenoid. Mezi chloroplasty je ve střední části buňky patrné jádro fialovohnědé barvy. Tento druh se ve střední Evropě vyskytuje v kyselých slatinných vodách (KRIEGER 1937). RŮŽIČKA (1981) však jako jeden z možných biotopů uvádí i subaerofytické lokality.

### 5.3 Závěr

Počet druhů nalezených ve ventarolových lokalitách byl více než dvojnásobný v porovnání s kontrolními lokalitami. Zatímco velké množství druhů bylo opakovaně nalezeno pouze ve ventarolech, druhů typických pro kontrolní stanoviště bylo jen několik. Druhové bohatství ventarolových lokalit bylo dáno nejen stálostí abiotických faktorů prostředí během zimních exhalací, ale jistě také velkou pestrostí prostředí, způsobovanou cyklickými změnami ventarolové činnosti. Jelikož byly v letních měsících podmínky prostředí ventarolových a kontrolních lokalit velmi podobné (viz kapitola 6.2.1.), v obou ventarolových lokalitách se ve velkém počtu vyskytovaly běžné druhy aero-terestrických biotopů, jako např. *Hantzschia amphioxys*, *Pinnularia borealis*, *Pseudococcomyxa simplex* či druhy rodu *Klebsormidium*. V zimních měsících se však ve ventarolách vytvářely podmínky, umožňující výskyt druhů netypických pro aero-terestrické stanoviště.

Vysoká vzdušná vlhkost a vytvoření přechodového vodního prostředí ve stélkách mechů umožňovaly výskyt typických sladkovodních druhů *Paraphysomonas vestita*, *Geminella interrupta* či zástupců rodu *Eutetramorus*. Velká rozmanitost krásivek či druhů rodu *Chlamydomonas* byla jistě rovněž způsobena vyšší vlhkostí ventarolových lokalit. Fakt, že teplota uvnitř borečských ventarol celoročně neklesá pod 10 °C, umožnil výskyt stálé populace termální sinice *Fischerella thermalis*. V jedinečném prostředí ventarol byly nalezeny velmi vzácné druhy řas *Synura multidentata* či *Cosmarium obliquum* var. *trigonum*, jakož i řasy, představující pravděpodobně dosud nepopsané taxony (*Kentrosphaera* sp., *Fottea* sp. či *Desmococcus* sp.).

Pro specifické, cyklicky se opakující podmínky prostředí uvnitř ventarol je velmi těžké připodobnit ventaroly k jiným aero-terestrickým biotopům. Výjimku tvoří rozsivky, jejichž druhová skladba uvnitř ventarol je až pozoruhodně podobná společenstvům, obývajícím vlhké stěny jeskyní (GARBACKI et al. 1999). Celkově však ventaroly svým specifickým druhovým složením představují naprosto unikátní lokality na pomezí aero-terestrických a sladkovodních biotopů.

## 6 Ekologická část

### 6.1 Úvod

Ekologická část diplomové práce se zabývá faktory prostředí ventarolových lokalit a jejich vlivem na jednotlivé druhy i skupiny sinic a řas. Sestává ze dvou částí, zabývajících se algoflórou trvale sledovaných ventarolových a kontrolních lokalit ve vrcholové oblasti NPP Boreč a pěti jednorázově studovanými ventarolovými oblastmi Českého Středoohoří.

Cílem první části je zjištění vztahu měřených abiotických faktorů (teplota, vlhkost, pH) na výskyt druhů či floristické složení odběrů, jakož i preference ventarolových biotopů či půdních a terestrických mikrobiotopů jednotlivými druhy sinic a řas. Studie je založena na floristických datech řasového složení dvou ventarolových a dvou kontrolních lokalit, získaných během let 2001-2003.

Cílem druhé části je porovnat druhové složení a fyzikálně-chemické parametry prostředí pěti ventarolových oblastí Českého Středoohoří a dále otestovat floristickou podobnost ventarol v závislosti na jejich geografické vzdálenosti či celkovém charakteru. Data o druhovém složení byla získána během jednorázového odběru vzorků v únoru a březnu 2003 na lokalitách Boreč, Kamenec, Kolný, Kóta 490 u Třebušína a Plešivec.

### 6.2 Dlouhodobá studie čtyř lokalit ve ventarolové oblasti NPP Boreč

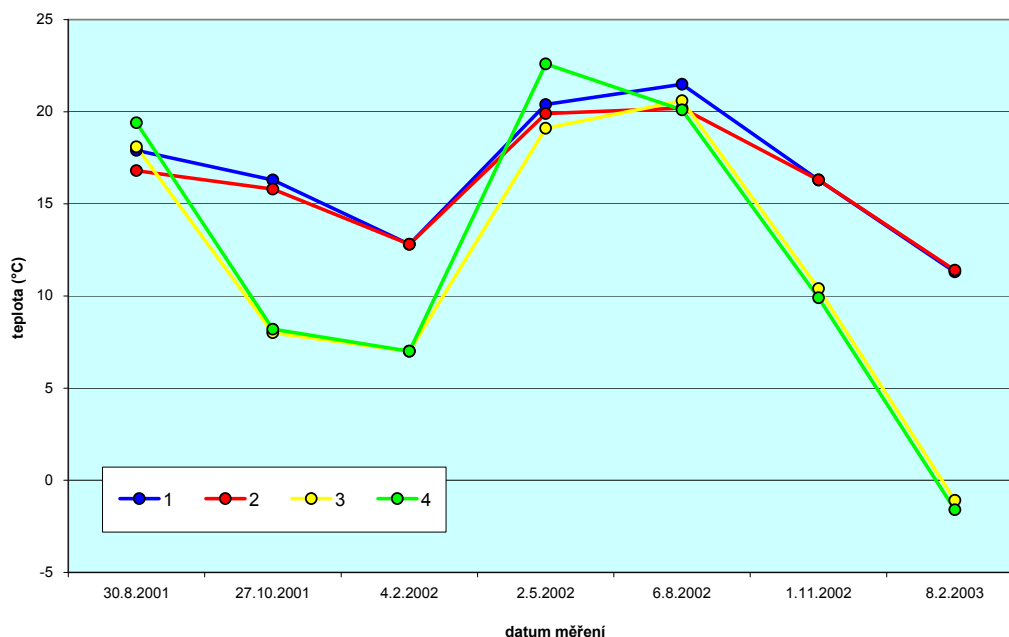
#### 6.2.1 Výsledky měření

V rámci odběrů, učiněných mezi srpnem 2001 a únorem 2003 byly na všech studovaných lokalitách naměřeny hodnoty některých fyzikálně chemických parametrů prostředí.

##### ► Teplota

Na Obr.19, zachycujícím průběh teplot v jednotlivých lokalitách, je dobře patrný rozdíl v ročním kolísání teplot mezi ventarolovými a kontrolními lokalitami. Zatímco na kontrolních lokalitách (3 a 4) rozdíly mezi zimními a letními teplotami dosahovaly až 25 °C, ve ventarolových lokalitách (1 a 2) teploty celoročně kolísaly pouze v rozmezí 10 °C. Na jaře a v létě, kdy nedocházelo k ventarolovým exhalacím, byly teploty ve všech odběrových místech téměř totožné. V době zimních exhalací však bylo ve ventarolových lokalitách výrazně tepleji. Při posledním měření, uskutečněném na začátku února 2003, činil rozdíl teplot mezi ventaroly a kontrolními lokalitami až 13 °C. Průměrná roční teplota ve ventarolech (16,9 °C) byla díky těmto rozdílům výrazně vyšší, než v jejich bezprostředním okolí (13,1 °C). Z grafu na Obr. 19 je také patrné, že teplota exhalovaného vzduchu během zimního období byla v obou ventarolech totožná, bez ohledu na jejich velikost.





**Obr. 19** – Celoroční průběh teplot vzduchu na studovaných lokalitách.

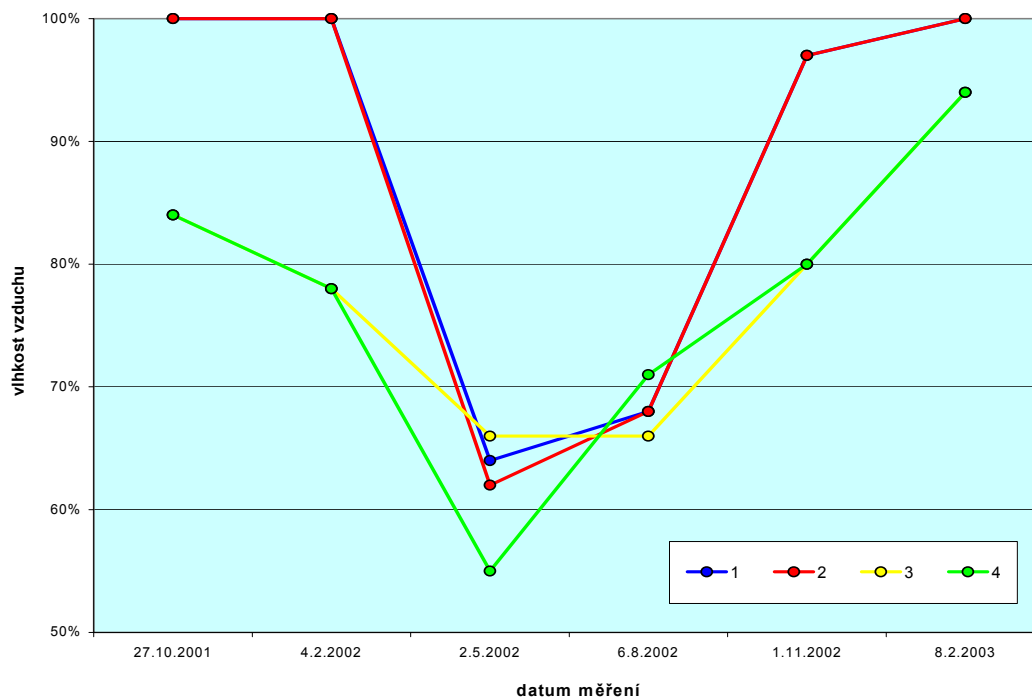
Ve ventarolové lokalitě 2 byly v tříměsíčních intervalech během roku 2002 naměřeny extrémní hodnoty teplot, získané pomocí teploměru, zaznamenávajících maximální a minimální hodnoty během daného časového období (Tab. 2). Během devíti měsíců měření (v období od 4.2.2003 do 1.11.2003) byla nejnižší zaznamenaná teplota uvnitř ventaroly 10,5 °C. Ta byla navíc naměřena v letním období. Při čtvrtém měření mezi listopadem a únorem byl bohužel teploměr odcizen, a tudíž extrémní hodnoty v tomto období zaznamenány nebyly. Jelikož však v tomto období docházelo ve ventarolu k nepřetržité exhalaci teplého vzduchu, jehož teplota se od listopadu do února jen pozvolně snižovala z cca 16 °C na 12 °C (viz Obr. 19), k výrazným výkyvům teplot velmi pravděpodobně nedocházelo. Teplota vzduchu uvnitř ventarol tedy pravděpodobně po celý rok neklesá pod 10 °C.

období	4.2. - 2.5.	2.5. - 6.8.	6.8. - 1.11.
ventarol	12,8 - 18,8 °C	10,5 - 28,4 °C	12,5 - 23,5 °C
okolí	0,0 - 22,4 °C	9,0 - 27,4 °C	7,2 - 23,4 °C

**Tab. 2** - Maximální a minimální teploty, naměřené v daném časovém období ve ventarolu 2 a v okolní oblasti.

#### ➤ Vlhkost vzduchu

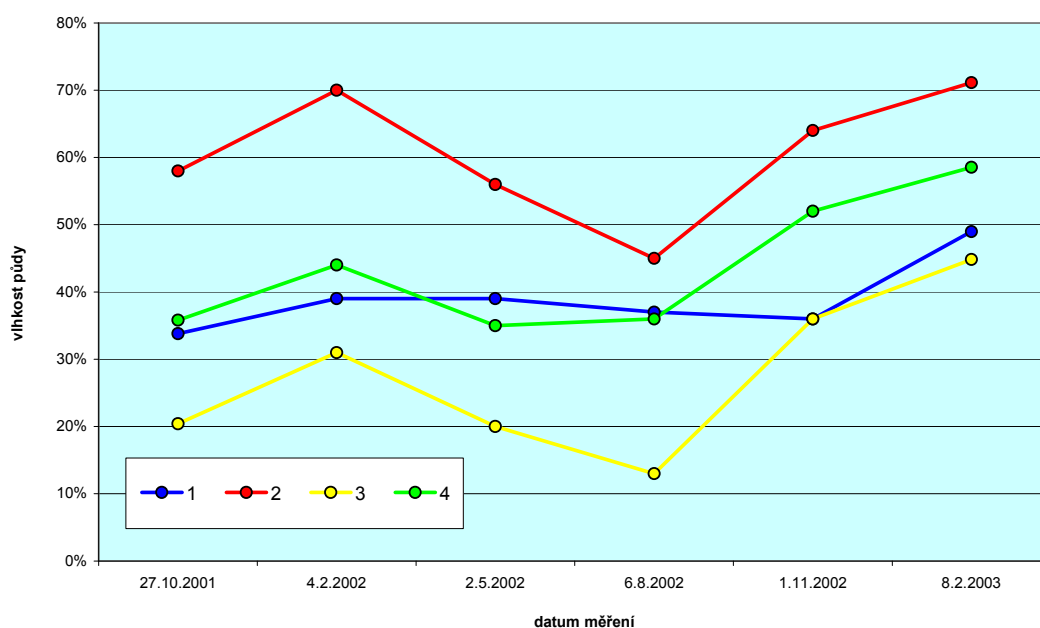
Během roku docházelo na všech lokalitách k výrazným sezónním změnám vlhkosti vzduchu (viz Obr. 20). Na jaře a v létě se vlhkost vzduchu ve všech studovaných lokalitách pohybovala okolo 65 %, v zimních měsících naproti tomu vzrostla nad 80 %. V důsledku exhalací byl v tomto období velmi patrný rozdíl mezi kontrolními a ventarolovými lokalitami, kde byla často naměřena až 100% vlhkost vzduchu. Stejně jako tomu bylo v případě teploty, vlhkost vzduchu v obou ventarolách byla bez ohledu na jejich velikost téměř totožná.



Obr. 20 – Vlhkost vzduchu na studovaných lokalitách.

### ➤ Vlhkost půdy

Tato veličina podléhala stejně jako u předchozích fyzikálně-chemických parametrů prostředí sezónním změnám. Stejně jako u vlhkosti vzduchu byla půda vlhčí v zimním období, změna půdní vlhkosti během roku však nebyla tak výrazná (viz Obr. 21). Výrazný rozdíl byl také zaznamenán mezi jednotlivými lokalitami. Zatímco půda v lokalitě 3 byla výrazně nejsušší (v průměru obsahovala 28 %, v extrémním případě pouze 13 % vody), nejvyšší obsah vody byl zjištěn ve ventarolové lokalitě 2

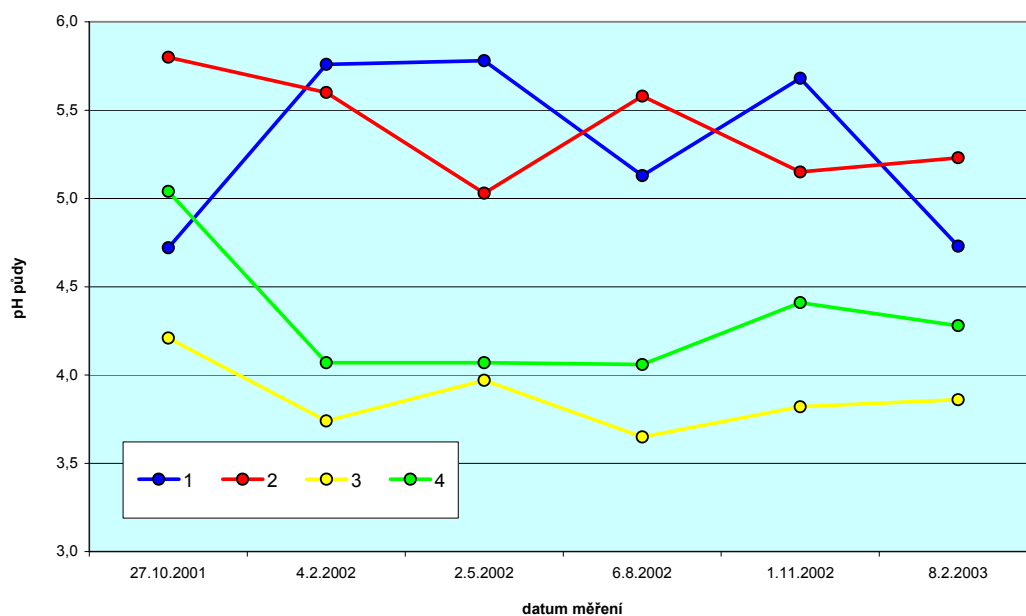


Obr. 21 – Vlhkost půdy na studovaných lokalitách.

(průměrný obsah vody 61 %). Velmi odlišná jsou data, naměřená z půdy ve ventarolové lokalitě 1. V porovnání s menší ventarolou zde půda obsahuje výrazně méně vody (v průměru 39 %). Podíl vody v půdě je zde však celoročně velmi stabilní. Během měření mezi říjnem 2001 a listopadem 2002 zde vlhkost půdy kolísala pouze v rozmezí 5-ti procent!

### ➤ pH půdy

Na Obr. 22 jsou zachyceny hodnoty pH naměřené na jednotlivých lokalitách. Z naměřených hodnot je velmi dobře patrný rozdíl mezi ventarolovými a kontrolními lokalitami, ve kterých byly naměřeny výrazně nižší hodnoty pH půdy. Naměřené hodnoty pH půdního výluhu mají kolísavý charakter, k sezónním změnám zde však nedochází. Stejně jako u teploty či vlhkosti vzduchu lze s velkou pravděpodobností říci, že pH půdy obou ventarol je i přes jejich rozdílnou velikost v zásadě totožné (průměrné hodnoty pH půdy jsou u ventarolových lokalit 5,3 a 5,4). Velmi se však liší od kontrolních lokalit, jejichž průměrné hodnoty pH půdy jsou 3,9 (u lokality 3) a 4,3 (u lokality 4).



Obr. 22 – pH půdy na studovaných lokalitách.

## 6.2.2 Výsledky statistických analýz

### 6.2.2.1 Vnitřní struktura dat

Pro zjištění vnitřní struktury dat byla použita nepřímá gradientová analýza PCA, která umožňuje zobrazení nejdůležitějších směrů variability uvnitř datového souboru bez ohledu na vlastní naměřené parametry prostředí. Pro analýzu byla použita jak data, zahrnující informace o jednotlivých mikrobiotopech (data A), tak i zjednodušená data o výskytu druhů v daných lokalitách (data B; více viz kapitola 4.6.1).

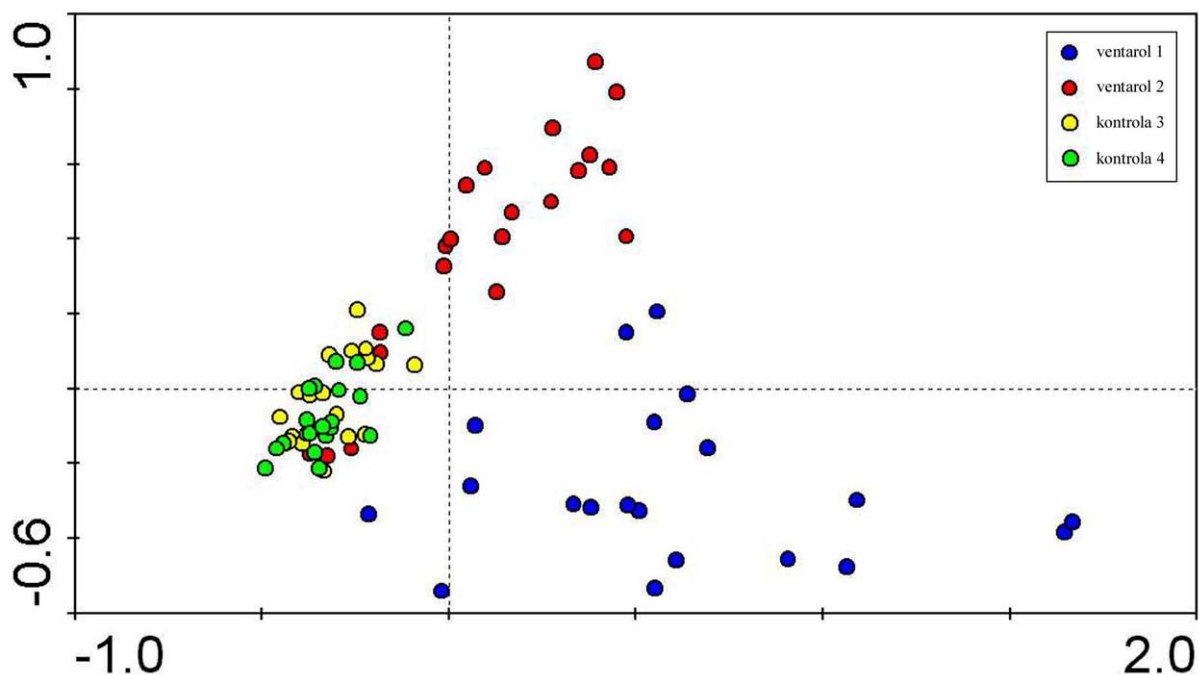
Výsledek této analýzy je shrnut v Tab. 3:

**** Summary ****						
Axes		1	2	3	4	Total variance
-- data A --						
Eigenvalues	:	0.223	0.095	0.067	0.051	1.000
Cumulative percentage variance of species data	:	22.3	31.8	38.5	43.6	
-- data B --						
Eigenvalues	:	0.377	0.156	0.104	0.055	1.000
Cumulative percentage variance of species data	:	37.7	53.3	63.8	69.2	

Tab. 3 – Část výstupu PCA analýzy.

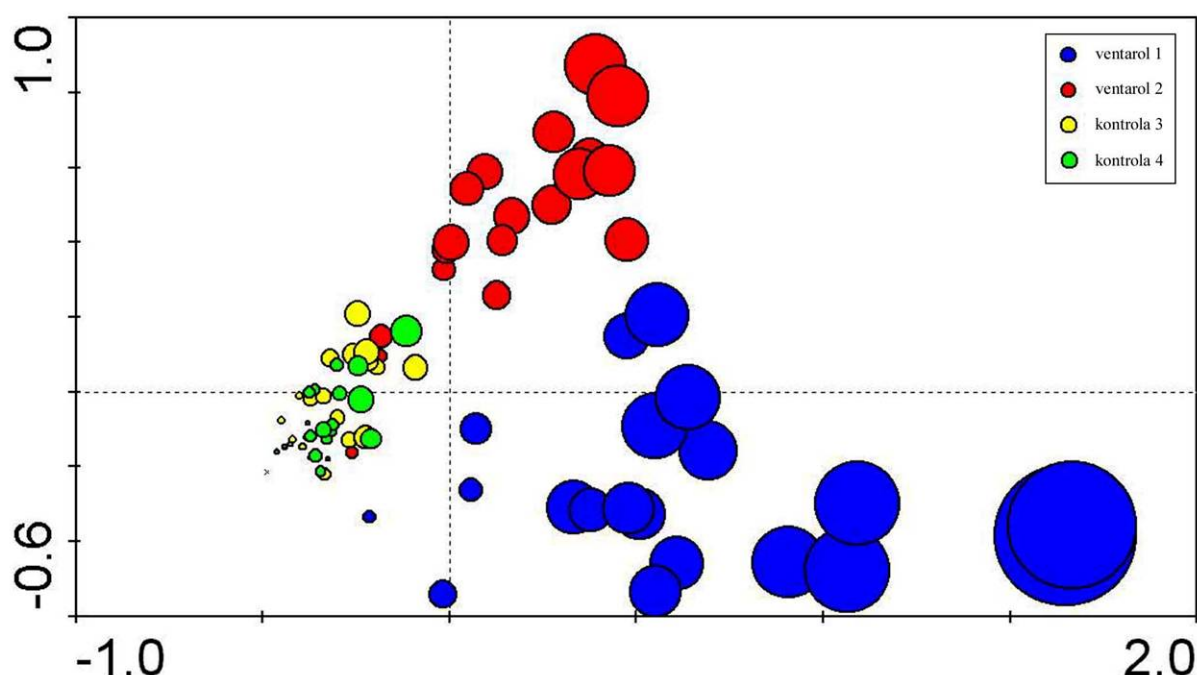
V případě dat A (jednotlivé mikrobiotopy jsou považovány za samostatné odběry) první osa vysvětlila 22,3 % celkové variability datového souboru, druhá osa pokryla dalších 9,5 %. Při analýze s datovým souborem B vysvětlila první osa 37,7 % variability dat. První dvě osy pak dokonce postihly více než polovinu celkové variability datového souboru. Tento nárůst vysvětlené variability je však způsoben zjednodušením dat, která v sobě již neobsahují variabilitu výskytu druhů v rámci jednotlivých mikrobiotopů.

Podíváme-li se na ordinační diagram znázorňující polohy jednotlivých odběrů v prostoru prvních dvou os, uvidíme, že pomocí dvou prvních os došlo k výraznému oddělení odběrů učiněných na jednotlivých ventarolech od vzorků odebraných z kontrolních lokalit (Obr. 23). Zatímco první osa odděluje oba ventaroly od kontrolních lokalit, druhá osa má za následek odštěpení ventarolu 2 od všech ostatních odběrových míst. Pomocí těchto dvou os tedy došlo k výraznému odlišení obou ventarol, zatímco kontrolní lokality 3 a 4 vytvořily společnou skupinu, což vypovídá o jejich velmi podobném druhovém složení.



Obr. 23 – Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici odběrů v prostoru prvních dvou os.

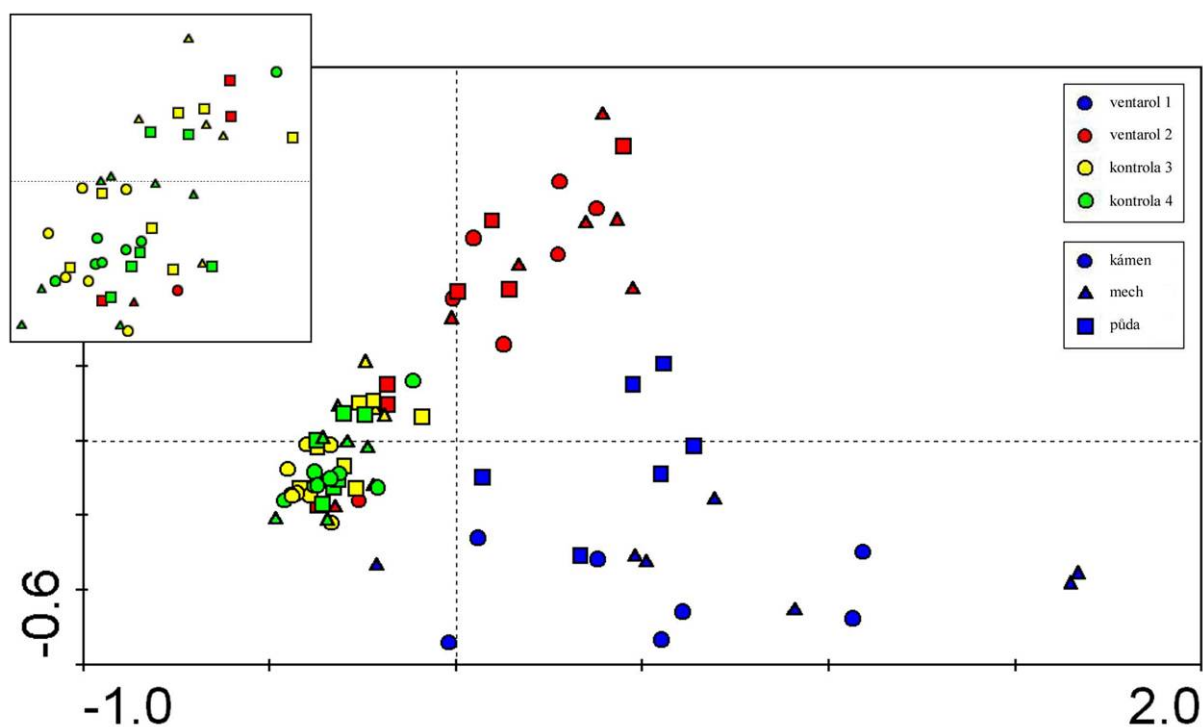
Z ordinačního diagramu na Obr. 24 jasně vyplývá, že první (a tudíž nejdůležitější) osa velmi dobře koresponduje s druhovou bohatostí jednotlivých odběrů. Zatímco v levé části diagramu se nacházejí snímky s žádným či pouze jedním nalezeným druhem, na opačné straně grafu se nacházejí dva nejbohatší snímky (s 50 a 55 nalezenými druhy). Ventarolové lokality se tedy od kontrol odlišují převážně na základě většího počtu nalezených druhů, přičemž nejbohatší odběry pocházely z ventarolové lokality 1. Vysvětlit charakter druhé ordinační osy, pomocí které došlo k oddělení obou ventarolových oblastí, je již obtížnější. Nejvíce vzdálené odběry na této ose se velmi liší svojí druhovou skladbou. Zatímco vzorky se zápornými hodnotami na druhé ose (ventarol 1) obsahovaly více druhů sinic a krásivek, v odběrech nacházejících se v kladné části osy (ventarol 2) bylo nalezeno více druhů různobrvků.



**Obr. 24** – Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici odběrů v prostoru prvních dvou os. Různá velikost kruhů značí počet nalezených druhů v daném odběru.

Největší rozdíly v druhovém složení vzorků byly tedy zaznamenány mezi jednotlivými ventarolovými lokalitami a kontrolami. Zajímavá je ale i otázka, zda se liší i vzorky, odebrané z různých mikrobiotopů. Jednotlivé mikrobiotopy jsou různými symboly odlišeny na Obr. 25. Z ordinačního diagramu na první pohled vyplývá, že vzorky odebrané z jednoho mikrobiotopu netvoří v prostoru prvních dvou ordinačních os žádnou zřetelnou skupinu a jednotlivé odběry jsou v prostoru rozmístěné v závislosti na typu lokality. Přesto však lze u některých vzorků nalézt určitý vztah jejich pozice v ordinačním diagramu a typem mikrobiotopu. Nejvýrazněji je tento vztah patrný u vzorků z ventarolové lokality 1, kde došlo k patrnému odlišení půdních vzorků od odběrů z jiných mikrobiotopů. Půdní vzorky, nacházející se ve střední části diagramu, odděluje od ostatních odběrů druhá ordinační osa. Z diagramu je dále patrné, že druhově nejbohatší snímky pocházejí z mikrobiotopů

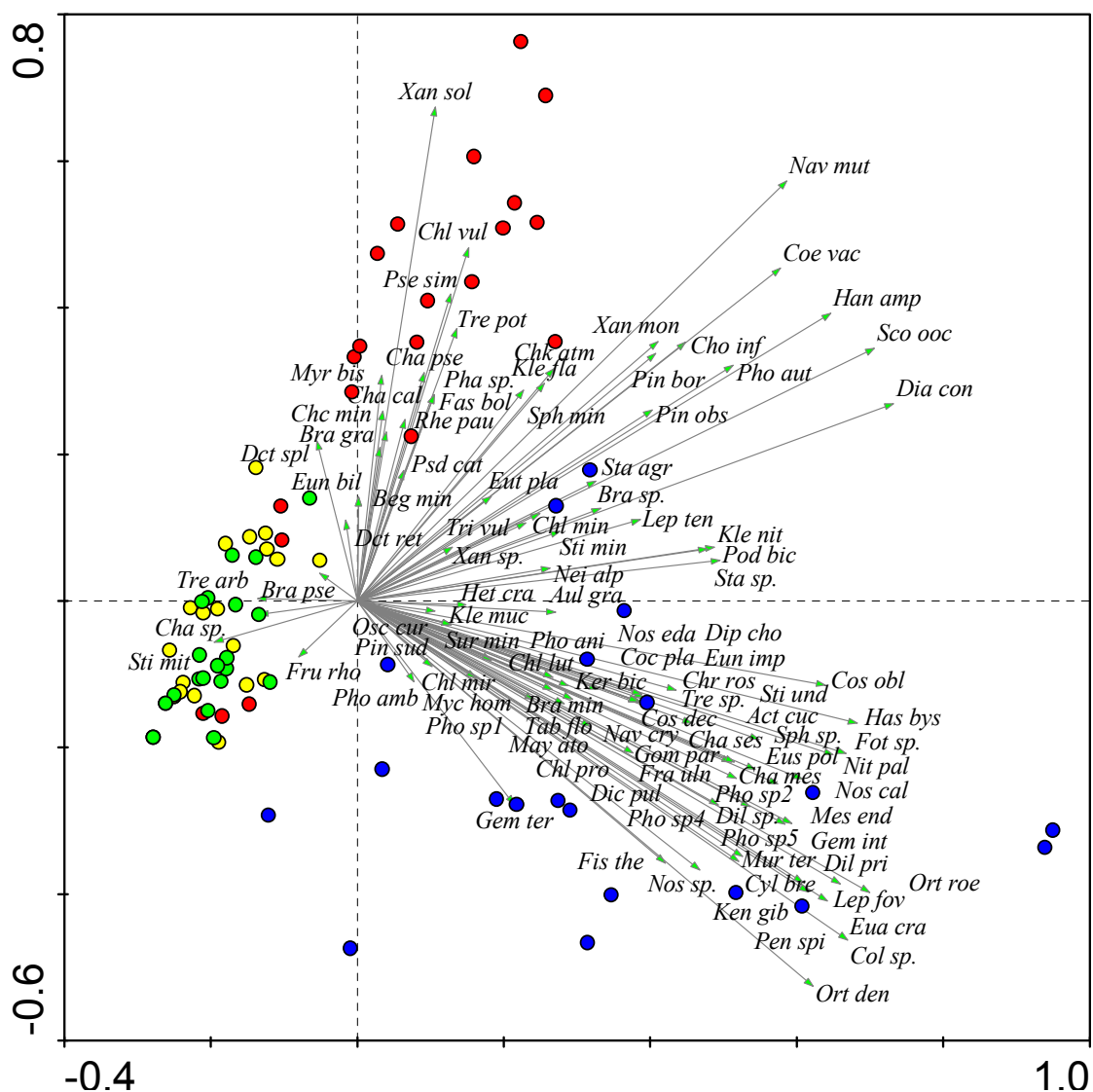
kámen a mech, přičemž dva nejbohatší vzorky byly získány ze vzorků mechu, odebraných v listopadu 2002 a v únoru následujícího roku, tedy v období zimních exhalací teplého a vlhkého vzduchu.



**Obr. 25** – Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici odběrů v prostoru prvních dvou os. Odběry jsou odlišeny podle typu lokality a mikrobiotopu. Detail polohy odběrů kontrolních lokalit je zobrazen v levém horním rohu diagramu.

Na Obr. 26 jsou v ordinačním diagramu kromě jednotlivých odběrů vyneseny i polohy všech nalezených druhů. Seznam zkratk druhů, uvedených ve všech ordinačních diagramech je uveden v Tab. 4.

Největší skupinu tvoří druhy, nejčastěji nalézané či přímo charakteristické pro ventarolovou lokalitu 1 (v ordinačním diagramu v pravé dolní části). Tato skupina obsahuje většinu druhů sinic, všechny zástupce třídy Ulvophyceae a dokonce i všechny druhy krásivek. Je zajímavé, že ač byl druh *Cosmarium obliquum* často nacházen i ve vzorcích z ventarolové lokality 2, na ordinačním diagramu je vyneseno v oblasti ventarolu 1. Tento jev je pravděpodobně způsoben jeho častým výskytem ve společnosti druhů, typických pro tento ventarol.



Obr. 26 – Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici odběrů a druhů v prostoru prvních dvou os. Barevné odlišení odběrů je stejné jako v předchozích diagramech.

Druhů typických pro ventarol 2 je již mnohem méně. Těmito druhy jsou *Xanthonema solidum*, *Chlorella vulgaris*, *Trebouxia potteri*, ale třeba i *Myrmecia bisecta* a *Pseudococcomyxa simplex*, hojně nalézané i na ostatních studovaných lokalitách. Další skupinu tvoří druhy, které byly často izolovány z obou ventarolových lokalit, jejich výskyt v kontrolních lokalitách byl však ojedinělý či zde nebyly nalezeny vůbec. Typickými druhy této skupiny jsou rozsivky *Diadesmis contenta*, *Hantzschia amphioxys* a *Navicula mutica* a zelené řasy *Coellastraella vacuolata* a *Scotiellopsis oocystiformis*.

Poslední skupinu tvoří druhy, charakteristické pro kontrolní lokality. Skupina sestává pouze ze 4 druhů – *Bracteacoccus pseudominor*, *Chlamydomonas* sp., *Stichococcus minutus* a *Trebouxia arboricola*, které byly několikrát izolovány z kontrolních lokalit, ve ventarolech se však nevyskytovaly.

Act cuc	<i>Actinotaenium cucurbita</i>	Het cra	<i>Heterococcus</i> cf. <i>crassulus</i>	Nos sp.	<i>Nostoc</i> sp. 1
Aul gra	<i>Aulacoseira granulata</i>	Cha cal	<i>Chlamydomonas callunae</i>	Ooc par	<i>Oocystis parva</i>
Beg min	<i>Beggiatoa minima</i>	Cha car	<i>Chlamydomonas carrizoensis</i>	Ort den	<i>Orthoseira dendroteres</i>
Bot pyr	<i>Botrydiopsis pyrenoidosa</i>	Cha mes	<i>Chlamydomonas meslinii</i>	Ort roe	<i>Orthoseira roeseana</i>
Bot sp.	<i>Botrydiopsis</i> sp.	Cha pse	<i>Chlamydomonas pseudintermedia</i>	Osc cur	<i>Oscillatoria</i> cf. <i>curviceps</i>
Bra gra	<i>Bracteacoccus</i> cf. <i>grandis</i>	Cha ses	<i>Chlamydomonas</i> cf. <i>sestiniensis</i>	Pen spi	<i>Penium spinospermum</i>
Bra min	<i>Bracteacoccus minor</i>	Cha sp.	<i>Chlamydomonas</i> sp.	Pha sp.	<i>Phacomyxa</i> sp.
Bra pse	<i>Bracteacoccus pseudominor</i>	Chc min	<i>Choricystis minor</i>	Pho amb	<i>Phormidium</i> cf. <i>ambiguum</i>
Bra sp.	<i>Bracteacoccus</i> sp.	Chk atm	<i>Chlorokybus atmophyticus</i>	Pho ani	<i>Phormidium</i> cf. <i>animale</i>
Ccc con	<i>Coccomyxa confluens</i>	Chl lut	<i>Chlorella</i> cf. <i>luteoviridis</i>	Pho aut	<i>Phormidium autumnale</i>
Coc pla	<i>Cocconeis placentula</i>	Chl min	<i>Chlorella minutissima</i>	Pho sp1	<i>Phormidium</i> sp. 1
Coe vac	<i>Coellastraella vacuolata</i>	Chl mir	<i>Chlorella mirabilis</i>	Pho sp2	<i>Phormidium</i> sp. 2
Col sp.	<i>Coleochlamys</i> sp.	Chl pro	<i>Chlorella protothecoides</i>	Pho sp4	<i>Phormidium</i> sp. 4
Cos dec	<i>Cosmarium decedens</i>	Chl vul	<i>Chlorella vulgaris</i>	Pho sp5	<i>Phormidium</i> sp. 5
Cos obl	<i>Cosmarium obliquum</i> , var. <i>trigonum</i>	Cho inf	<i>Chlorococcum infusionum</i>	Pin bor	<i>Pinnularia borealis</i>
Cyl bre	<i>Cylindrocystis brebissonii</i>	Cho lob	<i>Chlorococcum lobatum</i>	Pin int	<i>Pinnularia interrupta</i>
Det ret	<i>Dictyochloropsis reticulata</i>	Cho sch	<i>Chlorococcum schizochlamys</i>	Pin obs	<i>Pinnularia obscura</i>
Det spl	<i>Dictyochloropsis splendida</i>	Chr ros	<i>Chloromonas rosae</i>	Pin sud	<i>Pinnularia sudetica</i>
Des sp.	<i>Desmococcus</i> sp.	Ken gib	<i>Kentrosphaera gibberosa</i>	Pla gel	<i>Planktosphaeria gelatinosa</i>
Dia con	<i>Diademsis contenta</i>	Ken sp.	<i>Kentrosphaera</i> sp.	Pod bic	<i>Podohedra bicaudata</i>
Dic pul	<i>Dictyochloris pulchra</i>	Ker bic	<i>Keratococcus bicaudatus</i>	Psd cat	<i>Pseudanabaena</i> cf. <i>catenata</i>
Dil pri	<i>Dilabifilum printzii</i>	Kle fla	<i>Klebsormidium</i> cf. <i>flaccidum</i>	Psd gal	<i>Pseudanabaena</i> cf. <i>galeata</i>
Dil sp.	<i>Dilabifilum</i> sp.	Kle muc	<i>Klebsormidium mucosum</i>	Pse sim	<i>Pseudococcomyxa simplex</i>
Dip cho	<i>Diplosphaera chodatii</i>	Kle nit	<i>Klebsormidium</i> cf. <i>nitens</i>	Rhe pau	<i>Rhexinema paucicelulare</i>
Ell sub	<i>Elliptochloris subsphaerica</i>	Leo ter	<i>Leptosira</i> cf. <i>terricola</i>	Sco ooc	<i>Scotiellopsis oocystiformis</i>
Ett bil	<i>Ettlia bilobata</i>	Lep fov	<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	Sph min	<i>Sphaerochlamydeella minutissima</i>
Eua cra	<i>Euastrum crassangulatum</i>	Lep ten	<i>Leptolyngbya tenuis</i>	Sph sp.	<i>Sphaerochlamydeella</i> sp.
Eun bil	<i>Eunotia bilunaris</i>	Lob lob	<i>Lobosphaeropsis lobophora</i>	Spn sp.	<i>Sphaeroneocystis</i> sp.
Eun imp	<i>Eunotia implicata</i>	May ato	<i>Mayamaea atomus</i>	Sta agr	<i>Stauroneis agrestis</i>
Eus mag	<i>Eustigmatos magnus</i>	Mes end	<i>Mesotaenium</i> cf. <i>endlicherianum</i>	Sta sp.	<i>Stauroneis</i> sp.
Eus pol	<i>Eustigmatos polyphem</i>	Mes chl	<i>Mesotaenium chlamydosporum</i>	Sti min	<i>Stichococcus minor</i>
Eut fot	<i>Eutetramorus</i> cf. <i>fottii</i>	Mes sp.	<i>Mesotaenium</i> sp.	Sti mit	<i>Stichococcus minutus</i>
Eut pla	<i>Eutetramorus</i> cf. <i>planctonicus</i>	Mic vag	<i>Microcoleus vaginatus</i>	Sti und	<i>Stichococcus undulatus</i>
Fas bol	<i>Fasciculochloris boldii</i>	Mur ter	<i>Muriella terrestris</i>	Sur min	<i>Surirella</i> cf. <i>minuta</i>
Fis the	<i>Fischerella thermalis</i>	Myc hom	<i>Mychonastes homosphaera</i>	Tab flo	<i>Tabellaria flocculosa</i>
Fot sp.	<i>Fottea</i> sp.	Myr bis	<i>Myrmecia bisecta</i>	Tre arb	<i>Trebouxia arboricola</i>
Fra uln	<i>Fragilaria ulna</i>	Myr inc	<i>Myrmecia</i> cf. <i>incisa</i>	Tre pot	<i>Trebouxia potteri</i>
Fru rho	<i>Frustulia rhomboides</i>	Nav cry	<i>Navicula cryptocephala</i>	Tre sp.	<i>Trebouxia</i> sp.
Gem int	<i>Geminella interrupta</i>	Nav mut	<i>Navicula mutica</i>	Tri vul	<i>Tribonema vulgare</i>
Gem ter	<i>Geminella terricola</i>	Nei alp	<i>Neidium alpinum</i>	Vis ste	<i>Vischeria stellata</i>
Gom par	<i>Gomphonema parvulum</i>	Nit pal	<i>Nitzschia palea</i>	Xan mon	<i>Xanthonema montanum</i>
Han amp	<i>Hantzschia amphioxys</i>	Nos cal	<i>Nostoc calcicola</i>	Xan sol	<i>Xanthonema solidum</i>
Has bys	<i>Hassalia byssoidea</i>	Nos eda	<i>Nostoc</i> cf. <i>edaphicum</i>	Xan sp.	<i>Xanthonema</i> sp.

Tab. 4 – Abecední seznam zkratk druhů, uvedených v ordinačních diagramech.



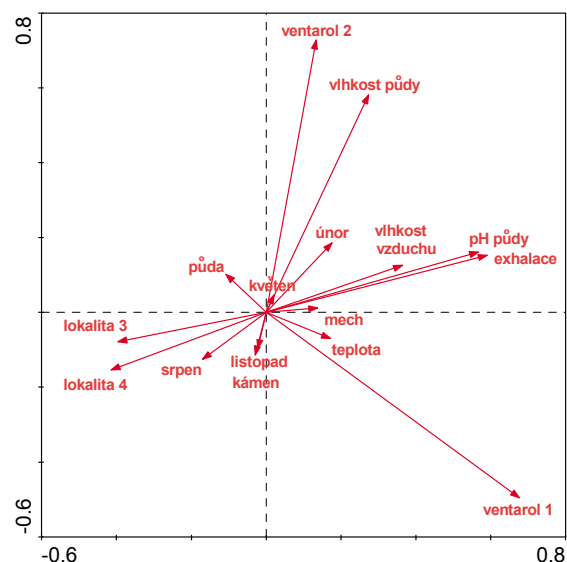
### 6.2.2.2 Vliv proměnných prostředí

Při každém odběru vzorků byly kromě údajů o lokalitě a mikrobiotopu zaznamenány také teplota vzduchu, vlhkost vzduchu a půdy a pH půdy. Pomocí redundanční analýzy (RDA) a Monte-Carlo permutačních testů lze pak otestovat vliv těchto parametrů na druhovou variabilitu vzorků a zjistit, které druhy jsou s jednotlivými parametry pozitivně či negativně korelovány.

Celkový přehled vlivu a korelací všech parametrů prostředí lze získat z analýzy PCA, zahrnující všechny zaznamenané nezávislé proměnné. Výsledek této analýzy je graficky znázorněn na ordinačním diagramu na Obr. 27. Z diagramu je zřejmý velký vliv typu lokality, vlhkosti půdy a zimních exhalací na celkovou variabilitu druhů. S exhalacemi je velmi silně korelováno pH půdy, stejně jako vlhkost vzduchu. Variabilita vysvětlená lokalitou 1 je naopak korelována s teplotou. Různé mikrobiotopy a doby odběrů vysvětlují již menší část celkové variability (k výraznému odlišení půdních vzorků došlo až prostřednictvím čtvrté ordinační osy).

Pro testování toho, které proměnné prostředí byly nejvíce důležité pro floristické složení vzorků, byl použit postupný výběr nezávislých proměnných v analýze RDA (Tab. 5). Z této analýzy vyplývá, že téměř 15 % celkové variability v druhovém složení lze přímo vysvětlit typem lokality, tj. nejvíce rozdílné druhy byly nalézány na jiných lokalitách. Mnohem menší procento variability bylo vysvětleno typem mikrobiotopu. Statisticky průkazný je i vliv zimních exhalací na druhové

složení sinic a řas. Protože je však tento parametr korelován s pH půdy a vlhkostí vzduchu, tyto parametry se prokázaly jako statisticky neprůkazné. Jelikož byl testem zamítnut i vliv teploty vzduchu, jediným průkazným měřeným parametrem prostředí byla vlhkost půdy, pomocí které byla vysvětlena necelá 2 % celkové variability. Prokázán rovněž nebyl vliv času na druhové složení sinic a řas, ať byl čas kódován lineárně v pořadí odběrů či kategoriálně podle ročního období.



**Obr. 27** - Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici všech nezávislých proměnných v prostoru prvních dvou ordinačních os.

proměnná	vysvětlená variabilita	p hodnota
lokality	14,8 %	0,001
exhalace	2,2 %	0,007
mikrobiotopy	1,9 %	0,007
vlhkost půdy	1,9 %	0,004
pH půdy	-	-
teplota	-	-
vlhkost vzduchu	-	-
doba odběru	-	-

**Tab. 5** – Variabilita druhového složení, vysvětlená jednotlivými parametry prostředí. Hodnoty jsou uvedeny pouze u proměnných, jejichž p hodnota byla větší než 0,05.

### ► Vliv lokalit

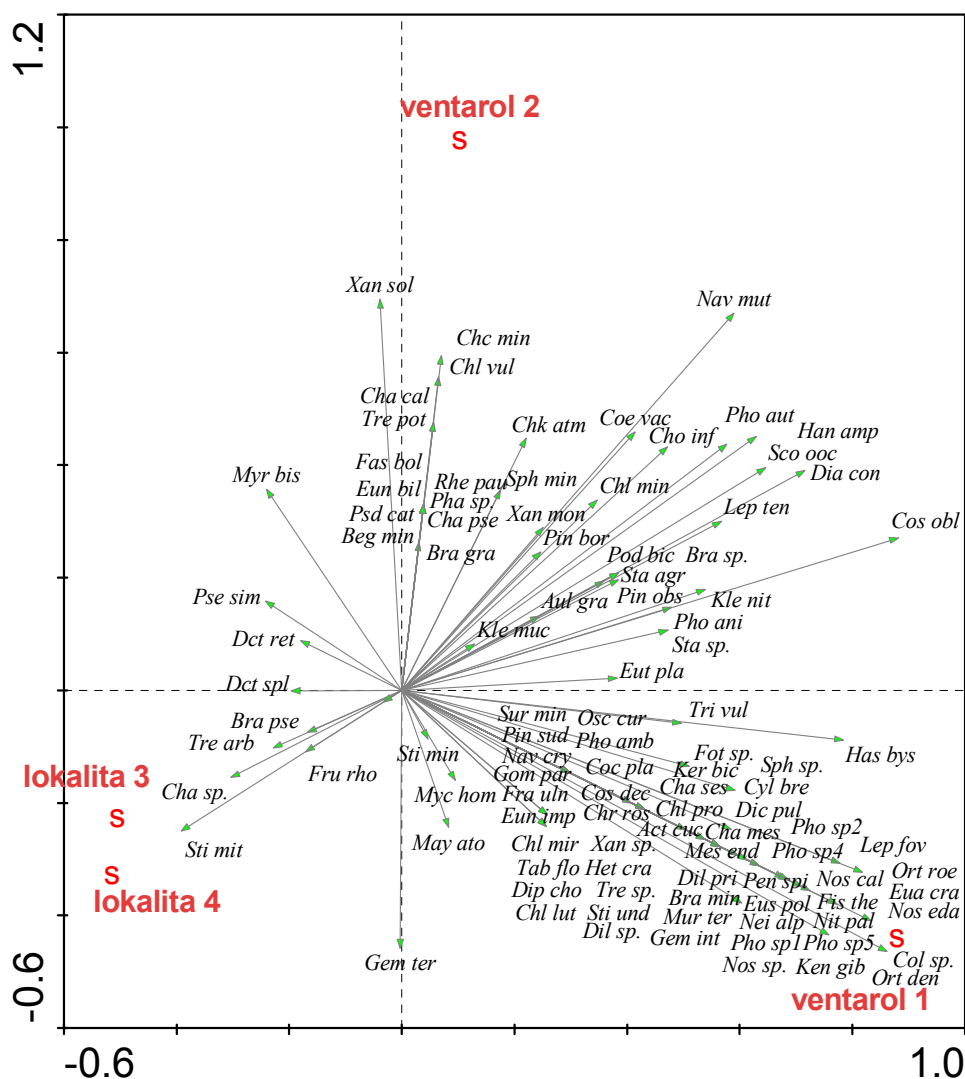
Již z Obr. 26 a Tab. 5 vyplývá, že největší rozdíly v druhovém složení vzorků byly zaznamenány mezi odběry z jednotlivých lokalit. Pro testování této závislosti byla použita RDA analýza se vstupními daty B (bez informací o mikrobiotopech, viz kapitola 4.6.1). K potlačení variability způsobené odlišnou dobou odběru byly jako kovariáty použity hodnoty času. Randomizace byla tudíž provedena uvnitř bloků, definovaných kovariáty. Výsledek analýzy je uveden v Tab. 6:

**** Summary ****						
Axes		1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	:	0.285	0.124	0.015	0.076	1.000
Species-environment correlations	:	0.923	0.926	0.872	0.000	
Cumulative percentage variance						
of species data	:	32.9	47.2	48.9	57.7	
of species-environment relation:		67.2	96.4	100.0	0.0	
Sum of all eigenvalues						0.867
Sum of all canonical eigenvalues						0.425
**** Summary of Monte Carlo test ****						
Test of significance of all canonical axes :		Trace	=	0.425		
		F-ratio	=	7.350		
		P-value	=	0.0010		

**Tab. 6** – Výstup z RDA analýzy vlivu lokalit na floristické složení vzorků při použití času jako kovariáty.

Variabilita, vysvětlená prvními dvěma kanonickými osami, činila více než 47 % celkové variability datového souboru. Při porovnání tohoto čísla s variabilitou vysvětlenou při nekanonické analýze PCA (viz Tab. 3, data B) zjistíme, že vysvětlená variabilita klesla pouze o 6 %. To znamená, že nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím složení sinic a řas je typ lokality, tzn. rozdíl mezi ventaroly a kontrolními lokalitami.

Ordinační diagram (Obr. 28) této analýzy je díky vysoké hodnotě vysvětlené variability velmi podobný diagramu z nekanonické PCA analýzy (viz Obr. 26). V prostoru prvních dvou kanonických os lze na diagramu odlišit druhy, které se vyskytovaly pouze ve ventarolu 1 či 2 (oblaka druhů v pravé dolní a v horní části diagramu). Mezi těmito shluky jsou na diagramu vyneseny druhy, nalezené ve větší míře v obou ventarolových lokalitách, na opačné straně se vyskytují druhy, nalezené pouze v kontrolních lokalitách 3 a 4. Viditelný rozdíl oproti výsledku PCA analýzy lze nalézt v pozici druhu *Pseudococcomyxa simplex*. Ten byl při PCA analýze výrazně korelován s druhou osou, na které se nacházely vzorky z ventaroly 2. V ordinačním diagramu RDA se však tento druh vyskytuje ve větší blízkosti kontrolních lokalit, v negativní poloze vůči ventarolu 1. Ve stejné části diagramu jsou vyneseny i oba nalezené druhy rodu *Dictyochloropsis*, které byly nalezeny ve všech odběrových místech mimo ventarol 1. Všeobecně lze však z diagramu vyčíst vysokou afinitu většiny druhů k ventarolovému prostředí. Pouze 13 % druhů se v prostoru prvních dvou kanonických os vyskytuje ve větší blízkosti kontrolních lokalit.



Obr. 28 - Ordinační diagram RDA, znázorňující pozici lokalit a druhů v prostoru prvních dvou kanonických os.

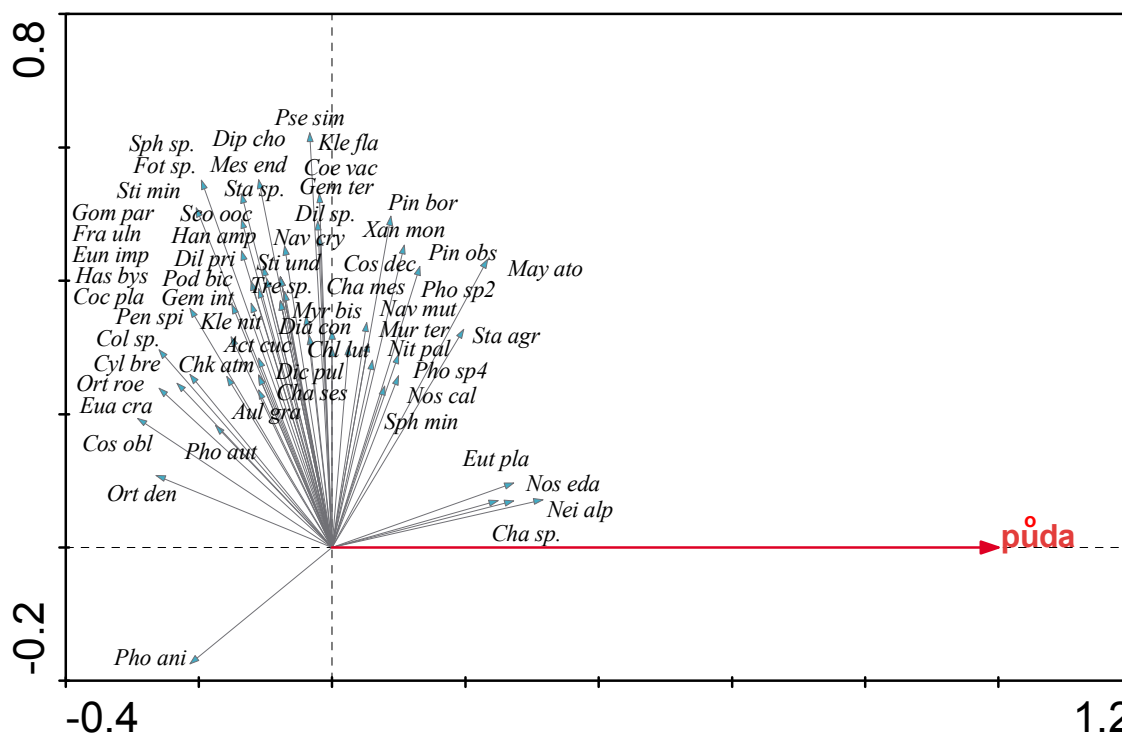
### ➤ Vliv mikrobiotopů

Při postupném výběru proměnných prostředí se jako signifikantní prokázal vliv půdního prostředí na floristické složení vzorků. Při samostatné analýze RDA byl testován vliv mikrobiotopů zvlášť i současně. Při analýze byly použity vstupní data A, jako kovariáty byly použity jednotlivé mikrobioty. Randomizováno bylo uvnitř bloků definovaných kovariátami pomocí split-plot designu. „Whole-ploty“ představující mikrobioty byly randomizovány úplně, k randomizaci „split-plotů“ tvořících časové řady nedocházelo. Tímto uspořádáním byla odfiltrována variabilita, způsobená rozdíly mezi lokalitami a odběry z různých časových období. Použitím mikrobiotopů jako „whole plotů“ se navíc zachovaly vazby mezi odběry z různých měsíců. Pouze při takovémto uspořádání byl testován čistý vliv mikrobiotopů na floristické složení odebraných vzorků. V případě RDA analýzy, testující vliv všech mikrobiotopů, byla výsledná  $p$  hodnota 0,093; výsledek testu byl tedy neprůkazný. Signifikace vlivu byla na 5% hladině významnosti prokázána pouze u půdního prostředí, významnost tohoto vlivu je však velmi slabá ( $p$ -hodnota 0,049).

Výsledek této analýzy je uveden v Tab. 7:

**** Summary ****						
Axes		1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	:	0.019	0.115	0.049	0.045	1.000
Species-environment correlations	:	0.621	0.000	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance						
of species data	:	2.4	17.2	23.6	29.3	
of species-environment relation:		100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues						0.780
Sum of all canonical eigenvalues						0.019
**** Summary of Monte Carlo test ****						
Test of significance of all canonical axes :		Trace	=	0.019		
		F-ratio	=	1.979		
		P-value	=	0.0490		

**Tab. 7** – Výstup z RDA analýzy vlivu půdního prostředí na floristické složení vzorků při použití mikrobiotopů jako kovariát.



**Obr. 29** - Ordinační diagram RDA, znázorňující pozice jednotlivých druhů v prostoru prvních dvou ordinačních os ve vztahu k půdnímu prostředí. Na diagramu je znázorněno 60 druhů s nejlepším vztahem k ordinačnímu prostoru dvou os.

Pomocí první kanonické osy, představující vliv půdního prostředí na druhové složení vzorků, bylo vysvětleno pouhých 2,4 % celkové variability druhového složení vzorků. Mnohonásobně větší část variability byla postihnuta pomocí druhé, nekanonické osy. Přes tento rozdíl je na ordinačním diagramu této analýzy (Obr. 29) patrná skupina 4 druhů – *Nostoc edaphicum*, *Neidium alpinum*, *Chlamydomonas* sp. a *Eutetramorus* cf. *planctonicus* – jejichž výskyt je pozitivně korelován s půdním prostředím. Na opačné straně kanonické osy se naopak vyskytují druhy, které toto prostředí

nepreferují. Mezi tyto druhy patří zejména rozsivky rodu *Orthoseira* a krásivky *Cosmarium obliquum* var. *trigonum* a *Euastrum crassangulatum*, nalezené kromě jediného případu pouze v mechu a/nebo na povrchu kamenů.

#### ➤ Vliv zimních exhalací

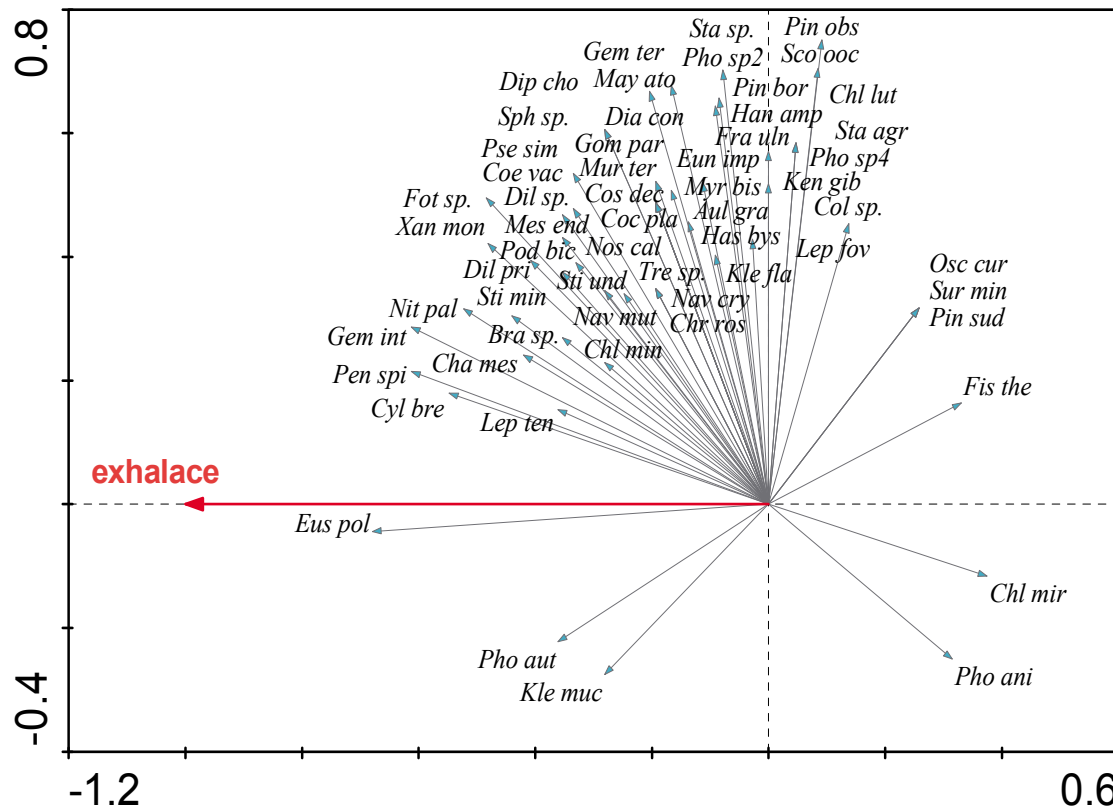
Ve ventarolových lokalitách docházelo v zimním období k výrazným exhalacím teplého a vlhkého vzduchu. Je proto zajímavé zjistit, zda tyto exhalace ovlivňovaly floristické složení sinic a řas ventarol. V postupném výběru proměnných (Tab. 5) se efekt exhalací na algoflóru ventarol prokázal jako statisticky významný. Při přímém testování analýzou RDA byl však tento efekt patrný pouze u vzorků z velkého ventarolu (lokalita 1). Při analýze byly použity vstupní data A, obě ventaroly byly analyzovány zvlášť. Jako kovariáty byly použity jednotlivé mikrobiotopy, randomizováno bylo uvnitř bloků definovaných kovariáty metodou cyklických posuvů (jedná se o časové řady). V případě RDA se vzorky z ventarolu 2 byla výsledná p hodnota permutačního testu 0,85. Vliv exhalací na druhové složení sinic a řas byl tedy v této lokalitě vysoce neprokazatelný. Při obdobné analýze se vzorky, odebranými ve ventarolu 1, byl již tento vliv na 5% hladině statisticky významný. Výsledek analýzy je uveden v Tab. 8:

**** Summary ****						
Axes		1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	:	0.089	0.158	0.078	0.077	1.000
Species-environment correlations	:	0.823	0.000	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance						
of species data	:	10.5	29.3	38.5	47.6	
of species-environment relation:		100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues						0.843
Sum of all canonical eigenvalues						0.089
**** Summary of Monte Carlo test ****						
Test of significance of all canonical axes :		Trace	=	0.089		
		F-ratio	=	2.000		
		P-value	=	0.0320		

**Tab. 8** – Výstup z RDA analýzy vlivu zimních exhalací na floristické složení vzorků z ventaroly 1 při použití mikrobiotopů jako kovariát.

Pomocí první kanonické osy, postihující vliv exhalací na druhové složení vzorků, bylo vysvětleno 10,5 % celkové variability. Druhá, již nekanonická osa vysvětlila téměř dvojnásobek této variability. Tento efekt je patrný také na ordinačním diagramu, kde je většina druhů korelována s druhou ordinační osou (viz Obr. 30). Výskyt těchto druhů není ovlivněn zimními exhalacemi, ale některou jinou či souborem jiných neznámých proměnných (například typem mikrobiotopu). Některé druhy jsou však přesto korelovány s první osou, představující vliv zimních exhalací. Nejvíce pozitivně korelovaným druhem je *Eustigmatos polyphem*, jediný zástupce třídy Eustigmatophyceae, nalezený na pravidelně sledovaných lokalitách. Výskyt tohoto druhu je výrazně spjat s obdobím, kdy ve ventarolu docházelo k proudění teplého a vlhkého vzduchu. Dalšími druhy, pozitivně ovlivněnými tímto faktorem, jsou krásivky *Cylindrocystis brebissonii* a *Penium spinospermum*, sinice *Leptolyngbya*

*tenuis* a *Phormidium autumnale* či zelená vláknitá řasa *Geminella interrupta*. Druhy *Eustigmatos polyphem*, *Geminella interrupta* a oba uvedené druhy krásivek se vyskytovaly ve všech odběrech se zimními exhalacemi a naopak nebyly nalezeny v žádném jiném odběru bez těchto exhalací. Jejich výskyt ve ventarolu je tedy tímto jevem bezpochyby ovlivněn.



**Obr. 30** - Ordinační diagram RDA, znázorňující pozice jednotlivých druhů velkého ventarolu v prostoru prvních dvou ordinačních os ve vztahu k zimním exhalacím. Na diagramu je znázorněno 59 druhů s nejlepším vztahem k ordinačnímu prostoru dvou os.

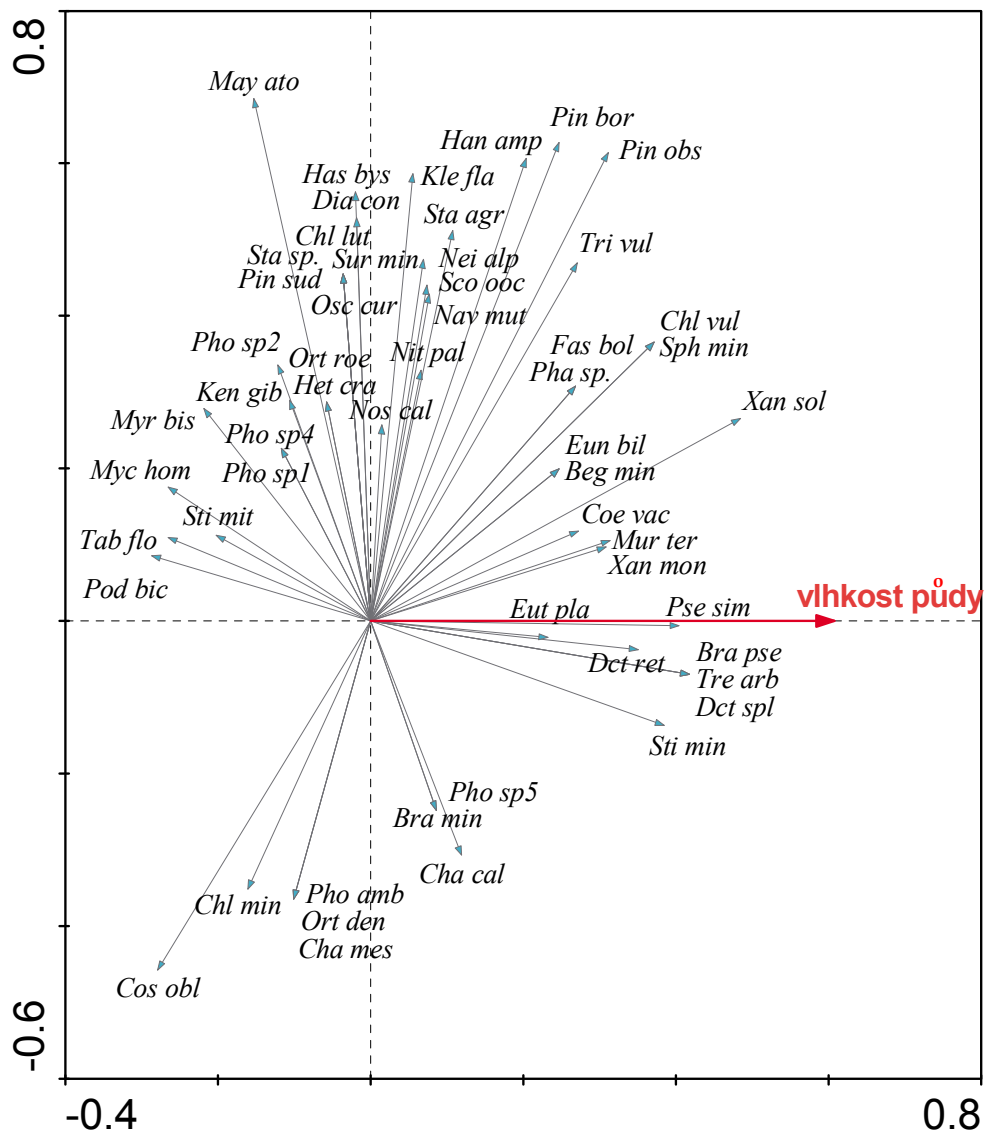
Na druhé straně diagramu se nacházejí dva druhy, které jsou s tímto parametrem naopak negativně korelovány. Zelená kokální řasa *Chlorella mirabilis* byla ve ventarolu nalezena pouze v letních vzorcích, v období zimních exhalací se ve vzorcích nevyskytovala. Velmi zajímavá je negativní vazba sinice *Fischerella thermalis*. Ta sice byla na lokalitě nalezena i v zimních odběrech, ale na rozdíl od letních vzorků, kde se vyskytovala ve všech mikrobiotopech, byla v zimním období nalezena pouze na povrchu kamenů.

#### ► Vliv vlhkosti půdy

Při testování vlivu vlhkosti půdy na druhové složení vzorků byla pro analýzu RDA použita vstupní data A. Protože se tento parametr týká pouze půdního prostředí, do analýzy byla zahrnuta data o přítomnosti druhů v půdních vzorcích. Pro potlačení variability mezi ventaroly a kontrolními lokalitami byly jako kovariáty použity kódy lokalit, další kovariáty představovaly hodnoty pH půdy. Randomizováno bylo v rámci lokalit, představujících jednotlivé bloky metodou cyklických posuvů. Výsledek analýzy je uveden v Tab. 9:

**** Summary ****						
Axes		1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	:	0.042	0.123	0.074	0.070	1.000
Species-environment correlations	:	0.764	0.000	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance						
of species data	:	5.9	23.0	33.4	43.1	
of species-environment relation:		100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues						0.718
Sum of all canonical eigenvalues						0.042
**** Summary of Monte Carlo test ****						
Test of significance of all canonical axes :		Trace	=	0.042		
		F-ratio	=	1.381		
		P-value	=	0.0110		

**Tab. 9** – Výstup z RDA analýzy vlivu vlhkosti půdy na floristické složení půdních vzorků při použití lokalit a pH půdy jako kovariát.



**Obr. 31** - Ordinační diagram RDA, znázorňující pozice jednotlivých druhů v prostoru prvních dvou ordinačních os ve vztahu k naměřené vlhkosti půdy. Na diagramu je znázorněno 55 druhů s nejlepším vztahem k ordinačnímu prostoru.

Permutační test prokázal signifikantní vliv vlhkosti půdy na druhové složení snímků. Tímto parametrem lze však vysvětlit pouze necelých 6 % celkové variability datového souboru. Na ordinačním diagramu této analýzy (viz Obr. 31) je patrná korelace velkého počtu druhů s druhou, nekanonickou osou, postihující největší směr přirozené variability snímků, nezávislé na vlhkosti půdy. Nejvíce byl vlhkostí půdy ovlivněn výskyt vláknité řasy *Xanthonema solidum*, izolované ze vzorků z lokalit 3 a 4. Na obou těchto lokalitách byl tento druh ve zvýšené míře nalezen ve vzorcích s vyšší půdní vlhkostí. V nejsušších vzorcích se naopak tato řasa vůbec nevyskytovala. S první osou je také pozitivně korelován druh *Pseudococcomyxa simplex*. Tento druh však byl izolován i ze vzorků s malou půdní vlhkostí a jeho pozice na diagramu je velmi ovlivněna jeho výskytem v posledním odběru, kdy byla na všech lokalitách naměřena zvýšená vlhkost vzduchu. Ostatní druhy sinic a řas v pozitivní či negativní pozici vůči první ose představují vzácně (většinou pouze jednou) nalázané druhy a jejich výpovědní hodnota je proto velmi malá.

### 6.2.3 Diskuse

Z pravidelně prováděných měření je patrné, že teplota a vlhkost vzduchu měla během roku ve ventarolech a kontrolních lokalitách odlišný průběh. Ač je ventarol 2 výrazně menší, hodnoty těchto parametrů byly v obou ventarolech totožné. Vlhkost půdy je oproti tomu pro každou lokalitu charakteristická, největší hodnoty byly naměřeny v půdě ventarolu 2. To bylo pravděpodobně zapříčiněno slabou vrstvou hrabanky, zadržující půdní vlhkost. Je zajímavé, že ač se všechny studované lokality nacházejí na stejném podloží, hodnoty pH půdy ventarol a kontrolních lokalit se výrazně liší. Geologický podklad Borče tvoří znělec, který má kyselou reakci. To odpovídá hodnotám pH, naměřeným na kontrolních lokalitách. Půda ventarol však byla oproti okolí výrazně zásaditější. Toto zvýšení pH je tedy bezesporu spojeno s projevy ventarol, především v době zimních exhalací (viz Obr. 27). Je otázkou, jaká vlastnost ventarol tento efekt způsobuje (více viz kap. 6.3.3).

Ventaroly se v porovnání s kontrolními lokalitami prokázaly jako výrazně druhově bohatší. Ve dvou ventarolových lokalitách bylo v jediném vzorku nalezeno přes 50 druhů sinic a řas. Druhovou rozmanitost lze ilustrovat porovnáním s nejbohatším vzorkem z kontrolních lokalit, ve kterém bylo nalezeno pouze 12 různých druhů. Zatímco druhové složení obou kontrolních lokalit bylo velmi podobné, ventaroly se od sebe odlišovaly jak co do výskytu specifických druhů, tak do celkového počtu nalezených druhů. To ilustruje analýza RDA, která signifikantně rozdělila oba ventaroly od ostatních lokalit (Obr. 28). Nejvíce specifických druhů, nevyskytujících se na žádné jiné lokalitě, bylo nalezeno ve ventarolu 1, který také dominoval co do počtu druhů. Těchto druhů bylo celkem 40, zejména ze skupin Chrysophyceae, Cyanobacteria a Zygnemaphyceae. Ve ventarolu 2 bylo nalezeno pouze 8 druhů, v kontrolních lokalitách 2 druhy. Tento zřetelný rozdíl mezi oběma ventaroly je velice pravděpodobně způsoben jejich odlišnou velikostí a patrně také větší zastíněností ventarolu 2.



Další výsledky prokázaly rozdíl v druhovém složení půdních vzorků v porovnání s aerofytickými mikrobioty (Tab. 7). Rozdíl ve druhovém složení vzorků odebraných z povrchu kamene a ze stélek mechů nebyl prokázán. Tyto výsledky podporují zavedené rozdělení aero-terestrických řas na dvě hlavní skupiny půdních a terestrických řas (ETTL & GÄRTNER 1995). Odlišnost těchto dvou skupin je částečně patrná i na výsledném ordinačním diagramu PCA analýzy, kde půdní vzorky některých lokalit vytvářely víceméně oddělené shluky (Obr. 25). RDA analýza prokázala velmi pozitivní vztah k tomuto prostředí u 3 druhů řas a sinice *Nostoc edaphicum* (Obr. 29). Tento druh rodu *Nostoc* je považován za jednu z typických půdních sinic, jejíž prokazatelný vztah k tomuto prostředí tudíž nepřekvapuje. Velmi zajímavý je však rozdíl mezi penátními a centrickými rozsivkami. Zatímco většina penátních rozsivek (typicky *Neidium alpinum* či *Mayamaea atomus*) byla častěji nalézána v půdních vzorcích, centrické rozsivky se většinou v půdě vůbec nevyskytovaly. Druhy *Orthoseira dendroteres* a *O. roeseana* byly na ordinačním diagramu RDA analýzy výrazně negativně korelovány s půdním prostředím. Druhy rodu *Orthoseira* představují typické zástupce aerofytických řas (KRAMER & LANGE-BERTALOT 1991a), o upřednostňování půdního prostředí penátními rozsivkami však žádný záznam v literatuře nebyl nalezen.

Ve velkém ventarolu byl rovněž prokázán vliv zimních exhalací teplého a vlhkého vzduchu na některé druhy řas. Především to byl pozitivní vliv na eustigmatofytní řasu *Eustigmatos polyphem* a na některé druhy krásivek. Krásivky jsou známé svou preferencí vlhkého prostředí, aerofyticky se nejčastěji nacházejí na povrchu vlhkých kamenů či kapavých skal (WILLIAMSON 2000). Na Borči tedy jejich výskyt zajisté ovlivňuje zvýšená vlhkost prostředí v zimním období, která je s exhalacemi pozitivně korelována (viz Obr. 27). U zástupců třídy Eustigmatophyceae tato závislost není známa a jednotlivé druhy jsou považovány za typické obyvatele různých typů půd (ETTL & GÄRTNER 1995). Přesto byly během této studie všechny druhy této třídy nalezeny pouze v zimním období ve ventarolech (další dva zástupci, *Eustigmatos magnus* a *Vischeria stellata* byly nalezeny ve ventarolu B5 v rámci jednorázového průzkumu ventarol). Proto lze předpokládat jejich afinitu ke zvýšené vlhkosti prostředí. Jelikož byl však tento druh nalezen pouze na ventarolové lokalitě 1, vztah jeho výskytu k vyšší vlhkosti půdy nebyl při analýze všech lokalit prokázán. Vliv vlhkosti však výrazně ovlivňoval výskyt druhů vláknité řasy *Xanthonema* (Obr. 31), přičemž nejmarkantnější byla tato závislost u druhu *X. solidum*. Na Borči byly druhy rodu *Xanthonema* nejpočetnější ve ventarolu 2, kde byla ve všech vzorcích naměřena nejvyšší půdní vlhkost (Obr. 21). Ve větším ventarolu 1 byl pouze sporadicky nacházen druh *X. montanum*, se stejnou frekvencí jako u kontrolních lokalit s podobnou vlhkostí půdy. Druhy rodu *Xanthonema* všeobecně preferují chladné a vlhké prostředí, mnoho zástupců bylo popsáno z vlhkých půdy Alp či Antarktidy (VISCHER 1954, BROADY 1976). Tato studie však ukazuje, že některé druhy jsou schopné existence i v relativně teplém prostředí ventarol s dostatkem půdní vlhkosti.

Velice překvapivá je neprůkaznost vlivu pH na floristické složení vzorků. Mnoho studií poukazuje na rozdílné preference sinic a některých skupin řas (přehled viz METTING 1981). Zatímco sinice dávají přednost alkalickému prostředí, zelené řasy a různobrvky preferují spíše kyselé půdy (LUND 1962). Tomuto rozdělení by na první pohled odpovídala i velká početnost druhů sinic ve ventarolových lokalitách, charakteristických vyššími hodnotami pH. Rozdíly v diverzitě se však vyskytovaly i na úrovni ventarol - ve ventarolu 1 bylo nalezeno mnohem více druhů sinic. Průměrná hodnota pH obou ventarol však byla téměř totožná (viz Obr. 22). Proto je různý výskyt sinic způsoben spíše celkovými charakteristikami lokalit než hodnotami pH. Ilustrovat to lze na analýze vlivu pH půdy bez a s použitím kovariát, představujícími lokality. Bez těchto kovariát je výsledek testu signifikantní. To, že však test ve skutečnosti poukazuje na průkazné rozdíly způsobené charakteristikami lokalit, se dozvíme, použijeme-li hodnoty lokalit jako kovariáty (viz Tab. 10). V rámci lokalit tedy pH půdy nemělo signifikantní vliv na druhové složení vzorků. V ordinačním diagramu

\*\*\*\* Summary of Monte Carlo test \*\*\*\*

-- bez použití kovariát --

Test of significance of all canonical axes : Trace = 0.096  
F-ratio = 2.767  
P-value = 0.0020

-- s použitím kovariát --

Test of significance of all canonical axes : Trace = 0.046  
F-ratio = 1.480  
P-value = 0.1898

**Tab. 10** – Výsledky testu vlivu pH půdy na floristické složení vzorků bez a s použitím rozdílů mezi lokalitami jako kovariát.

na Obr. 27 je také zřetelná výrazná korelace pH půdy se zimními exhalacemi a tudíž i s rozdílem mezi ventaroly a kontrolními lokalitami. I když je variabilita vysvětlená pomocí pH půdy poměrně velká, ještě větší procento variability se podařilo postihnout pomocí zimních exhalací. Protože je ale pH půdy s touto proměnnou úzce korelované, nemohu již tuto variabilitu zmiňovanou proměnnou vysvětlit.

## 6.3 Jednorázový průzkum ventarol Českého Středohoří

### 6.3.1 Výsledky měření

Hodnoty fyzikálně chemických parametrů, naměřených v únoru a březnu 2003 v celkem 9 ventarolových lokalitách, jsou uvedeny v Tab. 11 (podrobné charakteristiky všech lokalit jsou uvedeny v kapitole 3). Z uvedených dat je zřejmý značný rozdíl v teplotě a vlhkosti vzduchu jednotlivých lokalit. Nejvíce byla ventarolová aktivita patrná na Borči a Kótě 490, kde naměřené teploty přesahovaly 10 °C (na všech lokalitách se v době odběru

Ventarola	Teplota vzduchu	Vlhkost vzduchu	Vlhkost půdy	pH půdy
Boreč 1	11,3	100%	49%	4,73
Boreč 2	11,4	100%	71%	5,23
Boreč 5	11,1	100%	46%	6,05
Kamenec 1	8,6	68%	58%	3,96
Kamenec 2	3,2	61%	-	-
Kamenec 3	2,1	77%	-	-
Kolný 1	3,2	72%	-	-
Kolný 2	4,3	78%	-	-
Kóta 490	10,1	79%	60%	3,93
Plešivec 1	5,1	93%	-	-
Plešivec 2	2,8	100%	-	-

**Tab. 11** – Hodnoty fyzikálněchemických parametrů ve sledovaných ventarolových lokalitách. Po srovnání jsou uvedena i data naměřená na pravidelně sledovaných ventarolech Boreč 1 a 2.

teplota v okolí ventarol pohybovala v rozmezí několika stupňů pod bodem mrazu). Ač byla na Borči zvýšená teplota doprovázena 100% vlhkostí vzduchu, na Kótě 490 byla naměřena pouze 79% vzdušná vlhkost. Přesto byla ventarola na Kótě 490 nejvíce podobná ventarolám na Borči jak velikostí, tak viditelnými řasovými nárosty na stěnách ventaroly. Ostatní ventaroly byly mnohem menších velikostí, bez náznaků jarních exhalací, s nižšími naměřenými teplotami a většinou i s menší vzdušnou vlhkostí (s výjimkou ventarol na Plešivci, kde byla v obou ventarolech naměřena více než 90% vlhkost vzduchu). Hodnoty vlhkosti a pH půdy nebyly v důsledku absence půdního profilu naměřeny u všech ventarol. pH půdy však bylo zřetelně vyšší u ventarol na Borči. Zatímco hodnota půdního pH se ve ventarolech na Kamenci a Kótě 490 shodně pohybovala mírně pod 4, v borečské ventarole B5 bylo naměřeno pH 6,05.

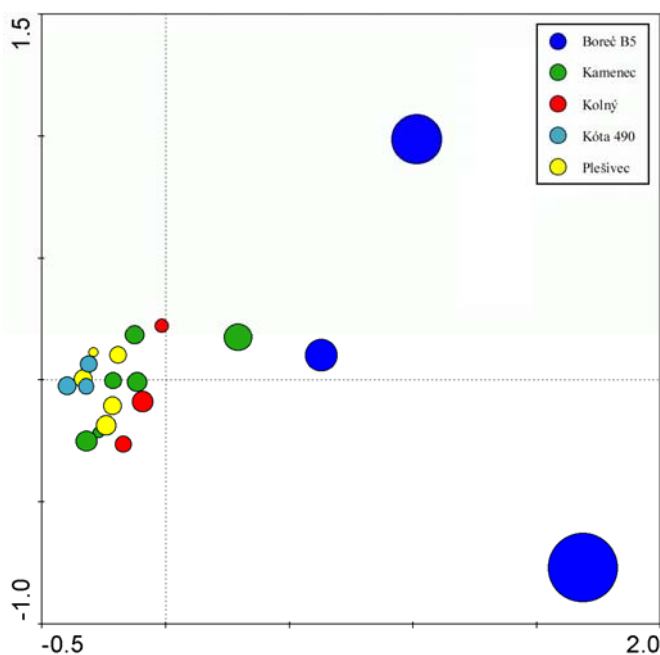
### 6.3.2 Výsledky statistických analýz

#### 6.3.2.1 Vnitřní struktura dat

Vnitřní struktura dat, floristická příbuznost jednotlivých ventarol, byla zkoumána pomocí nepřímé gradientové analýzy PCA. Výsledek této analýzy je shrnut v Tab. 12:

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.267	0.098	0.087	0.080	1.000
Cumulative percentage variance of species data	26.7	36.5	45.2	53.2	
Sum of all eigenvalues					1.000

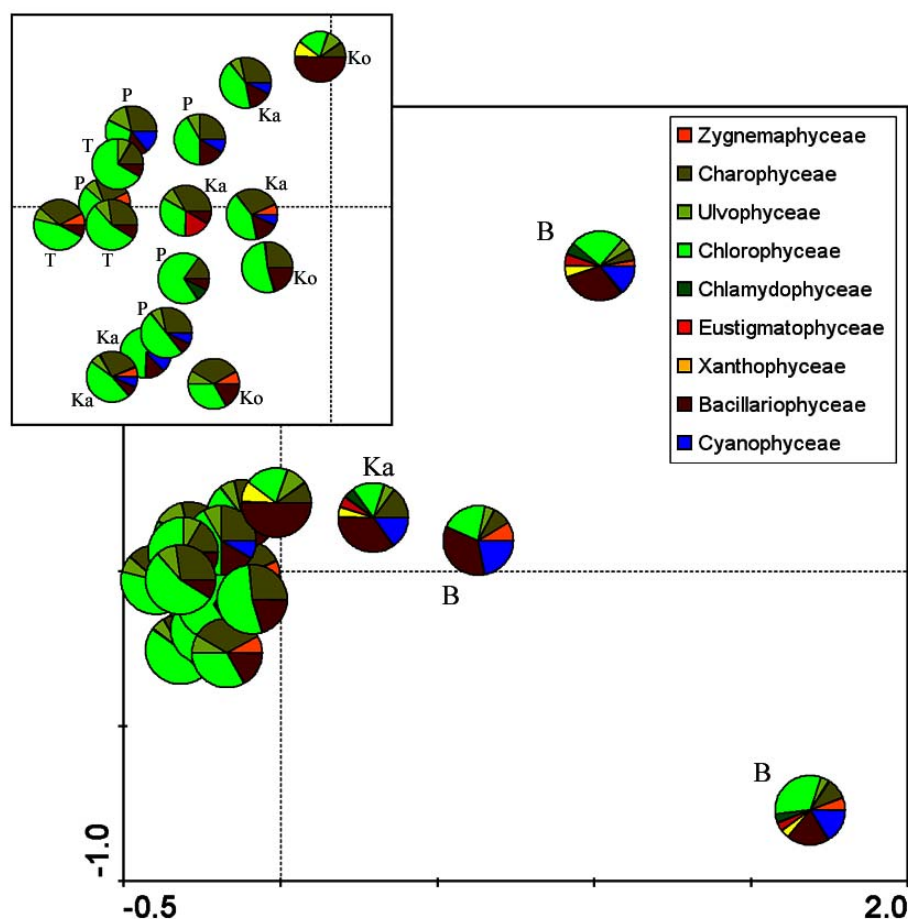
Tab. 12 – Výsledek PCA analýzy floristického složení 9 ventarolových lokalit.



Obr. 32 – Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici odběrů v prostoru prvních dvou os. Různá velikost kruhů značí počet nalezených druhů v daném odběru.

První osa vysvětlila 26,7 % celkové variability datového souboru, ostatní osy pokryly již menší procento variability. Obr. 32 ilustruje pozici jednotlivých odběrů (odděleny jsou i odběry z několika mikrobiotopů v rámci jednoho ventarolu) v prostoru prvních dvou ordinačních os. Na diagramu jsou rovněž znázorněny rozdíly v druhové bohatosti jednotlivých odběrů. Z ordinačního diagramu je patrné rozdělení jednotlivých ventarolových oblastí podél první ordinační osy. Nejvíce se od ostatních lokalit oddělily odběry z borečské ventaroly B5, nacházející se v pravé části

diagramu. V levé části diagramu je již oddělení jednotlivých lokalit méně zřetelné, odběry z ventarol na Kolném či na Kótě 490 však tvoří v rámci první osy poměrně dobře vymezené skupiny. Přestože si byly ventaroly na Borči a na Kótě 490 celkovým vzezřením velmi podobné, ordinační diagram poukazuje na jejich velice odlišné floristické složení. V pravé části ordinačního diagramu na Obr. 32 je zřetelná pozitivní korelace druhového bohatství snímků s první ordinační osou (podobně jako na Obr. 24), v levé části diagramu se však některé druhově chudé snímky nacházejí mezi druhově bohatšími. První osa je tedy pravděpodobně spojena ještě s dalším, blíže nedefinovaným faktorem prostředí. Na rozdělení snímků v ordinačním diagramu má vliv i poměrné zastoupení skupin řas v jednotlivých odběrech, jak je patrné na Obr. 33. Čtyři snímky v pravé části diagramu (všechny odběry z ventarolu B5 na Borči a odběr stélky mechu na lokalitě Kamenec 2) se od ostatních odlišují jak velkou pestrostí nalezených řas co do příslušnosti k jednotlivým řasovým skupinám, tak velkým počtem nalezených sinic a relativně malým výskytem řas ze skupiny Chlorophyceae. V levé části diagramu se naopak vyskytují vzorky (např. všechny odběry z ventarolové lokality Kóta 490 u Třebušína), ve kterých dominovaly zelené řasy tříd Chlorophyceae a Charophyceae.



**Obr. 33** – Poměrné zastoupení jednotlivých skupin sinic a řas v odběrech z 5 ventarolových oblastí Českého Středohoří. B – Boreč, Ka – Kamenec, Ko – Kolný, P – Plešivec, T – Kóta 490 u Třebušína.

## 6.3.2.2 Srovnání podobnosti algoflóry ventarolových lokalit

Cílem jednorázového průzkumu algoflóry ventarol 5 oblastí Českého Středohoří bylo především porovnání řasových společenstev různých ventarol a zjištění vlivu geografické vzdálenosti ventarol na floristickou podobnost řasového složení. Podobnost ventarolových lokalit byla zkoumána pomocí shlukové analýzy (cluster analysis), pro testování vlivu vzájemné vzdálenosti ventarol na druhové složení vzorků byl použit Mantelův test.

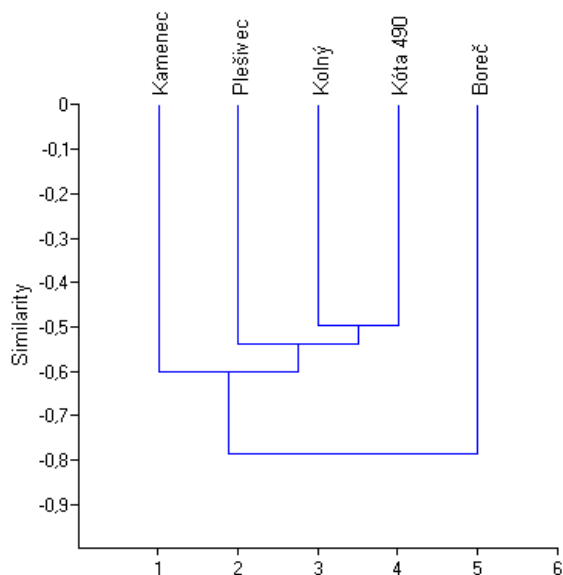
Matice vzájemné vzdálenosti pěti ventarolových oblastí Českého Středohoří, jakož i hodnoty indexů floristické podobnosti pro každou

	Boreč	Kamenec	Kolný	Kóta 490	Plešivec
Boreč	0	66,2	71	39,7	18
Kamenec	0,4	0	15,3	27,5	48
Kolný	0,2	0,3	0	31,6	63,1
Kóta 490	0,3	0,5	0,3	0	21,7
Plešivec	0,3	0,4	0,2	0,5	0

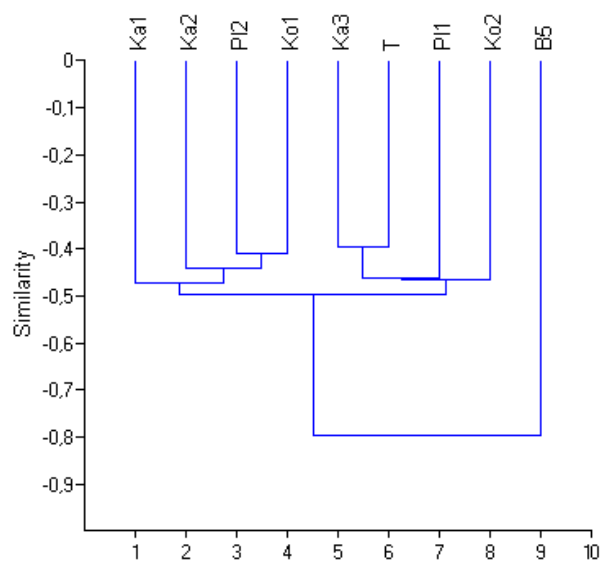
dvojici lokalit jsou uvedeny v Tab. 13. Nejvzdálenějšími lokalitami byly Boreč a Kolný (71 km), nejbliže si

byly lokality Kolný a Kamenec, vzdálené navzájem 15,3 km. Indexy floristické podobnosti se pohybovaly od 0,2 (nejméně si podobné lokality) do 0,5 (polovina nalezených druhů se vyskytovala i v druhé lokalitě). Výsledek Mantelova testu, hodnotícího vliv vzdálenosti ventarol na jejich floristické složení, byl neprůkazný ( $p$  hodnota = 0,41). Geografická vzdálenost ventarol tedy neovlivňuje jejich floristickou příbuznost.

**Tab. 13** – Vstupní matice pro Mantelův test. Vzdálenost jednotlivých ventarolových oblastí v km je uvedena v pravé horní části tabulky, indexy floristické podobnosti jsou uvedeny vlevo dole.



**Obr. 34** – Shluková analýza pěti ventarolových oblastí Českého Středohoří.



**Obr. 35** – Shluková analýza všech jednorázově studovaných ventarol Českého Středohoří. Použité kódv lokalit - viz kapitola 3.3.

Výsledek shlukové analýzy ventarolových oblastí poukazuje na odlišnost ventarol na Borči, které byly odděleny od všech ostatních (Obr. 34). Na druhém místě se od ostatních oblastí oddělily ventaroly na Kamenci. Floristicky nejvíce si podobné byly oblasti Kolný a Kóta 490.

Zajímavý výsledek byl získán shlukovou analýzou, nesrovnávající floristickou příbuznost ventarolových oblastí, ale příbuznost všech jednotlivých ventarol (Obr. 35). Oproti předpokladům nedošlo k vytvoření shluků ventarol stejných oblastí. Stejně jako u předchozí analýzy došlo k výraznému oddělení borečského ventarolu B5 od ostatních lokalit, které se dále segregovaly do dvou stejně velkých shluků. Tyto shluky ale obsahovaly ventaroly geograficky si velmi vzdálených oblastí. Pomocí shlukové analýzy došlo k oddělení jak ventarol jižního a severního svahu Kamence, tak i obou ventarol na Plešivci či na Kolném, vzdálených od sebe pouze několik desítek metrů. Uvedená analýza potvrzuje výsledek Mantelova testu, který prokázal nezávislost podobnosti druhového složení dvou ventarol na jejich geografické vzdálenosti. Je ale velmi zajímavé, že tato nezávislost se projevuje již při několikametrových vzdálenostech.

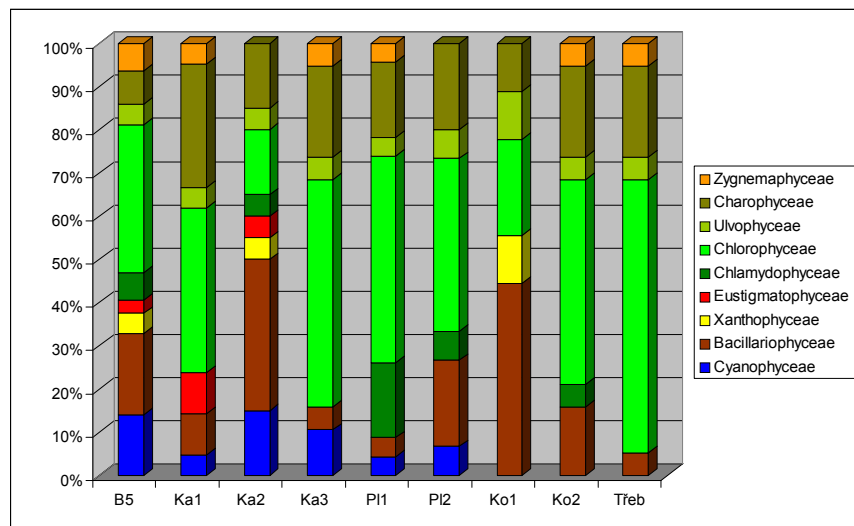
### 6.3.3 Diskuse

Z výše uvedených výsledků je velice zřetelná odlišnost ventarol na Borči od všech ostatních studovaných oblastí s výskytem zimních exhalací. Borečské ventaroly se od ostatních odlišují nejen svou velikostí (i když uměle zvětšenou), ale také velkou aktivitou v podobě mohutných zimních exhalací teplého a vlhkého vzduchu. Tento rozdíl je nejvíce patrný v pozdních zimních měsících. V únoru a na začátku března byla ventarolová aktivita na Borči stále velice zřetelná, v ostatních studovaných ventarolech Českého Středohoří však byla velmi slabá či většinou nezřetelná. Na Borči byly naměřeny největší rozdíly v teplotách mezi vnitřní částí ventarol a okolím, po několik měsíců se zde také udržovala 100% vlhkost vzduchu. Nejzajímavější jsou ale bezesporu vyšší hodnoty pH půdního výluhu ve všech borečských ventarolách v porovnání jak s bezprostředním okolím ventarol, tak s ventaroly na Kamenci a Kótě 490. Ačkoliv mají tyto tři ventarolové oblasti různý geologický podklad, pH půdy kontrolních lokalit na Borči a ventarol na Kamenci a Kótě 490 se shodně pohybovalo kolem 4. U borečských ventarol se však hodnoty půdního pH pohybovaly okolo 5,5; ve ventarole B5 bylo dokonce naměřeno pH 6,05. pH půdy ventarol na Borči tedy není ovlivněno geologickým podložím, ale zřejmě zcela jiným faktorem. Tím by například mohla být zvýšená biologická aktivita sinic a řas ve ventarolách, kde jsou vzhledem k teplotě a vlhkosti optimálnější podmínky k růstu řas. Zvýšení půdního pH by tedy mohla mít za následek vyšší fotosyntetická aktivita sinic a řas, rostoucích ve ventarolách. Je ale s podivem, že toto zvýšené pH bylo zaznamenáno pouze ve ventarolách na Borči, kdežto v ostatních ventarolách k tomuto efektu nedocházelo. Je možné, že tento rozdíl souvisí s mnohem větší aktivitou borečských ventarol, kde se vytvářejí dobré podmínky k masivnímu rozvoji sinic a řas, které ve velkém počtu již mohou ovlivnit chemismus svého bezprostředního okolí.

Ventaroly na Borči se také vyznačovaly vysokou druhovou pestrostí. Oproti ostatním lokalitám byl na Borči nalezen relativně velký počet druhů sinic a procentuální zastoupení zelených řas nebylo tak velké, jako na ostatních lokalitách. Ačkoli se Boreč zřetelně odlišuje od všech ostatních oblastí, co

do floristického složení jsou borečským ventarolám nejvíce podobné ventaroly na Kamenci (Obr. 34). Obě oblasti jsou druhově nejbohatší, na obou lokalitách byly nalezeny organismy ze všech 9 skupin sinic a řas. Lokality jsou si podobné i poměrným zastoupením těchto skupin (Obr. 17). V kontrastu s floristickou blízkostí obou lokalit je však jejich rozdílnost co do celkové charakteristiky ventarol. Zatímco ventaroly na Borči jsou velké, velmi aktivní, s výskytem na zalesněném vrcholku kopce, ventaroly na Kamenci jsou malé, s nízkou aktivitou zimních exhalací, situované v horní partii otevřeného suťového pole. Mnohé ventaroly na Kamenci mají pouze podobu malého okrsku suti s roztátou sněhovou pokrývkou, indikující slabé exhalace teplého vzduchu. Zcela opačné výsledky nabízí srovnání ventarol na Borči a na Kótě 490 u Třebušína. Lokalita na Kótě 490 je borečským ventarolám velmi podobná (velká skalní puklina na částečně zalesněném svahu, s poměrně silnou zimní aktivitou), floristickým složením se však od nich velmi liší. Na Kótě 490 nebyl nalezen jediný druh sinice, naopak ve velmi hojném počtu se zde vyskytovaly kapsální zelené řasy, tvořící viditelné slizovité nárosty na stěnách ventaroly.

Velké rozdíly ve floristickém složení byly zaznamenány i mezi ventaroly stejné lokality, vzdálené od sebe pouhých několik desítek metrů. Ačkoli lokalita Ka2 byla celkovým počtem nalezených druhů sinic a řas či jejich poměrným zastoupením v jednotlivých skupinách sinic a řas podobná borečským ventarolám, floristické složení obou



**Obr. 36** – Poměrné zastoupení jednotlivých skupin sinic a řas v jednotlivých ventarolech pěti vybraných lokalit Českého Středoohoří.

ostatních ventarol na Kamenci bylo velmi odlišné (Obr. 36). Ačkoli jsou ventaroly velmi stálými a specifickými mikrobiotopy, shluková analýza (Obr. 35) poukázala na to, že vzdálenost několika desítek metrů již představuje dostatečnou bariéru pro vznik velmi odlišné algoflóry uvnitř blízkých ventarol. Rozdíly ve floristickém složení ventarol jsou pak pravděpodobně dány odlišnými abiotickými podmínkami, specifickými pro každou ventarolu.

## 6.4 Závěr

V rámci aero-terestrických biotopů představují ventaroly unikátní stanoviště s velmi specifickými fyzikálně-chemickými parametry. V zimních měsících, v období exhalací teplého vzduchu, ventaroly představují stanoviště se zcela odlišnými charakteristikami prostředí. Teplota zde nikdy neklesá pod bod mrazu, ve větších ventarolech dochází k dlouhodobému udržení 100% vlhkosti vzduchu. Na Borči byl rovněž jako důsledek ventarolových vývěrů zaznamenán trvalý vzestup půdního pH, pravděpodobně způsobený vysokou fotosyntetickou aktivitou půdních řas. Ačkoliv má pH obecně velký vliv na floristické složení půdních vzorků, rozdíly v druhovém složení studovaných lokalit byly zejména ovlivněny ventarolovou aktivitou, zatímco vliv pH nebyl prokázán.

Stálá teplota a zvýšená vlhkost vzduchu spolu s absencí cévnatých rostlin (a tudíž malé zastíněnosti) umožnily vznik bohatého společenstva sinic a řas uvnitř ventarol. V porovnání s okolím byl počet druhů sinic a řas nalezených ve ventarolech téměř trojnásobný. Ventarolová činnost také vyvolávala cyklické změny ve výskytu či početnosti některých druhů. V období zimních exhalací byl u některých řas zaznamenán výrazný nárůst jejich koncentrace (např. masový rozvoj rozsivky *Orthoseira dendroteres*, tvořící dominantu zimních odběrů), některé druhy (např. *Fottea* sp.) byly pravidelně nacházeny pouze v tomto období. Tento efekt byl nejmarkantnější u vzorků stélek mechů. Důsledkem kondenzace vodních par a několikaměsíčního období 100% vlhkosti vzduchu se ve stélkách mechů přechodně vytvářelo vodní prostředí, ve kterém se krátkodobě objevovaly i typické sladkovodní řasy. Období bez exhalací tyto řasy pravděpodobně přežívaly ve formě cyst či trvalých stádií, což připomíná životní cyklus řas obývajících pravidelně vysychavé vodní biotopy.

Každá ventarola představuje floristicky unikátní lokalitu v rámci celých sut'ových polí. Podobnost floristického složení ventarol či celých ventarolových oblastí není prokazatelně závislá na jejich geografické vzdálenosti. Druhové bohatství ventarol závisí zejména na rozličných abiotických podmínkách, zejména však na síle a délce trvání zimních exhalací. Ty jsou v porovnání s ostatními oblastmi Českého Středohoří největší ve ventarolech na vrcholku Borče. Tyto ventaroly tak představují z algologického hlediska ekologicky nejcejnější a floristicky nejbohatší ventarolovou lokalitu Českého Středohoří.



## 7 Taxonomická část

### 7.1 Úvod

Tato část diplomové práce je věnována taxonomicky zajímavým či problematickým skupinám řas, které byly podrobeny detailnější taxonomické studii. První část kapitoly pojednává o problematickém rozlišení dvou velice podobných druhů vláknité zelené řasy *Klebsormidium*, které patří mezi nejhojněji se vyskytující řasy aero-terestrických biotopů. Cílem první části je, na základě studia několika desítek izolovaných kmenů, postihnout rozdíly v morfologii a životním cyklu těchto dvou druhů. Druhá část kapitoly se zabývá několika druhy rodu *Dictyochloropsis*, pro které je charakteristická velice složitá struktura síťovitého chloroplastu. Pro studium chloroplastu byla použita metoda konfokální mikroskopie, která umožňuje získání mnoha informací o jeho struktuře. Cílem této části je detailní studium morfologie a ontogeneze složitého chloroplastu, přestavba a změna tvaru před i během dělení buněk a studium mezidruhových rozdílů v jeho morfologii.

### 7.2 Taxonomická studie dvou druhů rodu *Klebsormidium*

#### 7.2.1 Úvod

Rod *Klebsormidium* zahrnuje významné zástupce zelených řas, hrající důležitou roli ve všech typech terestrických ekosystémů. Druhy tohoto rodu mohou vystupovat jako primární kolonizátoři spálenišť, mnohdy tvoří makroskopické nárosty na kmenech stromů či na povrchu kamenů a půdy. Zástupci tohoto rodu jsou také často izolováni ze vzduchu, z krust, tvořících se na povrchu pouští i ze zmrzlého sněhu (LOKHORST 1996).

Druhy *Klebsormidium nitens* a *K. flaccidum* patří mezi nejčastěji nacházené druhy tohoto rodu, jakož i mezi běžné zástupce aero-terestrických řas. Oba druhy byly popsány již v polovině 19. století (KÜTZING 1849) jako zástupci rodu *Ulothrix* sekce *Hormidium*, zahrnujícím terestricky žijící nevětvené vláknité zelené řasy. RABENHORST (1863) poté povýšil sekci *Hormidium* na samostatný rod, do kterého přesunul oba druhy. Na konci 19. století se oběma druhy pečlivě zabýval KLEBS (1896), který poprvé pozoroval dvoubičíkaté zoospory a nově definoval rod *Hormidium*. Jasně také definoval morfologické rozdíly mezi druhy. *H. nitens* charakterizoval úzkými vlákny se šířkou 5,5-7 µm a nesmáčivým charakterem vláken. Druh *H. flaccidum* naopak odlišil šířkou vláken 6,5-8 µm a rozměry prázdných zoosporangií, majících vždy stejnou délku a šířku.

KLEBSOVO pojetí druhů poté přetrvávalo ve většině určovacích klíčů a publikací, různé bylo pouze systematické zařazení druhu *H. nitens* (CHODAT (1902) či FAROOQUI (1969) považovali *H. nitens* za varietu druhu *H. flaccidum*). Při studiu kmene *H. nitens* uloženého v řasové sbírce

Univerzity Karlovy upravila FAROOQUI (1969) charakteristiku tohoto taxonu změnou rozsahu šířky vláken na 5-5,6  $\mu\text{m}$ .

Roku 1960 upozornil FOTT na existenci dříve popsaného rodu *Hormidium* LINDLEY (1840) u tropických orchidejí a navrhl nové rodové jméno *Chlorhormidium*, kam přesunul všechny zástupce zrušeného rodu. SILVA, MATTOX & BLACKWELL (1972) ale na základě chyby při popisu rodu zrušili platnost i tohoto rodového jména a vytvořili nový rod *Klebsormidium*, založený na KLEBSOVĚ charakteristice.

Rodu *Klebsormidium* se dále velmi podrobně věnoval LOKHORST (1996). Ve své studii považuje *K. nitens* a *K. flaccidum* za dva samostatné druhy, odlišující se šířkou a celkovou délkou vláken, tvarem zoosporangií a klíčením zoospor. Přesto je však dosud taxonomické určení některých izolovaných kmenů vyskytujících se na pomezí těchto dvou druhů velmi problematické.

## 7.2.2 Přehled studovaných kmenů

Ke studiu bylo použito celkem 40 kmenů řas, odpovídajících popisu a charakteristice druhů *Klebsormidium flaccidum* a *K. nitens*. Kmeny byly izolovány ze vzorků, odebraných z různých lokalit ČR (s výjimkou kmene K 39, získaného z území Maďarska). Největší počet kmenů byl získán z pravidelně studovaných ventarolových či kontrolních lokalit na vrcholku Borče, v Českém Středohoří. Do studie ale byly rovněž zahrnuty kmeny izolované na území Prahy, středních Čech, Šumavy, Krkonoš či Českosaského Švýcarska. 2 studované kmeny byly získány z řasové sbírky Univerzity Karlovy (CAUP). Seznam všech studovaných kmenů je uveden v Tab. 14.

## 7.2.3 Výsledky

### 7.2.3.1 Celková morfologie a životní cyklus

Mikroskopický vzhled vláken je u všech kmenů velmi podobný. Vlákna jsou jednořadá, nevětvená, bez morfologicky odlišených buněk. U některých kmenů dochází k tvorbě slizovitých terčíků, tvořících se v pravidelných intervalech okolo několika buněk (Obr. XXV.f). Tyto terčíky slouží k uchycení vlákna k podkladu. Během stárnutí dochází ke zřetelným změnám charakteru vláken. U mladých populací jsou vlákna rovná a dlouhá (Obr. XXVI.a), během stárnutí se však začínají ohýbat či rozpadat (Obr. XXVI.d).

Během životního cyklu dochází rovněž k morfologickým změnám jednotlivých buněk. Buňky mladých vláken jsou cylindrické, při stárnutí buněk se u některých druhů vlivem stlačení buněčných přepážek tento tvar mění na soudečkovitý (Obr. XXV.b). Buňky jsou zpravidla delší než širší, poměr délky a šířky se ale během životního cyklu řasy výrazně mění. Šířka buněk se pohybuje v rozmezí 4,5-8  $\mu\text{m}$ , jejich délka mezi 4-29  $\mu\text{m}$ . Buňky obsahují jeden parietální chloroplast, obalující 40-70,

výjimečně až 80 % obvodu buněk. Každý chloroplast obsahuje 1-2, vzácněji až 3 pyrenoidy, obklopené zřetelnou vrstvou škrobových zrn. Se vzrůstajícím věkem dochází ke zvětšování velikosti zrn až do fáze, kdy je těmito zrny pokryt celý pyrenoid. Poté jsou zásobní látky ukládány i mimo chloroplast. Okraj chloroplastu je většinou rovný, u starších populací některých kmenů však dochází k nápadnému zvlnění okraje chloroplastu.

Kód	Lokalita	Místo odběru	Mikrobiotop	Poznámka
K 1	České Sředohoří, Boreč	ventarola č. 1	kámen	
K 2	České Sředohoří, Boreč	ventarola č. 1	kámen	
K 3	České Sředohoří, Boreč	ventarola č. 1	kámen	
K 4	České Sředohoří, Boreč	ventarola č. 1	půda	
K 5	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 6	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	mech	
K 7	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 8	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 9	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 4	mech	
K 10	Praha 5	kašna, nám. 14. října	voda	
K 11	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	půda	
K 13	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 14	České Sředohoří, Boreč	ventarola č. 2	mech	
K 16	Šumava, Vltavský luh	odběrová oblast C	hladina vody	kmen poskytl Lenka Šejnohová
K 18	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 19	Střední Čechy	Koleč	seno	kmen poskytl Magda Řezáčová
K 20	Střední Čechy	Milská stráň	půda	kmen získán ze sbírky CAUP
K 21	Adršpach	-	skála	kmen získán ze sbírky CAUP
K 22	Českosaské Švýcarsko	Rašel. nad Dolským mlýnem	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 25	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	kámen	
K 26	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 4	kámen	
K 28	Krkonoše	lokalita 6B	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 29	Krkonoše	lokalita 5B	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 30	Krkonoše	lokalita 6M	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 31	Šumava	NP Frauenthal	půda	
K 32	Krkonoše	lokalita P7	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 33	Krkonoše	lokalita P5	voda	kmen poskytl Sylvie Nováková
K 35	Střední Čechy	Drahanské údolí	skála	
K 36	Střední Čechy	Drahanské údolí	skála	
K 38	Střední Čechy	Klecany	skála	
K 39	Maďarsko, Budapešť	Sv. Gellert	skála	
K 40	České Sředohoří, Boreč	odběrové místo č. 3	mech	
K 41	Praha 2	Kateřinská ulice	zídka	
K 42	České Sředohoří, Boreč	SV suťové pole	kámen	
K 43	Šumava	Vltavský luh	voda	kmen poskytl Lenka Šejnohová
K 44	Krkonoše	lokalita P7	voda	
K 46	Střední Čechy	Drahanské údolí	půda	
K 47	Střední Čechy	Drahanské údolí	skála	
K 48	Střední Čechy	Drahanské údolí	půda	
K 49	Šumava	Vltavský luh	voda	kmen poskytl Lenka Šejnohová

Tab. 14. Seznam studovaných kmenů rodu *Klebsormidium* s popisem jejich naleziště.

Izolované kmeny se většinou nepohlavně rozmnožují pomocí desintegrace vláken na jednotlivé několikabuněčné fragmenty, které se začínají tvořit na konci vlákna (Obr. XXV.c). Méně častěji dochází k tvorbě dvoubičíkatých zoospor či aplanospor. Zoospory mají dorsiventrální stavbu s plochou ventrální a zakulacenou dorzální stranou (Obr. XXVI.e). Bičíky jsou umístěny asymetricky v subapikální části. Stigma nebylo pozorováno. K tvorbě zoospor dochází v nespecializovaných buňkách vlákna. Po vyrejdění zoospor je u některých druhů otvor v buněčné stěně prázdného zoosporangia jasně rozpoznatelný, u jiných je velmi nezřetelný. Zoospory klíčí dvojím způsobem. Při unipolárním klíčení dochází k přichycení zoospor pomocí slizovitého terčíku apikálním koncem buňky, zatímco na posteriorním konci se začíná tvořit mladé vlákno. Při bipolárním klíčení se slizovitý terčík formuje laterálně a vlákno se vytváří na obou koncích přisedlé zoospory. Aplanospory většinou klíčí přímo v aplanosporangiu, kolmo na původní osu vlákna, což připomíná vznik postranního větvení. Pohlavní rozmnožování pozorováno nebylo.

### 7.2.3.2 Variabilita morfologie buněk během životního cyklu

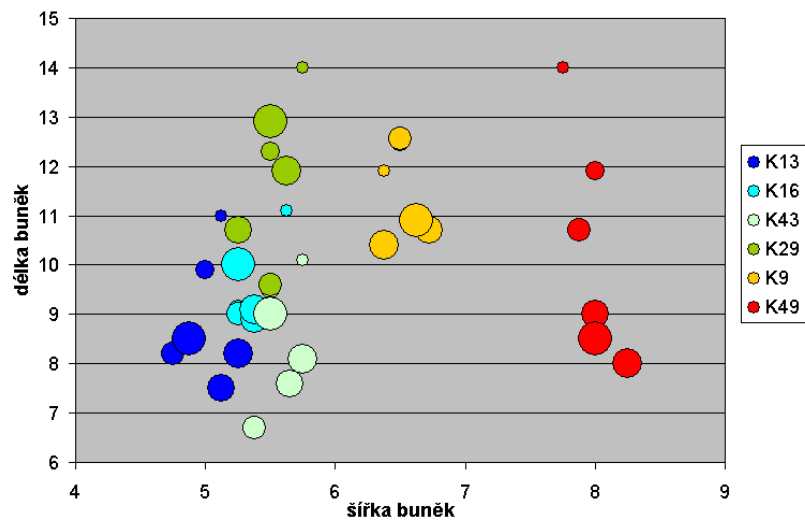
U šesti náhodně vybraných kmenů byla pozorována změna rozměrů a morfologie buněk během stárnutí populace. Jednodruhové kultury byly naočkovány na agarové plotny a jejich charakteristika byla sledována každý týden po dobu 1 měsíce (viz kapitola 4.5.1). Při každém pozorování byla zaznamenána průměrná délka a šířka buněk, jejich tvar a počet buněk na vlákno. Studovanými kmeny řas byly K 9, K 13, K 16, K 29, K43 a K 49. Výsledky studia jsou shrnuty v Tab. 15.

		1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden
<b>K9</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	14	12,3	9,6	10,7	11,9	12,9
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	6,38	6,5	6,5	6,73	6,38	6,63
	Počet buněk na vlákno	5-18	7-80	1-42	1-26	1-14	1-6
<b>K13</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	11	9,9	8,2	7,5	8,2	8,5
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	5,13	5	4,75	5,13	5,25	4,88
	Počet buněk na vlákno	6-16(-30)	17-110	2-600	2-320	1-500	1-350
<b>K16</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	11,1	9,1	9	8,9	9,1	10
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	5,63	5,25	5,25	5,38	5,38	5,25
	Počet buněk na vlákno	8-22	25-220	2-350	1-60	1-7	1-5
<b>K29</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	11,9	12,5	12,55	10,7	10,4	10,9
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	5,75	5,5	5,5	5,25	5,63	5,5
	Počet buněk na vlákno	5-50	2-50	1-50	1-16	1-20	1-18
<b>K43</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	10,1	9,5	6,7	7,6	8,1	9
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	5,75	5,5	5,38	5,65	5,75	5,5
	Počet buněk na vlákno	1-90	2-70	1-20	1-10	1-5	1-4
<b>K49</b>	Průměr délky buněk ( $\mu\text{m}$ )	14	11,9	10,7	9	8	8,5
	Průměr šířky buněk ( $\mu\text{m}$ )	7,75	8	7,88	8	8,25	8
	Počet buněk na vlákno	20-500	přes 1000	přes 1000	přes 1000	přes 1000	přes 1000

Tab. 15. Variabilita morfologických charakterů buněk izolovaných 6 kmenů během 6 týdnů studia.

U všech studovaných kmenů byl pozorován výrazný rozdíl ve variabilitě šířky a délky buněk. Zatímco průměrná šířka kolísala v řádu pouhých několika desetin  $\mu\text{m}$ , týdenní rozdíl v průměrné délce buněk často činil více než 1  $\mu\text{m}$ .

Tento efekt je dobře patrný na Obr. 37, znázorňujícím vývoj poměru šířky a délky během stárnutí populace. Narozdíl od šířky buněk, která u všech kmenů osciluje kolem jedné hodnoty, mění se délka buněk je na grafu patrná jako velká variabilita podél svislé osy. U kmene K 49 bylo také zaznamenáno velmi zřetelné zkracování buněk během stárnutí populace.



**Obr. 37** – Variabilita průměrné šířky a délky 6 studovaných kmenů během stárnutí populace. Stárnutí populace je znázorněno zvětšujícím se průměrem kružnic.

Změny v průměrné délce buněk jednotlivých kmenů v závislosti na stárnutí populace jsou znázorněny na Obr. 38. Hodnoty průměrných délek buněk se odlišovaly jak mezi izolovanými kmeny, tak i v rámci jediné populace během stárnutí buněk. Ačkoliv byly rozdíly mezi jednotlivými kmeny znatelné, vliv stárnutí se u všech kmenů projevoval totožně. V prvních týdnech docházelo k výraznému zkr-



**Obr. 38** – Změna průměrné délky buněk 6 studovaných kmenů během stárnutí populace.

cování buněk, pravděpodobně vlivem jejich intenzivního dělení. V určitém období však došlo ke zvratu a buňky se začaly prodlužovat. Tento jev byl u všech studovaných kmenů stejný, izoláty se však lišily načasováním tohoto období. U kmenů K 9 a K 43 se nejkratší buňky tvořily ve 3. týdnu, u kmene K 13 ve 4. týdnu a u kmene K 49 došlo k zastavení zkracování buněk až v 5. týdnu po kultivaci (viz Obr. 38).

Průběh změn v délce buněk byl v zajímavé souvislosti s vývojem délky vláken. U mladých kultur docházelo k rychlému nárůstu počtu buněk na vlákno. V dospělosti se však vlákna začala rozpadat

na jednotlivé fragmenty. V 6. týdnu po naočkování již v kulturách převažovaly několikabuněčné fragmenty s jasnými příznaky stárnutí buněk (velká škrobová zrna okolo pyrenoidu, hromadění zásobních látek v cytoplasmě, rozpad chloroplastu či tvorba abnormálních buněk). Počátek desintegrace vláken se u většiny studovaných kmenů přesně shodoval s obdobím, kdy byla v populaci naměřena nejmenší průměrná délka buněk (viz Tab. 15).

### 7.2.3.3 Vliv fyzikálně-chemických parametrů na morfologii buněk

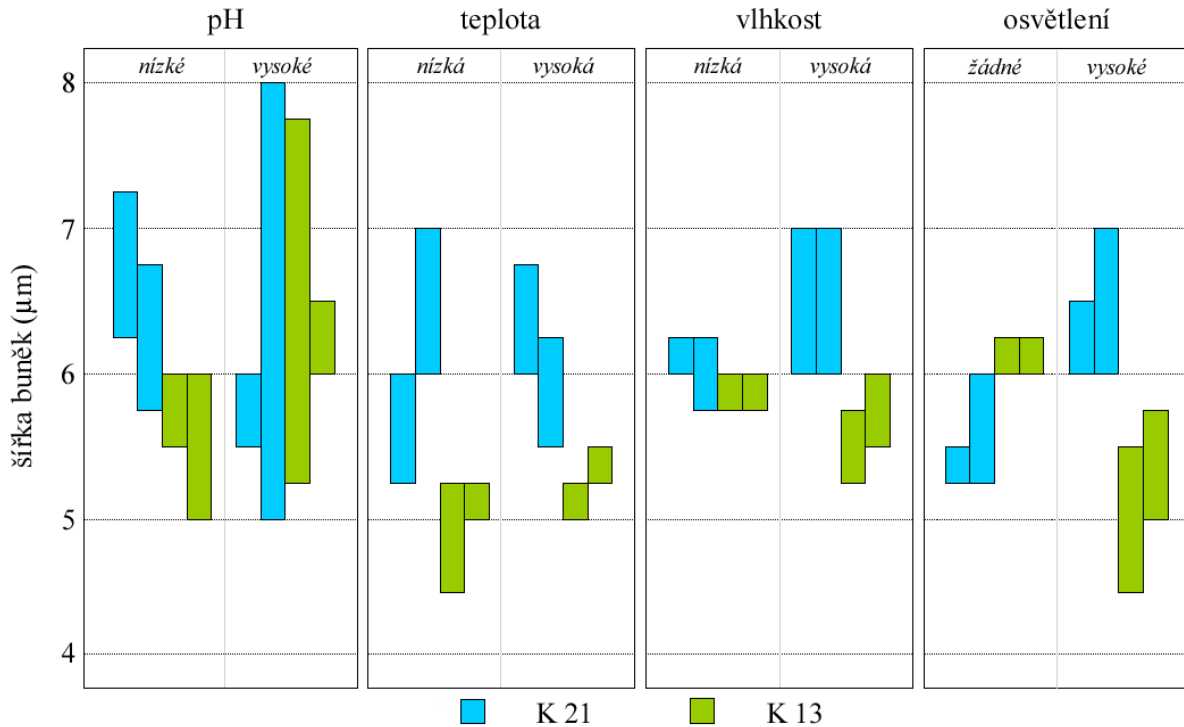
Vliv fyzikálně-chemických parametrů (pH, teplota, vlhkost a osvětlení) na rozměry buněk byl pozorován u dvou vybraných kmenů, jejichž morfologie se přesně shodovala s popisem a charakteristikou druhů *K. flaccidum* (kmen K 21) a *K. nitens* (kmen K 13). Kmeny se od sebe při normálních kultivačních podmínkách lišily zejména šířkou buněk. Hlavním cílem experimentu proto bylo zjistit, zda je tento hlavní rozlišující charakter ovlivnitelný extrémními hodnotami sledovaných parametrů. Kmeny byly vystaveny 8 odlišným hodnotám fyzikálně-chemických parametrů a po uplynutí doby 4 měsíců byl ve studované populaci zaznamenán rozsah rozměrů buněk. Pokus byl vždy prováděn ve dvou paralelních sadách (viz kapitola 4.5.2). Výsledky experimentu jsou uvedeny v Tab. 16.

Kmen	Podmínky		Šířka buněk (μm)		Délka buněk (μm)		Převážná délka buněk (μm)	
K21	pH	nízké	6,25-7,25	5,75-6,75	5-14	6-20	9	10
		vysoké	5,5-6	5-8(-9)	5-22	5-17	12	12
	teplota	nízká	5,25-6	6-7	5-18	5-17	9	8
		vysoká	6-6,75	5,5-6,25	5-15	5-18	8	15
	vlhkost	nízká	5,9-6,25	5,75-6,25	5-15	6-15	10	9
		vysoká	6-7	6-7	3,5-14	5-15	10	11
	osvětlení	žádné	5,25-5,5	5,25-6	7-16	6-15	11	10
		vysoké	6-6,5	6-7	7-19	6-15	10	10
K13	pH	nízké	5,5-6	5-6	5-10	7-18	8	11
		vysoké	5,25-5,75(-8)	6-6,5	6-19	7-11	10	8
	teplota	nízká	4,5-5,25	5-5,25	5,5-17	5-12	10	7
		vysoká	5-5,25	5,25-5,5	5-10	5-13	7	8
	vlhkost	nízká	5,75-6	5,75-6	6-15	4-16	8	9
		vysoká	5,25-5,8	5,5-6	5-13	5-10	8	6
	osvětlení	žádné	6-6,25	6-6,25	5-13	7-17	10	11
		vysoké	4,5-5,5	5-5,75	5-15	6-15	9	8

**Tab. 16.** Hodnoty šířky a délky buněk dvou studovaných kmenů, rostoucích v odlišných podmínkách prostředí. V tabulce jsou uvedeny hodnoty obou paralelních měření.

Rozdíly mezi jednotlivými populacemi, rostoucími v různých podmínkách prostředí, byly zaznamenány jak v délce, tak šířce buněk. Narozdíl od délky je však šířka buněk považována za jeden ze spolehlivých interspecifických znaků, a tudíž by neměla výrazně podléhat změnám fyzikálně-chemických parametrů. Za laboratorních podmínek (nižší teplota, střední vlhkost, denní osvětlení) se

šířka buněk u kmene K 21 (*K. flaccidum*) pohybovala v rozmezí 6-7  $\mu\text{m}$ , zatímco u kmene K 13 (*K. nitens*) se pohybovala v rozsahu 4,5-5  $\mu\text{m}$ . Buňky kmene K 21 byly tedy výrazně širší. Tento výrazný rozdíl v šířce buněk však nebyl nalezen u všech experimentálně studovaných populací, jak je znázorněno na Obr. 39.



**Obr. 39.** Vliv 4 fyzikálně-chemických parametrů na šířku buněk kmenů K 21 a K 13. V diagramu jsou uvedeny hodnoty obou paralelních měření.

Při nízkých hodnotách pH bylo pozorováno mírné ztloustnutí buněk kmene K 13, zatímco rozměry kmene K 21 zůstaly neměnné. Vysoké pH mělo obecně za následek zvětšení rozsahu šířky buněk v populaci obou studovaných kmenů, což znemožnilo odlišení kmenů. Obě populace byly za vysokého pH také ve velmi špatném stavu, vyznačujícím se velkým podílem odumřelých buněk, tvorbou abnormalit či rozpadem chloroplastu.

Nízké ani vysoké teploty neměly velký vliv na změnu šířky buněk, v obou experimentálních podmínkách byly buňky populace K 21 výrazně širší, než buňky populace K 13. Změna rozměrů buněk však byla zaznamenána u kmenů vystavených velké či naopak velmi nízké vlhkosti prostředí. U vysoké vlhkosti byl pozorován stejný efekt jako při nízkých hodnotách pH – mírné ztloustnutí buněk kmene K 13. V případě velmi nízké půdní vlhkosti však oba studované kmeny vykazovaly shodně šířku buněk okolo 6  $\mu\text{m}$ . Rozměry i morfologie buněk obou populací byly totožné.

Posledním testovaným parametrem byl vliv osvětlení na změnu šířky buněk. Při vysokém přímém osvětlení se rozměry buněk shodovaly se stavem před provedením experimentu – buňky kmene K 21 byly ve srovnání s kmenem K 13 výrazně širší. Odlišná situace však byla pozorována u kmenů, rostoucích ve stálé tmě. Přestože byl za tmy růst obou kmenů velmi pomalý, nalezená vlákna byla ve velmi dobrém stavu, bez znaků stárnutí či degenerace. Výrazně se však změnila šířka buněk obou

populací. Buňky kmene K 21 se ztenčily, zatímco u kmene K 13 došlo k výraznému ztlouštění buněk. Buňky kmene K 13 tak šířkou dokonce předčily buňky, vyskytující se v populaci kmene K 21.

#### 7.2.3.4 Charakteristika zoosporangií a klíčení zoospor

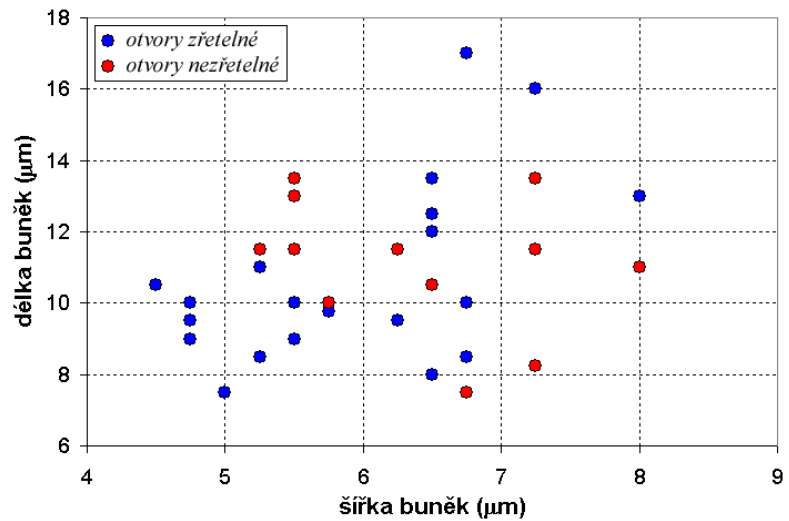
Z celkového počtu 40 izolovaných kmenů byla u 34 izolátů úspěšně vyvolána produkce zoospor, která umožnila studium struktur prázdných buněčných stěn zoosporangií a průběh klíčení zoospor. U šesti izolovaných kmenů se ani po opakovaných pokusech indukce zoospor nezdařila. Výsledky studia jsou uvedeny v Tab. 17 zároveň s údaji o rozměrech buněk.

Kmen	Šířka buněk (μm)	Délka buněk (μm)	Okraj otvoru v BS	Klíčení zoospor
K 1	5(-6)	5-10	zřetelný	unipolární
K 2	(4,5-)5-6	5-15(-17)	zřetelný	unipolární
K 3	6,5-8	5,5-11	nezřetelný	unipolární
K 4	5-6	6-12	zřetelný	unipolární, bipolární
K 5	4,5(-5)	7-14(-18)	zřetelný	unipolární
K 6	6-6,5(-6,8)	5-14	zřetelný	unipolární, bipolární
K 7	4,5-6	5-17(-20)	zřetelný	unipolární
K 8	4,5-5	4-14	zřetelný	unipolární
K 9	6-6,5	5-18	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 11	6-6,5(-7)	5-14	zřetelný	unipolární
K 13	4,5-5	5-15(-20)	zřetelný	unipolární
K 14	5,5-6	5-15	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 16	5-5,5	5-12	zřetelný	unipolární
K 18	4,5-5	5-14	zřetelný	unipolární
K 19	6-7	5-20(-26)	zřetelný	unipolární, bipolární
K 20	6-7,5	5-15	zřetelný	unipolární
K 22	5-6	8-18	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 26	6-7	7-20	zřetelný	unipolární
K 28	5-6	5-18	nezřetelný	unipolární
K 31	5-5,5	5-18	nezřetelný	unipolární
K 32	5-6	6-20	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 33	5-6	7-20	nezřetelný	unipolární
K 35	6,5-8	7-25	zřetelný	unipolární
K 36	6,5-7	(4-)5-29	zřetelný	unipolární
K 39	6-7	4-12	zřetelný	unipolární
K 40	7-7,5	8-15	nezřetelný	unipolární
K 41	6-7	3-18	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 42	6-7(-8)	5-19	zřetelný	unipolární
K 43	5,5-6	4,5-15	zřetelný	unipolární
K 44	6,5-7	4-11	nezřetelný	unipolární
K 46	8	6-20	zřetelný	unipolární
K 47	6,5-7	4-13	zřetelný	unipolární
K 48	7-7,5	7-20	nezřetelný	unipolární, bipolární
K 49	8	6-16	nezřetelný	unipolární, bipolární

Tab. 17. Rozměry buněk a údaje o struktuře buněčné stěny prázdných zoosporangií a klíčení zoospor u 36 studovaných kmenů.



Po vyrejdění zoospor zůstává v buněčné stěně zoosporangia otvor, pomocí kterého zoospora opouští prostor buňky. U všech studovaných kmenů byla pozorována dvojí struktura těchto otvorů. U většiny kmenů byly otvory velmi zřetelné, s jasným okrajem (Obr. XI.g; XXVI.c). U ostatních studovaných kmenů byl naopak otvor velmi nezřetelný, rozpoznatelný pouze při bočním pohledu (Obr. XI.c; XXV.e). Struktura otvorů rozdělila studované kmeny do dvou skupin, tyto skupiny však nekorespondují s žádnými ostat-



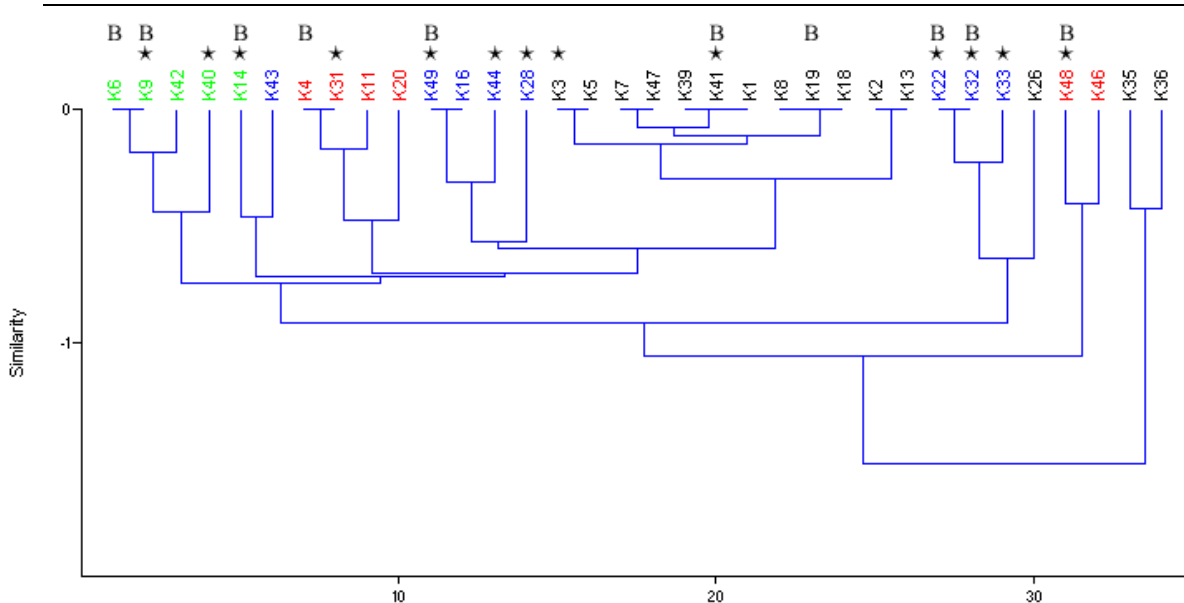
**Obr. 40** – Vztah průměrné šířky a délky buněk u 36 studovaných kmenů. Barevně jsou rozlišeny kmeny s odlišnou charakteristikou otvorů v buněčné stěně prázdných zoosporangií.

ními znaky, jako je například průměrná šířka či délka buněk, jak je znázorněno na Obr. 40.

Po přisednutí zoospor na podklad byl pozorován dvojí typ klíčení. U všech studovaných kmenů byl zaznamenán unipolární typ klíčení, při kterém se vlákno začalo tvořit na posteriorním konci zoospory. Slizovitý terčík, sloužící k přichycení k podkladu, se tvořil na apikálním konci zoospory (Obr. XI.h-i; XXVI.f). U kmene K 43 byl pozorován specifický unipolární typ klíčení, při kterém byl sliz vylučován po celém povrchu buňky (Obr. XI.j). U 10 kmenů byl zaznamenán také bipolární typ klíčení, kdy se slizovitý terčík formoval laterálně a vlákno se vytvářelo na obou koncích přisedlé zoospory (Obr. XI.d-e; XXV.g). U všech kmenů bylo bipolární klíčení vždy doprovázeno unipolárním klíčením jiných zoospor v populaci. Typ klíčení tedy nebyl pozorován jako specifický znak studovaného kmene. U klíčení zoospor nebyla nalezena souvislost jak s rozměry buněk jednotlivých kmenů, tak ani s charakterem otvorů buněčné stěny zoosporangií (u sedmi kmenů s bipolárním klíčením byly otvory nezřetelné, u třech kmenů zřetelné).

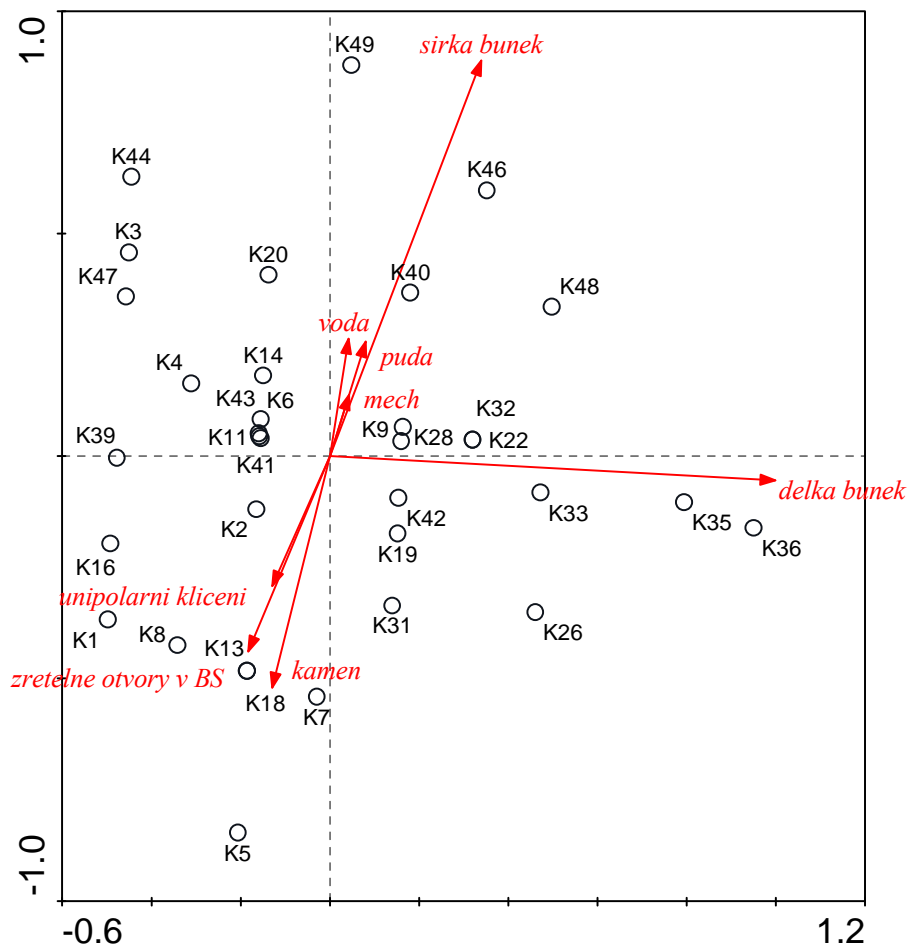
### 7.2.3.5 Výsledky statistických analýz

Při shlukové analýze 34 izolovaných kmenů nedošlo k vytvoření žádných výrazných skupin (Obr. 41). Výsledkem analýzy bylo pouze oddělení menších skupin izolovaných kmenů, jejichž společnou charakteristikou byl většinou stejný mikrobiotop výskytu. Nejvíce se od ostatních odlišovaly kmeny K 36 a K 35 izolované z povrchu skály v Dražanském údolí. Populace těchto kmenů se vyznačovaly velmi podobnou morfologií a charakteristickou velkou délkou buněk. Kmeny se zřetelným otvorem v buněčné stěně prázdného zoosporangia i kmeny s bipolárním klíčením zoospor se vyskytovaly napříč celým diagramem, bez tvorby specifických shluků.



**Obr. 41.** Shluková analýza studovaných kmenů rodu *Klebsormidium*. Barevně jsou odlišeny mikrobioty nálezů kmenů (černá – kámen, zelená – mech, červená – půda, modrá – voda). ★ – kmeny s nezřetelným okrajem otvorů v buněčných stěnách zoosporangií, B – kmeny s bipolárním klíčením zoospor.

Podobné výsledky přinesla i analýza hlavních komponent (PCA). Největší vliv na rozdělení kmenů v prostoru prvních dvou kanonických os měla průměrná délka a šířka buněk. Menší vliv pak byl přisouzen struktuře otvorů v buněčných stěnách zoosporangií či typu klíčení zoospor. Rozdělení kmenů v ordinačním prostoru bylo rovnoměrné, bez tvorby shluků (Obr. 42).



**Obr. 42.** Ordinační diagram PCA, znázorňující pozici 36 izolovaných kmenů rodu *Klebsormidium* v prostoru prvních dvou os, spolu s charakteristikami kmenů jako nezávislými proměnnými.

Na ordinačním diagramu je patrné rozdělení kmenů, rostoucích na povrchu kamenů či skal. Ty se odlišují od všech ostatních kmenů, izolovaných i z tak rozdílných mikrobiotopů, jako je půda a vodní prostředí. Rovněž je z diagramu zjevná souvislost mezi unipolárním klíčením zoospor a tvorbou zřetelných otvorů v buněčné stěně zoosporangií. Přesto však na ordinačním diagramu nelze pozorovat vytvoření žádné oddělené skupiny kmenů, pro kterou by byl výskyt jedné z uvedených proměnných charakteristický.

Pomocí diskriminační analýzy byla testována hypotéza, zda je možné pomocí charakteru otvorů v buněčných stěnách zoosporangií či typem klíčení zoospor odlišit všech 36 izolovaných kmenů na dvě odlišné skupiny. Tyto skupiny by v případě pozitivního výsledku testu mohly představovat dva různé druhy. Každý kmen byl v analýze charakterizován průměrnou délkou a šířkou buněk, charakterem otvorů v buněčné stěně zoosporangia, typem klíčení zoospor a mikrobiotopem, ze kterého byl daný kmen izolován. V případě testování charakteru otvorů byla výsledná p-hodnota rovna 0,055; p-hodnota testu klíčení zoospor byla 0,36. Ke statisticky významnému odlišení skupin tedy v obou případech nedošlo.

#### 7.2.4 Diskuse

*Klebsormidium nitens* a *K. flaccidum* představují dva morfologicky velmi podobné druhy. Někteří autoři (CHODAT 1902; FAROOQUI 1969; STARMACH 1972) proto v minulosti považovali *K. nitens* pouze za varietu druhu *K. flaccidum*. Pro odlišení těchto dvou druhů či variet autoři uváděli velké množství morfologických znaků. Nejčastěji byly tyto taxony rozlišovány pomocí rozměrů buněk, zejména jejich šířkou (KÜTZING 1849; KLEBS 1896; FAROOQUI 1969; LOKHORST 1996). KLEBS (1896) rovněž charakterizoval *K. nitens* tvorbou nesmáčivých vláken a *K. flaccidum* čtvercovitým tvarem zoosporangií. Ettl & GÄRTNER (1995) oba druhy rozlišovali pomocí tvaru pyrenoidu, zatímco LOKHORST (1996) tyto druhy charakterizoval odlišnou stavbou otvorů v buněčné stěně zoosporangia a typem klíčení zoospor. Během studia 40 izolovaných kmenů se však všechny výše uvedené znaky k jasnému oddělení obou druhů prokázaly jako nedostatečné.

Délka buněk byla velmi proměnlivá během životního cyklu, v závislosti na stáří a rychlosti růstu populace. U mladých kultur docházelo k rychlému dělení buněk, jejich délka se tudíž zkracovala. V dospělosti se vlákna začínala rozpadat na jednotlivé fragmenty, přičemž docházelo k výraznému zvětšování délky buněk. Začátek desintegrace vláken, a tedy i rychlost životního cyklu, byl pro každý kmen specifický i přes shodné podmínky kultivace.

Šířka buněk se naopak během stáří populace měnila jen minimálně, její variabilita v celé populaci byla navíc velmi malá. Šířka buněk však byla ovlivnitelná vnějšími podmínkami prostředí, především intenzitou osvětlení a vlhkostí. Buňky rostoucí za obvyklých kultivačních podmínek (dostatek světla i vlhkosti) se velmi lišily od buněk stejného kmene, rostoucího za tmy a za sucha. Jejich šířka se lišila až o 1  $\mu\text{m}$ .

LOKHORST (1996) poukázal na vysokou taxonomickou hodnotu charakteru otvorů v buněčné stěně prázdných zoosporangí. U studovaných kmenů byla pozorována dvojitá struktura těchto otvorů. U většiny kmenů byly otvory velmi zřetelné, s jasným okrajem, u ostatních kmenů byl naopak otvor velmi nezřetelný. Shluková ani diskriminační analýza však neprokázala význam této charakteristiky pro rozdělení kmenů. Zajímavý je však vyšší výskyt nezřetelných otvorů u kmenů izolovaných z vodního prostředí. Dalším znakem, který LOKHORST použil pro rozrůznění druhů, byl typ klíčení zoospor. Tento znak je však pravděpodobně velmi málo významný. U všech studovaných kmenů byl zaznamenán unipolární typ klíčení. Bipolární klíčení bylo pozorováno jen zřídka, navíc vždy spolu s klíčením unipolárním. Podobně jako u předchozího znaku, shluková ani diskriminační analýza poukázala na nemožnost odlišení studovaných kmenů pomocí typu klíčení zoospor.

KLEBS (1896) definoval druh *K. nitens* tvorbou nesmáčivých vláken. Stejnou charakteristiku uvedla ve své studii FAROOQUI (1969). Tvorbu nesmáčivých vláken na povrchu vodní blanky jsem však pozoroval u všech studovaných kmenů. LOKHORST (1996) ve své studii charakterizoval druhy *K. nitens* i *K. flaccidum* tvorbou krátkých vláken, o maximální délce 300 buněk. U kmene K 49 však byla pozorována i mnohem delší vlákna, o délce několika centimetrů (s více než 1000 buňkami na vlákno). Rovněž nebyl pozorován výrazný rozdíl mezi populacemi ve tvaru pyrenoidu, jak uvádí ETTL & GÄRTNER (1995).

Studované kmeny se od sebe lišily jak buněčnými rozměry, tak i charakterem zoosporangí či typem klíčení zoospor. Vzhledem k velké variabilitě většiny znaků během životního cyklu či v závislosti na vnějších podmínkách prostředí však tyto rozdíly nelze brát jako druhové specifické. Shluková analýza ani analýza hlavních komponent neprokázala přítomnost oddělených skupin kmenů, představujících jednotlivé druhy. Proto lze předpokládat, že všechny izolované kmeny představují pouze jediný morfologicky velmi variabilní druh. Tuto vysokou variabilitu lze ilustrovat na příkladu kmene K 49, který se od ostatních kmenů odlišoval nejen velkou šířkou buněk (okolo 8  $\mu\text{m}$ ), ale především tvorbou dlouhých vláken. Morfologie tohoto kmene je z velké části shodná s charakteristikou druhů *K. nitens* či *K. flaccidum*, liší se však velkou šířkou buněk (KLEBS 1896; FAROOQUI 1969) či délkou vláken (LOKHORST 1996). Šířka buněk okolo 8  $\mu\text{m}$  je charakteristická pro druhy *K. dissectum* a *K. fluitans*. První zmíněný druh je však definován tvorbou rozpadavých vláken. *K. fluitans* sice tvoří dlouhá vlákna, od studovaného kmene se ale liší charakterem otvorů v buněčné stěně zoosporangia. Charakteristika kmene K 49 tedy neodpovídá žádnému dosud popsanému druhu. Tento fakt však nepoukazuje na nutnost popisu dalšího druhu, ale spíše na vysokou morfologickou variabilitu populací jediného druhu.

### 7.2.5 Závěr

V rámci 40 studovaných kmenů rodu *Klebsormidium* byla zaznamenána vysoká variabilita v rozměrech i morfologii buněk. Průměrná šířka buněk se pohybovala od 4,5 do 8  $\mu\text{m}$ , průměrná délka od 7,5 do 17  $\mu\text{m}$ . Kmeny se odlišovaly i různou délkou vláken, vzhledem otvorů v buněčných stěnách zoosporangií a typem klíčení zoospor. Většina znaků rovněž vykazovala určitou variabilitu uvnitř populace. Délka buněk či rozpadavost vláken byla prokazatelně závislá na stáří populace, zatímco šířka buněk byla ovlivnitelná změnou osvětlení či vlhkosti prostředí. Každý ze studovaných kmenů vykazoval vždy unikátní sestavu znaků, přesto však byly rozdíly mezi jednotlivými kmeny spíše minimální. Rozdělení kmenů podle jednoho znaku se neshodovalo s rozdělením podle kterékoli jiné charakteristiky. Všechny kmeny tudíž s největší pravděpodobností představují populace variabilního, leč pouze jediného druhu. Protože některé studované kmeny odpovídaly popisu druhu *K. nitens* a jiné naopak charakteristice druhu *K. flaccidum*, tato druhová jména považují za synonyma. Ze stejného důvodu lze za synonymní rovněž pokládat druhy *Hormidium crassum* (CHODAT 1913), *Hormidium lubricum* (CHODAT 1913), *Klebsormidium klebsii* (G.M. SMITH 1933) a *Klebsormidium subtilissimum* (MATTOX & BOLD 1962).

Je pravděpodobné, že neexistence druhových charakteristik je způsobena absencí pohlavního rozmnožování u rodu *Klebsormidium*. Tento jev zatím nebyl přes dlouholeté studium u žádného druhu pozorován (LOKHORST 1996). Jednotlivé populace proto představují nepohlavně se rozmnožující klony, které se mezi sebou více či méně odlišují v některých morfologických znacích. Nedá se však mluvit o přesně vymezených skupinách populací, reprezentujících jednotlivé druhy. Bylo by těžké tuto ideu vztahovat pro celý rod *Klebsormidium* - rozdíly mezi druhy *K. flaccidum* a *K. mucosum* jsou zřetelné ve všech fázích životního cyklu (LOKHORST 1996). U druhů s malou šířkou vláken a hladkou buněčnou stěnou je však velmi obtížné tyto rozdíly nalézt. Rozlišování těchto druhů na základě jednoho či několika velmi variabilních znaků je proto pravděpodobně umělé a neodpovídající biologické skutečnosti.

### 7.3 Konfokální mikroskopie chloroplastu zelené řasy *Dictyochloropsis*

Tato kapitola popisuje studium morfologie a ontogeneze složitě utvářeného chloroplastu tří druhů rodu *Dictyochloropsis* s využitím světelné a konfokální mikroskopie. Výsledky studie jsou shrnuty v následujícím textu, který je rukopisem článku po již proběhnutém recenzním řízení. Článek je nyní připraven k publikaci v časopisu *Phycologia*.

## Confocal microscopy of chloroplast morphology and ontogeny in three strains of *Dictyochloropsis* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)

PAVEL ŠKALOUĐ<sup>1\*</sup>, JIŘÍ NEUSTUPA<sup>1</sup>, BARBORA RADOCHOVÁ<sup>2</sup> AND LUCIE KUBÍNOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Botany, Faculty of Science, Charles University, Benátská 2, 12801, Prague 2, Czech Republic

<sup>2</sup> Department of Biomathematics, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083, 14220, Prague 4, Czech Republic

KEY WORDS: chloroplast, confocal microscopy, *Dictyochloropsis*, morphology, ontogeny.

### ABSTRACT

Chloroplast morphology and ontogeny in three species of the genus *Dictyochloropsis* – *D. splendida* var. *splendida*, *D. reticulata* and *D. symbiontica* were investigated by using light and confocal microscopy. In a conventional light microscope, the complicated net-shaped chloroplast often appeared as a homogenous mass filling up most of the cell volume, while confocal microscopy enabled a detailed description of the chloroplast changes during its ontogeny. We identified four distinct morphological stages during the chloroplast ontogeny in all investigated strains. The stages are distinguished primarily by the number of differently structured chloroplast layers and by the inner structure of chloroplast lobes. The investigated *Dictyochloropsis* strains differed mainly in timing of these particular ontogenetic sequences. In the final stage of the chloroplast ontogeny, the transformation of the net-shaped chloroplast to a simple form allows the chloroplast division.

### INTRODUCTION

The genus *Dictyochloropsis* was established by Geitler (1966), who described *D. splendida* as a type species of the genus from aero-terrestrial biotope. Later, Tschermak-Woess (1980, 1984) and Nakano & Isagi (1987) added several species isolated from subaerial biotopes and lichen thalli. At present the genus includes seven taxa: *D. splendida* Geitler var. *splendida*, *D. splendida* var. *gelatinosa* Tschermak-Woess, *D. symbiontica* Tschermak-Woess var. *symbiontica*, *D. symbiontica* var. *ellipsoidea* Tschermak-Woess, *D. symbiontica* var. *pauciautosporica* Tschermak-Woess, *D. reticulata* Tschermak-Woess and *D. irregularis* Nakano & Isagi.

The genus is characterised by single uninucleate cells and the asexual reproduction takes place by means of naked zoospores with typical separate insertion of flagella (Tschermak-Woess 1980, 1984). The individual species within the genus (Tschermak-Woess 1984, Ettl & Gärtner 1995) are distinguished mainly according to the chloroplast appearance under a conventional light microscope. *Dictyochloropsis* chloroplast has a complicated structure formed by a reticulate net, which spreads below the plasma membrane of adult cells. In some species the chloroplast lobes form multiple

\* Corresponding author ([skaloud@natur.cuni.cz](mailto:skaloud@natur.cuni.cz)), fax number: 00-420-221951645

reticulate layers in the cytoplasm allowing their morphological and taxonomic delimitation. However, in some species it is impossible to investigate the chloroplast morphology, ontogeny and interspecific differences under a conventional light microscope, due to the complicated chloroplast structure and the small size of cells.

Recently, confocal microscopy has been repeatedly applied for the investigation of chloroplast morphology and structural dynamics in higher plants (Pyke & Page 1998; Sarafis 1998; Zheng *et al.* 2002). Confocal microscopy enables to capture sharp images of thin optical sections of living tissues and cells, however, it has been only rarely used in the investigations of algal chloroplasts so far (Kreimer *et al.* 1991; Gunning & Schwartz 1999; Zakrys *et al.* 2002).

In the present paper, confocal microscopy, applied to chloroplasts in living cells of *Dictyochloropsis*, is used for a detailed description of morphological differences between particular strains and for the reconstruction of chloroplast ontogeny.

## MATERIAL AND METHODS

Three *Dictyochloropsis* strains were investigated. The strain of *Dictyochloropsis splendida* was isolated from the soil sample at the top of the Boreč hill in České Středohoří Mts., Czech Republic. The strain determined as *Dictyochloropsis reticulata* was isolated from the bark sample of unidentified tree in the secondary tropical rain forest in the Kelantan province, Malaysia. The strain *Dictyochloropsis symbiontica* was isolated from the bark sample of *Shorea* sp. in the primary tropical rain forest, Tioman Island, Malaysia. All investigated strains were deposited in the Culture Collection of Algae of Charles University in Prague (CAUP).

The strains were cultivated on agar-solidified BBM medium (Bischoff & Bold 1963) at a temperature of 25 °C, under an illumination of about 200  $\mu\text{mol photons s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  (light source: Philips TLD 18W/33, cool white). The production of zoospores was induced using several methods (Andreyeva 1998; Neustupa & Němcová 2001), including the most effective method when vegetative cells were transferred from the growing culture to distilled water under the coverslip. The chloroplast structure was regularly examined under a confocal microscope during cell ontogeny. The algal samples were investigated by a laser scanning confocal microscope Bio-Rad MRC600 equipped with an Argon-Krypton laser using the 488 nm excitation line. A Nikon 100x/1.4 N.A. oil immersion objective fitted on the Nikon Diaphot inverted fluorescent microscope was used. Series of optical sections of chloroplasts, 0.5  $\mu\text{m}$  apart, were captured and used for 3D reconstruction of their morphology. The autofluorescence of the chlorophyll was exploited for visualisation of the chloroplast structure. For the final processing of the confocal images, Confocal Assistant programme, version 4.02 (Todd Clark Brelje, University of Minnesota, USA) was used. The 3D reconstruction images were created by Amira™ 2.3 programme (Indeed - Visual Concepts GmbH, Berlin, Germany).

## RESULTS

### *Dictyochloropsis splendida* Geitler var. *splendida*

**Conventional light microscopy:** The alga had globular uninuclear cells with diameters of 7-40(-50)  $\mu\text{m}$ . The chloroplast of young cells formed a single layer of lobes below the plasma membrane (Figs 1, 2). The chloroplast of adult cells formed a complicated three-dimensional net of interconnected lobes (Figs 3-6). However, in most adult cells the chloroplast structure was not clearly visible under a conventional transmission light microscope and the chloroplasts appeared as a homogenous mass filling up the cell volume (Fig. 7). The reproduction took place by means of autospores (Figs 8, 9). Autospores were formed in autosporangia of globular shape. The autosporangium (having diameter of 45-48  $\mu\text{m}$ ) usually contained 8 - 16 autospores. No production of zoospores was observed during a long-term investigation.

**Confocal microscopy:** It was clearly seen that in young cells the chloroplast spread below the plasma membrane as a single layer with numerous perforations (Figs 10-12). During the cell ontogeny, distinct chloroplast tubular lobes were producing further into the cell lumen (Fig. 13) and consequently formed a second chloroplast layer. Successively, further chloroplast lobes spread into the cell interior and formed more layers (Figs 14, 15). In external view, perforated surface of outer chloroplast layer was visible in this stage (Figs 16, 17). In cells having diameter larger than 25  $\mu\text{m}$  and at least three established chloroplast layers a new type of lobe production appeared. At this stage new lobes arose from original lobes by their longitudinal splitting (Figs 18, 19). Contrary to original tubular lobes the new lobes were rather flat. The flat lobes further multiplied by subsequent longitudinal splitting. Finally, the whole chloroplast consisted of numerous parallel flat lobes (Fig. 20). Even the original outer chloroplast layer was modified in this later stage of chloroplast development (Fig. 21 – compare with Fig. 17, showing the structure of the same chloroplast layer in the younger cells).

Before cell division occurred, the inner structure of chloroplast lobes changed. The lobes were widening and their structure was becoming more dense in the marginal regions (i.e. lighter due to higher emission of fluorescence light) and more loosened (i.e. darker) in the central part of the cell, as detected by confocal microscopy (Figs 22, 23), indicating the grouping of thylakoids within the chloroplast lumen. At the final stage the modified lobes fused into a single chloroplast with a granular structure where the regions with and without thylakoids could be distinguished (Fig. 24). Then the compact globular chloroplast encircling the nucleus divided into two equivalent parts (Figs 25, 26). Finally, the successive division produced several compact chloroplasts (Figs 27, 28).



*Dictyochloropsis reticulata* Tschermak-Woess

**Conventional light microscopy:** The investigated strain of this alga had uninuclear globular, or rarely ellipsoidal, cells. The diameters of vegetative cells were in the range of (4.5-)6-16(-18)  $\mu\text{m}$ . In a conventional light microscope the structure of the chloroplast could not be distinguished. In young cells and some adult cells the chloroplast formed a single layer below the plasma membrane (Figs 29). In most of adult cells, distinct chloroplast lobes were visible (Figs 30-32). However, under a conventional transmission light microscope, the chloroplasts of most adult cells appeared as a granular mass filling up the cell volume (Figs 33-35). Asexual reproduction took place by means of autospores and zoospores (Fig. 36). The number of autospores per autosporangium was 8 to 16 and they had a globular shape. The diameters of the autosporangia were 14-17  $\mu\text{m}$ . The globular zoosporangia 16-23  $\mu\text{m}$  in diameter contained 16-64 naked zoospores.

**Confocal microscopy:** In young cells the chloroplast was unilayered with numerous perforations (Figs 37). At this stage, chloroplasts of *D. reticulata* could not be distinguished from those of *D. splendida*. Later on, in some adult cells the isolated chloroplast lobes expanded into the central cell lumen (Figs 38, 39). The lobes were usually formed in one part of the cell (Fig. 40). However, in most cases the lobes did not form a continuous secondary layer. In adult cells, the structure of the original chloroplast layer was slightly changing. The perforations in the chloroplast became larger and the layer below the plasma membrane formed a net of connected tubular lobes (Figs 41-43).

Before cell division, the chloroplast structure was changing considerably to form a multilayered reticulate net (Fig. 44). At this very short ontogenetic stage, the tubular lobes changed to globular ones (Fig. 45). Immediately after the multilayered net was formed, the chloroplast lobes started to join into a single thick layer (Fig. 46). Afterwards, the thylakoids within the chloroplast lumen were grouped, appearing as lighter granular parts of the chloroplast (Fig. 47) (a similar stage is shown in Fig. 25 of *D. splendida*). Before the production of autospores, the chloroplast was successively divided into several equivalent parts.

*Dictyochloropsis symbiontica* Tschermak-Woess

**Conventional light microscopy:** The alga had globular uninuclear cells with diameter of 5-21 (-26)  $\mu\text{m}$ . As in previous species, the chloroplast of young cells was unilayered with perforations (Fig. 48). In some of the young cells, the multilayered structure of the chloroplast was visible under a conventional light microscope (Figs 49, 50), however, in most cases the structure of the chloroplast could not be distinguished and the chloroplast appeared as a granular mass filling up the cell volume (Fig. 51). The reproduction took place by means of autospores (Fig. 52), aplanospores (Figs 53, 54) and zoospores (Fig. 55). The number of autospores per autosporangium was 12 to 16 and they had a globular shape. The diameters of autosporangia were 12-20  $\mu\text{m}$ . The globular zoosporangia and the

aplanosporangia contained 32-64 naked zoospores or aplanospores, respectively. The zoosporangia and aplanosporangia were 12-20  $\mu\text{m}$  in diameter.

**Confocal microscopy:** In young cells, the chloroplast exhibited layer of peripheral and interconnected tubular lobes (Figs 56). The perforations in this layer were larger than in both previously investigated strains (Figs 57-59).

During early ontogenetic stages the lobes became more dense in the marginal light regions and more loosened in the central dark regions, that indicated the grouping of thylakoids within the chloroplast lumen (Figs 60, 61), similarly as in the two previous species. At this stage, the second layer developed by the extension of individual chloroplast lobes into the cell lumen (Figs 62, 63).

Before cell division, globular lobes were formed (Fig. 64). The chloroplast lobes of the first and secondary layer fused into a single chloroplast mass with a granular structure (Fig. 65). Subsequently, the chloroplast was successively divided into a number of equivalent parts, which preceded the zoosporangial or autosporangial production (Fig. 66).

## DISCUSSION

In general, light microscopic observations of three *Dictyochloropsis* strains correspond with most of the previous investigations (Geitler 1966; Tschermak-Woess 1980, 1984; Takeshita *et al.* 1991). Dimensions and morphology of the vegetative cells in the strain determined as *Dictyochloropsis splendida* var. *splendida* correspond precisely both with Geitler's (1966) original description and the description given by Tschermak-Woess (1984). However, Tschermak-Woess (1984, 1995) did not observe the production of autospores in cultures of *D. splendida*. On the other side, in Geitler's (1966) original description of the species the frequent production of autospores is mentioned, which is in accordance with our observations. Thus, the absence of autospores in the life cycle cannot be considered as a principal discriminative character for the determination of *D. splendida* as stated by Tschermak-Woess (1984). Thus, the size of vegetative cells, which exceeds 30  $\mu\text{m}$  in diameter, seems to be the only discriminative character for the light microscopic identification of *D. splendida*.

Morphological characteristics of the investigated strain of *Dictyochloropsis reticulata* correspond with the original description (Tschermak-Woess 1984) in most points. However, Tschermak-Woess (1984) did not observe production of autospores in this species. The absence of autosporangial production was even stated as a discriminative character of *D. reticulata* in her identification key for the *Dictyochloropsis* species. However, Takeshita *et al.* (1991) observed the frequent production of autospores in *D. reticulata* isolated from the thallus of the lichen *Brigantiaea ferruginea*, which is in accordance with our findings.

The observed morphological characters of *Dictyochloropsis symbiontica* also correspond with those of the original description of this taxon in most cases. Tschermak-Woess (1980, 1984) described several varieties of *D. symbiontica* differing mainly in the dimension of vegetative cells and the

frequency of autosporangial production. The dimension of vegetative cells of our strain corresponds with those ones of *D. symbiontica* var. *pauciautosporica* Tschermak-Woess (1984). This variety was characterized by scarce production of autospores and by autosporangia with dimensions of 6 – 13 µm. However, we found autospores quite frequently in our population and the autosporangia in our strain were 12 – 20 µm in diameter. Thus, we decided not to determine our investigated population into subspecific taxa, which seem to us as somewhat confusing and which evidently encompass only a small part of the overall variability of the species.

The chloroplast morphology and ontogeny differs evidently between the three investigated species. However, chloroplast ontogeny of all strains comprises some morphologically identical stages: a single parietal layer of tubular interconnected chloroplast lobes (Figs 10, 37, 56); a two-layered chloroplast composed of a net of tubular lobes (Figs 13-16, 45, 60-61); the “granular” chloroplast stage of multilayered tubular lobes with grouped thylakoids (Figs 22-23, 60-61); the stage of homogenous chloroplast mass with granular structure (Figs 24, 47, 65). The specific differences consist mainly in the different timing of the particular stage in the chloroplast ontogeny. In *D. splendida*, the individual stages are clearly established and evenly represented during the chloroplast ontogeny, whereas in *D. reticulata* the unilayered stage predominates during the life cycle. In the latter species further modifications of the chloroplast occur just a short time before the chloroplast divides. The development of the two-layered chloroplast stage, which was not observed in this species by Tschermak-Woess (1984), takes place shortly before cell division (Fig. 45). In *D. symbiontica* the stage of the “granular” chloroplast composed of two-layered tubular lobes with grouped thylakoids predominates during the life cycle. The unilayered stage occurs only in young cells and the fused chloroplast mass with granular structure occurs in cells shortly before the cell division.

The most complicated chloroplast ontogeny occurs in *D. splendida*. In contrast to other investigated species a unique chloroplast structure develops during its ontogeny. Longitudinal division of primary chloroplast lobes produces flat lobes in all layers. Interestingly enough, these flat lobes are formed by parallel plates (Figs 20, 21). The lobes develop in such pattern in a vast majority of cells in populations of *D. splendida*. However, in some cells this stage does not occur.

Probably the most intriguing structural changes take place shortly before the cell divides. In all investigated species, the complex shape of chloroplast becomes simpler. In confocal images this process can be observed as a gradual formation of a granular region within the chloroplast (Figs 22-27). The chloroplast lobes are considerably enlarged, however, the number of traversing thylakoids remains identical with previous stages. Thylakoids, which are otherwise equally distributed in a chloroplast volume, aggregate into distinct fascicles. The dimensions of lobes are rapidly increasing and they fuse together. Subsequently, homogenous chloroplast regions with granular structure develop (Figs 22, 23). Gradually, the aggregation of these granular regions leads to a single massive homogenous chloroplast, filling up the whole cell volume (Fig. 24). This chloroplast stage has a considerably larger overall volume than previous stages with reticulated chloroplast. However, the

enlargement of chloroplast matrix was not followed by additional production of new thylakoids, but the thylakoids were only regularly arranged in the matrix. Thus, the remodelled homogenous chloroplast is eventually prepared for the division in the course of autosporogenesis (Fig. 25).

## CONCLUSION

The green algal genus *Dictyochloropsis* comprises several morphologically similar taxa. The confocal microscopy investigation revealed the existence of interspecific differences in the ontogeny of complex three-dimensional chloroplasts. The differences in *Dictyochloropsis* strains are based on a different timing of particular ontogenetic sequences rather than on the occurrence of entirely distinct and specific chloroplast structures. As the current infrageneric taxonomy of the genus and the discriminative criteria of individual species are rather vague, we assume that the features of chloroplast ontogeny could provide a useful platform for future complex combined structural/molecular taxonomic comparison involving numerous *Dictyochloropsis* isolates. As concerns our investigated strains, identifiable as three species of the genus, we can state that the observed differences in the chloroplast ontogeny can be used for their species delimitation. However, the overall morphological variability of members of the genus *Dictyochloropsis* clearly does not fit the taxonomic criteria, on which the traditional taxonomy of the genus was based. Thus, the potential species identifications should be made rather very cautiously for the time being.

As we have seen, the confocal microscopy and the subsequent 3-D reconstruction of the objects can add a useful information to our knowledge of microalgal morphology. It can be used in studies focussing on phenotypic plasticity of algal chloroplasts, for detailed investigation of chloroplast ontogeny, and, last but not least, in taxonomic studies, especially in the groups, where the chloroplast morphology is considered as one of the principle features in the taxonomic evaluation.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the FRVŠ grant No. 2826/2003, by the research project No. J13/98113100004 of the Czech Ministry of Education, by the grant No. 139/2002/B-Bio of the Grant Agency of the Charles University, and by the Academy of Sciences of the Czech Republic (Grant AVOZ No. 5011922).

## REFERENCES

- ANDREYEVA V.M. 1998. *Poczvennyye i aerophilnyye zelyonye vodorosli (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales)*. Nauka, St. Petersburg. 352 pp.

- BISCHOFF H.W. & BOLD H.C. 1963. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *Phycological Studies IV*. Univ. Texas Publ. 6318: 1-95.
- ETTL H. & GÄRTNER G. 1995. *Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen*. G. Fischer, Jena. 721 pp.
- GEITLER L. 1966. Die Chlorococcalen *Dictyochloris* und *Dictyochloropsis* nov. gen. *Österreichische botanische Zeitschrift* 133: 155-164.
- GUNNING B.E.S. & SCHWARTZ O.M. 1999. Confocal microscopy of thylakoid autofluorescence in relation to origin of grana and phylogeny in the green algae. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 695-708.
- KREIMER G., KAWAI H., MULLER D.G. & MELKONIAN M. 1991. Reflective properties of the stigma in male gametes of *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae) studied by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Phycology* 27: 268-276.
- NAKANO T. & ISAGI Y. 1987. *Dictyochloropsis irregularis* sp. nov. (Chlorococcales, Chlorophyceae) isolated from the surface of bark. *Phycologia* 26: 222-227.
- NEUSTUPA J. & NĚMCOVÁ Y. 2001. Morphological and taxonomic study of three terrestrial eustigmatophycean species. *Nova Hedwigia* 123: 373-386.
- PYKE K.A. & PAGE A.M. 1998. Plastid ontogeny during petal development in *Arabidopsis*. *Plant physiology* 116:797-803.
- SARAFIS V. 1998. Chloroplast: a structural approach. *Journal of Plant Physiology* 152: 248-264.
- TAKESHITA S., HANDA S., NAKANO T. & IWATSUKI Z. 1991. Phycobionts of *Brigantiaea ferruginea* (Lichens). *Journal of Japanese Botany* 66: 147-151.
- TSCHERMAK-WOESS E. 1980. *Chaenothecopsis consociata* – kein parasitischer oder parasymbiontischer Pilz, sondern lichenisiert mit *Dictyochloropsis symbiontica*, spec. nova. *Plant Systematics and Evolution* 136: 287-306.
- TSCHERMAK-WOESS E. 1984. Über die weite Verbreitung lichenisierter Sippen von *Dictyochloropsis* und die systematische Stellung von *Myrmecia reticulata* (Chlorophyta). *Plant Systematics and Evolution* 147: 299-322.
- ZAKRYS B., MILANOWSKI R., EMPEL J., BORSUK P., GROMADKA R. & KWIATOWSKI J. 2002. Two different species of *Euglena*, *E. geniculata* and *E. myxocylindracea* (Euglenophyceae), are virtually genetically and morphologically identical. *Journal of Phycology* 38: 1190-1199.
- ZHENG P., WETZEL C., AMMAR K., GIRARD A.M.M., RODERMEL S., THOMAS D.R., NING L., CALLIS J.B., EDWARDS G.E. & DALEY L. 2002. Test of an in vivo method to detect chloroplast division in crop plants - Part II: Verification of the phenomenon by germplasm methods and confocal microscopy. *Spectroscopy* 17: 14-18.

## 8 Literatura

- AHMADJIAN, V. & HALE, M.E.** (1973): The lichens. – Academic Press, New York, San Francisco, London. 697 pp.
- ANDERSEN, R.A.; MORTON, S.L. & SEXTON, J.P.** (1997): Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton 1997 list of strains. – J. Phycol. 33 (suppl.): 1-75.
- ANDREYEVA, V.M.** (1998): Terrestrial and aerophilic green algae (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales) – 352 pp. Nauka St. Petersburg.  
(АНДРЕЕВА, В.М.: Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). Наука Санкт-Петербург.)
- ANKERT, H.** (1917): Schnecken im winter. Nachrichtenblatt der Deutschen malakozoologischen gesellschaft, Frankfurt a. M., 49(3): 140-142.
- BEHRE, K. & SCHWABE, G.H.** (1970): Auf Surtsey, Island, im Sommer 1968 nachgewiesene nicht marine Algen. – Schr. Naturw. Ver. Schlesw.-Holst., Sonderband, 31-100.
- BELCHER, J.H.** (1969): *Prasiococcus calcarius* (Boye Petersen) Vischer in the South Sandwich Islands. – Br. phycol. J. 4(1): 119-120.
- BISCHOFF, H. & BOLD, H.C.** (1963): Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. Phycological Studies IV. – Univ. Texas Publ. 6318:1-95.
- BOROVSKÝ, F. A.** (1892): Čechy – společnou prací spisovatelův a umělců českých. – Díl VII. Středohoří. J. Otto, Praha.
- BRABEC, E.** (1971): Příspěvek k ekologii sutí Českého Středohoří. Diplomová práce. – Depon. in: Knihovna botaniky PřF UK, Benátská 2, Praha 2, 84 pp.  
– (1973): Ekologie sutí Českého Středohoří - druhé přiblížení. Kandidátská disertační práce. – Depon. in: Knihovna botaniky PřF UK, Benátská 2, Praha 2, 95 pp.
- BROADY, P.A.** (1976): Six new species of terrestrial algae from Signy Island, South Orkney Islands, Antarctica. – Br. phycol. J. 12:7-15.  
– (1979): The terrestrial algae of Signy Island, South Orkney Islands. – Br. Antarctic Survey, Sc. Rep. 98: 1-117.  
– (1982): New records of chlorophycean micro-algae cultured from Antarctic terrestrial habitats. – Nova Hedwigia 36: 445-479.
- BROADY, P.A. & INGERFELD, M.** (1993): Three new species and a new record of chaetophoracean (Chlorophyta) algae from terrestrial habitats in Antarctica. – Eur. J. Phycol. 28: 25-31.
- BROADY, P.A.; OHTANI, S. & INGERFELD, M.** (1997): A comparison of strains of *Xanthonema* (= *Heterothrix*, Trbonematales, Xanthophyceae) from Antarctica, Europe, and New Zealand. – Phycologia 36(2): 164-171.
- BRUNNTHALER, J.** (1915): Protococcales. – In: PASCHER, A. (ed.). Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz, H. 5. – pp. 55-205. Jena.
- CASTENHOLZ, R.W.** (1969): Thermophilic blue-green algae and the thermal environment. – Bacteriol. Rev. 33(4):476-504.
- ČEŘOVSKÝ, V. & HOLEC, M.** (1996): Arachnofauna sutí na svazích vrchu Kamenec. – Sborník okr. muz. v Mostě 18: 21-25.
- DRAHOŠ, L.E.** (1957): Jak jsem fotografoval borečské „fumaroly“. – Ochr. Přír. 12(2):56-57.
- EKELUND, F. & PATTERSON, D.J.** (1997): Some heterotrophic flagellates from a cultivated garden soil in Australia. – Arch. Protistenkd. 148: 461-478.
- ETTL, H.** (1956): Ein Beitrag zur Systematik der Heterokonten. – Bot. Not. 109:411-445.  
– (1978): Xanthophyceae, 1. Teil. – In: ETTL, H.; GERLOFF, J. & HEYNIG, H. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 3. – 530 pp. G. Fischer Verlag. Jena.  
– (1983): Chlorophyta I., Phytomonadina, Band 9. – In: ETTL, H.; GERLOFF, J.; HEYNIG, H. & MOLLENHAUER, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 807 pp. G. Fischer Verlag. Jena.
- ETTL, H. & GÄRTNER, G.** (1988): Chlorophyta II., Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales, Band 10. – In: ETTL, H.; GERLOFF, J.; HEYNIG, H. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 436 pp. G. Fischer Verlag. Jena.  
– (1995): Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen. – 721 pp. G. Fischer Verlag. Stuttgart.

- FAROOQUI, P.B.** (1969): A note on the genus *Chlorhormidium* FOTT (Ulotrichaceae). – Preslia 41, str. 1-7.
- FOTT, B.** (1959): Algenkunde. – 482 pp. G. Fischer, Jena.  
– (1960): Taxonomische Übertragungen und Namensänderungen unter den Algen. Preslia 32:149.
- FOTT, B. & NOVÁKOVÁ, M.** (1969): A monograph of the genus *Chlorella*. The fresh water species. – In: FOTT, B. (ed.). Studies in phycology. – 10-59. Academia. Praha.
- GARBACKI, N.; ECTOR, L.; KOSTIKOV, I. & HOFFMANN, L.** (1999): Contribution à l'étude de la flore des grottes de Belgique. – Belg. J. Bot. 132(1): 43-76.
- GEITLER, L.** (1932): Cyanophyceae. – In: Rabenhorst's Kryptogamenflora, Bd. 14/2, Akad. Verlagsges. Leipzig, 1196 pp.  
– (1966): Die Chlorococcalen *Dictyochloris* und *Dictyochloropsis* nov. gen. – Österr. bot. Z. 133:155-164.
- GENKAL, S.I.** (1992): Atlas diatomových vodorostlej planktona reki Volgi. – 127 pp. Sankt-Peterburg Gydmeteoizdat.  
(ГЕНКАЛ, С. И.: Атлас диатомовых водорослей планктона реки Волги. Санкт-Петербург).
- GRONDIN, A.E. & JOHANSEN, J.R.** (1995): Seasonal succession in a soil algal community associated with a beech-maple forest in northeastern Ohio, USA. – Nova Hedwigia 60 (1-2): 1-12.
- GUNNING, B.E.S. & SCHWARTZ, O.M.** (1999): Confocal microscopy of thylakoid autofluorescence in relation to origin of grana and phylogeny in the green algae. – Austr. J. Plant Physiol. 26: 695-708.
- HÄUSLER, J.** (1982): Schizomycetes, Band 20. – In: Ettl, H.; Gerloff, J. & Heynig, H. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 588 pp. G. Fischer Verlag. Jena.
- HEBÁK, P. & HUSTOPECKÝ, J.** (1987): Vícerozměrné statistické metody s aplikacemi. – Nakladatelství technické literatury, Praha, 452 pp.
- HERBEN, T. & MÜNZBERGOVÁ, Z.** (2003): Zpracování geobotanických dat v příkladech. – Část I. Data o druhovém složení. – 118 pp. Praha.
- HERNDON, W.** (1958): Some new species of chlorococcacean algae. – Amer. J. Bot. 45: 308-323.
- HINDÁK, F.** (1968): *Fottea cylindrica* gen. et sp. nov., a new member of the ulotrichacean algae. – Preslia 40: 337-341.  
– (1981): The ulotrichacean genus *Fottea* Hind. 1968 (Chlorophyceae). – Arch. Hydrobiol. Suppl. 60. Algol. Stud. 27: 148-157.  
– (1996): Klúč na určovanie nerozkonárených vláknitých zelených rias (Ulotrichineae, Ulotrichales, Chlorophyceae). – Bull. Slov. bot. spol., Suppl. 1:1-77.
- HOUK, V.** (1993): Some morphotypes in the "*Orthoseira roeseana*" complex. – Diatom Research 8(2):385-402.  
– (2003): Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Part I., Melosiraceae, Orthoseiraceae, Paraliaceae and Aulacoseiraceae. – Czech Phycol. Suppl. 1, 111 pp.
- HROUZEK, P.; ŠIMEK, M. & KOMÁREK, J.** (2003): Nitrogenase activity (Acetylene reduction activity) and diversity of six soil *Nostoc* strains. – Arch. Hydrobiol. Suppl. / Algol. Stud. 108: 87-101.
- CHANTANACHAT, S. & BOLD, H.C.** (1962): Phycological Studies II. Some algae from arid soils. – Univ. Texas Publ. 6218: 1-75.
- CHODAT, R.** (1902): Algues vertes de la Suisse. Matériaux pour la Flore Cryptogamique Suisse. Vol. I, Fasc. 3. Bern.  
– (1913): Monografie d'algues en culture pure. Wyss, Bern.
- JÍRA, V.** (1966): Přírodní úkaz na Borči. – Vesmír 45:30.
- JOHNSON, L.R. & JOHN, D.M.** (1990): Observations on *Dilabifilum* (class Chlorophyta, order Chaetophorales sensu stricto) and allied genera. – Br. phycol. J. 25:53-61.
- KALINA, T.** (1994): Sinice a řasy. – In: KŘÍSA, B. & PRAŠIL, K. (eds). Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu. – 5-45. PšF UK. Praha.
- KALINA, T. & PUNČOCHÁŘOVÁ, M.** (1987): Taxonomy of the subfamily Scotielloecystoideae Fott 1976 (Chlorellaceae, Chlorophyceae) – Arch. Hydrobiol. Suppl. 73. Algol. Stud. 45:473-521.
- KLEBS, G.** (1896): Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Gustav Fischer, Jena: 326-345.

- KLIKA, J.** (1951): Xerothermní travinná společenstva v Českém středohoří. – Rozpr. Čes. Akad. Věd Um., Praha, Cl. 2 60(1950)/25:1-47.
- KOMÁREK, J.** (1979): Änderungen in der Taxonomie der Chlorokokkalalgen. – Arch. Hydrobiol. Suppl. / Algological Studies 24: 239-263.
- KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K.** (in prep.): Cyanoprokaryota II., Oscillatoriales, Band 19/2. – In: Ettl, H.; Gärtner, G.; Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 436 pp. G. Fischer Verlag. Stuttgart.
- KOMÁREK, J. & FOTT, B.** (1983): Chlorococcales. – In: Huber-Pestalozzi, G. (ed.). Das Phytoplankton des Süßwassers, Band 7. – 1043 pp. Schweizerbart. Stuttgart.
- KOMÁREK, J. & ROSA, K.** (1957): Nález sinice *Sommierella cossyrensis* Borzi (?) v Čechách. – Preslia 29: 17-27.
- KORŠIKOV, A.A.** (1953): Pidklas Protokokovi (Protococcineae). – In: Roll, J.V. (ed.). Vyznacnik prysnovodnich vodorostej Ukrainskoj RSR, T.5. – 439 pp. Vidav. akad. Nauk Ukrainskoj RSR. (Коршиков, О.А.: Підклас протококові (Protococcineae). – In: Ролл, Я.В. (ed.). Визначни прісноводних водоростей Української РСР, Т.5. Видавництво Академії наук Української РСР.)
- KOSTIKOV, I.; DARIENKO, T.; LUKEŠOVÁ, A. & HOFFMANN, L.** (2002): Revision of the classification system of Radiococcaceae FOTT ex KOMÁREK (except the subfamily Dictyochlorelloideae) (Chlorophyta). – Algol. Stud. 104:23-58.
- KOUWETS, F.A.C.** (1993): The multinucleate green alga *Bracteacoccus grandis* is a form of *B. minor* with one to three pairs of centrioles associated with each interphase nucleus. – Arch. Protistenkd. 143: 75-86.
- KRÁLOVÁ, M. & kol.** (1991): Vybrané metody chemické analýzy půd a rostlin. – 152 pp. Academia. Praha.
- KRAMMER, K.** (2000): The genus *Pinnularia*. – In: Lange-Bertalot, H. (ed.). Diatoms of Europe, Volume 1. – 703 pp. A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- KRAMMER, K. & LANGE-BERTALOT, H.** (1986): Bacillariophyceae, 1. Teil, Band 2/1. – In: Ettl, H.; Gerloff, J.; Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 875 pp. G. Fischer Verlag. Jena.
- (1988): Bacillariophyceae, 2. Teil, Band 2/2. – In: Ettl, H.; Gerloff, J.; Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 596 pp. G. Fischer Verlag. Jena.
- (1991a): Bacillariophyceae, 3. Teil, Band 2/3. – In: Ettl, H.; Gerloff, J.; Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 576 pp. G. Fischer Verlag. Stuttgart.
- (1991b): Bacillariophyceae, 4. Teil, Band 2/4. – In: Ettl, H.; Gärtner, G.; Gerloff, J.; Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa. – 436 pp. G. Fischer Verlag. Stuttgart.
- KREIMER, G.; KAWAI, H.; MULLER, D.G. & MELKONIAN, M.** (1991): Reflective properties of the stigma in male gametes of *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae) studied by confocal laser scanning microscopy. – J. Phycol. 27: 268-276.
- KRIEGER, W.** (1937): Die Desmidiaceen. – In: Rabenhorst's Kryptogamenflora, Bd. 13/1, Teil 1, Akad. Verlagsges. Leipzig, 712 pp.
- KUBÁT, K.** (1971): Ledové jámy a exhalace v Českém středohoří II. – Vlastivědný sborník Litoměřicko, Litoměřice, 8: 67-89.
- (1972): Příspěvek k mikroklimatu sutí Schustlerovy zahrádky (Krkonosé). – Opera corcontica 9:165-167.
- (1974): Proudění vzduchu sutěmi jako ekologický faktor. – Opera corcontica 11:53-62.
- KUČERA, Z.** (1999): Zeměpisné exkurze v západní části Severočeského regionu. – Gymnázium Bílina: 8-16.
- KÜTZING, F.T.** (1849): Species algarum. – Brockhaus. Leipzig, 349 pp.
- LANGE-BERTALOT, H.** (2001): *Navicula* sensu stricto, 10 Genera Separated from *Navicula* sensu lato, Frustulia. – In: Lange-Bertalot, H. (ed.). Diatoms of Europe, Volume 2. – 526 pp. A.R.G. Gantner Verlag K.G.
- LENZENWEGER, R.** (1996): Desmidiaceenflora von Österreich, Teil 1. – Bibliotheca phycologica 101:1-161.
- LINDLEY, J.** (1840): VII. Notes upon the genus *Epidendrum*. – Hooker's J. Bot. Kew Garden Misc. 3: 81-89.



- LOKHORST, G.M.** (1996): Comparative Taxonomic Studies on the Genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. – *Crypt. Stud.* 5:1-132.
- (2003): The genus *Tribonema* (Xanthophyceae) in the Netherlands. An integrated field and culture study. – *Nova Hedwigia* 77(1-2):19-53.
- LOŽEK, V.** (1954): Malakozoologický výzkum rezervace Boreč v Českém středohoří. – *Ochr. Přír.* 9:93-94.
- LUKEŠOVÁ, A.** (1991): Three filamentous green algae isolated from soil. – *Arch. Protistenkd.* 139: 69-83.
- LUKEŠOVÁ, A. & HOFFMANN, L.** (1996): Soil algae from acid rain impacted forest areas of the Krušné hory Mts. 1. Algal communities. – *Vegetatio* 125: 123-136.
- LUKEŠOVÁ, A. & KOMÁREK, J.** (1987): Succession of soil algae on dumps from strip coal-mining in the Most region (Czechoslovakia). – *Folia Geobot. Phytotax.* 22:355-362.
- LUND, J.W.G.** (1962): Soil algae. – In: LEWIN, R. (ed.): *Physiology and biochemistry of algae.* – Academic Press, New York.
- (1966): *Prasiococcus* Vischer, nový rodzaj glonu dla Polski. A genus new to Poland: *Prasiococcus* Vischer. – *Acta Hydrobiol.* 8, Suppl. 1:303-309.
- MANTEL, N.** (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. – *Cancer Research* 27: 209-220.
- MARGULIS, L. & SAGAN, D.** (2002): *Acquiring Genomes: A Theory of the Origins of Species.* – 240 pp. Basic Books, New York.
- MARHOLD, K. & SUDA, J.** (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (Fenetické metody). – Karolinum, Praha, 159 pp.
- MATTOX, K.R. & BOLD, H.C.** (1962): *Phycological Studies, III. The taxonomy of certain ulotrichacean algae.* The University of Texas Publication No. 6222: 31-47.
- METTING, B.** (1981): The systematics and ecology of soil algae. – *Bot. Rev.* 47: 195-312.
- MIGULA, W.** (1907): Algen. – In: *Kryptogamen-Flora von Deutschland, Deutsch-Österreich und der Schweiz, Bd. 2, Teil 1.*
- NAKANO, T. & ISAGI, Y.** (1987): *Dictyochloropsis irregularis* sp. nov. (Chlorococcales, Chlorophyceae) isolated from the surface of bark. – *Phycologia* 26: 222-227.
- NEUSTUPA, J.** (2001): Soil algae from marlstone-substratum based biotopes in the Nature park Džbán (Central Bohemia, Czech Republic) with special attention to the natural treeless localities. – *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 137/ *Algological Studies* 101: 109-120.
- NEUSTUPA, J.; NOVÁKOVÁ, S.; ŠEJNOHOVÁ, L.; ŠKALOUD, P. & ŘEZÁČOVÁ, M.** (2002): Algae from the aquatic, peat bog and aerial biotopes in the tributary of Křemelná river in Šumava National Park. – *Czech Phycol.* 2: 47-60.
- NĚMCOVÁ, L.** (2001): Mechorosty a jejich společenstva na sutích v Českém Středohoří a sousedních územích. Kandidátská disertační práce. – Depon. in: *Knihovna botaniky PFF UK, Benátská 2, Praha 2.*
- NĚMCOVÁ, Y.; NEUSTUPA, J.; NOVÁKOVÁ, S. & KALINA, T.** (2003): Silica-scaled chrysophytes of the Czech Republic. – *Acta Univ. Carol. Biol.* 47: 285-346.
- NOVOTNÝ, Z. & NOVOTNÝ, J.** (1966): Inventarizační seznam Coleopter SPR Borečský vrch. – *Nepubl. zpráva, Ústí nad Labem: ČÚOP*, 6 pp.
- OCAMPO-PAUS, R. & FRIEDMANN, I.** (1966): *Radiosphaera negevensis* sp. n., a new chlorococcalean desert alga. – *Amer. J. Bot.* 53(7): 663-671.
- PÉTERFI, L. S. & MOMEU, L.** (1977): Remarks on the taxonomy of some *Synura* species based on the fine structure of scales. – *Muzeul Brukenthal. – Studii și comunicări. – Șt. nat.* 21:15-23.
- PETERSEN, J.B.** (1935): Studies on the biology and taxonomy of soil algae. – *Dan. Bot. Ark.* 8:1-183.
- PILOUS, Z.** (1959): Mechorosty Státní přírodní rezervace Borečský vrch v Českém Středohoří. – *Ochr. Přír.* 14:97-99.
- PREISIG, H. R. & HIBBERD, D. J.** (1982): Ultrastructure and taxonomy of *Paraphysomonas* (Chrysophyceae) and related genera 1. – *Nord. J. Bot.* 2: 397-420.
- PRESCOTT, G.W.; CROASDALE, H.T. & VINYARD W.C.** (1972): A Synopsis of North American Desmids. Part 1, Mesotaeniaceae: Saccodermatae. – In: *ROGERSON, C.T. (ed.). North American Flora, Series II/6.* – 84 pp. The New York Botanical Garden.
- PRINTZ, H.** (1964): Die Chaetophorales der Binnengewässer. – *Hydrobiologia* 24:1-376.

- PUJMANOVÁ, L.** (1989): Mechorosty sutí na Binově a Kamenci ve Verneřickém Středohoří. – Severočes. Přír., Litoměřice, 21:67-69.
- (1990): Mechorosty Borče v Českém středohoří. – Severočes. Přír., Litoměřice, 24:91-96.
- PUNČOCHÁŘOVÁ, M.** (1992): A taxonomic study of four *Kentrosphaera* strains. – Arch. Protistenkd. 141: 225-241.
- PUNČOCHÁŘOVÁ, M. & KALINA, T.** (1981): Taxonomy of the genus *Scotiellopsis* VINATZER (Chlorococcales, Chlorophyta). – Arch. Hydrobiol. Suppl. 60. Algol. Stud. 27:119-147.
- QUITT, E.** (1971): Klimatické oblasti Československa. – Stud. Geogr., Brno, 16:1-79.
- RABENHORST, L.** (1863): Kryptogamenflora von Sachsen, der Ober-Lausitz, Thüringen und Nordböhmen mit Berücksichtigung der benachbarten Länder. Abt. I. Kummer. Leipzig, 265 pp.
- REISIGL, H.** (1964): Zur Systematik und Ökologie alpiner Bodenalger. – Österr. Bot. Z. 111: 402-499.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M. & STANIER, R.Y.** (1979): Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. – J. General Microbiol. 111:1-61.
- RODINA, A.G.** (1963): Serobakterii detrita ozer Priladožja. – Mikrobiologija 32:675-682.
- RŮŽIČKA, J.** (1981): Die Desmidiaceen Mitteleuropas. – Bd. 1, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart, 736 pp.
- RŮŽIČKA, V.** (2003): Beetle communities (Insecta: Coleoptera) of rock debris on the Boreč hill (Czech Republic, České středohoří mountains). – Acta Soc. Zool. Boh. 63:315-330.
- RŮŽIČKA, V. & ZACHARDA, M.** (1994): Arthropods of stony debris in the Krkonoše mountains, Czech Republic. – Arctic Alpine Res. 26: 332-338.
- SÁDLO, J. & KOLBEK, J.** (1994): Náčrt nelesní vegetace sutí kolinního až montánního stupně České republiky. – Preslia 66:217-236.
- SARAFIS, V.** (1998): Chloroplast: a Structural Approach. – J. Plant Physiol. 152: 248-264.
- SCHALLER, J.** (1785): Topographie des Königreichs Böhmen. – Tom. 2: Ellbog nor Kreta, p. 72.
- SCHUSSNIG, B.** (1955): Eine neue Protococcalen-Gattung. – Österr. Bot. Z. 102: 444-459.
- SILVA, P.C.; MATTOX, K.R. & BLACKWELL, W.H.** (1972): The generic name *Hormidium* as applied to green algae. – Taxon 21:639-645.
- SKALICKÝ, V.** (1988): Regionálně fytogeografické členění. – In: HEJNÝ, S. & SLAVÍK, B. (eds): Květena České socialistické republiky 1, p. 103-121. Academia. Praha.
- SKUJA, H.** (1956): Taxonomische und biologische Studien über das Phytoplankton schwedischer Binnengewässer. – Nova Acta Soc. Sci. Upsal., Upsalla 16(3):1-404.
- SMITH, G.M.** (1933): The Fresh-water Algae of the United States – First Edition. McGraw-Hill, New York. 719 pp.
- SOLDÁN, Z. & kol.** (2003): Mechorosty a lišejníky zaznamenané během XV. bryologicko-lichenologických dnů ve Velemíně (CHKO České Středohoří). – Bryonora 32:3-6.
- STARMACH, K.** (1972): Chlorophyta III. Zelenice nitkowate. – In: STARMACH K. (ed.). Flora słodkowodna Polski, T. 10. – 750 pp. PWN. Warszawa & Krakow.
- SØRENSEN, T.** (1948): A method for establishing group of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. – K. Dansk. Vidensk. Selsk. Biol. Skr. 5:1-34.
- ŠEJNOHOVÁ, L.** (2003): Sinice a řasy slepých ramen Vltavy v I. zóně Šumavského národního parku “Vltavský luh” a taxonomicko-ultrastrukturní studie vybraných trichálních řas. Diplomová práce. – Depon. in: Knihovna botaniky PřF UK, Benátská 2, Praha 2.
- ŠIMR, J.** (1957): Vzácný přírodní úkaz v Českém Středohoří. – Ochr. Přír. 12(2):55-56.
- ŠKALOUD, P. & RADOCHOVÁ, B.** (2004): Confocal microscopy of the green-algal chloroplast. – Czech Phycol. 4:183-190.
- ŠKALOUD, P.; NEUSTUPA, J.; RADOCHOVÁ, B. & KUBÍNOVÁ, L.** (in press): Confocal microscopy of chloroplast morphology and ontogeny in three strains of *Dictyochloropsis* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). – Phycologia.
- TAKESHITA, S.; HANDA, S.; NAKANO, T. & IWATSUKI, Z.** (1991): Phycobionts of *Brigantiaea ferruginea* (Lichens). – Journal Jap. Bot. 66: 147-151.
- TER BRAAK, C.J.F. & ŠMILAUER, P.** (1998): CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows. – 353pp., Microcomputer Power, Ithaca, USA.

- TER BRAAK, C.J.F. & ŠMILAUER, P.** (2002): CANOCO reference manual CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). – 500 pp., Microcomputer Power. Ithaca, NY, US.
- TSCHERMAK-WOESS, E.** (1970): Über wenig bekannte und neue Flechtengonidien V. Der phycobiont von *Verrucaria aquatilis* und die Fortpflanzung von *Pseudopleurococcus arthopyreniae*. – Österr. Bot. Z. 118: 443-455.
- (1978): Über die Phycobionten der Sektion *Cystophora* von *Chaenotheca*, insbesondere *Dictyochloropsis splendida* und *Trebouxia simplex*, spec. nova. – Pl. Syst. Evol. 129: 185-208.
- (1980): *Chaenothecopsis consociata* – kein parasitischer oder parasymbiontischer Pilz, sondern lichenisiert mit *Dictyochloropsis symbiotica*, spec. nova. – Pl. Syst. Evol. 136: 287-306.
- (1984): Über die weite Verbreitung lichenisierter Sippen von *Dictyochloropsis* und die systematische Stellung von *Myrmecia reticulata* (Chlorophyta). – Pl. Syst. Evol. 147: 299-322.
- VÁNĚ, M.** (1991): Exhalace par na Borči a na Jezerní hoře. – Dialog. Liberec.
- VINATZER, G.** (1975): Neue Bodenalgen aus den Dolomiten. – Pl. Syst. Evol. 123:213-235.
- VISCHER, W.** (1945): Heterokonten aus alpinen Böden, speziell dem schweizerischen Nationalpark. – *Ergebn. wiss. Unters. Schweiz. Nationalpark, N.F.* 1:477-512.
- (1953): Über primitivste Landpflanzen. – *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 63: 169-193.
- WATANABE, S.** (1983): New and interesting green algae from soils of some Asian and Oceanian regions. – *Arch. Protistenkd.* 127: 223-270.
- WEST, W. & WEST, G.S.** (1908): A monograph of the British Desmidiaceae. Volume III. – 274 pp. The Ray Society. London.
- WILLIAMSON, D.B.** (2000): Some desmid floras of wet rock surfaces. – *Arch. Hydrobiol. Suppl. / Algol. Stud.* 97:11-27.
- WOLF, M.; HEPPERLE, D. & KRIENITZ, L.** (2003): On the phylogeny of *Radiococcus*, *Planktosphaeria* and *Schizochlamydeella* (Radiococcaceae, Chlorophyta). – *Biologia* 58(4): 759-765.
- ZAKRYS, B.; MILANOWSKI, R.; EMPER, J.; BORSUK, P.; GROMADKA, R. & KWIATOWSKI, J.** (2002): Two different species of *Euglena*, *E. geniculata* and *E. myxocylindracea* (Euglenophyceae), are virtually genetically and morphologically identical. – *J. Phycol.* 38: 1190-1199.
- ZHENG, P.; WETZEL, C.; AMMAR, K.; GIRARD, A.M.M.; RODERMEL, S.; THOMAS, D.R.; NING, L.; CALLIS, J.B.; EDWARDS, G.E. & DALEY, L.** (2002): Test of an in vivo method to detect chloroplast division in crop plants - Part II: Verification of the phenomenon by germplasm methods and confocal microscopy. – *Spectroscopy* 17: 14-18.

















**I. Odběrová místa ve vrcholové oblasti NPP Borečský vrch**

**a** ventarola 1; **b** ventarola 2; **c** kontrolní lokalita 3; **d** kontrolní lokalita 4; **e** ventarolová lokalita B5; **f** kondenzace vody v mechových polštářích uvnitř ventarol; **g** porost játrovky *Targionia hypophylla* ve ventarole B5.



## II. Ostatní odběrová místa v Českém Středohoří

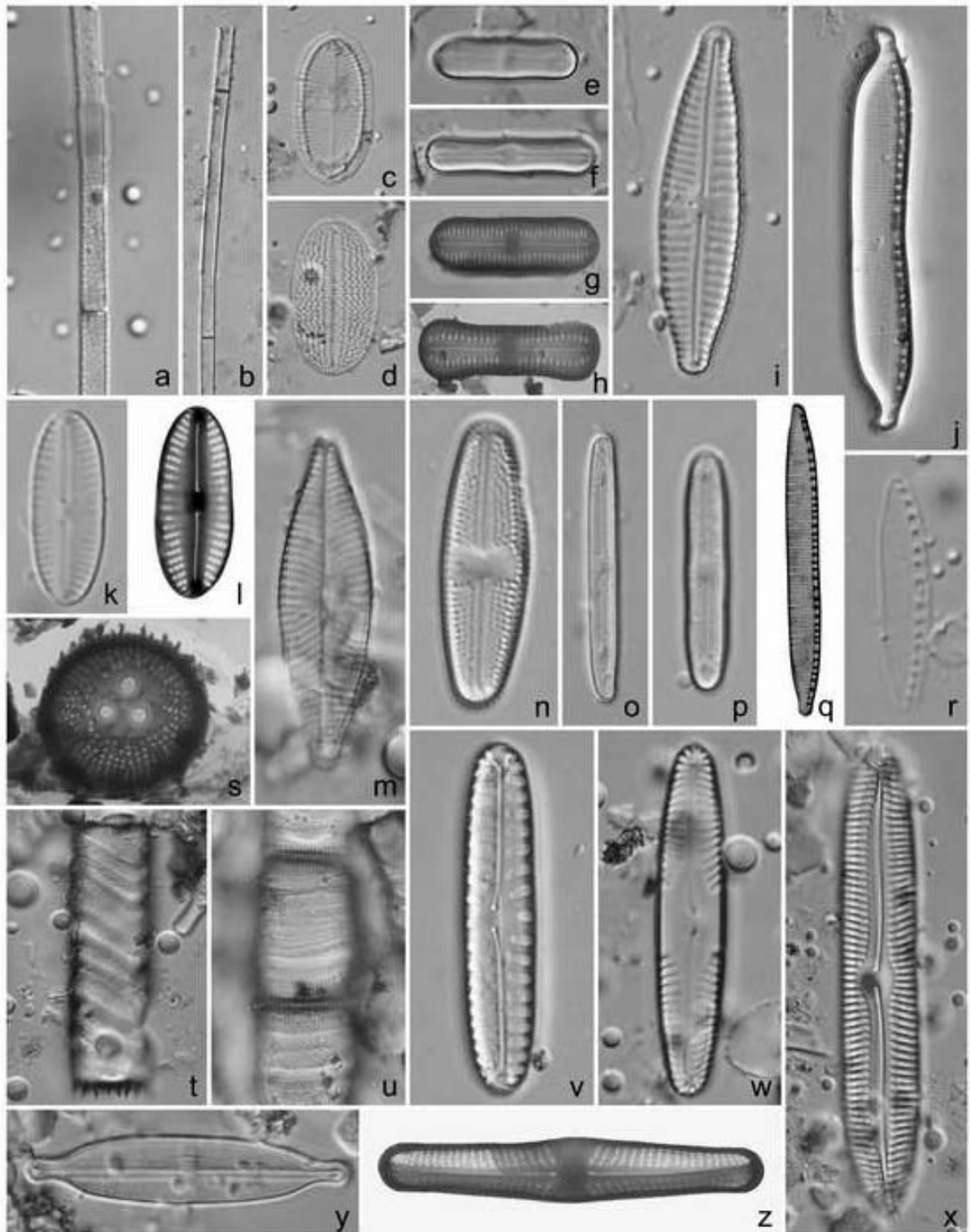
**a-b** Kamenec (**a** suťové pole; **b** ventarola ve střední části suťového pole); **c-d** Kolný (**c** horní část suťového pole; **d** ventarola); **e-f** Kóta 490 u Třebušína (**e** ventarola v podobě dlouhé pukliny; **f** slizovité nárosty řas na stěnách ventaroly, produkované druhy *Sphaerochlamydella minutissima*, *Mesotaenium* cf. *endlicherianum* a druhy rodu *Eutetramorus*).



### III. Cyanobacteria

**a-d** *Fischerella thermalis*; **e-g** *Hassalia byssoidea*; **h** *Leptolyngbya foveolarum*; **i** *Leptolyngbya tenuis*; **j-k** *Microcoleus vaginatus*; **l-m** *Nostoc calcicola*; **n** *Nostoc* cf. *edaphicum*; **o-p** *Oscillatoria* cf. *curviceps*; **q** *Phormidium* cf. *animale*; **r-s** *Phormidium autumnale*; **t-u** *Phormidium* sp. 2; **v** *Phormidium* sp. 3; **w** *Phormidium* sp. 5.

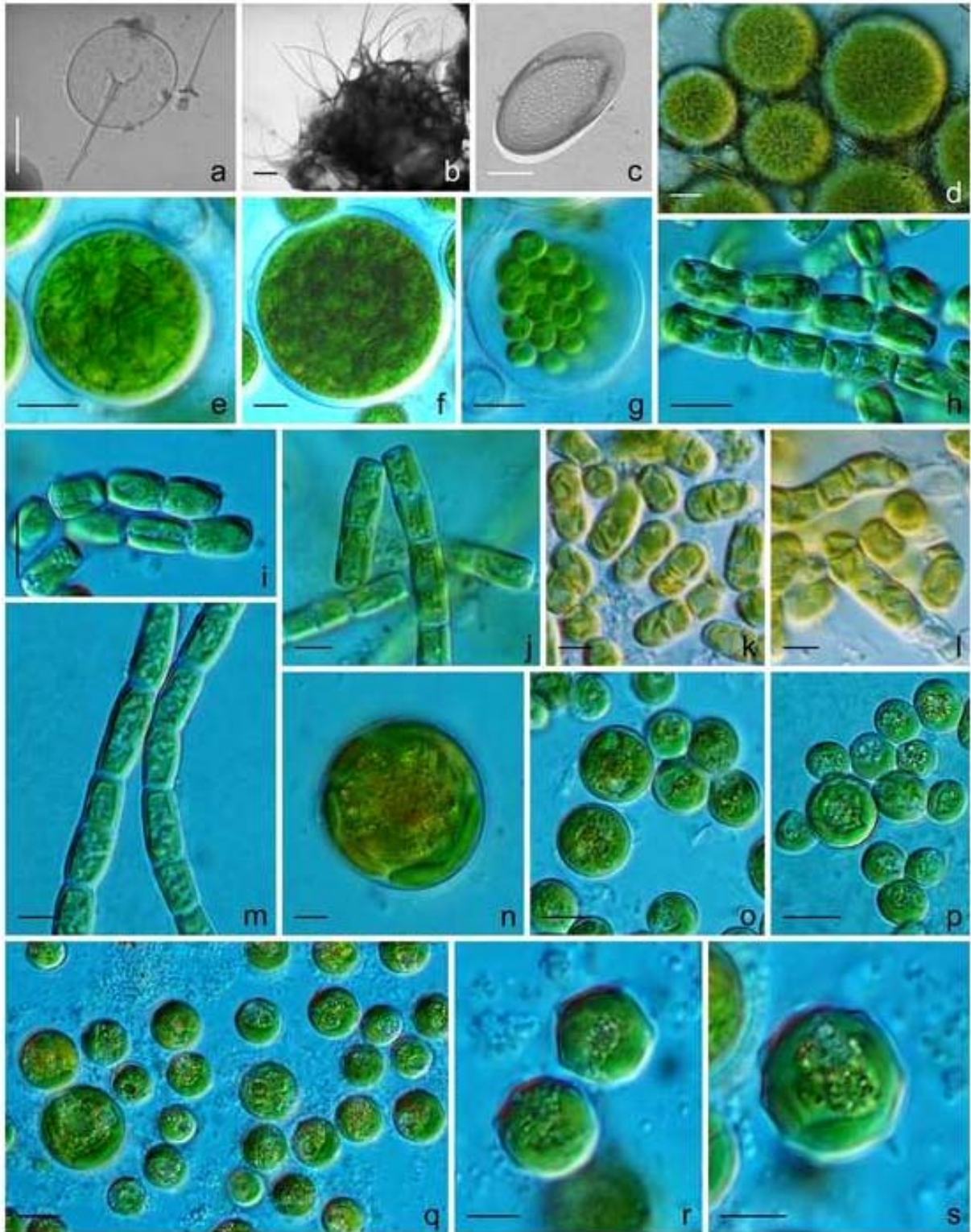
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (h-i, v-w) či 10  $\mu\text{m}$  (a-g, j-u).



#### IV. Bacillariophyceae

**a-b** *Aulacoseira granaluta*; **c-d** *Cocconeis placentula*; **e-h** *Diademsis contenta*; **i** *Gomphonema parvulum*; **j** *Hantzschia amphioxys*; **k-l** *Mayamaea atomus*; **m** *Navicula cryptocephala*; **n** *Navicula mutica*; **o-p** *Neidium alpinum*; **q-r** *Nitzschia palea*; **s-t** *Orthoseira dendroteres*; **u** *Orthoseira roeseana*; **v** *Pinnularia borealis*; **w** *Pinnularia obscura*; **x** *Pinnularia sudetica*; **y** *Stauroneis agrestis*; **z** *Stauroneis* sp.

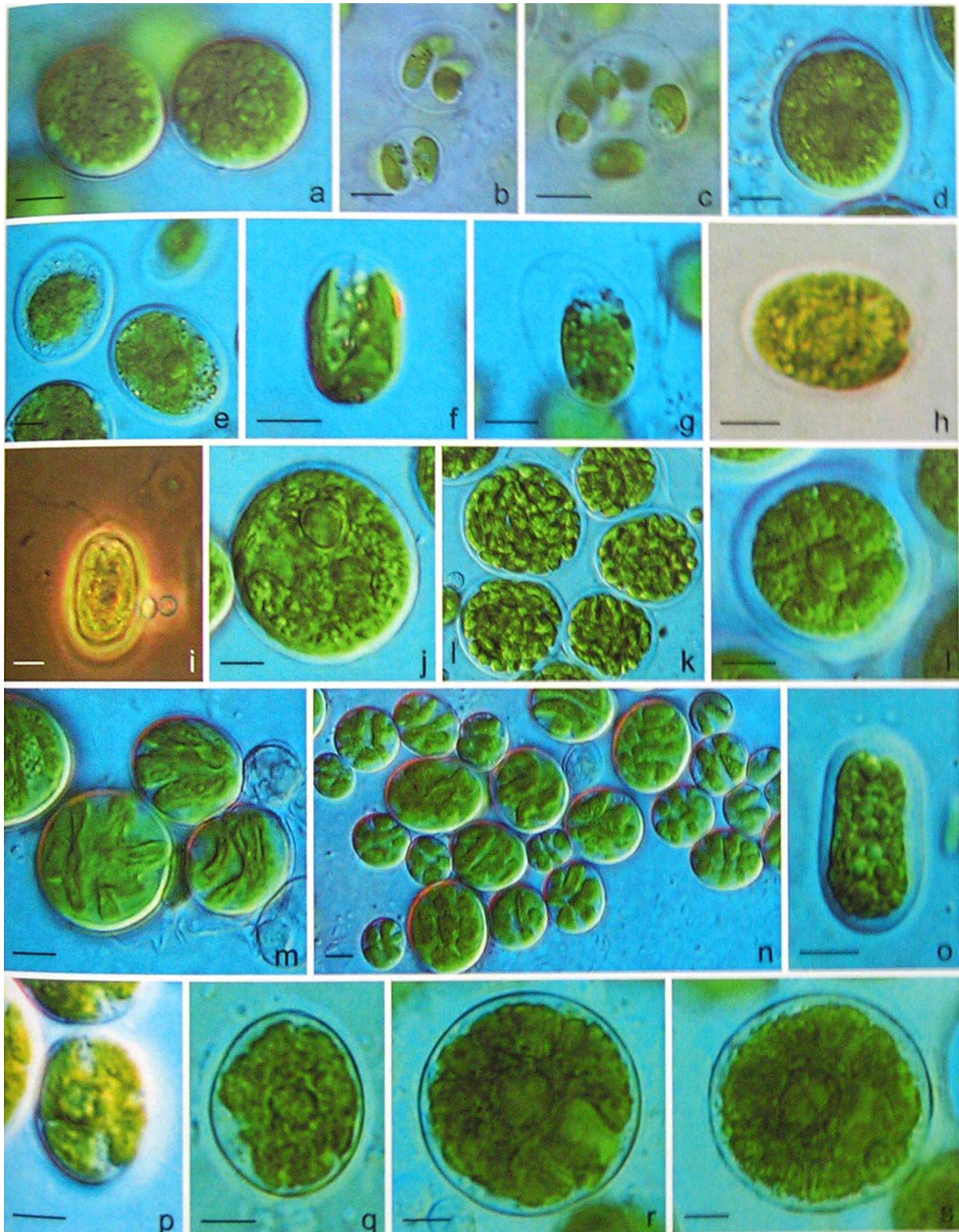
Úsečka zobrazuje 2  $\mu\text{m}$  (e-h, k-l, z) či 5  $\mu\text{m}$  (a-d, i-j, m-y).



**V. Chrysophyceae, Xanthophyceae, Eustigmatophyceae**

**a** *Paraphysomonas vestita* (šupina); **b** *Spiniferomonas* sp.; **c** *Synura multidentata* (kaudátní šupina); **d** *Botrydiopsis pyrenoidosa*; **e-g** *Botrydiopsis* sp.; **h-j** *Xanthonema montanum*; **k-l** *Xanthonema solidum*; **m** *Xanthonema* sp.; **n** *Eustigmatos magnus*; **o-p** *Eustigmatos polyphem*; **q-s** *Vischeria stellata*.

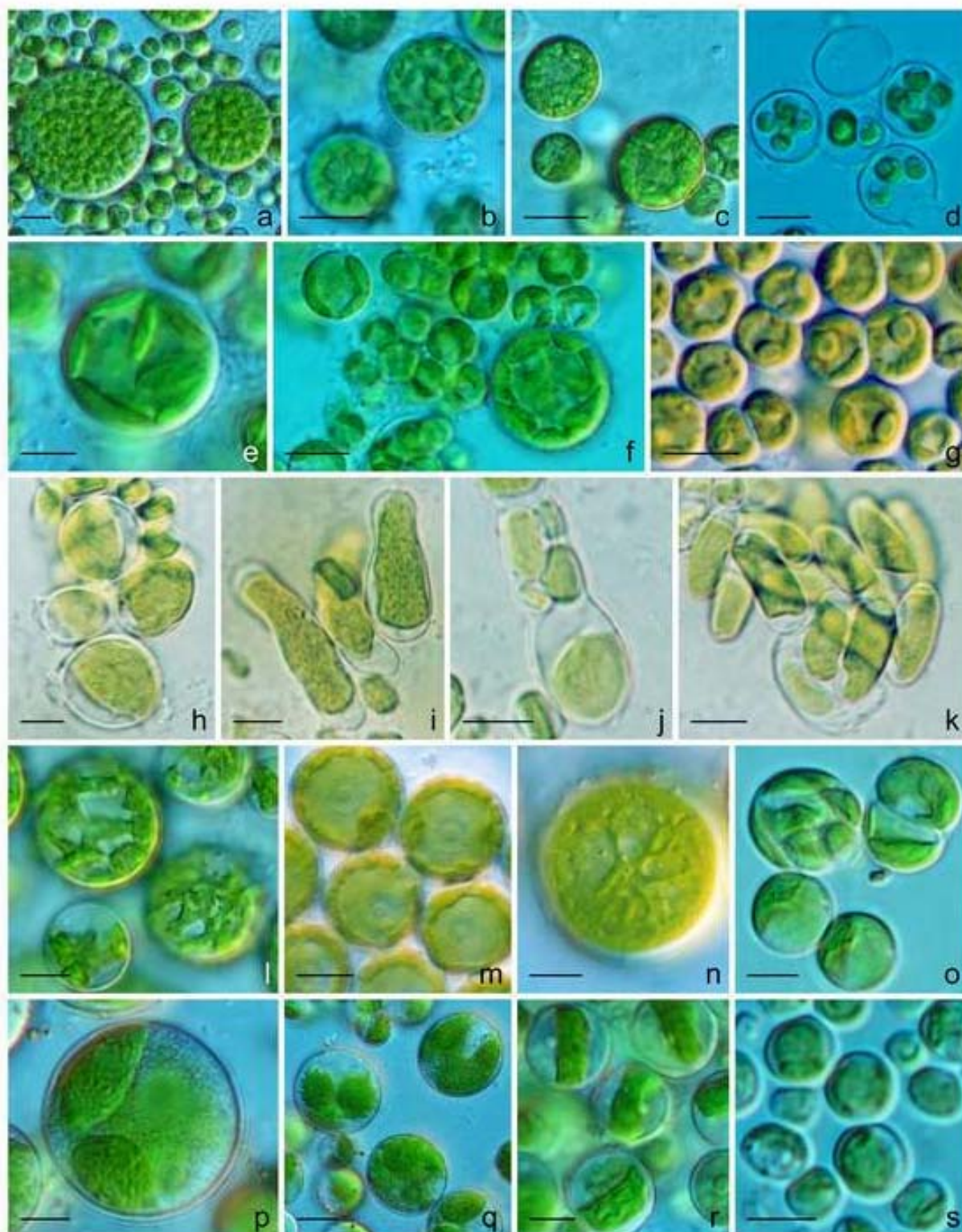
Úsečka zobrazuje 1  $\mu\text{m}$  (a-c), 5  $\mu\text{m}$  (j-n, r-s) či 10  $\mu\text{m}$  (d-i, o-q).



## VI. Chlamydoephyceae

**a** *Fasciculochloris boldii*; **b-c** *Chlamydomonas callunae* (palmelové stádium); **d-e** *Chlamydomonas meslinii*; **f-g** *Chlamydomonas pseudintermedia*; **h-i** *Chlamydomonas* sp.; **j-k** *Chlorococcum infusionum* (**k** zoosporangia); **l** *Chlorococcum lobatum*; **m-n** *Chlorococcum schizochlamys*; **o** *Chloromonas rosae*; **p-s** *Radiosphaera minuta*.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .



## VII. Chlorophyceae 1

**a-b** *Bracteacoccus* cf. *grandis*; **c-d** *Bracteacoccus minor* (**d** autosporangium); **e** *Bracteacoccus pseudominor*; **f** *Bracteacoccus* sp.; **g** *Coelastrella vacuolata*; **h-k** *Coleochlamys* sp. (**j** autosporangium s nestejně velkými autosporami; **k** autosporangium s válcovitými autosporami); **l** *Dictyochloris pulchra*; **m-n** *Dictyochloropsis splendida*; **o** *Elliptochloris subsphaerica*; **p-q** *Ettlia bilobata*; **r** *Chlorella* cf. *luteoviridis*; **s** *Chlorella minutissima*.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (e, h-k, o-p, r-s) či 10  $\mu\text{m}$  (a-d, f-g, l-n, q).

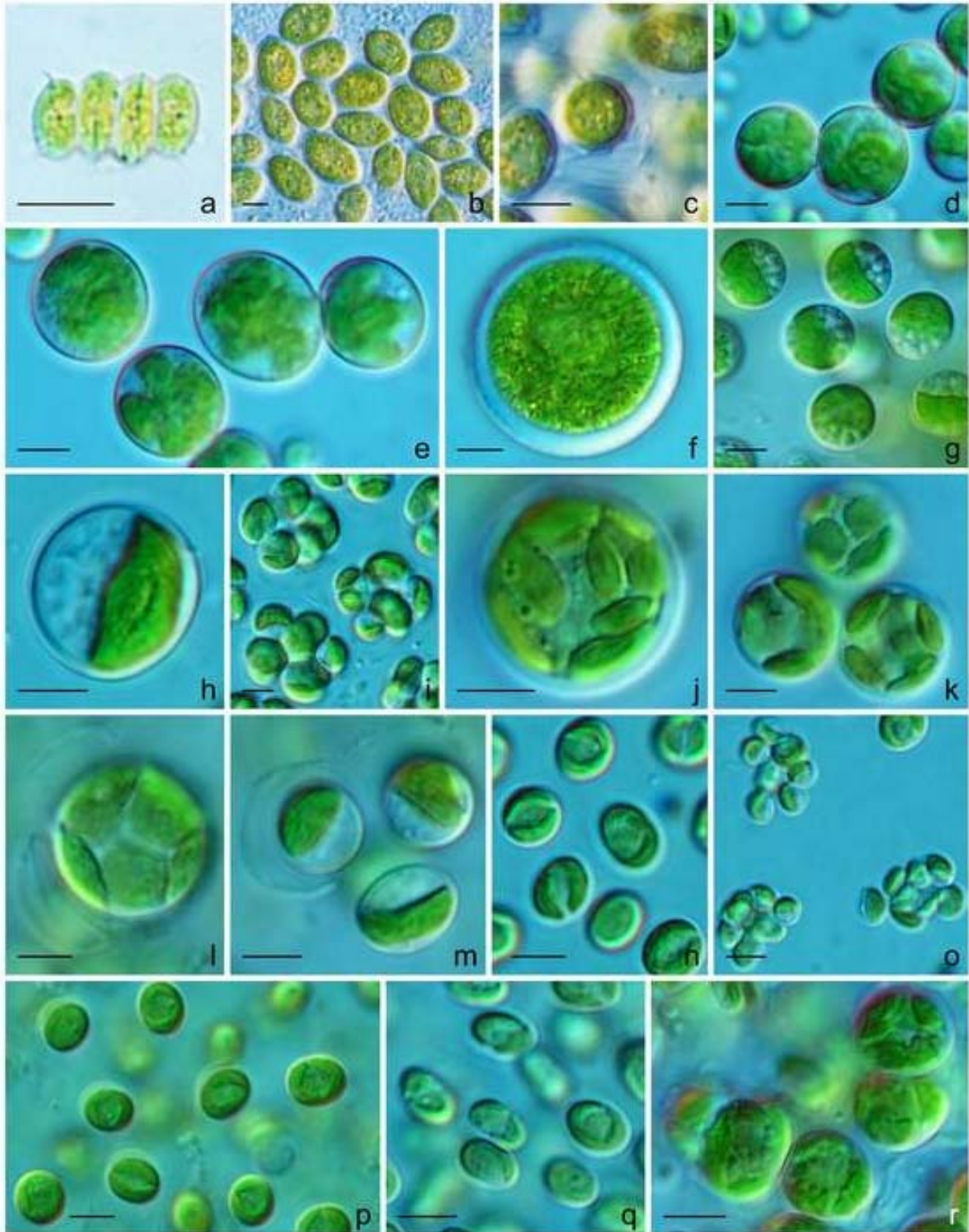




### VIII. Chlorophyceae 2

**a** *Chlorella mirabilis*; **b** *Chlorella protothecoides*; **c** *Chlorella vulgaris*; **d** *Choricystis minor*; **e** *Kentrosphaera gibberosa*; **f-k** *Kentrosphaera* sp.; **l** *Lobosphaeropsis lobophora*; **m** *Muriella terrestris*; **n** *Myrmecia bisecta*; **o** *Myrmecia* cf. *incisa*; **p** *Podohedra bicaudata*; **q** *Pseudococcomyxa simplex*.

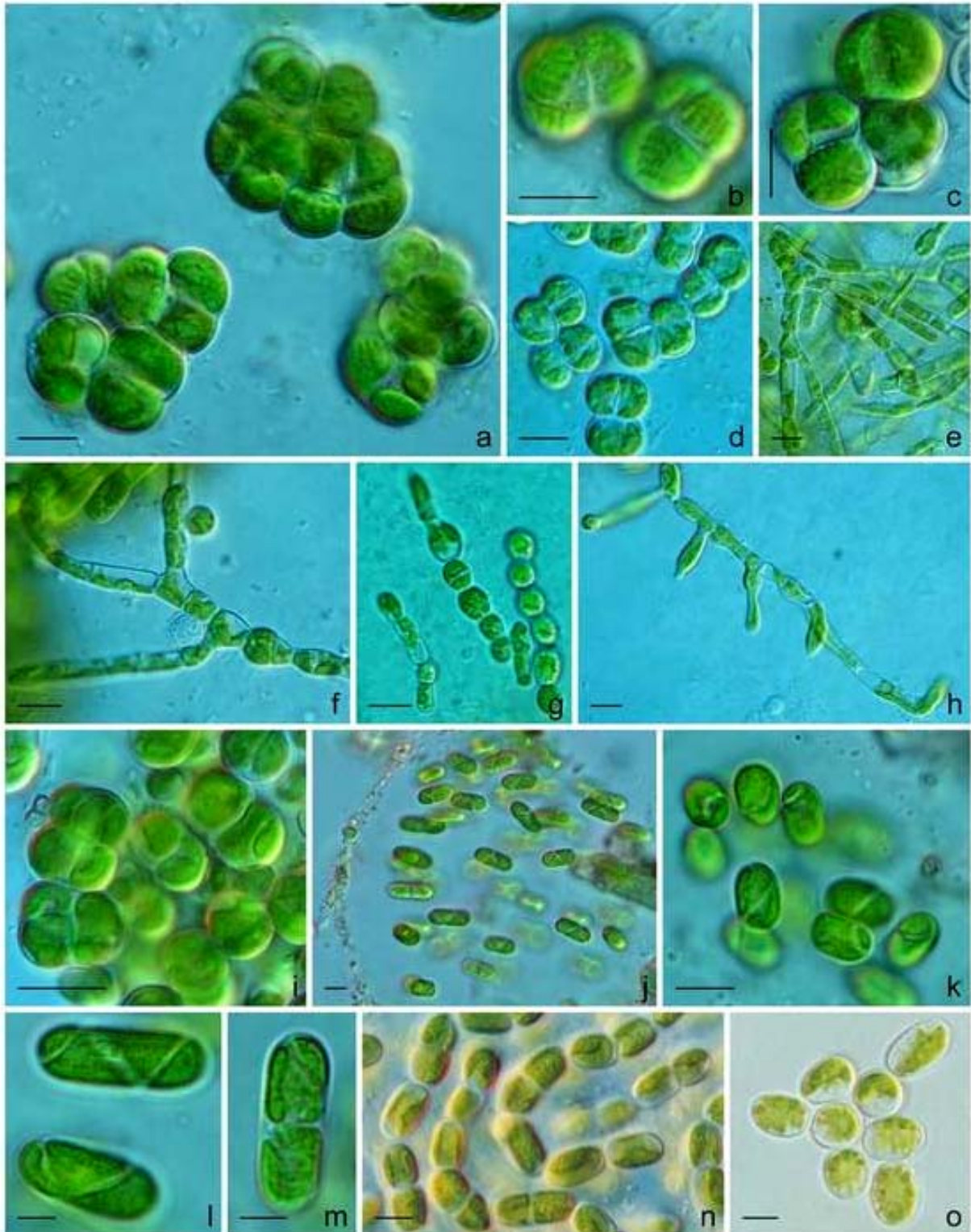
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (a-d, l-p), 10  $\mu\text{m}$  (e, h-k) či 50  $\mu\text{m}$  (f-g).



### IX. Chlorophyceae 3

**a** *Scenedesmus soli*; **b-c** *Scotiellopsis oocystiformis* (**c** apikální pohled s viditelnými podélnými žebry buněčné stěny); **d-e** *Trebouxia arboricola*; **f** *Trebouxia potteri*; **g** *Eutetramorus* cf. *föttii*; **h-i** *Eutetramorus* cf. *planctonicus* (**i** autosporangia); **j-k** *Phacomyxa* sp.; **l-m** *Planktosphaeria gelatinosa*; **n-o** *Sphaerochlamydella minutissima* (**o** autospory); **p-q** *Sphaerochlamydella* sp.; **r** *Sphaeroneocystis* sp.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .



#### X. Chlorophyceae 4, Ulvophyceae

a-d *Desmococcus* sp. (b dobře viditelná podélná žebra na povrchu chloroplastu);  
 e-g *Dilabifilum printzii*; h *Dilabifilum* sp.; i *Diplosphaera chodatii*; j-m *Fottea* sp.;  
 n *Geminella interrupta*; o *Geminella terricola*.

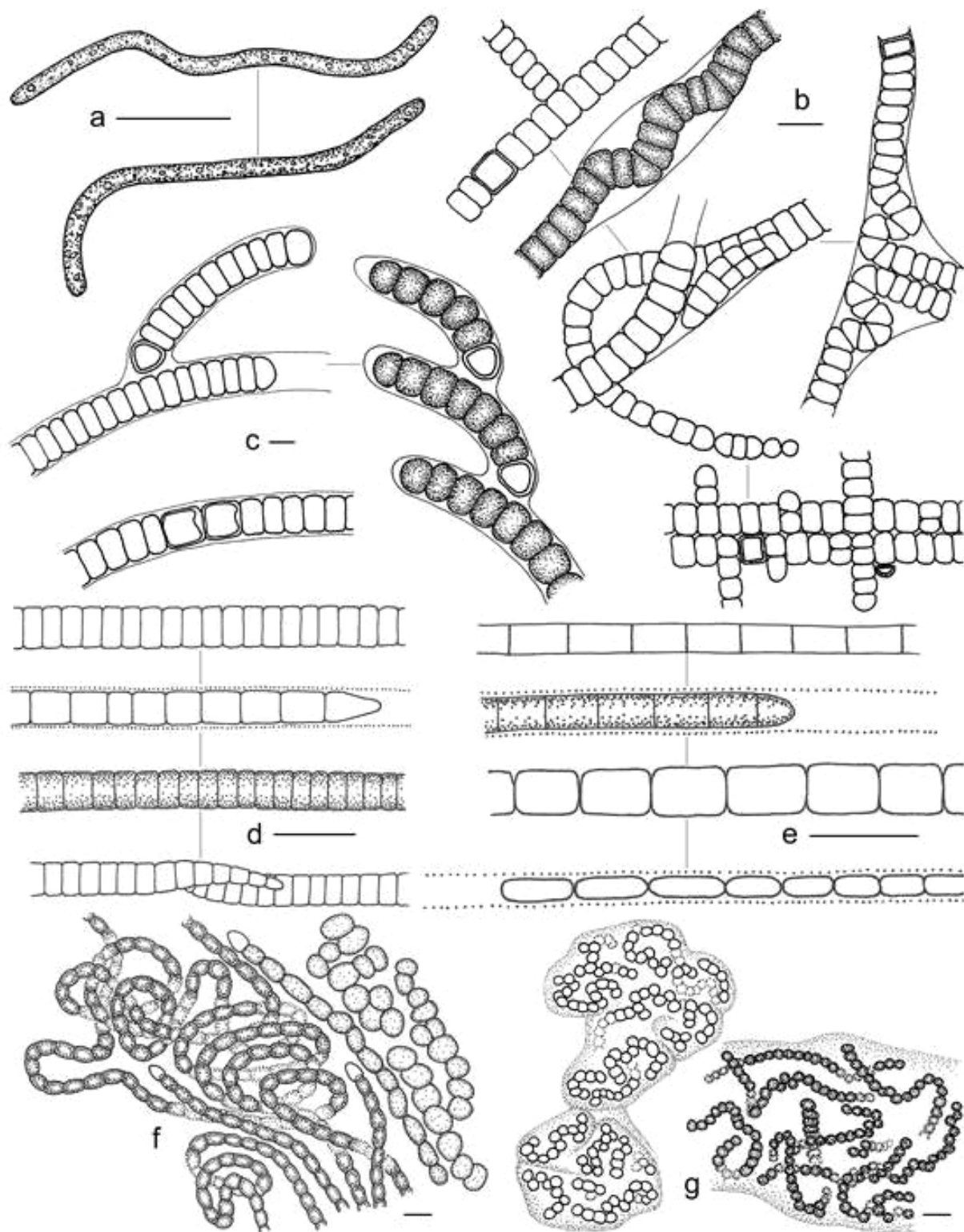
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (j, l-o) či 10  $\mu\text{m}$  (a-i, k).



### XI. Charophyceae, Zygnemaphyceae

**a** *Chlorokybus atmophyticus*; **b-e** *Klebsormidium* cf. *flaccidum* (**c** prázdňá zoosporangia; **d-e** bipolární klíčení zoospor); **f-j** *Klebsormidium* cf. *nitens* (**g** prázdňá zoosporangia; **h-i** unipolární klíčení zoospor; **j** atypický typ klíčení zoospor); **k** *Stichococcus minor*; **l** *Stichococcus minutus*; **m** *Cosmarium decedens*; **n** *Cosmarium obliquum*, var. *trigonum*; **o** *Cylindrocystis brebissonii*; **p-q** *Euastrum crassangulatum*; **r** *Mesotaenium* cf. *endlicherianum*; **s** *Mesotaenium chlamydosporum*; **t** *Penium spinospermum*.

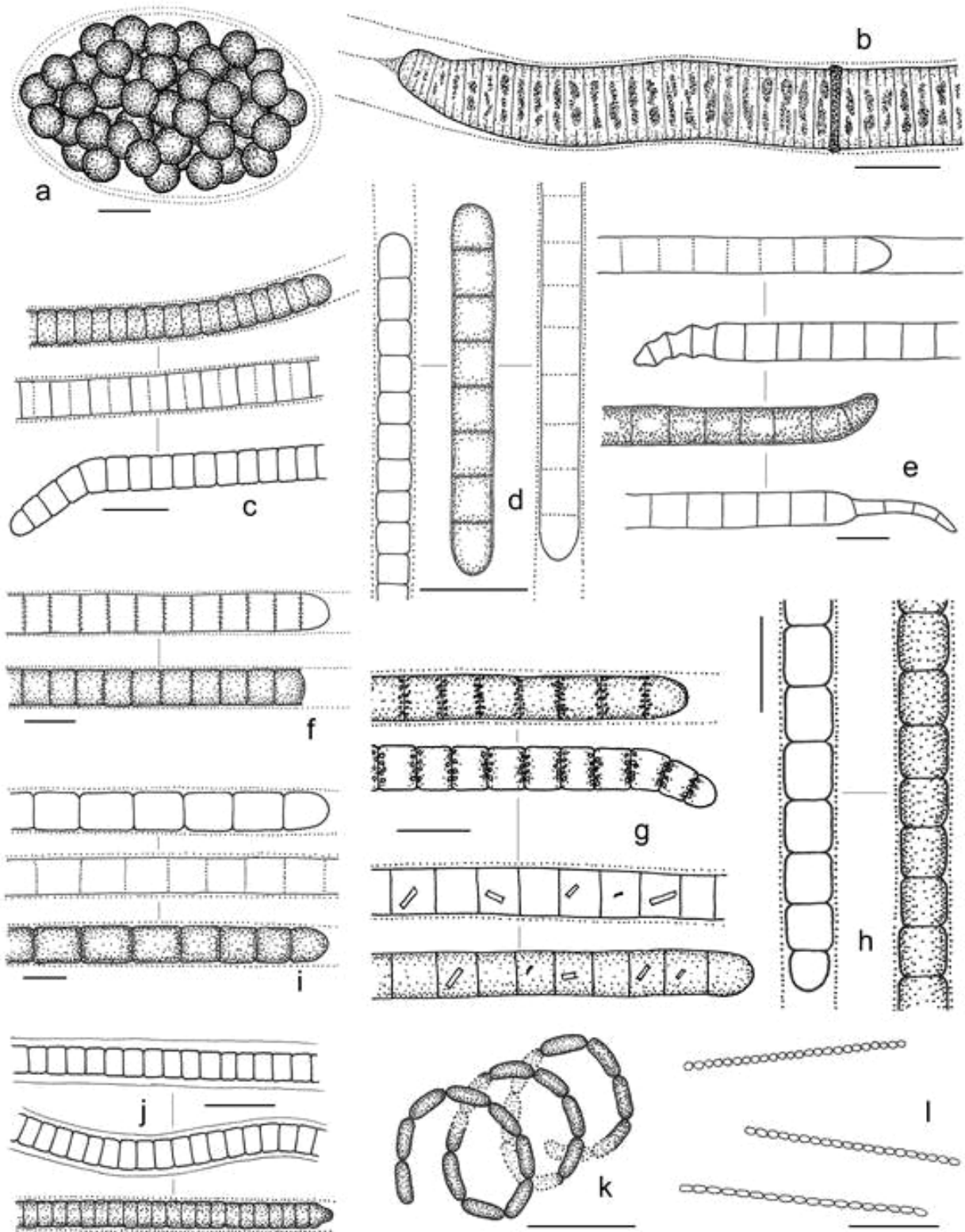
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (i, k-l, n) či 10  $\mu\text{m}$  (a-h, j, m, o-s).



## XII. Cyanobacteria 1

**a** *Beggiatoa minima*; **b** *Fischerella thermalis*; **c** *Hassalia byssoidea*; **d** *Leptolyngbya foveolarum*; **e** *Leptolyngbya tenuis*; **f** *Nostoc calcicola*; **g** *Nostoc* cf. *edaphicum*.

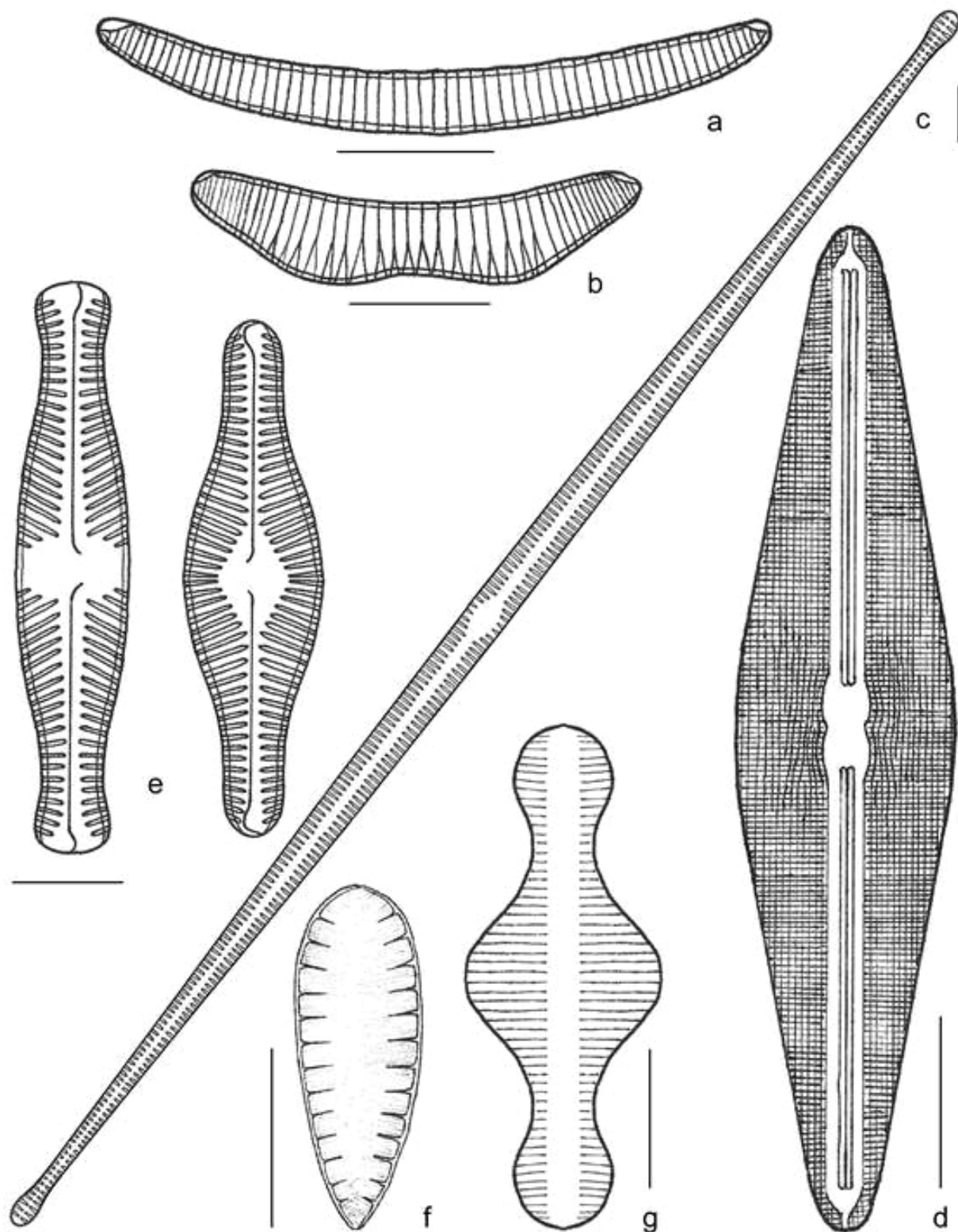
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (a, d-e) či 10  $\mu\text{m}$  (b-c, f-g).



### XIII. Cyanobacteria 2

**a** *Nostoc* sp.; **b** *Oscillatoria* cf. *curviceps*; **c** *Phormidium* *ambiguum*; **d** *Phormidium* cf. *animale*; **e** *Phormidium* *autumnale*; **f** *Phormidium* sp. 1; **g** *Phormidium* sp. 2; **h** *Phormidium* sp. 3; **i** *Phormidium* sp. 4; **j** *Phormidium* sp. 5; **k** *Pseudanabaena* *catenata*; **l** *Pseudanabaena* *galeata*.

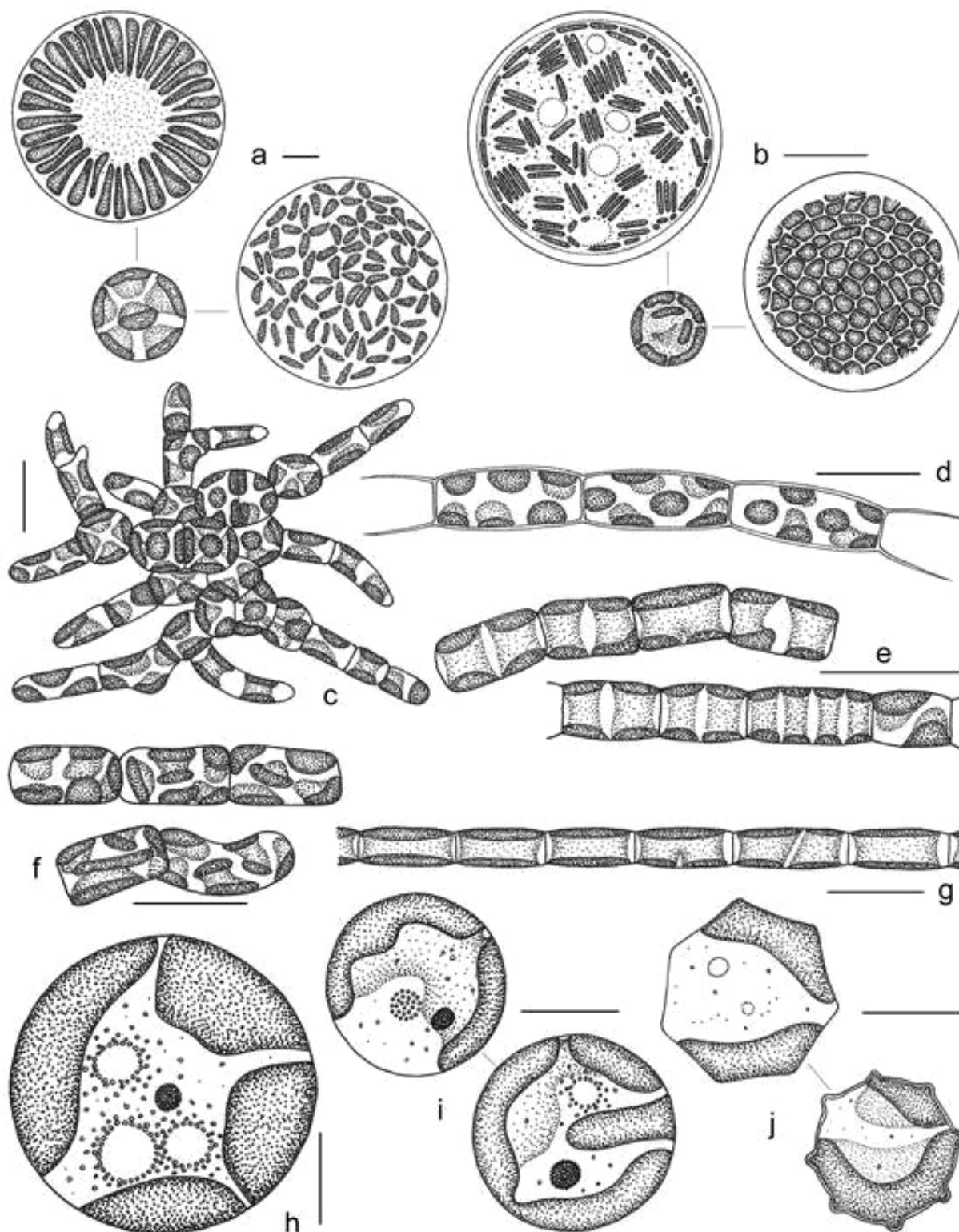
Úsečka zobrazuje 10  $\mu\text{m}$ .



#### XIV. Bacillariophyceae

**a** *Eunotia bilunaris*; **b** *Eunotia implicata*; **c** *Fragilaria ulna*; **d** *Frustulia rhomboides*;  
**e** *Pinnularia interrupta*; **f** *Surirella* cf. *minuta*; **g** *Tabellaria flocculosa*.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (g) či 10  $\mu\text{m}$  (a-f).

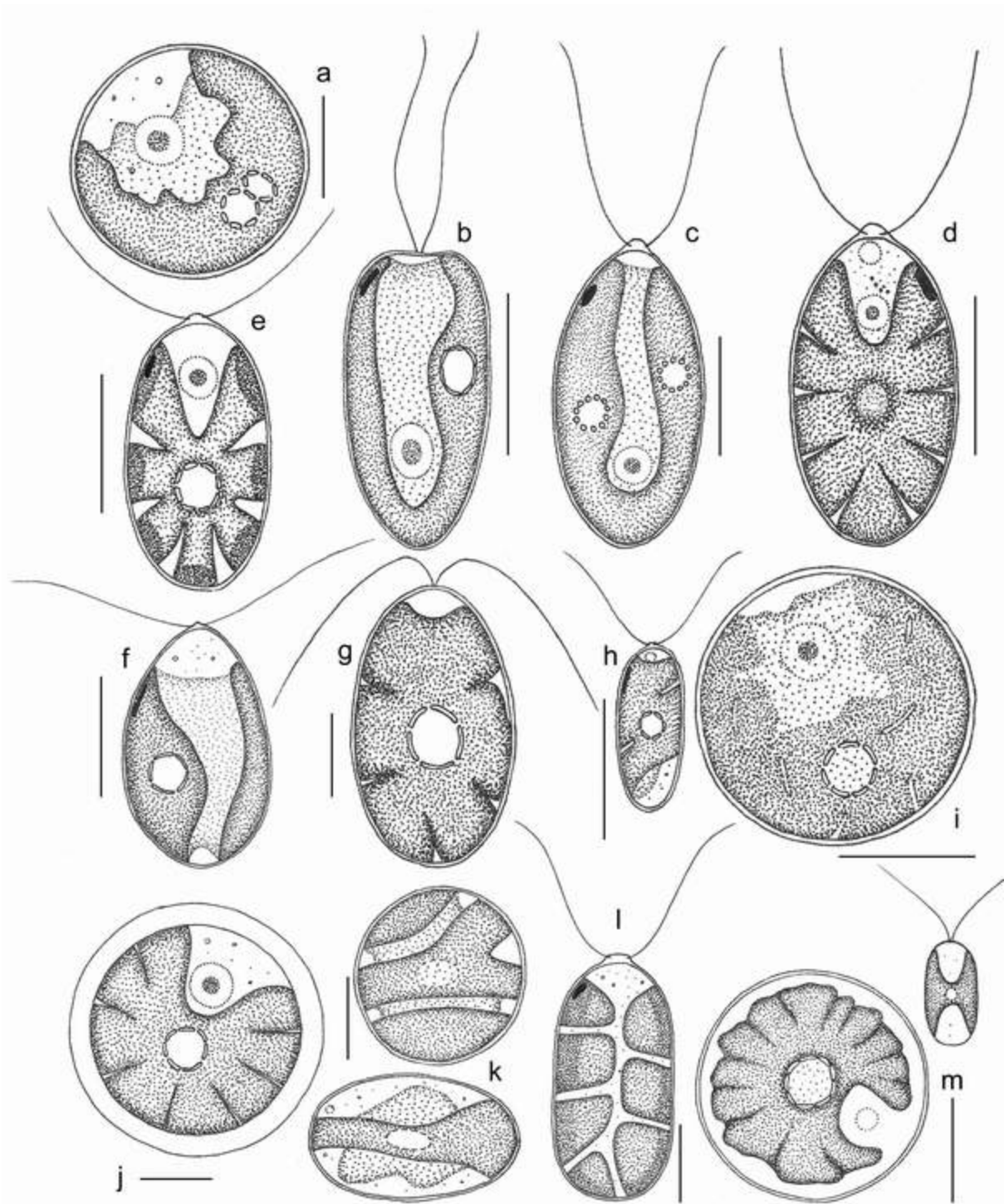


**XV. Xanthophyceae, Eustigmatophyceae**

**a** *Botrydiopsis pyrenoidosa*; **b** *Botrydiopsis* sp.; **c** *Heterococcus* cf. *crassulus*; **d** *Tribonema vulgare*; **e** *Xanthonema montanum*; **f** *Xanthonema solidum*; **g** *Xanthonema* sp.; **h** *Eustigmatos magnus*; **i** *Eustigmatos polyphem*; **j** *Vischeria stellata*.

Úsečka zobrazuje 10  $\mu\text{m}$ .

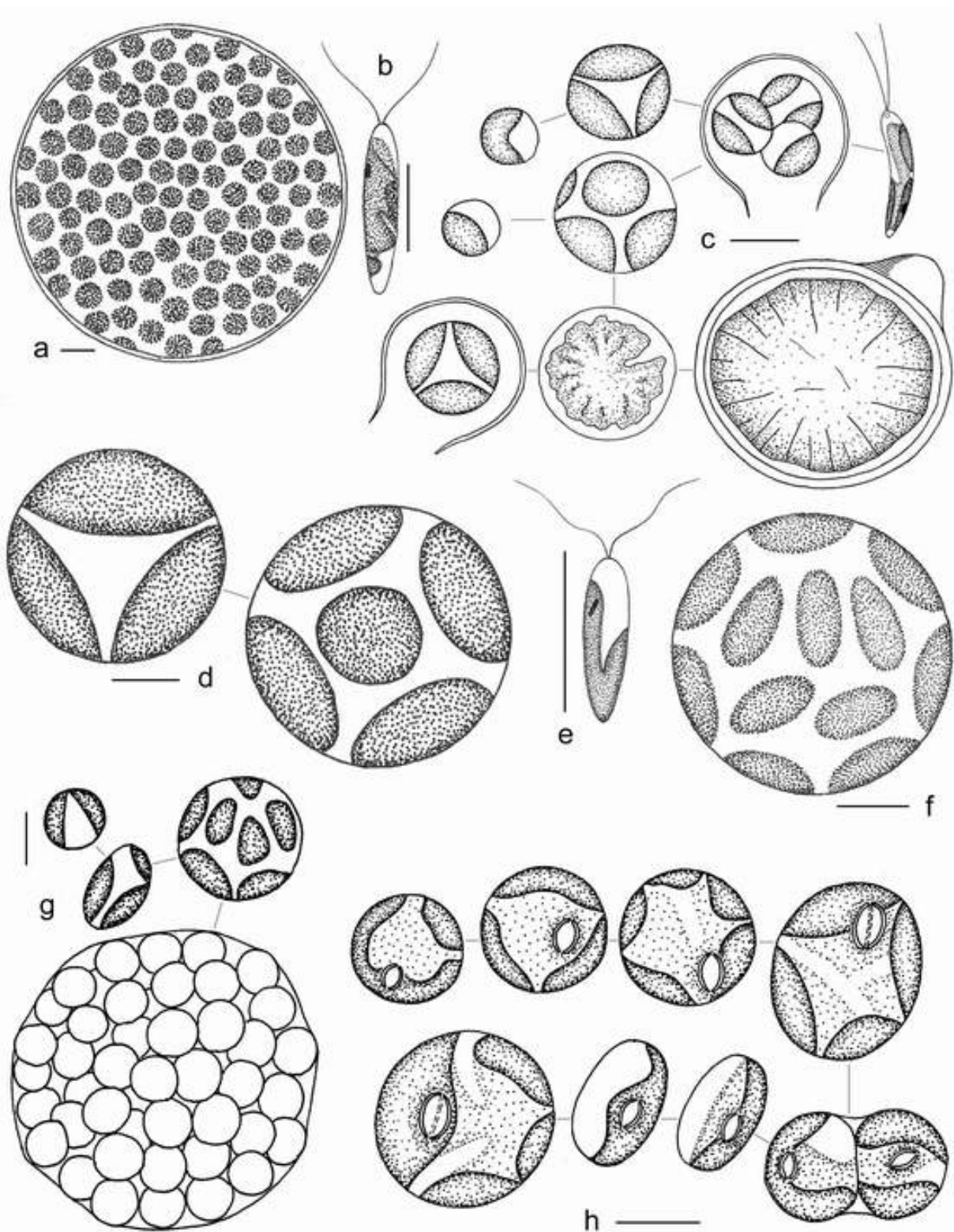




## XVI. Chlamydomphyceae

**a** *Fasciculochloris boldii*; **b** *Chlamydomonas callunae*; **c** *Chlamydomonas carrizoensis*; **d** *Chlamydomonas meslinii*; **e** *Chlamydomonas pseudintermedia*; **f** *Chlamydomonas* cf. *sestiniensis*; **g** *Chlamydomonas* sp.; **h-i** *Chlorococcum infusionum* (**h** zoospora); **j** *Chlorococcum lobatum*; **k** *Chlorococcum schizochlamys*; **l** *Chloromonas rosae*; **m** *Radiosphaera minuta*.

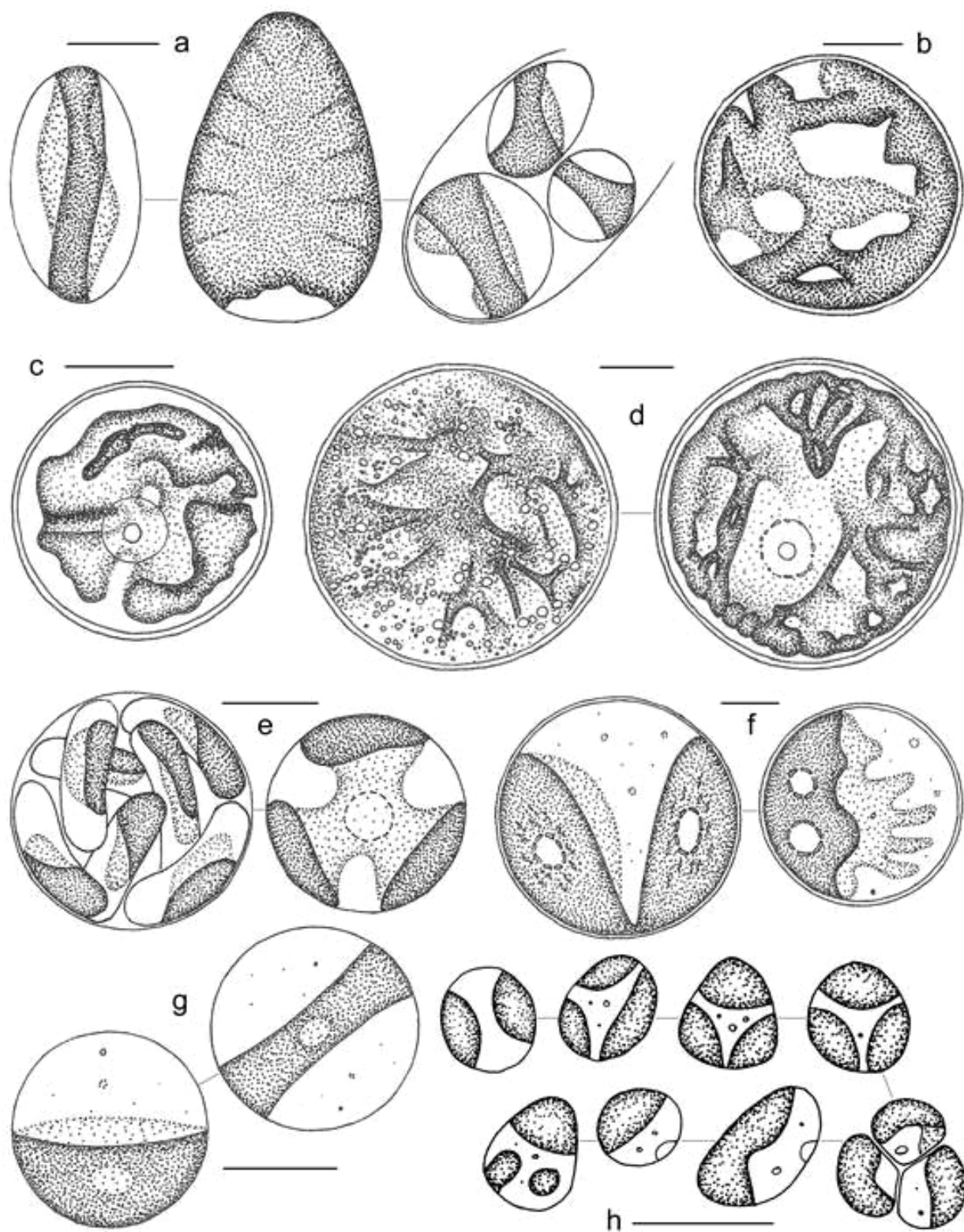
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (a-b, e-h, j-l) či 10  $\mu\text{m}$  (c-d, i).



## XVII. Chlorophyceae 1

**a-b** *Bracteacoccus* cf. *grandis* (**b** zoospora); **c** *Bracteacoccus minor*; **d** *Bracteacoccus pseudominor*; **e-g** *Bracteacoccus* sp. (**e** zoospora; **g** autosporangium s mladými autosporami); **h** *Coelastrella vacuolata*.

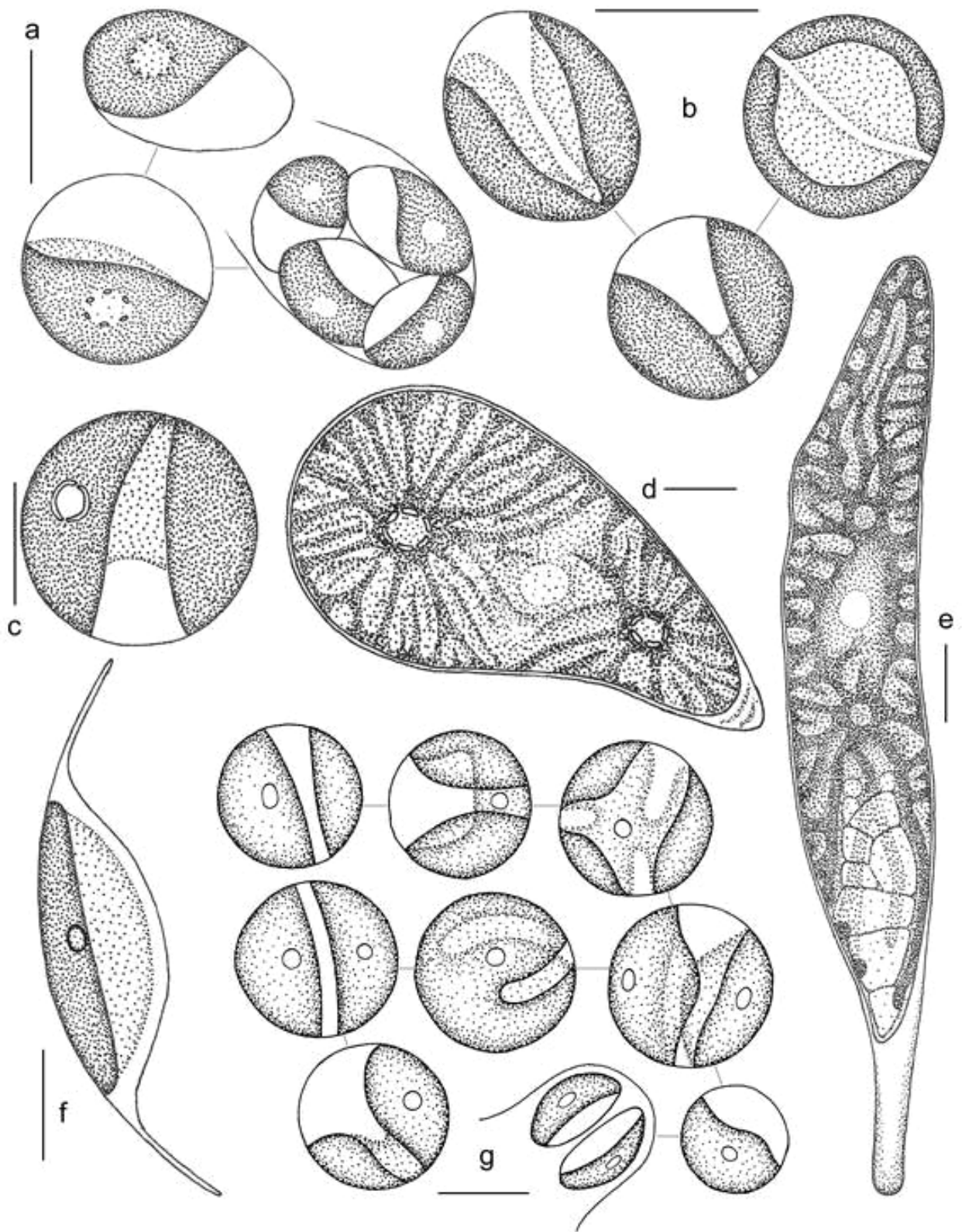
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (b-h) či 10  $\mu\text{m}$  (a).



### XVIII. Chlorophyceae 2

**a** *Coleochlamys* sp.; **b** *Dictyochloris pulchra*; **c** *Dictyochloropsis reticulata*; **d** *Dictyochloropsis splendida*; **e** *Elliptochloris subsphaerica*; **f** *Ettlia bilobata*; **g** *Chlorella* cf. *luteoviridis*; **h** *Chlorella minutissima*.

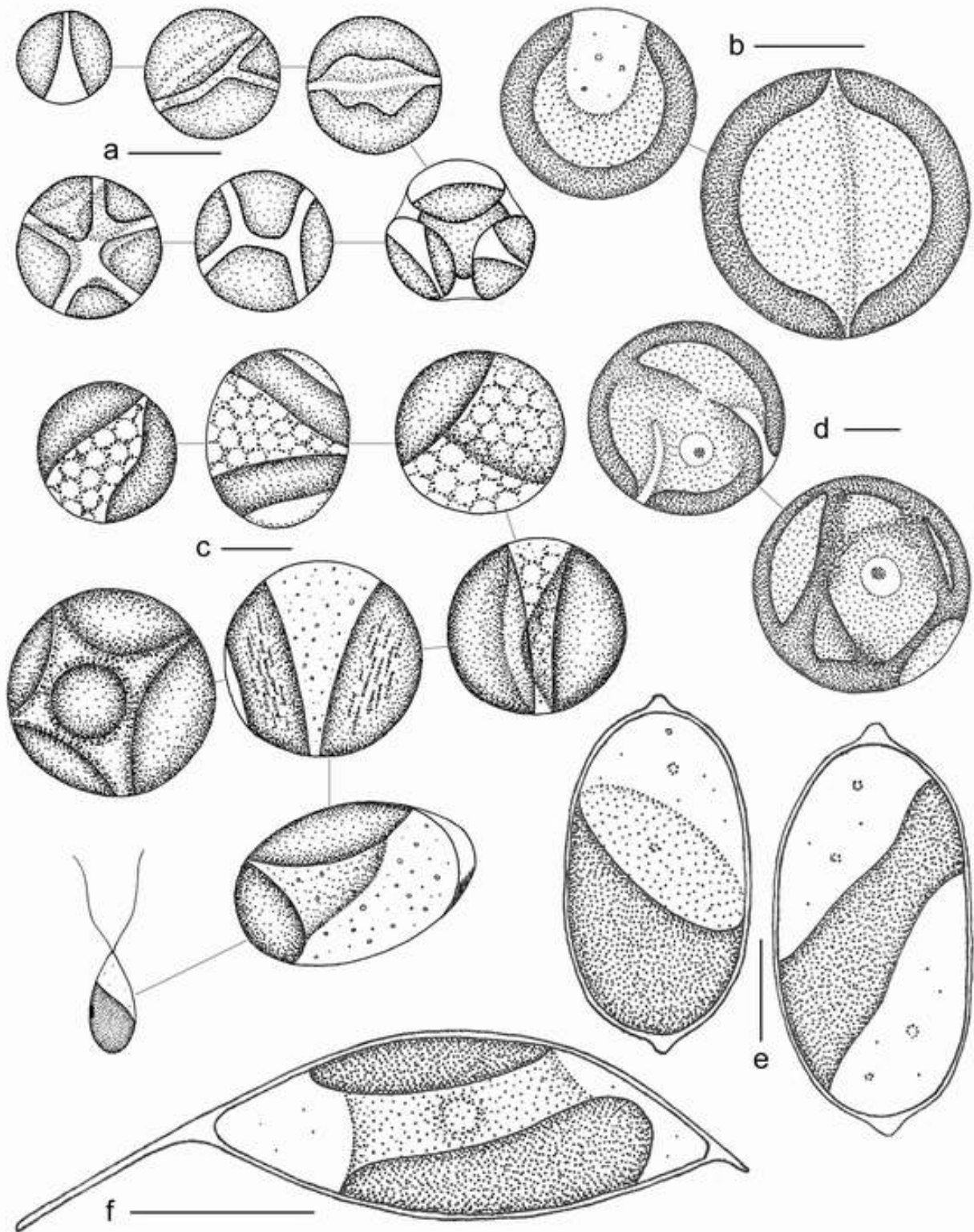
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .



### XIX. Chlorophyceae 3

**a** *Chlorella mirabilis*; **b** *Chlorella protothecoides*; **c** *Chlorella vulgaris*; **d** *Kentrosphaera gibberosa*; **e** *Kentrosphaera* sp.; **f** *Keratococcus bicaudatus*; **g** *Lobosphaeropsis lobophora*.

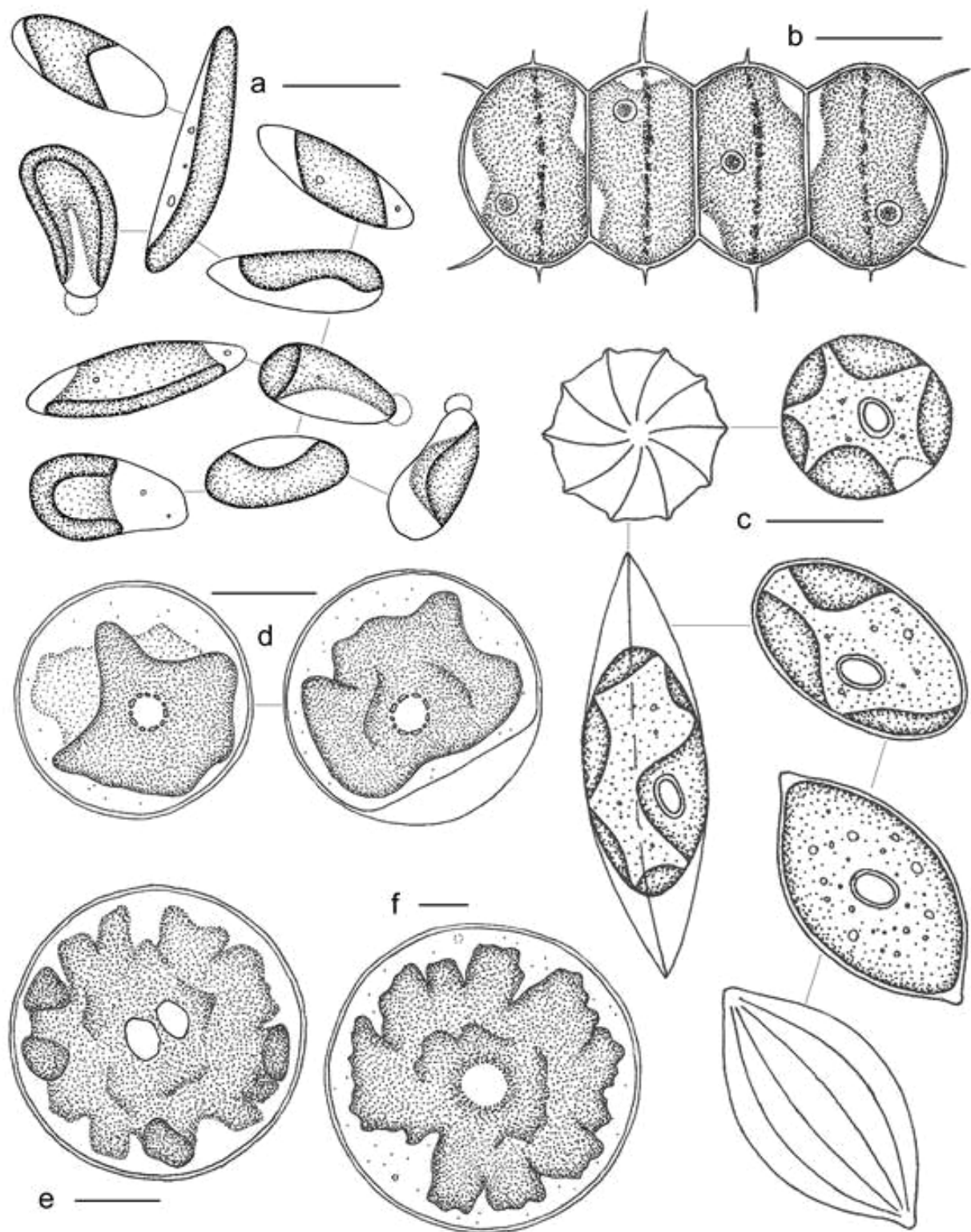
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (a-c, f-g) či 10  $\mu\text{m}$  (d-e).



**XX. Chlorophyceae 4**

**a** *Muriella terrestris*; **b** *Mychonastes homosphaera*; **c** *Myrmecia bisecta*; **d** *Myrmecia* cf. *incisa*; **e** *Oocystis parva*; **f** *Podohedra bicaudata*.

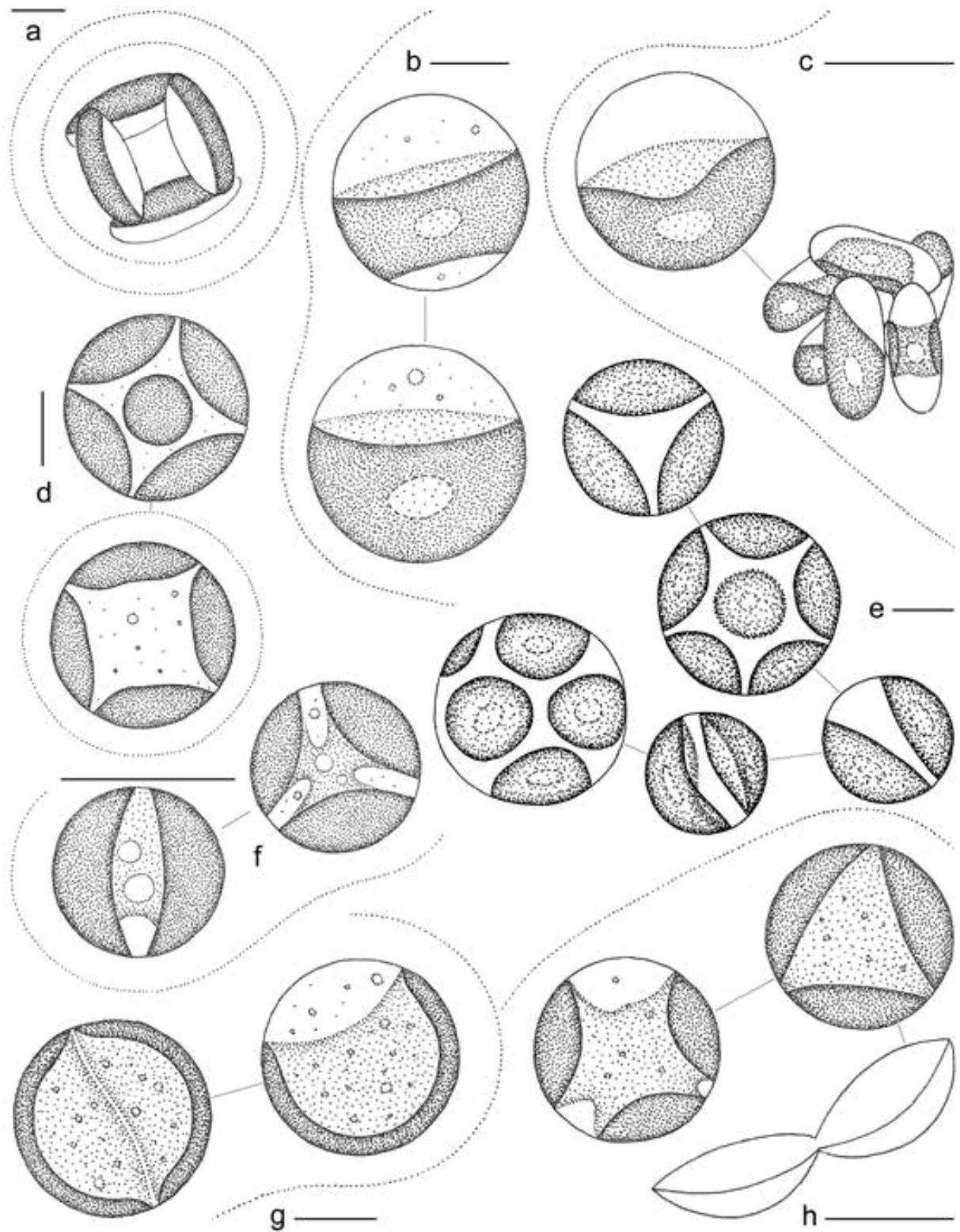
Úsečka zobrazuje 2  $\mu\text{m}$  (e) či 5  $\mu\text{m}$  (a-d, f).



## XXI. Chlorophyceae 5

**a** *Pseudococcomyxa simplex*; **b** *Scenedesmus soli*; **c** *Scotiellopsis oocystiformis*; **d** *Trebouxia arboricola*; **e** *Trebouxia potteri*; **f** *Trebouxia* sp.

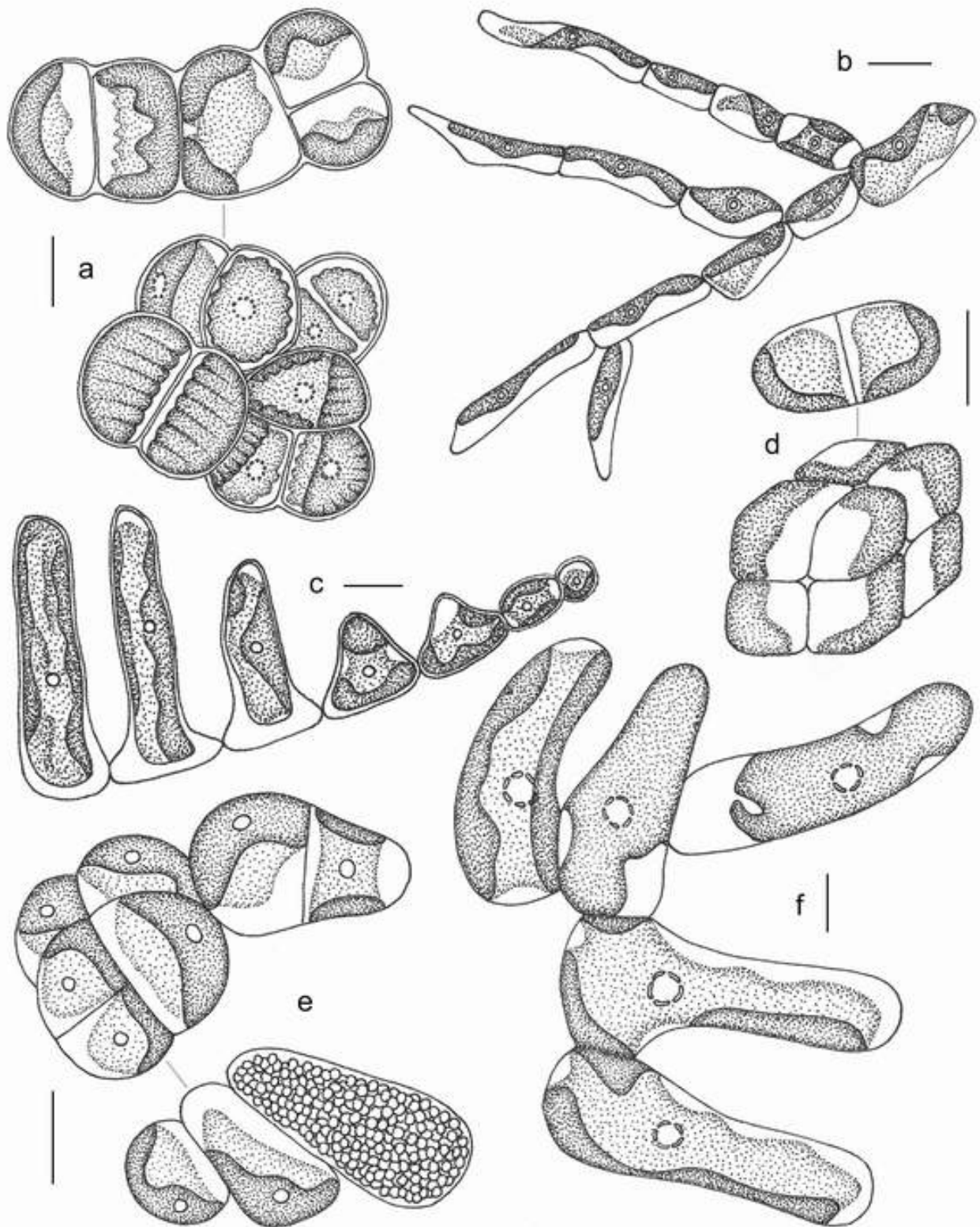
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .



## XXII. Chlorophyceae 6

**a** *Coccomyxa confluens*; **b** *Eutetramorus* cf. *fottii*; **c** *Eutetramorus* cf. *planctonicus*; **d** *Phacomyxa* sp.; **e** *Planktosphaeria gelatinosa*; **f** *Sphaerochlamydella minutissima*; **g** *Sphaerochlamydella* sp.; **h** *Sphaeroneocystis* sp.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .

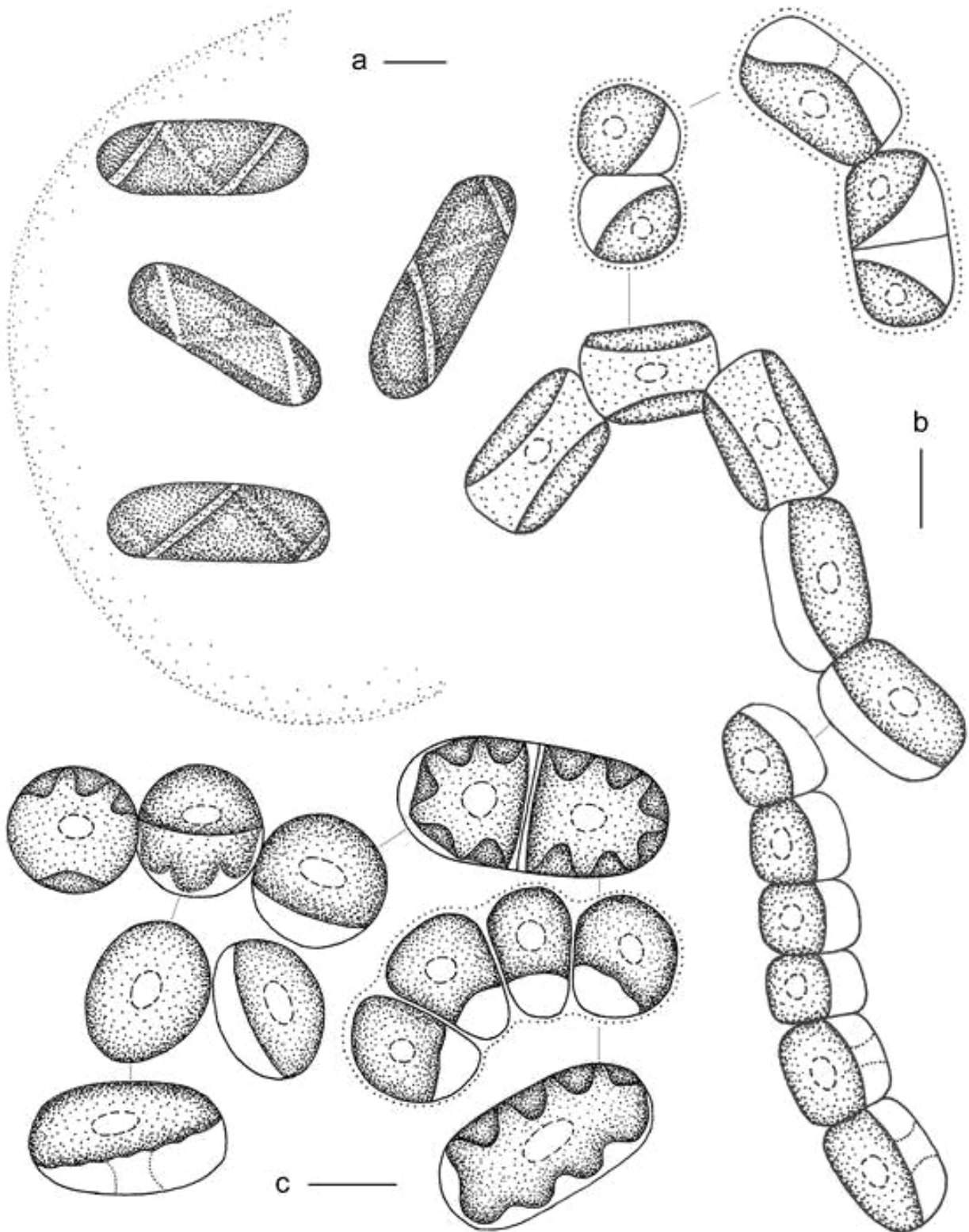


**XXIII. Chlorophyceae 7**

**a** *Desmococcus* sp.; **b** *Dilabifilum printzii*; **c** *Dilabifilum* sp.; **d** *Diplosphaera chodatii*; **e** *Leptosira* cf. *terricola*; **f** *Rhexinema paucicelulare*.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$  (a-b, d-f) či 10  $\mu\text{m}$  (c).

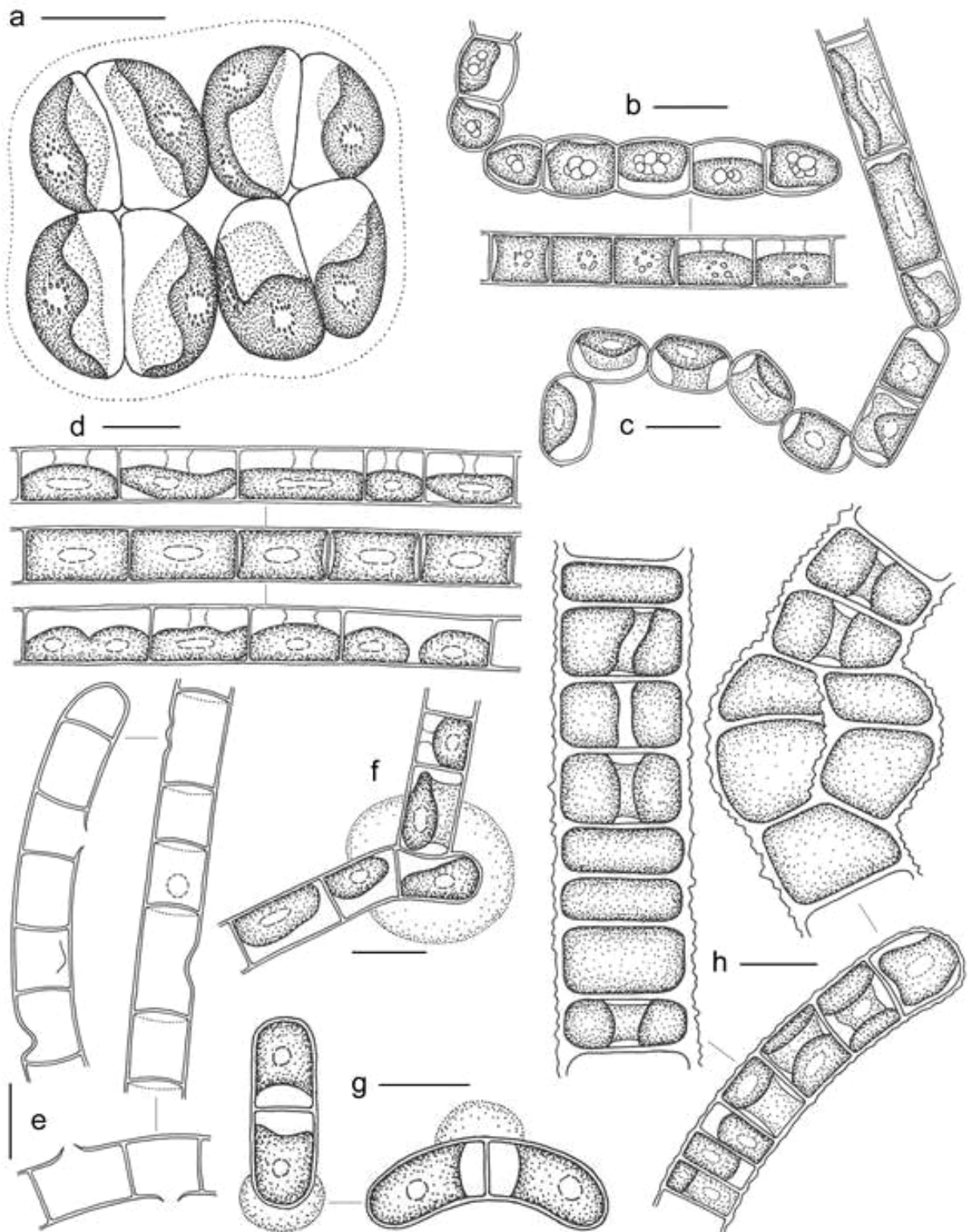




**XXIV. Ulvophyceae**

**a** *Fottea* sp.; **b** *Geminella interrupta*; **c** *Geminella terricola*.

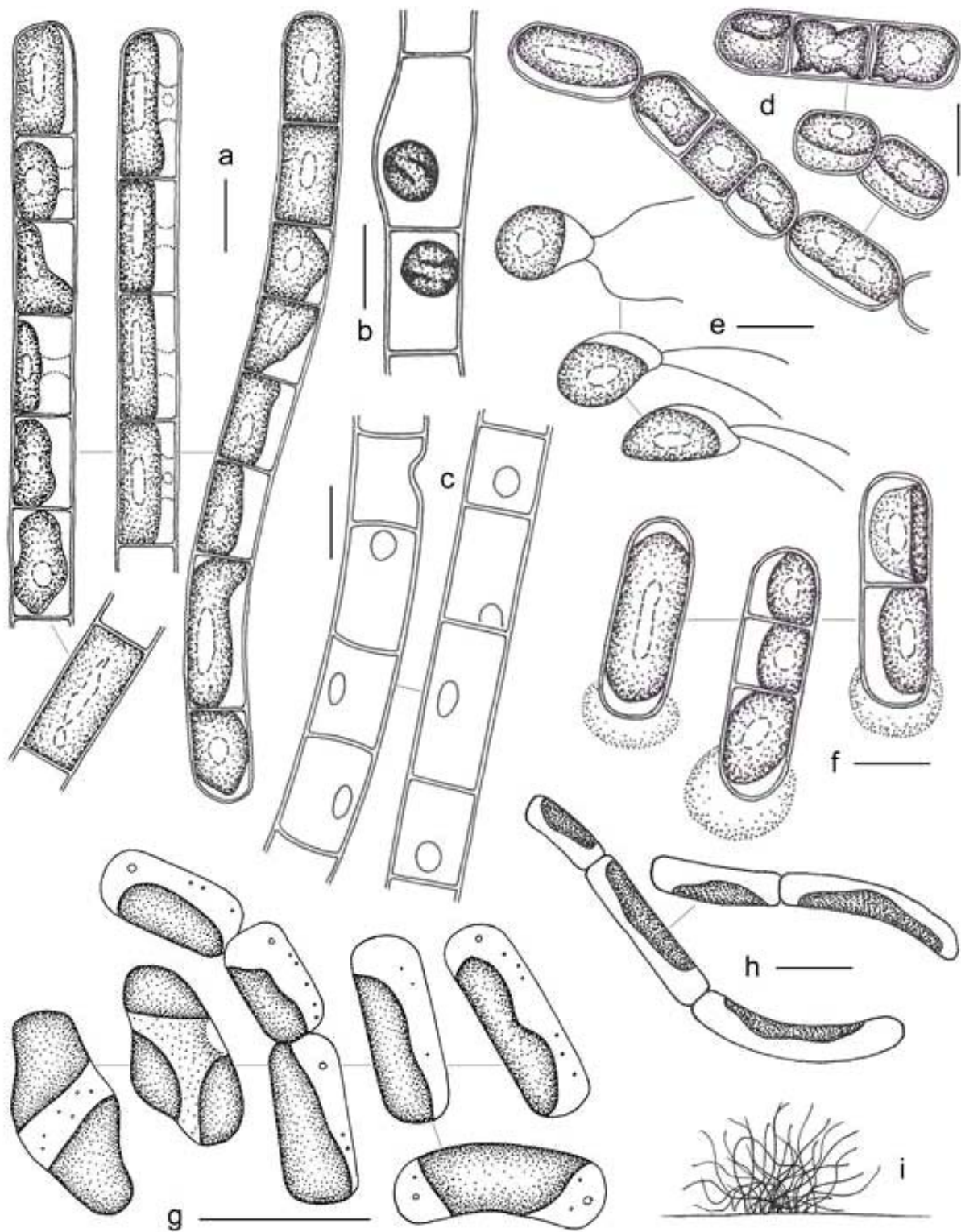
Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .



## XXV. Charophyceae 1

**a** *Chlorokybus atmophyticus*; **b-g** *Klebsormidium* cf. *flaccidum* (**c** desintegrace vlákn; **e** prázdňá zoosporangia; **f** tvorba slizovitého terčiku; **g** unipolární a bipolární klíčení zoospor); **h** *Klebsormidium mucosum*.

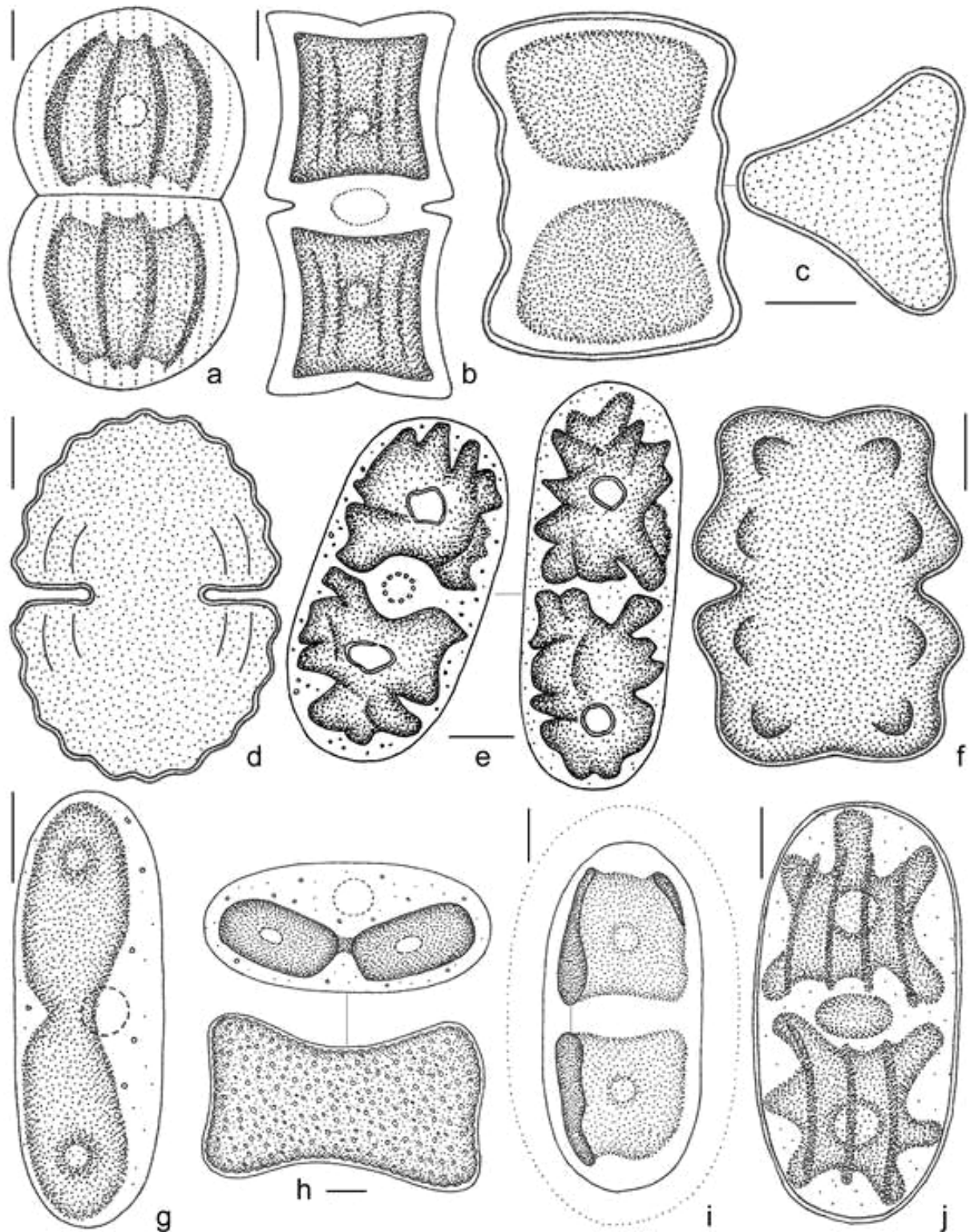
Úsečka zobrazuje 10  $\mu\text{m}$ .



## XXVI. Charophyceae 2

**a-f** *Klebsormidium* cf. *nitens* (**b** tvorba zoospor uvnitř vlákn; **c** prázdná zoosporangia; **e** zoospory; **f** unipolární klíčení zoospor); **g** *Stichococcus minor*; **h-i** *Stichococcus undulatus* (**i** tvar kolonie na agarové plotně).

Úsečka zobrazuje 10  $\mu$ m.



## XXVII. Zygnemaphyceae

**a** *Actinotaenium cucurbita*; **b** *Cosmarium decedens*; **c** *Cosmarium obliquum*, var. *trigonum* (boční a apikální pohled); **d** *Cosmarium undulatum*; **e** *Cylandrocystis brebissonii*; **f** *Euastrum crassangulatum*; **g** *Mesotaenium* cf. *endlicherianum*; **h** *Mesotaenium chlamydosporum* (tvar buňky a chlamydospory); **i** *Mesotaenium* sp.; **j** *Penium spinospermum*.

Úsečka zobrazuje 5  $\mu\text{m}$ .