

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra botaniky**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Bakalářská práce

**Metody studia biologie epifytických mechorostů**

Biology of epiphytic bryophytes: Methods of study

**Erika Reitschmiedová**

Vedoucí práce/školitel: RNDr. Zdeněk Soldán, CSc.

Praha, 2012

**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, 12. 5. 2012

.....  
Erika Reitschmiedová

**Poděkování:**

Děkuji především svému školiteli RNDr. Zdeňku Soldánovi, CSc. za vedení mé práce, ochotnou spolupráci a cenné rady. Dále děkuji svým nejbližším za nezbytnou podporu.

## **Abstrakt**

Ve své práci se zaměřuji na základní shrnutí a popis metod užívaných ke studiu biologie/ekologie mechorostů, a to s důrazem na epifytické mechorosty. Popisované metody tedy zahrnují studium biologie mechů a játrovek, mezi hlevíky se epifytické formy nevyskytují. Práce je rozdělena do pěti kapitol, jejichž hlavním cílem je popsat základní či nejužívanější metody studia fenologie, růstu, bioindikace a environmentálních podmínek, jako měření závislosti na světle, vodě a měření pH borky. Poslední, pátá kapitola „Formy a strategie“ je pouze terminologická a obsahuje pojmy označující životní a růstové formy a životní strategie mechorostů, které se užívají při studiu kolonií mechorostů.

*Klíčová slova:* biologie, epifyty, játrovky, mechorosty, mechy, metody, přírodní podmínky

## **Abstract**

This thesis is aimed to provide basic description and summary of methods used to study biology/ecology of bryophytes, especially epiphytes. Described methods include study of mosses and liverworts; hornworts are not included due to the fact that their epiphytic form is not known. There are five chapters in this thesis, all of them are primarily focused on description of basic or most useful methods for studying phenology, growth, bioindication and environmental conditions, e.g. light and water relationship measurement as well as bark pH measurement. The last one, “Forms and Strategies”, is only terminological and it includes terms of life and growth forms and life strategy which are used in studying colonies of bryophytes.

*Key words:* biology, bryophytes, environmental conditions, epiphytes, liverworts, methods, mosses

## Obsah

1. Úvod .....	5
1. Fenologie mechů.....	7
1.1. Fenofáze .....	10
2. Růst .....	13
2.1. Měření biomasy .....	13
2.2. Metoda výměny plynů.....	17
3. Environmentální a mikroklimatické podmínky .....	18
3.1. Měření pH borky .....	18
3.1.1. Laboratorní metoda.....	18
3.1.2. Terénní metoda .....	19
3.2. Měření závislosti na světle.....	19
3.3. Měření závislosti na vodě .....	21
4. Bioindikace a biomonitoring.....	25
4.1. Metoda aktivního monitorování .....	25
4.2. Metoda pasivního monitorování.....	27
5. Formy a strategie .....	28
5.1. Životní formy.....	28
5.2. Růstové formy.....	29
5.3. Životní strategie .....	30
6. Závěr.....	32
7. Literatura .....	33

## 1. Úvod

Mechorosty, nejen epifytické, jsou z fylogenetického hlediska velmi úspěšnou skupinou rostlin. A to převážně díky unikátní schopnosti osidlovat biotopy, které nejsou dominantně obývány cévnatými rostlinami (povrchy skal, listové kutikuly, borka stromů či permafrost) (Bates 1998). Jako rostliny poikilohydrické s dominantním gametofytem, většinou postrádajícím kutikulu, nejsou schopny zcela efektivně regulovat obsah vody ve své stélce (Alpert 2005). Kromě druhů obývajících vlhká stanoviště jsou však mechorosty k vysychání poměrně tolerantní. Mohou také úspěšně osidlovat biotopy s nepříznivými světelnými podmínkami (Grimme et al. 1990), což je výhoda zvláště pro epifytické mechorosty, které se naopak vyhýbají silnému ozáření (Glime 2012). Voda a světlo jsou tedy hlavními environmentálními faktory ovlivňujícími růst a vývoj mechorostů. Další důležitý faktor, který ovlivňuje především druhové složení kolonie, je pH substrátu, tudíž borka stromů u epifytických mechorostů (Gustafsson et Ericsson 1995, Schmidt et al. 2001, Marmore et Randlane 2007). Kyselost substrátu úzce souvisí s faktem, že mechorosty jsou stejně jako lišejníky velice dobrými bioindikátory, akumulují těžké kovy z okolí a reagují na změny koncentrace polutantů v prostředí (Glime 2012).

Cílem mé bakalářské práce je souhrnně popsat základní, nejpoužívanější metody ke studiu biologie mechorostů, převážně epifytických, a to jak v terénu, tak v laboratorních podmínkách. Práce je psána s důrazem na epifytické mechorosty z toho důvodu, že v navazující diplomové práci bych se chtěla věnovat studiu biologie již konkrétních epifytických druhů. Některé metody zahrnují dlouhodobé pozorování v terénu, jako například fenologické metody, jiné, fyziologické metody, jsou pouze laboratorní. Měření závislosti na světle, vodě a pH borky jsem zahrnula do jedné kapitoly s názvem „Environmentální a bioklimatické podmínky“ a to z důvodu, že ve většině těchto měření se jednotlivé závislosti na mikroklimatických podmínkách prolínají. V případě většiny metod studia růstu, fenologie, bioindikace, závislosti na světle a vodě se studuje celá kolonie, nikoliv jednotlivé rostliny. Z tohoto důvodu jsem zahrnula do své práce poslední, „nemetodologickou“ kapitolu s názvem „Formy a strategie“, ve které stručně popisují termíny týkající se životních a růstových forem (Birse 1957, La Farge–England 1996, Bates 1998) a životních strategií mechorostů (During 1979), se kterými se ve většině studií operuje. Kapitola „Bioindikace“ je pojata vcelku stručně, jelikož se jedná o velice obšírné a studované téma, které by obsáhlo samostatnou práci. Použitá literatura zahrnuje jak recentní studie,

tak i starší práce, které jsou v dané problematice relevantní a zásadní a tudíž se na ně ve svých pracích recentní autoři opakovaně odkazují.

## 1. Fenologie mechů

Fenologie je definovaná jako studium průběhu základních životních funkcí, růstu a reprodukce v závislosti na změnách klimatu (Stark 2002). Studie zahrnují dobu vegetativního růstu, dozrávání gametangií, způsob větvení, dobu oplodnění, vývoj sporofytu a dobu uvolnění spor (Stark 2002). Recentní práce v oblasti fenologie jsou podněcovány formulací fenologického klasifikačního systému navrhnutého Greenem (Stark 2000 sensu Greene 1960) v kontextu s prací Longtona (Longton 1990). V širším pojetí můžeme do studia fenologie zařadit architekturu a růst lodyhy, nutriční stav, stav strukturálního vývoje, interakce mezi pohlavním a nepohlavním rozmnožováním, fitness, šíření spor, pohlavní dimorfismus, genovou rozmanitost, toleranci k vysoušení (Stark 2002). Ve své podstatě zahrnuje studium fenologie mechorostů období růstu a reprodukce; tedy od uvolnění spory po sexuální projev, následně od oplodnění po dozrávání spor. Systém studia fenologie mechorostů popisuje hlavní vývojové stupně jejich životního cyklu založené na morfologii a ekologii (Forman 1965).

Základní systém zrání a vývoje gametofytu a sporofytu je popsán podrobně a souhrnný systém prezentace fenologických dat je představen jako kombinace kategorií zrání podle Greena (Greene 1960), funkcí a fenofází, které zdůraznil Forman (Forman 1965) a propracované číselné údaje Longtona (Longton 1969a,b; Stark 2002).

Někteří bryologové zahrnují do svých prací poznámky o fruktifikaci typu „in fruit“, „c. fr.“ a podobně, ale spíše než jako popis a pozorování jednotlivých vývojových stádií, jen jako součást údajů o sběru, případně jako jakousi pomoc při identifikaci vzorku (Forman 1965). V české bryologické literatuře je fenologie poměrně opomíjena (Pospíšil 1995), přestože je důležité mít informace nejen o morfologii druhu, ale také o jeho životním cyklu. Tyto znalosti fenologie jsou důležité především v případě, jedná-li se o druh ohrožený (Pospíšil 1995).

Pro ilustraci, resp. jako ukázkou toho, jaká pozornost je věnována fenologii v českých a československých klíčích k určování mechorostů. Vybrala jsem jeden druh játrovky a dva druhy mechů; všechny druhy jsou epifytické a jsou v kategorii červeného seznamu mechorostů v ČR (Kučera et Váňa 2005) označeny jako „LC“, tedy jako druhy „neohrožené“.

*Frullania dilatata* (L.) Dumort.

Dědeček (1883): „Plody zjara a na podzim. Na starších i mladších kmenech lesních i polních stromů, nebo na skalách, z roviny až na hory obecná.“



Pilous et Duda (1960): „Na kůře listnatých i jehličnatých stromů nebo na skalách od nížin do hor obecný a vždy plodný.“

Duda et Váňa (1977): „In der Tschechoslowakeieine der gemeinen Arten; sie wächst vor allem auf Rinde älterer Bäume, aber auch auf Felsen von der Ebene bis in die Bergregion. In höheren Gebirgen ist sie ziemlich selten.“

Kučera (2012): „Většinou na borce (spíše listnatých) stromů, obvykle buků, ale i dubů a dalších dřevin, vzácněji na skalách od nížin do montánního pásma.“

*Orthotrichum pumilum* Sw. ex Anon.

Weidmann (1895): „Plody v dubnu a květnu. Na rozličných listnatých stromech podle silnic i na plotech a šindelových střeších jeden z nejobecnějších mechů.“

Velenovský (1897): „Zr. od podzimka do května. Na polních a zahradních stromech, v alejích, zvláště ale v spoustách pokrývá celé kmeny vrb, topolů a osyk, z rovin až do hor všude velmi obecný a vždy bohatě plodný. Nikdy neroste v lesích a jmenovitě nikdy na stromech jehličnatých.“

Pilous (1948): „Na kůře polních a zahradních stromů hojně.“

Pilous et Duda (1960): „Na kůře polních stromů hojný.“

Vondráček (1993): „Převážně kortikální, silně nitrofilní druh, rostoucí i při silnicích se značným dopravním provozem, kdy polštářky mechu jsou prosyceny prachem, takže rostliny jen zčásti z něho vyčnívají. Nejvíce lokalit bylo zaznamenáno na topolech – 18%, vrbách – 13,7% a lípě – 9,1%. V některých územích, zvláště na Moravě na ořešáku – 8,6%. Z ostatních dřevin jsou jeho hostiteli častěji jasan – 5,6%, klen a jilm – ca 4%, z ovocných stromů převládá jabloň – 7,7%. Na ostatních druzích běžných dřevin byl nalezen ojediněle. Byl zjištěn také na cementových podezdívkách a kamenných zdech.“

*Ulotia crispa* (Hedw.) Brid.

Weidmann (1895): „Plody od června do srpna. Na stromech list. I jehlič. Všude rozšířený.“

Velenovský (1897): „Zr. v létě. Na kmenech rozličných stromů (i jehličnatých) v hlubokých lesích z pahorkatin až do hor rozšířený druh.“

Pilous (1948): „Na kmenech lesních stromů často.“

Pilous et Duda (1960): „Na kmenech lesních stromů častý.“

Vondráček (1994): „Kortikální druh, i když je někdy udáván ze skalního podkladu. Nejvíce sběrů pochází z *Fagus sylvatica*, *Sorbus aucuparia* a *Acer pseudoplatanus*. Méně často byl

nalezen na *Quercus ssp.*, *Alnus incana*, *Salix sp. div.* a *Betula pendula*. Ojedinelé jsou nálezy z několika dalších dřevin, *Carpinus betulus*, *Populus tremula* a z některých jehličnanů.“

Jak je z předchozích ukázek zjevné, až na výjimky ve starší literatuře, o fenologii epifytických mechorostů se autoři prakticky nezmiňují. Jako příklad práce, kde je fenologii věnován náležitý prostor může posloužit studie Janovicové a Kubinské (Janovicová et Kubinská 2002), která se zabývá zkoumáním sezónní pokrývnosti a fenologií sporofytu druhů *Riccia cavernosa* a *Aphanorhegma patens* na obnažených místech Dunaje v oblasti Bratislavy.

Hlavním cílem zahrnování fenologických dat je vysvětlit faktory ovlivňující vývoj jednotlivých fází životního cyklu (Forman 1965). Fenologické studie se tedy snaží co nejpodrobněji zdokumentovat životní cyklus mechorostů a jsou zpravidla prováděny odběrem vzorků ze živých populací v pravidelných intervalech v průběhu jednoho nebo dvou let (Stark 2002), jedná se tedy o metodu dlouhodobou. Stark (l. c.) definuje fenologické pozorování jako odběr vzorků ze živých populací, což je u epifytických mechů problematické pro jejich malý vzrůst. Kvůli této limitující skutečnosti totiž dojde při odběru i malého vzorku k narušení populace. Pro studii vývoje sporofytu je tedy lepší ponechat populaci bez zásahu a zkoumat ji v terénu pouze za pomoci lupy. Studium vývoje gametofytu se však bez odběru vzorku neobejde.

Jedna z metod studie fenologie je zkoumání životního cyklu jedné kolonie druhů (Stark 2002 sensu Grimme 1903, Lackner 1939), většinou ale jednotlivé druhy rostou na odlišných místech na rozsáhlejší území. Nevýhodou této metody jsou problémy s aplikací výsledků těchto pozorování na jiné kolonie. Není ani možné zkoumat vztah mezi fenologií mechorostů a klimatickými podmínkami. Při této metodě je důležitý sběr mikroklimatických dat (Forman 1965).

Další metoda, která má širší využití, je studium jednoho vybraného druhu v určité oblasti, kdy nebereme v úvahu vnitrodruhovou variabilitu (Towel et Gilbert 1904; Towel 1905, 1906; Greene 1960; Johnsen 1969; Zehr 1979). Pro mnoho území jsou environmentální data dlouhodobě sledována a hlavní korelace se týká environmentálních faktorů a příslušných fenologických fází. Studium jednotlivých druhů je optimální, poskytuje kompletní totiž data pro ten který druh. Při této metodě jsou sbírána data v pravidelném intervalu jednou za dva týdny po dobu jednoho roku. Sbírány jsou také údaje o vlhkosti vzduchu, teplotě, kvalitě a množství světla a délce dne (Zehr 1979). Vlhkostní podmínky nejvíce ovlivňují vegetativní růst a celkové přežití, fotoperioda potom dozrávání sporofytu.

Doplňková data mohou být analyzována z herbářů obsahující druhy z dané lokality (Zehr 1979). Pro tuto metodu bylo použito rozčlenění fenofází sporofytu a gametofytu podle Clarka a Greena (Zehr 1970 sensu Clarke et Green 1970), viz Tab. 1 (Zehr 1979). Stark (2002) doporučuje rozdělení do poněkud odlišných fází, viz Tab. 2, odvozených ze souhrnu novějších prací zabývajících se fenologií (Bennet 1965; Forman 1965; Greene 1960; Longton et Greene 1969a).

Potřeba fenologických dat je zjevná především ekologům, kteří se pokouší vysvětlit celkové rozšíření mechů. Například v laboratoři se zkoumá klíčení spor pro fyziologické účely; pokud ovšem není znám čas šíření a klíčení spor v terénu, tak faktory, které řídí tento fenomén, nemohou být správně pochopeny (Forman 1965).

### 1.1. Fenofáze

Nedílnou součástí fenologických studií je rozdělit životní cyklus mechů na jednotlivé fenofáze, logické a pokud možno funkčně významné kategorie (Stark 2002). Je nutné si uvědomit, že rozdělení životního cyklu na jednotlivé vývojové fáze je však pouze uměle vytvořené rozdělení kontinuálního růstu a vývoje (Forman 1965). Jedna z metod používaných pro zjišťování a sledování těchto jednotlivých uměle nastavených fází je časosběrná fotografie. Na jedné straně zachytí nejkompletnější soubor fází, ale rozdíly mezi jednotlivými fázemi se stanou nepodstatnými.

Podle Formana (Forman 1965) je životní cyklus rozdělen na dvanáct vývojových fází, a to tak, aby odpovídaly hlavním morfologickým a ekologickým odlišnostem v životním cyklu. Morfologické odlišnosti jsou ve vymezení jednotlivých fází zásadní, nelze vymezit fenologickou fázi, aniž by se nějak morfologicky neodlišovala od té předchozí. Navíc je velice jednoduché rozlišit jednotlivé fáze podle makroskopických vlastností, proto se (je-li to možné) využívají častěji než mikroskopické.

Aby mech dokončil svůj životní cyklus, je nezbytné, aby absolvoval následujících dvanáct základních vývojových fází (viz dále). Je známo ale několik výjimek, kde jsou některé fáze přeskočeny. Existuje také řada mezifází a struktur, které ale nejsou nezbytné pro dokončení životního cyklu, jako např. starý štět po odpadnutí tobolky, zvadlé antheridium po disperzi gamet, apod. (Forman 1965):

1. Embryonální čepička – souvisí s vývojem embrya po oplození. Tato fáze začíná oplodněním a končí prasknutím gametofytické čepičky z pletiva.

2. Štět s čepičkou – související s růstem sporofytu z embrya. Tato fáze začíná, jakmile štět začne být viditelný a končí, když se začne objevovat tobolka na konci štětu pod čepičkou. Některé duhy v této fázi ztrácí čepičku, ale není jisté, zda jsou tyto druhy schopny produkovat spory.
3. Zelená tobolka s čepičkou – souvisí s meiozou. Tato fáze končí buď ztrátou čepičky anebo zhnědnutím tobolky. Meiotické dělení způsobuje rozšíření tobolky a zhnědnutí víčka, a to v závislosti na druhu.
4. Tobolka s víčkem a postmeiotické dělení – souvisí s dozráváním spor. Do této fáze jsou zahrnuty jak druhy se zelenou tobolkou bez čepičky, tak i druhy s částečně zhnědlou tobolkou ať už s čepičkou nebo bez čepičky. Tato fáze končí puknutím víčka.
5. Tobolka bez víčka – souvisí se začátkem šíření spor. Tato fáze zahrnuje tobolky se sporami, plné tobolky v roce zrání a prázdné tobolky z předchozího roku.
6. Vypouklé stěny spor – tato fáze souvisí s klíčením spor. Končí vytvořením buněčné stěny po prvním buněčném dělení.
7. Protonema – souvisí s růstem prvoklíčku. Tato fáze začíná vznikem dvoubuněčné struktury a končí se zakládáním pupenů.
8. Protonema s pupeny – souvisí s tvorbou listnatého výhonku. Tato fáze končí s rychlým prodlužováním lodyžky.
9. Mladá lodyžka – souvisí s růstem listnatého výhonku. Tato fáze končí po ukončení prodlužování a vývoje lodyžky. Pro zjištění této fáze existují dvě kritéria, která nemusí být ale přítomna u všech druhů. Jsou to menší fyloidy na vrcholku výhonku a jejich světle zelená barva.
10. Mladé gametangium – souvisí se zakládáním pohlavních orgánů. V této fázi jsou archegonia a antheridia nerozeznatelné od ostatních částí.
11. Antheridium – souvisí s růstem pohlavních orgánů a tvorbou spermatozoidů.
12. Archegonium – souvisí s růstem pohlavních orgánů a tvorbou oosfér. Výskyt diferencovaných perichaetálních lístků odděluje tuto fázi od 11. fáze.

V každé fázi, kromě fáze 6. a 7. je zjišťován počet lodyh a primárních větví. V 6. fázi je spočítáno množství spor. Sedmá fáze se nejlépe měří jako plocha.

Protože se průkaznost údajů zvyšuje s počtem vzorků, je počet kolonií daného druhu sebraných v daný den zaznamenán s příslušnými fenologickými daty. Stejně jako u cévnatých

rostlin, je důležité zaznamenávat fenologická data co nejdříve po sběru vzorku. Podle Formana (Forman l.c.) je nejlepší zjišťovat fenologická data během sběru, nejpozději však jeden týden po sběru. Využití herbářového materiálu pro fenologické informace je ale značně limitováno.

Tab. 1. – Fáze dozrávání gametofytu a sporofytu u mechorostů (Zehr 1979 sensu Clarke et Greene 1970)

Fenofáze	Index dozrávání
<b>Gametangia</b>	
Juvenilní	1
Nezralá	2
Zralá	3
Vyprázdněná	4
<b>Sporofyt</b>	
Nadmutá tobolka	1
Pericheciální čepička, brzká	2
Perichaeciální čepička, pozdní	3
Neporušená čepička, brzká	4
Neporušená čepička, pozdní	5
Neporušené víčko, brzké	6
Neporušené víčko, pozdní	7
Odpadnutí víčka	8
Prázdný a čerstvý	9

Tab. 2. – Navrhovaná shoda fenofází sporofytu a gametofytu (Stark 2002 sensu Bennet 1965; Forman 1965; Greene 1960, Longton et Greene 1969a).

Fenofáze	Index zralosti	Charakteristika fenofáze
<b>Gametangia</b>		
Juvenilní	1	Viditelné v 400x zvětšení
Nezralá	2	Velikost ½ délky ve zralosti
Zralá	3	Čerstvě protržené buňky čepičky, zelená barva
Vyprázdněná	4	Porušený vrcholek, hnědě zbarvení
Abortovaná	A	Neporušený vrcholek, hnědě zbarvení
<b>Sporofyt</b>		
Časné embryo	1	Embryo
Pozdní embryo	2	½ celkové délky
Prodlužování štětu	3	Formování čepičky
Premeiotická tobolka	4	Distální konec sporofytu se začne rozšiřovat
Meiotická tobolka	5	Dorostlá tobolka, zelená théka, hnědnoucí víčko
Postmeiotická tobolka	6	Théka hnědá, víčko neporušené
Otevřená tobolka	7	Odpadlé víčko, théka udrží víc jak ½ spor
Prázdňá tobolka	8	
Abortovaná	A	Théka udrží méně jak ½ spor Apex sporofytu je hyalinní, hnědý nebo zaschlý

## 2. Růst

Na základní úrovni studia ekosystémů v oblasti, kde jsou mechorosty významnou složkou celkové biomasy, je měření jejich růstu velmi důležité. Přírůstky mechů mohou ovlivnit různé ekologické procesy, jako např.: koloběh minerálních látek v temperátních lesních ekosystémech a množství srážek procházejících skrz vegetační patra tropického deštného lesa (Rieley et al. 1979, Pócs 1982).

Znalosti o růstu mechorostů jsou tudíž velmi důležité pro porozumění ekosystémových procesů. Proto je velice žádoucí srovnávat použitelnost jednotlivých technik používaných k měření růstu mechorostů, identifikovat nedostatky ve stávající metodice a navrhnout směry dalšího výzkumu (Russell 1988). S růstem úzce souvisí schopnost kompetice. Růst jedné kolonie ovlivňuje růst ostatních kolonií rostoucích v blízkosti. Při zkoumání kompetičních vlastností kolonií mechorostů jsou velmi důležité environmentální faktory (viz kapitola Environmentální a mikroklimatické podmínky) (Wiklund et Rydin 2004).

Metody měření růstu mechorostů můžeme rozdělit do dvou hlavních kategorií: měření biomasy a měření výměny plynů, což zahrnuje okamžité měření fotosyntézy a respirace související s produkcí sušiny (Sestak et al. 1971). Tyto metody mohou být dobře využity při zkoumání závislosti fotosyntézy a dýchání na krátkodobých změnách klimatu.

### 2.1. Měření biomasy

Toto měření obvykle zahrnuje sběr rostlinného materiálu po delší časové období a sledování jednotlivých sezónních přírůstků. Kromě toho umožňuje technika měření biomasy zohlednit změny na velké vegetační ploše, kdežto u metody výměny plynů se pracuje pouze s několika rostlinkami.

Růst může být vyjádřen jako  $P_n = \Delta B + L + G$ , kde  $P_n$  vyjadřuje čistou primární produkci mezi časem  $T_1$  a  $T_2$ ,  $\Delta B$  je změna množství biomasy od  $T_1$  do  $T_2$ ,  $L$  jako ztráty na odumřelých částech (odehňváním, exsudáty, vyluhování) v čase  $T_1$  do  $T_2$  a  $G$  pro ztráty způsobené herbivory v čase  $T_1$  do  $T_2$  (Newbould 1967, Milner et Hughes 1968).

K měření a zjištění změny množství biomasy můžeme použít přímou metodu sběru celkové biomasy na určitém malém území, kterou porovnáme se vzorkem nasbíraným v těsné blízkosti prvního vzorku o určitou dobu později. Rozdíl v suché hmotnosti obou vzorků bude čistá produkce během experimentálního období nebo také dekompozice v případě záporných hodnot. Tato metoda je z několika důvodů značně náročná a nepřesná. Při sběru

vzorků může docházet ke sběru jiného rostlinného materiálu; u epifytických mechů, kde jsou populace velmi malé, jde o značné narušení. Proto se častěji používají metody nepřímé (Russell 1988). Např. měření přírůstku délky lodyhy a z toho výpočet odpovídajícího množství biomasy v gramech sušiny na metr čtvereční. Při této metodě musíme také odebrat část rostlinky, proto jsou obě tyto metody zahrnuty do tzv. metod sběru (Russell 1988).

Další praktické metody:

**Přirozené ukazatele** – mnoho druhů mechorostů projevuje viditelný roční růst jednotlivých segmentů, který vyplývá ze sezonních rozdílů velikosti a uspořádání fyloidů, rozložení větvení, vzniku sporofytu atd. Tyto vrozené ukazatele mohou být zjevné u mechů rostoucích ve vysoce sezónních klimatických podmínkách a jsou často přítomné u mechorostů s hustými, často vertikálními růstovými formami (polštáře, trávničky) (Russell 1988). Nepříznivé přírodní podmínky však mohou zpomalit nebo zabránit ročnímu přírůstku, potlačit větvení či růst a dozrání sporofytu v konkrétním roce. Předtím než vyjádříme domněnku o roční periodicitě, je třeba zkontrolovat segmenty ve vztahu k jejich reálnému ročnímu přírůstku. Tyto metody se především využívají pro výzkum mechorostů rostoucích v cirkumpolární oblasti. Jinde však mohou být znaky roční periodicity skryté anebo mohou zcela chybět.

**Metoda měření pomocí ohnutého drátku/kolíku.** Do mechového polštáře vložíme kolík nebo ohnutý drátek tak, aby jeho ohnutá část označovala počáteční bod měření růstu mechorostu. Variace této metody byly již úspěšně použity mnoha autory (Leisman 1957, Clymo 1970, Baker 1972, Busby et al. 1978, Rieley et al. 1979, Sonesson 1980, Bisbee et al. 2001, Heijmans et al. 2001, Vitt et al. 2003.) Tuto metodu můžeme dobře použít u malých nahloučených populací epifytických mechů, kde každý sběr znamená narušení populace, u visících velkých populací epifytů v tropických lesích je tato metoda v podstatě nepoužitelná. Clymo (1970) navrhl použití malého perforovaného disku, který by mohl klouzat dolů po drátku a pomohl tak vymezit výšku povrchu mechu. Pomocí diskového měřidla a nesmazatelného pera můžeme vyznačit na drátek či kolík značku na začátku měření růstu a na konci. Drátky mohou být vytaženy z mechových polštářů a přírůstek bude změřen podle značek na drátku. Tato metoda může být prováděna i v laboratoři, pokud jsou v terénu dlouhodobé nepříznivé podmínky (Russell 1988). Drátky mohou mít různě barevné části k lepšímu odlišení mikrostanovišť (Glime 1988). Materiál, ze kterého jsou drátky

vyrobené, by měl být nerezový, aby nedocházelo k jakýmkoli reakcím mezi rostlinkou a drátkem.

**Značka.** Mnoho pracovníků se pokoušelo měřit růst pomocí kousku vlny nebo očíslovaného štítku, který přivázali těsně pod vrcholek rostlinky; to, co za určitý čas dorostlo, spočítali jako přírůstek. Tato metoda může být složitá u mechorostů, které rostou velmi rychle a štítky se mohou zanořit do mechu a těžko se pak hledají bez většího porušení populace. Tato metoda je časově náročná, především jsou-li lodyhy malého vzrůstu anebo při nepříznivém počasí.

**Odstřihávání lodyh.** Někteří autoři odstřihávají lodyhy na standardní délku a vloží mech do „pytlíku“ vyrobeného z různých inertních materiálů (celuloid, vlna, nylon atd.), který přesně ohraničuje mech. Později může být lodyha vyjmuta z pytlíku kvůli přeměření a výpočtu přírůstku. Tato metoda je užitečná především pro druhy s kompaktním vertikálním růstem přesahujícím růst horizontální. Metoda může být dobře použita i v laboratoři, jsou-li v terénu nepříznivé podmínky (Smith 1981). Lodyha musí být ustřižnuta pod místem aktivního růstu, pokud toto místo přesáhneme, ovlivní to růstový potenciál.

**Sítě.** Někteří autoři doporučují umístit síť na povrch mechové kolonie a měřit růst nad touto definovanou úrovní (Kallio et Heinonen 1975, Rieley et al. 1979, Skre et Oechel 1979). Tato metoda je také lépe aplikovatelná na mechorosty s vertikálním růstem, kde je laterální přírůstek malý.

**Barevné značení.** Nanesení barevných skvrn na rostlinku je další metodou poskytující možnost studia růstu mechorostů (Pickard 1980). Používaná barviva se mohou rušit s fotosynteticky aktivní složkou slunečního záření, Russel (1988) úspěšně použil zelené barvivo. V tomto ohledu jsou použitelná různá fluorescentní barviva jako calcafluor a Blancophor, která jsou relativně inertní a nereagují s růstem. Jsou průhledná, což snižuje pravděpodobnost zablokování fotosynteticky aktivního záření a jsou na bázi celulózy, vážou se na buněčnou stěnu, čímž snižují možnost vyluhování barevných skvrnek při dlouhodobém měření. Tyto barvy jsou viditelné pod ultrafialovým světlem jak v laboratoři, tak v terénu. Jedno až deseti procentní vodný roztok calcafluoru je dostatečný k zafixování fluorescentní vrstvy na povrchu rostlinky. Tato „zářivá“ zóna je výsledovatelná i po určitém čase buď v celé kolonii, nebo na jednotlivých lodyžkách. Tato metoda je úspěšně používána v případě mechů, jejichž kolonie jsou malé a nahloučené a je u nich obtížné měřit růst ostatními metodami.



**Fotografie.** Metoda navržená Proctorem (Proctor 1979) pro měření růstu mechů pomocí sériových fotografií. Tato metoda je ideální pro malé populace mechů na nechráněných stanovištích, výhodná je zejména pro měření horizontálního růstu, kdy pomocí fotografií pořízených v různých obdobích můžeme změřit přírůstek na ploše (Russel 1988). Pro vymezení plochy (Obr. 1) na trvalých stanovištích, které poslouží praktické části mé budoucí diplomové práce, jsem použila čtyři nerezové hřebíky a provázek, kterým jsem vyměřila čtverec o velikosti 10x10 cm, tento provázek můžeme po vyměření odejmout, aby nepřitahoval nechtěnou pozornost. Při pořizování fotografie je nezbytné přiložit také měřítko za účelem srovnání jednotlivých fotografií z časového sledu. Tuto metodu můžeme použít jak k měření horizontálního přírůstku, tak k zachycení fenologických fází, ale i k pozorování kompetice, pokud na vyměřené ploše roste více druhů mechorostů (vyžaduje zpravidla delší časový úsek sledování situace).

Další metoda k pozorování růstu kolonie a kompetice bez použití fotografie (Wiklund et Rydin 2004) spočívá ve studiu kolonií vybíraných podle následujících kritérií: velikosti – menší než 100 cm, ale variabilní ve velikosti, zdravé a od ostatních kolonií stejného druhu ve vzdálenosti alespoň 10 cm. Velikost stromů je různá, stejně tak i druhy stromů a různé množství přidružených kolonií epifytů. Ke koloniím je přiložena plastová nepohyblivá deska, na kterou je zakreslen okraj kolonie. Nákresy okrajů kolonie byly digitalizovány za použití standardního skeneru a plocha kolonie je vypočítána pomocí plochy pixelů uvnitř.



Obr. 1. – Vymezení plochy 10x10 cm na trvalém stanovišti v hostivařském lesoparku v Praze (vlastní foto)

## 2.2. Metoda výměny plynů

Tato metoda je na rozdíl od metody sběru a měření biomasy využívána ke studii nárůstu sušiny v krátkém čase v souvislosti se specifickými a limitujícími podmínkami prostředí. Často je nutná analýza velkého počtu vzorků, proto jsou metody měření CO<sub>2</sub> jednoduché a rychlé (Clegg et al. 1978).

Technika výměny plynů se vztahuje především k asimilaci oxidu uhličitého rostlinami (Russell 1988). Obsah uhlíku, který rostlina asimiluje během fotosyntézy v podobě CO<sub>2</sub> je konstantní s hmotností sušiny (Scott et Billings 1964), díky čemuž je možné zjistit přesný index růstu (Russell 1988). Fotosyntézu i dýchání můžeme sledovat na základě měření výměny plynů. Nejčastěji používaný přístroj k měření koncentrace CO<sub>2</sub> je infra red gas analyzátor (IRGA) (Clegg et al. 1978, Snelgar et al. 1980, Russell 1988, Bowling et al. 2001, Gabriel et Bates 2003, Marschall et Proctor 2004, Wood 2007). Průtokové systémy, které monitorují výměnu CO<sub>2</sub> u rostlin, či jejich částí zavřených v komoře, obvykle závisí na detekci 10 až 30 μl CO<sub>2</sub>/l koncentračních rozdílů mezi vstupujícím a vycházejícím vzduchem. Tyto rozdíly CO<sub>2</sub> mohou být vztaženy k čisté fotosyntéze a dýchání. Také může být sledována koncentrace CO<sub>2</sub> v okolí fotosyntetizující rostliny, kdy je úroveň koncentrace automaticky udržovaná vstřikováním CO<sub>2</sub>. Množství přidaného CO<sub>2</sub> odpovídá čisté fotosyntéze. V terénu může být fotosyntéza určena aerodynamicky stanovením CO<sub>2</sub> gradientu. Pomocí IRGA je možné průběžně sledovat koncentraci CO<sub>2</sub> v jedné komoře nebo lze monitorovat několik komor po sobě tím způsobem, že jsou měněny vzorky. Vždy je důležité udržet čistotu vzorků a po každé výměně počkat několik minut, dokud nedojde k opětovnému stabilizování analyzátoru. Základní systém pro měření výměny CO<sub>2</sub> plynu se skládá z IRGA, mV rekordéru, sloupce na sušení a průtokoměru (Clegg et al. 1978).

Při měření fotosyntézy je možné využít mikrometeorologické metody, kdy je měřen tok CO<sub>2</sub> v atmosféře v těsné blízkosti nad rostlinami.

### **3. Environmentální a mikroklimatické podmínky**

Epifytické mechorosty jsou výrazně ovlivňovány intenzitou světla, atmosférickou vlhkostí a dostupností vody a pH substrátu, borky (Wiklund et Rydin 2004). Voda je pro ně základní limitující faktor a úzce souvisí se schopností fotosyntetizovat, tudíž s dostupností světla (Alpert 2005, Tng 2009, Glime 2012). Světlo je důležitým faktorem pro druhové složení mechorostů (Gustafsson et Ericsson 1995) a stejně tak i pH substrátu (Gustafsson et Ericsson 1995, Schmidt et al. 2001, Marmore et Randlane 2007). Environmentální data jsou podrobně prozkoumána pro naprostou většinu známých druhů mechorostů a shrnuta v práci Dierssena (Dierssen 2001), ve které jsou obsažena data z bryologické, fytosociologické a ekologické literatury.

#### **3.1. Měření pH borky**

Vlastnosti substrátu hrají velmi důležitou, často rozhodující roli při kolonizaci epifytů (Schmidt et al. 2001). Zvýšená depozice nebo koncentrace dusíku může mít škodlivé účinky na růst některých druhů epifytických mechorostů (Mitchell et al. 2004). Nepříznivé ovlivnění růstu často souvisí se snížením konkurenceschopnosti a tudíž i se složením celého společenstva (Mitchell et al. 2005). Kyselé polutanty samozřejmě snižují výsledné hodnoty pH borky, zatímco zásadité tyto hodnoty naopak zvyšují (Farmer et al. 1991, Marmore et Randlane 2007). Chemické složení borky vyjádřené jako jeho pH a dostupnost kationtů hraje významnou roli ve výsledném složení společenstva (Gustafsson et Ericsson 1995, Schmidt et al. 2001, Marmore et Randlane 2007). Kyselost borky vyjádřená jako její pH je proto jedním z nejdůležitějších faktorů (Schmidt et al. 2001). Obvykle se pH měří pomocí dvou metod: v laboratorních podmínkách po odebrání vzorku nebo přímo v terénu.

##### **3.1.1. Laboratorní metoda**

Ze stromu je odříznut co nejtenčí plátek borky pomocí nože nebo dláta. Při odběrech by mělo být použito vždy stejné množství materiálu (ca 5 g), aby byly výsledky srovnatelné. Pro veškerá měření je důležitý co nejtenčí vzorek borky; je třeba získat údaje výhradně z vnější vrstvy borky, která je v bezprostředním kontaktu s epifytem. Jakmile je získán dostatečně tenký vzorek, existují dvě možnosti jak změřit hodnotu pH. První možností je louhování vzorku v destilované vodě anebo v 0,25 M roztoku chloridu draselného (ca 5 ml) 8 hodin při teplotě 20° C, případně jednu hodinu při teplotě 80° C (doporučeny jsou uzavíratelné lahvičky, aby ke vzorku nepronikl atmosférický oxid uhličitý). Poté je měřeno pH pomocí

standardní pH elektrody. Vnitřní povrch vzorku kůry přitom může být pokryt voskem, aby protony uvolněné do roztoku pocházely pouze z vnější vrstvy. Druhou možností je rozemletí odebraného vzorku do práškovité konzistence. Do uzavíratelných lahvíček s 0,5 ml deionizované vody se vloží 0,5 g takto rozemletého vzorku. Tento vzorek je následovně louhován čtyři hodiny s občasným protřepáním, poté je suspenze přefiltrována a opět je pomocí standardní pH elektrody změřeno pH. Je možné použít speciální elektrodu schopnou měřit pH v suspenzi. Množství uvolněných protonů a pH kůry závisí jak na množství použité borky, tak na kvalitě rozpouštědla. Pokud je jako rozpouštědlo použit chlorid draselný, který obsahuje kationty, draselné ionty se mohou zaměnit s ionty borky a hodnota pH může být nižší, než v případě, kdy jako rozpouštědlo použijeme neionizovanou nebo destilovanou vodu (sensu Kricke 2002).

### **3.1.2. Terénní metoda**

Vybraný povrch vzorku je postříkán 0,1 M roztokem chloridu draselného. Jako postřikovač může být použit běžný rozprašovač na květiny. Povrch je postřikován do doby, než roztok začne odtékat. Poté je jemně přiložena pH elektroda k povrchu borky tak, aby došlo ke kontaktu a je měřena kyselost (sensu Schmidt et al. 2001). Narozdíl od laboratorní metody není v tomto případě určen ani objem rozpouštědla, ani hmotnost vzorku borky. Je také možné (a výhodnější) na konec elektrody navléci silikonovou trubičku, která poskytne malou dutinku, do které je po přiložení elektrody k borce nataženo určité množství tekutiny (asi 0,2-0,3 ml 0,25 M KCl) a po třech minutách je měřeno pH. Pokud je znám jak objem rozpouštědla, tak plocha měření, je možné lépe porovnávat vzájemně výsledky měření (Kricke 2002).

### **3.2. Měření závislosti na světle**

Pro druhové složení a diverzitu epifytických mechorostů je světlo důležitým faktorem (Gustafsson et Ericsson 1995). U mechorostů, jako poikilohydrických organismů, je schopnost fotosyntetizovat i při nízkém stupni osvětlení výhodná. Během období suchého, slunečného počasí jsou mechorosty metabolicky téměř inaktivní, v deštivém počasí či při zatažené obloze, kdy je míra osvětlení pod 20%, jsou však metabolicky nejaktivnější. Nejlépe adaptované k fotosyntéze za plných světelných podmínek jsou mechorosty rostoucí na stále vlhkých stanovištích (Marschall et Proctor 2004). Pro epifytické mechorosty v temperátních lesích jsou důležitá roční období, mechorosty rostou pomaleji, aby je olistěné koruny stromů

chránily před silným letním zářením. Naproti tomu, jako C3 rostliny, jsou schopny fotosyntetizovat i za velmi nízkých teplot (Glime, 2012). Mechorosty mají typicky nižší poměr chlorofylu a: chlorofylu b, což znamená, že jde především o stínomilné rostliny (Rao et al. 1979). Přestože epifytické mechorosty mají nízký bod světelné kompenzace (příjem a výdej CO<sub>2</sub> se vyrovnává), může nízké osvětlení omezit jejich růst (Gabriel et Bates 2003).

**Relativní difúzní světelné podmínky** v lesním společenstvu, které představují rozptýlené světlo procházející skrz koruny stromů a tedy světlo dostupné pro mechorosty, mohou být měřeny pomocí LAI-2000 Plant Canopy Analyzeru nebo denziometru (Tinya et al 2009). Je doporučeno provedení tří měření několik vteřin po sobě, a to ve výšce 1,3 m u kolonií uprostřed lesního porostu. Měření jsou prováděna za zataženého počasí nebo za soumraku, aby se zabránilo přístupu přímého záření k senzoru. Restriktor omezující úhel pohledu 270° zakrývá tu část oblohy, kde je slunce a prostor a kde stojí pozorovatel. Měření míry osvětlení nad stromovou klenbou jsou provedena v otevřeném terénu v blízkosti lesa. Vztah mezi propustností světla a rozšířením mechorostů může být vypočítán pomocí statistické metody Spearmanova pořadová korelace (Tinya et al. 2009).

**Pigmentová analýza** (Tuba et al. 1996, Marschall et Proctor 2004) je prováděna na vysušeném vzorku mechorostu (nasbíraný vzorek převezený do laboratoře je přirozeně vysušen při nízkém osvětlení a ponechán v lednici) extrahovaném v 80 % roztoku acetonu (Lichtenhaler 1987 použil 100% aceton) a absorbance je měřena při 470, 646 a 663 nm na spektrofotometru (Marschall et Proctor 2004).

**Analýza chlorofylové fluorescence** je principiálně jednoduchá metoda a je měřena pomocí chlorofylového fluorometru (Maxwell et Johnson 2000, Marschall et Proctor 2004, Proctor et al. 2007). Nasbíraný materiál je v laboratoři rehydratován (pokud je to potřeba) pomocí destilované vody a měření je provedeno co nejdříve (2-3 dny po sběru, mezitím je materiál uložen např. do polyethylenových sáčků na okna směřující na sever). Mechový materiál je vložen do klasických listových svorek. Světelná křivka fotosyntézy (PPDF Photosynthetic Photon Flux Density) je vynesena pomocí skriptovacího zařízení na fluorometru, který je součástí listové svorky, materiál je vystavován postupně se zvyšujícím aktinickému záření vždy se šesti minutami kalibrace na každé zvýšení před každým měřením. Saturační křivka pro mechorosty ze stinných stanovišť obecně, kdy je relativní přenosová rychlost elektronu (RETR) vynesena na ose y a na ose x je vynesena hodnota PPDF, je typicky

exponenciální podle závislosti  $y = A(1 - e^{-kx})$ , kde  $y = \text{RETR}$ ,  $x = \text{PPDF}$ ,  $A$  je asymptota  $\text{RETR}$ ,  $k$  je rychlostní konstanta a  $Ak$  počáteční sklon (Marschall et Proctor 2004).

Další metody použité pro měření závislosti mechorostů na světle jsou uvedeny v kapitolách „Růst“ a „Měření závislosti na vodě“.

### 3.3. Měření závislosti na vodě

Jedním z nejdůležitějších limitujících faktorů pro mechorosty je voda (Tng et al. 2009). Jsou to typické poikilohydrické organismy (Alpert 2005). Z četných ekologických parametrů, které rozlišují stanoviště od mikrostanoviště, je vlhkost (ať už se jedná o vodu ve formě vodní páry v atmosféře anebo vodu jako kapalinu dostupnou rostlinám) klíčovým faktorem v rozšíření mechorostů (Tng 2009, Glime 2012). Výrazný rozdíl mezi mechorosty a cévnatými rostlinami je ten, že pokud poskytneme mechorostu dostatek vody, je schopný okamžitě zvýšit turgor a rozvinout fyloidy tak, aby mohly co nejefektivněji přijímat  $\text{CO}_2$  a fotosyntetizovat.

Tolerance k vysychání je schopnost rostlin přežít období stresu deficitu vody, kdy je rostlina vysušená a trpí dehydratací většiny metabolických cest (Glime 2012; Proctor 1990, 2000, 2001, 2007; Alpert 2000; Tng 2009) a jedinečná schopnost z toho stavu opět obnovit všechny životní funkce (Wood 2007). Ke ztrátě vody dojde zpravidla poměrně rychle, ale cytoplazma je vcelku odolná vůči poškození z důvodu vysoušení. Buněčné struktury jsou tedy v suchém stavu neporušené a se schopností rychlé obnovy, ovšem k poškození může dojít při rychlé rehydrataci. Mechorosty obsahují různé proteiny (souhrnně nazývané rehydriny), díky nimž nedojde k poškození struktur. Proto mechorosty úspěšně osidlují pro cévnaté rostliny nedostupná místa, jako povrch skal a borku stromů (Proctor 2000).

Pro studium vzájemného vztahu mezi osmotickým tlakem a rezistencí k vysychání Hosokawa a Kubota (Hosokawa et Kubota 1957) použili metodu, kdy je v terénu měřen vertikální rozsah převládajících epifytických mechorostů tvořících těsné shluky. Izolované a těsně přiléhající shluky mechorostů k borce mohou být vyloučeny. Osmotický tlak v rostlinných buňkách je měřen plazmolytickou metodou, kdy je jako plazmolytická látka použit dusičnan draselný. Pro experiment se připraví řada roztoků o zvyšující se koncentraci 0,05 mol. Několik fyloidů rostliny se namočí do kapky roztoku o příslušné koncentraci a poté se pod mikroskopem zkoumá plazmolýza. Osmotické hodnoty se stanovují z buněk listové laminy, kde je snadnější pozorovat plazmolýzu (Ochi et Iwanaga 1951).

Pro stanovení odolnosti k vysychání se používají čerstvé mechové rostlinky, kterým jsou odstraněny části, které hnědnou, jsou omyty ve vodě, aby se odstranil veškerý nechtěný

rostlinný materiál, a přebytečná voda se odsaje filtračním papírem. Takto ošetřené rostlinky se vloží do velké (průměr 16 cm) Petriho misky, která se dobře utěsní pomocí vazelíny. Stálá relativní vlhkost uvnitř této nádoby je zajištěna pomocí menší otevřené skleněné nádoby naplněné roztokem kyseliny sírové podle Tab. 3.

Tab. 3 – Koncentrace kyseliny sírové v Petriho misce k udržení stálé relativní vlhkosti (Hosokawa et Kubota 1957).

Relativní vlhkost (%)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (ml)	H <sub>2</sub> O (ml)
100	0,00	20,00
90	3,34	16,66
80	5,42	14,58
70	7,06	12,94
60	8,10	11,90
50	9,06	10,94
40	10,06	9,94
30	11,16	8,84
20	12,30	7,70
10	13,44	6,56
0	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	-

Po několika dnech, kdy jsou mechy umístěny uvnitř nádoby, jsou buňky fyloidů zkoumány v hypertonicém roztoku pomocí plazmolýzy, aby se zjistilo, zda jsou buňky živé. Tyto testy jsou prováděny po dobu jednoho roku a to jednou za tři dny v létě a jednou za týden v zimě. Vysušené vzorky nemohou být přímo vloženy do plazmolytického roztoku, protože buněčné membrány se mění během vysychání a plazmolýza by nemusela být patrná, je tedy třeba nejdříve vysušený vzorek vložit do destilované vody a až poté do roztoku. Při extrémním suchu může dojít k tzv. pseudoplazmolýze; fyloidy vykazující pseudoplazmolýzu po vložení do destilované vody, jsou z pokusu vyřazeny. Stupeň odolnosti vysychání se vyjádří ve dnech, kolik dnů přežije danou relativní vlhkost (Hosokawa et Kubota 1957, Dilks et Proctor 1979).

Pokud bychom chtěli zjistit klimatické podmínky určitého stanoviště či mikrostanoviště, je možné použít klimatickou analýzu BIOCLIM (Bioklimatický Informační Systém), který umožňuje predikci klimatických atributů díky klimatickým údajům založených na zeměpisné šířce, délce a nadmořské výšce (Tgn 2009).

Od sedmdesátých let se vyvinulo množství technik ke zkoumání tolerance vysychání, jako např. výměna plynů, IRGA (viz. Kapitola Růst) (Proctor 2000), nejčastěji se používá metoda měření obnovy fotosyntetické aktivity po usušení a rehydratování (Bewley 1995, Cleavitt 2002, Wood 2007), měření fotosyntetické aktivity pomocí fluorometru (Cleavitt

2002) a jedna z nepoužívanějších metod chlorofylové fluorescence, nejlépe ve spojení s Infra Red Gas Analýzou (viz kap. Měření závislosti na světle, Růst) (Proctor et al 2007).

**Austinův protokol** (Wood 2007) představuje metodu k rozpoznání "zcela" k vysychání tolerantních mechorostů. Čerstvě nasbíraný rostlinný materiál je udržován plně hydratovaný za stálých podmínek ( $14^{\circ}\text{C}$ ,  $50\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  - jednotka fotosynteticky aktivního záření). Pokud je obtížné získat čerstvý materiál, suchý materiál můžeme udržovat při teplotě  $5^{\circ}\text{C}$  a rehydratovat 24 hodin ( $14^{\circ}\text{C}$ ,  $50\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ).

Hydratovaný rostlinný materiál je vystaven nepřetržitě po sedm dní dvěma „nastaveným“ relativním vlhkostem (RV): 67 – 75% a 20 – 30%. K udržení stálé vlhkosti je použita buď nasycená sůl dusičnanu amonného, anebo roztok kyseliny sírové. Měření vysychání se provádí pětkrát pro každou nastavenou relativní vlhkost. Obnova fotosyntézy, určená základním fluorescenčním poměrem  $F_v/F_m$ , je měřena dvakrát, po jedné hodině a po 24 hodinách po obnově. Základní fluorescenční poměr je podíl variabilní fluorescence a maximální fluorescence. Variabilní fluorescence je hodnota okamžité fluorescence zmenšená o základní fluorescenci  $F_0$ , která se vypočte pomocí hodnoty okamžité



fluorescence dosažené krátce po náhlém ozáření předzatmělé rostliny v listové svorce ( $F_m$ ) (Obr. 2). Fluorescenční poměr ( $F_v/F_m$ ) je základním indikátorem poškození reakčních center fotosystému II (Maxwell et Johnson 2000).

Obr.2. – listová svorka na malé listy s posuvnou clonou a místem pro zapojení fluorometru, zdroj : [www.walz.com](http://www.walz.com).

Krátkodobá obnova (0-60 minut) se měří na vysušeném a poté rehydratovaném rostlinném materiálu postříkaném deionizovanou vodou a umístěném do listových svorek. Dlouhodobá obnova (kolem 24 hodin) je určena rehydratovanými rostlinami udržovanými ve stálých podmínkách  $14^{\circ}\text{C}$ ,  $50\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  v růstové komoře a přemístěných na deset minut do listových svorek kvůli temnostní adaptaci. Parametry  $F_0$ ,  $F_m$  a  $F_v/F_m$  jsou měřeny u obou čerstvých typů rostlinného materiálu (tzn. rehydratovaném, ale nikoli vysušeném a rehydratovaném, vysušeném a opět rehydratovaném). Obnova fotosyntézy (zvýšení hodnoty  $F_v/F_m$  z nuly na 0,7) je brána jako indikátor tolerance k vysušení. Schopnost fotosyntetizovat rychle klesá se ztrátou vody a obnovuje se různě rychle u různých druhů



(Proctor 1990). Druhy mechorostů, které se obnoví při 67% relativní vlhkosti, se nepovažují za citlivé k vysychání a jsou označeny jako „schopny tolerance k vysychání“. Takové druhy, které obnoví své funkce při 23% relativní vlhkosti, označujeme jako „zcela tolerantní k vysychání“.

**Metoda měření obsahu vody** (Hosokawa 1964) u poikilohydrických rostlin. Vodou saturované rostliny jsou vystaveny jedné z šesti různých koncentrací relativní vlhkosti (100, 95, 85, 70, 50 a 25%). Relativní vlhkost vzduchu ve skleněné nádobě je udržována konstantní pomocí kyseliny sírové. Nejdříve se změří obsah vody u rostliny saturované vodou a potom se změří obsah vody u rostlin saturovaných v relativních vlhkostech, jak jdou za sebou, od nejvyšší po nejnižší. Hmotnost rostlin, saturovaných ve škále různých relativních vlhkostí, je určena po třech dnech. Poté jsou rostliny vysušeny při 100° C po dobu 4-5 hodin a rostliny jsou opět zváženy. Obsah vody je vypočten z čerstvé hmotnosti rostliny (FW) a ze suché hmotnosti rostliny (DW) podle vzorce  $(FW - DW) / DW$ .

## 4. Bioindikace a biomonitoring

Již několik desetiletí jsou mechorosty používány jako bioindikátory v mnoha studiích (Batić et al. 1996, Batić et al. 1999, Falla et al. 1999, Turetsky 2003, Harmens et al. 2004, Zechmeister et al. Hohenwallner 2006, Solga et al. 2006, Wilkie et al. La Farge 2011, etc.). Toto téma je velmi obšírné a sledované především z důvodu dopadu znečištění ovzduší na celkový ekosystém i zdraví člověka. Většina těchto studií se zaměřuje na vliv oxidu siřičitého, dusíkatých sloučenin, organických polutantů, radionuklidů a velmi často také na vliv těžkých kovů (Pilegaard et al. 1979, Turetsky 2003, Harmens et al. 2004, Wilkie et al. La Farge 2011, etc.). Např. studium koncentrace těžkých kovů ve stélkách mechorostů v rámci Evropy (Harmens et al. 2004) umožnilo efektivně poukázat na regiony, které představují tzv. „hot spots“ jednotlivých zkoumaných kovů (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, V, Zn).

Mechorosty jsou vhodnými indikátory zejména proto, že živiny přijímají ve větší míře z atmosféry než ze substrátu, na kterém rostou (Solga et al. 2006). Biologické monitorování kvality ovzduší může být provedeno dvěma způsoby – pasivně nebo aktivně. Pasivní monitorování je takové, kdy studovaný organismus je již k dispozici na studovaném místě. Naopak aktivní monitorování zahrnuje transport mechu z jeho přirozeného, neznečištěného prostředí na studované místo, většinou na urbanizované plochy, kde mech přirozeně neroste (Falla et al. 2000).

### 4.1. Metoda aktivního monitorování

Tato metoda bývá také často označována termínem „moss bag technique“ (Goodman et al. Roberts 1971, Fernández et al. 2000, Anićić et al. 2009, etc.). Mechorosty jsou dopraveny na místo uložení už ve speciálních boxech či pytlících. Tyto boxy/pytlíky jsou poté buď pravidelně zavlažované („vlhká metoda“) anebo nezavlažované („suchá metoda“), mohou být umístěny jak v exteriéru (Goodman et al. Roberts 1971, Anićić et al. 2009), tak v interiéru (Al-Radady et al. 2003).



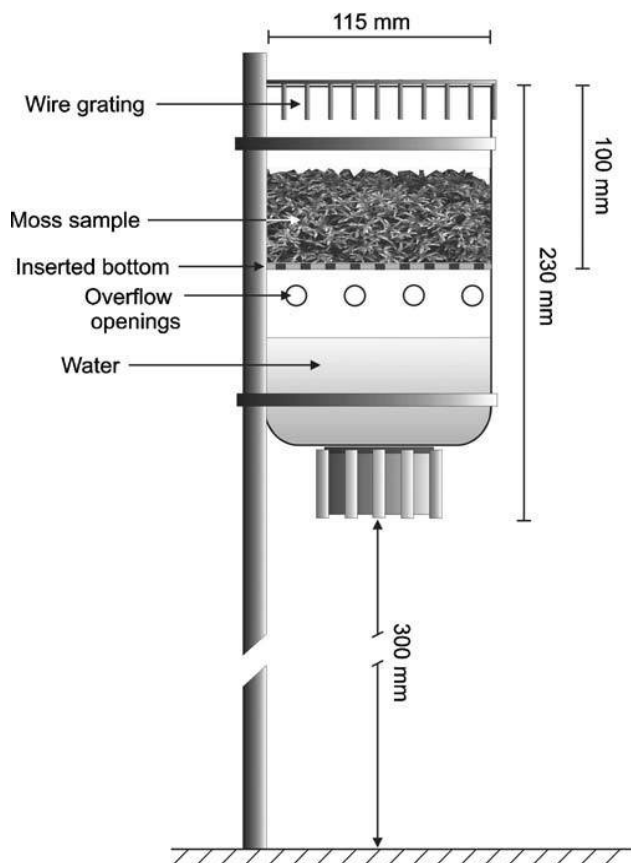
Obr. 3. - Box s vlhčenou rohožovinou a exponovaným mechorostem (<http://www.envpl.ipb.ac.rs/bio2.htm>).



Obr. 4. – Síťované sáčky zavěšené na konstrukci na střeše budovy (<http://www.envpl.ipb.ac.rs/bio2.htm>).

Tzv. „suchá metoda“ (Obr. 4) spočívá v exponování mechorostů v závěsných síťovaných taškách či pytlících, které jsou zavěšeny v určité výšce na speciálních konstrukcích nebo na malých stromcích či tyčích (Castello 2007). Tato metoda bývá většinou využívána k měření koncentrace těžkých kovů a organických polutantů v ovzduší; i vyschlý mrtvý mech je totiž velmi dobře schopen zachycovat a akumulovat částice polutantů, a to i díky velké kapacitě výměny kationtů (Solga et al. 2006, Castello 2007).

Při užití tzv. „vlhké metody“ (Obr. 3) jsou zachovány metabolické funkce mechorostů



Obr. 5. - Standardizovaný kontejner (sensu Solga et al. 2006)

a nedochází proto k možnému zkreslení indukované stresem z vysychání. V tomto případě se exponují pouze apikální části mechu na speciální rohožovině, která je umístěna na perforovaném víku boxu naplněném vodou. Doba celkové expozice je v řádu měsíců a odebrání vzorků probíhá v pravidelných intervalech, kdy jsou vzorky rychle dopraveny do laboratoře, následně vysušeny a testovány pomocí chemických analýz (Fernadéz et al. 2000).

Standardizovaný postup při nedestruktivní metodě expozice živých mechorostů (Solga et al. 2006). Vzorek je převezen na studovanou lokalitu a exponován ve speciálních kontejnerech (Obr. 5).

Jako základ tohoto kontejneru je použita

dvoulitrová polyetylenová láhev. Dno láhve je odříznuto, perforováno a vloženo doprostřed a celá láhev je otočena uzávěrem dolů. Láhev je z části naplněna vodou a na nové perforované dno je rozmístěn mech. Aby se předešlo zaplavení mechorostů, jsou pod dnem s mechem vyvrtány díry, kterými přebytečná voda odteče. Kontejner je ze shora překryt drátěnou sítkou sloužící jako případná ochrana proti ptákům. Je-li sledováno více druhů mechu, každý druh je v samostatném kontejneru ve vzdálenosti 50 cm od sebe. Mezi těmito láhvemi jsou nainstalovány ještě kontejnery se zabudovaným data-loggerem, který měří každých patnáct minut mikroklimatické podmínky (teplota a relativní vlhkost) z důvodu ověření jejich srovnatelnosti. V laboratoři je z dovezeného vzorku odstřižena 2 cm apikální část, která je vysušena při teplotě 70° C po dobu 48 hodin. Takto vysušený vzorek se rozeemele a přibližně 5 mg homogenizovaného vzorku se použije pro další analýzu. Další metodu popsal Castello (2007). Odebraný vzorek je zbaven mrtvého materiálu a opadu a k analýze jsou použity maximálně tři roky staré části mechu. Vzorky jsou uchovány čerstvé v chladu anebo vysušené při teplotě 40° C (pro měření obsahu rtuti při nižších teplotách). Nebo mohou být odděleny 3–4 cm apikální části od všech zkoumaných druhů a jemně promíchány, poté omyty v destilované vodě a následně vysušeny. Následuje nadrcení v třecí misce a vlastní chemická analýza.

Chemická analýza koncentrace těžkých kovů (a ostatních polutantů), která se používá jak pro suchou, tak i pro vlhkou metodu, je stanovena pro každý kov několika metodami: atomové absorpční spektrometrie (Fernandéz et al. 2000), spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (Castello 2007), atomové fluorescenční spektrometrie a neutronové aktivační analýzy (Buse et al. 2003, Harmens et al. 2004).

#### **4.2. Metoda pasivního monitorování**

Mechorosty jsou při užití této metody (Pilegaard et al. 1979, Castello 2007) odebírány v jeho přirozeném prostředí (Falla et al. 2000). Vzorky je nutné odebírat vždy v určité vzdálenosti jak od komunikace (většinou silnice), tak od husté části lesních porostů. Pokud je to možné, jsou mechorosty sbírány na více stromech rostoucích v těsné blízkosti. Doporučuje se odběr z kmenů, které rostou pouze vertikálně, a to ve výšce kolem 1,5–2 m.

## 5. Formy a strategie

Pojmy týkající se struktury mechorostů a pozice perichaetia můžeme rozdělit do čtyř základních kategorií, které byly v minulosti různě spojovány a charakterizovány. Jsou to růstové formy, životní formy, způsob větvení a pozice perichaetia. Růstové a životní formy nebyly dříve odlišovány. Růstové formy se však liší od životních forem (La Farge-England 1996). Podle definice růstové a životní formy podle Magdefrauda (Magdefraud 1982) je rozdíl jasný; zatímco růstová forma se zabývá jednotlivcem, životní forma se zabývá celou kolonií (La Farge-England 1996). Životní strategie nebo také životní taktika druhu nebo populace, je souhrn společně vyvinutých adaptivních vlastností (Stearns 1976). V této kapitole jsou podrobněji popsány skupiny, do kterých spadají epifytické druhy mechorostů, ostatní skupiny jsou popsány pouze stručně. Termíny jednotlivých typů jsou uvedeny v angličtině. V závorce jsou doslovné překlady do češtiny, a to z toho důvodu, že v české literatuře nejsou tyto termíny ustáleny.

### 5.1. Životní formy

Životní formy mechorostů mohou být definovány jako opakující se uspořádání fotosyntetických tkání, které minimalizuje ztráty vody výparem a maximalizuje primární produkci (Bates 1988). U mnoha druhů jejich životní forma odpovídá přírodním podmínkám (Magdefrau 1982, Bates 1988). Hlavní typy životních forem popsali Gimingham a Robertson (Gimingham et Robertson 1950), Gimingham a Birse (Gimingham et Birse 1957), Gimingham a Smith (Gimingham et Smith 1971) a Magdefrau (Magdefrau 1982), s modifikacemi podle Batese (Bates 1998).

Rozdělení životních forem podle vzhledu kolonie (Bates 1998).

1. Turfs (trávníky). Volně nebo těsně sbalené vzpřímené lodyhy s omezeným větvením, dělí se na krátké a dlouhé.
2. Cushions (polštáře). Kopulovité kolonie rostoucí ze středu tak, že se postupně zvětšuje jak poloměr, tak výška a všechny části se liší v orientaci z vertikálního do horizontálního směru.
  - malé polštáře – akrokarpními mechy s omezeným růstem (do 5 cm). (např. *Dicranoweisia cirrata*)

- velké polštáře – laterální větve jsou orientované ve stejném směru jako hlavní lodyha, celá kolonie může dosahovat několik decimetrů až metrů. (např. *Orthotrichum* sp. div., *Ulota* sp. div., *Zygodon* sp. div.)
3. Dendroids (stromečkové formy). Mechy se sympodiálním větvením, nejdříve se větve chovají jako stolony, plazíce se po substrátu, zakládají se primitivní fyloidy, poté dojde ke vzpřímení a nakonec se vyvine apikální trs laterálních větví, které nesou fotosyntetizující fyloidy popřípadě růžici velkých apikálních fyloidů.
  4. Mats (podložky). Zahrnuje větvené či nevětvené mechorosty, plazící se po substrátu, ke kterému jsou často těsně připevněné rhizoidy. Dělí se na kostrbaté s větvenými laterálními větvemi, hladké s větvemi ve vodorovné pozici (např. *Frullania dilatata*, *Radula* sp. div., č. *Lejeuneaceae*), thaloidní s překrývajícími se lodyhami (někteří zástupci č. *Metzgeriaceae*) a vláknité formy.
  5. Wefts (útky). Volně se proplétající, často hustě větvené vrstvy především pleurokarpních robustních mechů, také foliózní játrovky.
  6. Fans (vějíře). Lodyhy rostoucí vertikálně na borce stromů, skalách, větvící se často v horizontální rovině, aby vytvořily zploštělý, fotosyntetizující povrch, někdy zakřivené směrem k vrcholku, listy uspořádané ve dvou řadách. Do této skupiny řadíme některé epifytické mechorosty (např. zástupci *Neckeraceae*).
  7. Pendants (závěsné mechorosty). Převážně epifytické mechorosty v tropech, jejichž hlavní lodyha visí dolů z bodu, kde je přichycena k substrátu a z ní horizontálně roste spousta krátkých, laterálních větví.

## 5.2. Růstové formy

Růstová forma je definována jako forma lodyhy mechorostu, která má geneticky daný způsob větvení v závislosti na druhu a rodu (Magdefrau 1982). U mnoha mechorostů se jedná o celkem konstantní charakteristiku. Celkový vzhled kolonie mechorostů je do značné míry určen růstovou formou jednotlivých lodyh, která je u některých druhů charakteristická, u jiných druhů silně variabilní (Birse 1957). Růstové formy jsou založené na strukturálním vývoji lodyhy a větví, včetně jejich frekvence, délky a orientace. Směr růstu mechorostů je rozmanitý a závisí na řadě faktorů, jako např. na gravitaci, fototropismus a substrátu. Pro epifytické mechorosty rostoucí v tropech je společný horizontální růst definovaný jako kolmý růst k vertikálnímu substrátu. Ortotropní druhy rostou vzpřímeně, kdežto plagiotropní druhy rostou poléhavým způsobem (La Farge-England 1996). Pozice perichaetia se odlišuje od

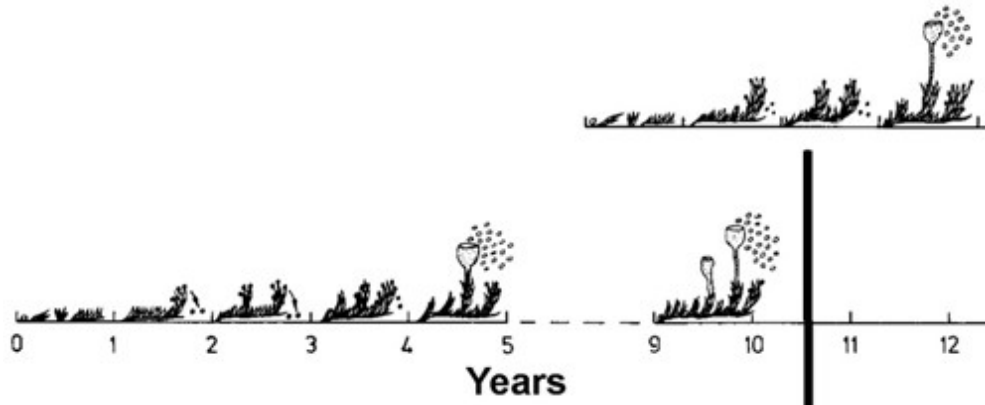
růstové formy. Stavba gametofytu může být popsána jako modulární (Mishler et De Luna 1991), kdy je hierarchie modulů definovaná typem větvení, které může být buď monopodiální nebo sympodiální (La Farge-England 1996). Podle směru růstu rozdělujeme mechorosty do čtyř skupin: orthotropní, horizontální, plagiotropní s postranním růstem a závěsné mechorosty, přichycené k substrátu v jednom bodě. Formu větvení rozdělujeme podle tří základních kritérií (La Farge-England 1996), podle vzdálenosti, frekvence a pozice. Pozice, kde se mechorost větví může být bazitonnní, kdy se větev zakládá na proximálním konci modulu, akrotonní – větev se zakládá na distálním konci modulu, axilární – větve rostou z paždí listů a kaulinní, kdy je pozice větví mezi listy. Perichaetiální pozici dělíme do tří základních skupin: akrokarpní, pleurokarpní a kladokarpní.

### 5.3. Životní strategie

Životní strategie mechorostů jsou rozděleny do šesti kategorií, které vycházejí především ze tří klíčových skutečností (trade – off): velikost spor, přežití stresového období a celková délka života (During 1992). During (1979) podrobně popsal životní strategie v souvislosti se životním prostředím.

1. Fugitives (krátkověké). Krátká délka života, velké reprodukční úsilí, pouze pohlavní rozmnožování, velký podíl rostlin se sporofytem a malé, početné, perzistentní spory. (Odpovídající životní forma: turfs)
2. Colonists (kolonisti). Středně dlouhá délka života, vysoké reprodukční úsilí, pohlavní i nepohlavní rozmnožování, tvorba sporofytu v pozdějším věku, pohlavní rozmnožování většinou po 2–3 letech, perzistentní malé spory. (Odpovídající životní formy: short turfs a thalloid mats)
3. Annual shuttle species (roční člunkaři). Krátká délka života, sporofyt velmi častý, chybí nepohlavní rozmnožování, spory velké, s dlouhou životností. (Odpovídající životní formy: thalloid mats, turfs)
4. Short lived shuttle species (krátkověcí člunkaři). Delší životnost, reprodukční úsilí celkem vysoké, sporofyt častý, nepohlavní rozmnožování vzácné nebo chybí, výtrusy velké s několikaletou životností. (Odpovídající životní formy: short turfs, thalloid mats)
5. Perennial shuttle species (trvalí člunkaři, viz obr. 6). Dlouhá životnost, střední reprodukční úsilí, nepohlavní rozmnožování časté u druhů se vzácným či chybějícím pohlavním rozmnožováním, pohlavní rozmnožování kolem pátého roku života,

výtrusy i nepohlavní diaspory velké, s krátkou životností. (Odpovídající životní formy: cushions, rough mats, smooth mats). Do této kategorie patří většina evropských epifytických mechů. Častý je přechod mezi touto strategií a strategií kolonisty.



Obr. 6. - Perennial shuttle species – životní cyklus (sensu During 1992)

6. Perennial stayers (trvalky). Typické pro biotopy v pozdních sukcesních stádiích; dlouhověké, vytrvalé mechorosty, reprodukční úsilí nízké, spory malé s různou životností.



## 6. Závěr

Cílem mé bakalářské práce „Metody studia biologie epifytických mechorostů“ bylo shrnout a stručně popsat nejdůležitější metody používané při studiu biologie mechorostů. Vybrala jsem takové metody, které jsou často používané a které jsou aplikovatelné na epifytické mechorosty. Většina z těchto metod je však použitelná i ke studiu terestrických či vodních druhů mechorostů. Zvolené téma je velmi široké a existuje mnoho odborných prací, které se zabývají studiem biologie mechorostů. Snažila jsem se vybrat podstatné a významné práce týkající se právě epifytických mechorostů a také neopomenout práce obecně významné pro bryologii. Do své práce jsem zahrнула i starší díla, na které se opakovaně odkazují recentní autoři. Myslím, že cíle se mi podařilo naplnit, nicméně si uvědomuji limity své práce právě kvůli velkému množství literatury.

Ve své diplomové práci bych ráda volně navázala na tuto práci. Při studiu komplexní biologie třech určitých druhů epifytických mechorostů bych chtěla použít některé ze zde popisovaných metod. Ráda bych se více věnovala otázce bioindikace, kterou popisují v této práci velice stručně. Využití mechorostů k měření koncentrace těžkých kovů a obecně polutantů ve městech, např. pomocí „moss bags“ - techniky, která není finančně náročná, je pro mě velice zajímavé a proto bych ji chtěla využít při vlastním výzkumu.

## 7. Literatura

- Alpert P. (2000): The discovery, scope, and puzzle of desiccation tolerance in plants. – *Plant Ecol.* 151: 5–17.
- Alpert P. (2005): The limits and frontiers of desiccation-tolerant life. – *Integr. Comp. Biol.* 45:685–695.
- Aničić M., Tomašević M., Tasić M., Rajšić S., Popović A., Frontasyeva M. V., Lierhagen S. et Steinnes E. (2009): Monitoring of trace element atmospheric deposition using dry and wet moss bags: Accumulation capacity versus exposure time. – *J. Hazard. Mater.* 171: 182–188.
- Al-Radady A. S., Davies B. E. et French M. J. (1993): A new design of moss bag to monitor metal deposition both indoors and outdoors. – *Scien. Tot. Environ.* 133: 275–283.
- Baker J. H. (1972): The rate of production and decomposition of *Chorisodontium aciphyllum* (Hook. f. et Wils.) – *Broth. Br. Ant. Surv. Bull.* 27: 123–129.
- Bates J. W. (1988): The effect of shoot spacing on the growth and branch development of the moss *Rhytidiadelphus triquetrus*. – *New Phytol.* 109: 499–504.
- Bates J. W. (1988): Is „life-form“ a useful koncept in bryophyte ecology? – *Oikos* 82: 223–237.
- Batić F., Kalan P., Kraigher H., Šircelj H., Simončič P., Vindergar – Gorjup N. et Turk B. (1999): Bioindication of different stresses decline studies in Slovenia. – *Water, Air and Soil Pollution* 116: 377–382.
- Batić F. et Mayrhofer H. (1996): Bioindication of air pollution by epiphytic lichens in forest decline studies in Slovenia. – *Phyton* 36: 85–90.
- Bennet R. A. (1965): Observations on the growth and maturation of the sporophyte of *Tortula muralis* (Hedw.). – *Trans. Proc. Bot. Soc. of Edinburgh* 40: 121–126.
- Birse E. M. (1957): Ecological studies on growth-form in bryophytes II. Experimental studies on growth-form in mosses. – *J. Ecol.* 45: 721–733.
- Bisbee K. E., Gower S. T., Norman J. M. et Nordheim E. V. (2001): Environmental controls on ground cover species composition and productivity in a boreal black spruce forest. – *Oecologia* 129: 261–270.
- Bowling D. R., Cook C. S. et Ehleringer J. R. (2001): Technique to measure CO<sub>2</sub> mixing ratio in small flasks with a bellows IRGA system. – *Agricul. and Forest Meteor.* 109: 61 – 65.
- Busby J. R., Bliss L. C. et Hamilton C. D. (1978): Microclimate control of growth rates and habitat of the boreal forest mores *Tomenthypnum nitens* and *Hylocomium splendens*. – *Ecol. Monogr.* 48: 95–110.
- Buse A., Norris D., Harmens H., Büker P., Ashenden T. et Mills G. (2003): Heavy metals in European mosses: 2000/2001 survey. Bangor, U.K.: UNECE ICP Vegetation Coordination.
- Centre, Centre for Ecology and Hydrology. In: Wilkie D. et La Farge C. (2011): Bryophytes as heavy metal biomonitors in the Canadian High Arctic. – *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 43: 289–300.
- Castello M. (2007): A comparison between two moss species used as transplants for airborne trace element biomonitoring in NE Italy. – *Environ. Monit. Assess.* 133: 267–276.
- Clarke G. C. S. et Greene S. W. (1970): Reproductive performance of two species of *Pohlia* at widely separated stations. – *Trans. Brit. Bryol. Soc.* 6: 278–295.
- Cleavitt N. L. (2002): Blackwell science, Ltd stress tolerance of rare and common moss species in relation to their occupied environments and asexual dispersal potential. – *J. Ecol.* 90: 785–795.
- Clegg M. D., Sullivan Ch. Y. et Eastin J. D. (1978): A sensitive technique for the rapid measurement of carbon dioxide concentrations. – *Plant Physiol.* 62: 924–926.
- Clymo R. S. (1970): The growth of *Sphagnum*: Methods of measurement. – *J. Ecol.* 58: 13–49.
- Dědeček J. (1883): Mechy jatrovkovitě (Hepaticae) květeny české. – *Arch. Přírod. Prosk. Čech* 52: 1–79.

- Dierssen K. (2001): Distribution, ecological amplitude and phytosociological characterization of European bryophytes. – *Bryophyt. Biblioth.* 56: 4-260.
- Dilks T. J. K. et Proctor M. C. F. (1979). Photosynthesis, respiration and water content in bryophytes. – *New Phytol.* 82: 97-114.
- Duda J. et Váňa J. (1977): Die Verbreitung der Lebermoose in der Tschechoslowakei – XXI. – *Čas. Slez. Muz., ser. A*, 26: 35-54.
- During H. J. (1979): Life strategies of bryophytes. A preliminary review. – *Lindbergia* 5: 2-18.
- During H. J. (1992): Ecological classifications of bryophytes and lichens.
- Falla J., Laval-Gilly P., Henryon M., Morlot D. et Ferard J. (2000): Biological air quality monitoring: A review. – *Environ. Monit. Assess.* 64: 627-644.
- Farmer A. M. (1991): Seasonal variations in acidic pollutant inputs and their effects on the chemistry of stemflow, bark and epiphyte tissues in three oak woodlands in N.W. Britain. – *New Phytol.* 118: 441-451.
- Fernandéz J. A., Aboal J.R. et Carballeira A. (2000): Use of native and transplanted mosses as complementary techniques for biomonitoring mercury around an industrial facility. – *Scien. Tot. Environ.* 256: 151–161.
- Forman R. T. T. (1965): A system for studying moss phenology. – *Bryologist* 68: 289-300.
- Gabriel R. et J. Bates (2003): Responses of photosynthesis to irradiance in bryophytes of the Azores laurel forest. – *J. Bryol.* 25: 101–105.
- Gimingham C. H. et Birse E. M. (1957): Ecological studies on growth-form in bryophytes. I. Correlations between growth-form and habitat. – *J. Ecol.* 45: 533-545.
- Gimingham C. H. et Robertson E. T. (1950): Preliminary investigations on the structure of bryophytic communities. – *Trans. Br. Bryol. Soc.* 1: 330-344.
- Gimingham C. H. et Smith R. I. L. (1971): Growth form and water relations of mosses in the maritime Antarctic. – *Br. Antarct. Surv. Bull.* 25: 1-21.
- Glime J. M. (1988): Methods in bryology. – *Proc. Bryol. Meth. Workshop. Mainz*, p. 259–273.
- Glime J. M. (2012): Bryophyte ecology. – <http://www.bryoecol.mtu.edu/>.
- Goodman G. T. et Roberts T. M. (1971): Plants and soils as indicators of metals in the air. – *Nature* 231(5301): 287-292.
- Greene S. W. (1960): The maturation cycle, or the stages of development of gametangia and capsules in mosses. – *Trans. Brit. Bryol. Soc.* 3: 736-745.
- Grimme A. (1903): Über die Blütezeit deutscher Laubmoose und die Entwicklungsdauer ihrer Sporogone. – *Hedwigia* 42: 1–75.
- Gustafsson L. et Ericsson I. (1995): Factors of importance for the epiphytic vegetation of aspen *Populus tremula* with special emphasis on bark chemistry and soil chemistry. – *J. Appl. Ecol.* 32: 412-424.
- Harmens H., Buse A., Buker P., Norris D., Mills G., Williams B., Reynolds B., Ashenden T. W., Ruhling A. et Steiness E. (2004): Heavy metal concentrations in European mosses: 2000/2001 Survey. – *J. Atmosph. Chem.* 49: 425–436.
- Heijmans M. M. P. D., Berendse F., Arp W. J., Masselink Ab K., Klees H., De Visser W. et Van Breemen N. (2001): Effects of elevated carbon dioxide and increased nitrogen deposition on bog vegetation in the Netherlands. – *J. Ecol.* 89: 268–279.
- Hosokawa T. et Kubota H. (1957): On the osmotic pressure and resistance to desiccation of epiphytic mosses from a beech forest, south – west Japan. – *J. Ecol.* 45: 579.
- Johnsen A. B. (1969): Phenological and environmental observation on stands of *Orthotrichum anomalum*. – *Bryologist* 72: 397-403.
- Kricke R. (2002): Measuring bark pH. – In: Nimis, P. L., Scheidegger, C. et Wolseley P. A., eds, *Monitoring with lichens – Monitoring lichens*, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, pp. 333–336.
- Kučera J., ed. (2012): *Mechorosty České republiky. On-line klíče, popisy a ilustrace.* – <http://botanika.bf.jcu.cz/bryoweb/klic/>.
- Kučera J. et Váňa J. (2005): Seznam a červený seznam mechorostů České republiky (2005). – *Příroda* 23: 1-104.

- La Farge-England C. (1996): Growth form, branching pattern and perichaetial position in mosses: cladocarp and pleurocarpy redefined. - *Bryologist* 99: 170-186.
- Longton R. E. et Greene S. W. (1969a.): The growth and reproductive cycle of *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. – *Annals Bot.* 33: 83–105.
- Longton R. E. et Greene S. W. (1969b.): Relationship between sex distribution and sporophyte production in *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. – *Annals Bot.* 33: 107–126.
- Leisman G. A. (1975): Further data on the rate of organic matter accumulation in bogs. – *Ecology* 38: 361.
- Magdefrau K. (1982): Life-forms of bryophytes. – In: La Farge-England C. (1996): Growth form, branching pattern and perichaetial position in mosses: cladocarp and pleurocarpy redefined. - *Bryologist* 99: 170-186.
- Marmore L. et Randlane T. (2007): Effects of road traffic on bark pH and epiphytic lichens in Tallinn. - *Folia Cryptog. Estonica* 43: 13 - 28.
- Marschall M. et M. C. F. Proctor (2004): Are bryophytes shade plants? Photosynthetic light responses and proportions of chlorophyll a, chlorophyll b and total carotenoids. – *Ann. Bot.* 94: 593–603.
- Maxwell K. et Johnson G. N. (2000): Chlorophyll fluorescence – a practical guide. – *J. Experiment. Bot.* 51(345): 650 – 668.
- Milner C. et Hughes R. E. (1968): Methods for measurement of the primary production of grassland. – I. B. P. Handbook No. 6 Blackwell, Oxford.
- Mishler B. D. et De Luna E. (1991): The use of ontogenetic data in phylogenetic analyses of mosses. – *Adv. Bryol.* 4: 121-167.
- Mitchell R. J., Sutton M. A., Truscott A.-M., Leith I. D., Cape J. N., Pitcairn C. E. R. et Van Dijk N. (2004): Growth and tissue nitrogen of epiphytic Atlantic bryophytes: effects of increased and decreased atmospheric N deposition. – *Funct. Ecol.* 18: 322–329.
- Mitchell R. J., Truscott A.-M., Leith I. D., Cape J. N., Van Dijk N., Tang Y. S., Fowler D. et Sutton M. A. (2005): A study of the epiphytic communities of Atlantic oak woods along an atmospheric nitrogen deposition gradient. – *J. Ecol.* 93: 482–492.
- Newbould P. J. (1967): Methods for estimating the primary production of forests. – I. B P. Handbook No. 2. Blackwell, Oxford.
- Ochi H. et Iwanaga M. (1951): A further report on the osmotic value of cell-sap of *Mnium maximum* Lindb. – *Seitbutugaku-kaishi, Hiroshima Univ.* 3: 14-19.
- Pickard J. (1980): Photosynthesis under cold conditions of moss ecosystems. Project proposal. – Australian Antarctic Division, Melbourne.
- Pilegaard K., Rasmussen L. et Gydesen H. (1979): Atmospheric background deposition of heavy metals in Denmark monitored by epiphytic cryptogams. – *J. Appl. Ecol.* 16: 843-853.
- Pilous Z. (1948): Naše mechy. Ilustrovaný klíč k určování mechů československých. – *Českoslov. bot. Společ., Praha.*
- Pilous Z. et Duda J. (1960): Klíč k určování mechorostů ČSR. – Nakladatelství ČSAV, Praha.
- Pócs T. (1982): Tropical forest bryophytes. – In: Smith A. J. E., ed., *Bryophyte ecology*, p. 59–104, Chapman et Hall, London.
- Pospíšil V. (1995): Poznámky k biologii mechů. – *Zpr. Čes. Bot. Společ.* 30: 1-4.
- Proctor M. C. F. (1979): The use of photographic measurement in assessing the seasonal growth in saxicolous bryophytes. – *A. G. M. Brit. Ecol. Soc.* January 1979.
- Proctor M. C. F. (1990): The physiological basis of bryophyte production. – In: International symposium on bryophyte ecology, Edinburgh, UK, *J. Linn. Soc. Bot.* 104: 61-77.
- Proctor M. C. F. (2000): The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought. - *Plant Ecol.* 151: 44–49.
- Proctor M. C. F. (2001): Patterns of desiccation tolerance and recovery in bryophytes. – *Plant Growth Reg.* 35: 147-156.
- Proctor M. C. F., Oliver M. J., Wood A. J., Alpert P., Stark L. R., Cleavitt N. L. et Mishler B. D. (2007): Desiccation-tolerance in bryophytes: a review. – *Bryologist* 110: 595-621.
- Rao K. R., Kumar N. R. et Reddy A. N. (1979): Studies of photosynthesis in some liverworts. – *Bryologist* 2: 286-289.

- Richardson D. H. S. (1981): The biology of mosses. Blackwell, Oxford.
- Rieley J. O., Richards P. W. et Bebbington A. D. L. (1979): The ecological role of bryophytes in a North Wales woodland. – *J. Ecol.* 67: 497–527.
- Russel S. (1984): Growth measurement in byophytes: A case study. – *J. Hattori Bot. Lab.* 56: 147-157.
- Schmidt J., Kricke R. et Feige G. B. (2001): Measurements of bark pH with a modified flathead electrode. – *Lichenologist* 33: 456-460.
- Sestak Z., Catský J. et Jarvis P. G. (1971): Plant photosyntetic production - Manual of methods. – Junk, The Hague.
- Skre O. et Oechel W. C. (1979): Moss production in a black spruce *Picea mariana* forest with permafrost Nera Fairbanks Alaska, as compared with two permafrost - free stands. – *Holarctit Ecol.* 2: 249–254.
- Smith R. I. L. (1981): Growth and production in South Georgia bryophytes. – *Com. Nation. Franc. Reser. Antarctic* 51: 229–239.
- Snelgar W. P., Brown D. H. et Greene A. T. G. (1980): A provisional survey of the interaction between net photosynthetic rate, respiratory rate, and thallus water content in some New Zealand cryptogams. – *New Zealand J. Bot.* 18: 247-56.
- Solga A., Burkhardt J. et Frahm J.-P. (2006): A new approach to assess atmospheric nitrogen deposition byway of standardized exposition of mosses. – *Environ. Monit. Assess.* 116: 399-417.
- Sonesson M. (1980): Area harvesting as a method of estimating phytomass changes in a tundra mire. – In: M. Sonesson (ed.): *Ecology of a subarctic mire.* – *Ecol. Bull.* 30: 127 – 137.
- Stark L. R. (2002): Phenology and its repercussions on the reproductive ecology of mosses. – *Bryologist* 105: 204-218.
- Stearns S. C. (1976): Life history tactics: a review of the ideas. - *Quart. Rev. Biol.* 51: 3-47.
- Tinya F., Márialigeti S., Király I., Németh B. et Ódor P. (2009): The effect of light conditions on herbs, bryophytes and seedlings of temperate mixed forests in Orség, Western Hungary. – *Plant Ecol.* 204: 69–81.
- Tng D. Y. P. (2009): Does moisture affect the partitioning of bryophytes between terrestrial and epiphytic substrates within cool temperate rain forests? – *Bryologist* 112: 506-519.
- Towle P. M. (1905): Notes on the fruiting season of *Catharinaea*. – *Bryologist* 8: 44–45.
- Towle P. M. (1906): Notes on the life history of the mniiums. – *Bryologist* 9: 54–56.
- Towle P. M. et Gilbert A. E. (1904): The fruiting season of the hair - cup moss. – *Bryologist* 7: 35–36.
- Tuba Z., Csintalan Z. et Proctor M. C. F. (1996): Photosynthetic responses of a moss, *Tortula ruralis*, ssp. *ruralis*, and the lichens *Cladonia convoluta* and *C. furcata* to water deficit and short periods of desiccation and their ecophysiological significance: A baseline study at present-day CO<sub>2</sub> concentration. – *New Phytologist* 133: 353-361.
- Turetsky M. (2003): The role of bryophytes in carbon and nitrogen cycling. – *Bryologist* 106: 395-409.
- Velenovský J. (1897): *Mechy české.* – *Rozpr. Čes. Akad. Pro Vědy, cl. 2, 6/6:* 1-352.
- Vitt D. H., Wieder K., Halsey L. A. et Turetsky M. (2003): Response of *Sphagnum fuscum* to nitrogen deposition: A case study of ombrogenous peatlands in Alberta, Canada. – *Bryologist* 106: 235-245.
- Vondráček M. (1993): Revize a rozšíření druhů rodu *Orthotrichum* Hedw. v České a Slovenské republice (Musci). – *Sborn. Západočes. Muz., Přír.*, 85: 1-76.
- Vondráček M. (1994): Revize a rozšíření druhů rodu *Ulota* Brid. a *Zygodon* Hook. et Tayl. v České a Slovenské republice (Orthotrichaceae – Musci). – *Sborn. Západočes. Muz., Přír.*, 89: 1-26.
- Weidmann A. (1895): *Prodromus českých mechů listnatých. Díl I,II.* – A. Wiesner, Praha.
- Wielgolaski F. E., Bliss L. C., Svoboda J. et Doyle G. (1981). Primary production of tundra. – In: Bliss L. C., Heal O. W. et Moore J. J., ed., *Tundra ecosystem: a comparative analysis.* P. 187-226, Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Wiklund K. et Rydin H. (2004): Colony expansion of *Neckera pennata*: Modelled growth rate and effect of microhabitat, competition and precipitation. – *Bryologist* 107: 293–301.
- Wilkie D. et La Farge C. (2011): Bryophytes as heavy metal biomonitors in the Canadian High Arctic. - *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 43: 289-300.

- Wood A. J. (2007): The nature and distribution of vegetative desiccation tolerance in hornworts, liverworts and mosses. - *Bryologist* 110: 163-177.
- Zechmeister H. G. et Hohenwallner D. (2006): A Comparison of biomonitoring methods for the estimation of atmospheric pollutants in an industrial town in Austria. – *Environ. Monit. Assess.* 117: 245–259.
- Zehr D. R. (1979): Phenology of selected bryophytes in Southern Illinois. – *Bryologist* 82: 29–36.