

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Radka Nováková

**Autotrofní mikrobiální nárosty na jehlicích
nahosemenných dřevin ve vztahu ke znečištění ovzduší**

*Autotrophic microbial growths on needles of
gymnospermous trees in relation to air pollution*

Diplomová práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Neustupa, Ph.D.

Praha, 2013

Prohlášení:

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

V Praze, 6.5. 2013

Podpis

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat svému školiteli, Jiřímu Neustupovi, za vedení mé práce, jeho podporu a důvěru v mé počínání. Mé díky patří všem členům algologické skupiny na katedře botaniky PŘF UK za příjemné, přátelské a inspirativní pracovní prostředí. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat i mé rodině a přátelům, kteří mě po celou dobu mých studií podporovali a poskytli mi jiný náhled a nápady pro moji práci.

Abstrakt

Aero-terestrické řasy se vyskytují na širokém spektru substrátů jako jsou půda, povrchy rostlin, povrch kamenů a skal i různé antropogenní substráty. Pro tuto skupinu je typická morfoloická konvergence směrem ke kokálním nebo vláknitým stélkám způsobená vysokou frekvencí desikačního stresu. Řasy jsou hojně využívány k bioindikaci ekologického stavu různých biotopů, nejčastěji vodních, ale i k bioindikaci stavu ovzduší. Moje práce se zabývá studiem podmínek ovlivňujících výskyt autotrofních mikrobiálních nárostů na jehlicích smrku ztepilého a tisu červeného a vlivem kvality ovzduší na tyto nárosty. Výsledky ukazují, že výskyt nárostů na jehlicích je primárně určen orientací ke světovým stranám. Nezanedbatelnou roli ovšem hraje také kvalita ovzduší, která měla nejvýraznější vliv na relativní proporci řas v nárostech ve vztahu k jejich heterotrofním složkám.

Klíčová slova:

aero-terestrické řasy, autotrofní mikrobiální nárosty, klimatické podmínky, bioindikace, kvalita ovzduší, jehličnany

Summary

Aero-terrestrial algae occur on a wide range of substrates, such as soil, plant, stone and rock surfaces and also on a variety of anthropogenic substrates. Morphological convergence towards coccoid or filamentous thalli, caused by frequent desiccation stress, is typical for this group. Algae are frequently used for biomonitoring of various biotopes, mostly water biotopes, but also for bioindication of air quality. My diploma thesis is based on a study of autotrophic microbial growths on spruce and yew needles in relation to various air quality measures evaluating air pollution of sites. The results show that the occurrence of microbial growths on needles is primarily influenced by the orientation towards cardinal points. However, the air pollution factors also proved to be significantly related to the quantitative measures of the microbial assemblages. Among them, the relative proportion of algae in microbial growths was the most tightly related to air pollution.

Key words:

aero-terrestrial algae, autotrophic microbial growths, climatic conditions, bioindication, air quality, gymnospermous trees

Obsah

1 ÚVOD	6
1.1 AERO-TERESTRICKÉ ŘASY.....	6
1.2 BIOINDIKACE	7
2 CÍLE PRÁCE	13
2.1 CHOTÍKOVSKÁ STUDIE.....	13
2.2 PRAŽSKÁ STUDIE	14
3 METODIKA	15
3.1. CHOTÍKOVSKÁ STUDIE.....	15
3.1.4.1 JEDNOROZMĚRNÉ ANALÝZY	17
3.1.4.2 MNOHOROZMĚRNÉ ANALÝZY	17
3.2 PRAHA.....	18
3.2.5.1 ATLAS ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ.....	19
3.2.5.2 JEDNOROZMĚRNÉ ANALÝZY	20
3.2.5.3 MNOHOROZMĚRNÉ ANALÝZY	21
4 VÝSLEDKY	23
4.1 CHOTÍKOV.....	23
4.2 PRAHA.....	24
4.2.1.1 LINEÁRNÍ KORELACE	25
4.2.1.2 NEMETRICKÉ MNOHOROZMĚRNÉ ŠKÁLOVÁNÍ (NMDS)	27
4.2.1.3 MNOHOROZMĚRNÉ ANALÝZY (MANOVA).....	28
4.2.2.1 LINEÁRNÍ KORELACE	30
4.2.2.2 NEMETRICKÉ MNOHOROZMĚRNÉ ŠKÁLOVÁNÍ (NMDS)	31
4.2.2.3 MNOHOROZMĚRNÉ ANALÝZY (MANOVA).....	32
4.2.2.4 ČETNOSTI JEHLIC RŮZNÉHO STÁŘÍ	35
4.3 EXPERIMENTÁLNÍ KULTIVACE	36
5 DISKUZE	37
5.1 VZÁJEMNÉ VZTAHY JEDNOTLIVÝCH PARAMETRŮ.....	37
5.2 VARIABILITA V RÁMCI PARAMETRŮ C, T A AA.....	39
5.3 VZTAH PARAMETRŮ C, T A AA A KVALITY OVZDUŠÍ V PRAZE	39
5.4 HODNOCENÍ MIKROBIÁLNÍCH NÁROSTŮ NA JEHLICÍCH SMRKU A TISU.....	40
6 ZÁVĚR	42
7 LITERATURA	43
8 PŘÍLOHY	47

1 Úvod

1.1 Aero-terestrické řasy

Skupina aero-terestrických řas se, jak název napovídá, vyskytuje ve vzdušném a půdním prostředí. Obývají velmi široké spektrum substrátů, příkladem mohou být borka a listy stromů, půda, kameny a skály, půdní krusty aridních oblastí, ale i antropogenní substráty jako betonové zdi, kamenné sochy, staré železné konstrukce, dřevěné ploty, dokonce i zvířecí chlupy (Lewin & Robinson 1979, Metting 1981, Lamenti et al. 2000, Lewis & Flechtner 2002, Rindi & Guiry 2002, Gorbushina 2007, Freystein 2008). Zvláštní skupinou jsou řasy nacházející se v lišejnících (Ahmadjian 1993). Znalost jejich diverzity je oproti vodním řasám dosud značně opožděná a nedostatečná, což je způsobeno jejich morfologickou adaptací k životním podmínkám (Rindi et al. 2009). Jelikož vzduch je pro řasy spíše nehostinné a stresující prostředí s neustálým nedostatkem vody, má většina zelených aero-terestrických řas jeden z následujících typů stélky: 1) jednotlivé kokální buňky, 2) sarcinoidní balíčky, 3) vlákna ať jednoduchá nebo větvená (Rindi et al. 2009). Tato morfologická konvergence způsobila, že v některých případech je pro správnou determinaci organismu dokonce i na úrovni samotné třídy třeba použít molekulárních metod. A právě díky rozmachu molekulárních metod jsou stále popisovány nové druhy aero-terestrických řas z celého světa (Rindi et al. 2006, Zhang et al. 2008, Němcová et al. 2011, Neustupa et al. 2011, Neustupa et al. 2013). Nicméně dochází i k opačnému trendu a to ke zjišťování, že některé organismy popisované jako separátní druhy jsou ve skutečnosti geneticky totožné (Eliáš et al. 2013). Co se týče rozmanitosti, mnoho řasových skupin se přispůsobilo aero-terestrickému způsobu života. Jsou to např. Cyanobacteria, Chlorophyceae, Trebouxiophyceae, Bacillariophyceae, Ulvophyceae, Klebsormidiophyceae a Zygnematophyceae (Rindi et al. 2009). Ekofyziologické testy ukázaly, že aerofytické řasy i přes svou adaptaci k tomuto prostředí stále potřebují ke svému rozmnožování a schopnosti fotosyntetizovat velmi vysokou vzdušnou vlhkost. Ideální vzdušná vlhkost pro tyto procesy je 100 %, což představuje omezení pro tyto řasy vyskytující se mimo tropické deštné pralesy, kde taková vlhkost vzduchu může být (Haubner et al. 2006). Dalšími typickými vlastnostmi aero-terestrických řas je přizpůsobení se k nízkým teplotám a odolnost k vysychání (Lüttge & Büdel 2010).

Aerofytické řasy mohou mít značný vliv na ekosystém, ve kterém žijí. Např. půdní řasy dosahují vysokých abundancí v několika horních centrimetrech půdy odkud jsou postupně vyplavovány do spodních vrstev, kde tvoří velmi důležitý zdroj živin pro ostatní organismy (Gollerba & Shtina 1970). Z lidského pohledu mají půdní řasy značný význam v polních produkcích a to zejména na rýžových polích, kde přítomné sinice fixují potřebný dusík v řádu desítek kilogramů za rok na hektar (Nayak et al. 2004).

Zcela nepostradatelnou úlohu mají řasy v aridních oblastech, kde jsou součástí společenstev biologických půdních krust. Tato společenstva (lišejníky, mechy, hlevíky, řasy, sinice, houby a bakterie) jsou nenahraditelná díky své schopnosti zabraňovat erozi a ztrátám půdy a vody. Zároveň mají důležitou roli ve vázání uhlíku a dusíku, které dodávají do půdy. Jejich přítomnost podporuje i klíčení rostlin a přežívání semenáčků. Biologické půdní krusty jsou nicméně velmi citlivé k disturbancím z nichž se velmi pomalu regenerují (Evans & Johansen 1999, George et al. 2003).

Někdy naopak mohou aerofytické řasy škodit a to například tím, že porůstají veliké plochy listů, čímž významně snižují rychlost fotosyntézy nebo na jejich listech přímo parazitují. To mohou být epifytické zelené kokální řasy rostoucích na povrchu jehlic smrku a borovice, které mohou za vysokých abundancí snížit fotosyntézu stromu v extrémních případech až o 10% (Burg 1990). Nebo příklad z tropických oblastí – parazitické endofytické řasy rodů *Cephaleuros* a *Stomatochroon*. Ty poškozují listy rostlin i jejich plody, což je problém např. na čajových nebo kávových plantážích. Z lidského pohledu je významná i skutečnost, že široké spektrum řas porůstá i kamenné historické budovy, kamenné sochy, náhrobní kameny atd. a tím je poškozují (Macedo et al. 2009). Proto existuje nemálo studií, které se věnují vyhledávání vhodných algicidů a přípravků na likvidaci řas. Lze najít i značné množství knih a internetových stránek, které jsou určeny jak pro odborníky, tak pro laiky, věnující se ošetřování těchto objektů.

1.2 Bioindikace

Bioindikace je koncept hodnocení stavu a změn životního prostředí pomocí organismů. Používá se k hodnocení kvality vody, půdy nebo ovzduší. Je zřejmé, že dobrý stav životního prostředí je naprosto klíčový pro život na Zemi a je potřeba za každou cenu bránit znečišťování těchto přírodních zdrojů. Ke sledování změn (snižování/zvyšování koncentrací škodlivých/toxických látek) v našem prostředí je nejvhodnější použít organismy citlivé na změny v koncentracích v těchto látkách. Změny je možné měřit i přístroji, nicméně výsledky neříkají nic o vlivu na žijící organismy, který nás ale primárně zajímá. V současné době existuje mnoho bioindikačních metod využívajících široké spektrum organismů. Zde se budu věnovat především mikrořasám.

1.2.1 Bioindikace kvality vody

Škála organismů, které byly zkoumány a potvrzeny jako vhodné bioindikátory odrážející stav vodních ekosystémů je široká. Jsou to např. různí bezobratlí – lasturnatky, komáří larvy, brouci, plži – hromadící ve svých tělech různé (toxické) látky, makrofyta a mikroskopické řasy (de Bisthoven et al. 2005, Jozwiak et al. 2010, Burghelca et al. 2011, Favas et al. 2012, Bak & Szlauer-Lukaszewska 2012). Z mikrořas to jsou v tekoucích vodách především rozsivky a ve stojatých vodách, zvláště rašeliništích, krásivky.

Trophic Diatom Index (TDI) je jednou z metod používaných k hodnocení trofie tekoucích vod pomocí bentických rozsivek. Každému druhu rozsivky je přiřazena hodnota vyjadřující jejich citlivost k přítomnosti živin a indikační hodnota, z nichž se následně vypočte TDI vypovídající o stavu sledovaného vodního toku (Kelly & Whitton 1995). Tato metoda byla vyvinuta v rámci European Framework Directive on Water zavazující všechny státy EU dosáhnout určitého uspokojivého stavu tekoucích vod. Ve Spojených státech amerických existuje obdobný celonárodní program sledující kvalitu vody, její změny a co tyto změny způsobuje (<http://water.usgs.gov/nawqa/>). Jmenuje se NAWQA (National Water Quality Assessment) a TDI je rovněž jednou z využívaných metod.

Nature Conservation Value index (NCV; Coesel 2001) je založen na pozkouvání skladby krásivkových společenstev, vyhodnocení jejich vzácnosti a sloužící tak ke zdůraznění smyslu ochrany daných lokalit. Vychází se ze tří hodnot: *d* (diversity) je hodnota vypovídající o počtu druhů ve společenstvu, *r* (rarity) je vzácnost daného druhu a *m* (maturity) v jakém typu prostředí se druh nachází. Součtem těchto hodnot dostaneme výsledek odpovídající ochranné hodnotě celého společenstva. Ta se pohybuje v rozmezí 1 – 10, přičemž vysoké hodnoty značí vyspělé lokality s mnoha vzácnými druhy, které zasluhují vysokou pozornost v managementu ochrany vodních těles. Krásivky jsou velmi citlivé organismy na změny životního prostředí, proto jsou k hodnocení změn stavu životního prostředí vhodné. Obě tyto popsané metody jsou náročné na znalost taxonomie zkoumaných řas, v případě NCV nastává problém týkající se rozšíření krásivek. Hodnoty *r* se totiž mezi regiony mohou značně lišit.

Kvalita vody se nehodnotí pouze na základě trofie (obsah dusíku a fosforu), protože dalším důležitým zdrojem znečištění jsou i jednoduše rozložitelné organické látky. Nicméně procesy eutrofizace a saprobizace se vzájemně provázejí. O stupni saprobity (znečištění organickými látkami) vypovídají celá společenstva organismů. Ta nejméně znečištěná mají mnoho druhů organismů spíše v nízkých abundancích a převládají fotosyntetické procesy (zelené řasy, makrofyta). Znečištěná společenstva se vyznačují nízkým počtem druhů ve vysokých abundancích a převládají spíše rozkladné procesy (heterotrofní bičíkovci, nálevníci). Rozlišuje se 9 stupňů saprobity: xeno-, oligo-, beta-meso-, alfa-meso-, poly-, iso-, meta-, hyper- a ultrasaprobity, tedy 0 – 8 (Sládeček & Sládečková 1996). Každému organismu je v tabulkách

přiřazen saprobní index (S_i) a jeho indikační váha (I_i). Saprobní index celého společenstva získáme s použitím jednoduchého vzorce:

$$S = \frac{\sum(S_i \cdot h_i \cdot I_i)}{\sum(h_i \cdot I_i)}$$

kde h znamená abundanci daného druhu. Ač je tento vzorec jednoduchý k použití, metoda je velmi náročná na znalost taxonomie od jednobuněčných organismů až po obratlovce a cévnaté rostliny a vyžaduje dlouhodobou zkušenost.

I v laboratorních podmínkách se k ekotoxikologickým testům používají řasy, které jsou k některým látkám citlivější než živočichové. Jedná se hlavně o detergenty, produkty textilních továren, barviva a herbicidy. Nejpoužívanější řasou v těchto biotestech je *Selenastrum capricornutum* (Arensberg et al. 1995, Graham et al. 2009).

1.2.2 Bioindikace kvality ovzduší

Kvalita ovzduší a množství znečišťujících látek, které se v něm vyskytují, se odráží na organismech různými způsoby. Může to být např. žloutnutí a brzké opadávání jehlic smrků, akumulace škodlivin v listech stromů, stélkách lišejníků a mechů, absence/presence lišejníků, snížení abundance krytének a řas či změna druhového složení řasových společenstev (např. Nihlgård 1985, Freystein 2008, Svoboda 2010, Grandin 2012, Meyer et al. 2012, Mikhailova 2012, Rodriguez 2012, Harmens 2013). Lišejníky jsou již dlouho známé svou citlivostí ke znečišťujícím látkám a proto jsou také nejčastěji používány k hodnocení kvality ovzduší. Je více než pravděpodobné, že za citlivost lišejníků ke znečištění ovzduší jsou odpovědní jejich fotobionti. Bylo totiž prokázáno, že vysoké koncentrace škodlivých látek poškozují buňky řas ve stélce lišejníku (Holopainen 1984, Tarhanen 2000). Existují různé metody hodnocení kvality ovzduší pomocí lišejníků. Pravděpodobně tou nejpoužívanější je v současnosti metoda Lichen Diversity Value (LDV), která hodnotí na základě druhového složení lišejníků dané lokality míru znečištění ovzduší. Mechy mohou koncentrovat ve svých stélkách různé látky vyskytující se v ovzduší a proto jsou také vhodnými organismy pro biomonitoring ovzduší. Příkladem může být hojně používaný druh *Hylocomium splendens* (Solga & Frahm 2006, Poikolainen et al. 2009). Také kryténky žijící v meších reagují na koncentrace látek v ovzduší – zejména na oxidy dusíku a těžké kovy. Dochází ke snížení abundancí nebo dokonce k lokálním extinkcím některých druhů (Meyer et al. 2012).

Ani řasy rostoucích na kmenech stromů nebyly ponechány bez pozornosti. Byly pozorovány jejich abundance i složení společenstev a zkoumán jejich vztah jak ke klimatickým podmínkám tak také i ke znečištění ovzduší. Výsledkem jsou zjištění, že výskyt těchto řas, podobně jako u lišejníků, je primárně určen klimatickými podmínkami (zeměpisná poloha, nadmořská výška, množství srážek, průměrná roční teplota) i mikroklimatickými podmínkami (druh stromu, stáří a

hustota porostu) nicméně nemalý vliv má i kvalita ovzduší. Jedna studie ukázala, že řasy na kmenech dosahují menších abundancí v centru města (Köln), kde se v ovzduší vyskytuje mnoho škodlivin. Vyšších abundancí dosahují spíše ve středně znečištěných oblastech, kde látky v ovzduší slouží již jako živiny a nejsou pro řasy toxické jako v centru města (Brück 1983). Detailní studie Freystein et al. (2008) popisuje konkrétní druhy řas na borce stromů v různých oblastech města Leipzig. Ukázalo se, že řasy specificky reagují na koncentrace látek v ovzduší – některé druhy dobře snášejí vysoké koncentrace škodlivin, zatímco jiné druhy se vyskytují pouze v oblastech s nízkým znečištěním. Tyto vyhraněné druhy jsou nejlepšími kandidáty na použití k bioindikaci. Existují i studie věnující se výskytu kortikolních řas ve velkém měřítku na úrovni celého státu (Poikolainen et al. 1998). Je zřetelné, že největší abundance kortikolních řas se nacházejí na jihu země, kde jsou nejvyšší koncentrace oxidů dusíku (ale je tam také tepleji) (Obr. 1).

Řasové nárosty vyskytující se na jehlicích smrků nebo borovic byly pozorovány teprve od 80. let 20. století (Mathé 1985, Göransson 1988, Bråkenhielm & Quinghong 1995). Za jednu z hlavních příčin jejich výskytu byly považovány vysoké koncentrace oxidů dusíku a síry v ovzduší, což některé z provedených studií potvrdily (Bråkenhielm & Quinghong 1995, Grandin 2011). Těmto nárostům bylo přisuzováno i hromadné odumírání lesů v důsledku masového porůstání jehlic a zabraňování fotosyntéze. Nicméně tato domněnka se nepotvrdila – hromadné odumírání lesů mělo příčinu v nerovnováze živin v půdě, konkrétně v nedostatku hořčíku (Vacek et al. 2009). V současnosti je monitorování abundancí řasových nárostů na jehlicích součástí Integrovaného Monitoringu životního prostředí ve Švédsku (Grandin 2011). Tyto nárosty byly studovány téměř výhradně v zemích severní Evropy. Z našich klimatických podmínek máme o jejich abundancích velmi sporé informace, přestože se zde také hojně vyskytují. Přitom v našich podmínkách mohou tato společenstva reagovat na stav ovzduší zcela odlišně, protože i kvalita ovzduší je v porovnání se severní Evropou odlišná, zpravidla horší. Bylo by zajímavé zjistit, jaké koncentrace znečišťujících látek jsou pro epifytické řasy toxické. Taktéž o taxonomickém složení řasových společenstev na jehlicích nemáme mnoho informací. Co se týče organismů vyskytujících se na jehlicích tisu červeného, je možné dohledat jen velmi sporé informace týkající se hub (Pivkin & Egorova 1998), o řasách nepadla dosud v odborné literatuře jediná zmínka. Tis červený je jednou z nejběžnějších jehličnatých dřevin vyskytujících se ve městech. Na jeho jehlicích lze pozorovat různé nárosty mikrobiálních organismů, skládající se z bakterií, hub a řas v různých poměrech (na rozdíl od nárostů dosud popisovaných, které obsahovaly s absolutní převahou zelené řasy), které by potenciálně mohly sloužit jako bioindikátor znečištění městských oblastí. Přestože se již používají mechorosty a lišejníky, podle mého názoru řasy rychleji reagují na změny v ovzduší a na větvích jsou příměji vystaveny ovzduší a srážkám, než organismy rostoucí na kmenech stromů. Otázkou zůstává význam hub a dalších mikroorganismů, vyskytujících se společně

s řasami v nárostech. Ty mohou mít na jejich abundance, a tím i schopnost vypovídat o kvalitě ovzduší, zcela zásadní vliv.



Obr. 1. Abundance zelených řas (+ lišejníků *Scoliosporum chlorococcum*) na jehličnanech v letech (a) 1985 a (b) 1995 (škála: 0 = žádné lišejníky ani řasy, 1 = vzácné, 2 = mírně abundantní, 3 = hojně); (c) koncentrace dusíku (% v sušině) v lišejníku *Hypogymnia physodes* sbíraném v roce 1985 a (d) v meších *Hylocomium splendens* a *Pleurozium schreberi* sbíraných v roce 1985; (e) spad NO_x a (f) NH_3 ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{rok}^{-1}$) v roce 1993. Převzato z Poikolainen et al. (1998).

1.2.3 Bioindikace kvality půdy

Tomuto tématu bylo dosud věnováno mnohem méně pozornosti než dvěma předchozím, přestože půda má pro náš život zcela zásadní význam a navíc je to neobnovitelný přírodní zdroj. Zajišťuje důležité funkce jako je filtrování a pufování kontaminantů, je zdrojem čisté pitné vody a potravy a úložištěm atmosférického CO₂ (Montanarella 2008). V současné době stoupá zájem o ochranu půdy, a proto i v rámci EU vznikla společná strategie pro ochranu půdy – Soil Thematic Strategy.

Velmi dobře prozkoumanou půdní skupinou jsou nálevníci. Je známa jejich taxonomie, ekologie a biogeografie, což je výborná výchozí pozice k využití těchto organismů jako bioindikátorů. Lze je i celkem snadno indentifikovat, nicméně se i zde setkáváme s problémem kryptických druhů. Proto byla pro bioindikaci pomocí těchto prvků navržena metoda enviromentálního molekulárního screeningu diverzity (Lara & Acosta-Mercado 2012). Již zmíněnými organismy jsou kyténky, které se taktéž hojně vyskytují v půdě. Jejich společenstva reflektují stupeň znečištění prostředí např. automobilovou dopravou nebo oxidy dusíku (Balik 1991, Nguyen-Viet et al. 2004, Nguyen-Viet et al. 2008). Dále např. hlístice se ukázaly být dobrými indikátory znehodnocení půdy těžkými kovy (Šalamún et al. 2012). Půdní řasy k takovému účelu dosud nebyly prakticky testovány.

2 Cíle práce

Tato diplomová práce navazuje a rozšiřuje moji bakalářskou práci, ve které jsem se již zabývala vztahem nárostových mikrobiálních společenstev na tisu červeném a kvalitou ovzduší v Praze. Tato práce se skládá ze dvou nezávislých studií, jejichž společným cílem je vysledovat, jaké podmínky ovlivňují výskyt mikrobiálních společenstev rostoucích na jehlicích jehličnatých stromů, konkrétně smrku ztepilém a tisu červeném. Výsledkem by měl být jednak základ pro dlouhodobý monitoring mikrobiálních společenstev v okolí plánované spalovny komunálního odpadu v Chotíkově, a dále také detailní informace o abundancích a složení mikrobiálních společenstev vyskytujících se na tisu červeném v Praze a jejich vztahu ke kvalitě ovzduší. Pokud by se prokázal vztah těchto nárostů ke kvalitě ovzduší, výsledky by mohly sloužit jako podklad pro paralelní metodu sledování kvality ovzduší ve městských oblastech k pravidelným přístrojovým měřením.

2.1 Chotíkovská studie

Cílem první studie bylo zmapování abundancí mikrobiálních nárostů rostoucích na jehlicích smrku ztepilého v okolí plánované spalovny komunálního odpadu v Chotíkově. Tato studie byla zadána a částečně financována společností Plzeňská teplárenská a.s. na základě oficiální smlouvy s Přírodovědeckou fakultou UK. Získané výsledky by měly sloužit jako základ k dalšímu monitorování, které by mělo probíhat každé dva roky až do zavedení spalovny komunálního odpadu do provozu (zahájení zkušebního provozu je naplánováno na začátek roku 2016). A dále pak během jejího provozu dostatečně dlouho na to, aby bylo možné vysledovat případný vliv provozu spalovny na mikrobiální nárostová společenstva a tím potažmo i na okolní přírodu. Následující otázky, které jsem si kladla, se ale týkaly především klimatických faktorů ovlivňujících výskyt nárostů, protože v této oblasti jsem neměla detailní informace o kvalitě ovzduší.

- Jsou abundance mikrobiálních nárostů vyšší na jedné ze čtyř světových stran?
- Vyskytuje se více zelených řas v mikrobiálních nárostech na jedné ze čtyř světových stran?
- Dosahují společenstva na více osvětlených větvích průměrně menších abundancí než na větvích méně osvětlených?
- Liší se mezi sebou studované lokality v hodnotách parametrů mikrobiálních nárostů?

2.2 Pražská studie

Druhá studie byla zaměřena na mikrobiální nárosty vyskytující se na jehlicích tisu červeného a jejich vztah ke znečištění ovzduší v Praze. V této části jsem se snažila, v návaznosti na svou bakalářskou práci, především lépe sjednotit metodiku sběru jehlic a zvětšit objem odebíraných vzorků a tím přidat na váze získaným výsledkům. Celý výzkum je podle mého názoru zajímavý hlavně z toho důvodu, že dosud neexistuje žádný monitorovací systém kvality ovzduší ve městech pomocí řas, i když kortikolním řasám byla již věnována jistá pozornost.

V tomto případě jsem si kladla otázky:

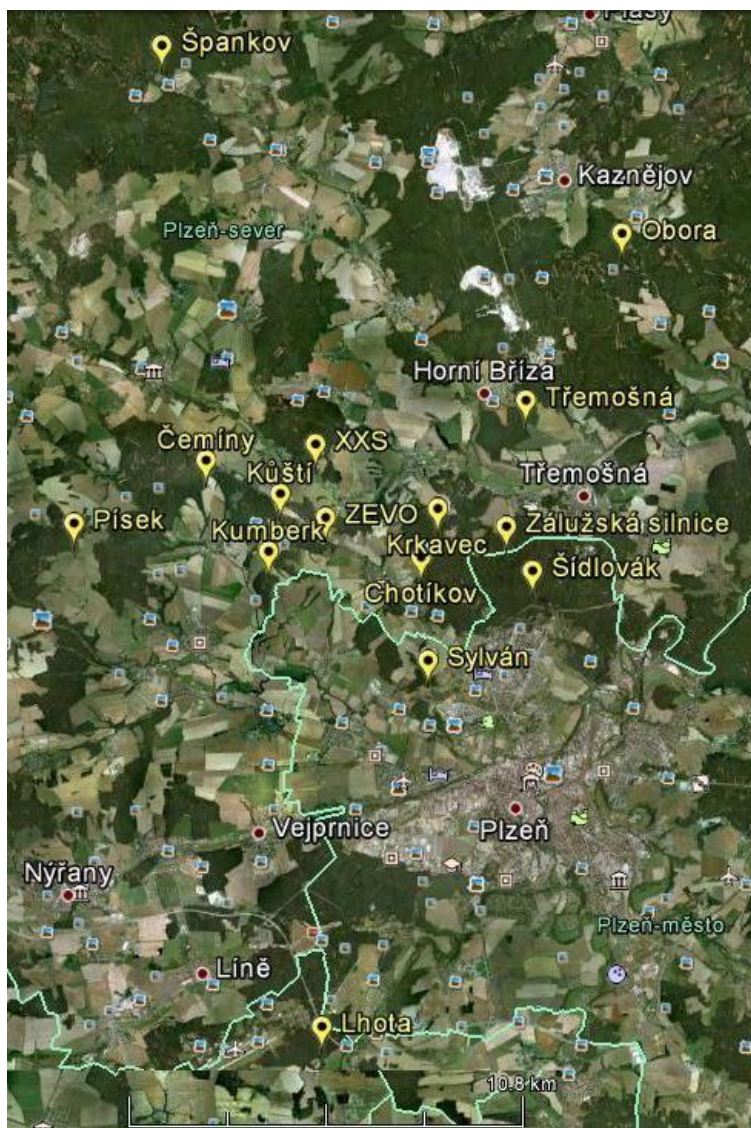
- Korelují parametry mikrobiálních nárostů na jehlicích tisu červeného s kvalitou ovzduší v Praze?
- Má kvalita ovzduší vliv na životnost jehlic tisu červeného?
- Liší se mezi sebou studované lokality v hodnotách mikrobiálních nárostů?

3 Metodika

3.1. Chotíkovská studie

3.1.1 Lokality

Vzorky jehlic byly odebírány v intervalu říjen až prosinec 2011 v okruhu do 14 km okolo budoucí spalovny komunálního odpadu ZEVO v Chotíkově. Celkem byly jehlice odebírány na 14 lokalitách o velikosti 50x50 m (Obr. 2).



Obr. 2. Mapa 14 zkoumaných lokalit v okolí budoucí spalovny komunálního odpadu.

3.1.2 Metodika sběru dat

Na každé lokalitě byly odebírány jehlice ze 2 až 7 stromů, na každém stromě byly jehlice odebrány z jedné až čtyř větví podle dostupnosti (Příloha č. 5). Protože jsme chtěli zjistit vliv světové strany na výskyt nárostů, byly k odebrání jehlic vybírány větve orientované ke čtyřem hlavním světovým stranám. Z každé větve bylo odebráno 5 jehlic čtvrtého roku.

Nad každou větví, ze které byly jehlice odebrány, byla pořízena fotografie fotoaparátem Canon PowerShot A590 IS se širokoúhlým objektivem, tzv. rybí oko (SOLIGOR DHG 0.19x Fish Eye) (Obr. 3). Cílem bylo zjistit, zda otevřenost oblohy, odpovídající v zásadě množství světla dopadajícího na větev, má nějaký vliv na množství a kvalitu mikrobiálních nárostů. Na každé větví, ze které byly jehlice odebírány byl taktéž počítán věk nejstarší přítomné jehlice. U každého stromu byl měřen obvod kmene ve výšce jednoho metru nad zemí jako přibližný ukazatel stáří stromu.



Obr. 3. *Příklad hemisférické fotografie pořízené širokoúhlým objektivem, tzv. rybím okem.*

3.1.3 Vyhodnocování parametrů

Pod binokulární lupou (Olympus SZ61) byly vyhodnocovány dva parametry nárostů. Prvním z nich je C (cover) – procento povrchu jehlice pokryté nárostem, druhým T (thickness) – tloušťka nárostu. Parametr C nabývá hodnot 1–4; stupeň 1 značí nejnižší pokryvnost, stupeň 4 pak pokryvnost nejvyšší: 1 = 0–25 %, 2 = 25–50 %, 3 = 50–75 %, 4 = 75–100 %. Druhý parametr T nabývá tří hodnot: 1–velmi tenký, 2–pozorovatelné kolonie, 3–vystupující nad povrch jehlice, viditelný při pohledu ze strany. Pod světelným mikroskopem (Olympus CX21) byl dále hodnocen třetí parametr nárostu – AA, který nabýval čtyř hodnot: 0–žádné řasy, 1–jednotlivé buňky řas až pár kolonií, 2–občasné kolonie, 3–mnoho kolonií, 4–mnoho řasových kolonií v případě hustého vzorku na sklíčku. Hemisférické fotografie, pořízené pomocí širokoúhlého objektivu, byly vyhodnocovány programem Gap Light Analyzer, ver. 2.0 (Frazer et al. 1999). Výsledkem analýzy je procento otevřené oblohy nad danou větví (Příloha č. 5).

3.1.4 Metody analýzy dat

Do analýz byla zahrnuta data získaná z 840 jehlic (z celkových 990) a jim příslušejících hodnot nezávislých proměnných. U prvních 150 odebraných jehlic ještě nebyla zaznamenána orientace ke světovým stranám, nebylo tedy možné je použít k následným analýzám, kde je nutné mít data kompletní. Proto bylo těchto prvních 150 jehlic z analýz vyloučeno. Data byla statisticky zpracována pomocí dvou statistických programů PAST, ver. 2.17 (Hammer et al. 2001) a R, ver. 2.15.0 (R Development Core Team 2012), balík *vegan* (Oksanen et al. 2011).

3.1.4.1 Jednorozměrné analýzy

Prováděli jsme vzájemné lineární korelace parametrů mikrobiálních nárostů C,T a AA, o jejichž vztahu vypovídá korelační koeficient r (síla a způsob korelace) a p -hodnota (pravděpodobnost, s jakou je struktura získaných dat dílem náhody).

3.1.4.2 Mnohorozměrné analýzy

Ke zjištění vztahu těchto parametrů k nezávislým proměnným (orientace, nejstarší jehlice, canopy openness a obvod kmene) jsme použili neparametrickou formu mnohorozměrné analýzy variance, konkrétně analýzu permutační MANOVA (s názvem programovací funkce *adonis*) (R Development Core Team 2012, Oksanen et al. 2011). Tato analýza poskytuje také možnost tzv. rozkladu variability dat a udává tedy podíl variability (R^2) dat vysvětlený různými nezávislými proměnnými. Výsledky permutačních testů ukazují, zda je vliv zjišťované proměnné statisticky významný (signifikantní) či nikoliv (p -hodnota). Důležitou součástí hodnocení je i F-hodnota testového kritéria. Ta je podílem sumy čtverců dané úrovně (např. AA nebo lokalita) a reziduálního součtu čtverců, který charakterizuje variabilitu ve výsledcích opakovaných pokusů na jednotlivých úrovních (Pavelka & Klímek 1999). Získaná F-hodnota je následně porovnána s F-hodnotou pro hladinu významnosti α (typicky $\alpha = 0,05$). O tom, jestli je vliv faktoru statisticky významný informuje p -hodnota. Test je statistický průkazný, pokud p -hodnota je rovna nebo menší než 0,05.

Pomocí stejné funkce *adonis* (Oksanen et al. 2011) jsme zkoumali i společný vliv větve, stromu a lokality na variabilitu v jednotlivých parametrech mikrobiálních nárostů. Tomto případě jsme použili tzv. adjusted R^2 , totiž korigovaný koeficient determinace R^2 o stupně volnosti, kterých bylo v této analýze mnoho a výsledky by mohly být pouhým použitím R^2 nadhodnocené. Vzorec pro výpočet korigovaného koeficientu:

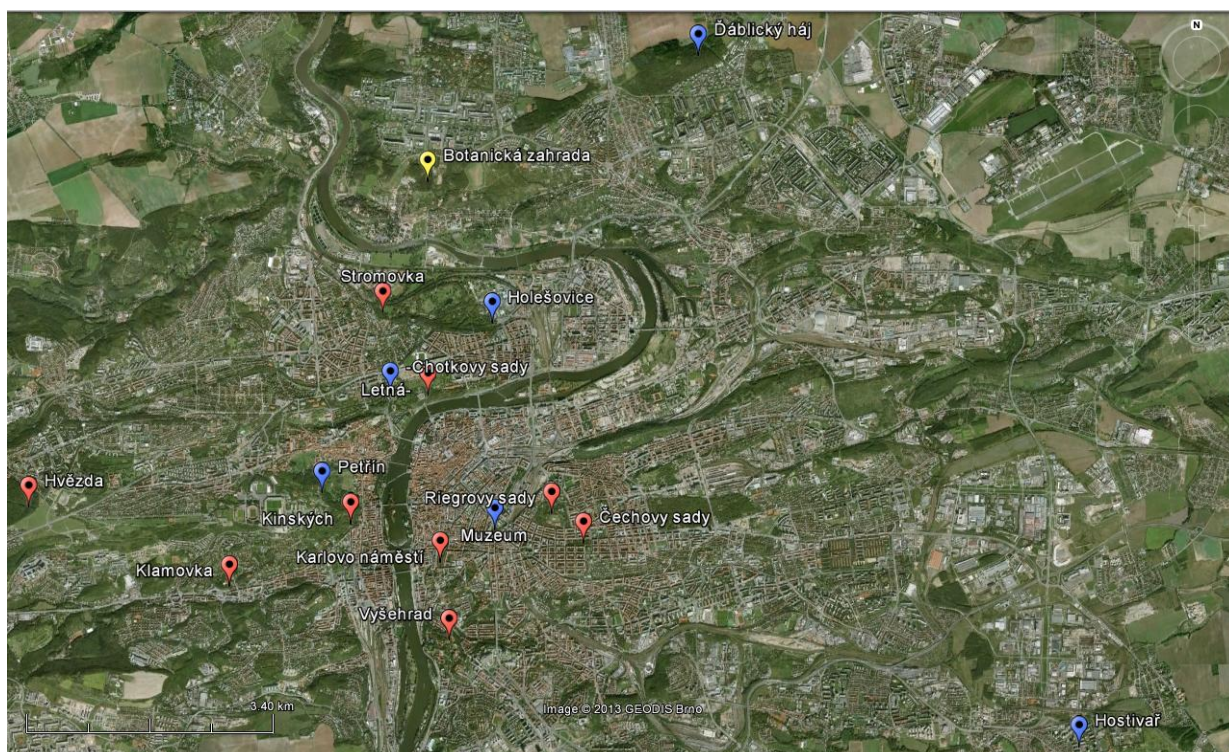
$$R^2 = 1 - \left[\frac{(1 - R^2) * (N - 1)}{(N - k - 1)} \right]$$

kde N představuje počet pozorování a k počet stupňů volnosti.

3.2 Praha

3.2.1 Lokality

Druhá studie probíhala v Praze. Většina studovaných lokalit jsou pražské parky či lesoparky, jelikož právě v těch je vysazováno velké množství tisíc červených (*Taxus baccata* L.). Lokalit bylo celkem 16 (Obr.4).



Obr. 4. Mapa studovaných lokalit v Praze. Červené body označují lokality, které se mezi dvěma soubory překrývají, modré body lokality jsou pouze v „severním“ souboru a žlutý bod pouze ze souboru „čtyř světových stran“.

3.2.2 Metodika sběru dat

Jehlice byly z tisu odebírány dvěma následujícími způsoby. První soubor jehlic byl odebrán stejným způsobem jako v Chotíkovské studii – na každé ze čtyř světových stran byla vybrána jedna větev a z té bylo odebráno pět jehlic starých čtyři roky. Nad každou větví byla pořízena fotografie pomocí širokoúhlého objektivu. Druhý soubor jehlic pochází pouze z větví na severní straně stromu. Na této straně by se teoreticky měly nárosty vyskytovat nejvíce. Tímto jsme zmenšili značnou část variability, způsobenou různou orientací větví, aby mohl lépe vyniknout případný vliv znečištění ovzduší na výskyt mikrobiálních nárostů. Druhý soubor je mírně obsáhlejší než první a lokality se překrývají (Obr. 4).

Na severní straně každého tisu byly vybrány 4 větvičky a z každé bylo odebráno 5 nejporostlejších jehlic, jejichž věk jsem si zaznamenala. Nenabyla jsem totiž během předchozích sběrů dojmu, že by právě jehlice staré čtyři roky byly nejporostlejší (a tedy nejvhodnější k pozorování) a chtěla jsem zjistit, zda je v případě tisu pozorovatelný nějaký vývoj abundance nárostů v průběhu stárnutí jehlice. Při tomto sběru byla pořizována vždy jedna fotografie nad všemi čtyřmi větvičkami, jelikož se vždy nacházely v těsné blízkosti. U všech větví jsem si zaznamenala věk nejstarší jehlice, což by mohlo jako např. v případě smrků odrážet zdravotní stav rostliny.

3.2.3 Vyhodnocování parametrů

Hodnocení jehlic v laboratoři probíhalo shodně s hodnocením v předchozí Chotíkovské studii, tedy byly vyhodnocovány parametry C, T a AA. Nicméně parametr AA byl vyhodnocován pouze u jedné pětice jehlic z větvičky na strom, v případě prvního souboru pouze u jehlic odebraných na severní straně stromu. Parametr AA je totiž velmi časově náročný a při rozsahu sběrů až příliš zatěžující. Nicméně jsme nechtěli vzdát se ho úplně, protože zvláště tento parametr by mohl být zásadním v hodnocení kvality ovzduší v Praze. V prvním souboru jehlic sbíraných ze čtyř světových stran bylo vyhodnoceno 815 jehlic. Z druhého souboru jehlic sbíraných ze severní strany bylo vyhodnoceno 1195 jehlic, celkem tedy 2010 jehlic. Pořízené fotografie byly opět hodnoceny v programu Gap Light Analyzer, verze 2.0 (Frazer et al. 1999).

3.2.4 Kultivace

Vzorky ze dvou jehlic silně porostlých nárosty, pocházejících z Riegrových sadů, byly pokusně kultivovány na Petriho miskách s BBM (Bischoff & Bold 1963). Protože dosud neexistují žádné informace týkající se druhového složení řas vyskytujících se na tisech, chtěli jsme si udělat alespoň hrubou představu.

3.2.5 Metody analýzy dat

K analyzování získaných dat byly opět použity programy PAST, ver. 2.17 (Hammer et al. 2001) a R, ver. 2.15.0 (R Development Core Team 2012), balík *vegan* (Oksanen et al. 2011).

3.2.5.1 Atlas životního prostředí

Z Atlasu životního prostředí v Praze byla získána data průměrných ročních koncentrací znečišťujících látek v ovzduší (<http://www.premis.cz/atlaszp/>). Tento Atlas životního prostředí obsahuje data pocházející z roku 2010. Měřené znečišťující látky jsou oxidy dusíku (NO_x) (Obr. 5), oxid dusičitý (NO₂), benzen, oxid uhelnatý (CO), oxid siřičitý (SO₂) a polévatý prach s

průměrem částic 10 μ m (PM₁₀) (Tab. 1). Kromě toho byl k analýzám použit i Průměrný roční index kvality ovzduší (*priko*), který je průměrem indexů všech měřených škodlivin vypočtených z naměřených koncentrací těchto látek na dané lokalitě. Hodnoty indexů se pohybují v rozmezí 1–6 (Tab. 2).

Tabulka 1. Seznam studovaných lokalit, sledovaných znečišťujících látek a jejich příslušných koncentrací. Data pochází z www.premis.cz/atlaszp/.

	priko	NO_x ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	NO₂ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	benzen ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	CO ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	SO₂ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	PM₁₀ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
Botanická zahrada	0,3	21,25	18,75	0,6	570	3,5	17,5
Čechovy sady	0,5	42,5	28,75	1,1	625	7,5	23,75
Ďáblický háj	0,3	20	17,5	0,4	550	4,5	17,5
Holešovice	0,5	32,5	25	0,7	590	5,5	23,75
Hostivař	0,5	28,75	18,75	0,75	570	4,5	23,75
Hvězda	0,3	21,25	18,75	0,45	580	3,5	13,75
Chotkovy sady	0,7	57,5	33,75	1,1	625	5,5	33,75
Karlovo náměstí	0,7	85	43,75	2	775	7,5	33,75
Kinských	0,5	37,5	28,75	1	600	5,5	21,25
Klamovka	0,5	45	28,75	0,9	637,5	5,5	26,75
Letná	0,5	42,5	31,25	0,8	625	6,5	23,75
Muzeum	0,7	95	42,5	2,75	900	7,5	32,5
Petřín	0,3	28,75	23,75	0,45	570	4,5	18,75
Riegrovy sady	0,5	47,5	33,75	1,2	625	7,5	23,75
Stromovka	0,3	35	25	0,45	570	5,5	18,75
Vyšehrad	0,5	42,5	28,75	0,75	590	6,5	25
Imisní limit (průměrné roční koncentrace)		30	40	5	není stanoven	není stanoven	40

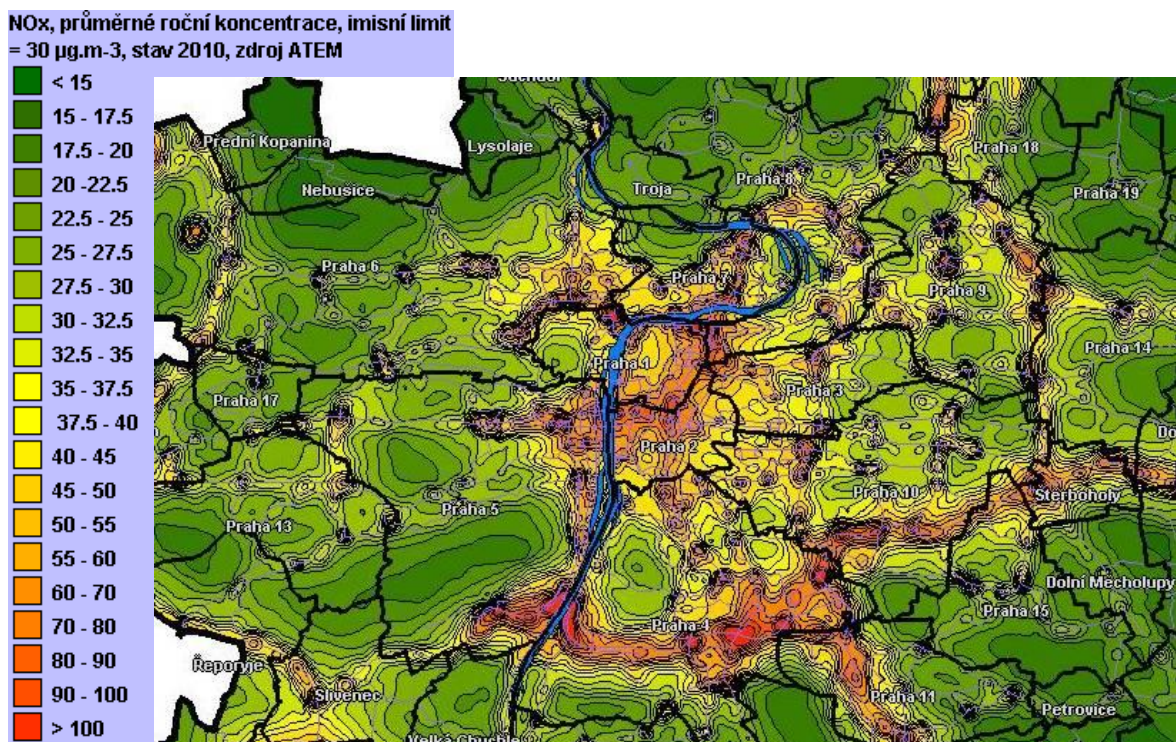
Tabulka 2. Příklady koncentrací znečišťujících látek a k nim příslušející indexy. Upraveno podle www.premis.cz.

Kvalita ovzduší	Index	SO₂ (hodinový průměr $\mu\text{g}/\text{m}^3$)	NO₂ (hodinový průměr $\mu\text{g}/\text{m}^3$)	PM₁₀ (hodinový průměr $\mu\text{g}/\text{m}^3$)
velmi dobrá	1	0–25	0–25	0–15
dobrá	2	26–50	26–50	16–30
uspokojivá	3	51–120	51–100	31–50
vyhovující	4	121–250	101–200	51–70
špatná	5	251–500	201–400	71–150
velmi špatná	6	nad 500	nad 400	nad 150

3.2.5.2 Jednorozměrné analýzy

Některé postupy a analýzy použité v této studii byly stejné jako v Chotíkovské studii. Z lineárních korelací to jsou vzájemné korelace parametrů mikrobiálních nárostů C, T a AA. Regresní analýza byla použita ke zjištění vztahu těchto tří parametrů nárostů, parametrů ovzduší (*priko*, NO_x, NO₂, benzen, CO, SO₂, PM₁₀), jehlic (nejporostlejší, nejstarší) a canopy openness. V této analýze byly za závislé proměnné považovány parametry C, T a AA a stáří

jehlic. O síle či povaze vztahu proměnných vypovídá korelační koeficient (r) a dosažená hladina signifikance (p -hodnota) (Zvára 2006).



Obr. 5. Příklad modelu koncentrací NO_x v Praze v roce 2010. Upraveno podle www.premis.cz.

3.2.5.3 Mnohorozměrné analýzy

3.2.5.3.1 Nemetrické mnohorozměrné škálování (NMDS)

Tato analýza byla využita pouze k zobrazení rozdílů v koncentracích znečišťujících látek mezi studovanými lokalitami. Ordinační diagram umožňuje převést mnohorozměrná data do dvourozměrného prostoru. Vzdálenosti bodů na diagramu odpovídají vzájemným rozdílům v hodnotách znečištění lokalit. K vytvoření diagramu byl použit program PAST (Hammer et al. 2001).

3.2.5.3.2 Permutační MANOVA

Permutační MANOVA (s názvem programovací funkce *adonis*) (R Development Core Team 2012, Oksanen et al. 2011) opět posloužila k odhalení podílů variability parametrů C, T a AA v rámci jednotlivých úrovní – lokality, stromu a větve. Pro zjištění signifikance úrovně strom (tree), byly hodnoty permutovány pouze v rámci lokalit, pro zjištění signifikance úrovně větve (branch), byly hodnoty permutovány pouze v rámci stromů. Pomocí MANOVy byly zjištěny podíly variability parametrů nárůstů vlivem jednotlivých škodlivých látek v ovzduší po odečtení vlivu canopy openness a orientace (pouze v souboru jehlic odebíraných ze čtyř světových stran). K testování byla použita vždy jen jedna znečišťující látka, protože zahrnutím všech

nezávislých proměnných (rovněž vzájemně velmi silně korelovaných) do jednoho modelu, bychom mohli dostat zkreslené výsledky. Tyto testy byly prováděny pouze pro ty škodliviny, které byly s parametry jehlic korelované. V případě parametru AA v souboru jehlic sbíraných ze čtyř světových stran nebyla zjištěna ani jedna korelace se škodlivinami. Přesto jsme provedli analýzu variance se všemi látkami a canopy openness, abychom zjistili zda je např. canopy openness tím zodpovědným faktorem způsobující variabilitu v AA. Pro soubor jehlic sbíraných ze severní strany byly vytvořeny tabulky četností jednotlivých věkových kategorií jak pro nejporostlejší jehlice, tak pro nejstarší jehlice na větvi. Cílem bylo zjistit, jaký je nejčastější věk nejstarší a nejporostlejší jehlice na větvi a zda můžeme pozorovat vývoj mikrobiálních nárůstů v průběhu stárnutí jehlic. K tomuto účelu byly vytvořeny histogramy četností jehlic různého stáří.

4 Výsledky

4.1 Chotíkov

4.1.1 Lineární korelace

Kvantitativní složení mikrobiálního společenstva na jehlicích jsme analyzovali pomocí tří paralelních parametrů (pokryvnost – C, tloušťka – T a množství řas – AA). Výsledky nicméně ukazují, že tyto tři ukazatele jsou navzájem poměrně silně vzájemně korelované a mají podobnou strukturu (Tab. 3). Obecně je tedy možné konstatovat, že jehlice porostlá relativně tenkým mikrobiálním nárostem bude s velkou pravděpodobností také porostlá v menším rozsahu a podíl řas v něm bude nižší.

Tabulka 3. *Vzájemná korelace parametrů C, T a AA. V levém dolním rohu se nachází korelační koeficient r, v pravém horním rohu p-hodnota.*

	C	T	AA
C		****	****
T	0,465		****
AA	0,447	0,663	

Korelace všech tří parametrů s různými světovými stranami ukázala, že největší vliv na výskyt mikrobiálních nárostů a řas má severní a jižní strana. Na severní straně stromů se nárosty vyskytují statisticky vzato nejhojněji, nárosty pokrývají větší plochu jehlice (parametr C), jsou tlustší (parametr T) a obsahují i více zelených řas (parametr AA). Naopak na jižní straně (pro parametr C na straně východní) byly jehlice porostlé nejméně a obsahovaly i méně řas (Tab. 4).

4.1.2 Mnohorozměrné analýzy (MANOVA)

Výsledky analýzy variance parametrů mikrobiálních nárostů C, T a AA ukazují, že procento variability v parametru vysvětlené orientací dosahovalo u všech tří parametrů velmi podobných hodnot, přičemž nejvyšší hodnota připadala na parametr AA. Ukázal se i signifikantní vztah tloušťky nárostu a nejstarší jehlice přítomné na větvi, nicméně tento vztah je relativně slabý stejně jako vliv otevřenosti oblohy na pokryvnost řasových nárostů na jehlici. Obvod kmene stromu, který byl měřen jako relativní ukazatel stáří stromu, neměl na kvantitu mikrobiálních nárostů na jehlicích žádný vliv (Příloha č. 2, Tab. 5).

Paralelní analýza pomocí permutační MANOVy ukázala strukturu variability těchto tří parametrů mikrobiálních nárostů (Příloha č. 2, Tab. 6). Ve všech třech případech byl patrný jasně průkazný vliv všech úrovní této tzv. „nested“ struktury – jak lokalit, stromů, tak i větví. Největší procento variability spadalo do kategorie variability nevysvětlené (reziduální), což v podstatě představuje variabilitu nárostů na úrovni jednotlivých jehlic.

Tabulka 4. Korelace parametrů C, T a AA se světovými stranami.

	Korelační koeficient r	p -hodnota
C		
sever	0,151	****
jih	-0,017	0,628
východ	-0,086	0,013
západ	-0,048	0,162
T		
sever	0,149	****
jih	-0,08	0,020
východ	-0,033	0,342
západ	-0,033	0,335
AA		
sever	0,158	****
jih	-0,112	0,001
východ	-0,022	0,530
západ	-0,021	0,551

4.2 Praha

Abych si utvořila prvotní představu o získaných datech, byly nejdříve provedeny regresní analýzy parametrů nárostů se stářím jehlic a s koncentracemi znečišťujících látek v ovzduší. Pro lepší představu rozdílů mezi lokalitami v koncentracích atmosférických kontaminantů jsme vytvořili ordinační diagram NMDS. Dalším krokem bylo zjištění rozložení variability na jednotlivých úrovních (lokalita, strom, větev) v rámci parametrů nárostů C, T a AA. Tato analýza může napovědět, zda hodnocené parametry jsou dostatečně variabilní mezi lokalitami, což by byla ta správná varianta pro použití těchto nárostů k monitorování znečištění ovzduší. Po provedení regresních analýz byly parametry C, T a AA samostatně analyzovány s jednotlivými škodlivinami. Mnohorozměrná metoda (permutační MANOVA) byla použita ke zjištění podílu variability parametru způsobené danou škodlivinou. I přestože některý parametr nárostu vůbec se škodlivinami nekoreloval, provedli jsme mnohorozměrnou analýzu, abychom zjistili, která proměnná je ta, co nejvíce ovlivňuje variabilitu daného parametru. Ke znázornění výsledků byly použity sloupcové grafy a to za prvé pro parametry C, T a AA a znečišťující látku, která s nimi byla nejvíce korelovaná, za druhé pro stáří nejporostlejších a nejstarších jehlic. Na konci kapitoly je taktéž uveden krátký výčet řasových rodů nalezených v nárostových společenstvech.

4.2.1 Čtyři světové strany

4.2.1.1 Lineární korelace

Z výsledků regresních analýz parametrů mikrobiálních nárostů a koncentrací znečišťujících látek je patrná velmi odlišná reakce parametrů C, T a AA. Zatímco parametr T negativně koreluje se všemi sledovanými škodlivinami (kromě SO₂, se kterým koreluje pozitivně), parametr C je korelovaný pouze s priko (Tab. 8) a parametr AA nekoreluje ani s jednou škodlivinou (Tab. 9). A to přesto, že tyto tři parametry jsou spolu velmi silně vzájemně korelované (Tab. 7). Dvě tabulky, znázorňující korelaci parametrů nárostů a koncentrací znečišťujících látek, byly vytvořeny z důvodu nestejného množství dat pro parametry nárostů – AA bylo hodnoceno pouze na jehlicích odebraných se severní strany stromu, hodnot pro tento parametr tedy bylo ve výsledku méně.

Korelace koncentrací znečišťujících látek a věku nejstarší jehlice přítomné na větvi je poměrně silná v případě všech atmosférických polutantů. Všechny látky jsou se stářím jehlic negativně korelované, což značí negativní vliv znečištění ovzduší na životnost jehlic. Jinými slovy, čím je lokalita více znečištěná, tím je věk nejstarší jehlice přítomné na větvi průměrně nižší (Tab. 10).

Tabulka 7. Vzájemné lineární korelace parametrů mikrobiálních nárostů.

	C	T	AA
C		****	****
T	0,369		****
AA	0,347	0,238	

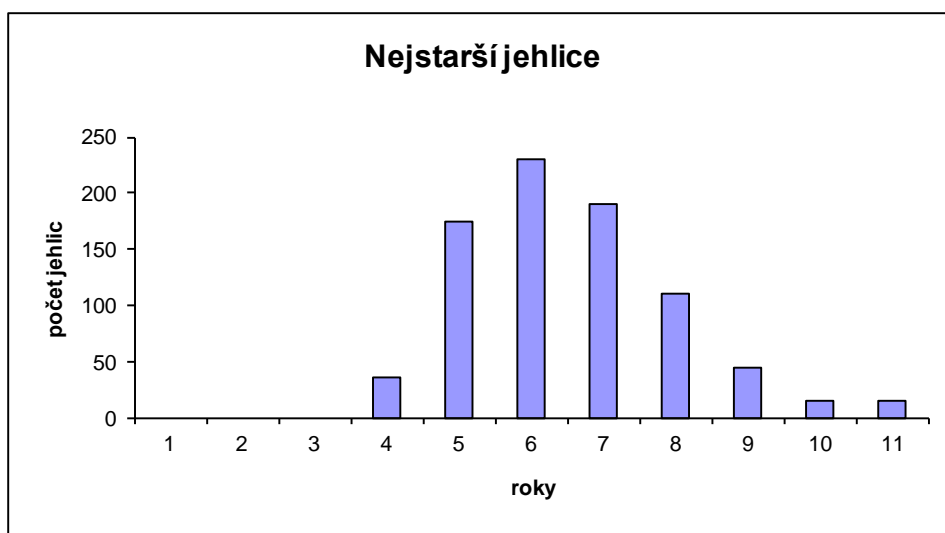
Tabulka 8. Lineární korelace parametrů mikrobiálních nárostů C a T na jehlicích a koncentraci znečišťujících látek v ovzduší.

	Cover		Thickness	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
priko	-0,086	*	-0,133	***
No _x	-0,017	ns	-0,144	****
NO ₂	0,007	ns	-0,073	*
benzen	-0,062	ns	-0,154	****
CO	-0,055	ns	-0,183	****
SO ₂	0,049	ns	0,096	**
PM ₁₀	-0,066	ns	-0,168	****

V tomto souboru se vyskytují jehlice s životností čtyři až jedenáct let, průměrný věk nejstarší jehlice na větvi je šest let. Takové rozložení věků jehlic, jaké jsme získali, tedy nejvíce jehlic v prostředku škály a méně v obou extrémech je způsobeno typem lokalit. Těch opravdu znečištěných a naopak čistých bylo méně než lokalit se středním stupněm znečištění (Obr. 6).

Tabulka 9. Lineární korelace parametru AA a znečišťujících látek.

Algae amount		
	Korelační koeficient r	p -hodnota
priko	-0,059	ns
No _x	-0,006	ns
NO ₂	-0,005	ns
benzen	-0,003	ns
CO	0,013	ns
SO ₂	-0,052	ns
PM ₁₀	-0,037	ns



Obr. 6. Histogram věků nejstarších jehlic přítomných na větvi.

Tabulka 10. Lineární korelace věku nejstarší jehlice přítomné na větvi se znečišťujícími látkami.

Nejstarší jehlice		
	Korelační koeficient r	p -hodnota
priko	-0,155	****
No _x	-0,131	***
NO ₂	-0,108	**
benzen	-0,113	**
CO	-0,137	****
SO ₂	-0,140	****
PM ₁₀	-0,175	****

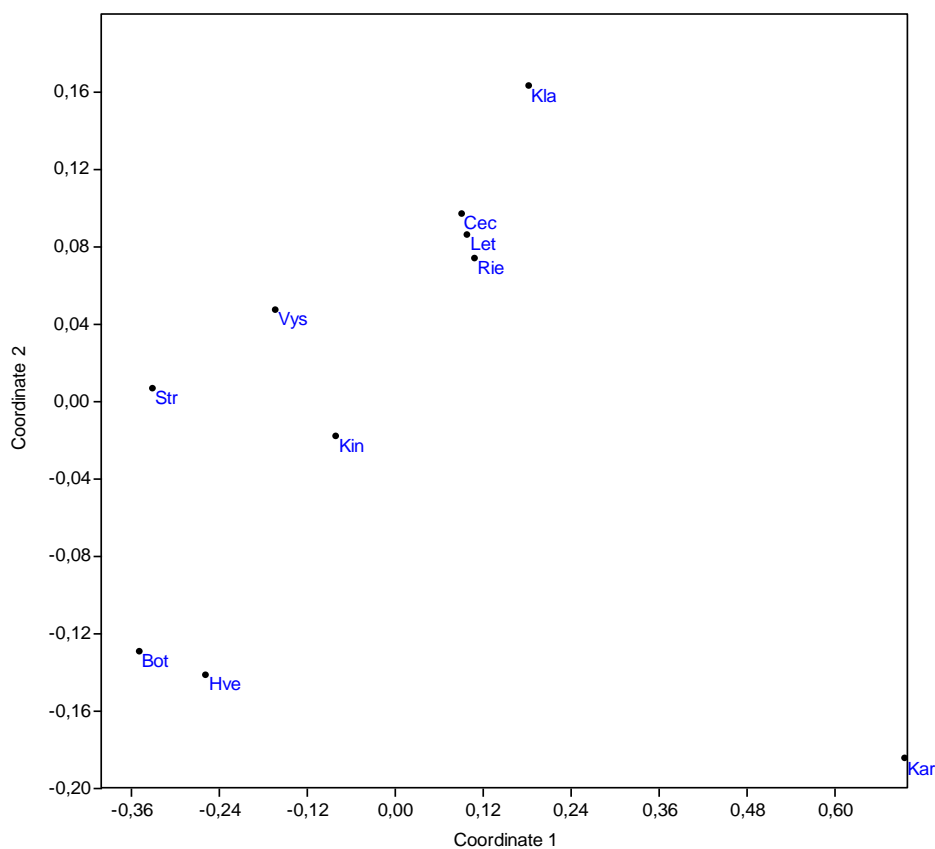
Ve výsledcích regresních analýz parametrů mikrobiálních nárostů, věku nejstarší jehlice a canopy openness pozorujeme rovněž značné rozdíly, zejména co se týče canopy openness. Zatímco pokrývnost je za většího osvětlení menší, tloušťka se s přibývajícím světlem zvyšuje. Množství řas v nárostech se osvětlením nezdá být ovlivněno (Tab. 11)

Tabulka 11. Lineární korelace parametrů *C*, *T* a *AA* se stářím nejstarší jehlice na větvi a canopy openness.

	Cover		Thickness		Algae amount	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
Nejstarší jehlice	0,074	*	0,02	ns	0,077	ns
Canopy Openness	-0,096	**	0,02	***	-0,024	ns

4.2.1.2 Nemetrické mnohorozměrné škálování (NMDS)

Tato metoda byla použita ke znázornění a získání lepší představy rozdílů v koncentracích všech škodlivin mezi všemi studovanými lokalitami současně. Nejdlišnější lokalita z této skupiny bylo Karlovo náměstí (Kar), které v tomto souboru zastupuje lokality nejvíce znečištěné. Na druhé straně jsou od zbytku výrazně separované lokality Botanická zahrada (Bot) a Hvězda (Hve), které patří mezi lokality nejméně znečištěné. Ostatní lokality – Riegrový a Čechovy sady, Stromovka, Vyšehrad, Klamovka, Zahrada Kinských a Letná - patří spíše mezi ty se středním znečištěním ovzduší v Praze (Obr. 7). Hodnota stresu Shephardova diagramu byla rovna nule.



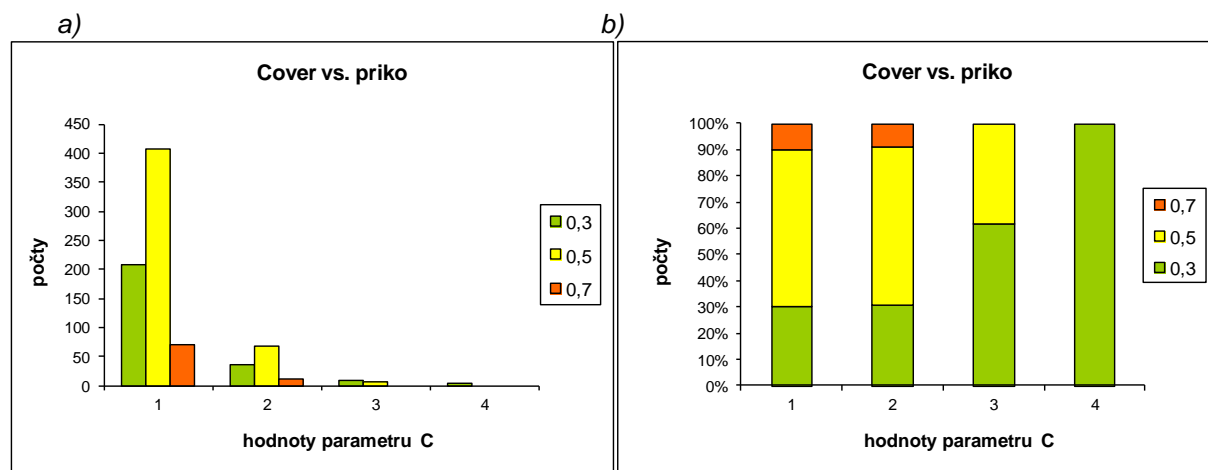
Obr. 7. NMDS ordinační diagram znázorňující rozdíly v kvalitě ovzduší mezi odběrovými lokalitami.

4.2.1.3 Mnohorozměrné analýzy (MANOVA)

Nejvyšší procenta variability v parametrech nárůstů C, T a AA vysvětluje úroveň stromu, úroveň lokality má vliv menší, nicméně stále významný. Vliv úrovně větve je v podstatě zanedbatelný, což je oproti předchozí studii významný rozdíl. V té byl právě vliv úrovně větve tím nejsilnějším (pokud nezahrnujeme reziduální variabilitu). V případě parametru AA chybí úroveň větve, protože na stromě byl parametr AA hodnocen pouze z jedné větve, tyto úrovně se tedy překrývají (Příloha č. 3, Tab.12).

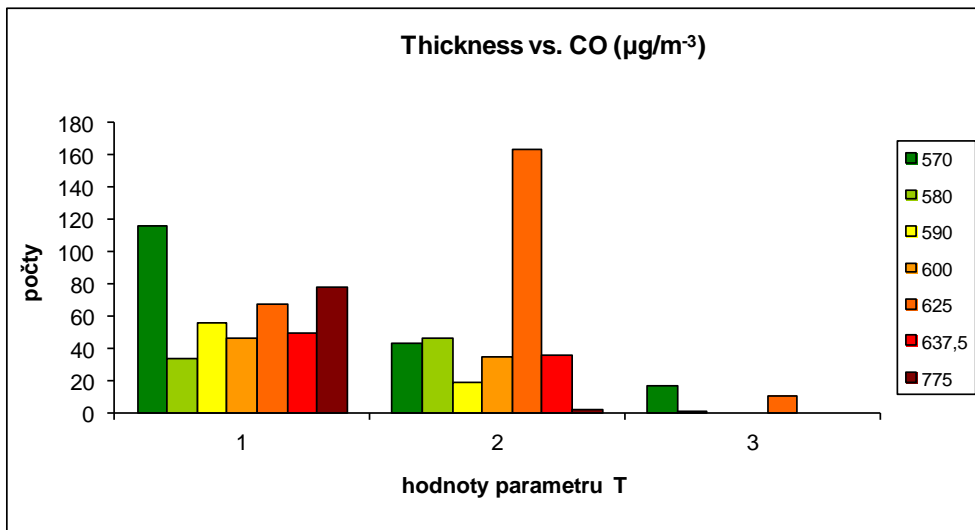
Canopy openness (otevřenost oblohy), orientace a znečišťující látky odpovídají za variabilitu v rámci parametrů různou měrou. Pro každý parametr nárůstu a škodlivinu, která s ním byla nejsilněji korelovaná byly vytvořeny dva histogramy (Cover – Obr. 8, Thickness – Obr. 9, Algae amount – Obr. 10). Znázorňují jak absolutní počty jehlic s danými hodnotami parametru za různých koncentrací škodlivin, tak procentuální zastoupení jehlic daného parametru v různých stupních znečištění. Obecně můžeme pozorovat, že většina jehlic byla málo porostlých (hodnoty parametrů 1 a 2) a obsahovala málo řas (0 pro AA). Za povšimnutí stojí výskyt vyšších hodnot parametrů nárůstů při nižších hodnotách znečištění ovzduší.

Parametr C, který koreloval pouze s priko (Průměrný index znečištění ovzduší) se neukázal být ovlivněn orientací na stromě, canopy openness měla velmi malý vliv ~ 0,9 % a priko vysvětloval zcela nejmenší část variability ~ 0,6 % (Příloha č. 3, Tab. 13). Parametr T, korelující se všemi parametry se ukázal být ovlivněný nejvíce a nejčastěji orientací na stromě ~ 3 %, následně koncentracemi škodlivých látek v ovzduší ~ 0,5–3 % a nakonec až canopy openness ~ 1,4 % (Příloha č. 3, Tab. 14a–f). Přestože parametr AA nekoreloval ani s jedním parametrem kvality ovzduší, provedli jsme analýzu variability ke zjištění nejsilnějšího vlivu na variabilitu tohoto parametru. Jediný parametr *priko* byl při testování na hranici průkaznosti (Příloha č. 3, Tab.15).

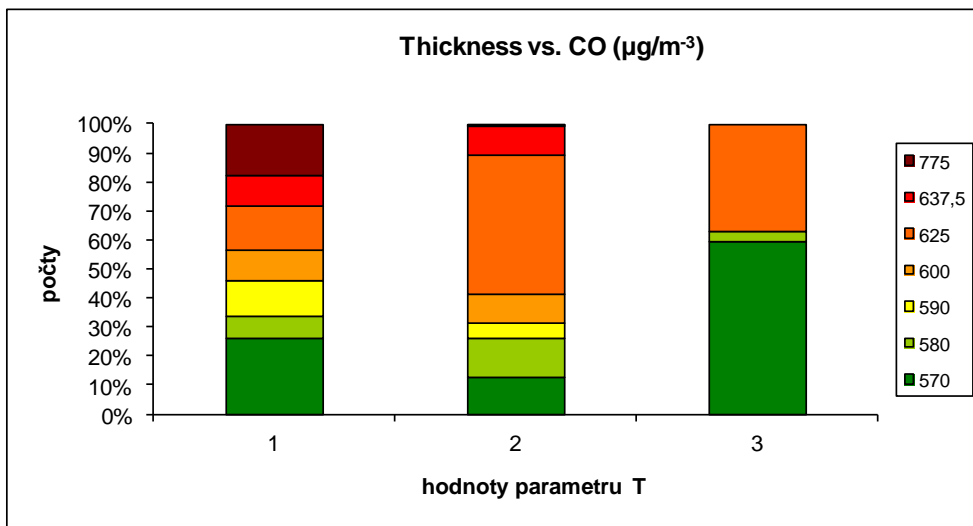


Obr. 8. Hodnoty parametru C za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

a)

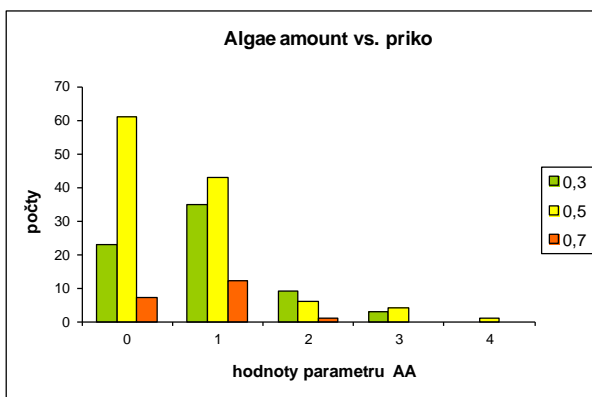


b)

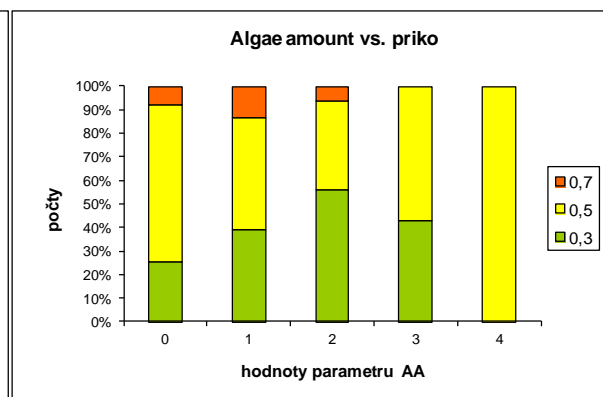


Obr. 9. Hodnoty parametru T za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

a)



b)



Obr. 10. Hodnoty parametru AA za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

4.2.2 Severní strana

4.2.2.1 Lineární korelace

Výsledky získané analýzou souboru jehlic sbíraných ze severní strany jsou v určitém směru výrazně odlišné od předchozího, zvláště co se týká parametru AA. Parametry C, T a AA jsou opět velmi silně vzájemně korelované. Z lineárních korelací parametrů mikrobiálních nárostů C, T a AA a koncentrací znečišťujících látek (*priko*, NO_x, NO₂, benzen, CO, SO₂ a PM₁₀) je patrná poměrně silná negativní korelace AA se všemi látkami. Parametry C a T korelují téměř se všemi škodlivinami (výjimky jsou NO₂ a SO₂) a rovněž korelují negativně, nicméně slaběji než AA (Tab. 16, 17).

Tabulka 16. Lineární korelace parametrů C a T s koncentracemi znečišťujících látek.

	Cover		Thickness	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
<i>priko</i>	-0,128	****	-0,070	*
NO _x	-0,096	***	-0,095	**
NO ₂	-0,017	ns	-0,050	ns
benzen	-0,123	****	-0,092	**
CO	-0,128	****	-0,090	**
SO ₂	0,047	ns	-0,008	ns
PM ₁₀	-0,127	****	-0,081	**

Parametry C, T, „nejporoslejší jehlice“ a „nejstarší jehlice“ spolu vzájemně pozitivně korelují. Algae amount koreluje s nejstarší jehlicí na větvi, ale nebyla nalezena žádná korelace s nejporostlejší jehlicí. To znamená, že starší jehlice jsou často více porostlé, mikrobiální nárosty porůstají větší plochu jehlice, jsou tlustší a obsahují i více řas. Canopy openness má signifikantní vliv pouze na tloušťku nárostu, a to negativní. Čím je jehlice více ozářena, tím by mikrobiální nárosty měly být tenčí (Tab. 18).

Tabulka 17. Lineární korelace parametru AA s koncentracemi znečišťujících látek.

	Algae amount	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
<i>priko</i>	-0,294	****
NO _x	-0,219	***
NO ₂	-0,150	**
benzen	-0,259	****
CO	-0,213	***
SO ₂	-0,119	*
PM ₁₀	-0,275	****

Tabulka 18. Lineární korelace parametrů C, T a AA se stářími nejporostlejší a nejstarší jehlice na větvi a canopy openness.

	Cover		Thickness		Algae amount	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
Nejporostlejší jehlice	0,157	****	0,097	***	-0,009	ns
Nejstarší jehlice	0,203	****	0,23	****	0,183	**
Canopy Openness	-0,028	ns	-0,103	***	-0,085	ns

Výsledky lineárních korelací parametrů jehlic (věk nejporostlejší a nejstarší jehlice) ukazují, že oba parametry s kvalitou ovzduší negativně korelují (kromě jedné výjimky NO₂ a nejstarší jehlice, kde nebyla korelace zaznamenána). Kvalita ovzduší má tedy prokazatelný, i když poněkud slabý, vliv na životnost jehlic. Lze také pozorovat slabý vliv znečištění ovzduší na věk nejporostlejší jehlice na větvi. Se zvyšujícím se znečištěním se věk nejporostlejší jehlice snižuje (Tab. 19).

Tabulka 19. Lineární korelace koncentrací znečišťujících látek se stářími nejporostlejších a nejstarších jehlic vyskytujících se na větvi.

	Nejporostlejší jehlice		Nejstarší jehlice	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
priko	-0,080	**	-0,173	****
NO _x	-0,114	****	-0,114	****
NO ₂	-0,082	**	-0,035	ns
benzen	-0,098	***	-0,141	****
CO	-0,124	****	-0,119	****
SO ₂	-0,080	**	-0,086	**
PM ₁₀	-0,097	***	-0,200	****

Aby bylo možné vzájemně porovnat všechny datové soubory, byl počet hodnot parametrů C a T redukován na počet AA (300). Zatímco parametr AA koreluje se všemi škodlivinami, počet signifikantních vztahů se v případě parametrů C a T snížil, zvláště výrazně v případě parametru T pouze na jeden (SO₂) (Tab. 20).

4.2.2.2 Nemetrické mnohorozměrné škálování (NMDS)

Protože se lokality sběru jehlic zcela nepřekrývají s těmi z předchozího souboru, byl i pro ně vytvořen NMDS ordinační diagram znázorňující vzájemné rozdíly lokalit v koncentracích znečišťujících látek. Lokality se od sebe podstatně liší, ale netvoří výrazné skupiny. Nicméně můžeme vysledovat, že lokality s podobným stupněm znečištění se vyskytují blíže u sebe. Nejodlišnější od všech jsou Chotkovy sady (sCho), Karlovo náměstí (sKar) a Muzeum (sMuz),

kteře představují nejznečištěnější lokality souboru. Na druhé straně se nachází skupina lokalit s lepší kvalitou ovzduší – Hvězda (sHve), Ďáblický háj (sDab) a Petřín (sPet) (Obr. 11). Hodnota stresu Shephardova diagramu byla 0,029.

Tabulka 20. Lineární korelace parametrů nárůstů se škodlivinami. Data pro C a T jsou redukována na počet AA.

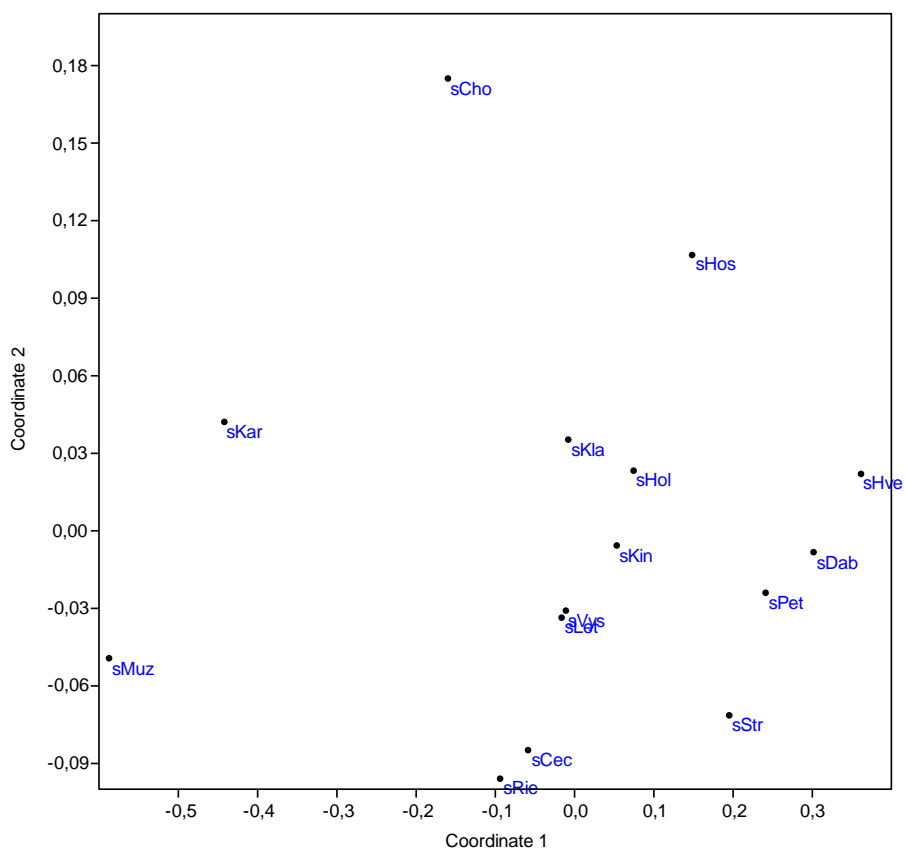
	Cover		Thickness		Algae amount	
	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota	Korelační koeficient <i>r</i>	<i>p</i> -hodnota
priko	-0,144	*	-0,038	ns	-0,294	****
No _x	-0,094	ns	0,005	ns	-0,219	****
NO ₂	-0,020	ns	0,047	ns	-0,150	**
benzen	-0,125	*	0,020	ns	-0,259	****
CO	-0,121	*	0,021	ns	-0,213	***
SO ₂	0,048	ns	0,168	**	-0,119	*
PM ₁₀	-0,131	*	-0,023	ns	-0,275	****

4.2.2.3 Mnohorozměrné analýzy (MANOVA)

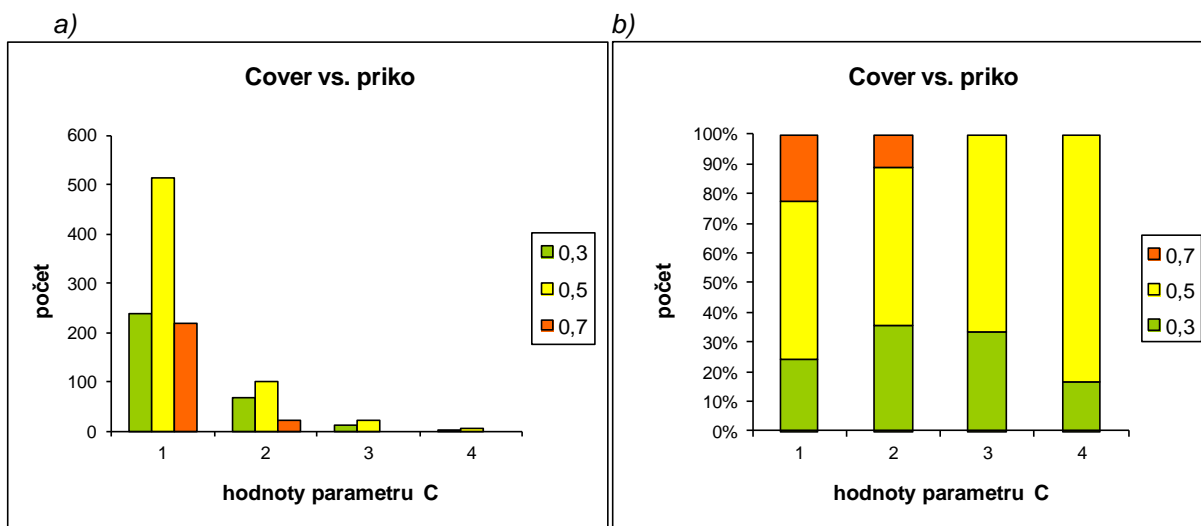
Ve výsledcích znázorňujících podíl variability v parametrech na různých úrovních – lokalita, strom a větev pozorujeme, stejně jako v předchozím souboru, že hlavní vliv na variabilitu hodnot parametrů má úroveň stromu. Ani zde ale není podíl variability na úrovni lokality zanedbatelný ~ 12–22 % celkové variability parametru (Příloha č. 4, Tab. 21).

Variabilita v parametrech nárůstů způsobená jednotlivými znečišťujícími látkami po odečtení vlivu canopy openness ukázala, že míra osvětlení v případě parametru C (pokryvnost) nemá signifikantní vliv a koncentrace škodlivin vysvětluje ~ 1–2 % z celkové variability parametru (Příloha č. 4, Tab. 22a–e). Grafy znázorňují stejně jako u předchozího souboru a) absolutní počty jehlic s danými hodnotami parametru při různých koncentracích škodlivin, b) procentuální zastoupení jehlic daného parametru v různých stupních znečištění (Obr. 12, 13, 14).

Na parametr T (tloušťka) má opačně k parametru C míra osvětlení pokaždé signifikantní vliv ~ 1,1 %, koncentrace škodlivin vysvětluje ~ 0,5–1,5 % přítomné variability v tomto parametru (Příloha č. 4, Tab. 23a–e). Na parametr AA (množství řas v nárůstu) opět canopy openness vliv nemá, ale co je v tomto případě rozdílné je míra vysvětlené variability koncentracemi znečišťujících látek v ovzduší ~ 2–9 %, což je o několik procent více než už parametrů předchozích (Příloha č. 4, Tab. 24a–g).

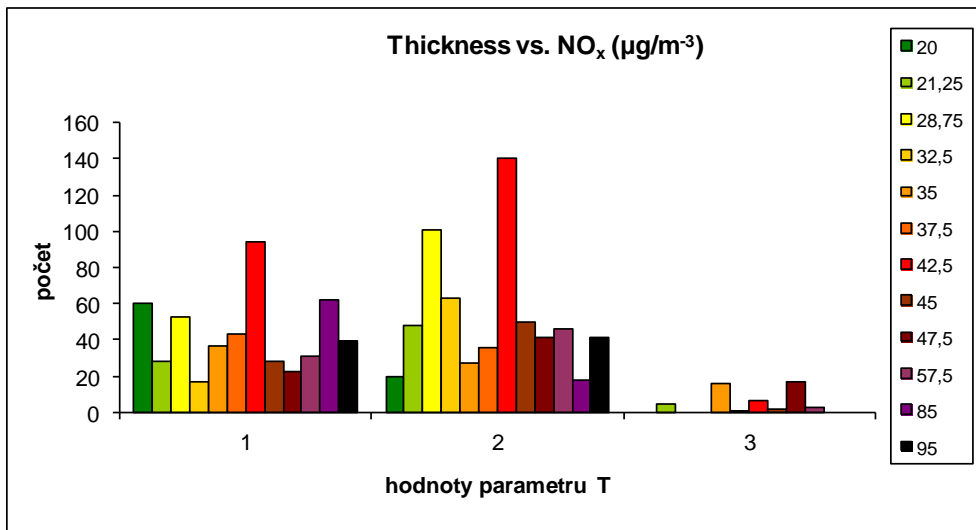


Obr. 11. NMDS ordinační diagram znázorňující rozdíly v kvalitě ovzduší mezi odběrovými lokalitami.

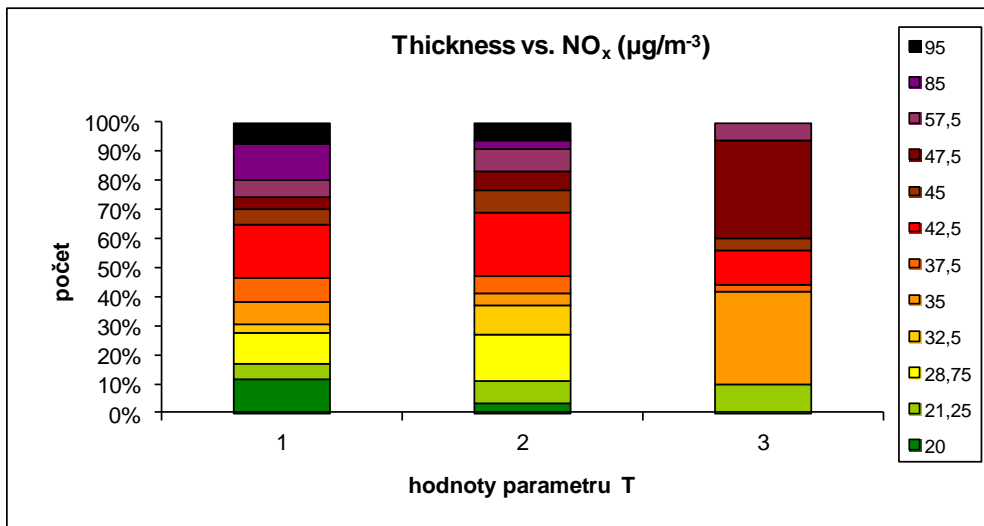


Obr. 12. Hodnoty parametru C za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

a)

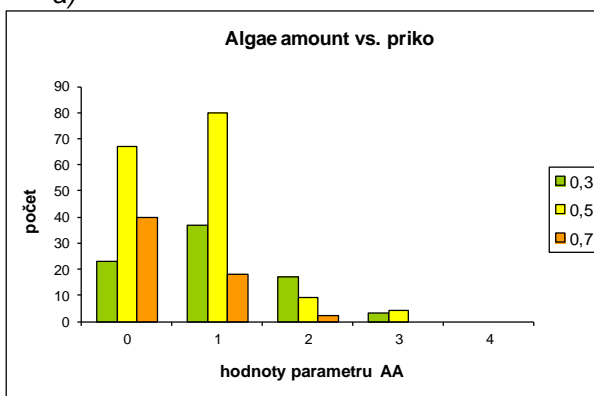


b)

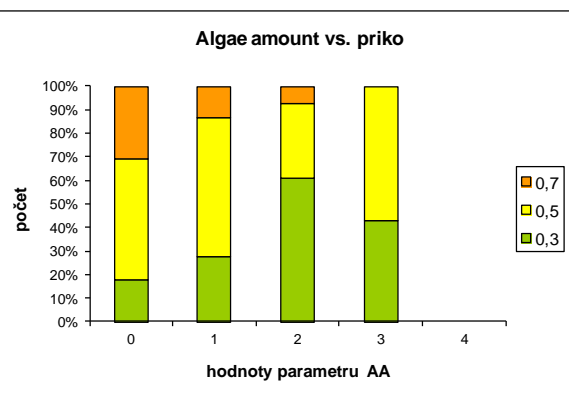


Obr. 13. Hodnoty parametru T za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

a)



b)



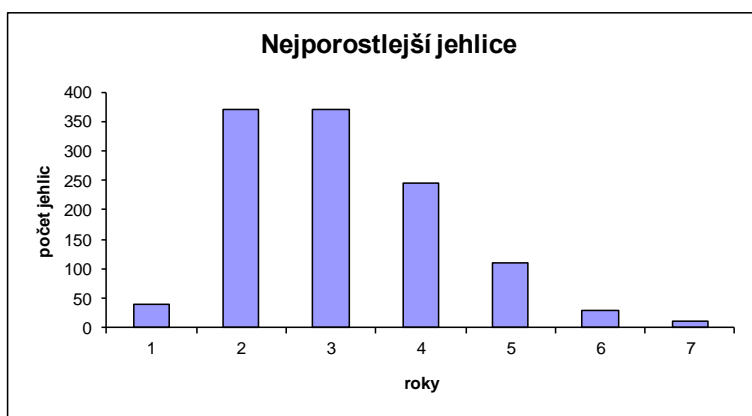
Obr. 14. Hodnoty parametru AA za různého znečištění: a) absolutní počty jehlic, b) 100% skládaný graf.

Protože rozsah dat pro C a T byl mnohem větší než pro AA, otestovali jsme i soubor zredukovaný na stejný počet jehlic jako měl parametr AA. Výsledky pro parametr C zůstaly převážně stejné (jak počet signifikantních korelací, tak i procenta vysvětlené variability) (Příloha č. 4, Tab. 25a–d), nicméně parametr T tentokrát koreloval, na rozdíl od prvních korelačních testů, pouze s SO₂. Procento vysvětlené variability bylo v porovnání s předchozími výsledky mírně vyšší a to ~ 2,7 % (Příloha č. 4, Tab. 26).

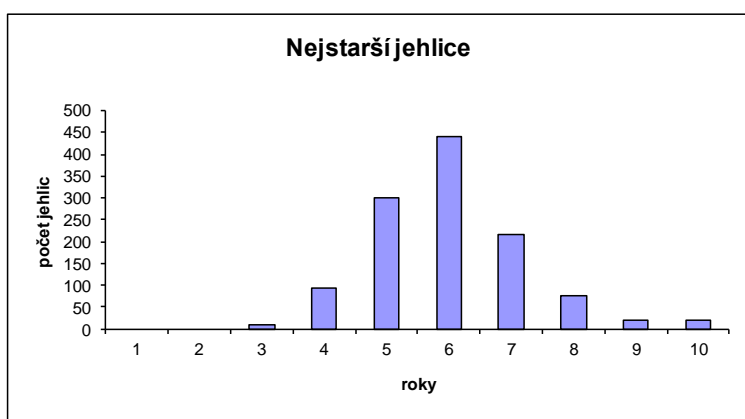
4.2.2.4 Četnosti jehlic různého stáří

Ke znázornění rozložení věků nejporostlejších a nejstarších jehlic na větvi, ze které byly jehlice odebrány byly vytvořeny dva histogramy. Nejporostlejší jehlice byly odebrány a podrobněji analyzovány v laboratoři. Z grafů je patrné, že nejvíce porostlé jsou jehlice druhého a třetího roku a pak se míra pokryvnosti zřetelně snižuje. Jehlice staré jeden rok jsou častěji více pokryté nárosty, než jehlice staré šest nebo sedm let.

Rozložení věků nejstarších jehlic na větvi se podobá předchozímu případu v souboru jehlic sbíraných ze čtyř světových stran z již zmíněných důvodů. Průměrný věk je rovněž šest let a extrémy zahrnují nejstarší jehlice staré tři roky a na druhé straně jehlice staré deset let (Obr. 15, 16).



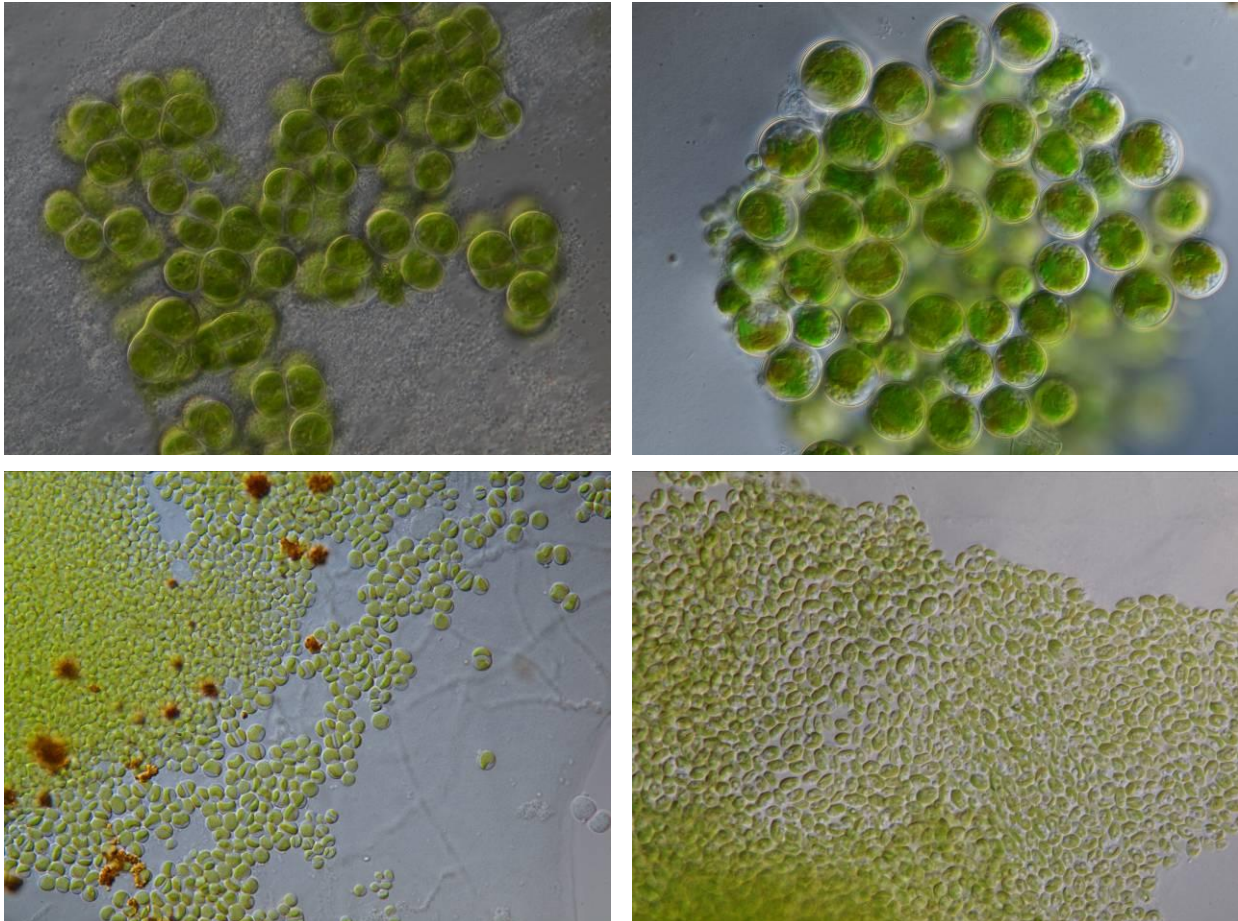
Obr. 15. Histogram věků nejporostlejších jehlic na větvi.



Obr. 16. Histogram věků nejstarších jehlic přítomných na větvi.

4.3 Experimentální kultivace

Po tříměsíční kultivační době byly ve světelném mikroskopu pozorovány vyrostlé kolonie řas. Cílem bylo učinit si hrubou představu o složení řasového společenstva vyskytujícího se na jehlicích tisu v mikrobiálních nárostech. Nejčastěji byly pozorovány kolonie rodů *Desmococcus* sp. a *Trebouxia* sp. Vzácněji se vyskytovaly rody *Diplosphaera* sp. či cf. *Coccomyxa* sp. (Obr. 17). Všechny tyto rody jsou typické pro aerofytická společenstva zelených řas.



Obr. 17. Rody zelených kokálních řas nalezených v mikrobiálních nárostech na povrchu jehlice tisu: a) *Desmococcus*, b) *Trebouxia*, c) *Diplosphaera*, d) cf. *Coccomyxa*.

5 Diskuze

Již v mé bakalářské práci jsem se zabývala výskytem a abundancemi nárostů na jehlicích tisů červeného. Toto téma mě zajímalo zejména proto, že i když se mikrobiální nárosty na jehlicích tisů vyskytují, nebyla jim dosud věnována žádná pozornost, zvláště co se týče skupiny zelených řas. Tis červený je zároveň ideální pro tento typ výzkumu, jelikož je to dřevina ve městských parcích téměř všudypřítomná. Hlavním cílem mé práce bylo zjistit, zda výskyt mikrobiálních nárostů koreluje s kvalitou ovzduší. Získané výsledky naznačovaly, že zde určitý vztah existuje, nicméně metodiku bylo potřeba vylepšit a standardizovat. Řasy na jehlicích jsou přímo vystavené povětrnostním podmínkám, mnohem více než lišejníky nebo mechy na kmenech. Řasy se rovněž rychleji množí, což může být výhodou oproti pomaleji se množícím makroorganismům.

5.1 Vzájemné vztahy jednotlivých parametrů

Po analyzování a vyhodnocení dat parametrů mikrobiálních nárostů a nezávislých proměnných (orientace, věk nejstarší jehlice, otevřenost oblohy, obvod kmene) v Chotíkovské studii můžeme shrnout několik důležitých informací. Co se týče parametrů C (pokryvnost), T (tloušťka nárostu) a AA (množství řas v nárostu), výsledky analýz se v zásadě shodují a tyto parametry jsou tedy v podstatě zastupitelné. Ve dvou případech se výsledky nicméně liší. V prvním případě jde o slabě signifikantní efekt otevřenosti oblohy (canopy openness) na pokryvnost (C), druhý je vztah tloušťky nárostu (T) a věku nejstarší jehlice přítomné na větvi. První případ je možné vysvětlit takto: na více ozářených jehlicích porůstají mikrobiální nárosty menší plochu z důvodu nedostatečné vlhkosti. Je totiž známo, že řasy rostoucí na jehlicích preferují spíše vlhká stanoviště (Peveling et al. 1992). V případě negativní korelace tloušťky mikrobiálních nárostů a nejstarší jehlice na větvi se zřejmě nabízí následující vysvětlení: čím jsou nárosty tlustší, tím se snižuje „životaschopnost“ jehlice (např. schopnost fotosyntetizovat), která odumře rychleji, než jehlice nárostem neporostlá, nebo porostlá nárostem slabším. Je také možné, že nárosty snižují vitalitu jehlic narušováním jejich kutikuly, což bylo také zmíněno ve studii Peveling et al. (1992). Zejména houby jsou schopné vyživovat se díky svým haustoriím i na buňkách kutikuly jehlic. Nicméně na jehlicích tisů (Pražská studie) se s vyšším věkem množství nárostů zvyšuje. V souboru jehlic sbíraných ze čtyř světových stran se stářím pozitivně koreluje pouze parametr C, v souboru sbíraném pouze na severní straně ovšem všechny tři parametry C, T a AA. Vysvětlení, proč existuje takový rozdíl mezi dvěma studiemi, by mohlo být takové, že jehlice tisů, na rozdíl od smrku, vylučují obranné látky a tím se chrání před narušováním povrchu jehlice nárosty. Takové látky vyskytující se v jehlicích těchto stromů by mohly být např. taxany (Appendino et al. 1992). Protože C, T a AA v Chotíkovské studii reagují v zásadě stejným způsobem, pro následující sledování a hodnocení

mikrobiálních nárostů na jehlicích by se zdálo být logickým používat pouze dva první parametry C a T. Parametr AA je totiž oproti prvním dvěma velmi časově náročný a zde nepřináší žádnou novou informaci. Není ale vyloučeno, že i když spolu všechny tři parametry silně korelují, může AA míru znečištění odrážet nejlépe (stejný případ jako v Pražské studii). Ze všech parametrů prostředí má jednoznačně nejsilnější vliv orientace větve, ze které jsou jehlice odebírány. V kvantitě mikrobiálních nárostů dominuje severní strana, nejméně se jich nachází na jižní straně. To lze opět jednoduše vysvětlit tím, že řasám více vyhovují spíše zastíněná (vlhká) stanoviště, což představuje právě severní strana. Ta je během dne (a potažmo roku) relativně méně osvětlená, přijímá tedy méně energie (tepla), která by způsobovala odpar a tím nižší vlhkost. Co se týče vlivu orientace na parametry nárostů, na pražském souboru jehlic bylo pozorováno, že ta má vliv pouze na parametr T, ale neovlivňuje parametr C. Jinými slovy, míra tloušťky nárostů se mění v závislosti na světových stranách, zatímco míra pokrytí jehlice je na orientaci na různé světové strany nezávislá. Je možné, že vliv orientace na nárosty mohly překrýt další přítomné faktory jako je proudění vzduchu, hustota porostu, vzdálenost zdroje znečištění a jeho charakter (poloha, velikost) – v tomto případě se jednalo zvláště o silniční komunikace, které jsou zásadním zdrojem znečištění. I ozářenost má vliv především na parametr T, nicméně v každém z obou souborů jiný. V souboru jehlic sbíraných ze čtyř světových stran je korelace T a canopy openness kladná a poměrně slabá (0,02), ve druhém souboru jehlic ze severní strany je tento vztah negativní se značně vyšším koeficientem korelace (-0,103). V prvním případě canopy openness vysvětluje 1,4 % celkové variability parametru, ve druhém 1,1 %. Oba vztahy jsou poměrně značně signifikantní, p -hodnota se pohybuje mezi 10^{-3} a 10^{-4} . Nabízí se dvě možná vysvětlení. Pokud ze souboru jehlic sbíraných ze čtyř stran vyjme pouze ty hodnoty pro tloušťku na severní straně a koreluje je s otevřeností oblohy, zjistíme, že v tomto případě žádnou korelaci těchto dvou proměnných nepozorujeme. Tedy i v tomto případě vidíme, že důležitý vliv na výsledky analýz má orientace ke světovým stranám, která jejich výsledky může zásadně změnit. Pozitivní korelaci tloušťky nárostu a canopy openness bych tedy přisuzovala vlivu všech čtyř světových stran současně a za výsledek spíše vypovídající o skutečnosti bych považovala ten, který vyplývá z analýzy souboru jehlic sbíraných jen ze severní strany. Nicméně nelze vyloučit, že na tloušťku nárostů může mít vliv ještě jiný, nám neznámý faktor než je otevřenost oblohy, např. proudění vzduchu nebo vlhkost, které se mohly během sběrů jehlic lišit a které jsem neměřila.

5.2 Variabilita v rámci parametrů C, T a AA

Pokud porovnáme chování parametrů nárostů na jehlicích smrku a tisů, dostaneme v obou případech stejný výsledek, a to ten, že jsou parametry C, T a AA vzájemně velmi silně korelované. Nicméně podíly variability těchto tří parametrů vysvětlené úrovněmi lokality, stromu a větve se mezi studii liší. Zatímco v Chotíkovské studii se množství variability vysvětlené prostorovými úrovněmi (lokalita, strom, větve) postupně zvyšovalo, v Pražské studii zpravidla největší procento variability parametru vysvětlovala úroveň stromu, pak úroveň lokality a nejmenší podíl variability připadal úrovni větve. A to jak v případech souboru jehlic sbíraného ze čtyř světových stran, tak v souboru jehlic sbíraných ze severní strany. Tyto rozdíly by mohly být způsobeny rozdílným znečištěním lokalit v Praze a v okolí Plzně. Zatímco lokality v Praze se vzájemně výrazně liší kvalitou ovzduší, je pravděpodobné, že studované lokality v okolí Plzně jsou si v míře znečištění v zásadě podobné. V Praze jsem si totiž díky podrobným informacím o kvalitě ovzduší mohla dovolit odebírat vzorky jak přímo u silničních komunikací, tak v oblastech jim vzdálených. V Chotíkovské studii jsem taková data neměla k dispozici, snažila jsem se proto jehlice odebírat vždy až v určité vzdálenosti od silnic, ve snaze vyřadit jejich vliv na mikrobiální společenstva. To znamená, že v Praze, kde je úroveň znečištění lokalit odlišná nabývá na významu úroveň lokality a tyto rozdíly můžeme pozorovat zprostředkovaně i na parametrech mikrobiálních nárostů. V okolí Plzně, kde se lokality svou kvalitou ovzduší podobají, převládá variabilita na těch nejmenších úrovních (jehlice a větve) a logicky nepozorujeme významný vliv lokality na strukturu parametrů mikrobiálních nárostů. To, že určitá nezanedbatelná část variability v rámci samotných parametrů připadá na úroveň lokality znamená, že tyto parametry jsou schopné reflektovat případné rozdíly mezi lokalitami právě ve znečištění ovzduší. Toto se týká především Pražské studie, kde procento variability parametrů na úrovni lokality bylo poměrně vysoké.

5.3 Vztah parametrů C, T a AA a kvality ovzduší v Praze

Pokud koreluje hodnoty parametrů s koncentracemi polutantů, zjistíme, že parametry reagují velmi rozdílně. V prvním souboru jehlic (starých 4 roky) nevidíme žádnou korelaci AA a polutantů, C je ovlivněn pouze indexem *priko* (průměrný index kvality ovzduší), zato T negativně koreluje se všemi sledovanými látkami kromě SO₂. Jiná situace nastává ve druhém souboru jehlic (k analýze byla odebírána nejporostlejší jehlice na větvi). Parametr AA negativně koreluje se všemi polutanty, C a T téměř se všemi. Všechny polutanty přispívají přibližně stejně k malému procentu variability v parametrech. Výrazný rozdíl mezi parametry vyvstane, pokud zredukujeme počet dat parametrů C a T na rozsah AA. C a T ukazují méně signifikantních korelací s polutanty a procento variability parametru zapříčiněné vlivem

škodlivin je stále stejné, cca 2 %. Nicméně korelační koeficienty parametrů nárostů a koncentrací škodlivin zůstávají v podstatě stejné, zejména v případě parametru C. To znamená, že vztah je stále stejný, ale výrazným snížením počtu hodnot parametrů došlo pouze k oslabení jeho signifikance. Parametr AA se jeví být koncentracemi škodlivin ovlivněn silněji. Vlivu škodlivin připadá 2–9 % variability parametru AA, což je poměrně veliký rozdíl oproti druhým dvěma parametrům C a T. Z hlediska možného praktického využití je jistou nevýhodou tohoto parametru to, že k jeho vyhodnocování je třeba mnohem více času a také více spotřebního materiálu v podobě podložních a krycích sklíček k mikroskopování. Parametry C a T by pravděpodobně bylo možné hodnotit i přímo na místě pomocí lupy a jehlice by se nemusely trhat a pozorovat v laboratoři. Jak je možné, že byl pozorován tak výrazný rozdíl mezi dvěma soubory jehlic v Praze? Jen těžko si lze nepovšimnout významně rozdílných výsledků získaných analyzováním dvou souborů jehlic sbíraných na téměř identických lokalitách v rámci 3 měsíců. Proč parametr AA nekoreluje s parametry ovzduší v souboru sbíraném ze čtyř světových stran, ale koreluje v „severním“ souboru? Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma soubory je v tom, které jehlice byly odebírány. Byly to buď jehlice konzistentně staré čtyři roky (čtyři světové strany) nebo nejporostlejší jehlice na dané větvi (sever). Průměrný věk nejporostlejší jehlice v tomto druhém souboru je 3 roky. Nejvíce porostlé jsou jehlice staré 2 a 3 roky, pak množství nárostů výrazně ubývá. Tento rozdíl lze zřejmě vysvětlit tak, že u mladších jehlic je výskyt řas ovlivňován především kvalitou ovzduší, zatímco u starších jehlic už převládají biotické vlivy jako je např. kompetice s houbami a dalšími organismy. Tím se vliv znečištění ovzduší odsouvá „na druhou kolej“. Peveling et al. (1992) ukazuje, že čím je věk jehlice vyšší, tím se zvyšuje množství odumřelých řas ve společenstvu i např. z důvodů kompetice o živiny nebo parazitace houbovými organismy.

5.4 Hodnocení mikrobiálních nárostů na jehlicích smrku a tisu

Hodnocení mikrobiálních nárostů na jehlicích ve městech (např. na zde používaném tisu) a ve venkovských či příměstských oblastech a lesích na smrku nelze provádět stejným způsobem. Hlavní rozdíl je v tom, že zatímco na smrcích (všechny dosud publikované studie – Peveling 1992, Bråkenhielm & Quinghong 1995, Grandin 2011) jsou nárosty dominované řasami, tak na jehlicích tisu je složení velmi různorodé. Je zde celá škála možností – od nárostů složených výhradně z houbových a dalších heterotrofních mikroorganismů, po nárosty složené pouze z řas. Je tedy zřejmé, že různé složení nárostů je při hodnocení třeba brát v úvahu a proto jsem pro tyto potřeby navrhla parametr AA. Jinými slovy, parametr AA může být užitečný při biomonitoringu ve městech, ale v čistších oblastech, kde jsou nárosty dominované řasami, může naopak pozbývat smyslu. Zde by např. stačilo použít zavedené metody hodnocení, tedy rychlost kolonizace a rozsah pokrytí větve nárosty, což na jehlicích tisu ve městě nebylo možné.

Vzhledem k mým výsledkům by se v budoucnu mohlo sledování mikrobiálních nárostů na tisech využívat k hodnocení míry znečištění ovzduší ve městech jako paralelní metoda k přístrojovým měřením. K použití mnou popsané metody je ovšem nutné, aby se na sledované lokalitě (ve městě) vyskytovaly tisy. Důvodem je, jak jsem již zmínila, že jehlice tisu obsahují taxany které mohou mít zásadní vliv na výskyt nárostů. Na jiných jehličnanech, které taxany neobsahují, může být charakter výskytu nárostů zcela odlišný. To by mohlo způsobit, že mnou popsaná metodika by nebyla použitelná.

Poznámka. Jedním ze sledovaných typů polutantů jsou i spory hub, které mohou působit jako alergeny. Pozornost je jim věnována především v prostorách uvnitř budov, ale i mimo ně (Gargouri et al. 2010). Ve znečištěnějších lokalitách se na jehlicích tisu vyskytuje v nárostech větší proporce houbových hyf než řas. Spory hub jsou často přichycené na PM (particulate matter), což jsou malé částičky o průměru 10 μm a menším, které vznikají především spalováním (Glikson et al. 1995). Tudíž se zvyšující se koncentrací PM se s velkou pravděpodobností zvyšuje i množství houbových spor v ovzduší.

6 Závěr

Z dostupných informací víme, že na výskyt autotrofních mikrobiálních nárostů mají hlavní vliv jednak klimatické podmínky jako průměrná roční teplota, zeměpisná šířka a délka a délka vegetační sezóny, ale také lokální podmínky stanoviště, jako například stáří a hustota porostu. Na existenci nárostů má ale významný vliv i kvalita ovzduší dané lokality. Ze dvou studií představených v této diplomové práci vyplývají tyto hlavní závěry: v Chotíkovské studii, kde data o kvalitě ovzduší nebyla k dispozici, byla hlavním faktorem ovlivňujícím výskyt mikrobiálních nárostů na jehlicích smrku orientace na stromě, konkrétně k severní straně. Na této straně nárosty porůstaly větší plochu jehlic, byly tlustší a obsahovaly i více zelených řas. Ze struktury parametrů mikrobiálních nárostů C (pokryvnost), T (tloušťka) a AA (množství řas) v této studii pozorujeme, že největší variabilita těchto parametrů se nachází na nejnižších studovaných úrovních, tedy na úrovních větví a samotných jehlic. To může například znamenat, že studované lokality se mezi sebou v kvalitě ovzduší nijak výrazně neliší. V Pražské studii měla orientace rovněž značný vliv, ovšem zde jsme mohli pozorovat významnou roli kvality ovzduší a tento vztah také statisticky ověřit. Tři parametry mikrobiálních nárostů C, T a AA zde byly značně variabilnější na úrovni lokalit, což tentokrát značí větší rozdíly ve kvalitě ovzduší mezi pražskými lokalitami. Zajímavý je především parametr AA (množství řas v nárostu), který se ukázal být nejlépe korelovaný se všemi atmosférickými polutanty. Obecně se dá říci, že mikrobiální nárosty v méně znečištěných lokalitách obsahují větší množství zelených řas a naopak. Tento ukazatel by tedy mohl být, vedle přístrojových měření koncentrací atmosférických polutantů, užitečným nástrojem při rutinním hodnocení kvality ovzduší v městských oblastech. Přestože je v centru zájmu ochrana lidského zdraví, důležité je znát i vliv znečišťujících látek na další organismy, které jsou součástí našeho životního prostředí. Protože jejich vymizení nebo naopak nadměrný růst mohou mít zpětně pro člověka neblahé důsledky.

Co se týče mikrobiálních nárostů na smrkových jehlicích, již se dlouhodobě používají k hodnocení kvality ovzduší v Integrovaném monitoringu životního prostředí ve Švédsku. V Chotíkovské studii jsem použila metodu odlišnou od švédské, poněkud upravenou a podle mého názoru vhodnější pro naše podmínky. Domnívám se ale, že by bylo žádoucí zavedenou švédskou metodu u nás vyzkoušet a případně také používat, abychom měli možnost mezinárodního srovnání. Klimatické podmínky i kvalita ovzduší v České republice jsou značně odlišné od zemí severní Evropy. Bylo by proto zajímavé zjistit, zda můžeme pozorovat rozdíly i v charakteru výskytu a složení mikrobiálních nárostů na jehlicích.

7 Literatura

- Ahmadjian, V. (1993b): The lichen symbiosis. *John Wiley & Sons, Inc., New York*, 250 str.
- Appendino, G., Gariboldi, P., Pisetta, A., Bombardelli, E., Gabetta, B. (1992): Taxanes from *Taxus baccata*. *Phytochemistry* 31, Issue 12: 4253-4257.
- Arensberg, P., Hemmingsen, V.H., Nyholm, N. (1995): A miniscale toxicity test. *Chemosphere* 30: 2103–2115.
- Bak, M., Szlauer-Lukaszewska, A. (2012): Bioindicative potential of diatoms and ostracods in the Odra mouth environment quality assessment. *Nova Hedwigia* 2012: 463–484.
- Balik, V. (1991): The effect of the road traffic pollution on the communities of testate amebas (Rhizopoda, Testacea) in Warsaw (Poland). *Acta Protozoologica* 30: 5–11.
- Bischoff, H., Bold, H.C. (1963): Phycological Studies IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *University of Texas Publications* 6318: 1–95.
- Bråkenhielm, S., Qinghong, L. (1995): Spatial and temporal variability of algal and lichen epiphytes on trees in relation to pollutant deposition in Sweden. *Water Air and Soil Pollution* 79: 61–74.
- Brück, H. (1983): Der Einfluß der Großstadt auf die Verbreitung rindenbewohnender Grünalgen am Beispiel von Köln. *Decheniana (Bonn)* 136: 1–4.
- Burg, H. (1990): Der Einfluß von Epibionten auf die Photosyntheseleistung von *Picea abies* (L.) Karst. nach Untersuchungen im Freiland. *Dissertation*, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster. In: Tenberge, K.B., Peveling, E. (1991): Strukturelle Veränderungen an Epidermiszellen von Fichtennadeln bei Besiedlung bei Epibionten. *Allgemeine Forst Zeitschrift* 46: 762–765.
- Burghilea, C.I., Zaharescu, D.G., Hooda, P.S., Palanca-Soler, A. (2011): Predatory aquatic beetles, suitable trace elements bioindicators. *Journal of Environmental Monitoring* 13, Issue 5: 1308–1315.
- Coesel, P.F.M. (2001): A method for quantifying conservation value in lentic freshwater habitats using desmids as indicator organisms. *Biodiversity and Conservation* 10, Issue 2: 177–187.
- De Bisthoven, L.J., Gerhardt, A., Soares, A.M.V.M. (2005): Chironomidae larvae as bioindicators of an acid mine drainage in Portugal. *Hydrobiologia* 532: 181–191.
- Eliáš, M., Neustupa, J., Pažoutová, M., Škaloud, P. (2013): A case of taxonomic inflation in coccoid algae: *Ellipsoidion parvum* and *Neocystis vischeri* are conspecific with *Neocystis (=Nephrodiella) brevis* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Phytotaxa* 76: 15–27.
- Evans, R.D., Johansen, J.R. (1999): Microbiotic crusts and ecosystem processes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18, Issue 2: 183–225.
- Favas, P.J.C., Pratas, J., Prasad, M.N.V. (2012): Accumulation of arsenic by aquatic plants in large-scale field conditions: Opportunities for phytoremediation and bioindication. *Science of the Total Environment* 433: 390–397.
- Frazer, G.W., Canham, C.D., Lertzman, K.P. (1999): Gap Light Analyzer (GLA): Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs. *Program*.
- Freystein, K., Salisch, M., Reisser, W. (2008): Algal biofilms on tree bark to monitor airborne pollutants. *Biologia* 63: 866–872.

- Gargouri, I., Mezghani, S., Hayouni, A., Njima, H., Abdelghani, A., Garrouch, A., Benzarti, M., Razzouk, H., Jerray, M. (2010): Inventory of the fungal spores in the atmosphere of the city of Sousse (Tunisia). *Revue française d'allergologie* 50, Issue 8: 603-610.
- George, D.B., Roundy, B.A., St Clair, L.L., Johansen, J.R., Schaalje, G.B., Webb, B.L. (2003): The effects of microbiotic soil crusts on soil water loss. *Arid Land Research and Management* 17, Issue 2: 113–125.
- Glikson, M., Rutherford, S., Simpson, W., Mitchell, C.A., Yago, A. (1995): Microscopic and submicron components of atmospheric particulate matter during high asthma periods in Brisbane, Queensland, Australia. *Atmospheric Environment* 29, Issue 4: 549-562.
- Gollerba, M.M., Shtina, E.A. (1970): Soil algae. *Soviet Soil Science-USSR* 2, Issue 5: 636-.
- Göransson, A. (1988): Luftalger och lavar indikerar luftföroreningar. *Naturvårdsverket* (Swed. Env. Prot. Agency), Rapport 3562. In Peveling, E., Burg, H., Tenberge, K.H. (1992): Epiphytic Algae and Fungi on Spruce Needles. *Symbiosis* 12: 173–187.
- Gorbushina, A.A. (2007): Life on the rocks. *Environmental Microbiology* 9: 1613–1631.
- Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (2009): Algae, Second Edition. *Pearson College Division*, ISBN 0321559657, 616 str.
- Grandin, U. (2011): Epiphytic Algae and Lichen Cover in Boreal Forests - A Long-Term Study along a N and S Deposition Gradient in Sweden, *Ambio* 40:857–866.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001): PAST – Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 9 str.
- Harmens, H., Foan, L., Simon, V., Mills, G. (2013): Terrestrial mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review. *Environmental Pollution* 173: 245–254.
- Haubner, N., Schumann, R., Karsten, U. (2006): Aeroterrestrial microalgae growing in biofilms on facades - Response to temperature and water stress. *Microbial Ecology* 51, Issue 3: 285–293.
- Holopainen, T., Karenlampi, L. (1984): Injuries to lichen ultrastructure caused by sulphur dioxide fumigations. *New Phytologist* 98: 285–294.
- Jozwiak, M.A., Jozwiak, M., Kozłowski, R., Rabajczyk, A. (2010): The role of indicator malacofauna in pollution assessment of inland waters exposed to anthropopressure: The case of the Kielce lake. *Ecological Chemistry and Engineering S* 17, Issue 4: 485–495.
- Kelly, M.G., Whitton, B.A. (1995): Trophic diatom index – a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* 7, Issue 4: 433–444.
- Lamenti, G., Tiano, P., Tomaselli, L. (2000): Biodeterioration of ornamental marble statues in the Boboli Gardens (Florence, Italy). *Journal of Applied Phycology* 12, Issue 3-5: 427–433.
- Lara, E., Acosta-Mercado, D. (2012): A molecular perspective on ciliates as soil bioindicators. *European Journal of Soil Biology* 49, Special Issue: 107–111.
- Lewin, R.A., Robinson, P.T. (1979): The greening of polar bears in zoos. *Nature* 278: 445–447.
- Lewis, L.A., Flechtner, V.R. (2002): Green algae (Chlorophyta) of desert microbiotic crusts: diversity of North American taxa. *Taxon* 51: 443–451.
- Ludwig, J.A., Reynolds, J.F. (1988): Statistical Ecology: A primer methods and computing. *John Wiley & Sons, Inc.*, 337 str.

- Lüttge, U., Büdel, B. (2010): Resurrection kinetics of photosynthesis in desiccation-tolerant terrestrial green algae (Chlorophyta) on tree bark. *Plant Biology* 12, Issue 3: 437–444.
- Macedo, M.F., Miller, A.Z., Dionísio, A., Saiz-Jimenez, C. (2009): Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the Mediterranean Basin: an overview. *Microbiology* 155: 3476–3490.
- Mathé, P. (1985): Mitwirkung von Epibiosen in belasteten Waldökosystemen. *Allgemeine Forst Zeitschriftung* 40: 674-675. In Peveling, E., Burg, H., Tenberge, K.H. (1992): Epiphytic Algae and Fungi on Spruce Needles. *Symbiosis* 12: 173–187.
- Metting, B. (1981): The systematics and ecology of soil algae. *Botanical Review* 47: 195–312.
- Meyer, C., Gilbert D., Gillet F., Moskura, M., Franchi, M., Bernard, N. (2012): Using „bryophytes and their associated testate amoeba“ microsystems as indicators of atmospheric pollution. *Ecological Indicators* 13: 144–151.
- Montanarella, L. (2008): The importance of soil biodiversity and bioindication within the EU Thematic Strategy for Soil Protection. *Fresenius Environmental Bulletin* 17: 1102–1106.
- Nayak, S., Prasanna, R., Pabby, A., Dominic, T.K., Singh, P.K. (2004): Effect of urea, blue green algae and Azolla on nitrogen fixation and chlorophyll accumulation in soil under rice. *Biology and fertility of soils* 40, Issue 1: 67–72.
- Němcová, Y., Eliáš, M., Škaloud, P., Hodač, L., Neustupa, J. (2011): *Jenufa*, gen. nov.: a new genus of coccoid green algae (Chlorophyceae, incertae sedis) previously recorded by environmental sequencing. *Journal of Phycology* 47: 928–938.
- Neustupa, J., Eliáš, M., Škaloud, P., Němcová, Y., Šejnohová, L. (2011): *Xylochloris irregularis*, gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a novel subaerial coccoid green alga. *Phycologia* 50: 57–66.
- Neustupa, J., Němcová, Y., Veselá, J., Steinová, J., Škaloud, P. (2013): *Leptochlorella corticola* gen. et sp. nov. and *Kalinella apyrenoidosa* sp. nov.: two novel *Chlorella*-like green microalgae (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) from subaerial habitats. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 377–387.
- Nguyen-Viet, H., Gilbert, D., Bernard, N., Mitchell, E.A.D., Badot, P.M. (2004): Relationship between atmospheric pollution characterized by NO₂ concentrations and testate amoebae density and diversity. *Acta Protozoologica* 43: 233–239.
- Nguyen-Viet, H., Bernard, N., Mitchell, E.A.D., Badot, P.M., Gilbert, D. (2008): Effect of lead pollution on testate amoebae communities living in Sphagnum fallax: An experimental study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69: 130–138.
- Nihlgård, B. (1985): The Ammonium Hypothesis – An Additional Explanation to the Forest Dieback in Europe. *Ambio* 14: 2–8.
- Oksanen, J., Blanchet, G.F., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R.B. (2011): Vegan: Community Ecology Package, R package version 1.7-8. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Pavelka, F., Klímek, P. (1999): Aplikovaná statistika. Zlín: VUT Brno, Fakulta managementu a ekonomiky ve Zlíně, ISBN 80-214-1545-2.
- Peveling, E., Burg, H., Tenberge, K.B. (1992): Epiphytic algae and fungi on spruce needles. *Symbiosis* 12: 173–187.
- Pivkin, M.V., Egorova, L.N. (1998): Mycobiota of *Taxus cuspidata* Siebold et Zucc. in Primorsky region. *Mikologiya i fitopatologiya* 32, Issue 2: 34-39.

- Poikolainen, J., Lippo, H., Hongisto, M., Kubin, E., Mikkola, K., Lindgren, M. (1998): On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland. *Environmental Pollution* 102: 85–92.
- Poikolainen, J., Piispanen, J., Karhu, J., Kubin, E. (2009): Long-term changes in nitrogen deposition in Finland (1990–2006) monitored using the moss *Hylocomium splendens*. *Environmental Pollution* 157 (2009) 3091–3097.
- Ponmurugan, P., Saravanan, D., Ramya, M. (2010): Culture biochemical analysis of a tea algal pathogen, *Cephaleuros parasiticus*S1. *Journal of Phycology* 46:1017–1023.
- R Development Core Team (2012): R: A Language and Environment for Statistical Computing. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Rindi, F., Guiry, M.D. (2002): Diversity, life history and ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban habitats in western Ireland. *Journal of Phycology* 38: 39–54.
- Rindi, F., López-Bautista, J.M., Sherwood, A.R., Guiry, M.D. (2006): Morphology and phylogenetic position of *Spongiochrysis hawaiiensis* gen. et sp. nov., the first known terrestrial member of the order Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 913–922.
- Rindi, F., Allali, H.A., Lam, D.W., López-Bautista, J.M. (2009): An overview of the biodiversity and biogeography of terrestrial green algae. Biodiversity Hotspots, Chapter 3, Editors: Vittore Rescigno et al, Nova Science Publishers, Inc. ISBN: 978-1-60876-458-7.
- Rodriguez, J.H., Wannaz, E.D., Pignata, M.L., Frangmeier, A., Franzaring, J. (2012): Fluoride Biomonitoring around a Large Aluminium Smelter Using Foliage from Different Tree Species. *Clean – Soil, Air, Water* 40: 1315–1319.
- Sládeček, V., Sládečková, A. (1996): Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství povrchové vody a čistírny odpadních vod, 1. a 2. díl. *Česká vědeckotechnická vodohospodářská společnost*, ISBN 80-02-01081-7.
- Solga, A., Frahm, J.-P. (2006): Nitrogen accumulation by six pleurocarpous moss species and their suitability for monitoring nitrogen deposition. *Journal of Bryology* 28: 46–52.
- Svoboda, D., Peksa, O., Veselá, J. (2010): Epiphytic lichen diversity in central European oak forests: Assessment of the effects of natural environmental factors and human influences. *Environmental Pollution* 158: 812–819.
- Šalamún, P., Renčo, M., Kucanová, E., Brázová, T., Papajová, I., Miklisová, D., Hanzelová, V. (2012): Nematodes as bioindicators of soil degradation due to heavy metals. *Ecotoxicology* 21: 2319–2330.
- Tarhanen, S., Poikolainen, J., Holopainen, T., Oksanen, J. (2000): Severe photobiont injuries of lichens are strongly associated with air pollution. *New Phytologist* 147: 579–590.
- Vacek, S., Hejzman, M., Semelová, V., Remeš, J., Podrázský, V. (2009): Effect of soil chemical properties on growth, foliation and nutrition of Norway spruce stand affected by yellowing in the Bohemian Forest Mts., Czech Republic. *European Journal of Forest Research* 128: 367–375.
- Zhang, J.M., Huss, V.A.R., Sun, X.P., Chang, K.J., Pang, D.B. (2008): Morphology and phylogenetic position of a trebouxiophycean green alga (Chlorophyta) growing on the rubber tree, *Hevea brasiliensis*, with the description of a new genus and species. *European Journal of Phycology* 43: 185–193.
- Zvára, K. (2006): Biostatistika. Karolinum, Praha, 213 str.

8 Přílohy

Seznam příloh:

Příloha č. 1

Ilustrační fotografie mikrobiálních nárostů na jehlicích smrku ztepilého a tisu červeného na lokalitách, pod binokulární stereolupou a v mikroskopickém preparátu

Příloha č. 2

Tabulky analýz z Chotíkovské studie

Příloha č. 3

Tabulky analýz z Pražské studie – čtyři světové strany

Příloha č. 4

Tabulky analýz z Pražské studie – sever

Příloha č. 5

Souhrnná tabulka lokalit, souřadnic GPS, závislých a nezávislých proměnných z Chotíkovské studie

Příloha č. 6

Souhrnná tabulka pro soubor jehlic sbíraných ze čtyř světových stran v Pražské studii s příslušnými hodnotami pro závislé i nezávislé proměnné

Příloha č. 7

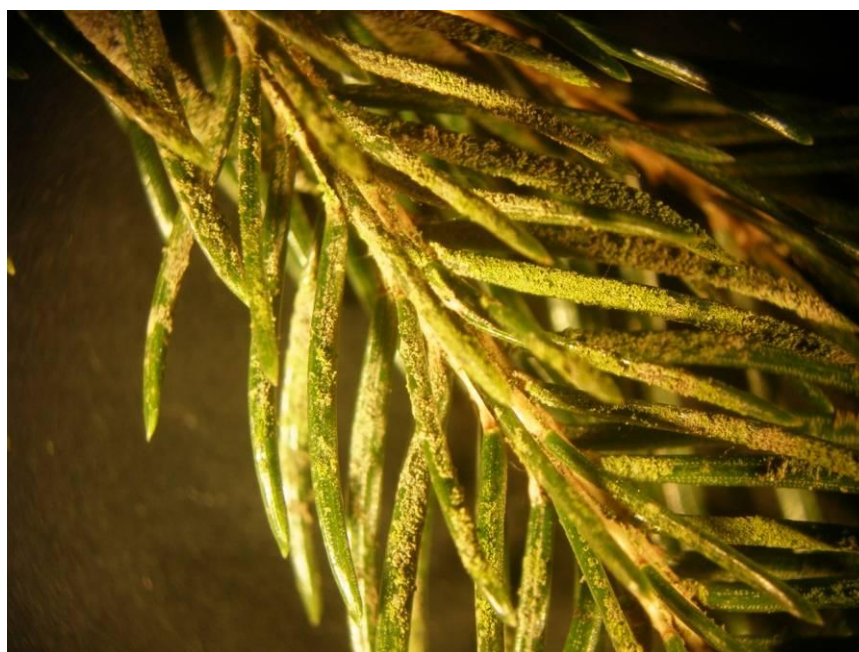
Souhrnná tabulka pro soubor jehlic sbíraných ze severní strany v Pražské studii s příslušnými hodnotami pro závislé i nezávislé proměnné

Příloha č. 1

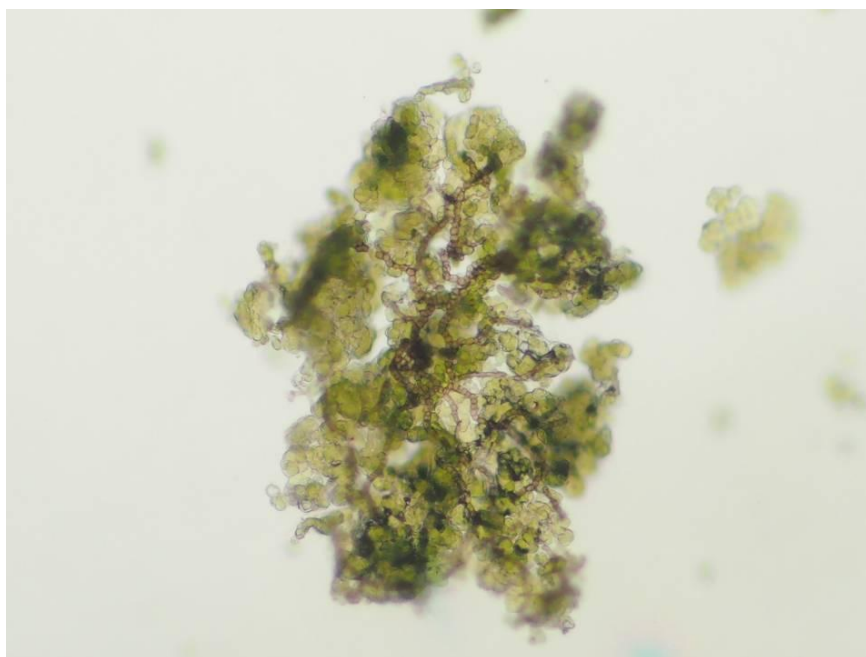
Ilustrační fotografie mikrobiálních nárůstů na jehlicích smrku ztepilého a tisu červeného na lokalitách, pod binokulární stereolupou a v mikroskopickém preparátu



Mikrobiální nárosty na jehlicích smrku v přírodě



Mikrobiální nárosty na jehlicích smrku pořízené pod binokulární stereolupou

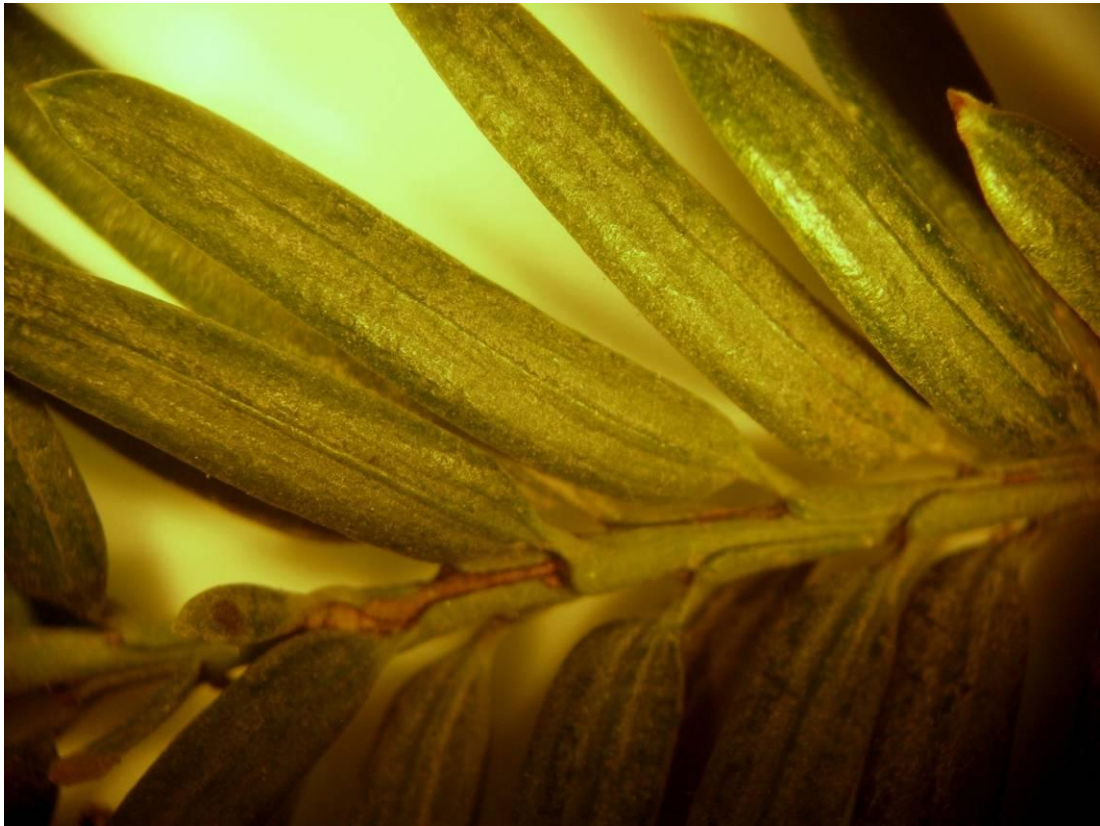


Fotografie preparátu mikrobiálního nárostu z jehlice smrku, zvětšeno 400x

Ilustrační fotografie různých typů mikrobiálních nárostů na tisových jehlicích – fotografie jsou pořízené v přírodě a pod binokulární stereolupou



Příklad vzhledu mikrobiálního nárostu na jehlicích tisu, fotografováno na lokalitě Letná



Nárostem velmi slabě porostlá jehlice tisů, foceno pod binokulární stereolupou



Jehlice tisů porostlá tenkým mikrobiálním nárostem s vysokým zastoupením zelených řas



Mikrobiální, převážně řasový nárost na jehlici tisů v detailnějším pohledu



Mikrobiální nárost na jehlici tisů s převážným zastoupením houbových hyf

Příloha č. 2

Tabulka 5. Analýza variance parametrů C, T a AA vysvětlených orientací, nejstarší přítomnou jehlicí na větvi a otevřeností oblohy (canopy openness).

	F-hodnota	R^2	Pr(>F)
Orientace			
C	7,096	0,025	2,5 % 0,001 ***
T	6,580	0,023	2,3 % 0,001 ***
AA	8,241	0,290	2,9 % 0,001 ***
Nejstarší jehlice			
C	0,085	0,0001	0,717
T	9,290	0,011	1,1 % 0,018*
AA	1,860	0,0001	0,930
Canopy openness			
C	6,780	0,008	0,8 % 0,045*
T	2,453	0,003	0,206
AA	3,160	0,004	0,132
Obvod kmene			
C	1,283	0,002	0,134
T	11,535	0,014	0,069
AA	0,039	0,0001	0,953

Tabulka 6. Výsledky analýzy variance parametrů mikrobiálních nárostů.

	DF	F-hodnota	R^2	Adj R^2	Pr(>F)
Cover					
site	11	11,444	0,072	0,060	6 % 0,001 ***
tree	40	5,315	0,125	0,068	6,8 % 0,001 ***
branch	117	5,938	0,408	0,260	26 % 0,001 ***
Residuals	671		0,394	0,612	61,2 %
Total	839		1,000		
Thickness					
site	11	9,996	0,058	0,045	4,5 % 0,001 ***
tree	40	10,597	0,222	0,171	17,1 % 0,001 ***
branch	117	6,045	0,37	0,212	21,2 % 0,001 ***
Residuals	671		0,351	0,572	57,2 %
Total	839		1,000		
Algae amount					
site	11	31,721	0,115	0,103	10,3 % 0,001 ***
tree	40	22,195	0,292	0,246	24,6 % 0,001 ***
branch	117	9,706	0,373	0,216	21,6 % 0,001 ***
Residuals	671		0,221	0,435	43,5 %
Total	839		1,000		

Příloha č. 3

Tabulka 12. Variabilita v rámci parametrů mikrobiálních nárůstů C, T a AA na úrovních lokality, stromu a větve.

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Adj R^2	Pr(>F)
Cover							
site	9	13,661	1,518	15,087	0,083	0,073	7,3 %
tree	39	54,965	1,420	14,008	0,336	0,294	29,4 %
branch	114	29,533	0,259	2,575	0,180	-0,023	-2,3 %
Residuals	652	65,600	0,101		0,401		
Total	814	163,760			1,000		
Thickness							
site	9	59,907	6,323	46,218	0,214	0,205	20,5 %
tree	39	64,704	1,659	12,127	0,244	0,196	19,6 %
branch	114	54,850	0,481	3,517	0,206	0,009	0,9 %
Residuals	652	89,200	0,137		0,336		
Total	814	265,661			1,000		
Algae amount							
site	9	23,140	2,571	10,437	0,181	0,144	14,4 %
tree	31	64,050	2,066	8,387	0,502	0,381	38,1 %
Residuals	164	40,400	0,246		0,317		
Total	204	127,590			1,000		

Tabulka 13. Variabilita v parametru **Cover** ovlivněná priko po odečtení vlivu canopy openness a orientace.

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	1,455	1,455	7,358	0,009	0,009 **
orientace	3	1,291	0,430	2,176	0,008	0,083
priko	1	1,006	1,001	5,084	0,006	0,021 *
Residuals	809	160,008	0,198		0,977	
Total	814	163,760			1,000	

Tabulka 14. Variabilita v parametru **Thickness** ovlivněná znečišťujícími látkami CO, PM₁₀, NO_x, priko, SO₂ a NO₂ po odečtení vlivu canopy openness a orientace.

a)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	12,081	0,014	0,001 ***
orientace	3	7,819	2,606	8,576	0,029	0,001 ***
CO	1	8,306	8,306	27,331	0,031	0,001 ***
Residuals	809	245,865	0,304		0,925	
Total	814	265,661			1,000	

b)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	12,015	0,014	0,002 **
orientace	3	7,819	2,606	8,529	0,029	0,001 ***
PM₁₀	1	6,944	6,944	22,722	0,026	0,001 ***
Residuals	809	247,227	0,306		0,931	
Total	814	265,661			1,000	

c)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	11,936	0,014	0,002 **
orientace	3	7,819	2,606	8,473	0,029	0,001 ***
NO_x	1	5,310	5,310	17,262	0,020	0,001 ***
Residuals	809	248,861	0,310		0,937	
Total	814	265,661			1,000	

d)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	11,891	0,014	0,002 **
orientace	3	7,819	2,606	8,441	0,029	0,001 ***
priko	1	4,380	4,380	14,184	0,165	0,001 ***
Residuals	809	249,791	0,309		0,940	
Total	814	265,661			1,000	

e)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	11,833	0,014	0,001 ***
orientace	3	7,819	2,606	8,399	0,029	0,001 ***
SO₂	1	3,143	3,143	10,189	0,012	0,003 **
Residuals	809	251,028	0,310		0,945	
Total	814	265,661			1,000	

f)

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	3,672	3,672	11,748	0,014	0,001 ***
orientace	3	7,819	2,606	8,339	0,029	0,001 ***
NO₂	1	1,330	1,331	4,257	0,005	0,041 *
Residuals	809	252,840	0,316		0,952	
Total	814	265,661			1,000	

Tabulka 15. Variabilita v parametru **Algae amount** ovlivněná priko.

	Df	SumsOf Sqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	0,030	0,030	0,048	0,0002	0,803
priko	1	2,112	2,112	3,400	0,017	0,058 .
Residuals	202	125,449	0,621		0,983	
Total	204	127,590			1,000	

Příloha č. 4

Tabulka 21. Variabilita v rámci parametrů mikrobiálních nárostů C, T a AA na úrovních lokality, stromu a větve.

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Adj R^2	Pr(>F)
Cover							
site	14	47,779	3,413	40,988	0,154	0,144 14,4 %	0,001 ***
tree	45	127,433	2,832	34,011	0,410	0,379 37,9 %	0,001 ***
branch	179	56,183	0,312	3,770	0,181	-0,023 -2,3 %	0,001 ***
Residuals	956	79,6	0,083		0,256		
Total	1194	310,996			1,000		
Thickness							
site	14	49,53	3,538	26,757	0,129	0,118 11,8 %	0,001 ***
tree	45	105,16	2,337	17,674	0,274	0,236 23,6 %	0,001 ***
branch	179	102,75	0,574	4,342	0,268	0,085 8,5 %	0,001 ***
Residuals	956	126,4	0,132		0,329		
Total	1194	383,84			1,000		
Algae amount							
Site	14	41,187	2,942	13,075	0,257	0,221 22,1 %	0,001 ***
Tree	45	65	1,444	6,420	0,406	0,260 26 %	0,001 ***
Residuals	240	54	0,225		0,337		
Total	299	160,187			1,000		

Tabulka 22. Variabilita v parametru **Cover** ovlivněná priko po odečtení vlivu canopy openness.

a)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	0,250	0,245	0,975	0,0008	0,335
Priko	1	5,192	5,192	20,255	0,017	0,001 ***
Residuals	1192	305,554	0,256		0,983	
Total	1194	310,996			1,000	

b)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	0,250	0,250	0,975	0,0008	0,314
CO	1	5,630	5,630	21,995	0,018	0,001 ***
Residuals	1192	305,120	0,256		0,981	
Total	1194	311,000			1,000	

c)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,250	0,250	0,975	0,0008	0,314
PM₁₀	1	5,071	5,071	19,773	0,016	0,001 ***
Residuals	1192	305,675	0,256		0,983	
Total	1194	310,996			1,000	

d)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,250	0,250	0,975	0,0008	0,343
Benzen	1	5,166	5,166	20,152	0,017	0,001 ***
Residuals	1192	305,580	0,256		0,983	
Total	1194	310,996			1,000	

e)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,250	0,250	0,969	0,0008	0,319
NO_x	1	3,274	3,274	12,693	0,011	0,001 ***
Residuals	1192	307,472	0,258		0,989	
Total	1194	310,996			1,000	

Tabulka 23. Variabilita v parametru *Thickness* ovlivněná příko po odečtení vlivu canopy openness.

a)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	4,030	4,032	12,821	0,011	0,001 ***
NO_x	1	4,980	4,978	15,829	0,013	0,001 ***
Residuals	1192	374,830	0,315		0,977	
Total	1194	383,840			1,000	

b)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	4,030	4,032	12,805	0,011	0,002 **
Benzen	1	4,510	4,513	14,335	0,012	0,001 ***
Residuals	1192	375,290	0,315			
Total	1194	383,840				

c)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	4,030	4,032	12,803	0,011	0,001 ***
CO	1	4,460	4,456	14,150	0,012	0,001 ***
Residuals	1192	375,350	0,315		0,978	
Total	1194	383,840			1,000	

d)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	4,030	4,032	12,747	0,011	0,001 ***
PM₁₀	1	2,800	2,801	8,855	0,007	0,002 **
Residuals	1192	377,000	0,316		0,982	
Total	1194	383,840			1,000	

e)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	4,030	4,032	12,722	0,011	0,001 ***
Priko	1	2,060	2,055	6,486	0,005	0,10 **
Residuals	1192	377,750	0,317		0,984	
Total	1194	383,840			1,000	

Tabulka 24. Variabilita v parametru **Algae amount** ovlivněná priko po odečtení vlivu canopy openness.

a)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,361	0,007	0,148
Priko	1	14,132	14,132	28,965	0,088	0,001 ***
Residuals	297	144,903	0,488		0,905	
Total	299	160,187			1,000	

b)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,334	0,007	0,118
PM₁₀	1	12,453	12,453	25,233	0,078	0,001 ***
Residuals	297	146,582	0,494		0,915	
Total	299	160,187			1,000	

c)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,327	0,007	0,119
Benzen	1	12,044	12,044	24,334	0,075	0,001 ***
Residuals	297	146,991	0,495		0,918	
Total	299	160,187			1,000	

d)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,280	0,007	0,135
NO_x	1	9,017	9,017	17,852	0,056	0,001 ***
Residuals	297	150,018	0,505		0,937	
Total	299	160,187			1,000	

e)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,272	0,007	0,146
CO	1	8,438	8,438	16,641	0,053	0,001 ***
Residuals	297	150,597	0,507		0,940	
Total	299	160,187			1,000	

f)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,219	0,007	0,139
NO₂	1	4,843	4,843	9,329	0,030	0,007 **
Residuals	297	154,192	0,519		0,963	
Total	299	160,187			1,000	

g)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	1,152	1,152	2,193	0,007	0,152
SO₂	1	3,030	3,030	5,769	0,019	0,022 *
Residuals	297	156,005	0,525		0,974	
Total	299	160,187			1,000	

Tabulka 25. Variabilita v parametru **Cover** ovlivněná priko po odečtení vlivu canopy openness. Data jsou redukována na počet hodnot AA.

a)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,018	0,018	0,062	0,0002	0,811
Priko	1	1,776	1,777	6,239	0,0206	0,016 *
Residuals	297	84,553	0,285		0,9792	
Total	299	86,347			1,000	

b)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,018	0,018	0,062	0,0002	0,814
Benzen	1	1,343	1,343	4,693	0,0156	0,023 *
Residuals	297	84,986	0,286		0,9842	
Total	299	86,347			1,000	

c)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R ²	Pr(>F)
canopy openness	1	0,018	0,018	0,062	0,0002	0,789
CO	1	1,240	1,240	4,329	0,0144	0,045 *
Residuals	297	85,089	0,287		0,9854	
Total	299	86,347			1,000	

d)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	0,018	0,018	0,062	0,0002	0,808
PM₁₀	1	1,471	1,471	5,148	0,0170	0,031 *
Residuals	297	84,858	0,286		0,9828	
Total	299	86,347			1,000	

Tabulka 26. Variabilita v parametru **Thickness** ovlivněná priko po odečtení vlivu canopy openness. Data jsou redukována na počet hodnot AA.

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R^2	Pr(>F)
canopy openness	1	0,097	0,097	0,351	0,0012	0,576
SO₂	1	2,285	2,285	8,300	0,0272	0,004 **
Residuals	297	81,765	0,275		0,9717	
Total	299	84,147			1,000	