

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra botaniky



## **Dekompozice listového opadu mikroskopickými houbami na antropogenních stanovištích**

**Decomposition of leaf litter by microscopic fungi in anthropogenic habitats**

**Petra Bukovská**

Vedoucí práce: RNDr. Alena Kubátová, CSc.

Praha 2009

Prohlašuji, že jsem práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury.

## OBSAH

<b>1</b>	<b>ABSTRAKT .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED.....</b>	<b>7</b>
<b>3.1</b>	<b>Dekompozice listového opadu .....</b>	<b>7</b>
3.1.1	Role hub v dekompozici .....	7
3.1.2	Mikroskopické houby .....	8
3.1.3	Chemické složení listového opadu a rozklad hlavních složek .....	9
3.1.4	Průběh rozkladu.....	11
<b>3.2</b>	<b>Faktory ovlivňující průběh dekompozice .....</b>	<b>16</b>
3.2.1	Fyzikálně-chemické vlastnosti substrátu.....	17
3.2.2	Podmínky vnějšího prostředí.....	18
<b>3.3</b>	<b>Mikroskopické houby a dekompozice opadu na antropogenních stanovištích .....</b>	<b>22</b>
3.3.1	Stresové faktory v prostředí antropogenních stanovišť s biologickou půdní krustou .....	23
<b>4</b>	<b>METODIKA.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakteristika lokalit.....</b>	<b>29</b>
4.1.1	Ralsko – Hradčany .....	29
4.1.2	Chvaletice .....	29
4.1.3	Vlastnosti půdního substrátu a opadu.....	30
<b>4.2</b>	<b>Popis experimentu .....</b>	<b>31</b>
<b>4.3</b>	<b>Studium hub .....</b>	<b>32</b>
4.3.1	Stanovení hub na opadu.....	32
4.3.2	Determinace hub.....	33
4.3.3	ITS – TRFLP analýza vzorků opadu .....	35
4.3.4	Statistická analýza dat .....	40
<b>4.4</b>	<b>Měření rychlosti dekompozice .....</b>	<b>41</b>
	<b>PŘÍLOHA I .....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>Mikroskopické houby podlejí se na rozkladu opadu břízy .....</b>	<b>45</b>
5.1.1	Houby zjištěné na opadu z lokality Ralsko .....	45
5.1.2	Houby zjištěné na opadu z lokality Chvaletice .....	53
5.1.3	Statistická analýza.....	63
5.1.4	Molekulární taxonomická analýza .....	72
5.1.5	ITS – TRFLP.....	75

5.2	<b>Dekompozice</b> .....	<b>80</b>
5.2.1	Opad břízy .....	80
5.2.2	Modelová celulóza .....	82
	<b>PŘÍLOHA II</b> .....	<b>85</b>
<b>6</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>86</b>
6.1	<b>Studium dekompozice</b> .....	<b>88</b>
6.1.1	Dekompozice listového opadu břízy .....	88
6.1.2	Dekompozice modelové celulózy .....	90
6.2	<b>Mikroskopické houby na opadu břízy</b> .....	<b>91</b>
6.2.1	Diverzita mikroskopických hub na opadu .....	91
6.2.2	Analýza TRFLP .....	96
6.2.3	Sukcese hub na opadu .....	98
6.2.4	Vliv použité metodiky .....	99
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>101</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>103</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>104</b>

# 1 Abstrakt

V letech 2006 – 2008 byl na dvou antropogenních stanovištích s výskytem biologické půdní krusty proveden terénní experiment s listovým opadem břízy a modelovou celulózou využívající metodu opadových sáčků. Rychlost dekompozice opadu i celulolytická aktivita byla na obou stanovištích extrémně nízká. Diverzita společenstva mikroskopických hub na opadu, zjišťovaných izolační metodou a metodou inkubace opadu ve vlhkých komůrkách, však byla srovnatelná s diverzitou známou z přirozených lesních ekosystémů temperátního pásma. Také sukcesní změny společenstva hub pozorované na obou lokalitách odpovídaly v základních rysech údajům z jiných typů stanovišť. Metodou ITS-TRFLP kombinovanou s použitím taxonomicky specifických primerů byla odhalena značná diverzita chytridií a naopak jen velmi nízká diverzita bazidiomycetů. Na stanovišti s vyšší mírou antropogenního stresu byla zjištěna nižší diverzita hub, značně odlišná skladba společenstva a nižší dekompoziční aktivita. Na opadu studovaných stanovišť byly pozorovány i druhy, u kterých nebyla dosud známa tolerance k přítomným antropogenním stresům, a druhy dosud nepopsané.

**Klíčová slova:** saprotrofní houby, listový opad břízy, metoda opadových sáčků, rychlost dekompozice, TRFLP, taxonomicky specifické primery, antropogenní stanoviště, těžké kovy, biologické půdní krusty

## 2 Úvod

Dekompozice organického materiálu má pro fungování ekosystémů zásadní význam. Již po desetiletí je proto nejruznějším aspektem tohoto procesu věnována značná pozornost. Jedním z důležitých aspektů je i diverzita mikroskopických hub na opadu a jejich role při dekompozici. Nejvíce dosud získaných poznatků o rozkladu rostlinného opadu a mikroskopických houbách, které se něm podílejí, se vztahuje k lesním ekosystémům mírného klimatického pásma. Neopomenutelnou součástí temperátní krajiny jsou však také četná antropogenní stanoviště. Činnost člověka dala vzniknout řadě unikátních a často velmi extrémních stanovišť, která většinou představují z hlediska dekompozice dosud zcela neprobádané ekosystémy. Do této kategorie spadají i stanoviště s biologickými půdními krustami, která se v mírném klimatickém pásmu objevují ve větším rozsahu téměř výhradně v prostředí opuštěných odkališť nebo jiných lokalit, kde silné antropogenní stresy omezují kolonizaci substrátu cévnatými rostlinami. Dekompozice má zřejmý vztah k produktivitě ekosystémů, i proto si tento proces a zejména organismy, které se na něm podílejí, zaslouží zvláštní pozornost právě na extrémních stanovištích s nízkou produktivitou.

V letech 2005 - 2007 proběhl na několika lokalitách v ČR výzkum ekosystémů s biologickými půdními krustami (projekt MŽP SM/2/90/05). V rámci výzkumu byla na dvou antropogenních stanovištích s charakteristickým výskytem biologické půdní krusty – na opuštěném rudním odkališti ve Chvaleticích a v prostorách bývalého vojenského letiště Ralsko - provedena studie zaměřená na dekompozici listového opadu břízy. Cílem bylo zjistit, které mikroskopické houby se na těchto stanovištích na dekompozici opadu podílejí a jak zde dekompozice probíhá ve srovnání přirozenými ekosystémy. Dále, zda a jak se liší společenstvo mikroskopických hub na opadu a průběh rozkladu v extrémně toxickém prostředí odkaliště (zasolení, vysoké koncentrace těžkých kovů) ve srovnání s méně zatíženou lokalitou v Ralsku.

### **Poděkování**

Na prvním místě děkuji Bohu, od něhož pochází veškerý život.

Děkuji vedoucí své práce RNDr. Aleně Kubátové, CSc. a Mgr. Karlu Prášilovi, CSc. za cenné konzultace k determinaci mikroskopických hub, za doporučení i zapůjčení literatury a veškeré poskytované rady. Za možnost provést analýzu TRFLP i za konzultace k této části práce děkuji doc. RNDr. Milanu Gryndlerovi, CSc..

Své rodině děkuji za důležitou podporu nejen v průběhu sepisování této práce.

## 3 Literární přehled

### 3.1 Dekompozice listového opadu

Dekompozice je postupný proces rozkladu mrtvé organické hmoty realizovaný činností mikroorganismů a půdních živočichů. Živiny vázané v organické hmotě jsou v průběhu rozkladu transformovány do anorganické formy a uvolňovány. Jedním z hlavních zdrojů mrtvé organické hmoty v ekosystémech je listový opad. Jeho rozklad má proto pro fungování ekosystémů zásadní význam (Berg et al. 2001). Dekompozice listového opadu je klíčovým článkem globálního cyklu uhlíku, reguluje dostupnost živin pro rostliny a umožňuje formování humusu (Swift et al. 1979, Abaye et Brookes 2006).

#### 3.1.1 Role hub v dekompozici

Hlavní roli v procesu dekompozice zastávají mikroorganismy. Tesařová (1987) uvádí, že mikroorganismy zodpovídají za 80 - 99 % energie uvolňované rozkladnými procesy. Mikroflóra má v celkové respiraci mnohem větší podíl než mikrofauna. Největší díl aktivity pak připadá na houby.

Houby zaujímají mezi půdními mikroorganismy první místo jak ve smyslu biomasy tak fyziologické aktivity. Na celkové biomase rozkladačů v lučních půdách se podílejí 78 - 90 %. V britských listnatých lesích tvoří houbová mycelia 89 % celkové živé biomasy (Frankland 1982). K celkové respiraci půdních organismů mohou houby v lesních ekosystémech přispívat až 90 % (Kjølner et Struwe 1982). Rozklad organické hmoty je přitom jedna z hlavních rolí půdních hub.

Houby jsou efektivnějšími rozkladači opadu než bakterie. Daubenmire et Prusso (1963), kteří sledovali rozklad listového opadu 13 dřevin, pozorovali výrazně rychlejší rozklad u těch druhů opadu, kde mezi rozkladači převládaly houby. Kde byl podíl hub oproti ostatním saprotrofním organismům nižší, byl rozklad pomalejší. I v rámci opadu téhož druhu se ukázalo, že rychleji se rozkládá opad za podmínek, při kterých převažují nad ostatními saprotrofy mikroskopické houby. Ostatní saprotrofové byli méně efektivními rozkladači listového opadu. Také Lensing et Wise (2007) a Zhang et al. (2008) potvrzují rozhodující roli hub v dekompozici.

Vyšší zastoupení bakterií vůči houbám v rámci společenstva mikroorganismů účastnících se dekompozice opadu signalizuje přítomnost snadno rozložitelných složek v opadu, v případě méně příznivého složení opadu převažují houby (Torres et al. 2005).

Houby hrají centrální roli v dekompozici především díky schopnosti atakovat lignocelulózu, kterou ostatní organismy rozkládat neumí, ale jejíž přítomnost často dekompozici limituje (Kjølner et Struwe 1982). Také velký povrch vzhledem k objemu, který charakterizuje houbové hyfy, předurčuje houby jako obzvláště efektivní agens rozkladu biomasy (Maheshwari 2005).

### **3.1.2 Mikroskopické houby**

Mikroskopické houby jsou definovány jako houby s mikroskopickými rozmnožovacími strukturami (Cannon et Sutton 2004). Jedná se o umělou kategorii hub. Vytvoření této souhrnné skupiny je reakcí na skutečnost, že použitím určitých odběrových technik získáváme z daného prostředí většinou zároveň zástupce různých, i fylogeneticky vzdálených, skupin hub.

Většina mikroskopických hub podílejících se na dekompozici listového opadu patří mezi vřeckovýtrusé houby. Mezi nejhojněji izolované houby patří především zástupci čtelných anamorfních rodů.

Z rozkládajícího se opadu bývají izolováni také zástupci oddělení Zygomycota a to hlavně ze řádů Mucorales a Mortierellales. Mukorovité houby využívají ke své výživě především jednoduché cukry a předpokládá se, že jejich přímý podíl na dekompozici se omezuje na počáteční fáze rozkladu (Garett 1951). Ačkoli např. práce Moustafa et Sharkas (1982) nebo Khalid et al. (2006) potvrzují celulólytické schopnosti rodu *Mucor*, v pozdějších fázích dekompozice tyto houby spíše pouze koexistují s organismy, které jsou schopny efektivněji rozkládat komplexní složky opadu.

Oddělení stopkovýtrusých hub rovněž zahrnuje některé mikroskopické saprotrofní houby. Práce zabývající se mikroskopickými houbami na opadu většinou žádné bazidiomycety neuvádějí, případně dokládají jen nízké zastoupení. To je však pravděpodobně dáno tím, že jsou běžně používané izolační a kultivační metody vůči bazidiomycetům diskriminující (Hering 1965, Bills et al. 2004). Těžiště skupiny stopkovýtrusých hub tvoří makroskopičtí zástupci. Řada z nich se také významnou měrou uplatňuje v dekompozici opadu (Dix et Webster 1995, Osono 2007). Frankland (1982) odhadla podíl všech bazidiomycetů v celkové mikrobiální biomase v opadu a humusu britských listnatých lesů na 60 %.



Zástupci chytridiomycetů, které je také třeba řadit mezi mikroskopické houby, nelze běžně používanými metodami izolovat a o jejich výskytu na opadu v terestrických ekosystémech a úloze při dekompozici není prakticky nic známo.

### **3.1.3 Chemické složení listového opadu a rozklad hlavních složek**

Listový opad je tvořen šesti hlavními kategoriemi chemických látek: 1. celulóza, 2. hemicelulózy, 3. lignin, 4. látky rozpustné ve vodě - cukry, aminokyseliny, alifatické kyseliny, 5. látky rozpustné v etheru a alkoholu - tuky, oleje, vosky, pryskyřice a četné pigmenty, 6. proteiny (Szegei 1988).

Nejhojnějšími složkami opadu jsou celulóza, hemicelulózy a ligniny. Jedná se o komplexní sloučeniny a jejich rozklad je komplikovaný. Je uskutečňován sekvencí specifických enzymatických reakcí. Enzymatickou výbavu potřebnou k odbourávání těchto látek má jen poměrně málo organismů.

#### **Celulóza**

Celulóza tvoří opad z 20 - 40 % (Szegei 1988). Na jejím odbourávání se kromě hub podílejí i bakterie. Enzymatický aparát celulolytů je tvořen:

1. extracelulárním enzymatickým komplexem  $C_1$ , který přeměňuje nativní celulózu na kratší řetězce glukózových jednotek,
2. extracelulárním enzymatickým komplexem  $C_x$ , který hydrolyzuje tyto řetězce na celobiózu, celotriózu a celotetraózu,
3.  $\beta$ -glukosidázami, které štěpí vytvořené oligosacharidy na jednoduché cukry.

Ačkoli mnoho saprotrofů v opadové vrstvě a půdě lze klasifikovat jako celulolyty, jen málo z nich je schopno rozkládat nativní celulózu. Většina organismů označovaných jako celulolyté vlastní pouze komplex  $C_x$  a je schopna rozkládat jen amorfni celulózu nebo deriváty krystalické celulózy. Pouze organismy disponující enzymatickým komplexem  $C_1$  mohou štěpit vodíkové můstky, které váží řetězce glukózy do krystalických struktur celulózních fibril (Dickinson et Pugh 1974, Bhat et Bhat 1997).

#### **Hemicelulózy**

Druhou nejhojnější složkou opadu jsou hemicelulózy. Jedná se o početnou skupinu látek, které vytvářejí amorfni hmotu obklopující vlákna celulózy. Protože existuje mnoho typů hemicelulóz a příbuzných polysacharidů, je i mnoho typů enzymů, které je odbourávají.

Rozklad hemicelulóz probíhá rychleji než rozklad celulózy, což je podmíněno jejich chemickou strukturou, a děje se stejně jako rozklad celulózy činností hub a bakterií. V aerobních podmínkách jsou dominantními rozkladači hemicelulóz mikroskopické houby (Dickinson et Pugh 1974).

### **Ligniny**

Třetí nejhojnější složkou listového opadu jsou ligniny. Tyto látky nacházející se ve střední lamelle a sekundární stěně rostlinných buněk vykazují nejvyšší odolnost vůči mikrobiálnímu rozkladu.

Hlavními rozkladači ligninu jsou stopkovýtrusé houby tzv. bílé hniloby. Schopnost využívat lignin má však i řada druhů vřeckovýtrusých hub. Mezi nimi jsou v odbourávání ligninu velmi efektivní zejména zástupci čeledí *Xylariaceae* a *Rhytismataceae* (Urairuj et al. 2003, Osono 2007).

Zástupci bazidiomycetů se v rozkladu ligninu uplatňují spíše v pozdějších fázích dekompozice, kdy je opad zabudováván do hlubších vrstev opadu a do půdy (Dix et Webster 1995). To potvrzují i Koide et al. (2005), kteří po dobu 18 měsíců sledovali dekompozici listového opadu druhu *Camellia japonica*. Mycelium bazidiomycetů tvořilo pouhých 2 % celkové biomasy hub podílejících se na dekompozici opadu. Zásadní roli v dekompozici ligninu sehráli ve sledovaném období zástupci vřeckovýtrusých hub z čeledi *Rhytismataceae*. Osono et Takeda (2001b) provedli odhad biomasy bazidiomycetů na základě užití metody přímého pozorování. Uvádějí, že biomasa stopkovýtrusých hub byla na čerstvě opadaných listech zanedbatelná a v průběhu dekompozice narůstala. Jen málo stopkovýtrusých hub toleruje suché podmínky, které panují na povrchu opadové vrstvy. Mikroskopické houby, které jsou schopny růst za těchto podmínek, pravděpodobně zlepšují svou činností vlhkostní poměry v opadu a připravují ho pro kolonizaci bazidiomycety (Dix et Webster 1995). Další příčinou pozdějšího nástupu ligninolytických bazidiomycetů je, že tyto houby nejsou většinou schopny kompetovat rychleji rostoucím houbám, které využívají celulózu a jednoduché cukry v počáteční fázi dekompozice (Osono 2007).

### **Flavonoidy a třísloviny**

Z minoritních složek opadu jsou obzvláště významné flavonoidy a třísloviny. Jejich zbytky se spolu s aromatickými produkty dekompozice ligninu podílejí na vzniku huminových kyselin. Hlavními rozkladači jednoduchých flavonoidů jsou zástupci rodu

*Aspergillus*. Tříslovininy rozkládají především druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium* (Dickinson et Pugh 1974).

### 3.1.4 Průběh rozkladu

#### Dekompozice živých listů

Dekompozice listu začíná prakticky již v momentě, kdy se list vytvoří, neboť listy jsou vystaveny atakům mikroorganismů po celou dobu existence nejen v období senescence a po odumření (Ruscoe 1971). Na dekompozici se podílejí i houby obývající živé listy – epifyté i endofyty (Osono 2002). Tyto houby atakují především snadno rozložitelné cukry exudované z povrchu listů nebo uvolňované hmyzem ze subkutikulárních pletiv. Některé z nich vlastní kutinázy, pektinázy, celulózy a během senescence penetrují kutikulu a začínají rozkládat buněčnou stěnu (Dickinson et Pugh 1974). Kromě saprotrofů mohou tedy listy obývat i houby parazitické.

Ruscoe (1971) izoloval z mladých listů *Nothofagus truncata* parazity *Pestalotia funerea*, *Tubercularia* sp., *Stachylidium* sp.. Zástupce rodu *Phoma* se vyskytoval před senescencí listu pouze ve vegetativním stádiu. Všechny tyto houby byly přítomné na listech i po opadu. Dominantními primárními saprotrofy byly druhy *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum* a *Aureobasidium pullulans*.

Na živých listech *Fagus sylvatica* převažovaly *Discula quercina*, *Cladosporium herbarum*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* (Hogg et Hudson 1966). Na listech *Eucalyptus regnans* dominovaly druhy *Protostegia eucalypti*, *Cladosporium herbarum*, *Readeriella mirabilis*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum* (Macauley et Thrower 1966). V obou pracích byla většina dominantních hub obývajících živé a senescentní listy izolována i z čerstvého opadu.

Mnohé fyloforní a endofytické houby totiž přetrvávají v listech po opadu a účastní se, jako primární saprotrofové, dalších fází jejich rozkladu. Osono (2002) studoval houby obývající listy buku (*Fagus crenata*). Z živých a senescentních listů izoloval celkem 18 endofytických a 47 epifytických hub. 15 celkově nejhojnějších druhů rozdělil do 3 skupin podle frekvence výskytu na čerstvě opadaných a rozkládajících se listech. Houby *Geniculosporium* sp., *Xylaria* sp., bílé sterilní mycelium, *Phoma* sp. 1, *Cladosporium cladosporioides*, *Pestalotiopsis* sp. 3, *Gliocladium roseum*, *Pestalotiopsis* sp. 2, *Arthrimum* sp. se hojně vyskytovaly na rozkládajících se listech. Druhy *Ascochyta* sp., *Alternaria*

*alternata* pouze na čerstvě opadaných listech a druhy *Nodulisporium* sp. 3, *Pestalotiopsis* sp. 1, *Phomopsis* sp. a jeden neurčený coelomycet jen na živých nebo senescentních listech. Endofyté a houby fylosféry, kteří přetrvávají v listech i po odumření, mají výhodu oproti houbám, které kolonizují listy až po opadu, neboť mohou ihned využívat snadno dostupné zdroje energie, jakými jsou nelignifikovaná holocelulóza nebo rozpustné uhlovodíky. Přetrvání je důležitá strategie hub účastnících se počátečních fází dekompozice opadu.

Některé fylosférické houby (*Arthrimum* sp., *Geniculosporium* sp. 1, *Cladosporium cladosporioides*, *Gliocladium roseum* a *Pestalotiopsis* sp. 2) byly izolovány se stejnou frekvencí jak z listů, které byly před založením experimentu sterilizovány (zbaveny fylosférických hub) tak z nesterilizovaných listů, a byly tedy schopny kolonizovat opad přímo pomocí hyf nebo spor z okolního opadu nebo ze vzduchu.

Osono (2005) sledoval rychlost a průběh dekompozice sterilizovaného a nesterilizovaného opadu *Swida controversa* s cílem zjistit, jaký vliv bude mít vyloučení fylosférických hub z dekompozice na její další průběh. Hypotéza, že prudký hmotnostní úbytek opadu svídy souvisí s vysokou frekvencí fylosférických hub u této dřeviny, se nepotvrdila. Vyloučení fylosférických hub nemělo významný efekt na rychlost úbytku hmoty opadu a chemické změny v první fázi rozkladu. Rychlý rozklad opadu svídy v této fázi byl pravděpodobně dán fyzikálně - vyluhováním rozpustných látek, jejichž obsah v opadu je v případě svídy vysoký. Je ale možné, že sterilizované listy byly během expozice invadovány fylosférickými houbami hojně se vyskytujícími v okolním opadu a proto nebyl pozorován významný rozdíl v rychlosti dekompozice oproti nesterilizovaným listům.

Koide et al. (2005) ve své práci dokazují, že houby obývající živé listy mohou mít na následující dekompozici nezanedbatelný efekt. Endofytické houby z čeledi *Rhytismaceae* (*Coccomyces nipponicum* a *Lophodermium* sp.), které byly zodpovědné za částečnou delignifikaci v prvních měsících po opadu listů *Camellia japonica*, výrazně ovlivnily i rychlost následné dekompozice.

### **Dekompozice opadu**

Struktura houbových společenstev na substrátu se v průběhu času kvalitativně i kvantitativně mění. Tento jev je označován jako sukcese (Dix et Webster 1995). Jak probíhá dekompozice, mění se, především v závislosti na změnách chemického složení opadu, také dominanty společenstva hub podílejících se na jeho rozkladu (Kjølner et Struwe 1987). Postavení konkrétních druhů hub v sekvenční řadě sukcese (a tím i složení společenstva v určité fázi dekompozice) je dáno jejich nutričními požadavky, podmíněnými enzymatickou

výbavou daného druhu, a vzájemnými mezidruhovými interakcemi (Macauley et Thrower 1966).

Z hlediska chemických změn lze v průběhu dekompozice opadu rozlišit tři fáze. V první fázi dochází k rychlému poklesu obsahu látek rozpustných ve vodě. Ve druhé fázi je rozkládána holocelulóza. Její obsah klesá, což je spojeno s nárůstem koncentrace ligninu. V třetí fázi začíná podléhat rozkladu i lignin. Jeho koncentrace má tendenci zůstat stabilní (Tian 2000). Obdobné výsledky se objevují i v pracích Parfitt et Newman (2000), Osono et al. (2003a), Osono (2005).

Počáteční fáze, kdy jsou rozkládány rozpustné složky opadu, je charakteristická prudkým hmotnostním úbytkem. Ve fázi, kdy jsou rozkládány komplexní, nerozpustné molekuly, je dekompozice pomalejší.

Opačný výsledek přinesla studie dekompozice opadu v semiaridním lesnatém ekosystému Argentiny. Vlivem suchého období, které následuje po opadu listů, je první fáze rozkladu pomalá, zatímco hmotnostní úbytek ve fázi, kdy jsou metabolizovány nerozpustné složky opadu, byl rychlejší, protože spadl do klimaticky příznivější sezóny (Torres et al. 2005). Klimatické poměry tedy mohou obvyklý průběh rozkladu podstatně změnit. Ani co se týká sledu jednotlivých fází, nemusí být výše představené obecné schema dekompozice vždy přesně dodrženo. Koide et al. (2005) pozorovali velmi efektivní odbourávání ligninu už v počáteční fázi dekompozice.

### **Sukcese mikroskopických hub na rozkládajícím se opadu**

Jednou z prvních studií věnujících se sukcesi mikroskopických hub v průběhu dekompozice listového opadu je práce Heringa (1965), který se zaměřil na opad jasanu, břízy, lísky a dubu v chladné a vlhké oblasti Anglie. V období do 6 měsíců po opadu dominovaly *Aureobasidium pullulans*, *Phomopsis scobina*, *Phoma* sp., *Coleophoma rhododendri*, *Cladosporium herbarum*, *Epicoccum nigrum*, *Polyscytalum fecundissimum*. V období od 6 do 12 měsíců *Phoma* sp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp.. V období od 12 do 18 měsíců *Trichoderma viride*, *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *A. pullulans*. Od 18 do 24 měsíců *Trichoderma viride*, *Penicillium* spp.. Do doby jednoho roku hostil opad jednotlivých druhů stromů částečně odlišné společenstvo hub, po jednom roce rozkladu se mykobiota všech čtyř druhů opadu shodovala.

Další stěžejní studií sukcese hub na opadu v přirozeném lesním prostředí temperátního pásma je práce Hogg et Hudson (1966). Autoři sledovali po dobu 18 měsíců mikroskopické

houby na opadu *Fagus sylvatica*. Na čerstvém opadu dominovaly druhy *Discula quercina*, *Cladosporium herbarum*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata* a *Botrytis cinerea*. Tyto houby byly přítomné na listech již před opadem a vytrvaly v opadu přes zimu. Houby *Discosia artocreas*, *Gnomonia errabunda*, *Mollisia acerina*, *Mycosphaerella tassiana*, *M. punctiformis*, *Guignardia fagi* začaly sporulovat na podzim a vysokou frekvenci výskytu si udržely až do následujícího jara. Téměř rok po opadu se objevily *Polyscytalum fecundissimum*, *Spondylocladiopsis cupulicola*, *Microthyrium microscopicum*, *Mollisia* sp., *Lachnella villosa*, *Helotium caudarum*, *Endophragmia stemphylioides*, *E. catenulata*, *E. laxa*, *Pistillaria pusilla*, *Chalara cylindrosperma* a *Doratomyces stemonitis*.

Na opadu *Nothofagus truncata* na Novém Zélandu se nejprve s nejvyšší frekvencí vyskytovaly houby *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Aureobasidium pullulans*, *Stachylidium* sp. – tedy houby, které přetrvaly z živých listů, a později *Trichoderma hamatum*, *Discula microsperma*, *Penicillium spinulosum*, *P. thomii*, *Hansfordia ovalispora* a *Rhodesia subsecta*, *Stemphylium* sp., *Chaetomium globosum* a *Trichoderma viride* (Ruscoe 1971).

Kuter (1986) sledoval sukcesí hub na opadu *Acer saccharum*. Mezi ranými kolonizátory opadu převažovaly druhy *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides* a *Epicoccum nigrum*. V pozdějších fázích dominovaly mykobiotě opadu zástupci řádu Mucorales a rodů *Penicillium*, *Trichoderma* a *Verticillium*.

Kjøller et Struwe (1987) se zabývali mikroskopickými houbami rozkládajícími opad *Fraxinus excelsior* v přírodní rezervaci ostrova North Zeland v Dánsku. V období do 4 měsíců po opadu byly nejhojněji izolovány druhy *Phomopsis scobina*, *Phoma* sp. 1, *Acremonium* sp. V průběhu dekompozice je v dominantní pozici vystřídali *Epicoccum nigrum*, *Phoma* sp. 2 a šedá sterilní mycelia a ještě později *Cylindrocarpon* sp., černá a hyalinní sterilní mycelia a houby z řádu Sphaeropsidales.

V čerstvém opadu *Eucalyptus regnans* v Austrálii byly opět přítomny jednak houby, které invadovaly listy už na stromě: *Protostegia eucalypti*, *Cladosporium herbarum*, *Readeriella mirabilis*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum* (z těchto hub přetrvaly v opadu víc než 3 měsíce pouze *A. alternata* a *C. herbarum*), jednak sekundární saprotrofové. Mezi nimi byly nejhojnější deuteromycety *Piggotia substellata*, *Ceuthospora innumera*, *Sclerotiopsis australasica*, *Hormiscium pinophilum*, *Trichoderma viride*, *Cladosporium herbarum*, *Idriella* sp. V pokročilejší fázi rozkladu převažovali zástupci rodu *Penicillium*, z nichž nejhojnější byly druhy *P. lapidosum*, *P. frequentans*, *P. implicatum* (celkem bylo

izolováno 20 druhů) a zástupci řádu Mucorales - *Mucor ramannianus*, *M. genevensis*, *M. hiemalis* (Macaulay et Thrower 1966).

Na čerstvém opadu *Chamaecyparis obtusa* v oblasti s mírným, vlhkým klimatem v Japonsku dominovaly druhy rodů *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis* a *Penicillium*. Rovněž hojně byly i druhy rodů *Mortierella*, *Gliocladium*, *Phoma* a *Acremonium*. Všechny tyto houby byly izolovány i v pozdějších fázích rozkladu. Frekvence výskytu rodu *Penicillium* a *Mortierella* byla výrazně vyšší v rozkládajících se listech než v čerstvém opadu, zatímco u ostatních rodů buď poklesla (*Cladosporium*, *Pestalotiopsis*) nebo se významně nezměnila. Rody *Epicoccum*, *Nigrospora* a *Paecilomyces* byly izolovány pouze z čerstvého opadu. Naopak pouze z rozkládajícího se opadu byly izolovány rody *Mucor*, *Fusarium*, *Arthrimum*, *Verticillium*, *Phomopsis*, *Phialophora*, *Oidiodendron* a *Aspergillus* (Osono et al. 2003a).

Nejhojnějšími houbami v počáteční fázi dekompozice opadu *Camellia japonica* byly *Pestalotiopsis guelpini* a jeden neurčený coelomycet. Jejich frekvence v průběhu rozkladu klesala. Později (tj. v období od 6 do 9 měsíců po opadu) dominovala *Nigrospora* (příslušející k teleomorfe *Khuskia oryzae*) a *Geniculosporium* sp.1. Frekvence výskytu tohoto druhu v průběhu dekompozice narůstala. Pozdními kolonizátory (v období 9 - 18 měsíců) byly *Xylaria* sp., *Eupenicillium* sp., *Geniculosporium* sp. 2 (Koide et al. 2005).

Jako rané kolonisty opadu *Swida controversa* v Japonsku označuje Osono (2005) houby *Phoma* sp. 1, *Cladosporium cladosporioides* a *Pestalotiopsis* sp. 2. Frekvence jejich výskytu byla v počáteční fázi vysoká a v průběhu rozkladu klesala. Pozdějšími kolonisty byly druhy *Arthrimum* sp., *Geniculosporium* sp. 1, *Trichoderma viride*, *T. hamatum*, *Mucor hiemalis*, *T. koningii*, *Clonostachys rosea*, *Umbelopsis ramanniana*, *T. polysporum*, *U. isabellina*, *Mortierella elongata* a *Absidia glauca*. Frekvence výskytu těchto hub buď dosáhla maxima v období mezi 5 a 12 měsíci od opadu a následně klesala nebo narůstala po celou sledovanou dobu dekompozice.

## Shrnutí

Navzdory dílčím odlišnostem vykazují výsledky jednotlivých prací společné základní rysy. Je patrné, že sukcese mikroskopických hub na opadu probíhá podle určitého obecného schématu.

Listy jsou nejprve kolonizovány ještě živé na stromech různými parazity a primárními saprotrofy. Nejčastějšími primárně saprotrofními rody jsou *Alternaria*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Phoma* a *Pestalotiopsis*. Mnohé z hub, které živé listy

obývají, na nich přetrvávají i po opadu a dále se rozvíjejí spolu s novými kolonizátory z opadové vrstvy - sekundárními saprotrofy. V prostudovaných pracech to byly nejčastěji houby rodů *Phomopsis*, *Coelophoma*, *Acremonium*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Geniculosporium* a *Arthrinium*. Tito raní kolonizátoři postupně mizí a jsou nahrazováni jinými. V závěrečných fázích rozkladu dominují mykobiotě opadu stále víc typické půdní houby, zejména *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Mortierella* a houby z řádu Mucorales.

### 3.2 Faktory ovlivňující průběh dekompozice

Průběh dekompozice je ovlivňován mnoha různými faktory. Děje se tak skrze působení na společenstva rozkladačů. Tyto faktory určují, jaké druhy a s jakou frekvencí se budou na substrátu vyskytovat, ovlivňují jejich aktivitu a vzájemné interakce. Tak určují strukturu společenstva a celkovou efektivitu dekompozice.

Souvislost abundance saprotrofů na substrátu s rychlostí dekompozice dokládají např. práce autorů Witkamp (1963), Daubenmire et Prusso (1963), Koide et Shumway (2000), Salamanca et al. (2003), Albers et al. (2004) nebo Setälä et McLean (2004).

Změnu v rychlosti dekompozice jako důsledek odlišné struktury mikrobiálního společenstva na substrátu uvádějí Witkamp (1963), Daubenmire et Prusso (1963), Tribe (1966) nebo Šimonovičová (1986). Toberman et al. (2008) podobně zaznamenali souvislost poklesu fenol oxidázové aktivity se změnou struktury společenstva hub.

Z práce Hopkins et al. (1990) vyplývá, že vnější faktory působí změny v rychlosti dekompozice jak ovlivněním struktury společenstva tak ovlivněním dekompoziční aktivity společenstva daného složení.

Faktory, které ovlivňují rozvoj společenstev hub podílejících se na rozkladu opadu lze rozdělit do dvou kategorií:

1. fyzikálně-chemické vlastnosti substrátu
2. podmínky vnějšího prostředí.

Různé faktory jsou ve svém působení vzájemně provázány a hodnotit jejich vlivy jednotlivě je proto obtížné. Účinek jednoho faktoru navíc často závisí na celé řadě dalších podmínek.



### 3.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti substrátu

Rozdíly v rychlosti rozkladu různých druhů opadu pozorovala řada autorů. Jednou z příčin jsou odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti substrátu. Mezi hlavní charakteristiky opadu, ke kterým jsou rozdíly v rychlosti dekompozice vztahovány, patří obsah rozpustných látek, celkový obsah uhlíku a dusíku, poměr uhlíku a dusíku, obsah některých dalších živin, zejména fosforu, draslíku a vápníku, a poměrné zastoupení ligninu a celulózy. Chemické složení opadu ovlivňuje dekompozici skrze nutriční hodnotu pro saprotrofy a možnost hydrolyzy nerozpustných složek mikrobiálními enzymy (Koide et Shumway 2000).

Witkamp (1963) provedl kvantitativní studii mikroflóry na opadu pěti druhů stromů. Opad se rozkládal na různých stanovištích a v různých nadmořských výškách. Hlavní vliv na složení mikroflóry měl však právě charakter substrátu.

McClaugherty et al. (1985) sledoval dekompozici opadu druhů *Acer saccharum*, *Quercus alba*, *Populus grandidentata*, *Pinus strobus* a *Tsuga canadensis*. Chemické složení opadu ovlivnilo nejen rychlost ale i charakteristický vzorec průběhu dekompozice daného opadu. V raných fázích rozkladu určoval hmotnostní úbytky obsah rozpustných složek. Nerozpustné složky regulují rozklad v pozdních fázích.

Rovněž autoři Osono et Takeda (2005), kteří studovali dekompozici opadu 14 druhů dřevin, uvádějí, že v počáteční fázi se rychleji rozkládá opad s vyšším obsahem rozpustných složek a v pozdní fázi je rozklad opadu potlačován více u druhů s vyšším obsahem ligninu. Dále zjistili, že zatímco v počátečních fázích dekompozice se rychleji rozkládal opad s vyšší koncentrací dusíku, v pozdních fázích byl rozklad opadu s vyšší koncentrací dusíku pomalejší.

Negativní vliv koncentrace dusíku na dekompozici opadu v pokročilé fázi rozkladu dokládají i Berg et Meentemeyer (2002). Zatímco v raných fázích dusík podporuje mikrobiální hydrolyzu uhlovodíků a tím pozitivně ovlivňuje rychlost dekompozice, v pozdních fázích, kdy je dekompozice opadu determinována rychlostí degradace ligninu, má koncentrace dusíku negativní efekt, protože omezuje tvorbu mikrobiálních ligninolytických enzymů.

Osono et Takeda (2001) pozorovali, že zástupci rodu *Xylaria* rozkládali lignin i celulózu rychleji u opadu s vyšším poměrným zastoupením celulózy vůči ligninu. I výsledky pozdější studie týchž autorů (Osono et Takeda 2005) dokládají vliv poměrného zastoupení ligninu a celulózy v opadu na rychlost dekompozice. U opadu s větším poměrem celulózy ku ligninu byl rozklad rychlejší. Těsná vazba ligninu k polysacharidům buněčné stěny působí jako

fyzikální bariéra mikrobiálního rozkladu i těchto složek a zpomaluje jejich dekompozici (Osono 2007). V opadu s vyšším lignocelulózovým indexem, kde je množství celulózy vázané k ligninu relativně nízké a množství nelignifikované celulózy, která je pro mikrobiální hydrolyzu přístupnější, relativně vysoké, probíhá rozklad rychleji. Koide et al. (2005) sledovali vliv selektivní delignifikace určitých částí listů v důsledku jejich prekolonizace ligninolytickými houbami (z čeledi *Rhytismataceae*) na průběh další dekompozice jednotlivých složek opadu. Rychlost dekompozice celulózy v částečně delignifikovaných oblastech listů probíhala rychleji. Fioretto et al. (2005), kteří pozorovali průběh odbourávání ligninu a celulózy v opadu druhů *Cistus incanus*, *Myrtus communis* a *Quercus ilex*, zjistili, že rozklad celulózy u druhu *Cistus incanus*, který je charakteristický vysokým obsahem ligninu, začal až rok po expozici, zatímco u druhů *Myrtus communis* a *Quercus ilex*, kde je obsah ligninu výrazně nižší, byla dekompozice celulózy pozorovatelná ihned po započetí experimentu. Rychlejší rozklad celulózy v počáteční fázi dekompozice u březového opadu s nižším obsahem ligninu oproti opadu jedle s vyšším obsahem ligninu pozorovali také Tian et al. (2000).

Daubenmire et Prusso (1963) sledovali v laboratorních podmínkách rozklad celkem 13 druhů opadu. Jednalo se o opad břízy, topolu a 11 druhů jehličnanů. Nejrychleji se sice rozkládaly listy břízy a topolu, které oproti ostatním druhům obsahují více draslíku, obvykle méně fosforu, méně ligninu a téměř vždy méně frakcí rozpustných v etheru, ovšem v rámci opadu jehličnanů neměly tyto charakteristiky žádný vztah k odlišnostem v čisté dekompozici. Jako možné příčiny absence konzistentní korelace mezi rychlostí dekompozice a chemickými vlastnostmi opadu uvádějí autoři přítomnost toxických složek nebo důležitých živin, jejichž stanovování není v konvenčních analýzách zahrnuto. Toxické látky v rostlinných pletivech mohou ovlivnit kompetici mezi saprotrofy a tím i výslednou efektivitu rozkladu. Vliv může mít i anatomická struktura pletiv, která může usnadňovat nebo naopak zabraňovat expanzi mikrobiálních společenstev.

### **3.2.2 Podmínky vnějšího prostředí**

#### **Vliv klimatických faktorů**

Klimatické poměry významně ovlivňují dekompoziční aktivitu mikroskopických hub. Působí především prostřednictvím teploty a srážek. Význam vlivu klimatických faktorů na rychlost dekompozice dokládají Torres et al. (2005): V důsledku suchého a chladného

klimatu, které charakterizuje období po opadu listů ve sledovaných oblastech v Argentině, je dekompozice pomalejší v rané fázi, kdy jsou rozkládány rozpustné látky. V pozdější fázi, kdy jsou metabolizovány obtížně rozkladatelné složky opadu, ale klimatické poměry jsou díky vyšším srážkám a vyšším teplotám příznivější, byl rozklad rychlejší.

Osono et al. (2003), který se zabýval mikroskopickými houbami v dekompozici opadu *Chamaecyparis obtusa*, uvádí, že růst hyf na substrátu byl vysoce závislý na vlhkostních podmínkách. Teprve při splnění vlhkostních požadavků byl růst hyf regulován dostupností rozpustných uhlovodíků v opadu. Vodní potenciál ovlivňuje klíčení, růst i sporulaci hub (Dix et Webster 1995) a je proto určujícím faktorem pro rozšíření a četnost jejich populací (Domsch et al. 1980). Většině mikroorganismů nejlépe vyhovuje stav, kdy je půda nasycena vodou z 60-70 % své maximální kapacity (Szegi 1988).

Strukturu společenstva mikroskopických hub na opadu a jeho dekompoziční aktivitu neovlivňuje pouze aktuální hladina vlhkosti. Důležitý vliv mají také fluktuační vlhkosti v čase (Clein et Schimel 1994, Schimel et al. 1999) a to i takové, při kterých nedochází k drastickému vysušení substrátu (McLean et Huhta 2000).

Význam srážek pro dekompozici však nespočívá pouze v ovlivnění vlhkostních podmínek v půdě a opadu. Srážky ovlivňují hmotnostní úbytky opadu také přímo - tím, že umožňují vyluhování. Absence srážek proto poznamenává proces rozkladu i v případě, že je půdní vlhkost zachována. Salamanca et al. (2003) zjistily o 19 – 26 % nižší hmotnostní úbytek u zakrytého opadu než u opadu volného.

Také teploty podstatně ovlivňují kompetitivní interakce mezi druhy hub (Widden 1984, Carreiro et Koske 1992), což může změnit efektivitu využívání substrátu na úrovni celého společenstva.

Vlivem teploty na rozklad celulózy v půdě se zabývala Bönischová-Franklová (1975). Průběh dekompozice sledovala při teplotách 8, 28, 35, 42 a 55°C. Nejrychleji probíhal rozklad při teplotě 35°C, velmi rychlý byl i při 28°C. Extrémní teploty nebyly pro dekompozici příznivé.

Šimonovičová (1987) sledovala po 2 roky rozklad celulózy v půdních vzorcích z oblasti Malých Karpat. Dekompozice probíhala ve všech vzorcích intenzivněji v tom roce, který se vyznačoval o 2° vyšší průměrnou teplotou.

Daubenmire et Prusso (1963) studovali dekompozici 13 druhů opadu při teplotách 10 a 25°C. U některých druhů opadu neměla teplota na dekompozici vliv, u některých byla při

vyšších teplotách rychlejší a u dalších pomalejší. To, že je rychlost rozkladu ovlivněna teplotou tak nepředvídatelným způsobem, je dáno, tím, že reflektuje nikoli pouze teplotu, ale souhru vlivu složení substrátu a teploty. Mykobiota jednotlivých druhů opadu byla pravděpodobně rozdílná a teplotní požadavky různých druhů hub dokonce i v rámci jednoho rodu, mohou být značně odlišné (Szegi 1988). Také autoři Thormann et al. (2004a) zaznamenali interakci vlivu teploty a druhu opadu na rychlost jeho dekompozice mikroorganismy.

Vlivy teploty a vlhkosti jsou vzájemně provázány a je obtížné je hodnotit jednotlivě. Relativní význam těchto klimatických faktorů vzhledem k dekompozici se liší v různých prostředích a sezónách. Sjögersten et Wookey (2004) uvádějí, že zatímco v prostředí lesotundry vysvětlovala povrchová teplota 58 % variability v rychlosti dekompozice, v bezlesém prostředí tundry byla důležitějším faktorem vlhkost. Vliv teploty je dominantní v prostředí, kde je zajištěna dostatečná vlhkost substrátu, vliv vlhkosti je zřejmý, když se vlhkostní podmínky stanou kritickými (Witkamp 1963).

Klimatické faktory mohou ovlivnit fyzikálně-chemické charakteristiky opadu a tím působit na rychlost dekompozice nepřímo. Berg et Meentenmeyer (2002) shrnují výsledky 106 prací zabývajících se dohromady studiem 21 druhů opadu a uvádějí, že opad stromů rostoucích v teplejším a vlhčím klimatu obsahuje vyšší koncentrace dusíku než opad stromů rostoucích v chladnějším a sušším klimatu. Zvýšený obsah dusíku v opadu je příčinou pomalejšího rozkladu v pozdních fázích. Takže zatímco je zpočátku rychlost dekompozice ovlivňována klimatem spíše přímo, později převažuje nepřímý vliv.

Celkový charakter klimatu podmiňuje také případné rozvinutí mikroklimatických gradientů (McClellan et al. 1990).

### **Mikroklima a vegetace na stanovišti**

Mikroklimatické podmínky jsou významně ovlivňovány charakterem vegetace přítomné na stanovišti. Proto také existuje vztah mezi vegetačním pokryvem na stanovišti a rychlostí dekompozice. Stejný opad je rozkládán rychleji na stanovištích s porostem dřevin než na stanovišti s pouze bylinnou vegetací (Sjögersten et Wookey 2004). Dekompozice také probíhá rychleji na stanovištích s porostem dřevin s vyšší průměrnou výškou a objemem kmenů (Kurka et Starr 1997), čemuž zřejmě odpovídá i výsledek práce Albers et al. (2004), že rychleji se rozkládá opad na stanovištích s porostem dřevin vyššího stáří.

Kurka et Starr (2001) uvádějí, že dekompozice korelovala silněji a konzistentněji s charakterem vegetace na stanovišti (průměrnou výškou a objemem kmenů) než s vlastnostmi humusové vrstvy.

Odlíšné mikroklimatické podmínky byly pravděpodobně také příčinou rozdílů v rychlosti dekompozice, které pozorovala Spěváková (1996), když porovnávala studijní plochy v odlišné fázi sukcese vegetace. Nejpomalejší byl rozklad na ploše téměř bez vegetace, nejrychlejší na ploše v nejpokročilejší fázi sukcese, kde byly kromě mechorostů a travin přítomny i mladé dřeviny.

Další charakteristikou vegetace na stanovišti, která má vztah k rychlosti dekompozice opadu, je druhové složení porostu. Vyplyvá to např. z prací Witkamp (1963), McClaugherty et al. (1985), Albers et al. (2004). Spíše než ovlivňováním mikroklimatických poměrů však působí druhové složení vegetace na rychlost dekompozice skrze utváření půdních podmínek na stanovišti (acidita, půdní struktura, forma humusu, přítomnost mikrobiálních inhibitorů či stimulantů). Řezáčová et al. (2005) nebo DeBellis et al. (2007) dokládají vliv druhového složení rostlinného pokryvu na strukturu společenstva mikroskopických hub v půdě.

### **Vlastnosti půdního prostředí**

Autoři Kurka et al. (2001) našli pozitivní korelaci rychlosti dekompozice celulózy s poměrem C: N a koncentrací manganu v půdě. Naopak negativně korelovala rychlost rozkladu s pH, efektivní iontovou výměnnou kapacitou půdy a koncentrací fosforu.

Koide et Shumway (2000) uvedli, že dekompozice probíhala nejpomaleji v půdním prostředí s nejnižším obsahem fosforu a nejvyšší aciditou.

Šimonovičová (1987) sledovala celulolytickou aktivitu mikroskopických půdních hub v některých lesních půdách. Nejrychleji rozklad probíhal ve vzorcích, které byly charakterizovány hodnotami pH blízkými neutrálním, nižším poměrem C: N, vyšším procentuálním obsahem humusu, vyšším obsahem CaCO<sub>3</sub>. V jiné své práci (Šimonovičová 1986) uvádí, že izolovala vyšší počet mikroskopických hub i vyšší počet rodů ze vzorku půdy s mírně vyšším procentuálním obsahem humusu, s vyšším procentuálním zastoupením uhlíku a dusíku a s nižším poměrem C: N. Hodnota pH obou půdních vzorků se shodovala.

Kovářová et Frantík (2004) sledovali rychlost rozkladu opadu na různých půdních substrátech charakterizovaných obsahem celkového dusíku a uhlíku, dostupného fosforu a hodnotou pH. Rychleji se všechny sledované druhy opadu (bříza, osika, třtina) rozkládaly na substrátu s vyšším obsahem N, C a P a s hodnotami pH blízkými neutrálním.

Hopkins et al. (1990) studoval dekompozici celulózy a rostlinného opadu ve dvou půdách s odlišným typem humusu. Rozklad celulózy probíhal výrazně rychleji v mulu (pH 5,3) než v moru (pH 4,3).

Odišné typy humusu se liší i dostupností živin. Osono et Takeda (2005), kteří zaznamenali v mulu rychlejší dekompozici než v moderu, připisují tento jev vyšší dostupnosti dusíku a fosforu v mulu oproti moderu. Dostupnost živin patří k hlavním půdním parametrům, které ovlivňují dekompozici listového opadu. Zejména množství dostupného dusíku je často faktorem, který určuje průběh dekompozice. Limituje rychlost dekompozice i stupeň, do kterého mikroorganismy opad rozloží. Dodání dusíku do půdy stimuluje dekompozici celulózy a potlačuje rozklad ligninu (Bönischová-Franklová 1975, Osono et Takeda 2001).

### **3.3 Mikroskopické houby a dekompozice opadu na antropogenních stanovištích**

První systematické studie saprotrofních hub podílejících se na dekompozici rostlinného opadu pocházejí z 50. - 60. let minulého století (Saitô 1956, Kendrick et Burges 1962, Hudson 1962, Hering 1965, Hogg and Hudson 1966, Macauley et Thrower 1966). Od té doby byla publikována řada prací zabývajících se mikroskopickými houbami na opadu, jejich úlohou při rozkladu i procesem dekompozice jako takovým. Drtivá většina těchto prací se vztahuje k prostředí a substrátům přirozeného temperátního lesa (např. Frankland 1966, Hudson 1968, Kuter 1986, Visser et Parkinson 1975, Kjøller et Struwe 1987, McLean et Huhta 2000, Osono et Takeda 2002, Osono 2003a, Osono 2003b, Osono 2005, Dinishi Jayasinghe et Parkinson 2008, Przybyl et al. 2008, Kubartová et al. 2009). Teprve v posledních letech se větší pozornost přesouvá k odlišným ekosystémům, převážně tropickým a subtropickým (např. Parungao et al. 2002, Paulus et Hyde 2003, Promputtha et al. 2004, Tang et al. 2005, Paulus et al. 2006, Duong et al. 2008, Kodsueb et al. 2008, Shirouzu et al. 2009).

Stanoviště člověkem vytvořená nebo činností člověka podstatně ovlivněná představují i v rámci mírné klimatické oblasti dosud jen velmi málo prozkoumané ekosystémy. Charakter takových stanovišť a podmínky, které zde působí, mohou být ve srovnání s přirozenými ekosystémy dané klimatické zóny značně odlišné. Mezi velmi specifické antropogenní biotopy se řadí i ty charakterizované výskytem biologické půdní krusty. K rozvoji biologických půdních krust dochází v prostředí opuštěných odkališť či jiných lokalit, kde

silné antropogenní stresy umožňují jen omezenou kolonizaci cévnatými rostlinami. Biologické půdní krusty jsou až několik cm silné povrchové krusty tvořené částicemi půdy, živými organismy (sinice, řasy, houby, lišejníky a mechorosty) a vedlejšími produkty jejich metabolismu (Johnston 1997). Přirozeně se tyto útvary ve větším rozsahu vyskytují hlavně v aridních a semiaridních oblastech.

Antropogenní stanoviště s charakteristickým výskytem biologické půdní krusty v sobě většinou spojují celou řadu závažných stresových faktorů a představují tak obecně velmi extrémní prostředí pro život.

### **3.3.1 Stresové faktory v prostředí antropogenních stanovišť s biologickou půdní krustou**

Hlavní stresové faktory, které v prostředí antropogenních stanovišť s výskytem biologické půdní krusty vzhledem k dekompozici působí, lze rozdělit do dvou kategorií:

1. nepříznivé fyzikálně chemické parametry půdního substrátu (jako důsledek kontaminace různými toxickými látkami)
2. nepříznivé hydrologické poměry a obtížné mikroklimatické podmínky (související s absencí zapojené vegetace cévnatých rostlin)

Význam vlhkosti, teplot a charakteru vegetace na stanovišti pro dekompozici opadu mikroskopickými houbami byl zohledněn v předchozí kapitole. Následující část je proto zaměřena pouze na vlivy související s fyzikálně-chemickou kvalitou půdního prostředí. Pozornost je věnována třem nejčastějším nepříznivým vlivům, které v prostředí antropogenních stanovišť tohoto typu působí – zvýšeným koncentracím těžkých kovů, salinitě a nízkým hodnotám pH.

#### **Kontaminace těžkými kovy**

##### **Toxicita těžkých kovů**

Kontaminace půdního substrátu vysokými koncentracemi těžkých kovů je často dominantním stresovým faktorem, který v prostředí nejrůznějších antropogenních stanovišť vzhledem k dekompozici působí. Nejčastější bývá kontaminace mědí, olovem, zinkem, niklem a kadmíem.

Mnohé těžké kovy včetně Cu, Zn, Fe, Mn jsou jako součást enzymů nebo jako jejich aktivátory pro růst hub esenciální. Požadované i tolerované koncentrace jednotlivých kovů jsou u různých druhů hub odlišné (Barnett et Lilly 1966).

Naopak toxické mohou být všechny prvky, pokud jsou dodávány ve vysokých koncentracích. Některé ovšem (např. Hg nebo Cu) jsou toxické již v relativně nízkých koncentracích. Fyziologická toxicita kovů klesá podle Horsfälla (1936) v řadě: Ag – Hg – Cu – Cd – Cr – Ni – Pb – Co – Zn – Fe – Ca. Princip toxicity těžkých kovů spočívá v jejich silných vazebných schopnostech. Těžké kovy mohou blokovat funkční skupiny biologicky významných molekul, nahrazovat nezbytné ionty v těchto molekulách, působit změny konformace enzymů, jejich denaturaci a inaktivaci nebo poškozovat buněčné membrány (Ross 1975, Gadd 1993). Vzhledem k tomu, jak široké je spektrum potenciálně toxických interakcí mezi kovy a houbami, je zřejmé, že těžké kovy mohou ovlivnit téměř každý aspekt metabolismu hub, jejich růstu a diferenciaci.

Koncentrace, při které se kov stává toxickým, je ovlivněna mnoha faktory. Např. koncentrace jiných iontů, přítomnost organických látek schopných tvořit cheláty nebo hodnota pH prostředí významně ovlivňují chemickou aktivitu kovů (Haanstra et Doelman 1984, Dumestre et al. 1999, Prokop et al. 2001). Jejich dostupnost v půdě a následně i koncentrace v rostlinných pletivech se může měnit také v závislosti na klimatických podmínkách (Siman et al. 1974, Kozlov 2005).

### **Těžké kovy a mikroskopické houby**

Nejvíce autorů se zabývalo vlivem těžkých kovů na mikroskopické houby v půdě. Nordgren et al. (1983) měřili půdní respiraci a sledovali biomasu půdních hub podél strmého gradientu koncentrace Cu a Zn. Maximální koncentrace dosahovaly 20 000 µg/g suché půdy. Biomasa hub a půdní respirace klesly podél gradientu až o 75 %. Negativní vliv byl zřejmý od koncentrace mědi 1000 µg/g. O rok později provedli titíž autoři (Nordgren et al. 1984) na stejném místě průzkum druhového složení společenstva mikroskopických hub. Kontaminace těžkými kovy měla na zastoupení druhů půdních hub silný vliv. V blízkosti zdroje kontaminace měly druhy *Penicillium spinulosum*, *P. montanense*, *P. brevicompactum*, *Oidiodendron* cf. *tenuissimum*, *O.* cf. *echinulatum* a *O. maius*, které byly běžné v půdě nezasazeného jehličnatého lesa, nižší frekvenci izolace. Naopak jiné méně časté houby byly izolovány s větší frekvencí - např. *Paecilomyces farinosus*, *Geomyces pannorum*, *Chalara constricta*, *C. longipes* a sterilní formy. Zástupci rodu *Mortierella* nebyly přítomností těžkých kovů příliš ovlivněny. Ukázalo se, že druhové složení společenstva hub reagovalo na znečištění kovy citlivěji než biomasa a půdní respirace. Ke změnám v zastoupení druhů docházelo již při koncentracích nižších než 1000 µg Cu na g suché půdy, zatímco vliv



takových dávek na půdní respiraci a biomasu hub nebyl patrný. S rostoucí koncentrací Cu a Zn pozoroval Tyler (1974) také pokles aktivity hydrolytických enzymů.

Williams et Pugh (1975) izolovali z půdy znečištěné těžkými kovy ve srovnání s kontrolním místem se zvýšenou frekvencí houby *Trichocladium asperum*, *Trichoderma hamatum*, *Zygorrhynchus moelleri* a *Chrysosporium pannorum*. Frekvence izolace hub rodů *Chaetomium*, *Fusarium*, *Penicillium* a *Paecilomyces* byla naopak značně snížena.

Frey et al. (2006) rovněž konstatovali, že přítomnost těžkých kovů způsobila změny ve struktuře mikrobiálního společenstva. Zaznamenali i redukci mikrobiální aktivity v půdě (vyjádřené pomocí respirace a enzymatické aktivity).

Cotrufo et al. (1995) uvádějí, že půdní respirace a četnost mycelia negativně korelovaly s koncentrací Pb, Zn a Cr v půdě.

Snížení četnosti hub v půdě znečištěné kovy As, Cu, Pb, Zn a Cd zaznamenali Babich et Stotzky (1985). Ramsey et al. (2005) pozorovali v souvislosti se zvýšenými koncentracemi těchto kovů snížení půdní respirace.

Rühling et Tyler (1973) zkoumali biologickou aktivitu půd s gradientem koncentrace Cu, Zn, Cd a Ni. Vývoj CO<sub>2</sub> i dehydrogenázová aktivita negativně korelovaly s koncentrací kovů. Při vysokých koncentracích těžkých kovů byla biologická aktivita citlivější i k půdní vlhkosti.

Z kontaminované půdy v blízkosti hutí zpracovávajících Ni a Cu izolovali Freedman et Hutchinson (1980) méně kolonií hub než z kontrolních míst. Nejvyšší koncentrace kovů tolerovaly rody *Penicillium* (nejhojnějším druhem z kontaminovaných půd bylo *Penicillium waksmanii*), *Trichoderma*, *Rhodotorula*, *Oidiodendron*, *Mortierella* a *Mucor*.

Překvapivě vysoký počet, celkem 50 rodů, mikroskopických půdních hub bylo izolováno z půdy bývalého odkaliště kontaminované vysokým obsahem Mn, Zn, Fe a Al. Většina hub byla izolována s nízkou frekvencí. Nejhojnější byly druhy *Penicillium janthinellum*, *P. simplicissimum*, *Cunninghamella elegans*, *Paecilomyces lilacinus*, *Mucor hiemalis*, *Trichoderma* spp., *Coniothyrium fuckelii*, *Mortierella alpina*, *Coemansia aciculifera* a *Trichoderma virens* (Kubátová et al. 2002).

### **Přítomnost těžkých kovů v půdě a dekompozice opadu**

Důsledkem redukované aktivity mikroskopických hub (spojené s úbytkem biomasy a změnami v druhovém složení společenstva) v kontaminovaných oblastech je i omezení dekompozice opadu. Nižší rychlost dekompozice jako důsledek kontaminace půdy těžkými kovy uvádějí např. Freedman et Hutchinson (1980) pro Ni a Cu a Williams et al. (1977) pro

Pb a Zn. McEnroe et Helmisaari (2001) pozorovali zvýšenou akumulaci opadu v prostředí znečištěném Cu, Ni, Cd, Pb, Fe a Zn. Navíc zjistili, že byl gradient koncentrace těžkých kovů provázen opačným gradientem v obsahu iontů Ca, Mg a K, což potvrzují i Ruhling et Tyler (1973). Nahrazení iontů živin na jejich výměnných místech ionty těžkých kovů je možným mechanismem, kterým těžké kovy na mikroskopické houby působí.

Jednoznačné vyznění zmíněných prací, zabývajících se vztahem dekompozice a těžkých kovů v půdě, narušují výsledky práce Johnson et Hale (2004). Autoři studovali dekompozici opadu břízy na kontaminovaných a nekontaminovaných místech nacházejících se podél gradientu v půdním obsahu Cu, Ni, Pb a Zn v blízkosti Sudbury v Ontariu a v Rouyn-Noranda v Quebecu. Na kontaminovaném místě v Sudbury byly hmotnostní úbytky opadu nižší než na kontrolním nekontaminovaném místě. To ovšem neplatilo pro oblast v Rouyn-Noranda navzdory podobné míře kontaminace půdy. Možným vysvětlením je, že, ačkoli analýzy půdy v obou oblastech prokázaly srovnatelné koncentrace kovů, biologická dostupnost kovů se v důsledku působení dalších faktorů vnějšího prostředí lišila. Svou roli, jak už bylo řečeno, mohou sehrát různé půdní vlastnosti nebo i klimatické poměry.

### **Těžké kovy vázané v opadu a dekompozice**

Zatímco o vlivu koncentrace těžkých kovů v půdě na rychlost dekompozice panuje převážně mezi výsledky různých autorů shoda, vztah rychlosti dekompozice k obsahu kovů v samotném opadu je problematictější. Sníženou rychlost dekompozice do souvislosti s obsahem těžkých kovů uvádějí např. Williams et al. (1977), Coughtrey et al. (1979) a Cotrufo et al. (1995). Také Kiikkila (2003) označuje vliv koncentrace těžkých kovů v pletivech opadu jako pravděpodobný mechanismus, kterým kontaminace půdy působí na rychlost dekompozice. Freedman et Hutchinson (1980) a Johnson et Hale (2004) však provedli pokus, při kterém sledovali rozklad kontaminovaného i nekontaminovaného opadu jak na kontaminovaném tak na kontrolním místě, a dospěli k závěru, že chemická kvalita opadu neměla na rychlost dekompozice vliv. Ani Bewley (1980) nezaznamenal, že by obsah těžkých kovů (Zn, Pb, Cd) v živých listech dubu negativně ovlivnil společenstvo mikroskopických hub fyloplánu. Oproti tomu Lappalainen et al. (1999) uvádí, že zvýšené koncentrace těžkých kovů (Cu a Ni) v listech ovlivnily kvantitativní i kvalitativní složení společenstva mikroskopických hub, které je obývaly. Listy však byly zároveň vystaveny i zvýšené hladině SO<sub>2</sub> v atmosféře a skutečný vliv těžkých kovů není proto zřejmý. Selektivní toxicitu SO<sub>2</sub> k mikroskopickým houbám potvrzuje např. práce Newsham et al. (1992).

Negativní korelace mezi koncentrací kovů v opadu a rychlostí dekompozice, kterou někteří výše zmínění autoři pozorovali, nemusí znamenat, že je mezi oběma jevy příčinná souvislost. Koncentrace kovů v pletivech pouze odráží koncentraci kovů v půdě (Rühling et Tyler 1973). Vliv koncentrace těžkých kovů v opadu na společenstvo mikroskopických hub, které jej obývají, a na rychlost dekompozice nebyl v prostudovaných pracích dostatečně prokázán.

### **Vliv salinity**

Přítomnost solí podstatně ovlivňuje dekompoziční aktivitu mikroskopických hub. Některé ionty mají přímý toxický vliv, jiné působí na biologické procesy nepřímo, tím, že mění půdní fyzikální a chemické vlastnosti (Szegi 1988).

Laura (1974) uvádí, že vývoj oxidu uhličitého i celková mineralizace uhlíku klesala se vzrůstající koncentrací směsi solí NaCl a CaCl<sub>2</sub> (od 0,1 do 5,1 %) v půdě.

Malik et al. (1979) sledovali vliv salinity na celulolytické houby *Alternaria alternata*, *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata* a *Drechslera australiensis*. Do vzorků půdy bylo přidáno různé množství směsi solí Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> a NaCl. Narůstající salinita měla inhibiční efekt na mikrobiální aktivitu půdy, na celulázovou aktivitu a humifikaci rostlinných zbytků. Mezi testovanými druhy vykazoval nejvyšší toleranci vůči půdní salinitě a nejvyšší celulázovou aktivitu druh *Chaetomium globosum*.

Badran (1994) vyzkoušel celulolytickou aktivitu v závislosti na koncentraci solí u hub *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Chaetomium globosum* a *Penicillium chrysogenum*, které byly dříve izolovány z půd s vysokou salinitou. Vzrůstající koncentrace směsi solí Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> a NaCl inhibovala vývoj CO<sub>2</sub> a celulázovou aktivitu. Míra vlivu solí se lišila u různých hub. Nejvyšší aktivitu při zvýšených koncentracích solí vykazovali *A. flavus* a *C. globosum*.

Různé druhy mikroskopických hub tedy reagují na vysokou koncentraci solí různě. Halotolerance pak závisí i na dalších faktorech např. pH a teplotě. Podstatný je také typ solí. Některé houby hůře snášejí chloridy, jiné sírany. Zvláštní postavení mezi ostatními solemi mají uhličitany alkalických kovů, které jsou extrémně toxické již při nízkých koncentracích (Szegi 1988).

Rejmánková et Houdková (2006) sledovaly dekompozici rostlinného opadu podél gradientu salinity v mokřadech střední Ameriky. Salinita stanoviště měla na rychlost dekompozice větší vliv než kvalita opadu.

## Vliv acidity

Hodnota pH je velmi důležitým ekologickým faktorem, který má často hlavní vliv na kvantitativní a kvalitativní složení mikrobiálního společenstva i na jeho aktivitu.

Jako odpověď na zvýšenou aciditu zaznamenal Ramsey et al. (2005) výrazné snížení půdní respirace. Podél gradientu pH od 7 do 4 poklesla respirace o 72 %. Negativní vliv acidity na proces dekompozice uvádí např. Prescott et Parkinson (1985). Novák et Placerová (1998), kteří sledovali rozklad celulózy v půdě horských smrkových lesů, pozorovali rychlejší průběh dekompozice na lokalitě ošetřené vápencem než na níže položené neošetřené lokalitě i přes to, že průměrné půdní teploty zde byly pro rozklad příznivější.

Toxický efekt nízkých hodnot pH není dán pouze přímo koncentrací  $H^+$  iontů, ale také tím, že se za takových podmínek mění rozpustnost různých chemických látek. Hodnota pH tak může ovlivnit dostupnost živin i chemickou aktivitu různých toxických složek půdy včetně těžkých kovů (Ross 1975).

Mikroskopické houby jsou obecně schopny růst při mnohem extrémnějších hodnotách pH než bakterie (Szegi 1988). Starkey et Waksman (1943) pozorovali, že druh *Acontium velatum* (a ještě jedna neidentifikovaná houba s tmavými sporami) jsou schopny růst při pH 0,2. Gould et al. (1974) izolovali kmen z půdy, která obsahovala 13,5 % síry a měla pH 1,1. Tato extrémně acidofilní houba, která nejlépe rostla při pH 1 - 3, byla zařazena do rodu *Scytalidium*. I při pH 1,1 byla navíc schopna tolerovat značné množství železitých a manganatých solí.

## 4 Metodika

### 4.1 Charakteristika lokalit

#### 4.1.1 Ralsko – Hradčany

(50°37'17.53"N, 14°42'49.29"E)

Studijní plocha se nachází v areálu bývalého vojenského letiště v Hradčanech. Hradčany, místní část obce Ralsko, leží mezi Doksy a Mimoní v centru bývalého vojenského újezdu Ralsko v rovinném terénu v nadmořské výšce 260 – 280 m n.m.

Lokalita spadá geograficky do severozápadní části Ralské pahorkatiny. Geologické podloží oblasti je tvořeno převážně křídovými pískovci. Podnebí je mírně teplé, dostatečně zásobené srážkami – průměrná roční teplota vzduchu za období 1961 - 1990 byla 7 - 8 °C a průměrný roční srážkový úhrn 600 - 700 mm (<http://www.chmu.cz/meteo/ok/inflim.html>). Na území újezdu převládají borové monokultury. V odlesněných oblastech, mezi které patří i areál letiště, došlo k rozvoji druhotných vřesovišť a stepní vegetace.

Letiště v Hradčanech bylo vybudováno v roce 1945, od roku 1991 je opuštěné.

Pokusná plocha se nacházela v blízkém okolí vlastní letištní dráhy, kde se na písčitém podkladu rozkládá suchý trávník s výskytem náletových dřevin *Betula pendula* Roth a *Pinus sylvestris* L. (obr. 5). Pokryvnost vegetace bylinného patra je často jen nízká (dominují druhy *Festuca filiformis* Pourret, *Corynephorus canescens* (L.) P.Beauv., *Pilosella officinarum* F.Schultz & Schultz-Bip., *Calluna vulgaris* (L.) Hull.) a vyskytují se rozsáhlá místa pokrytá pouze biologickou krustou s převládajícími druhy *Polytrichum piliferum* Hedw. a *Cladonia* spp. (obr. 6).

#### 4.1.2 Chvaletice

(50°2'28.57"N, 15°26'39.36"E)

Druhou studijní lokalitou je opuštěné rudné odkaliště Manganorudných a kyzových závodů Chvaletice. Objekt se nachází 1,5 km východně od obce Chvaletice na levém břehu Labe na úpatí Chvaletické pahorkatiny v nadmořské výšce 220 m n.m. Průměrná roční teplota vzduchu v oblasti za období 1961 – 1990 byla 8 – 9 °C, průměrný roční úhrn srážek 600 – 700 mm (<http://www.chmu.cz/meteo/ok/inflim.html>).

Pokusná plocha leží na nejsevernějším ze soustavy tří odkališť MKZ Chvaletice. V období let 1952 – 1979 se zde ukládaly kaly, které vznikaly při zpracování pyritu. Odkaliště nebylo uměle rekultivováno. Toxická povaha substrátu umožnila jen omezené zarůstání

vegetací. Odkaliště bylo přirozeně kolonizováno dřevinami *Betula pendula* Roth a *Populus tremula* L. (obr. 3). Jinak je povrch substrátu i po 30 letech místy bez jakékoli vegetace, místy s biologickou krustou tvořenou převážně druhy *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. a *Cladonia* spp. a s výskytem třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos* (L.) Roth) (obr. 4).

#### 4.1.3 Vlastnosti půdního substrátu a opadu

V roce 2005 proběhla na obou lokalitách měření fyzikálně chemických a ekofyziologických vlastností půdy pokusných ploch s biologickou krustou (Neustupa et al. 2009). Výsledky zachycuje tabulka 1. Na obou lokalitách byly zjištěny velmi nízké hodnoty pH a nízký celkový obsah dusíku. Ve Chvaleticích byla oproti Ralsku výrazně vyšší hodnota konduktivity (60x). Vyšší byly také koncentrace všech stanovených těžkých kovů. Zejména koncentrace Mn pak mnohonásobně převyšovala obvyklé hodnoty. V Ralsku byla naměřena vyšší rychlost nitrifikace a amonifikace a vyšší koncentrace chlorofylu a, což dokládá vyšší biologickou aktivitu na této lokalitě.

V tabulce 2 jsou uvedeny výsledky chemické analýzy vzorků opadu břízy, který byl použit v experimentu s opadovými sáčky. Rozbor provedla Analytická laboratoř Ústavu ekologie rostlin BÚ AV ČR v Třeboni. Ve srovnání s hodnotami, které uvádí Trocha et al. (2007) jako optimální pro listy břízy, byl u opadu z obou lokalit nižší celkový obsah dusíku (2 - 3x), u opadu z Ralska zvýšená koncentrace prvků Cd (6,5x), Al (2,3x) a Fe (1,9x), u opadu z Chvaletic koncentrace Mn (14x), Fe (7,7x), Cd (6,7x), Al (3,2x) a Pb (1,8x).

**Tab. 1.** Abiotické a ekofyziologické charakteristiky vzorků půdy s biologickou krustou z pokusných ploch Chvaletice (C) a Ralsko (R)

	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	vodivost μS/cm	NH <sub>4</sub> -N mg/kg	PO <sub>4</sub> -P mg/kg	NO <sub>3</sub> -N mg/kg	TN mg/kg	TP mg/kg
<b>C</b>	2,87	2,44	1817,50	0,82	0,83	0,02	931,25	8110,25
<b>R</b>	3,61	2,42	29,33	1,93	0,34	0,04	1102,67	183,33
	SO <sub>4</sub> g/kg	Al g/kg	Fe g/kg	Mn g/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg
<b>C</b>	4,71	5,35	61,55	25,54	24,24	64,31	0,88	35,58
<b>R</b>	1,10	2,75	36,92	1,45	4,57	21,74	0,33	18,89
	bazální respirace μg C-CO <sub>2</sub> /g.h		amonifikace μg N/g.den		nitrifikace μg N/g.den		chlorofyl A μg/ml	
<b>C</b>	4,34		0,27		0,00		2,63	
<b>R</b>	4,57		0,37		0,09		8,16	

**Tab. 2.** Fyzikálně–chemické parametry opadu břízy z pokusných ploch Chvaletice (C) a Ralsko (R)

	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	Al mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg	TN mg/kg	TP mg/kg	C oxid. %
<b>C</b>	5,42	5,07	388,0	773,0	14124	4,53	231,1	2,7	7,0	10574	2432,9	93,7
<b>R</b>	5,20	4,76	270,0	191,0	3456	5,83	433,0	2,6	3,0	7174	2116,9	93,6

## 4.2 Popis experimentu

Ke studiu mikroskopických hub podílejících se na rozkladu opadu i k měření rychlosti dekompozice byla použita metoda opadových sáčků (Bocock et Gilbert 1957).

V listopadu 2005 byl na obou lokalitách nasbírán čerstvý listový opad břízy (*Betula pendula*). Vždy 1,30 g opadu usušeného na konstantní hmotnost při 85 °C bylo uzavřeno do sáčků o rozměrech 12 x 12 cm. Sáčky byly zhotoveny ze dvou typů materiálu: z nylonového pletiva o velikosti ok 1,5 mm a z tkaniny Uhelon o velikosti ok 42 µm. Jemnější síťovina vylučuje z rozkladu půdní mezofaunu. Paralelní použití obou typů sáčků umožňuje usuzovat na případný vliv této skupiny na společenstvo hub na opadu a na dekompozici a ocenit roli hub při rozkladu.

Celkem bylo připraveno 108 sáčků s opadem z lokality Ralsko a 108 s opadem z lokality Chvaletice - vždy polovina sáčků z hrubého a polovina z jemného pletiva. Kromě sáčků s opadem byly z pletiva o velikosti ok 1,5 mm také připraveny sáčky obsahující 0,60 g vysušeného filtračního papíru (plošná hmotnost 80 g.m<sup>-2</sup>).

Pokus byl založen v květnu 2006. Na každé lokalitě byla vybrána plocha o rozloze přibližně 10 x 10 m a v rámci ní bylo vytipováno 15 míst (ca 0,5 x 0,5 m) s výskytem souvislé mikrobiální krusty. Na 9 z těchto míst bylo na začátku pokusu uloženo vždy 12 sáčků s opadem břízy – 6 sáčků z hrubého a 6 z jemného pletiva, a na 1 místě čtveřice sáčků s filtračním papírem. Na zbylých 5 míst byly postupně v průběhu pokusu ukládány sady sáčků s celulózu. Filtrační papír se rozkládá poměrně rychle, proto byly sáčky s tímto substrátem zakládány opakovaně. Sáčky byly ukládány do hloubky 2 - 3 cm pod povrch půdy a upevněny k podkladu kovovými hřeby (obr. 7).

Pokus trval po dobu 30 měsíců – do listopadu 2008. V jeho průběhu došlo na chvaletickém odkališti k poškození několika míst s uloženými sáčky (divokou zvěří) a místo původně plánovaných 9 odběrů bylo nakonec provedeno 7. Odběrové intervaly byly s výjimkou posledního dvoutměsíční (tab. 3).

**Tab. 3.** Odběry vzorků opadu

Odběr	I	II	III	IV	V	VI	VII
Datum	13.7.2006	18.9.2006	8.11.2006	13.1.2007	17.3.2007	15.5.2007	8.11.2008

Při každém odběru byla odebrána vždy 1 sada 12 sáčků s opadem (z libovolného z 9 míst) a čtveřice sáčků s modelovou celulózou, zároveň byla založena nová sada sáčků s celulózou. Na konci pokusu byly navíc odebrány i všechny nepoškozené opadové sáčky ze zbývajících odběrových míst. Na období posledního intervalu sáčky s celulózou zakládány nebyly.

Odebraný materiál byl zpracován do 48 hodin. Čtveřice sáčků s opadem z jemného a hrubého pletiva a sáčky s filtračním papírem sloužily ke stanovení hmotnostního úbytku. Opad ze zbylých sáčků, tedy dvou sáčků z jemného a dvou z hrubého pletiva, byl použit k izolaci mikroskopických hub.

## **4.3 Studium hub**

### **4.3.1 Stanovení hub na opadu**

Smícháním opadu vždy ze dvou sáčků stejné varianty (určené lokalitou a typem sáčku) byly vytvořeny 4 směsné vzorky pro každý odběr. Opad byl třepán 3 x 10 min. ve sterilní vodě s přidávkem smáčedla Tween 80 (přibližně 1g opadu ve 150 ml vody) a následně použit ke stanovení hub. Mikroskopické houby byly zjišťovány dvěma různými metodami:

#### **1. Izolace mikroskopických hub z fragmentů opadu na agarová média**

Z opadu byly připraveny fragmenty o rozměrech přibližně 5 x 5 mm a umístěny vždy po 5 na misky s agarovým médiem (obr. 8, 10). Pro primární izolaci byla použita tři různá média: bramboro-mrkvový agar -PCA, 2% malt agar - MEA, agar s půdním extraktem, glukózou a bengálskou červení - SEA (Fassatiová 1979). Do všech médií byl přidán streptomycin (100 mg/l) k potlačení bakteriálního růstu. Pro každou variantu vzorků opadu a pro každý typ média byla připravena 3 opakování. Misky byly inkubovány při 24°C. V období mezi 7. a 21. dnem inkubace byly z misek odizolovány všechny různé morfologické typy mikroskopických hub a byla stanovena frekvence jejich výskytu na izolačních miskách. Charakter růstu zejména některých hub nedovolil přesně určit, z kolika fragmentů vyrůstají, proto byla četnost jednotlivých taxonů nakonec hodnocena jen na základě stanovení výskytu nebo absence na izolační misce (tj. 0 - 9 výskytů pro každou variantu vzorků opadu).



## 2. Inkubace opadu ve vlhkých komůrkách

Ze skleněných Petriho misek o průměru 14 cm byly zhotoveny vlhké komůrky. Dno bylo vystláno vrstvou buničité vaty překryté filtračním papírem. Komůrky byly sterilizovány za sucha (121°C, 20 min., 101,5 kPa) a následně zvlhčeny sterilní vodou. V rámci jednoho odběru bylo vždy založeno 12 komůrek – 3 pro každou variantu vzorků opadu. Do každé komůrky byly uloženy 3 listové fragmenty o velikosti přibližně 3 x 3 cm (obr. 9). Komůrky byly uchovávány vždy po 2 měsíce při 24°C a režimu 12 hod. světla a 12 hod. tmy. Houby rostoucí na listech byly buď přímo určeny nebo odizolovány na agarové plotny. Výskyt taxonů byl kvantifikován stanovením přítomnosti nebo absence na jednotlivých listech (0 – 9 výskytů pro každou variantu vzorků opadu).

Pro každý izolovaný taxon byla stanovena:

- celková frekvence výskytu ve sledovaném období podle vztahu: počet listových fragmentů nebo izolačních misek s výskytem taxonu / počet všech listových fragmentů nebo izolačních misek pro lokalitu Ralsko nebo Chvaletice (=126) \* 100
- dílčí frekvence výskytu v jednotlivých odběrech podle vztahu: počet listových fragmentů nebo izolačních misek (z jednoho odběru) s výskytem taxonu / počet všech listových fragmentů nebo misek zpracovaných v jednom odběru z dané lokality (=18) \* 100.

### 4.3.2 Determinace hub

#### Analýza morfologických znaků

Mikroskopické houby byly determinovány především s využitím klasických morfologických metod zahrnujících kultivaci na speciálních agarových půdách, mikroskopování a práci s určovací literaturou.

Pro identifikaci hub byla používána následující kultivační média: Czapkův agar - CZA, Czapkův agar s kvasničním extraktem - CYA, agar se sladovým extraktem – MEA (Pitt 1979), agar s kvasničním extraktem a sacharózou – YES (Frisvad 1983), agar s nitrátem a sacharózou - NSA (Frisvad 1981), agar s kreatinem a sacharózou – CSA (1985), syntetický agar s nízkým obsahem živin – SNA (Nirenberg 1981), vločkový agar - OA, bramborový agar s dextrózou - PDA, bramboro-mrkvový agar - PCA, agar s půdním extraktem – SEA (Fassatiová 1979).

Mikroskopické preparáty byly připravovány do roztoku kyseliny mléčné s bavlnovou modří a pozorovány mikroskopem Olympus CX 31.

Jako určovací literatura sloužily práce Domsch et al. (1980), Shipper (1973, 1976), Boerema et al. (2004), Goos (1987), Booth (1971), Zare et Gams (2001), Gams (1971), Gams et Bisset (1998), Samson et al. (1976), Wang et Zabel (1990), Samson (1974), Samson et Frisvad (2004), Pitt (1979), Ellis (1971), Ellis et Ellis (1997), Zycha et al. (1969), Rubner (1996) a další.

### **Molekulární taxonomická analýza**

Některé z morfotypů, které se nepodařilo určit na základě morfologických znaků, byly podrobeny analýze sekvencí. Vybrání byli:

- 1) zástupci všech morfotypů, které se na některé lokalitě alespoň v jednom odběru vyskytovaly s frekvencí od 17 %.  
- kmeny M – 73, 281, 283, 289, 495, 681, VK – 384, 412, 432, 475, 712
- 2) zástupci některých morfotaxonů s nižší frekvencí výskytu:  
- kmeny M – 439, 738, VK – 58, 218, 234
- 3) zástupci všech rozlišených morfotypů rodu *Trichoderma*:  
- kmeny M – 27, 77, 254, 278, 383, 429, 518, 557, 689, VK – 22, 433, 454

DNA byla izolována z mladých kultur pomocí soupravy UltraClean™ Microbial DNA Kit (MoBio Laboratories, California, USA). Následně byla pomocí primerů ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) a NL4 (GGTCCGTGTTTCAAGACGG) amplifikována oblast ITS1–5.8S–ITS2 spolu s částí velké podjednotky (D1/D2 region) jaderné rDNA. Jako alternativní marker u rodu *Penicillium* a *Lecanicillium* byla amplifikována částečná sekvence pro  $\beta$ -tubulin za pomoci primerů T1 (AACATGCGTGAGATTGTAAGT) a T2 (TAGTGACCCTTGGCCAGTTG). Reakční směs (25  $\mu$ l) obsahovala 10-20 ng genomické DNA, 20 pmol každého z primerů, 0.2 mM dNTP (dNTP Mastermix - Invitex, Berlin, Germany), a 1 U Taq DNA polymerázy s příslušným pufrem (DyNAzyme – Finnzymes, Oy, Finland). PCR reakce měla 32 cyklů s následujícím střídáním teplot: 95 °C/3 min, 55 °C/30 s, 72 °C/1 min (1x), 95 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/1 min (30x) and 95 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/10 min (1x). Produkty PCR byly přečištěny a sekvenovány firmou Macrogen Inc. (Seoul, Korea) pomocí stejných primerů jako v PCR. Získané sekvence byly porovnány se sekvencemi publikovanými v databázi GenBank programem BLAST (Altschul et al. 1997). Sekvence kmenů rodu *Trichoderma* byly analyzovány v programu TrichOKEY (Druzhinina et al. 2005).

### 4.3.3 ITS – TRFLP analýza vzorků opadu

U odběru VII byla k odhadu diverzity hub využita i analýza DNA ze vzorků opadu metodou TRFLP (terminal restriction fragments length polymorphism).

#### Izolace DNA

Z opadu, ošetřeného opakovaným třepáním ve sterilní vodě s přidavkem smáčedla Tween 80, byly vytvořeny směsné vzorky. Smíchán byl vždy opad ze 3 sáčků dané varianty (určené lokalitou a typem sáčku). Ze vzorků opadu (0,2 g) byla izolována celková DNA s použitím soupravy Power Soil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, California, USA).

#### Taxonomicky specifické primery

ITS oblast rDNA ze vzorků opadu byla amplifikována pomocí primerů specifických pro jednotlivé skupiny hub (Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota) a pro oddělení Oomycota. Pro amplifikaci askomycetů, basidiomycetů, chytridiomycetů a oomycetů byly použity primery ITS4Asco, ITS4Basidio, ITS4Chytrid a IT4Oo, jejichž sekvence byly publikovány v práci Nikolcheva et Bärlocher (2004). Primery byly otestovány na vybraných kmenech hub a oomycetů s uspokojivými výsledky (tab. 4, obr. 1). Primer ITS4Zygo publikovaný v téže práci jako primer specifický pro zygomycety, navržený však pouze na základě sekvencí rodu *Glomus* a *Scutelospora*, byl v případě mukorovitých hub použitých v testu nefunkční. Vzhledem k tomu, že právě do řádu Mucorales spadá většina hub z bývalého oddělení Zygomycota, které lze na opadu očekávat, byl následujícím postupem navržen vlastní primer, který by umožnil amplifikaci ITS rDNA specificky pro tuto skupinu hub.

Z databáze GenBank bylo staženo 94 sekvencí, které náležely zástupcům 33 druhů (9 rodů) z řádu Mucorales, rodu *Mortierella* a neurčeným kmenům zygomycetů a které obsahovaly sekvenci primeru NL1 (tab. 5). Alignment získaných sekvencí byl proveden programem ClustalW. Specificita pro cílovou skupinu hub byla u potenciálně vhodných sekvencí kontrolována jejich porovnáváním se sekvencemi v databázi GenBank pomocí funkce BLAST. V oblasti přiléhající k 5' konci sekvence primeru NL1 se podařilo nalézt sekvenci 23 nukleotidů specifickou pro většinu zygomycetů. Výjimkou byl rod *Cunninghamella*, který se do výsledné sekvence primeru zahrnout nepodařilo. Reverzní primer nazvaný ITS4Zygo2 (5'-CGGGTAATCCRCCTGAYTTCAG-3'; R=A/G, Y=C/T) byl otestován na vybraných kmenech hub a oomycetů. Test potvrdil specificitu primeru pro

zygomycety (tab. 4, obr. 2). Optimální teplota pro fázi přisedání primeru k templátu byla experimentálně stanovena na 64°C.

### **Amplifikace ITS**

Taxonomicky specifické reverzní primery ITS4Asco, ITS4Basidio, ITS4Chytrid, ITS4Oo a ITS4Zygo2 byly použity ve dvojici s primerem ITS1 označeným na 5' konci fluorescenční značkou Hex. Reakční směs PCR (25µl) obsahovala vždy 10 pmol každého z primerů, 10-20 ng genomové DNA, 0,2 mM dNTP a 2,5 U Taq DNA polymerázy s příslušným pufrem (PPP Master Mix - Top-Bio s.r.o.). Reakce měla 35 cyklů s následujícím střídáním teplot: 94°C - 4 min, 49°C (ITS4Oo)/ 53°C (ITS4Chytrid)/ 55°C (ITS4Asco)/ 58°C (ITS4Basidio)/ 64°C (ITS4Zygo2) – 1 min, 72°C – 2 min (1x), 94°C – 1 min, 49/ 53/ 55/ 58/ 64 °C – 1 min, 72°C – 2 min (33x), 94°C – 1 min, 45/ 49/ 53/ 55/ 58/ 64°C – 1 min, 72°C – 10 min (1x). Úspěšnost amplifikace byla ověřována agarózovou elektroforézou. V případě chytridií, oomycetů a zygomycetů se nepodařilo získat dostatečnou koncentraci ITS rDNA jedinou PCR reakcí a byla provedena reamplifikace.

### **T-RFLP**

5 µl produktu PCR bylo smícháno s 16,5 µl vody, 2,5 µl 10x koncentrovaného pufru SB, 0,5 µl roztoku albuminu 65 mg/ ml (1mM) a 0,5 µl restriční endonukleázy TaqI (= 5 jednotek). Směs byla inkubována 60 min. při 65°C a 20 min. při 80°C a po zředění vodou v poměru 1:3 analyzována kapilární elektroforézou (automatický genetický analyzátor ABI PRISM 3130xl – Středisko sekvenování DNA MBÚ AV ČR). Získaná data byla vyhodnocena v programu GeneMarker V1.70.

**Tab. 4.** Výsledky testu taxonomicky specifických primerů na vybraných kmenech hub a oomycetů. A23-G40 - izoláty z rhizosféry *Phalaris arundinacea* (vlastní sbírka), M235-M761 – izoláty z opadu břízy (vlastní sbírka), CCF – Sběrka kultur hub PŘF UK, FSU – Friedrich Schiller University, Fungal Reference Centrum

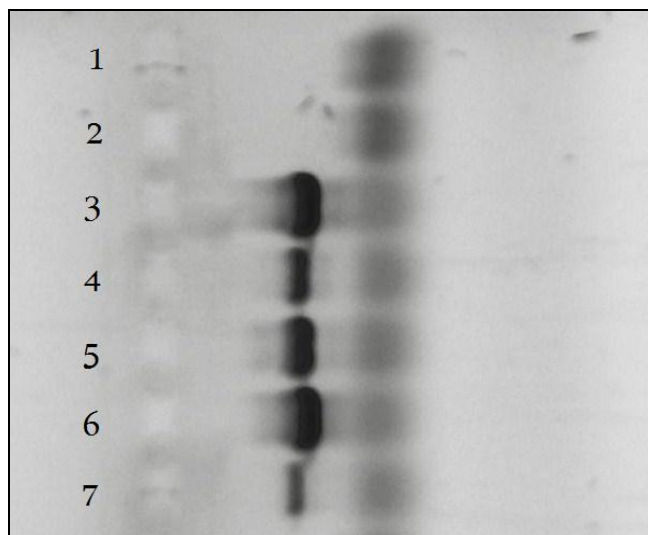
		ITS4 Asco	ITS4 Basidio	ITS4 Chytrid	ITS4 Oo	ITS4 Zygo	ITS4 Zygo2
D10	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+					-
E3	<i>Penicillium minioluteum</i>	+					-
A23	<i>Trichoderma harzianum</i>	+	-	-	-		-
D14	<i>Stereum hirsutum</i>	-	+	-	-		-
D3	<i>Peniophora</i> sp.		+				
FSU 2496	<i>Allomyces cystogenes</i>			+			
FSU 2502	<i>Catenaria anguillulea</i>			+			
FSU 2514	<i>Phlyctochytrium palustre</i>			+			
FSU 6200	<i>Phlyctochytrium arcticum</i>			-			
FSU 2639	<i>Gonapodya</i> sp.			+			
FSU 2640	<i>Monoblepharis polymorpha</i>			+			
FSU 6201	<i>Spizellomyces acuminatus</i>			-			
CCF 3762	<i>Phytophthora cactorum</i>	-	-	-	+		-
CCF 3683	<i>Phytophthora cambivora</i>				+		-
G40	<i>Absidia glauca</i>					-	+
G6	<i>Mucor circinelloides</i>	-	-	-	-	-	+
G39	<i>Mucor hiemalis</i>						+
M760	<i>Zygorhynchus moelleri</i>					-	+
M761	<i>Umbelopsis vinacea</i>						+
M235	<i>Cunninghamella echinulata</i>						-
M681	<i>Mortierella elongata</i>						+

**Tab. 5.** Přehled sekvencí z databáze GenBank použitých pro vytvoření primeru ITS4Zygo2

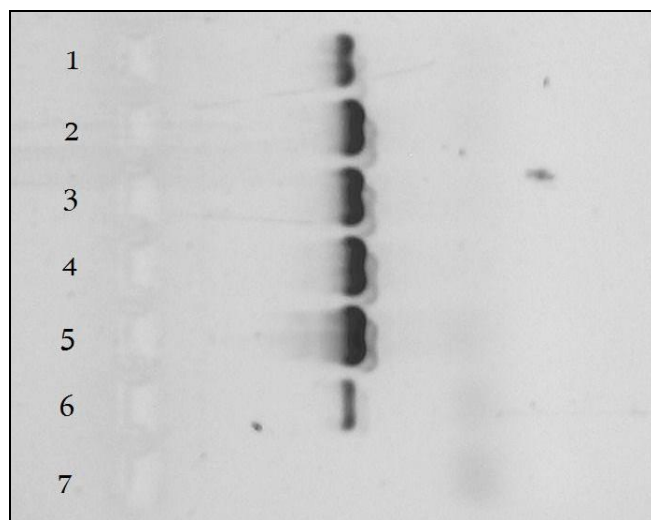
kód sekvence	taxonomické zařazení	kód sekvence	taxonomické zařazení
AJ271061	<i>Mucor racemosus</i>	AF346408	<i>Cunninghamella septata</i>
AY842390	<i>Mucor</i> sp.	AF254927	<i>Cunninghamella elegans</i>
AY842393	<i>Mortierella</i> sp.	AF254928	<i>Cunninghamella elegans</i>
AJ876489	<i>Mucor hiemalis</i>	AF254929	<i>Cunninghamella elegans</i>
AJ876490	<i>Mucor hiemalis</i>	AF254930	<i>Cunninghamella bertholletiae</i>
AJ876499	neurčený zygomycet	AF254931	<i>Cunninghamella bertholletiae</i>
AJ876500	neurčený zygomycet	AF254932	<i>Cunninghamella blakesleeana</i>
AJ876501	neurčený zygomycet	AF254933	<i>Cunninghamella multiverticillata</i>
AJ876502	neurčený zygomycet	AF254934	<i>Cunninghamella phaeospora</i>
AJ876503	neurčený zygomycet	AF254935	<i>Cunninghamella bainieri</i>
AJ876504	neurčený zygomycet	AF254936	<i>Cunninghamella echinulata</i> var. <i>echinulata</i>
AJ876505	neurčený zygomycet	AF254937	<i>Cunninghamella echinulata</i> var. <i>verticillata</i>
AJ876506	neurčený zygomycet	AF254938	<i>Cunninghamella echinulata</i> var. <i>antarctica</i>
AJ876507	neurčený zygomycet	AF254939	<i>Cunninghamella intermedia</i>
AJ876508	neurčený zygomycet	AF254940	<i>Cunninghamella intermedia</i>
AJ876509	neurčený zygomycet	AF254941	<i>Cunninghamella homothallica</i>
AJ876510	neurčený zygomycet	AF254942	<i>Cunninghamella clavata</i>
AB109755	<i>Rhizopus oryzae</i>	AF254943	<i>Cunninghamella vesiculosa</i>

AB109757	<i>Rhizopus oryzae</i>	AF254944	<i>Mucor hiemalis</i> f. <i>luteus</i>
AB109758	<i>Rhizopus oryzae</i>	DQ118982	<i>Absidia corymbifera</i>
AM118027	<i>Actinomucor taiwanensis</i>	DQ118985	<i>Absidia corymbifera</i>
AM181061	<i>Actinomucor elegans</i>	DQ118987	<i>Mucor circinelloides</i>
AJ876782	<i>Mucor hiemalis</i>	DQ118988	<i>Mucor circinelloides</i>
AJ608954	neurčený zygomycet	DQ118989	<i>Mucor circinelloides</i>
AJ876783	<i>Mucor hiemalis</i>	DQ118990	<i>Mucor circinelloides</i>
AF205941	<i>Rhizomucor miehei</i>	DQ118991	<i>Mucor circinelloides</i>
AJ849551	<i>Actinomucor kuwaitiensis</i>	DQ118992	<i>Mucor hiemalis</i>
AJ849552	<i>Actinomucor kuwaitiensis</i>	DQ118993	<i>Mucor indicus</i>
AJ608957	neurčený zygomycet	DQ118994	<i>Mucor indicus</i>
AJ608958	<i>Mucor fragilis</i>	DQ118995	<i>Rhizomucor miehei</i>
AJ608961	neurčený zygomycet	DQ118996	<i>Mucor racemosus</i>
AJ608966	neurčený zygomycet	DQ118997	<i>Mucor ramosissimus</i>
AJ608979	neurčený zygomycet	DQ119003	<i>Rhizomucor pusillus</i>
AJ608979	neurčený zygomycet	DQ119006	<i>Rhizomucor variabilis</i>
AB126323	<i>Rhizopus oryzae</i>	DQ119007	<i>Rhizomucor variabilis</i> var. <i>regalator</i>
AJ876784	neurčený zygomycet	DQ119009	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>chinensis</i>
AJ876785	<i>Absidia glauca</i>	DQ119010	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>microsporus</i>
AJ876787	<i>Umbelopsis ramanniana</i>	DQ119015	<i>Rhizopus schipperae</i>
AJ876788	<i>Umbelopsis isabellina</i>	DQ119016	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
AJ876789	neurčený zygomycet	DQ119020	<i>Rhizopus oryzae</i>
AJ271629	<i>Mortierella alpina</i>	DQ119025	<i>Rhizopus oryzae</i>
AJ271630	<i>Mortierella alpina</i>	DQ119027	<i>Rhizopus oryzae</i>
AF346407	<i>Cunninghamella echinulata</i> var. <i>nodosa</i>	DQ119028	<i>Rhizopus oryzae</i>
AF346408	<i>Cunninghamella septata</i>	DQ119029	<i>Rhizopus oryzae</i>
AF346409	<i>Cunninghamella elegans</i>	DQ273794	<i>Mortierella verticillata</i>
AF346407	<i>Cunninghamella echinulata</i> var. <i>nodosa</i>	DQ273797	<i>Umbelopsis ramanniana</i>
AF474242	<i>Mucor fragilis</i>	DQ273800	<i>Phycomyces blakesleeanus</i>

**Obr. 1.** Produkty amplifikace ITS rDNA vybraných kmenů chytridiomycetů pomocí primerů ITS1 a ITS4Chytrid. 1 - *Spizellomyces acuminatus*, 2 - *Phlyctochytrium arcticum*, 3 - *P. palustre*, 4 - *Allomyces cystogenes*, 5 - *Catenaria anguillulea*, 6 - *Gonapodia* sp., 7 - *Monoblepharis polymorpha*



**Obr. 2.** Produkty amplifikace ITS rDNA vybraných kmenů zygomycetů primery ITS1 a ITS4Zygo2. 1 - *Absidia glauca*, 2 - *Mucor circinelloides*, 3 - *Mucor hiemalis*, 4 - *Zygorhynchus moelleri*, 5 - *Umbelopsis vinacea*, 6 - *Mortierella elongata*, 7 - *Cunninghamella echinulata*



#### 4.3.4 Statistická analýza dat

Data o výskytu hub na opadu byla statisticky hodnocena s využitím metod mnohorozměrné analýzy dat. Na základě délky gradientu proměnných prostředí stanovené detrendovanou korespondenční analýzou byly zvoleny metody využívající lineární model odpovědi druhů na proměnné prostředí. Data nebyla transformována (malé rozpětí dosazovaných hodnot: 0 – 9) ani standardizována (vyrovnaný počet druhů ve snímcích, snaha nepřikládat velkou váhu vzácnějším druhům). Pomocí redundanční analýzy byl testován vliv proměnných prostředí lokalita, metoda stanovení hub, čas (hodnoty v měsících) a typ použitého opadového sáčku. Statistická významnost byla stanovena pomocí permutačního testu Monte Carlo. Permutace (999) byly provedeny neomezeně v blocích definovaných kovariátami. Vliv proměnné byl považován za signifikantní pro  $P \leq 0,001$ . Redundanční analýza byla aplikována jednak na celkový soubor dat o výskytu hub na obou lokalitách a jednak na dílčí soubory dat vztahující se jen k jedné lokalitě nebo metodě stanovení hub – kvůli podchycení případných odlišností v těchto datech vzhledem ke zbývajícím proměnným prostředí. Analýzy byly provedeny programem Canoco for Windows 4.5 (Ter Braak et Šmilauer 2002).

Podobnost TRFLP profilů jednotlivých variant vzorků opadu byla hodnocena pomocí shlukovací analýzy. Pro shlukování byl použit algoritmus párových vzdáleností („pair-group average“) a Bray-Curtisovo měřítko vzdálenosti (vypočítané na základě normalizovaných hodnot intenzity fluorescence restričních fragmentů detekovaných ve vzorcích). Analýza byla provedena v programu Past 1.9 (Hammer et al. 2001).

#### Seznam zkratk použitých v ordinačních diagramech RDA

abs gla	<i>Absidia glauca</i>	pen cit	<i>Penicillium citrinum</i>
acr ber	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	pen coa	<i>Penicillium coalescens</i>
acr sp.	<i>Acremonium</i> sp.	pen gri	<i>Penicillium griseofulvum</i>
alt alt	<i>Alternaria alternata</i>	pen janc	<i>Penicillium janczewskii</i>
asp fum	<i>Aspergillus fumigatus</i>	pen jant	<i>Penicillium janthinellum</i>
cla cla	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	pen lan	<i>Penicillium lanosum</i>
cla her	<i>Cladosporium herbarum</i>	pen mic	<i>Penicillium miczynskii</i>
cla sph	<i>Cladosporium sphaerosphaerum</i>	pen pu.r	<i>Penicillium purpurogenum</i> var. <i>rubrisclerotium</i>
cladoph	<i>Cladophialophora</i> sp.	pen pul	<i>Penicillium pulvillorum</i>
clo ro.c	<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i>	pen que	<i>Penicillium quercetorum</i>
clo ro.r	<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i>	pen rug	<i>Penicillium rugulosum</i>
coelom1	coelomycet 1	pen sim	<i>Penicillium simplicissimum</i>
coelom3	coelomycet 3	pen smi	<i>Penicillium smithii</i>
con vel	<i>Coniochaeta velutina</i>	pen sp1	<i>Penicillium</i> sp. 1
cun ele	<i>Cunninghamella elegans</i>	pen sp2	<i>Penicillium</i> sp. 2
dis art	<i>Discosia artocreas</i>	pen sp3	<i>Penicillium</i> sp. 3



epi nig	<i>Epicoccum nigrum</i>	pen var	<i>Penicillium variabile</i>
exo pis	<i>Exophiala pisciphila</i>	pen ver	<i>Penicillium verruculosum</i>
fus ave	<i>Fusarium avenaceum</i>	pez eri	<i>Pezizella ericae</i>
fus cul	<i>Fusarium culmorum</i>	pip sp.	<i>Piptocephalis</i> sp.
fus oxy	<i>Fusarium oxysporum</i>	pit cha	<i>Pithomyces chartarum</i>
fus pro	<i>Fusarium proliferatum</i>	rhi sto	<i>Rhizopous stolonifer</i>
fus sol	<i>Fusarium solani</i>	sclerot	<i>Sclerotinia</i> sp.
fus spo	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	sco con	<i>Scolecobasidium constrictum</i>
fus sub	<i>Fusarium subglutinans</i>	sim lam	<i>Simplicillium lamelicola</i>
fus tor	<i>Fusarium torulosum</i>	sim sp.	<i>Simplicillium</i> sp.
fus tri	<i>Fusarium tricinctum</i>	sph fim	<i>Sphaerodes fimicola</i>
fusicl	<i>Fusicladium</i> sp.	sv.myc4	sterilní bílé mycelium 4
gon but	<i>Gongronella butleri</i>	tm.myc4	sterilní tmavé mycelium 4
cha aur	<i>Chaetomium aureum</i>	tm.myc5	sterilní tmavé mycelium 5
cha ver	<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i>	tm.myc6	sterilní tmavé mycelium 6
lec sp.	<i>Lecanicillium</i> sp.	tri atr	<i>Trichoderma atroviride</i>
mor elo	<i>Mortierella elongata</i>	tri cit	<i>Trichoderma citrinoviride</i>
muc cir	<i>Mucor circinelloides</i>	tri ham	<i>Trichoderma hamatum</i>
muc hie	<i>Mucor hiemalis</i>	tri har	<i>Trichoderma harzianum</i>
muc plu	<i>Mucor plumbeus</i>	tri kon	<i>Trichoderma koningiopsis</i>
oid mai	<i>Oidiodendron maius</i>	tri vire	<i>Trichoderma virens</i>
oid rho	<i>Oidiodendron rhodogenum</i>	tri viri	<i>Trichoderma viride</i>
pae lil	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	tro fum	<i>Troposporella fumosa</i>
pae sp.	<i>Paecilomyces</i> sp.	umb ram	<i>Umbelopsis ramanniana</i>
pen acu	<i>Penicillium aculeatum</i>	umb vin	<i>Umbelopsis vinacea</i>
pen ada	<i>Penicillium adametzii</i>	zyg moe	<i>Zygorhynchus moelleri</i>
pen bra	<i>Penicillium brasilianum</i>		

#### 4.4 Měření rychlosti dekompozice

Rychlost dekompozice byla měřena jako hmotnostní úbytek opadu (celulózy) během expozice. Substrát z jednotlivých sáčků byl po odstranění ulpělých nečistot usušen při 85 °C na konstantní hmotnost a zvážen. Hmotnostní úbytek byl vyjádřen v % suché hmotnosti substrátu před expozicí. Pro opad byla také stanovena průměrná roční konstanta rychlosti rozkladu  $k$ . Byla vypočítána na základě Olsonova jednoduchého exponenciálního modelu rozkladu:  $x_t = x_0 \cdot e^{-kt}$ , kde  $t$  je čas v letech,  $x_0$  je původní hmotnost opadu a  $x_t$  hmotnost v čase  $t$  (Olson 1963).

Hmotnostní úbytky opadu a celulózy byly statisticky hodnoceny pomocí analýzy variance dvojného třídění a následného Tukeyova HSD testu pro mnohonásobná porovnávání.

U opadu byl zjišťován efekt lokality a typu opadového sáčku v daném odběru, u celulózy byl stanoven efekt lokality a odběrového intervalu. Rozdíly byly považovány za signifikantní pro  $P \leq 0,05$ .

## **Příloha I**



Obr. 3. Studijní plocha na opuštěném odkališti MKZ Chvaletice



Obr. 4. Detail místa s uloženými opadovými sáčky - Chvaletice



Obr. 5. Studijní plocha v areálu bývalého letiště Ralsko



Obr. 6. Detail místa s uloženými opadovými sáčky – Ralsko





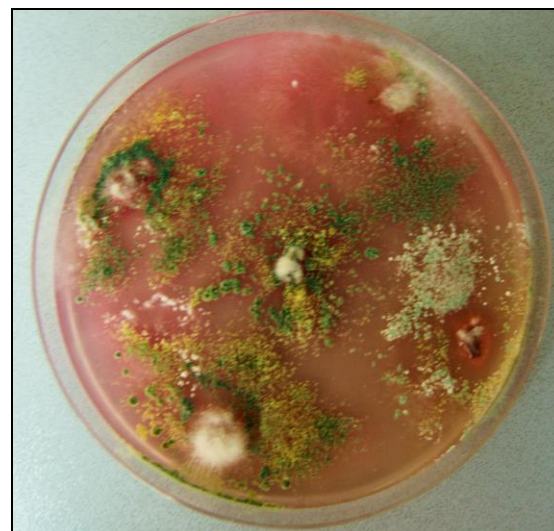
Obr. 7. Ukládání opadových sáčků z jemného pletiva – Chvaletice



Obr. 8. Houby rostoucí z fragmentů opadu na misce s izolačním médiem MEA



Obr. 9. Vlhké komůrky s fragmenty listového opadu břízy



Obr. 10. Houby rostoucí z fragmentů opadu na misce s izolačním médiem SEA

## 5 Výsledky

### 5.1 Mikroskopické houby podílející se na rozkladu opadu břízy

#### 5.1.1 Houby zjištěné na opadu z lokality Ralsko

Z opadových sáčků s listy břízy bylo na lokalitě Ralsko v období od května 2006 do listopadu 2008 zjištěno celkem 90 taxonů mikroskopických hub – 84 druhů (2 ve 2 formách nebo varietách) ze 46 rodů a 4 sterilní mycelia (tab. 6).

Taxony stanovené výhradně na opadu z této lokality tvořily 51,1 % z celkového počtu. Nejhojnější skupinou hub byly askomycety se zastoupením 82,3 %. Zygomycety byly zastoupeny 11,1 %, bazidiomycety 2,2 % a sterilní mycelia 4,4 %.

Rody s nejhojnějším druhovým zastoupením byly *Penicillium* (21), *Fusarium* (9), *Trichoderma* (7) a *Mucor* (3).

Přehled všech taxonů stanovených z opadu na této lokalitě podle výskytu v průběhu sledovaného období podává tabulka 7.

#### Výsledky inkubace opadu ve vlhkých komůrkách

Metodou kultivace hub na opadu ve vlhkých komůrkách bylo zjištěno celkem 69 taxonů – 65 druhů (1 ve 2 varietách) ze 40 rodů a 3 sterilní mycelia. Taxony zjištěné výhradně použitím této metody (a nikoli při izolaci hub z fragmentů opadu na agarová média) tvořily 52,2 % z celkového počtu. Zastoupení jednotlivých skupin hub bylo následující: askomycety 85,5 %, zygomycety 7,25 %, bazidiomycety 2,9 % a sterilní mycelia 4,35 %.

Nejvyšší celková frekvence výskytu byla zaznamenána u druhů *Fusicladium* sp. (81 %), *Cladosporium cladosporioides* (51 %), *Fusarium oxysporum* (30 %), *Trichoderma koningiopsis* (27 %), *Tropospora fumosa* (24 %), *Alternaria alternata* (21 %), *Penicillium coalescens* (17 %), *Penicillium purpurogenum* var. *rubrisclerotium* (16 %), *Sclerotinia* sp. (16 %) a *Chaetomium aureum* (13 %).

Při jednom odběru bylo z opadu získáno v průměru 23 různých taxonů. Nejvyšší počet (29) byl zjištěn v odběrech V a VI (březen a květen), nejnižší (15) v odběru II (září).

Houby, které byly zjištěny na opadu z obou typů sáčků tvořily 54,3 %. 24,3 % se vyskytovalo pouze na opadu z jemných sáčků, 21,4 % pouze na opadu z hrubých sáčků. Téměř výhradně se však jednalo o taxony izolované pouze v jediném odběru a s frekvencí výskytu nepřesahující 17 %. Výjimkou byl druh *Brachysporiella setosa* izolovaný v odběru V a VI pouze z opadu pocházejícího ze sáčků z jemného pletiva (frekvence výskytu 22 a 11%).

### Výsledky izolace hub z fragmentů opadu na agarová média

Metodou izolace z fragmentů opadu na agarová média bylo získáno 54 taxonů – 51 druhů (2 ve 2 formách nebo varietách) z 20 rodů a 1 sterilní mycelium. Taxony, které byly získány výhradně touto metodou (a nikoli z opadu inkubovaného ve vlhkých komůrkách), tvořily 38,9 % z celkového počtu. Askomycety byly mezi všemi taxony zastoupeny 79,6 %, zygomycety 18,5 %, sterilní mycelia 1,9 %. Nebyl zjištěn žádný zástupce bazidiomycetů.

Nejhojněji izolovanými druhy byly *Trichoderma koningiopsis* (97 %), *T. hamatum* (67 %), *Fusarium oxysporum* (64 %), *Mucor circinelloides* (55 %), *Zygorhynchus moelleri* (39 %), *M. heimalis* (35 %), *M. plumbeus* (31%), *Penicillium aculeatum* (30 %), *Alternaria alternata* (28 %), *P. brasilianum*, *P. rugulosum* a *Sphaerodes fimicola* (21 %).

V jednom odběru bylo v průměru izolováno 25 různých druhů. Nejvyšší počet (33) připadl na odběr IV (leden), nejnižší (15) na odběr I (červenec).

Z celkového počtu druhů bylo 80 % izolováno z opadu pocházejícího z obou typů sáčků, 7,3 % pouze ze sáčků z jemného pletiva, a 12,7 % z hrubého pletiva. Z druhů získaných výhradně ze sáčků z hrubého pletiva byly pouze následující izolovány opakovaně nebo s frekvencí výskytu v daném odběru vyšší než 17 %: *Piptocephalis* sp. (odběry III – VI), *Penicillium adametzii* a *P. crustosum* (odběry IV a VI), *Cunninghamella echinulata* (odběr IV – 22 %). Z druhů získaných výhradně z opadu z jemných sáčků byl opakovaně izolován pouze *Rhizopus stolonifer* (odběry I a II).

**Tab. 6.** Mikroskopické houby stanovené na opadu břízy v Ralsku – frekvence výskytu celková a dílčí v odběrech I – VII, přítomnost na opadu ze sáčků z hrubého pletiva (H) a jemného pletiva (J). Zvýrazněné taxony byly na dané lokalitě izolovány i z půdy.

	vlhké komůrky									izolace na agarová média										
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<i>Absidia glauca</i>	-	-									+	+	11	5,6			5,6	22	6,3	
<b><i>Acremonium berkeleyanum</i></b>	-	-									+	+				22	17		5,6	
<i>Acremonium curvulum</i>	+	-			11					1,6	-	-								
<b><i>Alternaria alternata</i></b>	+	+	33		11	50	33	17		20,6	+	+	39	22	28	56	33	17	27,8	
<i>Arthrinium arundinis</i>	+	-	5,6							0,8	-	-								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	-					5,6			0,8	-	-								
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	+	-	17							2,4	-	-								
<i>Brachysporiella setosa</i>	-	+					22	11		4,8	-	-								
<i>Ceratobasidium</i> sp.	+	+						11	11	3,2	-	-								
<i>Cladophialophora</i> sp.	+	+				22	17	22	28	12,7	-	-								
<b><i>Cladosporium cladosporioides</i></b>	+	+	56	78	50	61	50	61		50,8	+	+			22				3,2	
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i>	-	-									+	+	50	17					9,5	
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i>	+	+				5,6	22	28	5,6	8,7	+	+					33	39	10,3	
<i>coelomycet</i> 2	+	+				5,6	11	11		4,0	-	-								
<i>Coprinellus xanthothrix</i>	-	+	5,6							0,8	-	-								
<i>Cunninghamella echinulata</i>	-	-									+	-		22					3,2	
<i>Discosia artocreas</i>	+	+			11	17	5,6		11	6,3	-	-								
<b><i>Epicoccum nigrum</i></b>	+	+	28	5,6	5,6	5,6		5,6		7,1	+	+	11		5,6				2,4	
<i>Exophiala pisciphila</i>	+	-							11	1,6	-	-								
<i>Fusarium avenaceum</i>	+	-							11	1,6	+	+					11	17	4,0	
<i>Fusarium culmorum</i>	+	+				17				2,4	+	+			11	28		5,6	6,3	
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	17	61		50	11	56	17	30,2	+	+	44	89	67	50	89	67	44	64,3
<i>Fusarium proliferatum</i>	-	-									+	+			17				2,4	
<i>Fusarium solani</i>	-	-									+	+		17	33			17	9,5	
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	-	-									+	+		61	17	33			15,9	
<i>Fusarium subglutinans</i>	-	-									+	+		5,6	22				4,0	

Tab. 6. - pokračování	vlhké komůrky									izolace na agarová média										
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<i>Fusarium torulosum</i>	-	-									+	-						11	1,6	
<i>Fusarium tricinctum</i>	-	-									+	+						33	4,8	
<i>Fusicladium</i> sp.	+	+	44	83	83	94	89	83	89	81,0	-	-								
hyfomycet	-	+							5,6	0,8	-	-								
<b>Chaetomium aureum</b>	+	+	39	17	17	5,6	11	5,6		13,5	+	+	11		17		56	22	15,1	
<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i>	+	+	28	17						6,3	-	-								
<i>Lecanicillium</i> sp.	-	+								1,6	+	-						5,6	0,8	
<i>Lophiostoma</i> sp.	-	+				11				1,6	-	-								
<i>Mirandina breviphora</i>	-	+						5,6		0,8	-	-								
<i>Monacrosporium</i> sp.	+	+		11						1,6	-	-								
<i>Monacrosporium thumasi</i>	+	+		11						1,6	-	-								
<i>Mortierella elongata</i>	+	+							39	5,6	+	+			5,6	17	17	17	7,9	
<i>Mucor circinelloides</i>	-	+			5,6					0,8	+	+	17	61	78	83	39	61	44	
<i>Mucor hiemalis</i>	+	+			5,6				5,6	1,6	+	+	44	67	28	28	33	22	22	
<i>Mucor plumbeus</i>	-	+				5,6				0,8	+	+	11	39	28	50	50		39	
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	-	+								0,8	-	-								
<i>Paraconiothyrium sporulosum</i>	+	+			17	17				4,8	-	-								
<b>Penicillium aculeatum</b>	+	+	5,6						17	17	+	+	22	39	33	39	33	22	22	
<i>Penicillium adametzii</i>	+	+	11							1,6	+	-			5,6		5,6		1,6	
<b>Penicillium brasilianum</b>	+	+		17	17	11	11			7,9	+	+		50	22	28	11	5,6	28	
<i>Penicillium coalescens</i>	+	+	17		33	22	44			16,7	+	+			11			5,6	2,4	
<i>Penicillium cf. quercetorum</i>	-	-									-	+							5,6	
<i>Penicillium citrinum</i>	-	+							5,6	0,8	-	-								
<i>Penicillium crustosum</i>	+	+	5,6	11	17					4,8	+	-				5,6		5,6	1,6	
<i>Penicillium griseofulvum</i>	-	-									+	+			5,6			39	6,3	
<i>Penicillium janczewskii</i>	-	-									+	+			11				1,6	
<b>Penicillium janthinellum</b>	+	+	5,6	5,6	5,6	17	5,6	5,6	17	8,7	+	+		5,6		44			72	
<i>Penicillium lanosum</i>	+	-							5,6	0,8	-	+							5,6	
<b>Penicillium pulvillorum</b>	+	+	22	5,6	11	5,6				6,3	+	+			11	11	22	17	17	



Tab. 6. - pokračování	vlhké komůrky								izolace na agarová média											
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<i>Penicillium purpurogenum</i>	+	+				5,6	5,6		1,6	-	-									
<i>Penicillium purpurogenum</i> var. <i>rubrisclerotium</i>	+	+		22	39	28	11	11	15,9	+	+	17	22	39	28	22			18,3	
<i>Penicillium rugulosum</i>	+	+	17		5,6	5,6	5,6		5,6	+	+	22	22	33	22	17	28		20,6	
<i>Penicillium simplicissimum</i>	-	-								+	+		5,6		5,6				1,6	
<i>Penicillium smithii</i>	+	+					5,6	5,6	11	3,2	+	+					39		5,6	
<i>Penicillium</i> sp. 1	-	-								+	-				11				1,6	
<i>Penicillium</i> sp. 2	-	+					5,6		0,8	-	-									
<i>Penicillium</i> sp. 3	+	-							0,8	-	-									
<i>Penicillium spinulosum</i>	-	+			5,6				0,8	+	+				5,6		5,6		1,6	
<i>Penicillium variabile</i>	-	+	5,6						0,8	+	+		11		5,6				2,4	
<i>Periconia byssoides</i>	+	-	17						2,4	-	-									
<i>Pezizella ericae</i>	-	+							2,4	-	-							17		
<i>Phialophora mutabilis</i>	+	+						17	2,4	-	-									
<i>Piptocephalis</i> sp.	-	-								+	-			11	11	5,6	5,6		4,8	
<i>Pithomyces chartarum</i>	+	+	33			5,6	5,6		6,3	-	-									
<i>Rhizopus stolonifer</i>	-	-								-	+	11	11						3,2	
<i>Sclerotinia</i> sp.	+	+				28	28	28	28	15,9	+	+			5,6	17	11	11	6,3	
<i>Simplicillium</i> sp.	+	-							11	1,6	-	-								
<i>Sphaerodes fimicola</i>	-	-								+	+	28	44	28	5,6			39	20,6	
<i>Sporormiella intermedia</i>	+	+					17	17	4,8	-	-									
sterilní bílé mycelium 3	+	-	5,6						0,8	-	-									
sterilní bílé mycelium 4	-	-								-	+						11		1,6	
sterilní tmavé mycelium 1	+	-						5,6	0,8	-	-									
sterilní tmavé mycelium 3	-	+			5,6				0,8	-	-									
<i>Talaromyces wortmanii</i>	-	+	5,6						0,8	-	-									
<i>Trichoderma citrinoviride</i>	-	-								+	+						28		4,0	
<i>Trichoderma hamatum</i>	+	+						17	2,4	+	+	83	72	61	89	50	56	61	67,5	
<i>Trichoderma harzianum</i>	+	-			5,6				0,8	+	+			11	5,6		22		5,6	

Tab. 6. - pokračování	vlhké komůrky									izolace na agarová média										
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech %							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech %							frekvence výskytu celkem %
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	+	+	44	33	22	33	39	17		27,0	+	+	100	89	100	100	100	100	89	96,8
<i>Trichoderma sp.</i>	+	-							5,6	0,8	-	-								
<i>Trichoderma virens</i>	+	-				5,6				0,8	+	+			17	17	5,6			5,6
<b><i>Trichoderma viride</i></b>	+	+					11			1,6	+	+		5,6		5,6		17		4,0
<i>Troposporella fumosa</i>	+	+			33	39	61	33		23,8	-	-								
<i>Umbelopsis vinacea</i>	+	+		11					5,6	3,2	+	+		5,6			11		44	8,7
<i>Zygorhynchus moelleri</i>	-	-									+	+	44	44	5,6	39	39	33	67	38,9
<b>celkem taxonů</b>	<b>53</b>	<b>54</b>	<b>24</b>	<b>15</b>	<b>22</b>	<b>26</b>	<b>29</b>	<b>29</b>	<b>16</b>	<b>69</b>	<b>50</b>	<b>47</b>	<b>15</b>	<b>21</b>	<b>29</b>	<b>33</b>	<b>24</b>	<b>28</b>	<b>26</b>	<b>54</b>

**Tab. 7.** Přehled mikroskopických zjištěných na opadu v Ralsku podle výskytu v jednotlivých odběrech.

	odběr						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Fusicladium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mucor circinelloides</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mucor hiemalis</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium aculeatum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium janthinellum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma hamatum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Zygorhynchus moelleri</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium pulvillorum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium rugulosum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mucor plumbeus</i>	+	+	+	+	+		+
<i>Sphaerodes fimicola</i>	+	+	+	+			+
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Chaetomium aureum</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Penicillium coalescens</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Penicillium purpurogenum</i> var. <i>rubrisclerotium</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Epicoccum nigrum</i>	+	+	+	+		+	
<i>Penicillium crustosum</i>	+	+	+	+		+	
<i>Penicillium adametzii</i>	+			+		+	
<i>Pithomyces chartarum</i>	+			+	+		
<i>Penicillium variabile</i>	+	+		+			
<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i>	+	+					
<i>Rhizopus stolonifer</i>	+	+					
<i>Arthrimum arundinis</i>	+						
<i>Coprinellus xanthothrix</i>	+						
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	+						
<i>Periconia byssoides</i>	+						
sterilní bílé mycelium 3	+						
<i>Talaromyces wortmanii</i>	+						
<i>Penicillium brasillianum</i>		+	+	+	+	+	+
<i>Absidia glauca</i>		+	+			+	+
<i>Umbelopsis vinacea</i>		+			+	+	+
<i>Penicillium simplicissimum</i>		+		+			
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i>		+	+				
<i>Monacrosporium</i> sp.		+					
<i>Monacrosporium thaumasium</i>		+					
<i>Discosia artocreas</i>			+	+	+		+
<i>Fusarium solani</i>			+	+			+
<i>Trichoderma viride</i>			+		+		+
<i>Piptocephalis</i> sp.			+	+	+	+	
<i>Troposporella fumosa</i>			+	+	+	+	
<i>Penicillium griseofulvum</i>			+			+	
<i>Penicillium spinulosum</i>			+	+	+	+	
<i>Trichoderma harzianum</i>			+	+		+	
<i>Fusarium sporotrichioides</i>			+	+	+		
<i>Trichoderma virens</i>			+	+	+		
<i>Paraconiothyrium sporulosum</i>			+	+			

Tab. 7. - pokračování

	odběr						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>Fusarium subglutinans</i>			+	+			
<i>Acremonium curvulum</i>			+				
<i>Cunninghamella echinulata</i>			+				
<i>Penicillium janczewskii</i>			+				
sterilní tmavé mycelium 3			+				
<i>Cladophialophora</i> sp.				+	+	+	+
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i>				+	+	+	+
<i>Mortierella elongata</i>				+	+	+	+
<i>Sclerotinia</i> sp.				+	+	+	+
<i>Fusarium culmorum</i>				+	+		+
coelomycet 2				+	+	+	
<i>Penicillium purpurogenum</i>				+	+		
<i>Fusarium proliferatum</i>				+			
<i>Lophiostoma</i> sp.				+			
<i>Penicillium smithii</i>					+	+	+
<i>Acremonium berkeleyanum</i>					+	+	
<i>Brachysporiella setosa</i>					+	+	
<i>Ceratobasidium</i> sp.					+	+	
<i>Sporormiella intermedia</i>					+	+	
<i>Aspergillus fumigatus</i>					+		
<i>Mirandina breviphora</i>					+		
<i>Penicillium</i> sp. 1					+		
<i>Penicillium</i> sp. 2					+		
<i>Phialophora mutabilis</i>					+		
<i>Fusarium avenaceum</i>						+	+
<i>Exophiala pisciphila</i>						+	
<i>Fusarium tricinctum</i>						+	
hyfomycet						+	
<i>Paecilomyces lilacinus</i>						+	
<i>Penicillium citrinum</i>						+	
sterilní tmavé mycelium 1						+	
<i>Trichoderma citrinoviride</i>						+	
<i>Trichoderma</i> sp.						+	
<i>Fusarium torulosum</i>							+
<i>Lecanicillium</i> sp.							+
<i>Penicillium</i> cf. <i>quercetorum</i>							+
<i>Penicillium lanosum</i>							+
<i>Penicillium</i> sp. 3							+
<i>Pezizella ericae</i>							+
<i>Simplicillium</i> sp.							+
sterilní bílé mycelium 4							+
<b>celkem taxonů</b>	<b>31</b>	<b>30</b>	<b>39</b>	<b>44</b>	<b>44</b>	<b>46</b>	<b>34</b>

### 5.1.2 Houby zjištěné na opadu z lokality Chvaletice

Z opadu břízy na lokalitě Chvaletice bylo v průběhu pokusu izolováno celkem 77 taxonů mikroskopických hub – 66 druhů (1 ve 2 varietách) z 32 rodů, 7 sterilních mycelií a 3 neurčené coelomycety (tab. 8). Taxony zjištěné pouze na opadu z této lokality tvořily 43,6 % z celkového počtu. Dominantní skupinou hub byly askomycety, které byly mezi všemi taxony zastoupeny 76,9 %. Zygomycety tvořily 10,3 %, bazidiomycety 3,8 % a sterilní mycelia 9 %.

Nejhojnější druhové zastoupení měly rody *Penicillium* (17), *Trichoderma* (6), *Fusarium* (4), *Cladosporium*, *Mucor* a *Phoma* (3).

Přehled všech taxonů stanovených z opadu na této lokalitě podle výskytu v průběhu sledovaného období podává tabulka 9.

#### Výsledky inkubace opadu ve vlhkých komůrkách

Z opadu kultivovaného ve vlhkých komůrkách bylo získáno celkem 44 taxonů – 38 druhů (1 ve 2 varietách) ze 24 rodů, 2 neurčené coelomycety a 3 sterilní mycelia. Počet taxonů zjištěných výhradně touto metodou činil 40,9 %.

Askomycety tvořily 81,8 % všech hub, zygomycety 6,8 %, bazidiomycety 4,6 % a sterilní mycelia 6,8 %.

Celková frekvence výskytu byla nejvyšší u druhů *Fusicladium* sp. (82 %), *Paecilomyces* sp. (50 %), *Alternaria alternata* (40 %), *Discosia artocreas* (36 %), *Penicillium simplicissimum* (26 %), *P. janthinellum* (25 %), *P. rugulosum* (16 %), *Trichoderma virens* (14 %), *Oidiodendron rhodogenum* (13 %) a *Scolecobasidium constrictum* (10 %).

Na opadu z jednoho odběru se v průměru vyskytovalo 17 druhů hub. Nejvíce druhů (21) bylo zjištěno v odběru IV (leden), nejméně (14) v odběru I (červenec).

Většina hub (63 %) se vyskytovala na opadu získaném z obou typů sáčků. 25 % hub bylo izolováno pouze z opadu ze sáčků zjemného pletiva a 11,4 % z hrubého pletiva. Ve všech případech šlo o taxony zjištěné pouze v jediném odběru a jen s nízkou frekvencí výskytu (do 17 % v daném odběru).

#### Výsledky izolace hub z fragmentů opadu na agarová média

Metodou izolace hub z fragmentů opadu na agarová média bylo získáno celkem 58 taxonů – 49 druhů (1 ve 2 varietách) ze 23 rodů, 3 neurčené coelomycety a 5 sterilních mycelií. Počet taxonů izolovaných výhradně touto metodou dosáhl 55,2 % z celkového počtu.

Askomycety tvořily 77,6 % všech hub, zygomycety 12 %, bazidiomycety 1,8 % a sterilní mycelia 8,6 %.

Nejhojněji izolovanými druhy byly *Trichoderma virens* (83 %), *Alternaria alternata* (83 %), *Trichoderma harzianum* (77 %), *Penicillium janthinellum* (72 %), *P. simplicissimum* (59 %), *P. pulvillorum* (40 %), *P. rugulosum* (40 %), *P. purpurogenum* var. *rubrisclerotium* (26 %), *Aspergillus fumigatus* (25 %), *Paecilomyces lilacinus* (17 %).

Při jednom odběru bylo v průměru izolováno 20 druhů hub. Nejvyšší počet (27) připadl na odběr VII (listopad), nejnižší (13) na odběr I (červenec).

Většina hub - 52,6 % - bylo izolováno z opadu pocházejícího z obou typů sáčků, 25,4 % výhradně ze sáčků z hrubého pletiva a 22 % z jemného pletiva. Z toho pouze *Mucor circinelloides* (jemné sáčky, odběr III a IV) a *Penicillium crustosum* (hrubé sáčky, odběr IV a VI) byly izolovány opakovaně.

**Tab. 8.** Mikroskopické houby stanovené na opadu břízy ve Chvaleticích – frekvence výskytu celková a dílčí v odběrech I– VII, přítomnost na opadu ze sáčků z hrubého pletiva (H) a jemného pletiva (J). Zvýrazněné taxony byly na dané lokalitě izolovány i z půdy.

	vlhké komůrky									izolace na agarová média												
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %		
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII			
<i>Absidia glauca</i>	-	-									-	+			5,6							0,8
<b><i>Acremonium berkeleyenum</i></b>	-	-									+	-								17		2,4
<i>Acremonium</i> sp.	-	-									+	-									5,6	0,8
<b><i>Alternaria alternata</i></b>	+	+	78	44	39	17	44	61		40,5	+	+	94	100	89	100	89	100	5,6			82,5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	11	17	5,6		5,6	11	5,6	7,9	+	+	22	72	5,6		11	67				25,4
<i>Ceratobasidium</i> sp.	+	+					5,6	17		3,2	-	-										
<i>Cladophialophora</i> sp.	+	-				5,6			5,6	1,6	-	-										
<b><i>Cladosporium cladosporioides</i></b>	+	+	11		5,6	5,6	5,6	17		6,3	+	+			11							1,6
<b><i>Cladosporium herbarum</i></b>	-	-									-	+									5,6	0,8
<b><i>Cladosporium sphaerospermum</i></b>	+	+					17			2,4	-	-										
coelomycet 1	-	+	5,6							0,8	+	-									5,6	0,8
coelomycet 2	+	+				17	5,6		5,6	4,0	+	-									11	1,6
coelomycet 3	-	-									+	+									22	3,2
<i>Coniochaeta velutina</i>	+	+		17	5,6				17	5,6	-	-										
<i>Cunninghamella elegans</i>	-	+							17	2,4	+	+				11	5,6	5,6				3,2
<i>Discosia artocreas</i>	+	+	33	11	33	39	28	67	39	35,7	+	+		5,6	17	11			17			7,1
<b><i>Epicoccum nigrum</i></b>	+	+	28					5,6		4,8	+	+		17	22	39	22	11				15,9
<i>Fusarium avenaceum</i>	-	-									+	+									22	3,2
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-									+	+			28		5,6			5,6		5,6
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	-	-									-	+			5,6							0,8
<i>Fusarium subglutinans</i>	-	-									+	+		5,6	17							3,2
<b><i>Fusicladium</i> sp.</b>	+	+	56	72	83	94	83	100	83	81,7	-	-										
<i>Gongronella butleri</i>	-	-									+	+									17	2,4
<i>Chaetomium aureum</i>	-	-									-	+	17									2,4
<i>Idriella</i> sp.	-	+		5,6						0,8	-	-										

Tab. 8. - pokračování	vlhké komůrky								izolace na agarová média										
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)						frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)						frekvence výskytu celkem %	
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<b>Lecanicillium sp.</b>	+	+			5,6				50	7,9	+	+		17	5,6			33	7,9
<b>Mortierella elongata</b>	+	+							17	2,4	+	+		11	5,6			33	7,1
<i>Mucor circinelloides</i>	-	-									-	+		28	17				6,3
<b>Mucor hiemalis</b>	-	-									+	+	11	17			11		5,6
<i>Mucor plumbeus</i>	-	-									-	+	5,6						0,8
<i>Oidiodendron maius</i>	-	+							11	1,6	-	+					11		1,6
<b>Oidiodendron rhodogenum</b>	+	+			5,6	17	39	28		12,7	-	-							
<b>Paecilomyces lilacinus</b>	+	+			5,6	17		5,6		4,0	+	+	17	11	5,6	17	22	44	16,7
<i>Paecilomyces sp.</i>	+	+		56	50	33	78	33	100	50,0	-	-							
<i>Paraconiothyrium sporulosum</i>	-	-									+	-		11					1,6
<i>Penicillium brasillianum</i>	-	-									-	+	5,6						0,8
<b>Penicillium coalescens</b>	+	+	17	11						4,0	-	-							
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-									+	+			5,6		17		3,2
<b>Penicillium crustosum</b>	+	-			5,6					0,8	+	-		5,6		5,6			1,6
<i>Penicillium griseofulvum</i>	-	-									+	-				5,6			0,8
<b>Penicillium janthinellum</b>	+	+	11	33	17	28	39	17	28	24,6	+	+	44	56	67	89	89	94	67
<i>Penicillium lanosum</i>	-	-									+	+					39		5,6
<i>Penicillium miczynskii</i>	-	-									+	+					17		2,4
<i>Penicillium pinophilum</i>	-	+		5,6						0,8	+	-		11					1,6
<b>Penicillium pulvillorum</b>	+	+	5,6	28		5,6				5,6	+	+	17	22	83	39	39	22	61
<i>Penicillium purpurogenum</i>	-	+				5,6				0,8	+	-					5,6		0,8
<i>Penicillium purpurogenum</i> var. <i>rubrisclerotium</i>	+	+		5,6				44		7,1	+	+	11	61	44	28	28		11
<i>Penicillium resedanum</i>	+	-			5,6					0,8	-	-							
<i>Penicillium rugulosum</i>	+	+	11	11	28	17	44			15,9	+	+	28		72	61	67	50	39,7
<b>Penicillium simplicissimum</b>	+	+		17	11	22	67	22	44	26,2	+	+	39	56	44	61	67	89	56
<i>Penicillium sp. 1</i>	+	+							17	2,4	+	+						11	1,6
<i>Penicillium sp. 2</i>	-	-									+	+	11				22		4,8
<i>Penicillium verruculosum</i>	-	-									+	+						22	3,2



Tab. 8. - pokračování	vlhké komůrky									izolace na agarová média																
	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %	typ sáčku		frekvence výskytu v odběrech (%)							frekvence výskytu celkem %						
	H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII		H	J	I	II	III	IV	V	VI	VII							
<i>Phoma exigua</i>	-	-									-	+						11						1,6		
<i>Phoma herbarum</i>	-	-									-	+			5,6										0,8	
<i>Phoma radicina</i>	+	+			50						-	-														
<b><i>Pithomyces chartarum</i></b>	+	+	5,6	5,6		5,6			22		-	-														
<i>Scolecobasidium constrictum</i>	+	+		33		17		22			-	-														
<i>Schizophyllum commune</i>	+	-				5,6					-	-														
<i>Simplicillium lamelicola</i>	-	-									+	-											5,6		0,8	
<i>Sporotrichum aurantiacum</i>	-	-									+	-											5,6		0,8	
sterilní bílé mycelium 1	-	+				5,6					-	-														
sterilní bílé mycelium 2	-	-									+	-			5,6											0,8
sterilní fialové mycelium	-	-									-	+			5,6											0,8
sterilní tmavé mycelium 2	-	+							5,6		-	-														0,8
sterilní tmavé mycelium 4	-	-									-	+												5,6	0,8	
sterilní tmavé mycelium 5	-	-									+	-												5,6	0,8	
sterilní tmavé mycelium 6	-	+							17		+	-												5,6	0,8	
<i>Torula herbarum</i>	-	+				5,6					-	-														
<i>Trichoderma atroviride</i>	-	-									+	+			33									17		7,1
<i>Trichoderma citrinoviride</i>	-	-									+	+			11									17		4,0
<i>Trichoderma hamatum</i>	-	-							17		-	+												5,6		0,8
<b><i>Trichoderma harzianum</i></b>	+	+			5,6		5,6		17	5,6	+	+	78	94	89	78	89	89	22							77,0
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	-	+								5,6	+	+			11										28	5,6
<b><i>Trichoderma virens</i></b>	+	+	17			17	5,6		61		+	+	83	50	94	94	78	89	94							83,3
<i>Troposporella fumosa</i>	+	+			17	11	11	28			-	-														
<b><i>Umbelopsis ramanniana</i></b>	+	-	5,6								-	-														
<b>celkem taxonů</b>	<b>33</b>	<b>39</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>18</b>	<b>21</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>44</b>	<b>45</b>	<b>44</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>24</b>	<b>19</b>	<b>15</b>	<b>23</b>	<b>28</b>						<b>58</b>	

**Tab. 9.** Přehled mikroskopických hub zjištěných na opadu ve Chvaleticích podle výskytu v jednotlivých odběrech

	odběr						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Fusicladium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium janthinellum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium pulvillorum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium simplicissimum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma harzianum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma virens</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Discosia artocreas</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+		+	+	+
<i>Penicillium purpurogenum</i> var. <i>rubrisclerotium</i>	+	+	+	+	+		+
coelomycet 1	+						+
<i>Epicoccum nigrum</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Penicillium rugulosum</i>	+	+	+	+	+	+	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+		+	+	+	+	
<i>Mucor hiemalis</i>	+		+			+	
<i>Pithomyces chartarum</i>	+	+		+		+	
<i>Penicillium coalescens</i>	+	+					
<i>Chaetomium aureum</i>	+						
<i>Mucor plumbeus</i>	+						
<i>Umbelopsis ramanniana</i>	+						
<i>Paecilomyces</i> sp.		+	+	+	+	+	+
<i>Coniochaeta velutina</i>		+	+			+	
<i>Trichoderma koningiopsis</i>		+					+
<i>Penicillium</i> sp. 2		+				+	
<i>Trichoderma citrinoviride</i>		+				+	
<i>Scolecobasidium constrictum</i>		+		+	+		
<i>Penicillium pinophilum</i>		+		+			
<i>Fusarium subglutinans</i>		+	+				
<i>Idriella</i> sp.		+					
<i>Penicillium brasillianum</i>		+					
<i>Fusarium oxysporum</i>			+		+		+
<i>Lecanicillium</i> sp.			+	+			+
<i>Mortierella elongata</i>			+	+			+
<i>Oidiodendron rhodogenum</i>			+	+	+	+	
<i>Troposporella fumosa</i>			+	+	+	+	
<i>Penicillium crustosum</i>			+	+		+	
<i>Trichoderma atroviride</i>			+			+	
<i>Mucor circinelloides</i>			+	+			
<i>Absidia glauca</i>			+				
<i>Paraconiothyrium sporulosum</i>			+				
<i>Fusarium sporotrichioides</i>			+				
<i>Penicillium resedanum</i>			+				
<i>Phoma herbarum</i>			+				
<i>Phoma radicina</i>			+				
<i>Cladophialophora</i> sp.					+		+
coelomycet 2					+	+	+
<i>Cunninghamella elegans</i>					+	+	+

Tab. 9. - pokračování

	odběr						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>Penicillium purpurogenum</i>				+		+	
<i>Phoma exigua</i>				+			
<i>Schizophyllum commune</i>				+			
sterilní bílé mycelium 1				+			
sterilní bílé mycelium 2				+			
<i>Torula herbarum</i>				+			
<i>Penicillium citrinum</i>					+		+
<i>Ceratobasidium</i> sp.					+	+	
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>					+		
sterilní fialové mycelium					+		
<i>Trichoderma hamatum</i>						+	+
sterilní tmavé mycelium 2						+	
<i>Acremonium berkeleyenum</i>						+	
<i>Penicillium griseofulvum</i>						+	
<i>Penicillium lanosum</i>						+	
<i>Penicillium miczynskii</i>						+	
<i>Sporotrichum aurantiacum</i>						+	
<i>Acremonium</i> sp.							+
<i>Cladosporium herbarum</i>							+
coelomycet 3							+
<i>Fusarium avenaceum</i>							+
<i>Gongronella butleri</i>							+
<i>Oidiodendron maius</i>							+
<i>Penicillium</i> sp. 1							+
<i>Penicillium verruculosum</i>							+
<i>Simplicillium lamelicola</i>							+
sterilní tmavé mycelium 4							+
sterilní tmavé mycelium 5							+
sterilní tmavé mycelium 6							+
<b>celkem taxonů</b>	<b>21</b>	<b>25</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>25</b>	<b>32</b>	<b>34</b>

**Přehled všech taxonů zjištěných v letech 2006 – 2008 z listového opadu břízy na studijních lokalitách v Ralsku a ve Chvaleticích**

*Absidia glauca* Hagem  
*Acremonium berkeleyanum* (P. Karst.) W. Gams  
*Acremonium curvulum* W. Gams  
*Acremonium* sp.  
*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.  
*Arthrimum arundinis* (Corda) Dyko & B. Sutton  
*Aspergillus fumigatus* Fresen.  
*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker  
*Brachysporiella setosa* (Berk. & M.A. Curtis) M.B. Ellis  
*Ceratobasidium* sp.  
*Cladophialophora* sp.  
*Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries  
*Cladosporium herbarum* (Pers.) Link.  
*Cladosporium sphaerospermum* Penz. 1882  
*Clonostachys rosea* (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams  
*Clonostachys rosea f. catenulata* (J.C. Gilman & E.V. Abbott) Schroers  
coelomycet 1  
coelomycet 2  
coelomycet 3  
*Coniochaeta velutina* (Fuckel) Cooke  
*Coprinellus xanthothrix* (Romagn.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson  
*Cunninghamella echinulata* (Thaxt.) Thaxt. ex Blakeslee  
*Cunninghamella elegans* Lendn.  
*Discosia artocreas* (Tode) Fr.  
*Epicoccum nigrum* Link  
*Exophiala pisciphila* McGinnis & Ajello  
*Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc.  
*Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc.  
*Fusarium oxysporum* Schldl.  
*Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg  
*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.  
*Fusarium sporotrichioides* Sherb.  
*Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas  
*Fusarium torulosum* (Berk. & M.A. Curtis) Nirenberg  
*Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc.  
*Fusicladium* sp.  
*Gongronella butleri* (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco  
hyfomycet  
*Chaetomium aureum* Chivers  
*Chaetosphaeria vermicularioides* (Sacc. & Roum.) W. Gams & Hol.-Jech.  
*Idriella* sp.  
*Lecanicillium* sp.  
*Lophiostoma* sp.  
*Mirandina breviphora* Matsush.  
*Monacrosporium* sp.  
*Monacrosporium thaumasium* (Drechsler) de Hoog & Oorschot  
*Mortierella elongata* Linnem.

*Mucor circinelloides* Tiegh.  
*Mucor hiemalis* Wehmer  
*Mucor plumbeus* Bonord.  
*Oidiodendron maius* G.L. Barron  
*Oidiodendron rhodogenum* Robak  
*Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson  
*Paecilomyces* sp.  
*Paraconiothyrium sporulosum* (W. Gams & Domsch) Verkley  
*Penicillium aculeatum* Raper & Fennell  
*Penicillium adametzii* K.M. Zalessky  
*Penicillium brasilianum* Bat.  
*Penicillium citrinum* Thom  
*Penicillium coalescens* Quintan.  
*Penicillium crustosum* Thom  
*Penicillium griseofulvum* Dierckx  
*Penicillium janczewskii* K.M. Zalessky  
*Penicillium janthinellum* Biourge  
*Penicillium lanosum* Westling  
*Penicillium miczynskii* K.M. Zalessky  
*Penicillium pinophilum* Hedgc.  
*Penicillium pulvillorum* Turfitt  
*Penicillium purpurogenum* Stoll  
*Penicillium purpurogenum var. rubrisclerotium* Thom  
*Penicillium* cf. *quercetorum* Baghd.  
*Penicillium resedanum* McLennan & Ducker  
*Penicillium rugulosum* Thom  
*Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom  
*Penicillium smithii* Quintan.  
*Penicillium* sp. 1  
*Penicillium* sp. 2  
*Penicillium* sp. 3  
*Penicillium spinulosum* Thom  
*Penicillium variabile* Sopp  
*Penicillium verruculosum* Peyronel  
*Periconia byssoides* Pers.  
*Pezizella ericae* D.J. Read  
*Phialophora mutabilis* (J.F.H. Beyma) Schol-Schwarz  
*Phoma exigua* Desm.  
*Phoma herbarum* Westend.  
*Phoma radicina* (McAlpine) Boerema  
*Piptocephalis* sp.  
*Pithomyces chartarum* (Berk. & M.A. Curtis) M.B. Ellis  
*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.  
*Sclerotinia* sp.  
*Scolecobasidium constrictum* E.V. Abbott  
*Schizophyllum commune* Fr.  
*Simplicillium lamellicola* (F.E.V. Sm.) Zare & W. Gams  
*Simplicillium* sp.  
*Sphaerodes fimicola* (E.C. Hansen) P.F. Cannon & D. Hawksw.  
*Sporormiella intermedia* (Auersw.) S.I. Ahmed & Cain ex Kobayasi

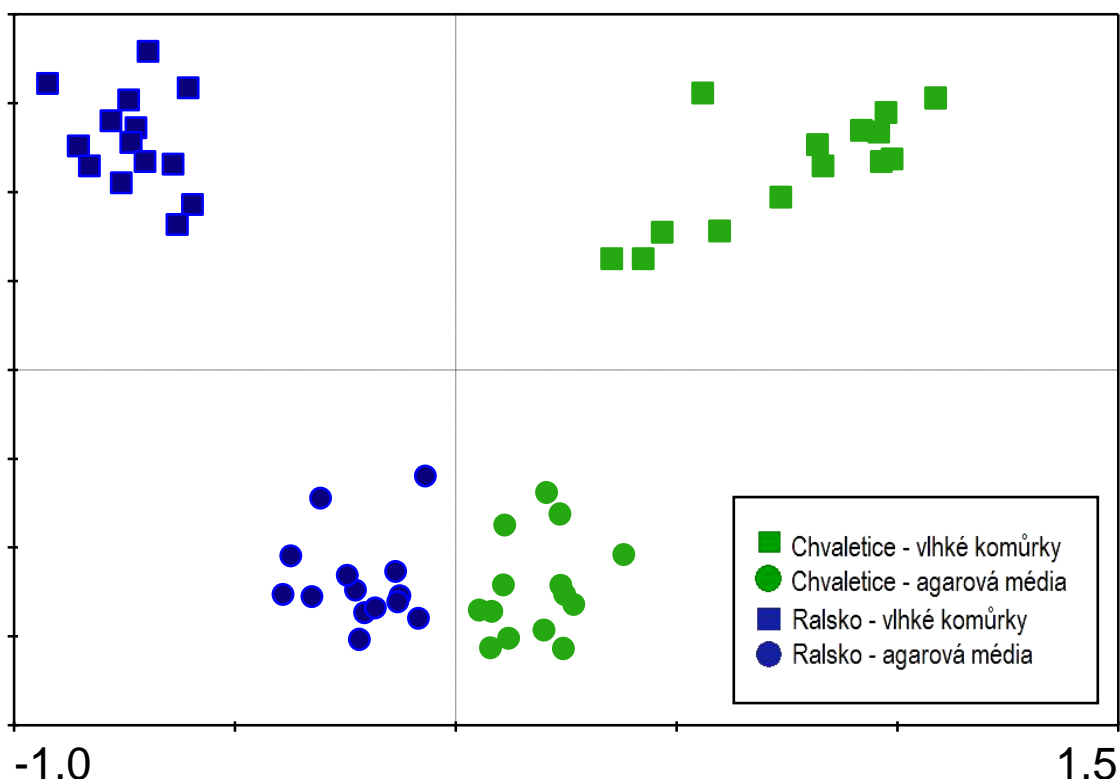
*Sporotrichum aurantiacum* Fr.  
sterilní bílé mycelium 1  
sterilní bílé mycelium 2  
sterilní bílé mycelium 3  
sterilní bílé mycelium 4  
sterilní fialové mycelium  
sterilní tmavé mycelium 1  
sterilní tmavé mycelium 2  
sterilní tmavé mycelium 3  
sterilní tmavé mycelium 4  
sterilní tmavé mycelium 5  
sterilní tmavé mycelium 6  
*Talaromyces wortmannii* (Klöcker) C.R. Benj.  
*Torula herbarum* (Pers.) Link  
*Trichoderma atroviride* P. Karst.  
*Trichoderma citrinoviride* Bissett  
*Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier  
*Trichoderma harzianum* Rifai  
*Trichoderma koningiopsis* Samuels, C. Suárez & H.C. Evans  
*Trichoderma* sp.  
*Trichoderma virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx  
*Trichoderma viride* Pers.  
*Troposporella fumosa* P. Karst.  
*Umbelopsis ramanniana* (A. Møller) W. Gams  
*Umbelopsis vinacea* (Dixon-Stew.) Arx  
*Zygorhynchus moelleri* Vuill.

### 5.1.3 Statistická analýza

#### Vliv lokality, metody stanovení hub, délky expozice opadu a typu opadového sáčku

Analýza hlavních komponent (PCA) aplikovaná na soubor veškerých dat o výskytu hub na opadu v Ralsku a Chvaleticích oddělila snímky (tj. zápisy druhů z jednotlivých odběrů) podle lokality a použité metody stanovení hub, přičemž podobnost mezi lokalitami byla zřetelně vyšší u snímků získaných metodou kultivace hub na opadu ve vlhkých komůrkách než při izolaci z fragmentů opadu na agarová média (graf 1).

**Graf 1.** Ordinační diagram PCA znázorňující pozici snímků (zápisů druhů pořízených v jednotlivých odběrech) v prostoru prvních dvou os.



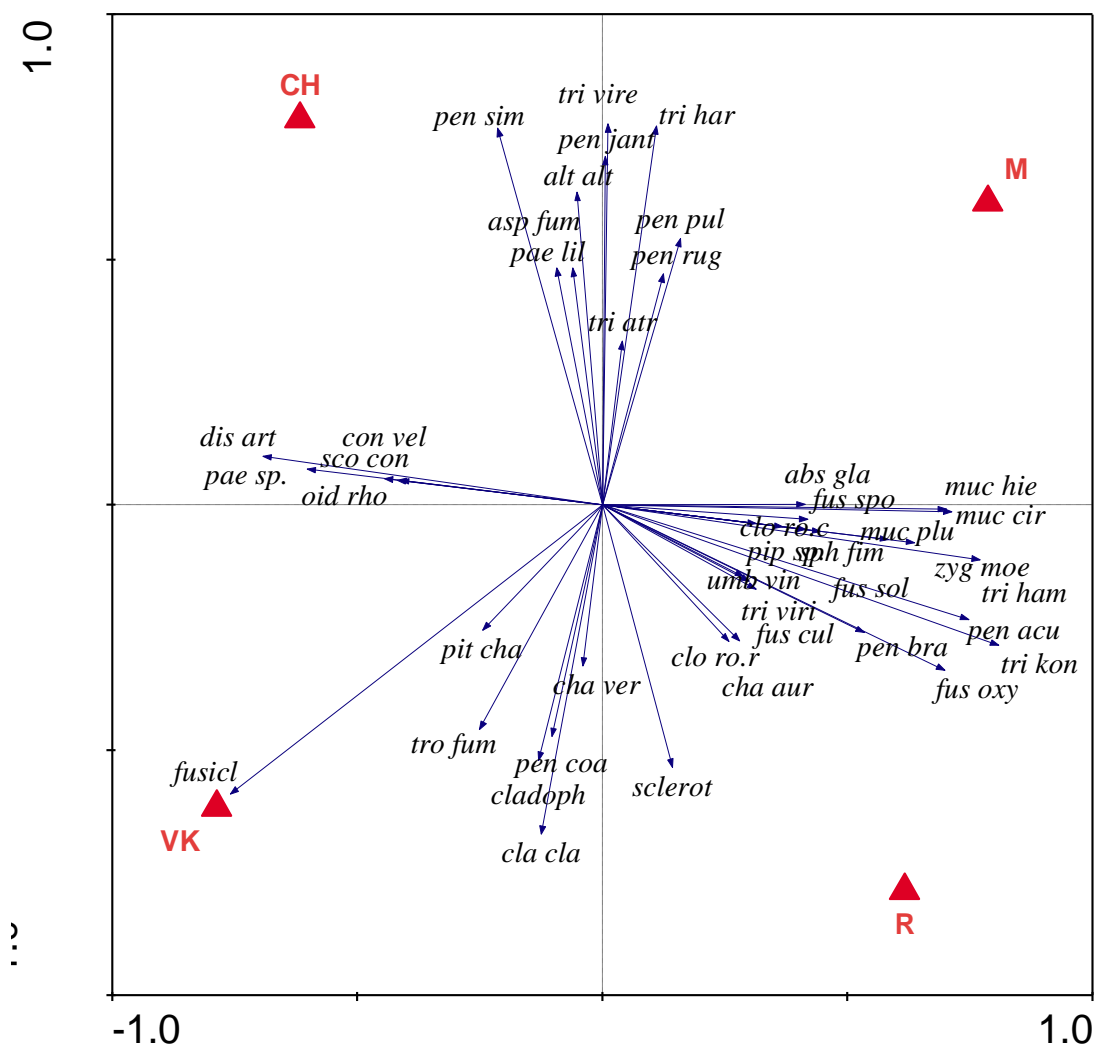
Redundanční analýza (RDA) potvrdila signifikantní vliv proměnných lokalita a metoda. Proměnná lokalita vysvětlovala 23,4 % celkové variability dat, metoda stanovení hub 23,5 %. Signifikantní byl i vliv času (3,9 %) a typu použitého opadového sáčku (1 %) (tab. 10).

Z grafu 2 je patrné, že opad z Ralska byl charakteristický zejména zvýšenou četností druhů *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma koningiopsis*, *T. hamatum*, *Penicillium brasilianum*, *P. aculeatum*, *Zygorhynchus moelleri*, *Sclerotinia* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium aureum* a *Clonostachys rosea*, zatímco vyšší četnost druhů

*Penicillium simplicissimum*, *P. janthinellum*, *P. pulvillorum*, *Trichoderma virens*, *T. harzianum*, *Alternaria alternata*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces* sp., *Discosia artocreas* nebo *Aspergillus fumigatus* charakterizovala opad z Chvaletic.

Ve snímcích získaných metodou izolace hub na agarové plotny dominovaly *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Zygorhynchus moelleri*, *Sphaerodes fimicola*, *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces lilacinus*. Naopak mezi druhy, jejichž izolace byla nejméně vázána na metodu vlhkých komůrek, patřily *Paecilomyces* sp., *Discosia artocreas*, *Cladosporium cladosporioides*, *Tropospora fumosa*, *Cladophialophora* sp., *Penicillium coalescens* a *Oidiodendron rhodogenum*.

**Graf 2.** Ordinační diagram RDA. Vliv stanoviště (R – Ralsko, CH – Chvaletice) a metody stanovení hub (VK – vlhké komůrky, M – izolace na agarová média) na frekvenci výskytu (zachycení) mikroskopických hub na opadu břízy.





**Tab. 10.** Výsledky analýzy RDA a permutačního testu Monte-Carlo při aplikaci na veškerá data o výskytu hub na opadu ve Chvaleticích a Ralsku - p hodnota, F hodnota a % celkové variability vysvětlené danou proměnnou.

	P	F	%
lokality	0,001	24,9	23,4
metoda	0,001	24,9	23,5
čas	0,001	4,2	3,9
typ sáčku	0,001	1	1

### Porovnání dat z jednotlivých lokalit

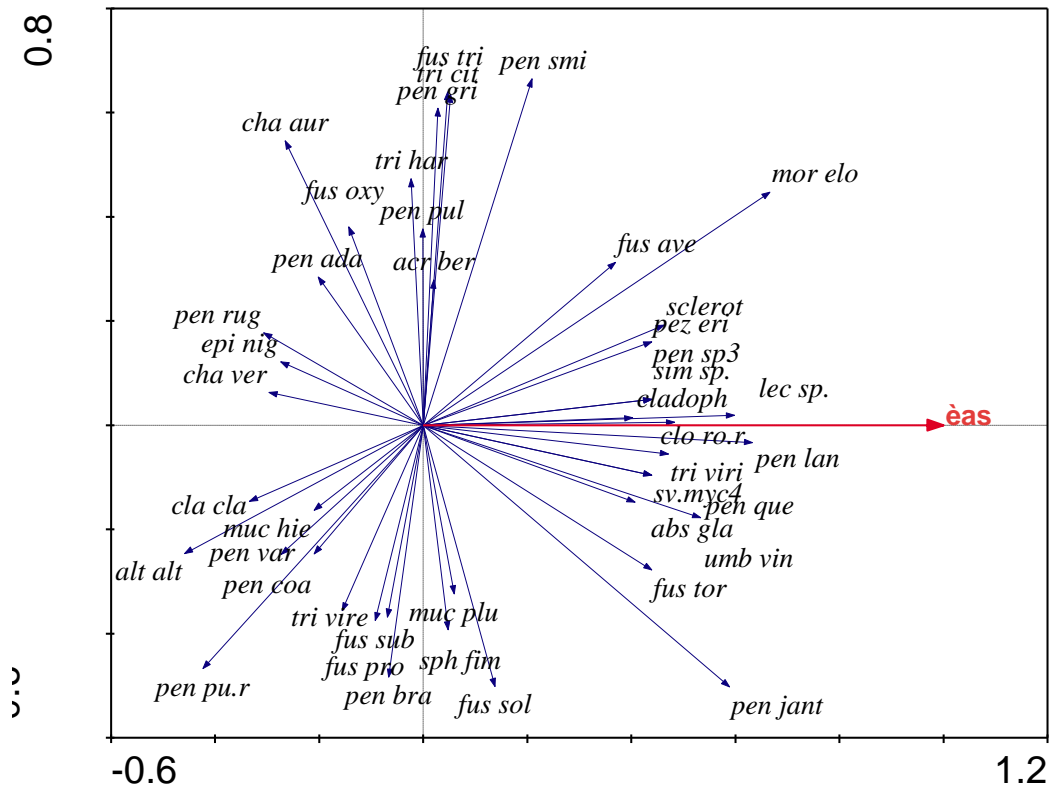
Při samostatném hodnocení dat o výskytu hub na jednotlivých lokalitách byl v obou případech potvrzen signifikantní vliv metody a času. Vliv metody vysvětloval v Ralsku 44,9 % celkové variability dat, ve Chvaleticích 45,3 %. Vliv času zodpovídal za 5,9 % celkové variability dat v Ralsku a 9,2 % ve Chvaleticích (tab. 11).

Mezi druhy s nejvýraznější negativní korelací frekvence výskytu s časem patřily na obou lokalitách *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium purpurogenum* var. *rubrisclerotium*, *P. rugulosum* a *P. coalescens*. Ve Chvaleticích to byly dále druhy *Umbelopsis rammaniana* a *Trichoderma harzianum*, a v Ralsku druhy *Mucor hiemalis*, *Chaetomium aureum*, *Pithomyces chartarum*, *Chaetosphaeria vermicularioides*, *Penicillium variable* a *P. adametzii* (graf 3, 4).

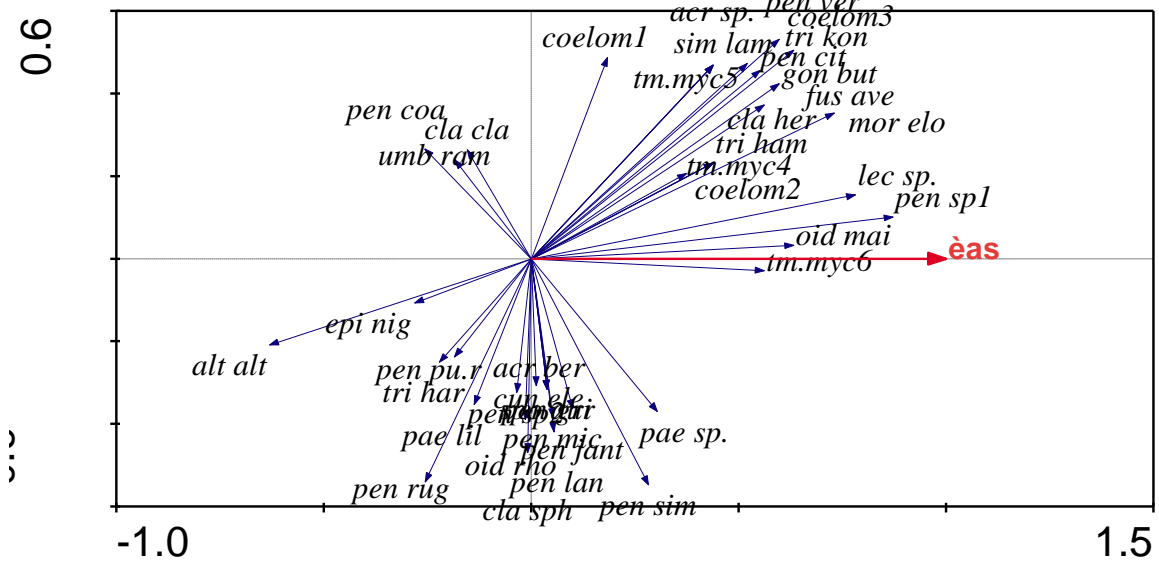
Mezi druhy s těžším výskytem v pozdější fázi pokusu patřily na obou lokalitách shodně *Mortierella* sp., *Lecanicillium* sp. a *Fusarium avenaceum*, ve Chvaleticích to byly dále druhy *Oidiodendron maius*, *Penicillium* sp. 1, tmavé sterilní mycelium 6, *Trichoderma koningiopsis*, coelomycet 3, *Gongronella butleri*, *P. citrinum*, *P. verruculosum*, *Acremonium* sp. a *Simplicillium lamelicola* a v Ralsku *Penicillium lanosum*, *P. janthinellum*, *Cladophialophora* sp., *Absidia glauca*, *Sclerotinia* sp., *Umbelopsis vinacea*, *Trichoderma viride*, *Clonostachys rosea* f. *rosea*, *Fusarium torulosum*, *Pezizella ericae*, *Simplicillium* sp. (graf 3, 4).

Vliv typu opadového sáčku nebyl signifikantní ani na jedné lokalitě. Ve Chvaleticích však byl určitý vliv této proměnné patrný (2,6 %, P=0,002). Druhy *Troposporella fumosa*, *Oidiodendron maius* a *Mucor circinelloides* projevovaly nejvíce tendenci zvýšeného výskytu na opadu v sáčkách z jemného pletiva, naopak druhy *Penicillium rugulosum*, *P. crustosum*, *Paecilomyces lilacinus* nebo *Cladophialophora* sp. v sáčkách z hrubého pletiva (graf 5).

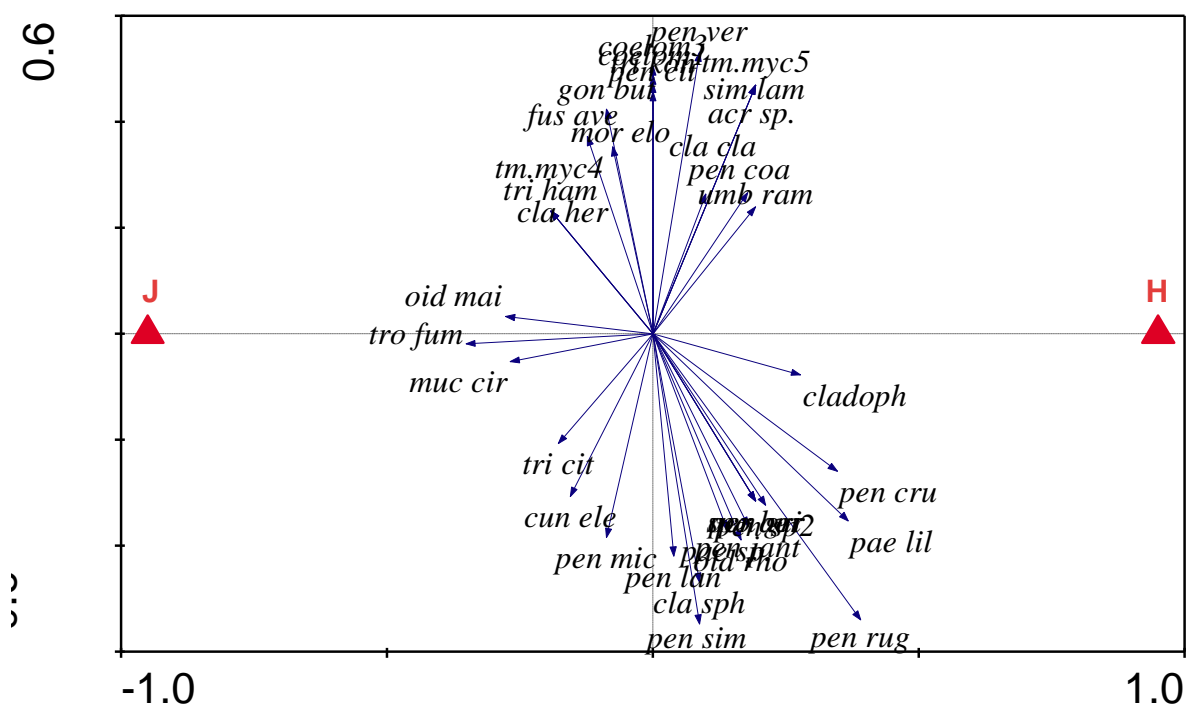
**Graf 3.** Ordinační diagram RDA. Vliv délky expozice opadu na frekvenci výskytu mikroskopických hub v Ralsku



**Graf 4.** Ordinační diagram RDA. Vliv délky expozice opadu na frekvenci výskytu mikroskopických hub ve Chvaleticích.



**Graf 5.** Ordinační diagram RDA. Vliv typu opadového sáčku na frekvenci výskytu mikroskopických hub na opadu ve Chvaleticích. H – sáčky z hrubého pletiva, J – sáčky z jemného pletiva.



**Tab. 11.** Výsledky analýzy RDA při odděleném hodnocení dat vztahujících se k jednotlivým lokalitám - p hodnota, F hodnota a % celkové variability vysvětlené danou proměnnou.

	Ralsko			Chvaletice		
	P	F	%	P	F	%
metoda	0,001	22,5	44,9	0,001	25,3	45,3
čas	0,001	2,9	5,9	0,001	5,1	9,2
typ sáčku	0,379	0,7	1,4	0,002	1,4	2,6

### Porovnání dat získaných různými metodami stanovení hub

Při odděleném hodnocení dat získaných různými metodami stanovení hub byl v obou případech průkazný vliv lokality a času. V datech získaných izolační metodou bylo % celkové variability vysvětlené proměnnou lokalita výrazně vyšší – 53,8 oproti 25,6. Proměnná čas vysvětlovala 9,7 % celkové variability ve výskytu hub na opadu ve vlhkých komůrkách a 6 % variability v datech získaných izolační metodou (tab. 12). Vliv typu opadového sáčku nebyl ani pro jednu metodu signifikantní, i když pro izolační metodu byl určitý vliv této proměnné patrný (1,7 % celkové variability,  $P=0,004$ ). Z grafu 6 vyplývá, že výskyt druhů *Piptocephalis* sp., *Penicillium rugulosum* a *P. crustosum* byl spíše vázán na sáčky z hrubého pletiva a druhů *Rhizopus stolonifer*, *P. purpurogenum* var. *rubrisclerotium* nebo *Trichoderma viride* naopak na sáčky z jemného pletiva.

**Tab. 12.** Výsledky analýzy RDA při odděleném hodnocení dat získaných různými metodami stanovení hub – p hodnota, F – hodnota, % celkové variability vysvětlené danou proměnnou.

	vlhké komůrky			izolace na agarová média		
	P	F	%	P	F	%
lokality	0,001	9,9	25,6	0,001	33,6	53,8
čas	0,001	3,8	9,7	0,001	3,8	6
typ sáčku	0,026	1,1	2,8	0,004	1	1,7

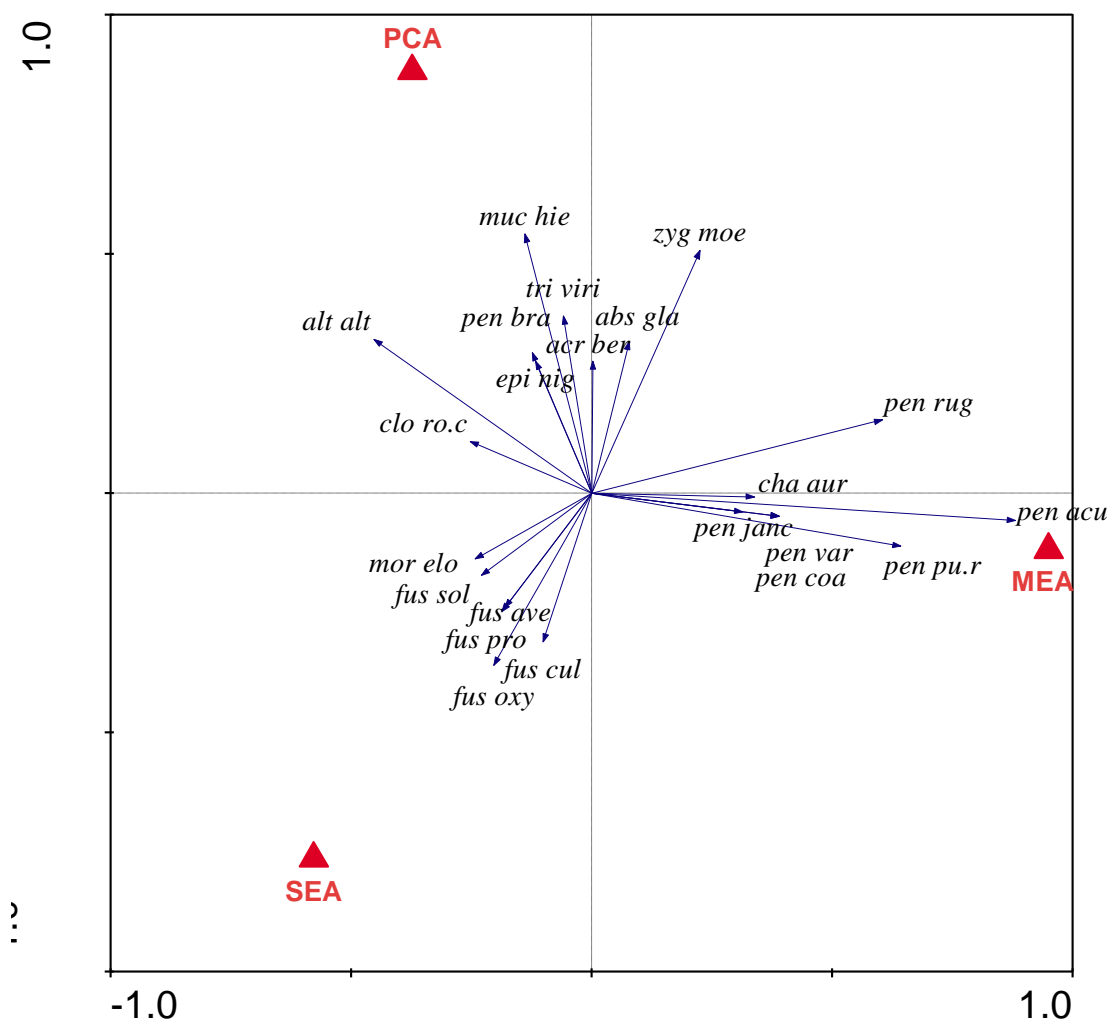
**Graf 6.** Ordinační diagram RDA. Vliv typu opadového sáčku na frekvenci izolace mikroskopických hub z opadu břízy. H – sáčky z hrubého pletiva, J – sáčky z jemného pletiva.



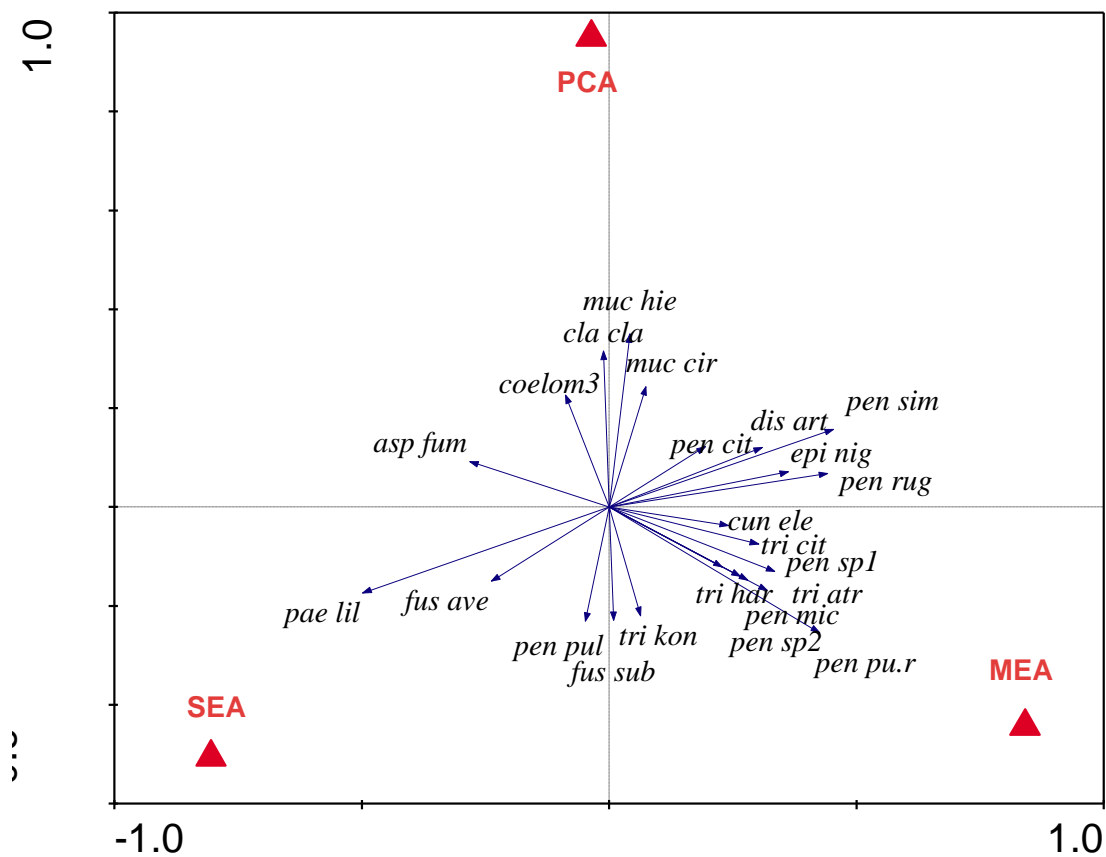
**Tab. 13.** Výsledky analýzy RDA aplikované na data získaná metodou izolace hub na agarová média. Zachycen je vliv typu izolačního média na frekvenci izolace hub – p hodnota, F hodnota, % celkové variability vysvětlené danou proměnnou.

	P	F	%
Ralsko	0,001	4,2	16,9
Chvaletice	0,001	2,8	11

**Graf 7.** Ordinační diagram RDA. Vliv typu izolačního média na frekvenci izolace mikroskopických hub z opadu v Ralsku.



**Graf 8.** Ordinační diagram RDA. Vliv typu izolačního média na frekvenci izolace mikroskopických hub z opadu ve Chvaleticích.



#### 5.1.4 Molekulární taxonomická analýza

Celkem 28 kmenů hub bylo podrobena analýze sekvencí. 14 z nich se podařilo zařadit do známých druhů, 13 bylo zařazeno do rodu. 1 kmen (sterilní mycelium VK 218) bylo možné zařadit pouze na úrovni oddělení (Basidiomycota).

Mezi morfotypy rodu *Trichoderma* bylo rozlišeno 7 známých druhů – *T. atroviride*, *T. citrinoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. virens* a *T. viride* (tab. 14). Kmen VK 454 představuje pravděpodobně dosud nepopsaný druh ze sekce *Trichoderma*.

Mezi ostatními kmeny byly identifikovány druhy *Coprinellus xanthothrix*, *Paraconiothyrium sporulosum*, *Penicillium adametzii*, *P. citrinum*, *Pezizella ericae*, *Mortierella elongata* a *Schizophyllum commune*. Zbývající kmeny byly zařazeny pouze do rodů (tab. 15).

Sekvence kmenů M 73, M 495 a VK 384 výsledně označených jako *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 1 a *Paecilomyces* sp., se do značné míry odlišovaly od všech sekvencí publikovaných v databázi GenBank. *Penicillium* sp. 1 vykazovalo některé morfologické znaky typické pro penicilia z podrodu *Biverticillium*. Podobnost s nejbližší nalezenou sekvencí však dosahovala pouhých 79 % pro ITS a 81 % pro  $\beta$ -tubulin. LSU sekvence kmene *Paecilomyces* sp. se s nejpodobnější nalezenou sekvencí shodovala jen z 94 % a ITS sekvence z 85 %.

**Tab. 14.** Taxonomické zařazení morfotypů rodu *Trichoderma* na základě analýzy sekvence ITS rDNA programem TrichOKey.

kmen	označení morfotypu	TrichoBLAST: taxonomické zařazení
M 27	<i>T. sp. 1</i>	<i>T. hamatum</i>
M 77	<i>T. citrinoviride</i>	<i>T. citrinoviride</i>
M 254	<i>T. koningii</i> II	<i>T. koningiopsis</i>
M 278	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>
M 383	<i>T. sp. 3</i>	<i>T. koningiopsis</i>
M 429	<i>T. hamatum</i>	<i>T. hamatum</i>
M 518	<i>T. koningii</i>	<i>T. koningiopsis</i>
M 557	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>
M 689	<i>T. virens</i>	<i>T. virens</i>
VK 22	<i>T. sp. 2</i>	<i>T. koningiopsis</i>
VK 433	<i>T. viride</i>	<i>T. viride</i>
VK 454	<i>T. sp. 4</i>	<i>T. sp.</i> (sekce <i>Trichoderma</i> )





**Tab. 15.** Výsledky analýzy sekvencí zástupců vybraných morfortypů hub.

kmen	označení morfortypu	sekvence	nejpodobnější sekvence (BLAST)	% podobnosti	počet shodných pozic	E hodnota	taxonomické zařazení
M 73	<i>Penicillium</i> sp. 2	ITS β-tubulin	AB369480 <i>Penicillium pinophilum</i> FJ387181 <i>Penicillium</i> sp. EF198563 <i>Penicillium angulare</i>	98 90 85	570/576 385/427 340/398	0.0 3e-151 3e-106	<i>Penicillium</i> sp.
M 283	bílé mycelium – černá sklerocia	LSU ITS	AF113739 <i>Sclerotinia veratri</i> EU123801 <i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	98 91	560/568 516/561	0.0 0.0	<i>Sclerotinia</i> sp.
M 289	<i>Lecanicillium</i> sp.	LSU ITS	AB378529 <i>Lecanicillium</i> sp. AB378528 <i>Lecanicillium</i> sp.	99 100	557/558 556/556	0.0 0.0	<i>Lecanicillium</i> sp.
M 439	<i>Penicillium</i> sp.	ITS β-tubulin	DQ123646 <i>Penicillium citrinum</i> EU128558 <i>Penicillium citrinum</i>	100 99	890/890 454/456	0.0 0.0	<i>Penicillium citrinum</i>
M 495	<i>Penicillium</i> sp. 1	ITS β-tubulin	AY533697 <i>Talaromyces wortmannii</i> AY753368 <i>Talaromyces bacillisporus</i>	79 83	316/397 375/449	9e-63 2e-108	<i>Penicillium</i> sp.
M 738	<i>Penicillium</i> sp.	ITS	AF033401 <i>Penicillium adametzii</i>	99	725/726	0.0	<i>Penicillium adametzii</i>
VK 58	světlé mycelium	ITS	AF361228 <i>Coprinus xanthothrix</i>	100	657/657	0.0	<i>Coprinellus xanthothrix</i>
VK 218	sterilní bílé mycelium 1	ITS	AY618223 <i>Ceratobasidium</i> sp.	96	554/575	0.0	Basidiomycota
VK 234	bílé mycelium	ITS	FJ478109 <i>Schizophyllum commune</i>	100	605/605	0.0	<i>Schizophyllum commune</i>
VK 384	<i>Paecilomyces</i> sp.	LSU LSU ITS	EU021608 <i>Talaromyces byssochlamydoides</i> AF033387 <i>Geosmithia emersonii</i> FJ548826 <i>Talaromyces byssochlamydoides</i>	94 93 85	527/563 530/563 385/452	0.0 0.0 6e-118	<i>Paecilomyces</i> sp.
VK 432	<i>Cladosporium</i> sp.	ITS ITS	EU035459 <i>Venturia hystrioides</i> EU035431 <i>Fusicladium fagi</i>	98 98	612/623 608/619	0.0 0.0	<i>Fusicladium</i> sp.
VK 475	<i>Cladophialophora</i> sp.	ITS	AY781217 <i>Cladophialophora</i> sp.	97	549/563	0.0	<i>Cladophialophora</i> sp.
VK 412	<i>Rhizoctonia</i> sp.	ITS	AB290021 <i>Ceratobasidium</i> sp.	98	615/626	0.0	<i>Ceratobasidium</i> sp.
M 681	<i>Mortierella</i> sp.	ITS ITS	AJ878504 <i>Mortierella elongata</i> EU755005 <i>Mortierellaceae</i> sp.	99 99	602/604 612/613	0.0 0.0	<i>Mortierella elongata</i>
VK 712	šedá arthrosporická	ITS	DQ093679 <i>Rhizoscyphus ericae</i>	99	502/504	0.0	<i>Pezizella ericae</i>
M 281	<i>Coniothyrium</i> sp.	ITS	AB303549 <i>Paraconiothyrium sporulosum</i>	100	554/554	0.0	<i>Paraconiothyrium sporulosum</i>

### 5.1.5 ITS – TRFLP

Metodou ITS-TRFLP s využitím primerů specifických pro jednotlivé skupiny hub bylo ve vzorcích opadu z odběru VII identifikováno celkem 73 různých ribotypů hub pro lokalitu Ralsko a 60 pro lokalitu Chvaletice (tab. 16). 31 % všech různých ribotypů z Chvaletic a Ralska se vyskytovalo na obou lokalitách.

Ve vzorcích z Ralska tvořily ribotypy askomycetů 39,7 %, chytridiomycetů 24,7 %, zygomycetů 16,4 %, oomycetů 9,6 % a bazidiomycetů 9,6 %. Ve vzorcích z Chvaletic byly ribotypy askomycetů zastoupeny 45 %, chytridiomycetů 35 %, oomycetů 10 %, zygomycetů 5 % a bazidiomycetů 5 % (graf 9).

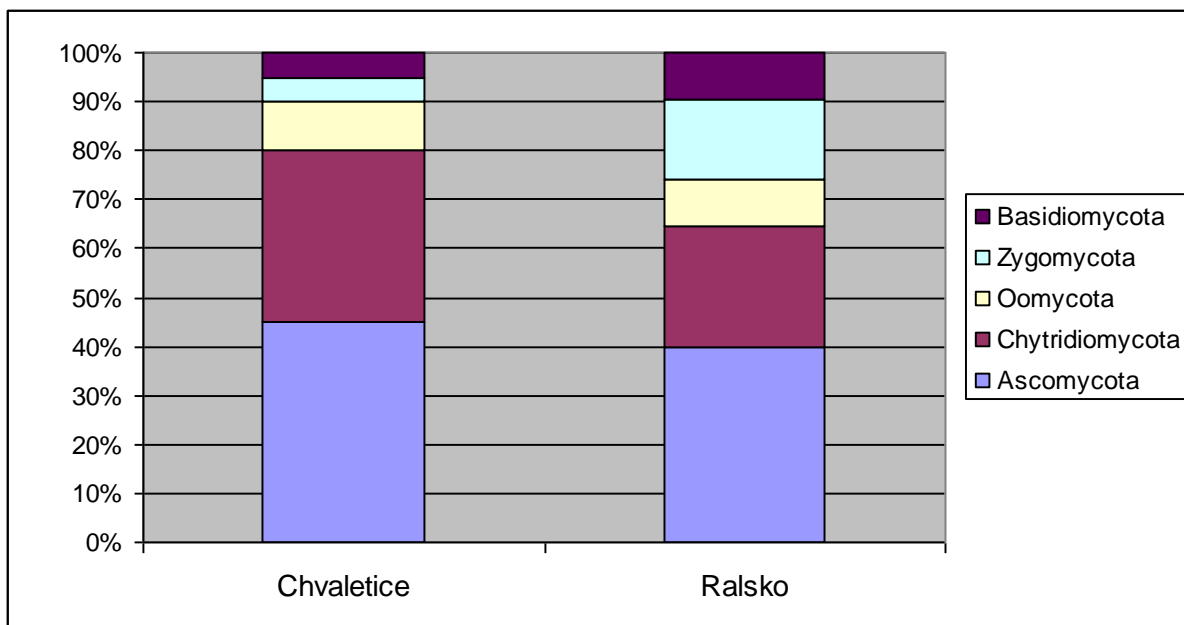
V Ralsku i ve Chvaleticích byl počet rozlišených ribotypů vyšší ve vzorcích opadu z hrubých sáčků (62 a 52) než u opadu z jemných sáčků (46 a 34).

Při společném hodnocení všech skupin hub oddělil výsledný diagram shlukovací analýzy vzorky z Ralska od vzorků z Chvaletic, přičemž vzorky z Chvaletic vykazovaly vyšší vzájemnou podobnost než vzorky z Ralska (graf 10). Při odděleném hodnocení dat o výskytu askomycetů i zygomycetů byl výsledek obdobný. Vzájemná podobnost mezi vzorky z Chvaletic byla vyšší oproti vzorkům z Ralska i v případě ostatních skupin hub. TRFLP profily chytridií a bazidiomycetů si však byly podobnější u vzorků z jemných sáčků z Ralska a Chvaletic než u vzorků z různého typu sáčků v rámci lokality (graf 11-A-E).

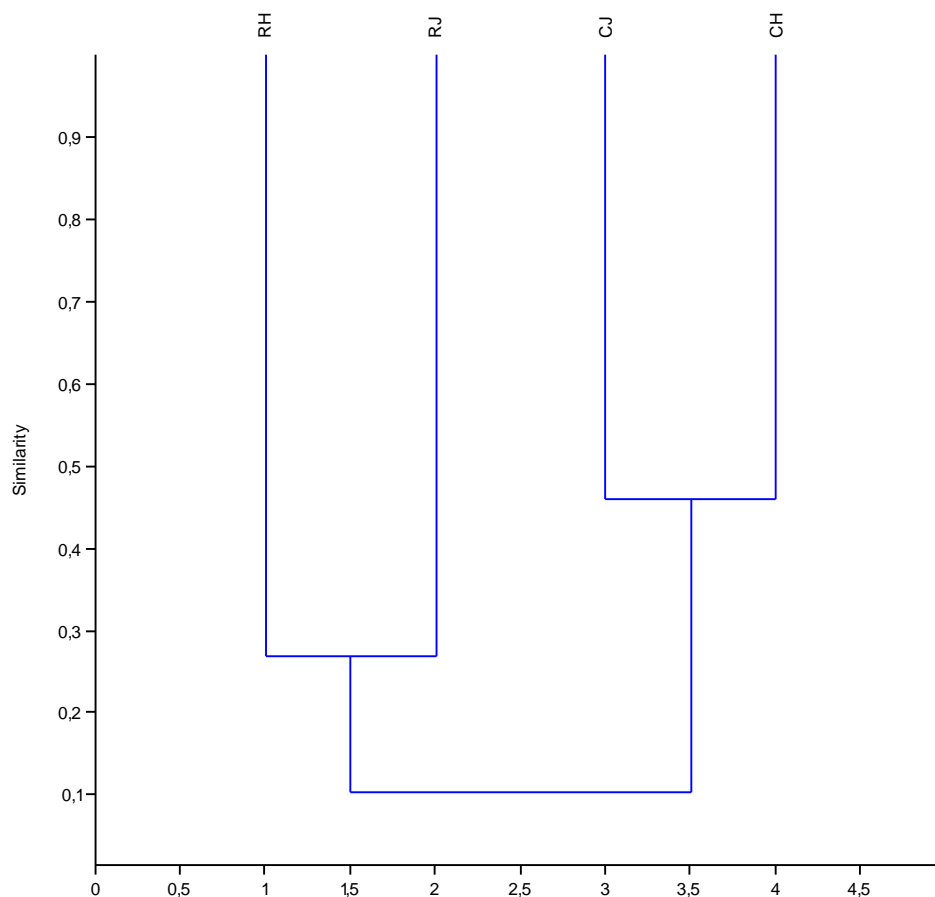
**Tab. 16.** Počty ribotypů hub rozlišených v TRFLP profilech vzorků opadu ze sáčků z hrubého pletiva (H) a jemného pletiva (J) v Ralsku a ve Chvaleticích

	Chvaletice			Ralsko		
	H	J	celkem	H	J	celkem
Ascomycota	27	17	27	28	21	29
Basidiomycota	3	1	3	5	2	7
Chytridiomycota	15	10	21	13	12	18
Oomycota	4	4	6	3	5	7
Zygomycota	3	2	3	11	6	12
celkem	52	34	60	62	46	73

**Graf 9.** Poměrné zastoupení ribotypů jednotlivých skupin hub ve vzorcích opadu z Ralska a Chvaletic.

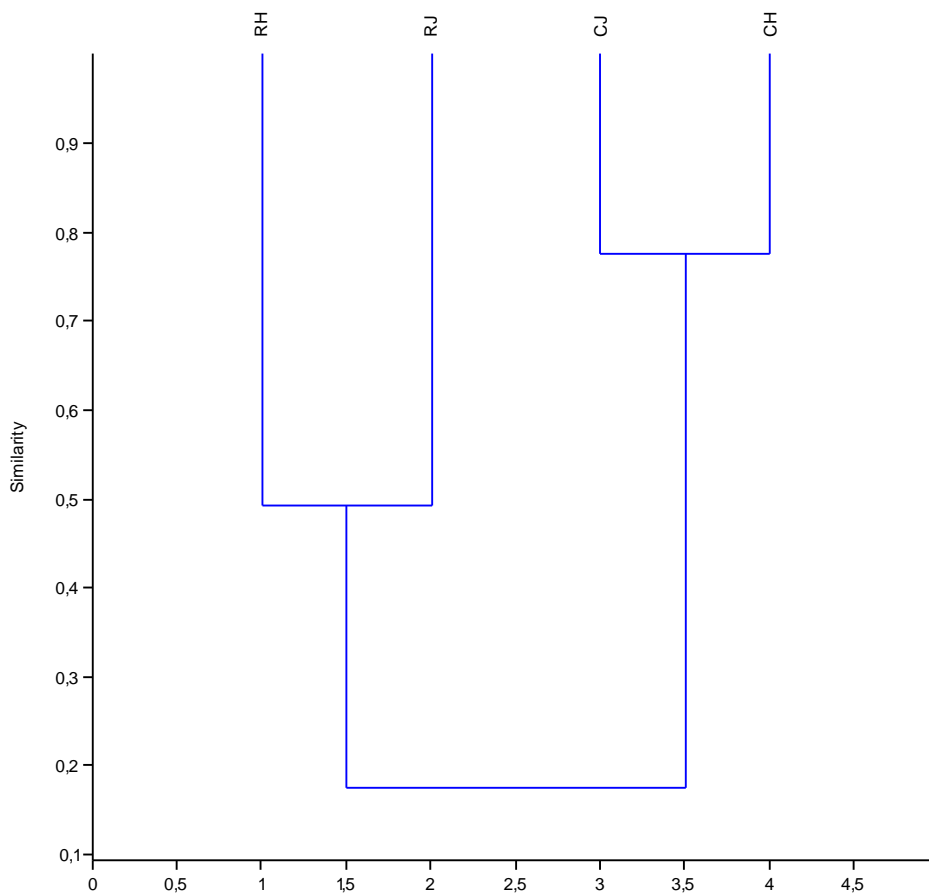


**Graf 10.** Podobnost vzorků opadu jednotlivých variant (R = Ralsko, C = Chvaletice, H = opadové sáčky z hrubého pletiva, J = opadové sáčky z jemného pletiva) na základě výskytu a intenzity fluorescence TRF všech skupin hub. (Algoritmus párových vzdáleností, Bray-Curtisovo měřítko vzdálenosti).

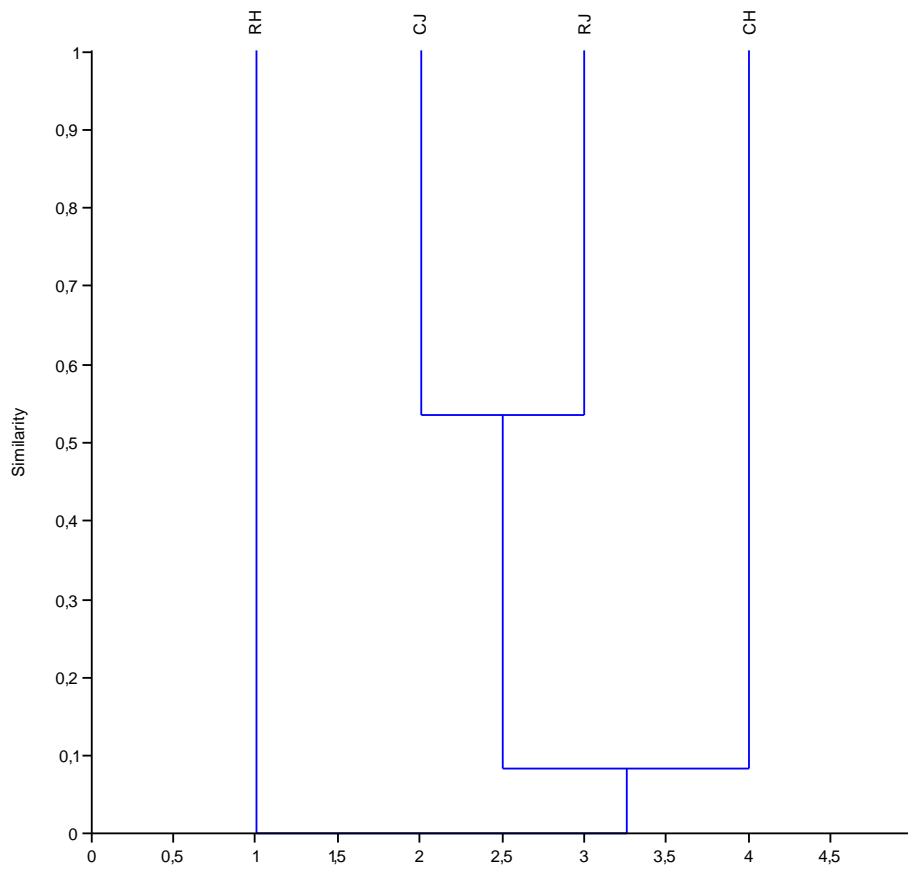


**Graf 11 (A-E).** Podobnost vzorků opadu jednotlivých variant (R = Ralsko, C = Chvaletice, H = opadové sáčky z hrubého pletiva, J = opadové sáčky z jemného pletiva) podle TRFLP profilů různých taxonomických skupin hub. (Algoritmus párových vzdáleností, Bray-Curtisovo měřítko vzdálenosti).

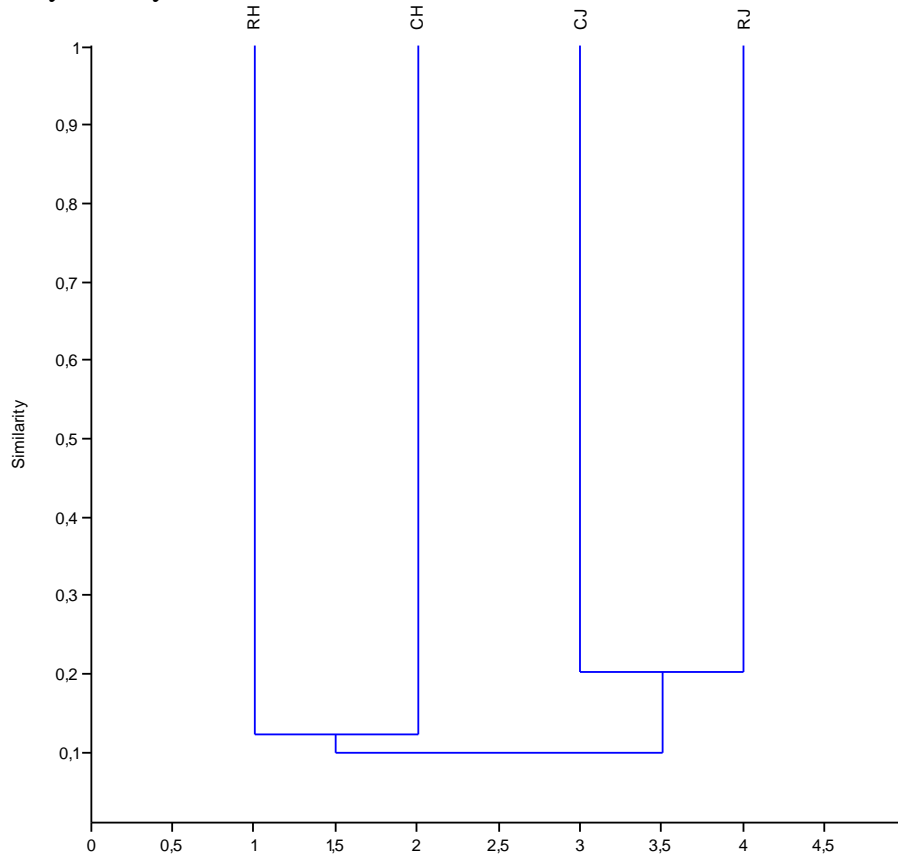
Graf 11-A. Ascomycota



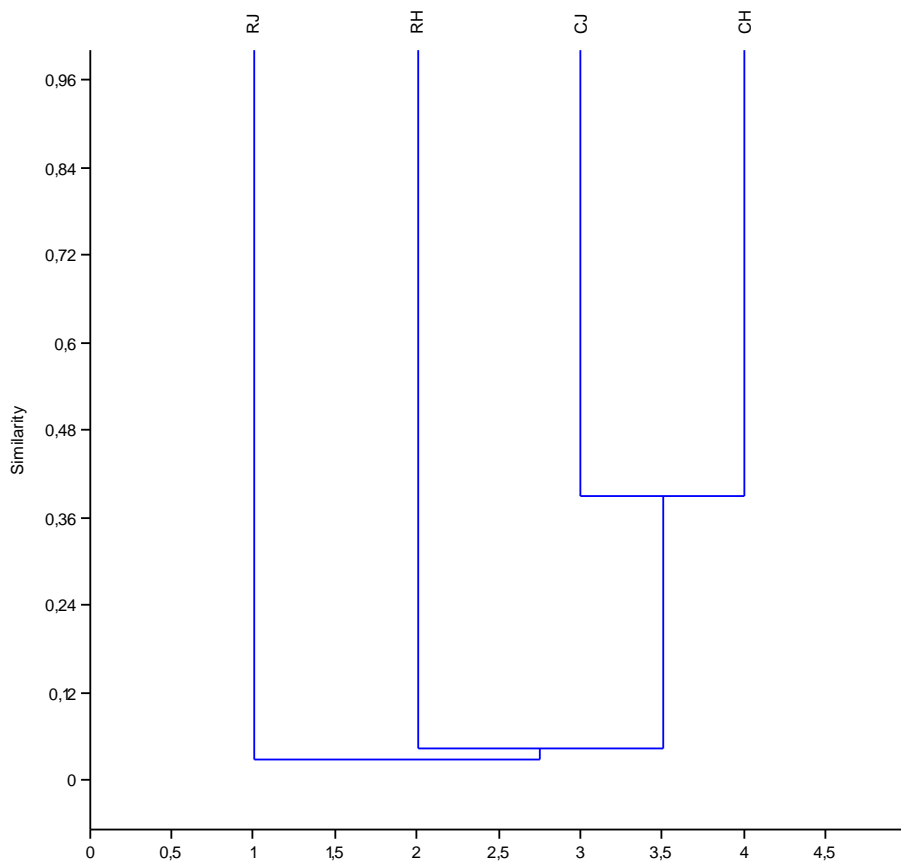
Graf 11-B. Basidiomycota



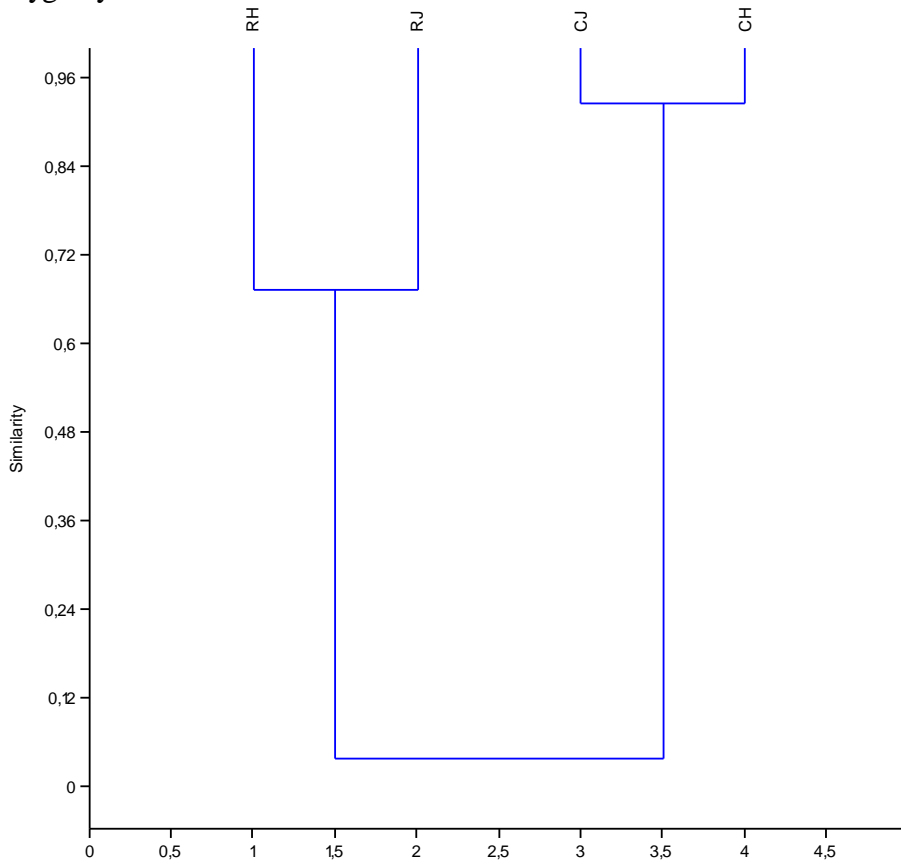
Graf 11-C. Chytridiomycota



Graf 11-D. Oomycota



Graf 11-E. Zygomycota



## 5.2 Dekompozice

### 5.2.1 Opad břízy

Dekompozice opadu probíhala nejrychleji v období prvního a druhého odběrového intervalu, kdy průměrné úbytky všech variant opadu dosáhly 11,2 % a 10,2 % původní hmotnosti. V pozdějším období dosáhl průměrný úbytek za dva měsíce nejvýše hodnoty 5,6 % (I. – III. 07).

Průměrná roční konstanta rozkladu  $k$  dosáhla v Ralsku hodnot 0,382 a 0,293, ve Chvaleticích 0,154 a 0,174 pro opad v sáčcích z hrubého a jemného pletiva po řadě.

Analýza variance hmotnostních úbytků ze závěrečného odběru prokázala signifikantní efekt lokality a interakce lokality s typem sáčku, zatímco efekt typu sáčku nebyl statisticky významný (tab. 17).

**Tab. 17.** ANOVA – efekt lokality a typu opadového sáčku na hmotnostní úbytky opadu po 30 měsících rozkladu.

	součet čtverců	stupně volnosti	průměr čtverců	F hodnota	p hodnota
lokality	2118	1	2118	104,1	<b>0,000</b>
typ sáčku	39,38	1	39,38	1,936	0,189
interakce	167,1	1	167,1	8,212	<b>0,014</b>
chyba	244,1	12	20,34		
celkem	2569	15			

Při použití obou typů sáčků byly po 30 měsících expozice zjištěny vyšší hmotnostní úbytky u opadu z Ralska (tab. 18). Zatímco u opadu z jemných sáčků byly úbytky v Ralsku vyšší v průběhu celého období, při použití sáčků z hrubého pletiva probíhala z počátku dekompozice rychleji ve Chvaleticích, takže ještě po 10 měsících byly úbytky opadu na této lokalitě vyšší než v Ralsku (grafy 12, 13).

V Ralsku byly v závěrečném odběru zjištěny vyšší úbytky u opadu z hrubých sáčků oproti opadu z jemných sáčků (tab. 18). Zpočátku však dekompozice probíhala rychleji u opadu v sáčcích z jemného pletiva a ještě po 8 měsících expozice byl úbytek hmotnosti vyšší v této variantě (graf 14).

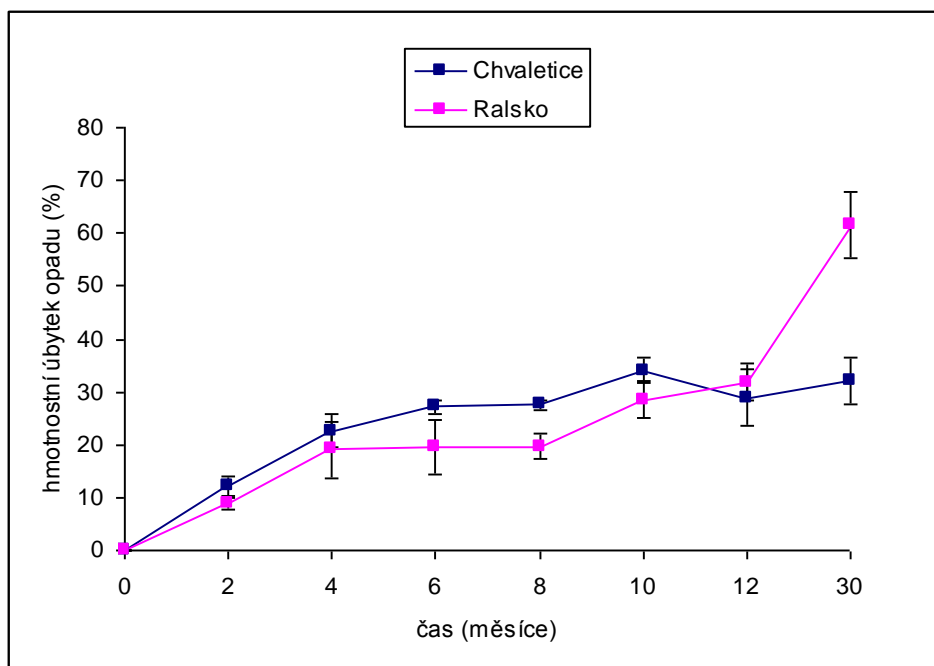
Ve Chvaleticích nebyl po 30 měsících zjištěn významný rozdíl mezi hmotnostními úbytky opadu v obou typech sáčků (tab. 18). V prvním roce pokusu se opad na této lokalitě rozkládal rychleji v sáčcích z hrubého pletiva (graf 15).



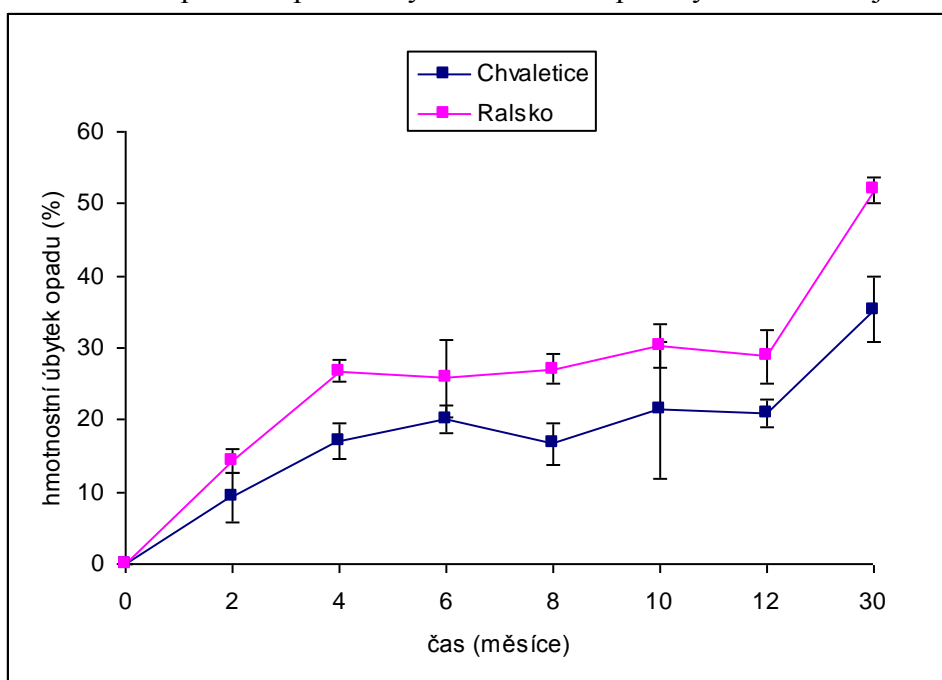
**Tab. 18.** Tukeyův HSD test mnohonásobného porovnávání - p hodnoty. Hodnoceny byly hmotnostní úbytky opadu po 30 měsících rozkladu. R = Ralsko, C = Chvaletice, H = sáčky z hrubého pletiva, J = sáčky z jemného pletiva

	RH	RJ	CH	CJ
RH		<b>0,048</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
RJ	<b>0,048</b>		<b>0,000</b>	<b>0,001</b>
CH	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>		0,729
CJ	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,729	

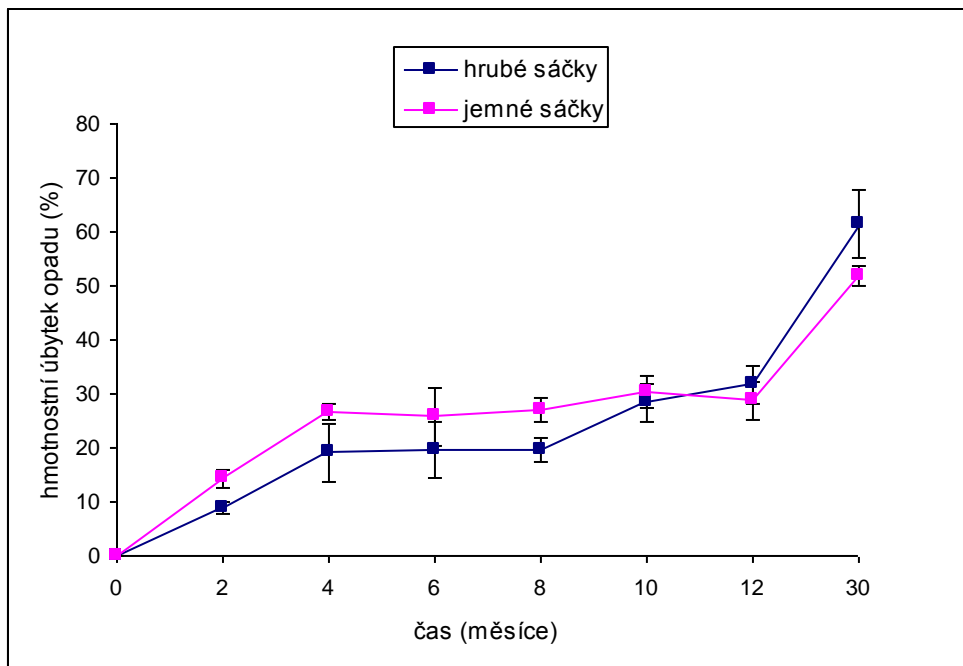
**Graf 12.** Průběh dekompozice opadu břízy uloženého v opadových sáčcích z hrubého pletiva



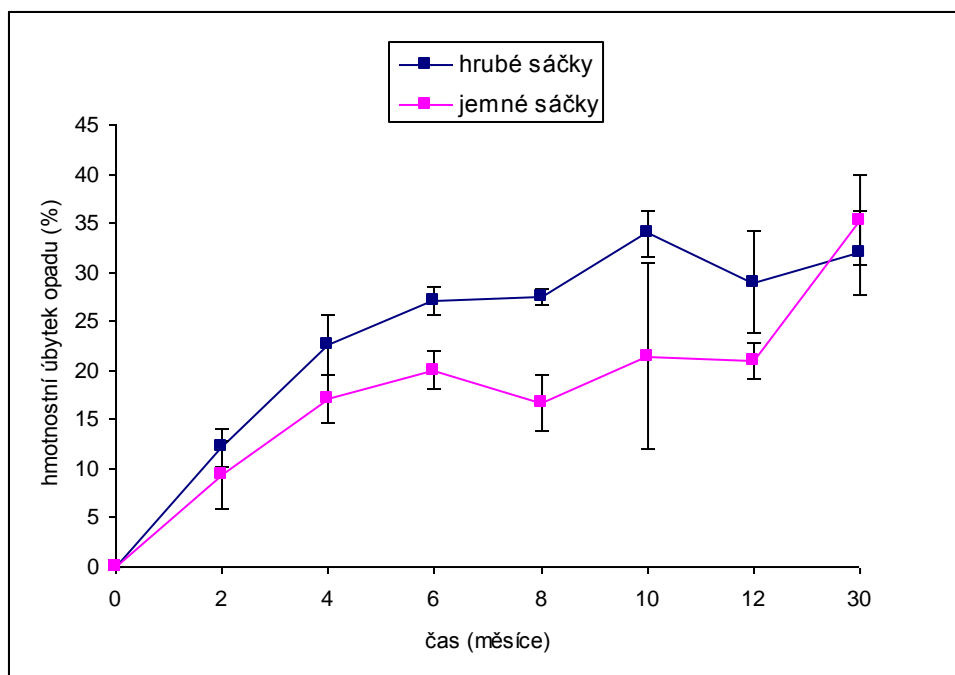
**Graf 13.** Průběh dekompozice opadu břízy uloženého v opadových sáčcích z jemného pletiva.



**Graf 14.** Průběh dekompozice listového opadu břízy v Ralsku.



**Graf 15.** Průběh dekompozice listového opadu břízy ve Chvaleticích.



### 5.2.2 Modelová celulóza

Analýza variance hmotnostních úbytků celulózy ve sledovaném období potvrdila signifikantní vliv lokality, odběrového intervalu i jejich interakce (tab. 19).

V prvním odběrovém intervalu (V. - VII. 06) nebyl rozdíl v hmotnostních úbytcích celulózy mezi oběma lokalitami významný (tab. 20). Ve druhém a třetím intervalu (VII. - IX.

06, IX. – XI. 06) byly úbytky celulózy významně vyšší v Ralsku (56,9 % a 30,2 %) než ve Chvaleticích (9,8 % a 5,7 %), ve čtvrtém intervalu (XI. 06 – I. 07) ve Chvaleticích. V závěru sledovaného období (I. – III. 07, III. – V. 07) se průměrné úbytky mezi lokalitami významně nelišily. V tomto období byla v Ralsku i ve Chvaleticích průměrná hmotnost vzorků celulózy po expozici dokonce vyšší než před expozicí (tyto hodnoty nejsou v grafu uvedeny) (graf 16).

Na lokalitě Ralsko byly zjištěny významné rozdíly v rychlosti dekompozice mezi jednotlivými po sobě následujícími odběrovými intervaly (tab. 20). Rozdíl nebyl statisticky významný pouze mezi dvěma posledními (intervaly). Ve Chvaleticích byl zjištěn významný rozdíl v rychlosti dekompozice pouze mezi odběrovými intervaly IV a V.

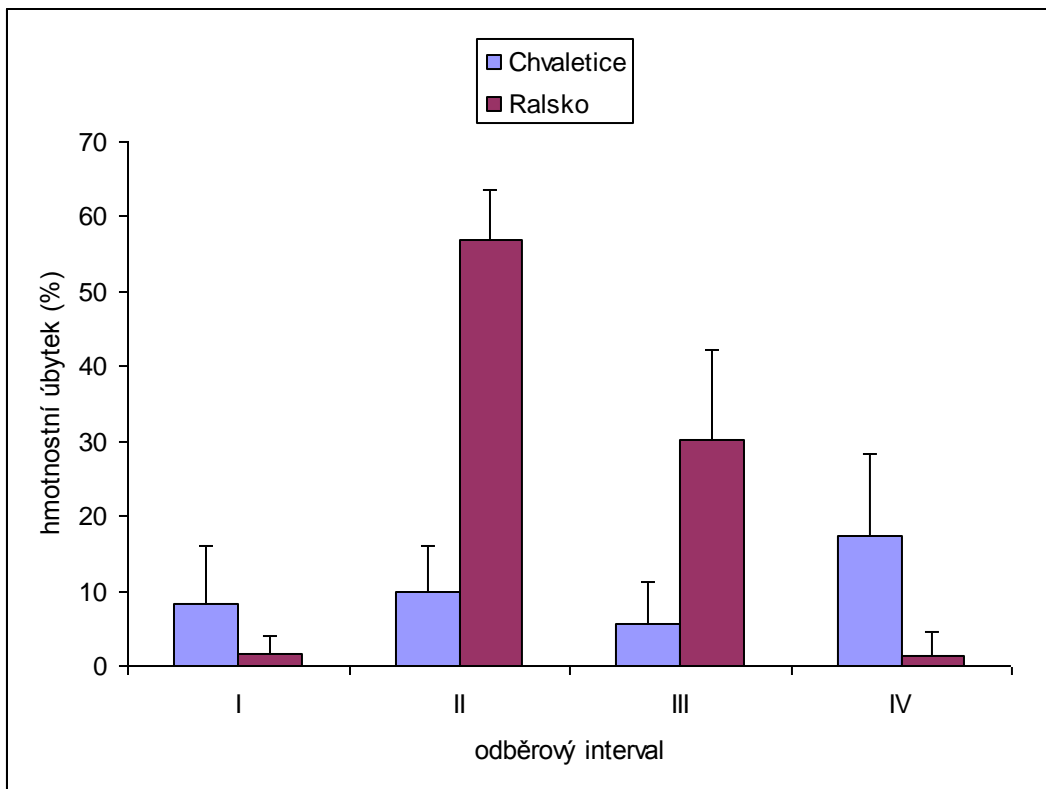
**Tab. 19.** ANOVA – efekt lokality a odběru na hmotnostní úbytky celulózy.

	součet čtverců	stupně volnosti	průměr čtverců	F hodnota	p hodnota
lokality	804	1	804	21,07	<b>0,000</b>
odběr	6913	5	1383	36,23	<b>0,000</b>
interakce	5430	5	1086	28,46	<b>0,000</b>
chyba	1374	36	38,16		
celkem	14520	47			

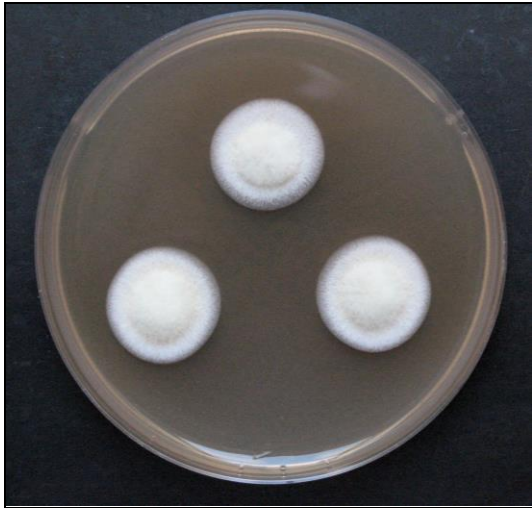
**Tab. 20.** Tukeyův HSD test mnohonásobného porovnávání – p hodnoty. Hodnoceny byly hmotnostní úbytky celulózy v Ralsku (R) a ve Chvaleticích (C) v jednotlivých odběrových intervalech (1 – 6).

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	R1	R2	R3	R4	R5	R6
C1		1,000	1,000	0,643	0,867	0,358	0,918	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,907	0,667	0,628
C2	1,000		0,998	0,840	0,681	0,197	0,762	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>	0,743	0,446	0,409
C3	1,000	0,998		0,277	0,994	0,740	0,998	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,998	0,949	0,933
C4	0,643	0,840	0,277		<b>0,026</b>	<b>0,003</b>	<b>0,037</b>	<b>0,000</b>	0,177	<b>0,034</b>	<b>0,010</b>	<b>0,009</b>
C5	0,867	0,681	0,994	<b>0,026</b>		0,999	1,000	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	1,000	1,000	1,000
C6	0,358	0,197	0,740	<b>0,003</b>	0,999		0,997	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,998	1,000	1,000
R1	0,918	0,762	0,998	<b>0,037</b>	1,000	0,997		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	1,000	1,000	1,000
R2	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
R3	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	0,177	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
R4	0,907	0,743	0,998	<b>0,034</b>	1,000	0,998	1,000	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>		1,000	1,000
R5	0,667	0,446	0,949	<b>0,010</b>	1,000	1,000	1,000	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	1,000		1,000
R6	0,628	0,409	0,933	<b>0,009</b>	1,000	1,000	1,000	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	1,000	1,000	

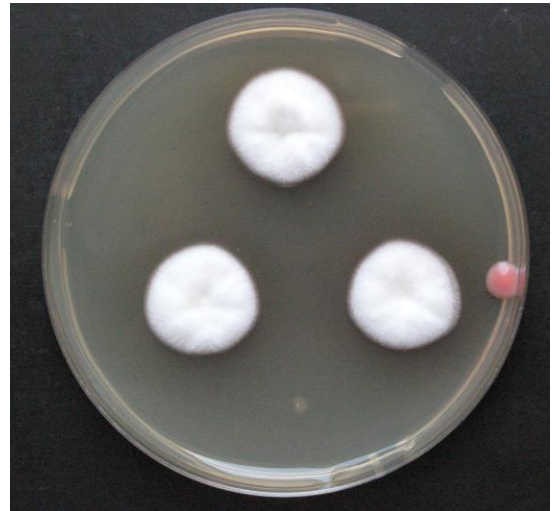
**Graf 16.** Hmotnostní úbytky modelové celulózy v odběrových intervalech I – IV.



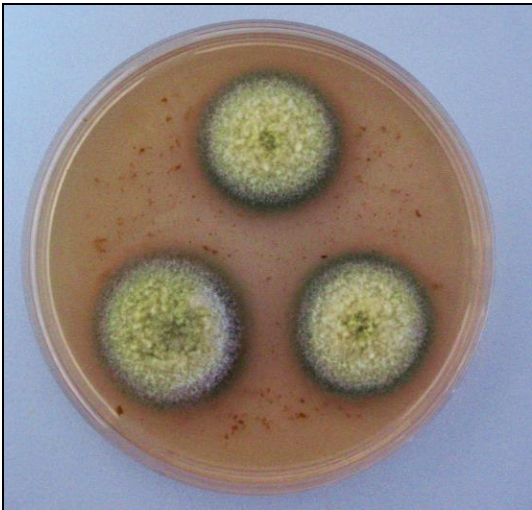
## **Příloha II**



Obr. 11. *Penicillium* sp. 1 – MEA, 7 dní, 24°C



Obr.12. *Penicillium* sp. 1 – CYA, 7 dní, 24 °C



Obr. 13. *Penicillium* sp. 2 – MEA, 7 dní, 24°C



Obr.14. *Penicillium* sp. 2 – CYA, 7 dní, 24°C



Obr. 15. *Penicillium* sp. 2 – MEA, 14 dní, 24°C



Obr. 16. *Penicillium* sp. 2., reverz – MEA, 14 dní



Obr.17. *Paecilomyces* sp. – MEA, 14 dní, 24°C



Obr. 18. *Chaetomium aureum* – MEA, 14 dní, 24°C



Obr. 19. *Sporotrichum aurantiacum* – MEA,  
7 dní, 24°C



Obr. 20. *Fusicladium* sp. – OA, 7 dní, 24°C

## 6 Diskuze

### 6.1 Studium dekompozice

#### 6.1.1 Dekompozice listového opadu břízy

##### Průběh rozkladu

Průběh dekompozice opadu břízy byl ve sledovaném období na obou lokalitách a při použití obou typů sáčků podobný. Po relativně vysokých hmotnostních úbytcích v prvních měsících docházelo k postupnému zpomalování rozkladu. Takový průběh byl zaznamenán v řadě studií, přestože se vztahovaly k rozdílným druhům opadu a rozdílnému prostředí (např. Parsons et al. 2004; Johnson et Hale 2004; Fioretto et al. 2005; Jirout et al. 2005; Quideau et al. 2005). Změny v rychlosti dekompozice opadu jsou způsobeny především měnícím se chemickým složením opadu a s tím související sukcesí společenstva mikroorganismů, které substrát využívají. Vyšší počáteční hmotnostní úbytky souvisí s dekompozicí rozpustných složek opadu, pozdější zpomalování rozkladu je dáno postupným vyčerpáním těchto složek a pomalou dekompozicí lignifikované celulózy a ligninu (Berg et al. 1984; Aber et al. 1990).

##### Rychlost rozkladu

Ve srovnání s údaji uváděnými pro opad břízy v literatuře byla rychlost dekompozice na obou lokalitách nízká. Roční konstanta rozkladu  $k$  dosáhla hodnot 0,38 a 0,29 pro opad v Ralsku a 0,15 a 0,17 pro opad ve Chvaleticích při použití sáčků z hrubého a jemného pletiva po řadě.

Ve studii provedené v centrálním Finsku, ve které byla po tři vegetační sezóny sledována dekompozice opadu břízy (*Betula pendula*), byly zjištěny hodnoty roční konstanty rozkladu  $k = 0,43$ ,  $0,56$  a  $0,45$  (Kasurinen et al. 2006). Parsons et al. (2004) stanovili pro opad *Betula papyrifera* na lesním stanovišti v severním Wisconsinu hodnotu  $k = 0,89$ . Za laboratorních podmínek probíhala dekompozice stejného druhu opadu s rychlostí odpovídající hodnotě  $k = 0,63$  a  $0,97$ , při teplotě  $10^{\circ}\text{C}$  a  $25^{\circ}\text{C}$  po řadě (Daubenmire et Prusso 1963). Hodnota  $k$  pro listový opad *Betula pubescens* rozkládající se v březových lesích Skotské vysočiny činila  $0,94$  (King et al. 2002). Výsledkem tříletého experimentu s opadem *Betula* sp. v subalpínském jehličnatém lese v Japonsku byla hodnota  $0,43$  (Tian et al. 2000).

Rychlost dekompozice opadu na studijních plochách v Ralsku a ve Chvaleticích se nejvíce blížila hodnotám zjištěným pro opad *Betula papyrifera* rozkládající se na místech kontaminovaných vysokými koncentracemi těžkých kovů v blízkosti hutí v Sudbury



v Ontariu a Rouyn-Noranda v Quebecu, kde  $k$  dosahovala hodnot 0,24 a 0,36 oproti hodnotám 0,56 a 0,51 na kontrolních místech (Johnson et Hale 2004).

Výsledky této studie přitom skutečnou rychlost dekompozice na stanovištích pravděpodobně nadhodnocují. Uložení sáčků pod povrchovou krustu vystavilo opad podmínkám, které jsou pro rozklad příznivější než ty, které panují na povrchu. Rychlejší rozklad opadu v sáčcích uložených do půdy ve srovnání se sáčky umístěnými na povrchu pozorovali např. McClaugherty et al. (1985) nebo Koide et Shumway (2000).

### **Vliv lokality a typu sáčku**

Při použití obou typů opadových sáčků byl stupeň rozkladu dosažený po 30 měsících pokusu přibližně dvakrát vyšší u opadu v Ralsku než u opadu ve Chvaleticích. Průběžné výsledky porovnání obou lokalit se však podle typu použitého sáčku lišily. Zatímco úbytky opadu v sáčcích z jemného pletiva byly vždy vyšší v Ralsku, u opadu v sáčcích z hrubého pletiva probíhal v prvních měsících rozklad rychleji ve Chvaleticích. Z těchto pozorování vyplývají následující skutečnosti:

1. Dekompozice opadu brzy probíhá ve Chvaleticích celkově pomaleji než v Ralsku.

Rozdíl je však dán výrazně nižší rychlostí rozkladu až v pozdějších fázích dekompozice.

2. Velikost ok síťoviny opadového sáčku ovlivňuje rychlost dekompozice.

Tento jev zaznamenali obdobně např. autoři Hopkins et al. (1990), Koide et Shumway (2000) nebo Jirout et al. (2005). Čím je síťovina hrubší, tím menší je pravděpodobnost, že bude rozklad opadu v sáčku ovlivněn, ať už změnou mikroklimatických podmínek rozkladu nebo omezením možnosti kolonizace opadu různými skupinami dekompozitorů. Příliš hrubá síťovina na druhé straně způsobuje nepřesnosti při měření úbytků hmotnosti kvůli ulpívání částic půdy, prorůstání sáčků rostlinami a ztrátě fragmentů opadu ze sáčků. Sáčky o velikosti ok 1 - 2 mm představují vhodný kompromis a jsou pro studium dekompozice používány nejčastěji. Předpokládá se, že rychlost dekompozice zaznamenaná při použití takových sáčků nejspíše odpovídá skutečné rychlosti dekompozice na stanovišti. Při porovnávání rychlosti dekompozice na stanovištích v Ralsku a ve Chvaleticích je proto třeba přikládat větší význam výsledkům získaným při použití sáčků z hrubého pletiva.

3. Délka expozice opadu může zásadně ovlivnit výsledek porovnání stanovišť, co do rychlosti dekompozice.

V prvních měsících se opad rozkládal rychleji ve Chvaleticích. Předčasné ukončení pokusu by přineslo odlišné výsledky porovnání obou lokalit. Podle Tesařové (1987) je pro

porovnávání rychlosti dekompozice mezi stanovišti metodou opadových sáčků vhodná doba 6 – 12 měsíců. V prostředí, kde dekompozice probíhá celkově pomaleji není takové časové rozpětí dostatečné a může vést k mylným závěrům.

Efekt typu sáčku na rychlost rozkladu byl pro každé stanoviště specifický. Stejný jev zaznamenali také Koide et Shumway (2000). Toto pozorování naznačuje, že faktory, které limitují rychlost dekompozice, jsou na sledovaných stanovištích odlišné. Způsob, jakým typ sáčku rychlost rozkladu ovlivní, závisí na specifických podmínkách daného stanoviště.

Vyšší výsledný stupeň rozkladu v sáčcích z hrubého pletiva v Ralsku byl způsoben až vyšší rychlostí dekompozice v závěru sledovaného období, kdy již byl opad značně fragmentovaný. Šlo tedy spíše o nadhodnocení dekompozice způsobené ztrátou fragmentů ze sáčků než o významný pozitivní vliv mezofauny na rozklad. V prvních měsících probíhal rozklad naopak rychleji v sáčcích z jemného pletiva, což lze nejlépe vysvětlit jako mikroklimatický artefakt. V prostředí, kde je vlhkost substrátu limitující, může být v důsledku příznivějších mikroklimatických podmínek v sáčcích z jemného pletiva rozklad opadu urychlen (Jirout et al. 2005).

Je pravděpodobné, že i při srovnatelném úhrnu srážek na obou studovaných lokalitách, je riziko deficitu půdní vlhkosti v písčitém substrátu v Ralsku vyšší než ve Chvaleticích, kde je substrát tvořen kaly s velmi jemnou texturou.

Příznivější vlhkostní poměry substrátu na odkališti mohou také vysvětlit vyšší počáteční rychlost dekompozice na této lokalitě ve srovnání s lokalitou Ralsko. Rozhodující vliv vlhkosti na rychlost dekompozice v počáteční fázi dokládá např. práce Torres et al. (2005). Kromě snížení dekompoziční aktivity mikroorganismů (např. Osono et al. 2003) omezuje nedostatečná vlhkost také fyzikální vyluhování rozpustných složek opadu.

### **6.1.2 Dekompozice modelové celulózy**

Rychlost dekompozice modelové celulózy byla na obou stanovištích extrémně nízká. Součtem úbytků z jednotlivých intervalů byla v Ralsku získána hodnota přibližně dvakrát vyšší než ve Chvaleticích. Přesto i úbytky na této lokalitě spadají do nejnižších kategorií Školkovy stupnice pro hodnocení rychlosti dekompozice celulózy v lesních ekosystémech (Školek 1980).

Významné rozdíly v rychlosti dekompozice mezi jednotlivými odběrovými intervaly na lokalitě Ralsko odrážejí rozhodující vliv sezóny. Nejvyšší celulólytická aktivita připadla na

období od července do listopadu, naopak nejnižší na období od ledna do května. Jedná se o obvyklý průběh zaznamenaný řadou autorů (např. Šimonovičová 1986, Suchara 1987, Tian et al. 2000, Osono et Takeda 2007). Kubartová et al. (2007) pozorovali v letní sezóny nejvyšší biomasu celulólytických hub.

Neobvykle vyrovnaná rychlost dekompozice celulózy v průběhu sezóny ve Chvaleticích (spolu s extrémně nízkými hodnotami zjištěných úbytků) svědčí o tom, že celulólytickou aktivitu na tomto stanovišti určuje především toxická povaha substrátu. Bespalova et al. (2006) v souladu s tímto zjištěním uvádějí, že sezónní dynamika mikroskopických hub byla v prostředí s antropogenními stresy méně výrazná než na nezatížených stanovištích.

Zvýšení hmotnosti vzorků celulózy během expozice pozorované v období od ledna do května 2007 dokládá existenci lag-fáze. V této fázi, která předchází exponenciální fázi rozkladu, je substrát kolonizován dekompozitory a jeho hmotnost proto nejprve mírně narůstá (Novák et Placerová 1998). Nízká celulólytická aktivita v zimních a jarních měsících je obvyklá, pokud však ani doba dvou měsíců nestačila k překonání lag-fáze, svědčí to o velmi extrémních podmínkách sledovaných ploch vzhledem k dekompozici.

## **6.2 Mikroskopické houby na opadu břízy**

### **6.2.1 Diverzita mikroskopických hub na opadu**

#### **Diverzita mikroskopických hub na opadu v prostředí antropogenních stanovišť**

Na opadu rozkládajícím se v prostředí sledovaných antropogenních stanovišť ve Chvaleticích a v Ralsku bylo s použitím klasických metod izolace a kultivace zjištěno značně široké spektrum mikroskopických hub. Diverzita společenstva hub byla v obou případech dobře srovnatelná s diverzitou obvyklou pro opad rozkládající se v prostředí přirozeného temperátního lesa (Hering 1965, Ruscoe 1971) i řady jiných přirozených stanovišť (např. Thormann et al. 2004b, Tang et al. 2005, Osono et Takeda 2007, Shirouzu et al. 2009), jakkoli porovnávání jednotlivých studií komplikují rozdíly v použité metodice a celkovém rozsahu. Porras-Alfaro et al. (2007) obdobně pozorovali, že diverzita půdních hub v prostředí s přirozeným výskytem biologické půdní krusty v semiaridní oblasti byla srovnatelná s diverzitou jiných stanovišť s mnohem příznivějšími podmínkami (vlhkost, pH, obsah živin v půdě). Také States et Christensen (2001) a Grishkan et al. (2006) zaznamenali v aridních oblastech s biologickou půdní krustou značný počet druhů mikroskopických půdních hub. Ani

temperátní stanoviště antropogenního původu s charakteristickým výskytem biologické půdní krusty nejsou zřejmě místy, která by se vyznačovala sníženou diverzitou saprotrofních hub.

### **Porovnání společenstva hub v Ralsku a ve Chvaleticích**

Poměrné zastoupení askomycetů, bazidiomycetů a zygomycetů mezi druhy izolovanými z opadu bylo na obou lokalitách podobné a shodovalo se obvyklými údaji o taxonomické skladbě společenstva hub na opadu nebo v půdě, pokud byly získány s použitím odpovídající metodiky (Visser et Parkinson 1975, Osono et Takeda 2007, Shirouzu et al. 2009). Rovněž nejhojnější druhové zastoupení rodů *Penicillium*, *Fusarium* a *Trichoderma*, které bylo (shodně) zjištěno na obou lokalitách, je běžné pro opad nerůznějších druhů i různé ekologické podmínky rozkladu (např. Ruscoe 1971, Osono et Takeda 2007, Shirouzu et al. 2009). Kromě těchto velmi obecných rysů však mykobiota na studovaných stanovištích mnoho shodných znaků nevykazovala. Společenstva hub na opadu v Ralsku a ve Chvaleticích je třeba hodnotit jako značně odlišná.

Opad břízy rozkládající se v Ralsku hostil druhově bohatší společenstvo mikroskopických hub než opad rozkládající se v toxickém prostředí chvaletického odkaliště. Ještě výraznější rozdíl pak spočíval ve druhovém složení obou společenstev. Jen zhruba třetina všech zjištěných druhů se vyskytovala zároveň na obou lokalitách. Těmito houbami pak byli zpravidla známí ubikvisté, kteří se hojně vyskytují na rozmanitých substrátech (včetně rostlinného opadu nejrůznějších druhů) - *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus fumigatus*, *Pithomyces chartarum*, dále běžné půdní druhy rovněž se širokým rozšířením - *Trichoderma harzianum*, *T. virens*, *Fusarium oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *Mortierella elongata*, *Mucor circinelloides*, *M. hiemalis*, *Absidia glauca*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium simplicissimum*, *P. janthinellum*, *P. purpurogenum*, *P. citrinum* a další (Domsch et al. 1980). Výskyt těchto hub na obou lokalitách není proto překvapivý a rozhodně nedokládá zvláštní povahu studovaných stanovišť, co do skladby saprotrofní mykobioty. U většiny sdílených druhů hub se navíc podstatně lišila frekvence výskytu v Ralsku a ve Chvaleticích. Mezi dominantami tak byly pouze čtyři společné druhy - *Alternaria alternata*, *Fusicladium* sp., *Penicillium purpurogenum* var. *rubrisclerotium* a *P. rugulosum*.

Antropogenní stanoviště v Ralsku a ve Chvaleticích sdílejí ekologické charakteristiky, které mohou být pro společenstvo saprotrofů na opadu určující – charakter vegetace, nízký

obsah živin v půdě a nízké pH. Stanoviště byla vystavena obdobným klimatickým podmínkám. Také kvalita opadu břízy byla na obou stanovištích srovnatelná. Podstatné rozdíly ve struktuře společenstva hub na obou lokalitách tedy zřejmě nepřímo svědčí o vlivu toxických parametrů substrátu chvaletického odkaliště. Míru zasolení a obsah těžkých kovů v půdě lze považovat za hlavní rozdíl mezi oběma lokalitami, pokud jde o vliv na saprotrofní houby. Jak snížení počtu druhů tak změna struktury společenstva byly opakovaně zaznamenány jako odpověď půdních saprotrofů na stres způsobený vysokými koncentracemi těžkých kovů (Williams et Pugh 1975, Bewley et Stotzky 1983, Nordgren *et al.*, 1983, Babich et Stotzky 1985, Duxbury 1985). Značný vliv na složení společenstva hub mohla ale také mít odlišná textura půdního substrátu v Ralsku a ve Chvaleticích, která ovlivňuje hydrologické poměry na stanovišti. Pokud jde o půdní vlhkost, poskytuje písčité substrát v Ralsku zřejmě mnohem méně příznivé podmínky.

Přestože společenstvo hub jako celek bylo značně odlišné, což je třeba připsat výše nastíněným vlivům, byly mezi sdílenými druhy pozorovány i takové, u nichž by bylo možné předpokládat určitou vazbu na opad břízy nebo typ stanoviště, jaký obě lokality reprezentují.

Houba *Fusicladium* sp. (obr. 20) patřila mezi dominanty na obou lokalitách. Zatímco v prostudovaných pracích zaměřených na jiné druhy opadu není rod *Fusicladium* uváděn, např. autoři Helander et al. (1993), Elamo et al. (1999) nebo Ahlholm et al. (2002) zaznamenali *Fusicladium* sp. jako dominantní druh mezi endofyty břízy (*Betula pendula*, *B. pubescens*) v jižním Finsku. Frankland (1998) obdobně uvádí houbu *Venturia ditricha* (= *Fusicladium betulae*) mezi charakteristickými endofyty břízy, které setrvávají na listech i po opadu. Vzhledem k tomu, že hojný výskyt houby *Fusicladium* sp. byl v Ralsku i ve Chvaleticích zaznamenán již v prvním odběru, je pravděpodobné, že i v tomto případě šlo o endofyta, který přetrval na odumírajících listech a vyvíjel se i na opadu. Právě saprotrofové, kteří mají endofytickou (případně parazitickou) fázi životního cyklu, jsou pravděpodobně jediní, u kterých se lze setkat se substrátovou specificitou (Zhou et Hyde 2001, Wong et Hyde 2001).

Dalšími zajímavými sdílenými houbami byly *Penicillium rugulosum* a *P. coalescens*, které nepatří mezi druhy běžně izolované z listového opadu nebo půdy. V případě druhu *Chaetomium aureum* (obr.18) jsou stanoviště v Ralsku a ve Chvaleticích dokonce jedinými lokalitami v ČR, kde byl zatím výskyt této houby zjištěn (Kubátová 2006). To zřejmě platí i pro houby *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2 (obr. 11-16) a *Lecanicillium* sp., které

pravděpodobně představují ještě nepopsané druhy. To, že se všechny tyto houby vyskytovaly s nezanedbatelnou frekvencí na opadu břízy jak v Ralsku tak ve Chvaleticích, legitimizuje úvahy o možné vazbě na podobný typ stanovišť.

### **Mykobiota opadu ve Chvaleticích**

Mezi houbami, které dominovaly na opadu ve Chvaleticích, převažují druhy, u nichž je již známa tolerance ke zvýšeným koncentracím některých těžkých kovů – *Alternaria alternata* (Ezzouhri et al. 2009), *Aspergillus fumigatus* (Daghino et al. 2008.....), *Paecilomyces lilacinus* (Zucconi et al. 2003, Daghino et al. 2008), *Penicillium janthinellum* (Kawai et al. 2000), *P. simplicissimum* (Valix et Loon 2003, Fan et al. 2008), *Trichoderma harzianum* (Krantz-Rülcker et al. 1995, Ledin et al. 1996, Akhtar et al. 2007), *P. purpurogenum* (Say et al. 2003). Obecně se jedná o značně rozšířené druhy. Díky toleranci vůči široké škále nepříznivých podmínek se pak některé z nich často stávají charakteristickými dominantami řady extrémních stanovišť (Grishkan et al. 2007, Kirtsideli 1999, Petrovic et al. 2000, Hujšlová et al. 2006) včetně těch antropogenního původu (Fassatiová 1970, Nováková 2001, Kubátová et al. 2002, Wanderley Costa et al. 2006).

Naopak další dominanty opadu ve Chvaleticích – *Discosia artocreas*, *Fusicladium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium pulvillorum* a *P. rugulosum* – nepatří mezi známé metalotolerantní houby. Shledání, že se i tyto druhy hojně vyskytují v toxickém prostředí odkaliště a podílejí se zde na dekompozici opadu, je jedním z přínosů této studie. Extrémní toxické substráty mohou být zdrojem organismů s potenciálním využitím v biotechnologiích. Některé z hub, které byly zjištěny z takových substrátů, se dnes využívají např. v bioremediaci (Leitão 2009). Další zkoumání vlastností těchto hub je proto žádoucí. Pozornost si zaslouží hlavně druh *Paecilomyces* sp. (obr. 17), který je zajímavým nálezem i z taxonomického hlediska.

Mezi vzácně izolovanými houbami stojí za zmínku druh *Sporotrichum aurantiacum* (obr. 19). Příslušná teleomorfa *Ceriporia metamorphosa* je považována za obecně velmi vzácnou houbu a je zařazena mezi kriticky ohrožené druhy Červeného seznamu hub ČR (Holec et Beran 2006). Výskyt této anamorfy v prostředí chvaletického odkaliště je proto překvapivý.

### **Mykobiota opadu v Ralsku**

Mezi typickými dominantami stanoviště v Ralsku převažovali známí rozkladači listového opadu. Výjimkou byly, kromě již zmíněných druhů *Penicillium coalescens* a *Chaetomium*

*aureum*, další spíše vzácné druhy *P. aculeatum* a *P. brasilianum* a také druh *Troposporella fumosa*, který se obvykle vyskytuje na dřevu nebo kůře listnáčů (Ellis et Ellis 1997, Yurchenko 2001).

Ve srovnání s opadem ve Chvaleticích bylo pro opad rozkládající se v Ralsku charakteristické hojnější zastoupení fusarií a zygomycetů. Většina druhů z těchto skupin hub se s nízkou frekvencí vyskytovala i ve Chvaleticích, v Ralsku však patřily mukorovité houby a fusaria mezi dominanty, což mnohem spíše odpovídá i výsledkům jiných studií (např. Hering 1965, Kuter 1986, Osono et Takeda 2007). Také výsledky Spěvákové (1996) naznačují, že zygomycety byly skupinou hub, která nejcitlivěji reaguje na stresové faktory, které na chvaletickém odkališti působí. Největší rozdíl ve skladbě saprotrofních hub mezi plochami s odlišnou mírou kontaminace, spočíval právě v zastoupení zygomycetů.

Charakteristickou dominantou mezi houbami izolovanými na agarové plotny byl i druh *Sphaerodes fimicola*, který je známý jako lichenikolní a fungikolní houba (Burgaz et al. 2007). Hojný výskyt v Ralsku může souviset s přítomností lišejníkové krusty. Tato houba se nejspíš nepodílela přímo na dekompozici, ale, podobně jako třeba *Piptocephalis* sp. (zástupci tohoto rodu parazitují na mukorovitých houbách) pouze koexistovala s houbami, které opad rozkládají. Tomu by nasvědčoval i charakter výskytu této houby v čase, který neodpovídal sukcesi. Mykoparazitické schopnosti jsou známé i u druhů *Clonostachys rosea*, *Acremonium berkeleyanum* nebo *Paecilomyces lilacinus*, ty se však rovněž uplatňují jako saprotrofové při dekompozici rostlinných zbytků (Domsch et al 1980).

### **Porovnání společenstva hub na opadu se spektrem hub izolovaných z půdy**

Spektrum hub z opadu břízy v Ralsku i ve Chvaleticích se do značné míry odlišovalo od spektra mikroskopických hub, které byly na těchto lokalitách izolovány z půdy (Neustupa et al. 2009, tab. 6, 8). Na opadu byl zjištěn přibližně dvojnásobný počet taxonů a to jak celkově tak v časově odpovídajícím odběru (listopad 2006). Některé dominanty opadu – *Discosia artocreas*, *Fusarium oxysporum*, *Fusicladium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium rugulosum*, *Sclerotinia* sp., *Troposporella fumosa*, *Zygorhynchus moelleri* - nebyly z půdy vůbec izolovány, několik půdních hub naopak nebylo zaznamenáno na opadu. I při srovnání spektra hub zjištěných v této studii na opadu ve Chvaleticích s výsledky rozsáhlejšího průzkumu půdních hub, který byl na této lokalitě proveden v letech 1993-1995 (Kubátová et al. 2002), byl podíl shodných druhů nízký. Druhy *Aspergillus fumigatus*, *Discosia artocreas*, *Fusicladium* sp., *Oidiodendron rhodogenum*, *Paecilomyces* sp., *Penicillium rugulosum* a

*Scolecobasidium constrictum*, které patřily mezi dominanty na opadu, nejsou mezi 94 taxony izolovanými z půdy uvedeny.

Studie zaměřené na společenstvo půdních saprotrofů evidentně nemusí podchycovat některé druhy, které se významně podílejí na dekompozici organického substrátu, což je funkce, která především bývá se strukturou společenstva půdních hub spojována.

### 6.2.2 Analýza TRFLP

Výsledky TRFLP analýzy vzorků opadu v zásadě potvrdily výsledky získané izolací a kultivací hub, pokud jde o porovnání druhové bohatosti a složení společenstva hub na obou lokalitách. Vyšší počet TRF byl zjištěn v opadu z Ralska a jen přibližně třetina všech TRF byla identifikována ve vzorcích z obou lokalit.

Celkový počet ribotypů hub stanovený metodou TRFLP pak zhruba dvojnásobně převyšoval počet taxonů zjištěných na opadu v daném odběru pomocí klasických metod izolace a kultivace. Přestože diverzitu restričních fragmentů nelze jednoduše převést na diverzitu taxonomickou (Osborn et al. 2000, Engebretson et Moyer 2003, Blackwood et Buyer 2007), je zřejmé, že houby zjištěné na studijních lokalitách v Ralsku a ve Chvaleticích kultivačními metodami tvořily jen část celkové diverzity hub rostoucích na opadu. Nekultivovatelné organismy jsou podle řady pozorování (např. Ward et al. 1990, Ward et al. 1992, Viaud et al. 2000, Hunt et al. 2004) nezanedbatelnou součástí přirozených společenstev mikroorganismů.

Výsledný rozdíl mezi počtem ribotypů a počtem stanovených druhů pak spočíval především v odhalení diverzity chytridií, bazidiomycetů a oomycetů metodou TRFLP. S použitím klasických metod se v daném odběru nepodařilo zjistit ani jediného zástupce z těchto skupin organismů. V případě askomycetů a zygomycetů se naopak ukázalo, že obraz diverzity získaný klasickými metodami byl zřejmě dostatečně reprezentativní, když počty ribotypů poměrně dobře odpovídaly počtu stanovených druhů.

Pokud jde o hodnocení konkrétních počtů ribotypů rozlišených v jednotlivých skupinách hub, zajímavým zjištěním byl hlavně vysoký počet ribotypů chytridií a naopak jen velmi nízký počet ribotypů bazidiomycetů.

Počty TRF chytridií převyšovala na obou lokalitách už jen skupina vřeckovýtrusých hub. Přitom právě v případě chytridií byla skutečná diverzita nejspíše podhodnocena. Primer ITS4Chytrid byl navržen pouze na základě sekvencí 3 druhů (Nikolcheva et Barlocher 2004) a, jak potvrdil i provedený test (tabulka), nepodchycuje dostatečně genetickou variabilitu



v rámci této skupiny hub. Kromě práce Nikolcheva et Barlocher (2004) neexistují údaje, se kterými by bylo možné získaný profil chytridiomycetů porovnat, ale už fakt, že počet TRF ve vzorcích opadu z Ralska a Chvaletic převyšuje počty, které zmínění autoři stanovili pro opad rozkládající se vodě, je samo o sobě překvapivým zjištěním. Pokud jde o biomasu bylo však zastoupení chytridií (stejně jako zastoupení oomycetů a zygomycetů) na opadu pravděpodobně jen velmi nízké. Svědčí o tom fakt, že pro získání potřebné koncentrace DNA bylo ve srovnání s askomycety a bazidiomycety potřeba většího počtu cyklů PCR. Biologická aktivita těchto hub a jejich podíl na dekompozici opadu jsou pravděpodobně jen zanedbatelné.

Bazidiomycety byly na obou lokalitách zastoupeny shodně nejnižším počtem TRF. Tak nízké zastoupení této skupiny hub, jaké bylo zaznamenáno v Ralsku a ve Chvaleticích, není pro opad v pozdních fázích rozkladu obvyklé (Kendrick et Burges 1962, Hudson 1968, Frankland 1998) a představuje tak zřejmě jeden ze specifických rysů společenstva saprotrofních hub na takovém typu stanovišť, jaký studijní lokality reprezentují. Nízká diverzita však nevypovídá o biomase a biologické aktivitě. Zástupci bazidiomycetů jsou většinou efektivnějšími rozkladači komplexních složek opadu než askomycety (Osono et Takeda 2002, Osono 2007). I malý počet přítomných druhů může mít proto důležitý podíl na dekompozici.

### **Vliv typu opadového sáčku**

Porovnání TRFLP profilů z jednotlivých variant vzorků opadu ukázalo, že rozdíl mezi vzorky z Ralska byl vždy větší než rozdíl mezi vzorky z Chvaletic. Vliv typu opadového sáčku na složení společenstva hub byl tedy zřejmě v Ralsku vyšší. Pravděpodobnou příčinou jsou obtížnější mikroklimatické podmínky na této lokalitě. Z výsledků dále vyplynulo, že vliv typu sáčku se u některých skupin hub projevuje ve větší míře než u jiných. Nejvýrazněji ovlivnil typ použitého sáčku chytridie a bazidiomycety.

Rozdíly mezi profily z jednotlivých variant vzorků opadu však nebyly statisticky prokázány. K dispozici byl vždy jeden směsný vzorek pro každou lokalitu a typ sáčku. Větší rozdíly mezi vzorky opadu z hrubých a jemných sáčků v Ralsku mohou také být pouze odrazem vyšší celkové diverzity hub na této lokalitě.

### 6.2.3 Sukcese hub na opadu

Složení společenstva mikroskopických hub na opadu se ve sledovaném období měnilo. Změny ve výskytu druhů byly pozorovány na obou stanovištích a byly jak kvalitativní tak kvantitativní povahy. Tyto změny vypovídají o sukcesi hub na substrátu.

Podle charakteristického vzorce výskytu v čase je možné většinu zaznamenaných hub zařadit do jedné ze čtyř následujících skupin:

1. druhy přítomné v celém období bez zjevné tendence narůstání nebo poklesu frekvence výskytu
2. druhy přítomné od prvního odběru a postupně ustupující
3. druhy s pozdějším nástupem a postupně rostoucí frekvencí výskytu
4. druhy s pozdějším nástupem a ustupující ještě před koncem sledovaného období

Druhy spadající do prvních dvou skupin lze označit za rané kolonizátory, druhy zbývajících skupin za pozdní kolonizátory. Houby, které nebylo možné zařadit do žádné z těchto skupin, byly s výjimkou druhu *Sphaerodes fimicola* pouze ty s velmi nízkou frekvencí výskytu. Zachycení vzácných druhů v konkrétním odběru je vždy značně ovlivněno náhodou a vzorec výskytu v čase pak nemá velkou vypovídací hodnotu. Fungikolní druh *Sphaerodes fimicola* se pravděpodobně na dekompozici opadu přímo nepodílel a jeho výskyt tak mohl být určován jinými vlivy než měnicí se kvalitou rozkládaného opadu.

Při hodnocení konkrétních znaků sukcese, které byly na studijních stanovištích pozorovány, je třeba brát v úvahu, že použitá metodika v některých ohledech znamenala poměrně závažnou manipulaci s opadem a vývoj společenstva hub tím mohl být nezanedbatelně ovlivněn. Způsob uložení opadových sáčků i založení celého pokusu až v jarní sezóně vystavilo opad odlišným podmínkám ve srovnání s volným opadem přirozeně se rozkládajícím na stanovišti.

Vývoj společenstva mikroskopických hub na opadu však i přesto poměrně dobře odpovídal údajům o sukcesi uváděným v literatuře, a to jak v Ralsku tak ve Chvaleticích. Výrazní raní kolonizátoři na obou lokalitách - *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium cladosporioides* - jsou skutečně typickými představiteli této kategorie hub (Ruscoe 1971, Kuter 1986, Przybyl et al. 2008). Jsou to primární saprotrofové, kteří kolonizují listy ještě živé a přetrvávají na nich i po opadu (Osono 2006). Stejná strategie je známá i pro rod *Fusicladium* (Frankland 1998), dalšího raného kolonizátora společného pro obě stanoviště.

Pozdější nástup a postupné narůstání četnosti druhů *Mortierella elongata*, *Lecanicillium* sp. a *Fusarium avenaceum* je rovněž v souladu s výsledky jiných prací. Zástupci rodů *Mortierella*, *Lecanicillium* a *Fusarium* se obvykle uplatňují v pozdějších fázích rozkladu, podobně jako zástupci rodů *Absidia*, *Acremonium*, *Oidiodendron*, *Simplicillium* nebo *Umbelopsis*, kteří byli také zaznamenáni mezi pozdními kolonizátory (Frankland 1998, Osono et al. 2003a, Osono 2005, Shirouzu et al. 2009).

Naopak netypické bylo velmi hojné zastoupení některých druhů rodu *Penicillium*, *Fusarium* a *Trichoderma* již od prvního odběru. Tyto rody zpravidla dominují na opadu až v pozdějších fázích dekompozice (Hering 1965, Macauley et Thrower 1966, Ruscoe 1971, Kuter 1986, Frankland 1998, Shirouzu et al. 2009). Pravděpodobně se však nejedná o charakteristický znak sukcese na studovaných lokalitách ale právě o důsledek způsobu uložení opadových sáčků. Těsný kontakt opadu s půdou, který není pro první fáze rozkladu přirozený, uspil zřejmě nástup typických „půdních“ hub. Nicméně někteří zástupci zmíněných rodů se mohou vyskytovat již ve fyloplánu, byť spíše vzácně (Osono 2006), a zaujímat strategii primárních saprotrofů. Druhy s postupně klesající frekvencí výskytu *Penicillium coalescens* a *P. rugulosum*, *P. purpurogenum* var. *rubrisclerotium* jsou s největší pravděpodobností skutečně ranými kolonizátory březového opadu na studovaných stanovištích. I práce Kasai et al. (1995) potvrzuje *P. coalescens* v roli primárního saprotrofa.

U sdílených druhů (s výjimkou některých vzácně izolovaných) se vzorec výskytu v čase na obou lokalitách velmi dobře shodoval. Toto zjištění je cenné hlavně u hub, jako jsou *Ceratobasidium* sp., *Cladophialophora* sp., coelomycet 2, *Chaetomium aureum*, *Penicillium coalescens*, *P. purpurogenum* var. *rubrisclerotium*, *P. rugulosum* nebo *Tropospora fumosa*, o jejichž postavení v sukcesi a roli při dekompozici listového opadu nejsou dosud údaje.

#### **6.2.4 Vliv použité metodiky**

##### **Metoda stanovení hub**

Ke stanovení mikroskopických hub na opadu byly paralelně použity dvě metody – kultivace hub ve vlhkých komůrkách a izolační metoda. Míra, v jaké se lišil obraz společenstva hub získaný oběma metodami, byla srovnatelná s rozdíly mezi lokalitami. Odlišnosti se týkaly jak spektra zachycených hub tak frekvence výskytu. Použitá metoda tedy zásadně ovlivňuje výsledný obraz společenstva hub.

Z porovnání spektra hub i charakteristických dominant získaných oběma metodami vyplývá, že izolace na agarová média zvýhodňuje především rychle rostoucí druhy. Díky

současnému použití vlhkých komůrek se podařilo zachytit i houby, které nejsou schopny na živných půdách rychleji rostoucím druhům konkurovat. Proto byl také ve Chvaleticích stanoven podstatně vyšší počet druhů hub, než jaký ze stejného substrátu na této lokalitě uvádí Spěváková (1996), která využívala pouze izolační metodu. Každá metoda má svá omezení a použití širšího spektra metodických přístupů je nezbytné, má-li být výsledný obraz diverzity co neúplnější. Přínosné je i využívání více různých izolačních médií. Ukázalo se, že každý typ živné půdy zřetelně zvýhodňoval určité skupiny hub.

Některé houby se vyskytovaly s výrazně vyšší frekvencí na izolačních miskách než na opadu ve vlhkých komůrkách. Jednalo se především o druhy rychle rostoucí a tvořící velké množství spor – zygomycety, rody *Trichoderma*, *Penicillium* a *Fusarium*. Podobný rozdíl zaznamenali pro mukorovité houby i Hogg et Hudson (1966). Pravděpodobným vysvětlením je nedokonalé odstranění spor z opadu. Především u tohoto typu hub může být v takovém případě výskyt na opadu izolační metodou nadhodnocen.

Zachycení odlišného spektra hub různými metodami má samozřejmě dopad i na další výsledky – např. porovnávání stanovišť. To dokládá nalezená interakce metody s lokalitou. Při použití izolační metody byl zjištěn výraznější rozdíl mezi stanovišti. Metoda zdůraznila rozdíl v zastoupení zygomycetů a fusarií, zatímco některé významné sdílené druhy nebyly zachyceny.

### **Typ opadového sáčku**

Typ opadového sáčku společenstvo mikroskopických hub zásadně neovlivnil. Ve Chvaleticích byl sice určitý vliv rozeznán, zodpovídal ale celkově za nepatrnou část variability ve výskytu druhů. Jen několik málo hub vykazovalo určitou afinitu k některé variantě sáčku. Velikost ok síťoviny, ze které byly sáčky zhotoveny, tedy zřejmě neměla významný vliv na kolonizaci opadu mikroskopickými houbami ani jejich vzájemné interakce. Pokud se lišila rychlost dekompozice opadu podle typu sáčku, dělo se tak spíše ovlivněním aktivity společenstva daného složení než změnami ve skladbě a zastoupení druhů.

## 7 Závěr

V období od května 2006 do listopadu 2008 byl na dvou antropogenních stanovištích s výskytem biologické půdní krusty – na opuštěném rudném odkališti Chvaletice a v areálu bývalého letiště Ralsko - proveden terénní experiment s listovým opadem břízy a modelovou celulózu využívající metodu opadových sáčků. Cílem bylo zjistit, které mikroskopické houby se podílejí na dekompozici opadu na těchto stanovištích a jak dekompozice organického substrátu probíhá ve srovnání s přirozenými ekosystémy, a zda se liší společenstvo hub na opadu a dekompoziční aktivita mezi oběma lokalitami, odlišujícími se především mírou kontaminace substrátu těžkými kovy a zasolením.

Pokus byl založen paralelně pro dva typy opadových sáčků – o velikosti ok síťoviny 1,5 a 0,042 mm. Houby vyskytující se na opadu byly stanoveny metodou izolace z fragmentů opadu na agarová média a metodou inkubace opadu ve vlhkých komůrkách. V závěrečném odběru byla k odhadu diverzity hub použita také metoda TRFLP. Byla aplikována na ITS oblast rDNA amplifikovanou pomocí taxonomicky specifických primerů.

### **Mikroskopické houby podílející se na rozkladu opadu břízy**

Diverzita mikroskopických hub zjištěných na opadu břízy v Ralsku a ve Chvaleticích klasickými izolačními a kultivačními metodami byla srovnatelná s údaji z jiných typů stanovišť, včetně přirozeného temperátního lesa.

Společenstvo hub podílejících se na dekompozici opadu bylo přítom na obou stanovištích značně odlišné. Lišil se počet druhů, dominanty i frekvence výskytu sdílených druhů.

Pro opad rozkládající se na chvaletickém odkališti byla charakteristická nižší diverzita mikroskopických hub a hojný výskyt řady druhů, známých značnou tolerancí k antropogenním stresům včetně vysokých koncentrací těžkých kovů. To dokládá rozhodující vliv toxické povahy substrátu odkaliště na utváření společenstva mikroskopických hub. Nízké zastoupení zygomycetů a fusarií, které dále charakterizovalo opad ve Chvaleticích ve srovnání s opadem v Ralsku, svědčí o tom, že zástupci těchto skupin patří mezi houby citlivé vůči stresům působícím v prostředí odkaliště. Mezi dominantami opadu ve Chvaleticích byly nalezeny houby, u nichž nebyla dosud známa odolnost vůči vysokým koncentracím těžkých kovů a zasolení. Především tyto houby se proto nabízí se k dalšímu zkoumání.

Mezi druhy, které se vyskytovaly na obou stanovištích převažovaly běžné, široce rozšířené houby. Bylo však nalezeno i několik vzácnějších, případně dosud neznámých, taxonů. Jejich výskyt by mohl být pro podobná stanoviště charakteristický.

Výsledky TRFLP analýzy vzorků opadu dokládají, že houby zjištěné izolačními a kulturačními metodami tvoří jen část celkové diverzity hub na opadu. Diverzita chytridií, bazidiomycetů a oomycetů zůstávala při použití těchto metod skryta.

Na obou stanovištích byla odhalena značná diverzita chytridií. Diverzita bazidiomycetů byla naopak na obou stanovištích neobvykle nízká.

Porovnání druhové bohatosti společenstva hub z obou stanovišť odpovídalo výsledkům získaným klasickými metodami.

Na obou stanovištích byly pozorovány sukcesní změny společenstva hub na opadu odpovídající v základních rysech údajům z jiných typů stanovišť. Druhy, které se vyskytovaly na opadu v Ralsku i ve Chvaleticích, měly na obou stanovištích shodné postavení v sukcesi.

Metoda stanovení hub – izolace na agarová média nebo inkubace opadu ve vlhkých komůrkách - zásadně ovlivnila výsledný obraz společenstva mikroskopických hub. Pro izolační metodu byl charakteristický hojnější výskyt rychle rostoucích druhů a druhů produkujících velké množství spor.

Prokázán byl také vliv typu izolačního média na frekvenci izolace hub.

Typ opadového sáčku naopak neměl na strukturu společenstva mikroskopických hub významný vliv.

### **Dekompozice opadu a modelové celulózy**

Rozklad listového opadu břízy probíhal na obou stanovištích podle obvyklého schématu. Rychlost dekompozice opadu i celulolytická aktivita byla však ve srovnání s jinými typy stanovišť jen velmi nízká. V Ralsku přitom probíhal rozklad opadu i modelové celulózy přibližně dvakrát rychleji než na chvaletickém odkališti.

Velikost ok síťoviny opadového sáčku ovlivnila rychlost dekompozice. Vliv typu sáčku byl pro každou lokalitu specifický a v souladu s rozdílnou sezónní dynamikou v celulolytické aktivitě svědčí o tom, že dekompozice je na obou stanovištích limitována odlišnými faktory. Zatímco v Ralsku je zřejmě rozhodující vliv vlhkosti, ve Chvaleticích určují rychlost dekompozice spíše toxické parametry substrátu.

Výsledky neprokázaly významný pozitivní vliv mezofauny na rychlost dekompozice opadu.

## 8 Summary

In the period of 2006 – 2008 a litterbag decomposition experiment was performed in two anthropogenic stands in the Czech Republic with occurrence of the biological soil crust. The study aimed to investigate the diversity of fungal decomposers and the decay rate in the two stands, to compare it with data known from natural ecosystems, and to find out whether there is any difference in decomposition process or the litter mycobiota between the study sites which are of different level of anthropogenic stress (heavy metal content and salinity of the soil substrate). In both stands extremely slow decay rate was discovered for the both birch leaf litter and model cellulose. However, diversity of microfungi recovered from the litter both by direct and isolation method corresponded well with the diversity data known from natural temperate forest ecosystem. Successional pattern of the litter mycobiota was generally common as well. Considerable diversity of chytrids was discovered using ITS-TRFLP method combined with taxon-specific primers application. Diversity of basidiomycetes was, on the other hand, uncommonly low. There was found considerably different fungal community structure, lower diversity and decomposition activity in the stand with higher level of anthropogenic stress. Among the dominant litter fungi several species were found that were not previously referred as tolerant to such a kind of stress. Several fungi recovered from the litter represent probably new species for science.

## 9 Seznam použité literatury

- Abaye DA, Brookes PC (2006): Relative importance of substrate type and previous soil management in synthesis of microbial biomass and substrate mineralization. *European Journal of Soil Science* 57: 179-189
- Aber JD, Mellilo JM, McLaugherty CA (1990): Predicting long-term patterns of mass loss, nitrogen dynamics, and soil organic matter formation from initial fine litter chemistry in temperate forest ecosystems. *Canadian Journal of Botany* 68: 2201-2208
- Ahlholm J, Helander ML, Elamo P, Saloniemi I, Neuvonen S, Hanhimäki S, Saikkonen K. (2002): Micro-fungi and invertebrate herbivores on birch trees: fungal mediated plant-herbivore interactions or responses to host quality? *Ecology Letters* 5: 648-655
- Akhtar K, Akhtar MW, Khalid AM (2007): Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by *Trichoderma harzianum*. *Water Research* 41: 1366-1378
- Albers D, Migge S, Schaefer M, Scheu S (2004): Decomposition of beech leaves (*Fagus sylvatica*) and spruce needles (*Picea abies*) in pure and mixed stands of beech and spruce. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 155-164
- Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang JH, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ, 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25, 3389-3402
- Babich H, Stotzky G. 1985. Heavy metal toxicity to microbe mediated ecologic processes: a review and potential application to regulatory policies. *Environmental Research* 36: 111-137
- Badran RAM (1994): Cellulolytic activity of some cellulose-decomposing fungi in salinized soils. *Acta Mycologica* 29: 245-251
- Barnet HL, Lilly VG (1966): Manganese requirements and deficiency symptoms of some fungi. *Mycologia* 58: 585-591
- Berg B, Ekbohm G, McLaugherty CA (1984): Lignin and holocellulose relations during long term decomposition of some forest litters. Long-term decomposition in Scots pine forest, IV. *Canadian Journal of Botany* 62: 2540-2550
- Berg B, McLaugherty C, De Santo AV, Johnson D (2001): Humus buildup in boreal forests: effects of litter fall and its N concentration. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 988-998
- Berg B, Meentemeyer V (2002): Litter quality in a north European transect versus carbon storage potential. *Plant and Soil* 242: 83-92
- Bespalova AY, Marfenina OE, Motuzova GV (2006): Communities of microscopic fungi in contaminated and reference Al-Fe-humus podzols and their influence on copper mobility. *Eurasian Soil Science* 39: 203-210
- Bewley RJF (1980): Effect of heavy metal pollution on oak leaf microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 40: 1053-1059
- Bewley RJF, Stotzky G (1983): Effects of cadmium and zinc on microbial activity in soil: influence of clay minerals. Part I: Metals added individually. *Science of the Total Environment*: 41-55



- Bhat MK, Bhat S (1997): Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnology advances* 15: 583-620
- Bills GF, Christensen M, Powell M, Thorn G (2004): Saprobic soil fungi. - In: Mueller GM, Bills GF, Foster MS: Biodiversity of fungi - inventory and monitoring methods. – San Diego
- Blackwood CB, Buyer JS (2007): Evaluating the physical capture method of terminal restriction fragment length polymorphism for comparison of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 590-599
- Bocock KL, Gilbert OJW (1957): The disappearance of leaf litter under different woodland conditions. *Plant and Soil* 9: 179-185.
- Boerema GH, de Gruyter J, Noordeloos ME, Hamers MEC (2004): *Phoma* identification manual. - CABI Publishing
- Bönischová-Franklová S. (1975): Vlivanie teploty na rozloženie celulózy. - Studies about humus - *Transaction of the International Symposium Humus et Planta VI*: 255-259
- Booth C (1971): The genus *Fusarium*. – Kew
- Burgaz AR, Arguello A, Atienza V, Fernandez-Brime S, Fernandez-Salegui AB, Figueras-Balague G, Ojalora MG, Gomez-Bolea A, Hawksworth DL, Hladun N, Llimona X, Llop E, Marcos-Laso B, Muniz D, Perez-Llamazares A, Paz-Bermudez G, Perez-Ortega S, Del Prado R, Rodriguez SA, Terron A (2007): Lichens and lichenicolous fungi of Sierra de San Lorenzo (La Rioja Community, Spain). *Cryptogamie Mycologie* 28: 133-153
- Cannon PF, Sutton BC (2004): Microfungi on wood and plant debris. - In: Mueller GM, Bills GF, Foster MS: Biodiversity of fungi - inventory and monitoring methods. – San Diego
- Carreiro MM, Koske RE (1992): Effect of temperature and substratum on competition among three species of forest litter microfungi. *Mycological Research* 96: 19-24
- Clein JS, Schimel JP (1994): Reduction in microbial activity in birch litter due to drying and rewetting events. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 403-406
- Cotrufo MF, De Santo AV, Alfani A, Bartoli G, De Cristofaro A (1995): Effects of urban heavy metal pollution on organic matter decomposition in *Quercus ilex* L. Woods. *Environmental Pollution* 89: 81-87
- Coughtrey PJ, Jones CH, Martin MH (1979): Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia* 39: 51-60
- Daghino S, Martino E, Vurro E, Tomatis M, Girlanda M, Fubini B, Perotto S (2008): Bioweathering of chrysotile by fungi isolated in ophiolitic sites. *FEMS Microbiology Letters* 285: 242-249
- Daubenmire R, Prusso DC (1963): Studies of the decomposition rates of tree litter. *Ecology* 44: 589-595
- DeBellis T, Kernaghan G, Widden P (2007): Plant community influences on soil microfungi assemblages in boreal mixed-wood forests. *Mycologia* 99: 356-367
- Dickinson CH, Pugh GJF (1974): Biology of plant litter decomposition I, II. - London
- Dinishi Jayasinghe BAT, Parkinson D (2008): Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. *Applied Soil Ecology* 38: 109-118

- Dix N, Webster J (1995): Fungal ecology. - London
- Domsch KH, Gams W, Anderson TH (1980): Compendium of soil fungi. - London
- Druzhinina I, Kopchinskiy AG, Komon M, Bissett J, Szakacs G, Kubicek CP (2005): An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology* 42: 813-828
- Dumestre A, Sauvé S, McBride M, Baveye P, Berthelin J (1999): Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 36: 124-131
- Duong LM, McKenzie EHC, Lumyong S, Hyde KD (2008): Fungal succession on senescent leaves of *Castanopsis diversifolia* in Doi Suthep-Pui National Park, Thailand. *Fungal Diversity* 30: 23-36
- Duxbury T (1985): Ecological aspects of heavy metal responses in microorganisms. In: Marshall KC: Advances in microbial ecology. - New York
- Elamo P, Helander ML, Saloniemi I, Neuvonen S (1999): Birch family and environmental conditions affect endophytic fungi in leaves. *Oecologia* 118:151–156
- Ellis MB (1971): Dematiaceous hyphomycetes. - Kew
- Ellis MB, Ellis JP (1997): Microfungi on land plants: an identification handbook. - Slough
- Engebretson JJ, Moyer CL (2003): Fidelity of select restriction endonucleases in determining microbial diversity by terminal-restriction fragment length polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 4823-4829
- Ezzouhri L, Castro E, Moya M, Espinola F, Lairini K (2009): Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. *African Journal of Microbiology Research* 3: 35-48
- Fan T, Liu Y, Feng B, Zeng G, Yang C, Zhou M, Zhou H, Tan Z, XinWang X (2008): Biosorption of cadmium(II), zinc(II) and lead(II) by *Penicillium simplicissimum*: Isotherms, kinetics and thermodynamics. *Journal of Hazardous Materials* 160: 655–661
- Fassatiová O (1970): Micromycetes inhabiting the mines of Příbram (Czechoslovakia). *Czech Mycology* 24: 162-165
- Fassatiová O (1979): Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii. - Praha
- Fioretto A, Di Nardo C, Papa S, Fuggi A (2005): Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1083-1091
- Frankland JC (1966): Succession of fungi on decaying petioles of *Pteridium aquilinum*. *Journal of Ecology* 54: 41-63
- Frankland JC (1982): Biomass and nutrient cycling by decomposer basidiomycetes. In: Frankland JC, Hedger JN, Swift MJ: Decomposer Basidiomycetes: their Biology and Ecology. - Cambridge
- Frankland JC (1998): Fungal succession – unravelling the unpredictable. *Mycological Research* 102: 1-15
- Freedman B, Hutchinson TC (1980): Effects of smelter pollutants on forest leaf litter decomposition near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario. *Canadian Journal of Botany* 58: 1722-1736

- Frey B, Stemmer M, Widmer F, Luster J, Sperisen C (2006): Microbial characterization of a heavy metal-contaminated soil in a model forest ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1745-1756
- Frisvad JC (1981): Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia. *Applied and Environmental Microbiology* 41: 568-579
- Frisvad JC (1983): A selective and indicative medium for groups of *Penicillium viridicatum* producing different mycotoxins in cereals. *Journal of Applied Bacteriology* 54: 409-416
- Gadd GM (1993): Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytologist* 124: 25-60
- Gams W (1971): Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). - Jena
- Gams W, Bisset J (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. - In: Harman GE and Kubicek CP: *Trichoderma and Gliocladium*. - London.
- Garret SD (1951): Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. *New Phytologist* 50: 149-166
- Goos RD (1987): Fungi with a twist: the helicosporous hypomycetes. *Mycologia* 79 (1): 1-22
- Gould WD, Fujikawa JK, Cook FD (1974): A soil fungus tolerant to extreme acidity and high salt concentrations. *Canadian Journal of Microbiology* 20: 1023-1027
- Grishkan I, Beharav A, Kirzhner V, Nevo E (2007): Adaptive spatiotemporal distribution of soil microfungi in Evolution Canyon III, Nahal Shaharut, extreme southern Negev Desert, Israel. *Biological Journal of the Linnean Society* 90: 263-277
- Grishkan I, Zaady E, Nevo E (2006): Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. *European Journal of Soil Biology* 42: 33-42
- Haanstra L, Doelman P (1984): Glutamic decomposition as a sensitive measure of heavy metal pollution in soil. *Soil Biology Biochemistry* 16: 595-600
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4
- Helander ML, Neuvonen S, Sieber T, Petrini O (1993): Simulated acid rain affects birch leaf endophyte populations. *Microbial Ecology* 26: 227-234
- Hering TF (1965): Succession of fungi in the litter of a lake district oakwood. *Transactions of British Mycological Society* 48: 391-408
- Hogg BM, Hudson HJ (1966): Micro-fungi on leaves of *Fagus sylvatica*. *Transactions of British Mycological Society* 49: 185-192
- Holec J, Beran M (2006): Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. *Příroda* 24: 1-282
- Hopkins DW, Ibrahim DM, O'Donnell AG, Shiel RS (1990): Decomposition of cellulose, soil organic matter and plant litter in a temperate grassland soil. *Plant and Soil* 124: 79-85
- Horsfall JG (1956): Principles of fungicidal action. *Chronica Botanica Co.* - In: Rühling A, Tyler G (1973): Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. *Oikos* 24: 402-416
- Hudson HJ (1962): Succession of microfungi on ageing leaves of *Saccharum officinarum*. *Transactions of British Mycological Society* 45: 395-423

- Hudson HJ (1968): The ecology of fungi on plant remains above the soil. *New Phytologist* 67: 837-874
- Hujšlová M, Kubátová A, Kolařík M (2006): Halofilní a acidofilní společenstva půdních hub v podmínkách mírného pásu – NPR Soos, ČR. *Život v pôde VII: 104-121*
- Hunt J, Boddy L, Randerson PF, Rogers HJ (2004): An evaluation of 18S rDNA approaches for the study of fungal diversity in grassland soils. *Microbial Ecology* 47: 385-395
- Jirout J, Petrášek J, Čápková L, Farská J, Jínová K, Rusek J, Křišťůfek V, Elhottová D, Starý J, Nováková A (2005): Changes in communities of soil microflora and mesofauna during leaf litter decomposition in two vegetation zones - litterbag experiment. *Život v pôde VI: 54-67*
- Johnson D, Hale B (2004): White birch (*Betula papyrifera* Marshall) foliar litter decomposition in relation to trace metal atmospheric inputs at metal-contaminated and uncontaminated sites near Sudbury, Ontario and Rouyn-Noranda, Quebec, Canada. *Environmental Pollution* 127: 65-72
- Johnston R (1997): Introduction to microbiotic crusts. - U. S. Department of Agriculture, Washington D.C., USA
- Kasai K, Morinaga T, Horikoshi T (1995): Fungal succession in the early decomposition process of pine cones on the floor of *Pinus densiflora* forests. *Mycoscience* 36: 325-334
- Kasurinen A, Riikonen J, Oksanen E, Vapaavuori E, Holopainen T (2006): Chemical composition and decomposition of silver birch leaf litter produced under elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. *Plant and Soil* 282: 261-280
- Kawai F, Zhang DM, Sugimoto M (2000): Isolation and characterization of acid- and Al-tolerant microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 189: 143-147
- Kendrick WB, Burges A (1962): Biological aspects of the decay of *Pinus sylvestris* leaf litter. *Nova Hedwigia* 4: 313-342
- Khalid M, Yang W, Kishwar N, Rajput ZI, Arijó AG (2006): Study of cellulolytic soil fungi and two new species and new medium. *Journal of Zhejiang University* 7: 459-466
- Kiikkilä L (2003): Heavy-metal pollution and remediation of forest soil around the Harjavalta Cu-Ni smelter, in SW Finland. *Silva Fennica* 37: 399-415
- King RF, Dromph KM, Bardgett RD (2002): Changes in species evenness of litter have no effect on decomposition processes. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1959-1963
- Kirtsideli IY (1999): Soil micromycetes from arctic tundras of Kara Sea Taymir coast. *Mikologiya i Fitopatologiya* 33: 19-24
- Kjøller A, Struwe S (1982): Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil. *Oikos* 39: 389-422
- Kjøller A, Struwe S (1987): Functional groups of microfungi on decomposing ash litter. *Pedobiologia* 30: 151-159
- Kodsueb R, McKenzie EHC, Lumyong S, Hyde KD (2008): Diversity of saprobic fungi on *Magnoliaceae*. *Fungal Diversity* 30: 37-53
- Koide K, Osono T, Takeda H (2005): Fungal succession and decomposition of *Camellia japonica* leaf litter. *Ecological Research* 20: 599-609

- Koide R T, Shumway DL (2000): On variation in forest floor thickness across four red pine plantations in Pennsylvania, USA. *Plant and Soil* 219: 57-69
- Kovářová M, Frantík T (2004): Decomposition of organic matter on different substrates - laboratory study. - In: Kovář P (ed.): Natural recovery of human-made deposits in landscape (Biotic interactions and ore/ash-slag artificial ecosystems). - Praha
- Kozlov MV (2005): Sources of variation in concentrations of Ni and Cu in mountain birch foliage near a Ni-Cu smelter at Monchegorsk, north-western Russia: results of long-term monitoring. *Environmental Pollution* 135: 91-99
- Krantz-Rülcker C, Frändberg E, Schnürer J (1995): Metal loading and enzymatic degradation of fungal cell walls and chitin. *BioMetals* 8: 12-18
- Kubartová A, Moukouni J, Beguiristain T, Ranger J, Berthelin J (2007): Microbial diversity during cellulose decomposition in different forest stands: I. Microbial communities and environmental conditions. *Microbial Ecology*. 54: 393-405
- Kubartová A, Ranger J, Berthelin J, Beguiristain T (2009): Diversity and decomposing ability of saprophytic fungi from temperate forest litter. *Microbial Ecology* 58: 98-107
- Kubátová A (2006): *Chaetomium* in the Czech Republic and notes to three new records. *Czech Mycology* 58: 155-171
- Kubátová A, Prášil K, Váňová M (2002): Diversity of soil microscopic fungi on abandoned industrial deposits. *Cryptogamie Mycologie* 23: 205-219
- Kurka A, Starr M (1997): Relationship between decomposition of cellulose in the soil and tree stand characteristics in natural boreal forests. *Plant and Soil* 197: 167-175
- Kurka AM, Starr M, Karsisto M, Salkinoja-Salonen M (2001): Relationship between decomposition of cellulose strips and chemical properties of humus layer in natural boreal forests. *Plant and Soil* 229: 137-146
- Kuter GA (1986): Microfungal populations associated with the decomposition of sugar maple leaf litter. *Mycologia* 78: 114-126
- Lappalainen JH, Korecheva J, Helander ML, Haukioja E (1998): Densities of endophytic fungi and performance of leafminers (Lepidoptera: Eriocraniidae) on birch along a pollution gradient. *Environmental Pollution* 104: 99-105
- Laura RD (1974): Effects of neutral salts on carbon and nitrogen mineralisation of organic matter in soil. *Plant and Soil* 41: 113-127
- Ledin M, Krantz-Rolcker C, Allard B (1996): Zn, Cd and Hg accumulation by microorganisms, organic and inorganic soil components in multi-compartment systems. *Soil Biology Biochemistry* 28: 791-799
- Leitão AL (2009): Potential of *Penicillium* species in the bioremediation field. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 6: 1393-1417
- Lensing JR, Wise DH (2007): Impact of changes in rainfall amounts predicted by climate-change models on decomposition in a deciduous forest. *Applied Soil Ecology* 35: 523-534
- Macauley BJ, Thrower LB (1966): Succession of fungi in leaf litter of *Eucalyptus regnans*. *Transactions of British Mycological Society* 49: 509-520

- Maheshwari R (2005): Decomposition of biomass. - In: Fungi - experimental methods in biology. – Boca Raton
- Malik KA, Bhatti NA, Kauser F (1979): Effect of soil salinity on decomposition and humification of organic matter by some cellulolytic fungi. *Mycologia* 71: 811-820
- McClaugherty CA, Pastor J, Aber JD, Melillo JM (1985): Forest litter decomposition in relation to soil nitrogen dynamics and litter quality. *Ecology* 66: 266-275
- McClellan MH, Bormann BT, Cromack K (1990): Cellulose decomposition in southeast Alaskan forests: effects of pet and mound microrelief and burial depth. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 1242-1246
- McEnroe NA, Helmisaari HS (2001): Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution* 113: 11-18
- McLean MA, Huhta V (2000): Temporal and spatial fluctuations in moisture affect humus microfungus community structure in microcosms. *Biology and Fertility of Soils* 32: 114-119
- Moustafa AF, Sharkas MS (1982): Fungi associated with cellulose decomposition in the tidal mud – flats of Kuwait. *Mycopathologia* 78: 185-199
- Neustupa J, Škaloud P, Peksa O, Kubátová A, Soldán Z, Černá K et al. (2009): The biological soil crusts in Central European ecosystems, with special reference to taxonomic structure and ecology of the surface crusts at Czech ore-waste and ash-slag sedimentation industrial basins. *Novitates Botanicae Universitatis Carolinae* 19: 1-99
- Newsham KK, Frankland JC, Boddy L, Ineson P (1992): Effects of dry-deposited sulfur-dioxide on fungal decomposition of angiosperm tree leaf litter – 1. Changes in communities of fungal saprotrophs. *New Phytologist* 122: 97-110
- Nikolcheva LG, Bärlocher F (2004): Taxon-specific fungal primers reveal unexpectedly high diversity during leaf decomposition in a stream. *Mycological Progress* 3:41–50
- Nirenberg HI (1981): A simplified method for identifying *Fusarium* spp. occurring on wheat. *Canadian Journal of Botany* 59: 1599–1609.
- Nordgren A, Baath E, Söderström B (1983): Microfungi and microbial activity along a heavy metal gradient. *Applied and Environmental Microbiology* 45: 1829-1837
- Nordgren A, Baath E, Söderström B (1984): Soil microfungi in an area polluted by heavy metals. *Canadian Journal of Botany* 63: 448-455
- Novák F, Placerová K (1998): Cellulose decomposition rate in the soil of mountain spruce forests in the Beskids Mts. *Forestry* 44: 65-76
- Nováková A (2001): Soil microfungi in two post-mining chronosequences with different vegetation types. *Restoration Ecology* 9: 351-358
- Olson JS (1963): Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology* 44: 322-331
- Osborn AM, Moore ERB, Timmis KN (2000): An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. *Environmental Microbiology* 2: 39-50
- Osono T (2002): Phyllosphere fungi on leaf litter of *Fagus crenata*: Occurrence, colonization, and succession. *Canadian Journal of Botany* 80: 460-470

- Osono T (2005): Colonization and succession of fungi during decomposition of *Swida controversa* leaf litter. *Mycologia* 97: 589-597
- Osono T (2006): Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter. *Canadian Journal of Microbiology* 52: 701-716
- Osono T (2007): Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecological Research* 22:955–974
- Osono T, Fukasawa Y, Takeda H (2003b): Roles of diverse fungi in larch needle-litter decomposition. *Mycologia* 95: 820-826
- Osono T, Ono Y, Takeda H (2003a): Fungal ingrowth on forest floor and decomposing needle litter of *Chamaecyparis obtusa* in relation to resource availability and moisture condition. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 1423-1431
- Osono T, Takeda H (2001a): Effects of organic chemical quality and mineral nitrogen addition on lignin and holocellulose decomposition of beech leaf litter by *Xylaria* sp. *European Journal of Soil Biology* 37: 17-23
- Osono T, Takeda H (2001b): Organic chemical and nutrient dynamics in decomposing beech leaf litter in relation to fungal ingrowth and succession during three year decomposition processes in a cool temperate deciduous forest in Japan. *Ecological Research* 16: 649-670
- Osono T, Takeda H (2002): Comparison of litter decomposing ability among diverse fungi in a cool temperate deciduous forest in Japan. *Mycologia* 94: 421-427
- Osono T, Takeda H (2005): Decomposition of organic chemical components in relation to nitrogen dynamics in leaf litter of 14 tree species in a cool temperate forest. *Ecological Research* 20: 41-49
- Osono T, Takeda H (2007): Microfungi associated with *Abies* needles and *Betula* leaf litter in a subalpine coniferous forest. *Canadian Journal of Microbiology* 53: 1-7
- Parfitt R, Newman RH (2000): <sup>13</sup>C NMR study of pine needle decomposition. *Plant and Soil* 219: 273-278
- Parsons WFJ, Lindroth RL, Bockheim JG (2004): Decomposition of *Betula papyrifera* leaf litter under the independent and interactive effects of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. *Global Change Biology* 10: 1666-1677
- Parungao MM, Fryar SC, Hyde KD (2002): Diversity of fungi on rainforest litter in North Queensland, Australia. *Biodiversity and Conservation* 11: 1185-1194
- Paulus B, Gadek P, Hyde KD (2006): Successional patterns of microfungi in fallen leaves of *Ficus pleurocarpa* (Moraceae) in an Australian tropical rain forest. *Biotropica* 38: 42-51
- Paulus B, Hyde KD (2003): Estimation of microfungal diversity in tropical rainforest leaf litter using particle filtration: the effects of leaf storage and surface treatment. *Mycological Research* 107: 748-756
- Petrovic U, Gunde-Cimerman N, Zalar P (2000): Xerotolerant mycobiota from high altitude Anapurna soil, Nepal. *FEMS Microbiology Letters* 182: 339-342
- Pitt JI (1979): The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. – London

- Porras-Alfaro A, Herrera J, Natvig DO, Sinsabaugh RL (2007): Long-term nitrogen fertilization affects dominant mycorrhizal fungi in a semiarid grassland. *Plant and Soil* 296: 65-75
- Prokop Z, Cupr P, Zlevorova-Zlamalikova V, Komarek J, Dusek L, Holoubek I (2001): Mobility, bioavailability, and toxic effects of cadmium in soil samples. *Environmental Research* 91: 119-126
- Promptutha I, Lumyong S, Lumyong P, McKenzie EHC, Hyde KD (2004): Fungal saprobes on dead leaves of *Magnolia liliifera* (Magnoliaceae) in Thailand. *Cryptogamie Mycologie* 25: 315-321
- Przybyl K, Karolewski P, Oleksyn J, Labedzki A, Reich PB (2008): Fungal diversity of norway spruce litter: effects of site conditions and premature leaf fall caused by bark beetle outbreak. *Microbial Ecology*: 56: 332-340
- Quideau SA, Graham RC, Oh SW, Hendrix PF, Wasylishen RE (2005): Leaf litter decomposition in a chaparral ecosystem, Southern California. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1988-1998
- Ramsey PW, Rillig MC, Feris KP, Moore JN, Gannon JE (2005): Mine waste contamination limits soil respiration rates: a case study using quantile regression. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1177-1183
- Rejmánková E, Houdková K (2006): Wetland plant decomposition under different nutrient conditions: what is more important, litter quality or site quality? *Biogeochemistry* 80: 245-262
- Ross IS (1975): Some effects of heavy metals on fungal cells. *Transactions of British Mycological Society* 64: 175-193
- Rubner A (1996): Revision of predacious hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. *Studies in Mycology* 39: 1-134
- Rühling A, Tyler G (1973): Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. *Oikos* 24: 402-416
- Ruscoe QW (1971): Mycoflora of living and dead leaves of *Nothofagus truncata*. *Transactions of British Mycological Society* 56: 463-474
- Řezáčová V, Blum H, Hršelová H, Gamper H, Gryndler M (2005): Saprobic microfungi under *Lolium perenne* and *Trifolium repens* at different fertilization intensities and elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. *Global Change Biology* 11: 224-230
- Saitô T (1956): Microbiological decomposition of beech litter. *Ecological Review* 14: 141-147
- Salamanca EF, Kaneko N, Katagiri S (2003): Rainfall manipulation effects on litter decomposition and the microbial biomass of the forest floor. *Applied Soil Ecology* 22: 271-281
- Samson RA (1974): *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. *Studies in Mycology* 6: 1-119
- Samson RA, Frisvad JC (2004): *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. *Studies in Mycology* 49: 1-260
- Samson RA, Stolk AC, Hadlok R (1976): Revision of the subsection Fasciculata of *Penicillium* and some allied species. *Studies in Mycology* 11: 1-47



- Say R, Yilmaz N, Denizli A (2003): Biosorption of cadmium, lead, mercury, and arsenic ions by the fungus *Penicillium purpurogenum*. *Separation Science and Technology* 38: 2038-2053
- Setälä H, McLean MA (2004): Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia* 139: 98-107
- Shirouzu T, Hirose D, Fukasawa Y, Tokumasu S (2009): Fungal succession associated with the decay of leaves of an evergreen oak, *Quercus myrsinaefolia*. *Fungal Diversity* 34: 87-107
- Schimel JP, Gullledge JM, Clein-Curley JS, Lindstrom JE, Braddock JF (1999): Moisture effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 831-838
- Schipper MAA (1973): A study on variability in *Mucor hiemalis* and related species. *Studies in Mycology* 4: 1-40
- Schipper MAA (1976): On *Mucor circinelloides*, *Mucor racemosus* and related species. *Studies in Mycology* 12: 1-40
- Siman A, Cradock FW, Hudson AW (1974): The development of manganese toxicity in pasture legumes under extreme climatic conditions. *Plant and Soil* 41: 129-140
- Sjögersten S, Wookey PA (2004): Decomposition of mountain birch leaf litter at the forest-tundra ecotone in the Fennoscandian mountains in relation to climate and soil conditions. *Plant and Soil* 262: 215-277
- Spěváková K (1996): Mikroskopické houby podílející se na dekompozici celulózy na odkališti Chvaletice. - diplomová práce, PšF UK, Praha
- Starkey RL, Waksman SA (1943): Fungi tolerant to extreme acidity and high concentrations of copper sulfate. *Journal of Bacteriology* 45: 509-519
- States JS, Christensen M (2001): Fungi associated with biological soil crusts in desert grasslands of Utah and Wyoming. *Mycologia* 93: 432-439
- Suchara I (1987): Rozklad celulózy ve vybraných parkových a uličních půdách Prahy. *Sborník ÚVTIZ - Zahradnictví* 14: 211-220
- Swift MJ, Heal OW, Anderson JM (1979): Decomposition in terrestrial ecosystems. - Oxford
- Szegi J (1988): Cellulose decomposition and soil fertility. - Budapest
- Šimonovičová A (1986): Micromycetes and biological activity of soil in a forest ecosystem in the Malé Karpaty Mountains. *Biologia* 41: 853-859
- Šimonovičová A (1987): Celulolytická aktivita podnych mikromycét v niektorých lesných podach. *Biológia* 42: 469-475
- Školek J (1980): Cellulose decomposition in the soils of forest communities. *Biologia* 35: 467-478
- Tang AMC, Jeewon R, Hyde KD (2005): Succession of microfungal communities on decaying leaves of *Castanopsis fissa*. *Canadian Journal of Microbiology* 51: 967-974
- Ter Braak CJF, Šmilauer P (2002): CANOCO Reference manual and CanoDraw for Window's User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). - Ithaca, USA

- Tesařová J (1987): Stanovení rozkladu rostlinného materiálu metodou sáčků. - In: Rychnovská M (ed.): Metody studia travinných ekosystémů. - Praha
- Thormann MN, Bayley WE, Currah RS (2004a): Microcosm tests of the effects of temperature and microbial species number on the decomposition of *Carex aquatilis* and *Sphagnum fuscum* litter from southern boreal peatlands. *Canadian Journal of Microbiology* 50: 793-802
- Thormann MN, Currah RS, Bayley SE (2004b): Patterns of distribution of microfungi in decomposing bog and fen plants. *Canadian Journal of Botany* 82: 710-720
- Tian X, Takeda H, Azuma J (2000): Dynamics of organic-chemical components in leaf litters during a 3,5-year decomposition. *European Journal of Soil Biology* 36: 81-89
- Tian X, Takeda H, Azuma J (2000): Dynamics of organic-chemical components in leaf litters during a 3,5-year decomposition. *European Journal of Soil Biology* 36: 81-89
- Toberman H, Freeman C, Evans C, Fenner N, Artz RRE (2008): Summer drought decreases soil fungal diversity and associated phenol oxidase activity in upland *Calluna* heathland soil. *FEMS Microbiology Ecology* 66: 426-436
- Torres PA, Abril AB, Bucher EH (2005): Microbial succession in litter decomposition in the semi-arid Chaco woodland. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 49-54
- Tribe HT (1966): Interactions of soil fungi on cellulose film. *Transactions of British Mycological Society* 49: 457-466
- Trocha LK, Oleksyn J, Turzanska E, Rudawska M, Reich PB (2007): Living on the edge: Ecology of an incipient *Betula*-fungal community growing on brick walls. *Trees* 21: 239-247
- Tyler G (1974): Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. *Plant and Soil* 41: 303-311
- Urairuj C, Khanongnuch C, Lumyong S (2003): Ligninolytic enzymes from tropical endophytic *Xylariaceae*. *Fungal Diversity* 13: 209-219
- Valix M, Loon LO (2003): Adaptive tolerance behaviour of fungi in heavy metals. *Minerals Engineering* 16: 193-198
- Viaud M, Pasquier A, Brygoo Y (2000): Diversity of soil fungi studied by PCR-RFLP of ITS. *Mycological Research* 104: 1027-1032
- Visser S, Parkinson D (1975): Fungal succession on aspen poplar leaf litter. *Canadian Journal of Botany* 53: 1640-1651
- Wanderley Costa IPM, Cavalcanti MAQ, Fernandes MJS, Lima DMM (2006): Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the state of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 290-295
- Wang CJK, Zabel RA (1990): Identification manual for fungi from utility poles in the eastern united states. – Faculty of Environmental and Forest Biology State University of New York, College of Environmental Science and Forestry Syracuse, New York
- Ward DM, Bateson MM, Weller R, Ruff-Roberts A (1992): Ribosomal analysis of microorganisms as they occur in nature. *Advances in Microbial Ecology* 12: 219-86
- Ward DM, Weller R, Bateson MM (1990): 16S-rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* 345: 63-65

- Widden P (1984): The effects of temperature on competition for spruce needles among sympatric species of *Trichoderma*. *Mycologia*: 76: 873-883
- Williams JI, Pugh GJF (1975): Resistance of *Chrysosporium pannorum* to an organomercury fungicide. *Transactions of the British Mycological Society* 64: 255-263
- Williams ST, McNeilly T, Wellington EMH (1976): The decomposition of vegetation growing on metal mine waste. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 271-275
- Witkamp M (1963): Microbial populations of leaf litter in relation to environmental conditions and decomposition. *Ecology* 44: 370-377
- Witkamp M, Olson JS (1963): Breakdown of forest litter in relation to environmental factors. *Plant and Soil* 15: 295-3
- Wong MKM, Hyde KD (2001): Diversity of fungi on six species of *Gramineae* and one species of *Cyperaceae* in Hong Kong. *Mycological Research* 105: 1485-1491
- Yurchenko EO (2001): On some wood-inhabiting dematiaceous hyphomycetes with remarkable conidia in Belarus. *Mycena* 1: 32-54
- Zare R, Gams W (2001): A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. *Nova Hedwigia* 73: 1-50
- Zhang P, Tian X, He X, Son F, Ren L, Jiang P (2008): Effect of litter quality on its decomposition in broadleaf and coniferous forest. *European Journal of Soil Biology* 44: 392-399
- Zhou D, Hyde KD (2001): Host-specificity, host-exclusivity, and host-recurrence in saprobic fungi. *Mycological Research* 105: 1449-1457
- Zucconi L, Ripa C, Alianiello F, Benedetti A, Onofri S (2003): Lead resistance, sorption and accumulation in a *Paecilomyces lilacinus* strain. *Biology and Fertility of Soils* 37: 17-22
- Zycha H, Siepmann R, Linnemann G (1969): Mucorales: eine Beschreibung aller Gattungen und Arten dieser Pilzgruppe – mit einem Beitrag zur Gattung *Mortierella*. - Lehre

