

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra botaniky

Bakalářská práce

# **Mikroskopické houby v dekompozici listového opadu**

**Petra Bukovská**

Vedoucí práce: RNDr. Alena Kubátová, CSc.

Praha 2006



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

*Pubrovská*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>3</b>
	3.1 DEKOMPOZICE LISTOVÉHO OPADU .....	3
	3.1.1 <i>Role hub v dekompozici</i> .....	3
	3.1.2 <i>Mikroskopické houby</i> .....	4
	3.1.3 <i>Chemické složení listového opadu a rozklad hlavních složek</i> .....	4
	3.1.4 <i>Průběh rozkladu</i> .....	6
	3.2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH DEKOMPOZICE .....	12
	3.2.1 <i>Fyzikálně-chemické vlastnosti substrátu</i> .....	12
	3.2.2 <i>Podmínky vnějšího prostředí</i> .....	14
	3.3 DEKOMPOZICE V INDUSTRIÁLNÍCH PŮDÁCH .....	18
	3.3.1 <i>Význam studia problematiky</i> .....	18
	3.3.2 <i>Faktory působící v prostředí s industriálními půdami</i> .....	18
	3.4 TERÉNNÍ METODY STUDIA DEKOMPOZICE OPADU .....	24
	3.4.1 <i>Metoda opadových sáčků</i> .....	24
	3.4.2 <i>Další metody</i> .....	28
	3.4.3 <i>Shrnutí</i> .....	29
<b>4</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>NAVAZUJÍCÍ MAGISTERSKÁ PRÁCE</b> .....	<b>32</b>
	5.1 ZAMĚŘENÍ A CÍLE .....	32
	5.2 METODIKA .....	33
	5.2.1 <i>Nastavení experimentu</i> .....	33
	5.2.2 <i>Odběry</i> .....	34
	5.2.3 <i>Měření rychlosti dekompozice</i> .....	34
	5.2.4 <i>Izolace mikroskopických hub</i> .....	34
<b>6</b>	<b>SEZNAM LITERATURY</b> .....	<b>35</b>
<b>7</b>	<b>PŘÍLOHA</b> .....	<b>41</b>

## 1 Abstrakt

Práce shrnuje současné poznatky týkající se úlohy mikroskopických hub v dekompozici listového opadu. Je zohledněno postavení mikroskopických hub mezi ostatními dekompozitory, sukcese hub na rozkládajícím se opadu a faktory, které průběh dekompozice v přirozeném prostředí ovlivňují.

Vzhledem k zaměření navazující magisterské práce je samostatná část věnována poznatkům o mikroskopických houbách a dekompozici listového opadu v lokalitách s industriálními půdami. Konkrétně je zaměřena na vliv vysokých koncentrací těžkých kovů, solí a acidity, jakožto nejčastějších stresových faktorů, které jsou na prostředí industriálních půd vázány.

V další části jsou představeny nejčastěji používané terénní experimentální metody studia dekompozice opadu. Je poukázáno na jejich přednosti i úskalí a omezení.

V závěru práce jsou přiblíženy cíle navazující magisterské práce a metodika, již bude k jejich dosažení užito.

## 2 Úvod

Dekompozice listového opadu je důležitou součástí koloběhu živin a jako taková má zřejmý vztah k produktivitě ekosystémů. Zvláštní pozornost si tento velmi důležitý proces zaslouží v prostředích, která jsou z různých důvodů značně neproduktivní. V České republice existuje v důsledku průmyslové činnosti velké množství lokalit, které lze do této kategorie zařadit. V industriálních půdách, jaké se nacházejí na odkalištích, rudních výsypkách a podobných extrémních stanovištích, je proces dekompozice zásadní vzhledem k jejich obnově. Tím, že transformuje živiny do podoby využitelné rostlinami a vede k utváření humusu, zlepšuje půdní vlastnosti a usnadňuje žádoucí zarůstání vegetací.

Na rozkladu organické hmoty se významnou měrou podílejí mikroskopické houby.

Konkrétně přispět k zodpovězení otázky, jak jsou společenstvo mikroskopických hub a jeho dekompoziční aktivita ovlivněny podmínkami takových extrémních substrátů, bude úkolem navazující magisterské práce.

V bakalářské práci si kladu za cíl shrnout současné poznatky o úloze mikroskopických hub v dekompozici listového opadu v přirozeném prostředí i v prostředí industriálních půd.

Rovněž s ohledem na magisterskou práci se budu věnovat i zhodnocení metod, kterých je ke sledování průběhu dekompozice a společenstva rozkladačů nejčastěji užíváno.

### **Poděkování**

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

Děkuji své školitelce RNDr. Aleně Kubátové, CSc. a Mgr. Karlu Prášilovi, CSc. za ochotně poskytované rady, doporučení i zapůjčení literatury.

Své rodině děkuji za důležitou podporu nejen v průběhu sepsání 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. Uhlík se vrací zpátky do atmosféry (Bonan 2002).

Jedním z hlavních zdrojů mrtvé organické hmoty v ekosystémech je listový opad (Szegi 1988). Jeho rozklad má proto pro fungování ekosystémů zásadní význam. Dekompozice listového opadu je klíčovým článkem globálního cyklu uhlíku, reguluje dostupnost živin pro rostliny a umožňuje formování humusu (Sjögersten et Wookey 2004).

#### 3.1.1 Role hub v dekompozici

Hlavní roli v procesu dekompozice zastávají mikroorganismy. Tesařová (1987a) 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).

V lesních ekosystémech mohou houby přispívat k celkové respiraci půdních organismů až 90% (Kjøller et Struwe 1982). Rozklad organické hmoty je přitom jedna z hlavních rolí půdních hub.

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 saprofytickým 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.

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, protože mají schopnost atakovat lignocelulózu,

kteřou ostatní organismy rozkládat neumí, ale jejíž přítomnost často dekompozici limituje (Kjøller et Struwe 1982). Také velký povrch vzhledem k objemu, který charakterizuje houbové hyfy, předurčuje houby jako obzvlášť efektivní agens rozkladu biomasy (Maheshwari 2005).

### 3.1.2 Mikroskopické houby

Mikroskopické houby jsou definovány jako houby s mikroskopickými rozmnořovacími strukturami (Cannon et Sutton 2004). Jedná se o umělou skupinu hub. Organismy v ní sdružené nemusí mít společný fylogenetický vývoj, mohou se však vyznačovat podobnou ekologií, sdílet tytéž substráty. Vytvoření souhrnné skupiny označované jako mikroskopické houby je reakcí na skutečnost, že použitím určitých odběrových technik získáváme z daného prostředí většinou zároveň zástupce různých, i fylogeneticky vzdálených, skupin hub.

Mikroskopické houby podílející se na dekompozici zahrnují zástupce oddělení Ascomycota, Zygomycota, Basidiomycota a anamorfní houby z pomocné skupiny Deuteromycetes (většina z nich ovšem podle současných poznatků molekulární biologie patří také do oddělení Ascomycota). Většina mikroskopických hub podílejících se na rozkladu mrtvé organické hmoty patří mezi vrčkovýtrusé houby.

Z oddělení Zygomycota bývají z rozkládajícího se opadu izolováni zástupci řádu Mucorales. Nebylo však prokázáno, že se podílejí na rozkladu přímo. Tyto houby zřejmě pouze koexistují s organismy, které jsou schopny využívat opad přímo jako zdroj výživy.

Přestože těžiště oddělení stopkovýtrusých hub tvoří makroskopičtí zástupci, zahrnuje tato skupina i některé mikroskopické saprotrofní houby. Většinou se však jedná o organismy kolonizující dřevo spíše než zbytky měkkých částí rostlinných těl. Nepředpokládá se, že mikroskopičtí zástupci této skupiny hrají významnější úlohu v rozkladu opadu, přestože Frankland (1982) odhadla podíl všech basidiomycetů v celkové mikrobiální biomase v opadu a humusu britských listnatých lesů na 60 %. Absence basidiomycetů v pracích zabývajících se mikroskopickými houbami v dekompozici opadu může však být nikoli projevem skutečné absence těchto organismů na daném substrátu, nýbrž toho, že jsou běžně používané izolační a kulturační metody vůči basidiomycetům diskriminující (Hering 1965, Bills et al. 2004).

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

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 (Szegi 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 % (Szegi 1988). Na jejím odbourávání se kromě hub podílejí i bakterie. Enzymatický aparát celulólytů 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 saprofytů v opadové vrstvě a půdě lze klasifikovat jako celulólyty, jen málo z nich je schopno rozkládat nativní celulózu. Většina organismů označovaných jako celulólyté vlastní pouze komplex  $C_x$  a je schopna rozkládat jen amorfní 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).

### **Hemicelulózy**

Druhou nejhojnější složkou opadu jsou hemicelulózy. Jedná se o celou skupinu látek, které vytvářejí amorfní 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 buněčné stěně 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. Zástupci basidiomycetů se v rozkladu ligninu uplatňují spíše v pozdějších fázích dekompozice, kdy je opad zabudován do hlubších vrstev opadu a do půdy (Dix et Webster 1995). Autoři uvádějí jako pravděpodobnou příčinu to, že 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 basidiomycety.

To potvrzují i Koide et al. (2005), kteří po dobu 18 měsíců sledovali dekompozici listového opadu druhu *Camellia japonica*. Mycelium basidiomycetů tvořilo pouhá 2 % celkové biomasy hub podílejících se na dekompozici opadu. Zásadní roli v dekompozici ligninu sehráli zástupci vřeckovýtrusých hub z čeledi *Rhytismataceae*. Osono et Takeda (2001b) provedli odhad biomasy basidiomycetů na základě užití metody přímého pozorování. Uvádějí, že biomasa stopkovýtrusých hub byla na čerstvě opadaných listech zanedbatelná a v průběhu dekompozice narůstala.

### **Flavonoidy a třísloviny**

Z minoritních složek opadu jsou obzvláště významné flavonoidy. Jejich zbytky spolu s aromatickými produkty dekompozice ligninu se podílejí na vzniku huminových kyselin. Za hlavní rozkladače jednoduchých flavonoidů označují autoři Dickinson et Pugh (1974) zástupce rodu *Aspergillus*.

Třísloviny rozkládají především druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*.

## **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 života nejen v období senescence a po odumření (Ruscoe 1971). Na dekompozici se tedy podílejí i houby obývající živé listy – epifyté i endofyté (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 fylosofární a endofytické houby totiž přetrvávají v listech po opadu a účastní se 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. Druhy *Geniculosporium* sp. 1, *Xylaria* sp. (anamorfa), bílé sterilní mycelium 5LS12, *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 bližší neurčený coelomycet jen na živých nebo senescentních listech. Endofyté a houby fylosoféry, kteří přetrvávají do mrtvých listů mají výhodu oproti houbám, které kolonizují listy 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 fylosofární 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 fylosofárních hub) tak z nesterilizovaných listů. Tyto fylosofární houby jsou 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 fylosofárních hub z dekompozice na její další průběh. Hypotéza, že prudký hmotnostní úbytek opadu svídy souvisí s vysokou frekvencí fylosofárních hub u této dřeviny, se nepotvrdila. Vyloučení fylosofárních hub nemělo významný efekt na rychlost úbytku hmoty opadu a chemické změny v první fázi rozkladu. Autor uvádí, že 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 fylosférními 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 dokazuje, 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 mění jak kvantitativně tak kvalitativně. 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 (Kjøller 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. (2003), 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.

Přesně opačný výsledek přinesla studie dekompozice opadu v semiaridním lesnatém ekosystému Argentiny. Vlivem suchého období, které následuje po opadu listí, 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. Již zmínění Koide et al. (2005) pozorovali velmi efektivní odbourávání

ligninu už v počáteční fázi dekompozice.

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

Jednou ze stěžejních prací věnujících se sukcesi mikroskopických hub v průběhu dekompozice listového opadu je pro svou důkladnost práce Hogg et Hudson (1966). Na opadu *Fagus sylvatica* v Anglii sledovali autoři sukcesi hub po dobu 18 měsíců. 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 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*.

Hering (1965) studoval sukcesi hub na opadu 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 odlišnou mykoflóru, po jednom roce rozkladu se mykoflóra všech čtyř druhů opadu shodovala.

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.

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 subteecta*, *Stemphylium* sp., *Chaetomium globosum* a *Trichoderma viride* (Ruscoe 1971).

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 přežily v opadu víc než 3 měsíce pouze *A. alternata* a *C. herbarum*), jednak sekundární saprofyty. 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* (Macauley 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*, *Arthrinium*, *Verticillium*, *Phomopsis*, *Phialophora*, *Oidiodendron* a *Aspergillus* (Osono et al. 2003).

Nejhojnějšími houbami v počáteční fázi dekompozice opadu *Camellia japonica* byly *Pestalotiopsis guepini* a ještě jeden bližší neurčený coelomycet. Jejich frekvence v průběhu rozkladu klesala. Později (tj. v období od 6 do 9 měsíců po opadu) dominovala *Nigrospora* (přislušející 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 *Arthrinium* 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 byla nejvyšší v období mezi 5 a 12 měsíci od opadu a poté 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. Nejhojnějšími 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*. V pozdějších fázích dekompozice počáteční kolonizátoři mizí a jsou nahrazováni jinými. V závěrečných fázích dominují mykoflóře opadu stále víc typické půdní houby, zejména *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Mortierella*.

Mezi půdními houbami rozlišujeme jednak rody autochtonní, příkladem jsou *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Humicola*, *Gliocladium* nebo *Doratomyces*, jednak allochtonní, jako jsou *Mucor* a *Mortierella*. Druhy autochtonních hub jsou v rámci rodů rozmístěny odlišně v závislosti na rozdílných vlastnostech půd a mají v půdě kontinuální aktivně rostoucí populace. Allochtonní houby jsou oportunisté. Zůstávají v půdě v dormantním stádiu, ale když nastanou příznivé podmínky, jsou schopné rychlého růstu (Dickinson et Pugh 1974).

## 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), Daubemire et Prusso (1963), Koide et Shumway (2000), Salamanca et al. (2003) nebo Albers et al. (2004).

Změnu v rychlosti dekompozice jako důsledek odlišné struktury mikrobiálního společenstva na substrátu uvádějí Witkamp (1963), Daubemire et Prusso (1963), Tribe (1966) nebo Šimonovičová (1986).

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 závisí často 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 hydrolýzy 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. 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).

Kompetici mezi společenstvy saprotrofů a výslednou efektivitu rozkladu může ovlivnit také přítomnost toxických látek v pletivech. Přítomnost takových látek nebývá ale v rámci prací zabývajících se vlivy chemického složení na dekompozici stanovována.

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 právě přítomnost toxických složek nebo důležitých živin, jejichž stanovování není v konvenčních analýzách zahrnuto. 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 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 *Chamaecypris 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. Optimální vlhkostní podmínky zlepšují proliferaci půdních mikroorganismů. Většině mikroorganismů nejlépe vyhovuje stav, kdy je půda nasycena vodou z 60-70 % své maximální kapacity (Szegi 1988).

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

opadu volného.

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) pozorovali rozklad 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. Mykoflóra jednotlivých druhů opadu nebyla v rámci této práce stanovována, ale je pravděpodobné, že právě složení mykoflóry, které se u jednotlivých druhů opadu lišilo, bylo příčinou nejednoznačnosti vztahu rychlosti dekompozice a teploty. Teplotní požadavky různých druhů hub dokonce i v rámci jednoho rodu, mohou být značně odlišné (Szegi 1988).

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 v počátečních fázích rychlost dekompozice ovlivňována klimatem spíše přímo, v pozdních fázích převažuje nepřímý vliv.

Celkový charakter klimatu podmiňuje 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.

Odlišné mikroklimatické podmínky byly pravděpodobně také příčinou rozdílů v rychlosti dekompozice, které pozorovala Spěváková (1996). Jednotlivé studijní plochy se nacházely 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. Vyplývá to např. z prací Witkamp (1963), McLaugherty 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).

## **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 bližšími 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 bližšími 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).

Odlišné 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 Dekompozice v industriálních půdách**

#### **3.3.1 Význam studia problematiky**

Průmyslová činnost člověka, jako je těžba, provoz tepelných elektráren, hutí nebo závodů chemického průmyslu, je spojena s produkcí značného množství odpadu. Vznikají tak často i velmi rozsáhlá uložště různých odpadních produktů jako jsou odkaliště, rudní výsypky apod. Antropogenní substráty tohoto typu představují prostředí v mnoha ohledech extrémní a procházejí jen pomalým přirozeným zarůstáním. Jednou z hlavních příčin pomalého návratu rostlin je, že faktory, které v tomto prostředí působí, negativně ovlivňují společenstvo půdních mikroorganismů a tím důležité mikrobiální procesy včetně dekompozice. Na stanovištích antropogenního původu, jakými jsou odkaliště, je přitom dekompozice klíčovým procesem ve vztahu k jejich obnově. Tím, že transformuje živiny do podoby využitelné rostlinami a vede k utváření humusu, zlepšuje půdní vlastnosti a ovlivňuje sukcesi vegetace. Přes zřejmý význam studia této problematiky je dekompozice v antropogenních půdách dosud poměrně málo probádanou oblastí.

Rozhodující roli v dekompozici opadu hrají mikroskopické houby. Současné sledování struktury společenstva mikroskopických hub, které se rozkladu účastní, a průběhu dekompozice v čase může vést k objasnění mechanismů, kterými určité faktory dekompozici ovlivňují. Rovněž může přispět k rozšíření poznatků o individuálních schopnostech mikroskopických hub a o rolích jednotlivých hub v rozkladném procesu.

#### **3.3.2 Faktory působící v prostředí s industriálními půdami**

Existují dvě hlavní kategorie stresových faktorů, které vzhledem k dekompozici působí v prostředí skládek různých průmyslových odpadů:

1. Mechanická destrukce půdního povrchu a odstranění vegetace, s čímž souvisí rozvoj nepříznivých hydrologických poměrů a mikroklimatických podmínek.
2. Změna chemické kvality substrátu v důsledku jeho kontaminace různými látkami.

Význam vlhkosti, teplot a charakteru vegetace na stanovišti pro dekompozici opadu mikroskopickými houbami byl zohledněn v předchozí kapitole. V následující části se proto budu zabývat pouze vlivy souvisejícím s chemickou kvalitou půdního prostředí. Vzhledem ke konkrétnímu zaměření navazující magisterské práce bude pozornost věnována vlivu zvýšené koncentrace těžkých kovů, koncentrace solí a nízkých hodnot pH.

## Kontaminace těžkými kovy

### Toxicita těžkých kovů

Kontaminace těžkými kovy je často považována za dominantní vliv, který v prostředí uložišť průmyslových odpadů vzhledem k dekompozici působí.

Nejčastěji bývá půda kontaminována 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 Horsfalla (1936) v řadě: Ag – Hg – Cu – Cd – Cr – Ni – Pb – Co – Zn – Fe – Ca. Příčinou toxicity některých kovů (např. Ag, Mo, Sn) je jejich schopnost reagovat s enzymy. Jiné kovy, včetně Au, Cd, Cu, Hg, Pb a Ur, působí změny v permeabilitě membrán (Ross 1975).

Koncentrace, při které se kov stává toxickým, je ovlivněna mnoha faktory. Např. koncentrace jiných iontů, přítomnost organických látek schopných tvořit cheláty či hodnota pH prostředí významně ovlivňují chemickou aktivitu kovů. Jejich dostupnost v půdě a následně i koncentrace v rostlinných tělech 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 půdní houby. 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. mantanense*, *P. brevicompactum*, *Oidiodendron* cf. *temuissimum*, *O.* cf. *echinulatum* a *O. maius*, které byly běžné v půdě nezasaženého 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 ovlivněni. 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.

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

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

Snížení půdní respirace v závislosti na koncentraci As, Cu, Pb, Zn a Cd v půdě zaznamenali Ramsey et al. (2005).

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 Rühling 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 problematičtější. 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 nepřímě, 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 tak, že elektrická konduktivita dosahovala hodnot 0,4, 1, 2 a 3 S.m<sup>-1</sup>. 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. Houby byly kultivovány na médiích o elektrické konduktivitě 1, 1,5 a 2 Ohm.s<sup>-1</sup>. 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. Podstatný je ale také typ soli. Některé houby hůře snášejí chloridy, jiné sírany. Zvláštní postavení mezi ostatními solemi mají uhličitany alkalických kovů. Jsou extrémně toxické dokonce i v malých množstvích (Szegi 1988).

Halotolerance závisí i na dalších ekologických faktorech např. pH a teplotě.

## Vliv acidity

Hodnota pH je velmi důležitým ekologickým faktorem, který má často hlavní vliv na kvantitativní a kvalitativní složení mikrobiálních komunit. Např. 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. Ramsey et al. (2005) zaznamenal snížení půdní respirace jako odpověď na zvýšenou aciditu. Podél gradientu pH od 4 do 7 poklesla respirace o 72 %.

Toxický efekt nízkých hodnot pH není dán pouze přímo koncentrací H<sup>+</sup> 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. Výskyt tohoto zástupce rodu *Scytalidium* v prostředí industriálních půd odpovídajících charakteristik je pravděpodobný.

## 3.4 Terénní metody studia dekompozice opadu

### 3.4.1 Metoda opadových sáčků

Metoda opadových sáčků je dlouhodobě nejužívanější terénní experimentální metodou studia dekompozice opadu.

Podstatou je sledování dekompozice opadu uzavřeného do sáčků ze síťoviny. Na začátku pokusu se do půdy nebo na její povrch založí velké množství takových sáčků a následně se v určitých intervalech jednotlivé sady sáčků odebírají. Materiál z odebraných sáčků se užívá ke stanovení hmotnostního úbytku, k chemické analýze nebo k izolaci organismů.

Metoda umožňuje:

3. sledovat průběh rozkladu rostlinného opadu (hmotnostní úbytky, změny chemického složení v čase)
4. porovnat rychlost dekompozice v různých prostředích
5. porovnat rychlost rozkladu různých druhů opadu
6. sledovat společenstvo organismů účastnících se dekompozice
7. při použití sáčků z materiálů o různé velikosti ok sledovat podíl jednotlivých skupin dekompozitorů (mikroorganismů, mezo- a makrofauny) na rozkladu.

S vlastním pokusem jsou většinou asociována měření různých faktorů prostředí. Při vhodném nastavení pokusu pak lze zjištěná data o dekompozici uvést do souvislosti s těmito faktory. Nejčastěji bývají rychlost dekompozice či složení společenstva rozkladačů vztahovány k různým půdním vlastnostem, míře a typu znečištění, disturbanci nebo klimatickým parametrům. Výběr měřených faktorů se odvíjí od konkrétních cílů každé práce.

#### Varianty metody

V závislosti na zaměření každé studie existují různé varianty metody. Nastavení pokusu se u různých autorů používajících metodu opadových sáčků liší v následujících aspektech:

##### 1. Časové rozvržení

Pro studium průběhu rozkladu je třeba delší celkové doby - expozice trvá několik let (Tian 2000, Jirout et al. 2005). Odběry jsou zpočátku, kdy je rozklad intenzivnější, prováděny v intervalech týdnů až měsíců. Později se intervaly mezi odběry prodlužují na měsíce a roky. Pro porovnání rychlosti dekompozice na různých stanovištích nebo různého opadu stačí expozice kratší. Obvyklá délka je 6-12 měsíců (Hopkins et al. 1990).

##### 2. Výběr substrátu, jeho množství a ošetření před uložením do sáčků

Pominu-li případy, kdy je přímo záměrem autorů hodnotit či srovnávat průběh

dekompozice konkrétních druhů opadu, odvíjí se výběr substrátu hlavně od toho, v jakém prostředí je studie prováděna. Kromě nejrozličnějších druhů opadu lze sáčků použít i ke sledování rozkladu modelové celulózy (Suchara 1987, Tesařová 1987 b, McClellan et al. 1990, Spěváková 1996, Novák et Placerová 1998).

Množství opadu umístěného do jednotlivých sáčků je voleno s ohledem na zamýšlenou délku experimentu a předpokládanou rychlost dekompozice. Množství opadu v sáčcích v souvislosti s jejich rozměry může ale také ovlivnit dostupnost substrátu pro dekompozitory či pozměnit mikroklimatické podmínky, při kterých je rozklad uskutečňován. Mělo by proto co nejvíce odpovídat situaci na stanovišti (Tesařová 1987a, Johnson et Hale 2004).

Je-li substrát určen ke stanovování rychlosti dekompozice pomocí hmotnostních úbytků, musí být známa jeho přesná počáteční hmotnost. Je běžné za tím účelem substrát před odvážením do sáčků vysušit na konstantní hmotnost (Hopkins et al. 1990, Tian 2000, Osono et al. 2003, Lorentz et al. 2004, Jirout et al. 2005). Vysušený materiál ztrácí sice během prvních dnů expozice organickou hmotu rychleji než čerstvý, rozdíly v hmotnostních úbytcích však ztrácí na významu, když se doba expozice prodlužuje na měsíce (Barlocher 1992). Někteří autoři, např. Johnson et Hale (2004), odvažují do sáčků opad čerstvý a sušinu stanovují paralelně. Pro účely některých studií je třeba ošetřit substrát speciálním způsobem, např. část listů před expozicí sterilizovat (Osono 2005).

### **3. Parametry sáčků**

Nejdůležitějším parametrem je velikost ok pletiva, ze kterého jsou sáčky vyrobeny.

Nejčastěji se používá materiálů o velikosti ok 0,5-2 mm. Má-li být substrát v sáčku přístupný pro kompletní rozkladačstvo včetně půdní mezo- a makrofauny, je třeba užít materiál o velikosti ok 7-8 mm. Je-li předmětem zájmu pouze mikrobiální rozklad, je třeba použít síťoviny o velikosti ok 0,04-0,05 mm (Tesařová 1987a, Jirout et al. 2005).

### **4. Umístění sáčků**

Při pevnění sáčků na povrch odpovídá více přirozenému umístění opadu v ekosystému. Tuto variantu zvolila proto řada autorů (Tian 2000, Lorentz et al. 2004, Osono 2005). Podstatnou nevýhodou je zvýšené riziko poškození či ztráty sáčků. Především z tohoto důvodu je časté i ukládání sáčků do půdy (Hopkins et al. 1990, Spěváková 1996, McEnroe et Helmisaari 2001, Jirout et al. 2005). Umístění sáčků může mít podstatný vliv na výsledky studie. McClaugherty et al. (1985) zaznamenal prudší hmotnostní úbytky u opadu v sáčcích uložených do půdy oproti sáčkům připevněným na povrch. Rychlejší dekompozici opadu v sáčcích založených do země uvádí i Koide et Shumway (2000). Zajímavá je interakce s velikostí ok sáčků. Efekt uložení sáčků na rychlost dekompozice se projevil pouze u sáčků

z jemného pletiva (0,3 mm). McClellan et al. (1990) porovnal rychlost dekompozice celulózy v různých hloubkách půdy. V organické vrstvě ztratila celulóza po třech letech 33,7 % původní hmotnosti, v minerální vrstvě pouze 14,5 %.

### **Nedostatky metody opadových sáčků**

Fakt, že je metoda opadových sáčků již dlouhou dobu velmi hojně používána, není v žádném případě výrazem toho, že je zcela ideální. Naopak je často kritizována a je zřejmé, že nejužívanější zůstává nadále jen proto, že ve většině případů není lepší metoda k dispozici.

Hlavní problém souvisí s tím, že listy v sáčcích jsou vždy alespoň do určité míry vystaveny odlišným podmínkám oproti volnému opadu. Získaná data o průběhu a rychlosti dekompozice, o složení společenstva rozkladačů a jeho proměnách v čase tak nemusí zcela odpovídat realitě na stanovišti. Je pozměněna pozice opadu v prostředí, intenzita světla a režim průtoku vody. Lišit se tak může teplota, provzdušnění substrátu i jeho vlhkost. Navíc jsou mikroklimatické podmínky v sáčcích oproti okolí celkově stálější, takže se dá očekávat, že společenstvo rozkladačů bude vykazovat nižší variabilitu (Kurz-Besson et al. 2005).

Vliv sáčků na dekompozici opadu potvrzují autoři Virzo de Santo et al. (1993), Witkamp et Olson (1963) a Kurz-Besson et al. (2005). Všichni pozorovali odlišnou rychlost dekompozice u volného opadu a opadu uzavřeného do sáčků. Zatímco však Witkamp et Olson (1963) uvedli, že dekompozice opadu v sáčcích byla 2-3krát pomalejší, což Sadaka-Laulan et al. (2000) vysvětlují jako důsledek vyloučení určitých skupin organismů z dekompozice (ke kterému dochází i při užití sáčků s větší velikostí ok) a ztíženou možností hub kolonizovat substrát, zbývající autoři zjistili pomalejší rozklad u volného opadu. Virzo de Santo et al. (1993) prováděli svůj výzkum v suchých oblastech Itálie. Výrazně rychlejší dekompozici v sáčcích pozoroval zejména v suchých sezónách. Přijatelným vysvětlením tohoto jevu je vyšší vlhkost opadu v sáčcích oproti volnému opadu. Kurz-Besson et al. (2005) uvádějí, že rychlost dekompozice byla u opadu v sáčcích rychlejší i na vlhkých místech.

Další problém souvisí s velikostí ok síťoviny, z níž jsou sáčky zhotoveny. Řidší síťovina je nevhodná pro měření rychlosti dekompozice stanovováním váhového úbytku substrátu. Částice rozkládaného opadu mohou síti propadnout nebo mohou být živočichy ze sáčků přemístěny do okolní půdy (McClaugherty et al. 1985). Na druhé straně, zejména při uložení sáčků do půdy, na rozkládajícím se opadu ulpívají částice půdy (Spěváková 1996). To vše způsobuje při měření hmotnostního úbytku nepřesnosti a vzdaluje výsledky od reality na stanovišti. Při použití materiálu o menší velikosti ok jsou tyto nedostatky eliminovány a měření hmotnostního úbytku je přesnější. Určité skupiny organismů jsou však z dekompozice vyloučeny a vztah výsledků měření k realitě je opět komplikovaný.

Vliv velikosti ok pletiva, ze kterého jsou sáčky zhotoveny, na rychlost dekompozice, označovaný jako „bag effect“, zaznamenalo mnoho autorů. Výjimkou jsou McClaugherty et al. (1985), kteří žádný významný vliv nepozorovali. Hopkins et al. (1990) měřili rychlost dekompozice na dvou stanovištích lišících se hodnotou pH a použili zároveň sáčky o velikosti ok 45 μm, 1 mm a 5 mm. Na stanovišti s pH 5,3 byl rozklad tím rychlejší, čím byla oka sáčku větší, zatímco na stanovišti s pH 4,3 nebyly prokázány rozdíly v rychlosti dekompozice v závislosti na velikosti ok. Snížená rychlost dekompozice pozorovaná u sáčků z jemného pletiva je pravděpodobně dána vyloučením půdní fauny z rozkladu. Na stanovišti s kyselější půdní reakcí byla populace této skupiny organismů podstatně snížena a „bag effect“ se tudíž neprojevil. Ne všechny studie ale potvrzují očekávaný vztah: hrubší síťovina - rychlejší rozklad, který je založen na jednoduché úvaze, že vyloučení určitých skupin organismů vede ke zpomalení rozkladu. Jirout et al. (2005) měřili rychlost dekompozice opadu rovněž paralelně ve třech typech sáčků (o velikosti ok 42 μm, 0,5 mm a 2 mm). Nejrychlejší rozklad zaznamenali v sáčcích s oky o velikosti 42 μm, což vysvětlují tím, že v tomto typu sáčků byl substrát vystaven vyšší vlhkosti. Jiným možným vysvětlením je, že půdní živočichové, kteří mají přístup do sáčků z hrubšího pletiva, se mikroorganismy, které substrát rozkládají, živí, snižují jejich počty a dekompozici tím zpomalují. Toto vysvětlení je z obou rozhodně pravděpodobnější v případě výsledků práce Koide et Shumway (2000). Tito autoři zaznamenali interakci mezi místem expozice a typem sáčku (použili sáčky o velikosti ok 0,3 a 1 mm). Obě stanoviště byla vystavena stejným klimatickým poměrům a shodoval se i vegetační pokryv. Na místě charakterizovaném příznivější hodnotou pH, tedy v prostředí, kde se dá očekávat četnější populace půdních živočichů, probíhal rozklad rychleji v sáčcích z jemného pletiva. Na druhém stanovišti neměl typ sáčku na rychlost rozkladu žádný vliv.

Interakce mezi stanovištěm a vlivem typu sáčku na rychlost dekompozice, kterou ve své práci autoři Koide et Shumway (2000) odhalili, je klíčem k pochopení rozporů mezi výsledky všech výše zmíněných prací. Zda a jakým způsobem ovlivní přítomnost sáčků a jejich parametry (velikost ok síťoviny) rychlost rozkladu, závisí totiž na faktorech, které v daném prostředí dekompozici limitují (např. vlhkost, pH) a jakým mechanismem se tak děje (např. pokles četnosti mezofauny kvůli nízkému pH).

Další nevýhodou metody opadových sáčků je nutnost pokus přesně naplánovat dopředu. V průběhu experimentu se mohou zvolené parametry ukázat jako ne zcela ideální. Rozklad může probíhat rychleji nebo pomaleji, než se očekávalo, a množství substrátu v sáčcích, délka pokusu nebo odběrových intervalů nebude situaci vyhovovat. Prostor pro dodatečné úpravy v nastavení pokusu je přitom minimální. Je vhodné před založením pokusu provést v daném prostředí předběžný průzkum a tak výše zmíněné riziko minimalizovat.

### 3.4.2 Další metody

V podstatě jedinou metodou, která může za určitých podmínek konkurovat metodě opadových sáčků, je tzv. metoda přímého pozorování. Bývá často vyzdvižována kritiky metody opadových sáčků. Spočívá v tom, že se na daném místě nasbírá určitý počet listů z různých vrstev opadu. Nasbírané listy se roztrídí podle morfologických znaků do kategorií, které odpovídají různým fázím rozkladu. Nasbírají se také živé a senescentní listy. Listy jednotlivých kategorií se následně použijí jednak k izolaci organismů, jednak ke stanovení rychlosti dekompozice.

Hmotnostní úbytky mezi jednotlivými kategoriemi listů se kvantifikují:

- a) stanovením hmotnosti na plochu listu (Sadaka-Laulan et al. 2000),
- b) stanovením hmotnosti 1 m jehlic (Kurz-Besson et al. 2005).

Z množství opadu, které přibude za rok z předchozí do následující vrstvy, a z velikosti vrstvy se odvodí doba setrvání listů v každé vrstvě opadu (Kurz-Besson et al. 2005). Jsou-li kvantifikovány rozdíly ve stupni rozkladu listů v každé vrstvě a je-li stanovena doba setrvání opadu ve vrstvě, lze vyjádřit rychlost dekompozice.

Hlavní výhodou oproti metodě opadových sáčků je, že s opadem není manipulováno a nevzniká tak prostor pro mikroklimatické artefakty. Metoda umožňuje sledovat dekompozici v průběhu dlouhého času a zachytit tak celou historii opadu, dokud se zcela nerozpadne. Odběry vzorků není třeba provádět simultánně na různých místech.

Zásadní problém spočívá v tom, že je limitována pouze na lesní prostředí s dobře vytvořenými vrstvami opadu. Tato metoda je také pro časovou náročnost, spojenou s tříděním velkého počtu listů do jednotlivých kategorií, nevhodná pro rozsáhlé studie s velkými sadami vzorků. Dalším slabým místem je stanovení doby setrvání opadu ve vrstvě. Tato veličina vychází velmi variabilní. Její výpočet je založen na velikosti vrstvy a ta může vykazovat značnou heterogenitu (Kurz-Besson et al. 2005). Kromě toho hranice mezi jednotlivými vrstvami v opadu není často dobře zřetelná (Koukol 2002).

Další alternativou metody opadových sáčků může být vázání listů do svazků a jejich následné umístění do opadu nebo připevňování na povrch opadové vrstvy (Osono 2002). I tato metoda je projevem snahy vyhnout se přílišné manipulaci s opadem a ovlivňování mikroklimatických podmínek používáním sáčků. Je však vhodná pouze pro krátkodobé sledování společenstva rozkladačů. Při delší expozici dochází ke ztrátám materiálu ze svazečků. Je zřejmé, že pro stanovování hmotnostních úbytků této metody užít nelze.

### 3.4.3 Shrnutí

Metoda opadových sáčků zůstává i přes své zjevné nedostatky nejčastěji užívanou technikou zkoumání dekompozice v terestrických ekosystémech. Ačkoli podle výsledků některých studií přeceňuje, podle jiných podceňuje aktuální dekompozici, předpokládá se, že výsledky studií užívajících tuto techniku reflektují charakteristické trendy dekompozice volného opadu a tak umožňují srovnání mezi druhy opadu, stanovišti apod. Tato metoda umožňuje sledovat vliv celého souboru podmínek prostředí měnících se v čase a podává tak obecný obrázek o průběhu dekompozice.

Pro účely navazující magisterské práce je metoda opadových sáčků nejvhodnější. V prostředí, ve kterém bude dekompozice sledována, není vytvořena souvislá opadová vrstva a metodu přímého pozorování nelze uplatnit. Metoda postupného odebírání volných listů připevněných na povrch půdy pro výše nastíněné příčiny neumožňuje dlouhodobější výzkum a pro měření rychlosti dekompozice není vhodná.



## 4 Závěr

### Role mikroskopických hub v dekompozici listového opadu

V procesu dekompozice listového opadu zastávají mikroskopické houby rozhodující úlohu. Jsou nejefektivnějšími dekompozitory celulózy, hemicelulózy a ligninu – hlavních složek opadu.

### Sukcese hub na substrátu

Listy jsou nejprve kolonizovány ještě živé na stromech různými parazity a primárními saprotrofy. Nejběžnějšími rody této kategorie hub jsou *Alternaria*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Phoma* a *Pestalotiopsis*. Mnohé z těchto hub přetrvávají na listech i po opadu a dále se rozvíjejí spolu se sekundárními saprotrofy, kteří je nově kolonizují z okolního opadu. Nejčastěji se jedná o zástupce rodů *Phomopsis*., *Coelophoma*, *Acremonium*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Geniculosporium* a *Arthrinium*. V průběhu dekompozice tyto raní kolonizátoři ustupují a jsou nahrazováni jinými. V závěrečných fázích rozkladu převažují na opadu typické půdní houby jako jsou *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor* a *Mortierella*.

### Faktory ovlivňující dekompozici

Průběh dekompozice je ovlivňován:

1. Fyzikálně-chemickými vlastnostmi substrátu. Důležitou roli hraje obsah uhlíku a dusíku a některých dalších živin, vzájemný poměr C: N, obsah rozpustných uhlovodíků, poměrné zastoupení ligninu a celulózy.
2. Podmínkami vnějšího prostředí. Význam mají klimatické poměry, charakter vegetace na stanovišti a vlastnosti půdního prostředí - obsah a dostupnost živin, zejména uhlíku, dusíku a fosforu, poměr C: N, pH, výměnná iontová kapacita.

Tyto faktory regulují rychlost dekompozice skrze ovlivnění:

- druhového složení společenstva mikroskopických hub
- abundance mikroskopických hub
- dekompoziční aktivity jednotlivých druhů hub

### Mikroskopické houby a dekompozice v industriálních půdách

Prostředí industriálních půd, jaké se vyskytují na odkalištích, výsypkách a podobných uložistištech průmyslových odpadů, je charakterizováno extrémními mikroklimatickými podmínkami a nepříznivými chemickými vlastnostmi, jako jsou salinita, acidita nebo vysoká koncentrace těžkých kovů.

Prítomnost těžkých kovů má podstatný vliv na biomasu a druhové složení společenstva

mikroskopických půdních hub i na jejich aktivitu. V prostředí se zvýšeným obsahem těžkých kovů v půdě probíhá dekompozice pomaleji. Vztah rychlosti dekompozice ke koncentraci těžkých kovů v pletivech opadu nebyl prokázán.

Rovněž salinita a acidita půdního prostředí negativně ovlivňuje dekompoziční aktivitu mikroskopických hub. Reakce jednotlivých druhů hub na vysoké koncentrace solí a nízké pH se liší.

Vlivy jednotlivých faktorů jsou vzájemně provázány. Účinek jednoho závisí i na působení ostatních.

### **Metody studia dekompozice opadu**

Nejužívanější terénní experimentální metodou studia dekompozice opadu je metoda opadových sáčků. Lze pomocí ní sledovat rychlost dekompozice i složení společenstva saprotrofů. Přestože přítomnost sáčků i velikost ok síťoviny, ze které jsou zhotoveny, může mít na průběh dekompozice nezanedbatelný vliv, předpokládá se, že výsledky studií užívajících tuto techniku reflektují charakteristické trendy dekompozice volného opadu a tak umožňují srovnání mezi druhy opadu, stanovišti apod.

Nejvýznamnější alternativou metody opadových sáčků je metoda přímého pozorování. Vyhýbá se sice nežádoucí manipulaci s opadem, je však limitována pouze na lesní prostředí. Stanovování rychlosti dekompozice touto metodou může být komplikované.

## 5 Navazující magisterská práce

### 5.1 Zaměření a cíle

Ve své magisterské práci se budu zabývat úlohou mikroskopických hub v dekompozici listového opadu v povrchových mikroekosystémech antropogenních půd.

Možnost studovat tuto problematiku se otevřela v rámci řešení grantu MŽP Ekologická rozhraní: interakce živého a neživého v povrchových mikroekosystémech půd antropogenních substrátů.

Pro účely magisterské práce byly zvoleny studijní plochy na dvou lokalitách. První se nachází na bývalém odkališti MKZ Chvaletice, druhá v okolí bývalého vojenského letiště Hradčany u Ralska. Lokalita u Ralska představuje relativně přirozené prostředí, zatímco chvaletické odkaliště je příkladem extrémně toxického stanoviště antropogenního původu. Půdní substrát je zde charakterizován vysokou aciditou, vysokým obsahem kovů, zejména Mn, Zn, Fe a Al, a vysokou koncentrací solí.

Po dobu 18 měsíců bude pomocí metody opadových sáčků sledován průběh dekompozice v obou lokalitách. Každé 2 měsíce budou prováděny odběry sáčků s opadem. Materiál ze sáčků bude sloužit ke stanovování hmotnostního úbytku opadu a k izolaci mikroskopických hub, které se podílejí na jeho rozkladu. Rovněž bude v obou lokalitách sledován průběh rozkladu modelové celulózy. Data získaná v průběhu pokusu by měla sloužit k získání odpovědí na základní otázky:

1. Liší se společenstva hub podílející se na dekompozici listového opadu v podmínkách toxického substrátu odkaliště ve srovnání s méně narušenou lokalitou?
2. Jaký je podíl hub na dekompozici ve srovnání s ostatními půdními organismy?
3. Jaká je rychlost dekompozice v antropogenní půdě odkaliště ve srovnání s méně narušenou půdou?

Existuje řada prací zabývajících se měřením rychlosti dekompozice v prostředích s gradienty hodnot pH, koncentrací těžkých kovů a solí v půdním substrátu. Mnohem méně autorů provádělo zároveň průzkum společenstva rozkladačů. Přitom právě uvedení rychlosti dekompozice do vztahu se složením společenstva rozkladačů může vést k objasnění mechanismů, kterými dané faktory dekompozici ovlivňují. Rovněž může přispět k rozšíření poznatků o individuálních schopnostech a rolích jednotlivých organismů v dekompozici. V některých pracech vztahují autoři rychlost dekompozice ke struktuře společenstva mikroskopických hub izolovaných z půdy, přičemž nejde zdaleka jen o houby schopné v daném prostředí opad rozkládat.

## 5.2 Metodika

### 5.2.1 Nastavení experimentu

V listopadu 2005 byl na obou lokalitách nasbíráán listový opad břízy (*Betula pendula*). Vždy 1,30 g opadu usušeného na konstantní hmotnost při 75 °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. Celkem bylo připraveno 108 sáčků s opadem z lokality u Ralska a 108 s opadem z lokality u Chvaletic - vždy polovina sáčků z hrubého a polovina z jemného pletiva. Paralelní užití sáčků o různé velikosti ok umožní zjistit, jaký je podíl mikroskopických hub na dekompozici opadu ve srovnání s příslušnými mezofauny.

Kromě sáčků s opadem břízy byly z pletiva o velikosti ok 1,5 mm také připraveny sáčky obsahující 0,60 g vysušeného filtračního papíru (2R, plošná hmotnost 80 g.m<sup>-2</sup>). Sledování hmotnostního úbytku celulózy je standardním způsobem užívaným ke srovnávání rychlosti dekompozice v různých prostředích. Zaznamenání průběhu dekompozice celulózy umožní porovnání dekompoziční aktivity v prostředí zvolených studijních ploch s hodnotami udávanými z jiných ekosystémů. Vzájemné porovnání výsledků z obou ploch odkryje, nakolik jsou případné pozorované rozdíly v rychlosti dekompozice opadu způsobeny jeho odlišnou kvalitou.

Pokus byl založen v květnu 2006. Jeho celková délka byla nastavena na 18 měsíců, délka intervalu odběrů na 2 měsíce. Na každé lokalitě bylo vytipováno 9 míst s výskytem mikrobiální krusty (pokrytých lišejníky, mechy, případně ojedinělými trsy trav). Na každém místě bylo uloženo 12 sáčků s opadem břízy - 6 sáčků z hrubého a 6 z jemného pletiva. Na 3 místech byla kromě sáčků s opadem uložena i čtveřice sáčků s filtračním papírem. Filtrační papír se rozkládá poměrně rychle a není vhodné zakládat jej na dobu delší než 6 měsíců. Pokud by se naopak dvoutměsíční délka intervalů ukázala jako nedostatečná k zaznamenání významného úbytku papíru, lze použít hodnoty naměřené v intervalech 4 nebo 6 měsíců. V situaci, kdy je filtrační papír zakládán během pokusu opakovaně, ale přitom na dobu delší než jsou intervaly odběrů, může ve výsledcích hrát roli fakt, že nový filtrační papír musí být vždy nejprve kolonizován. To může ovlivnit výslednou rychlost dekompozice naměřenou v daném intervalu a následně komplikovat srovnání rychlosti dekompozice naměřené v intervalech po uložení nového papíru a v intervalech, kdy je opad kontinuálně rozkládán po 4 nebo 6 měsíců. Proto bude ve dvoutměsíčních intervalech prováděno měření hmotnostních úbytků jak filtračního papíru zakládáného každých 6 měsíců tak zakládáného každé 2 měsíce.

Sáčky byly ukládány do hloubky 2-3 cm pod povrch půdy.

### 5.2.2 Odběry

Každé 2 měsíce bude na obou lokalitách odebrána (z libovolného z 9 míst) sada 12 sáčků s opadem - 6 sáčků z hrubého a 6 z jemného pletiva. Dále bude odebrána čtveřice sáčků s filtračním papírem založená na 2 měsíce a čtveřice ze sáčků s filtračním papírem založených na 6 měsíců. Čtveřice sáčků s opadem z jemného a hrubého pletiva a sáčky s filtračním papírem budou sloužit ke stanovení hmotnostního úbytku. Opad ze zbylých sáčků, tedy dvou sáčků z jemného a dvou z hrubého pletiva, bude použit k izolaci mikroskopických hub. Odebraný materiál bude vždy zpracován do 48 hodin.

### 5.2.3 Měření rychlosti dekompozice

Rychlost dekompozice bude definována jako hmotnostní úbytek opadu během expozice. Opad bude vyjmut ze sáčků a po odstranění ulpělých nečistot usušen při 75 °C na konstantní hmotnost a zvážen. Hmotnostní úbytek bude vyjádřen v % suché hmotnosti substrátu před expozicí.

### 5.2.4 Izolace mikroskopických hub

Pro zjištění, jaké mikroskopické houby se na dekompozici opadu podílejí, bude užito dvou různých metod.

#### 1. Izolace mikroskopických hub z fragmentů opadu na agarové plotny.

Opad bude sterilní pinzetou vyjmut ze sáčků, vložen do Erlenmeyerových baněk se sterilní vodou a přidavkem malého množství smáčedla Tween 80 a třepán 3 x 7 min. při rychlosti 200 otáček za min. s amplitudou 4.

Z takto ošetřených listů budou připraveny fragmenty o rozměrech přibližně 5 x 5 mm a umístěny vždy po 5 na agarové plotny. Pro primární izolaci budou použita tři různá média: bramboro-mrkvový agar (PCA), malt agar (MA), agar s půdním extraktem, glukózou a bengálskou červení (SEGA). Do všech médií bude přidán streptomycin k potlačení bakteriálního růstu. Od každého typu média budou připraveny tři misky. Izolované houby budou determinovány a bude stanovena frekvence jejich výskytu na izolačních miskách podle vztahu: počet fragmentů, kde se houba vyskytuje / počet všech fragmentů.

#### 2. Kultivace hub na opadu ve vlhkých komůrkách

Listy ošetřené stejným způsobem jako u předchozí metody budou vždy po třech uloženy do vlhké komůrky. Budou připraveny tři komůrky pro opad z obou lokalit a obou typů sáčků - tedy celkem dvanáct komůrek. Komůrky budou zhotoveny následujícím způsobem: Dno skleněných Petriho misek o průměru 14 cm bude vystláno vrstvou buničité vaty a překryto

filtračním papírem. Komůrky budou sterilizovány za sucha a následně zvlhčeny sterilní vodou. Budou uchovávány vždy po 2 měsíce při teplotě 24 °C a režimu 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Houby rostoucí na listech budou izolovány a determinovány.

## 6 Seznam literatury

- 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 Biol. Bioch., 36: 155-164
- Badran R. A. M. (1994): Cellulolytic activity of some cellulose-decomposing fungi in salinized soils. - Acta Mycologica, Warszawa, 29: 245-251
- Barlocher F. (1992): Effects of drying and freezing autumn leaves on leaching and colonization by aquatic hyphomycetes. –Freshwater Biology, 28(1): 1-7
- Barnet H. L., Lilly V. G. (1966): Manganese requirements and deficiency symptoms of some fungi. - Mycologia, Lancaster, 58: 585-591
- Berg B., Meentemeyer V. (2002): Litter quality in a north European transect versus carbon storage potential. - Plant and Soil, 242: 83-92
- Bewley R. J. F. (1980): Effect of heavy metal pollution on oak leaf microorganisms. - Appl. Environ. Microbiol., 40: 1053-1059
- Bills G. F., Christensen M., Powell M., Thorn G. (2004): Saprobic soil fungi. - In: Mueller G. M., Bills G. F., Foster M. S.: Biodiversity of fungi - inventory and monitoring methods. p.271-302, Elsevier Academic Press
- Bonan G. B. (2002): Ecological Climatology - Concepts and applications. - pp. 202-207, Cambridge University Press
- Bönischová-Franklová S. (1975): Vlijanie temperatury na rozloženie celjulozy. - Studies about humus - Transaction of the International Symposium Humus et Planta VI, 18<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> August 1975, Praha, p. 255-259
- Cannon P. F., Sutton B. C. (2004): Microfungi on wood and plant debris. - In: Mueller G. M., Bills G. F., Foster M. S.: Biodiversity of fungi - inventory and monitoring methods. p. 217-239, Elsevier Academic Press
- Cotrufo M. F., De Santo A. V., 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 P. J., Jones C. H., Martin M. H. (1979): Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. - Oecologia, 39: 51-60

- Daubenmire R., Prusso D. C. (1963): Studies of the decomposition rates of tree litter. - Ecology, 44: 589-595
- Dickinson C. H., Pugh G. J. F. (1974): Biology of plant litter decomposition I, II. – 321 p., London.
- Dix N., Webster J. (1995): Fungal ecology. – 549 p., London.
- Frankland J. C. (1982): Biomass and nutrient cycling by decomposer basidiomycetes. In: Decomposer Basidiomycetes: their Biology and Ecology. (ed.: Frankland J. C., Hedger J. N., Swift M. J.) pp. 241-261
- Freedman B., Hutchinson T. C. (1980): Effects of smelter pollutants on forest leaf litter decomposition near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario. – Can. J. Bot. 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 Biol. Bioch., 38: 1745-1756.
- Gould W. D., Fujikawa J.K., Cook F. D. (1974): A soil fungus tolerant to extreme acidity and high salt concentrations - Can. J. Microbiol., Ottawa, 20: 1023-1027
- Hering T. F. (1965): Succession of fungi in the litter of a lake district oakwood. –Trans. Brit. Mycol. Soc., 48: 391-408
- Hogg B. M., Hudson H. J. (1966): Micro-fungi on leaves of *Fagus sylvatica*. – Trans. Br. Mycol. Soc. 49: 185-192
- Hopkins D.W., Ibrahim D. M., O'Donnel A. G., Shiel R. S. (1990): Decomposition of cellulose, soil organic matter and plant litter in a temperate grassland soil. - Pl. & Soil, The Hague, 124: 79-85
- Horsfall J. G. (1956): Principles of fungicidal action. – Chronica Bot. Co., Waltham, Mass, 280 pp. In: Rühling A., Tyler G. (1973): Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. - Oikos, 24: 402-416
- Jirout J., Petrásek 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. - In: Voříšek K. a kol.: Život v pode VI., p.54-67, ČZU Praha
- 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
- Kiikkila L. (2003): Heavy-metal pollution and remediation of forest soil around the Harjavalta

- Cu-Ni smelter, in SW Finland. - *Silva Fennica*, 37: 399-415
- 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
- Koide K., Osono T., Takeda H. (2005): Fungal succession and decomposition of *Camellia japonica* leaf litter. - *Ecol. Res.*, 20: 599-609
- Koide R. T., Shumway D. L. (2000): On variation in forest floor thickness across four red pine plantations in Pennsylvania, USA. - *Plant and Soil*, 219: 57-69
- Koukol O. (2002): Askomycety kolonizující opad *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* v NP České Švýcarsko. - diplomová práce, depon. in knihovna PřF UK, Praha
- 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). p.153-175, Praha
- Kozlov M. V. (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
- Kubátová A., Prášil K., Váňová M. (2002): Diversity of soil microscopic fungi on abandoned industrial deposits. - *Cryptogamie, Mycologie*, 23 (3): 205-219
- Kurka A. M., 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
- 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
- Kurz-Besson C., Couteaux M., Thiéry J. M., Berg B., Remacle J. (2005): A comparison of litterbag and direct observation methods of Scots pine needle decomposition measurement. - *Soil Biol. Bioch.*, 37: 2315-2318
- Lappalainen J. H., Korecheva J., Helander M. L., 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 R. D. (1974): Effects of neutral salts on carbon and nitrogen mineralisation of organic matter in soil. - *Pl. & Soil*, 41: 113-127
- Lorentz K., Preston C. M., Krumrei S., Feger K. H. (2004): Decomposition of needle/leaf litter from Scots pine, black cherry, common oak and European beech at a conurbation forest site. - *Eur. J. Forest Res.* 123: 177-188



- Macauley B. J., Thrower L. B. (1966): Succession of fungi in leaf litter of *Eucalyptus regnans*. – Trans. Br. Mycol. Soc. 49: 509-520
- Maheshwari R. (2005): Decomposition of biomass. - In: Fungi - experimental methods in biology. p. 177-188, CRC Press
- Malik K. A., Bhatti N. A., Kauser F. (1979): Effect of soil salinity on decomposition and humification of organic matter by some cellulolytic fungi. - Mycologia, 71: 811-820
- McClaugherty C. A., Pastor J., Aber J. D., Melillo J. M. (1985): Forest litter decomposition in relation to soil nitrogen dynamics and litter quality. - Ecology, 66 (1): 266-275
- McClellan M. H., Bormann B. T., Cromack K. (1990): Cellulose decomposition in southeast Alaskan forests: effects of pet and mound microrelief and burial depth. – Can. J. For. Res., 20: 1242-1246
- McEnroe N. A., Helmisaari H. S. (2001): Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. – Environmental Pollution, 113: 11-18
- Newsham K. K., Frankland J. C., 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
- Nordgren A., Baath E., Söderström B. (1983): Microfungi and microbial activity along a heavy metal gradient. – Appl. Environ. Microbiol., 45: 1829-1837.
- Nordgren A., Baath E., Soderstrom B. (1984): Soil microfungi in an area polluted by heavy metals. - Can. J. Bot., 63: 448-455
- Novák F., Placerová K. (1998): Rychlost rozkladu celulózy v půdě horských smrkových lesů v Beskydech. - Lesnictví - Forestry, 44 (2): 65-76
- Osono T. (2002): Phyllosphere fungi on leaf litter of *Fagus crenata*: Occurrence, colonization, and succession. - Can. J. Bot., 80 (5): 460-470
- Osono T. (2005): Colonization and succession of fungi during decomposition of *Swida controversa* leaf litter. - Mycologia, 97(3): 589-597
- Osono T., Ono Y., Takeda H. (2003): Fungal ingrowth on forest floor and decomposing needle litter of *Chamaecyparis obtusa* in relation to resource availability and moisture condition. - Soil Biol. Bioch., 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. - Eur. J. Soil Biol., 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. – *Ecol Res.* 16: 649-670
- 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. – *Ecol. Res.* 20: 41-49
- Parfitt R., Newman R. H. (2000): <sup>13</sup>C NMR study of pine needle decomposition. - *Plant and Soil*, 219: 273-278
- Ramsey P. W., Rillig M. C., Feris K. P., Moore J. N., Gannon J. E. (2005): Mine waste contamination limits soil respiration rates: a case study using quantile regression. – *Soil Biol. Bioch.* 37: 1177-1183
- Ross I. S. (1975): Some effects of heavy metals on fungal cells. – *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64: 175-193
- Rühling A., Tyler G. (1973): Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. - *Oikos*, 24: 402-416
- Ruscoe Q. W. (1971): Mycoflora of living and dead leaves of *Nothofagus truncata*. – *Trans. Br. Mycol. Soc.* 56: 463-474
- Sadaka-Laulan N., Ponge J. F. (2000): Comparative leave decomposition within the holm oak complex. - *Eur. J. Soil Biol.*, 36: 91-95
- Salamanca E. F., 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
- Siman A., Cradock F. W., Hudson A. W. (1974): The development of manganese toxicity in pasture legumes under extreme climatic conditions. - *Pl. & Soil*, 41: 129-140
- Sjögersten S., Wookey P. A. (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, depon. in knihovna PŘF UK, Praha
- Starkey R. L., Waksman S. A. (1943): Fungi tolerant to extreme acidity and high concentrations of copper sulfate. – *J. Bacteriol.* 45: 509-519
- Suchara I. (1987): Rozklad celulózy ve vybraných parkových a uličních půdách Prahy. Sborník ÚVTIZ - Zahradnictví, 14(3): 211-220
- Swift M. J., Heal O. W., Anderson J. M. (1979): *Decomposition in terrestrial ecosystems.* Blackwell, Oxford

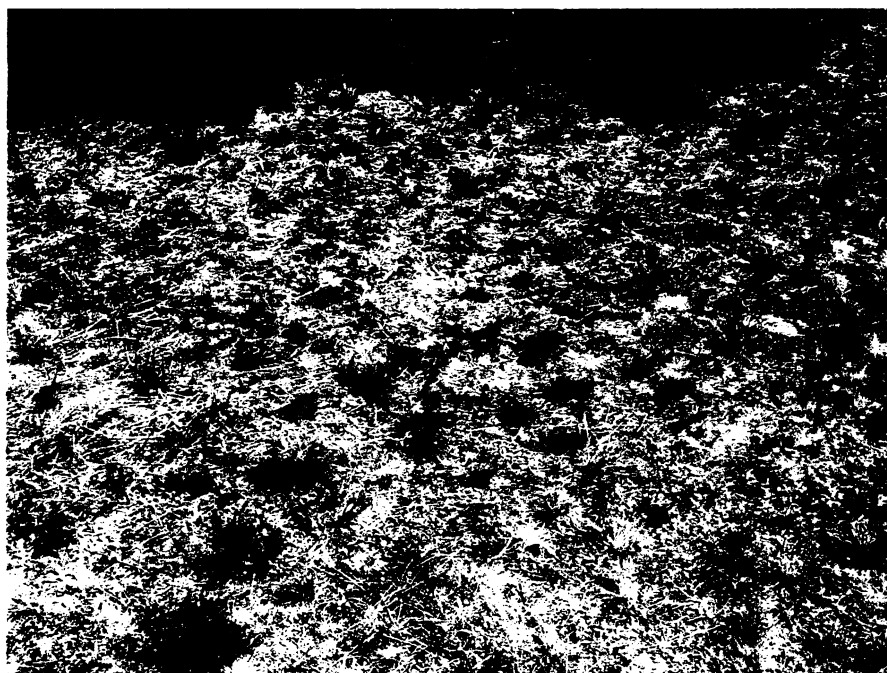
- Szegi J. (1988): Cellulose decomposition and soil fertility. - 186 p., Budapest
- Šimonovičová A. (1986): Micromycetes and biological activity of soil in a forest ecosystem in the Malé Karpaty Mountains. - *Biológia*, 41: 853-859
- Šimonovičová A. (1987): Celulolytická aktivita podnych mikromycét v niektorých lesných podach. - *Biológia*, 42: 469-475
- Tesařová J. (1987a): Stanovení rozkladu rostlinného materiálu metodou sáčků. - In: Rychnovská M. (ed.): *Metody studia travinných ekosystémů*. p.191-193, Praha
- Tesařová J. (1987b): Stanovení intenzity rozkladu modelové celulózy v půdě- terénní metoda. - In: Rychnovská M. (ed.): *Metody studia travinných ekosystémů*. p.181-191, Praha
- Tian X., Takeda H., Azuma J. (2000): Dynamics of organic-chemical components in leaf litters during a 3,5-year decomposition. - *Eur. J. Soil Biol.*, 36: 81-89
- Torres P. A., Abril A. B., Bucher E. H. (2005): Microbial succession in litter decomposition in the semi-arid Chaco woodland. - *Soil Biol. Bioch.*, 37: 49-54
- Tribe H. T. (1966): Interactoins of soil fungi on cellulose film. - *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 49: 457-466
- Tyler G. (1974): Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. - *Pl. & Soil*, 41: 303-311
- Virzo de Santo A., Berg B., Rutigliano F. A., Alfani A., Fioretto A. (1993): Factors regulating early - stage decomposition of needle litters in five different coniferous forests. - *Soil Biol. Bioch.*, 25: 1423-1433
- Williams S. T., McNeilly T., Wellington E. M. H. (1976): The decomposition of vegetation growing on metal mine waste. - *Soil Biol. Biochem.*, Oxford et New York, 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 J. S. (1963): Breakdown of forest litter in relation to environmental factors. - *Plant and Soil*, 15: 295-311

## 7 Příloha

### Ukládání sáčků



Místo s uloženými sáčky – lokalita u Ralska



Místo s uloženými sáčky – lokalita u Chvaletic



Sáčky po dvouměsíční expozici

