

Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně

Ústav experimentální biologie

Oddělení fyziologie a anatomie rostlin

## **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

### **Vliv vysychání na primární procesy fotosyntézy u vybraných druhů lišejníků**

Michaela Hýsková

Vedoucí diplomové práce : Mgr. Peter Váczi, Ph.D.

Specialista : Doc. Ing. Miloš Barták, CSc.

Brno 2007

Děkuji všem, kteří mi byli nápomocni během mé diplomové práce, zejména děkuji Mgr. Peteru Vácziimu, Ph.D. za odborné vedení a Doc. Ing. Miloši Bartákovi, CSc. za cenné připomínky.

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci napsala samostatně a výhradně s použitím citované literatury.

V Brně 2007

.....

## Abstrakt

U vybraných druhů lišejníků (*Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina*, *Peltigera canina*, *Evernia prunastri*, *Cladonia rangiformis*, *Umbilicaria antarctica*, *Lasallia pustulata*) byla hodnocena mezidruhová variabilita sledovaná na základě rozdílů v parametrech fluorescence chlorofylu. Byly sledovány mezidruhové rozdíly v maximální aktivitě fotochemických procesů v PSII ( $F_v/F_M$ ), změny aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy v průběhu postupného vysychání lišejníkových stélek. Pomocí souběžných měření byla stanovena závislost kvantového výtěžku fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) na vodním potenciálu ( $\Psi$ ) a závislost koeficientu nefotochemického zhášení (NPQ) na vodním potenciálu ( $\Psi$ ). Dále byl měřen obsah vody v lišejníkových stélkách v průběhu postupného vysychání, který vyústil v kvantifikaci vzájemného vztahu mezi vodním potenciálem ( $\Psi$ ) a vodním sytostním deficitem (WSD).

Výsledky uskutečněných měření ukázaly, že při postupném snižování hodnot  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek byl u všech sledovaných druhů lišejníků zaznamenán vzestup koeficientu NPQ z nulových hodnot naměřených za stavu plné hydratace stélek ( $\Psi=0$  MPa) až po nejvyšší zjištěné hodnoty. V průběhu vysychání stélky došlo u sledovaných druhů k postupnému poklesu  $\Phi_{II}$ . Závislost  $\Phi_{II}$  na poklesu  $\Psi$  byla druhově specifická pro sledované druhy lišejníků. Obsah vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání byl definován vzájemným vztahem  $\Psi$  a WSD. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že částečné snížení obsahu vody neznamena u lišejníků zásadní omezení aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy a že některé lišejníky mají vyšší odolnost vůči vysychání.

**Klíčová slova** : lišejníky, fotosyntéza, kvantový výtěžek PS II, nefotochemické zhášení, vysychání, vodní potenciál, vodní sytostní deficit

## Abstract

The interspecific differences between select lichen species (*Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina*, *Peltigera canina*, *Evernia prunastri*, *Cladonia rangiformis*, *Umbilicaria antarctica*, *Lasallia pustulata*) evaluated by the differences in chlorophyll fluorescence parameters. Several characteristics were measured within the presented diploma thesis: maximal photochemical processes activity in PSII ( $F_V/F_M$ ), quantum yield of photochemical processes in PSII ( $\Phi_{II}$ ) as dependent on water potential ( $\Psi$ ) nonphotochemical quenching (NPQ) on water potential ( $\Psi$ ). Furthermore, a water content in lichen thalli during gradual dehydration was investigated. These measurements resulted in correlation of water potential ( $\Psi$ ) to water saturation deficit (WSD).

Among investigated lichen species, interspecific differences were found in maximal photochemical processes capacity in PSII ( $F_V/F_M$ ). In all studied lichen species, gradual depression of  $\Psi$  during dehydration of lichen thalli led to an increase NPQ from initial zero recorded in saturated thalli ( $\Psi=0$  MPa) to the maximum values found in strongly dehydrated thalli. During desiccation, all thalli exhibited gradual decrease in  $\Phi_{II}$ . Relation between  $\Phi_{II}$  and  $\Psi$  was found species-specific for investigated lichens. Water content in lichen thalli during gradual dehydration was defined by correlation  $\Psi$  and WSD. The obtained results indicate that a certain small decrease of water content does not cause substantial limitation of photochemical reactions in PS II while more pronounced dehydration (below -8 MPa) of lichen thallus induces apparent decrease in  $\Phi_{II}$ . It might be concluded that lichens have species-specific dehydration tolerance.

**Key words** : lichen, photosynthesis, quantum yield of PSII, nonphotochemical quenching, dehydration, water potential, water saturation deficit

## **OBSAH :**

<b>1. ÚVOD</b>	<b>9</b>
<b>2. PŘEHLED LITERATURY</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Charakteristika lišejníků</b>	<b>12</b>
2.1.1. Anatomická stavba stélky	12
2.1.2. Morfologie stélky (heteromerické)	14
2.1.3. Vzájemný vztah fotobiont – mykobiont	15
2.1.4. Rozmnožování lišejníků	16
2.1.5. Rychlost růstu	17
2.1.6. Ekologické nároky a tolerance k extrémním podmínkám prostředí	18
<b>2.2. Vliv vysychání na fyziologické procesy lišejníků</b>	<b>20</b>
2.2.1. Vodní režim lišejníků	20
2.2.2. Vysychání a změny anatomie a fyziologie lišejníkové stélky	24
2.2.3. Fotosyntéza lišejníků a vysychání, suprasaturační efekt	25
2.2.4. Aktivita fotosyntézy v závislosti na teplotě	29
2.2.5. Obnovení fotosyntézy při rehydrataci	30
<b>3. MATERIÁL A METODY</b>	<b>32</b>
<b>3.1. Charakteristika vybraných druhů</b>	<b>32</b>
<b>3.2. Manipulace se vzorky lišejníků a příprava stélek k měření</b>	<b>39</b>
<b>3.3. Definování stavu vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání</b>	<b>40</b>
3.3.1. Přímé měření vodního potenciálu	40
3.3.2. Stanovování vodního sytostního deficitu	40
<b>3.4. Měření parametrů indukované fluorescence chlorofylu</b>	<b>41</b>
3.4.1. Stanovování základního fluorescenčního poměru - $F_v/F_M$	42
3.4.2. Stanovování kvantového výtěžku fotochemických reakcí ve fotosystému II - $\Phi_{II}$	42
3.4.3. Stanovování koeficientu nefotochemického zhášení - NPQ	43
<b>4. VÝSLEDKY</b>	<b>44</b>
<b>4.1. Měření parametrů indukované fluorescence chlorofylu</b>	<b>44</b>
<b><math>F_v/F_M</math>, <math>\Phi_{II}</math> a NPQ</b>	
4.1.1. $F_v/F_M$ a porovnání mezidruhových rozdílů	44

4.1.2. Změny vodního potenciálu ( $\Psi$ ) a kvantového výtěžku fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) v průběhu vysychání stélek lišejníků	45
4.1.3. Závislost koeficientu nefotochemického zhášení NPQ na vodním potenciálu $\Psi$	50
<b>4.2. Obsah vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání</b>	<b>53</b>
4.2.1. Vodní potenciál	53
4.2.2. Vzájemný vztah vodního potenciálu a vodního sytostního deficitu	54
<b>5. DISKUZE</b>	<b>59</b>
<b>5.1. Mezi druhové rozdíly sledované na základě rozdílů v maximální aktivitě fotochemických procesů v PS II (<math>F_V/F_M</math>)</b>	<b>59</b>
<b>5.2. Změny aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy v průběhu vysychání lišejníkových stélek</b>	<b>52</b>
5.2.1. Závislost kvantového výtěžku fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) na vodním potenciálu ( $\Psi$ )	60
5.2.2. Závislost koeficientu nefotochemického zhášení NPQ na vodním potenciálu $\Psi$	62
<b>5.3. Vzájemný vztah <math>\Psi</math> a WSD v průběhu vysychání lišejníkových stélek</b>	<b>63</b>
<b>6. ZÁVĚR</b>	<b>65</b>
<b>7. PŘEHLED CITOVANÉ LITERATURY</b>	<b>67</b>

**Přehled používaných symbolů a zkratk:**

<b>DM</b>	- suchá hmotnost ( <i>Syn:</i> hmotnost sušiny) stélky
<b><math>\epsilon_v</math></b>	- modul elasticity pletiv listů
<b>ETR</b>	- rychlost toku elektronů ( <i>Syn:</i> elektronový tok)
<b><math>F_0</math></b>	- minimální výtěžek fluorescence chlorofylu změřený na zatemněných vzorcích ( <i>Syn:</i> základní fluorescence chlorofylu vyvolaná měřicím zářením po zatemnění vzorku)
<b><math>FM_a</math></b>	- aktuální čerstvá hmotnost stélky
<b><math>FM_{max}</math></b>	- maximální čerstvá hmotnost vodou plně nasycené stélky
<b><math>F_M</math></b>	- maximální výtěžek fluorescence chlorofylu změřený na zatemněných vzorcích ( <i>Syn:</i> maximální fluorescence chlorofylu vyvolaná saturačním pulsem po zatemnění vzorku)
<b><math>F_M' = F_{MS}</math></b>	- maximální výtěžek fluorescence chlorofylu změřený na záření-aklimovaných vzorcích ( <i>Syn:</i> maximální fluorescence chlorofylu vyvolaná saturačním pulsem při zapnutém aktinickém záření)
<b><math>F_V</math></b>	- <b>maximální variabilní výtěžek fluorescence chlorofylu změřený na zatemněném vzorku stanovený z rozdílu <math>F_M - F_0</math></b> ( <i>Syn:</i> maximální variabilní fluorescence chlorofylu po zatemnění vzorku)
<b><math>F_V'</math></b>	- variabilní fluorescence na světlo aklimovaného vzorku stanovená z rozdílu $F_M' - F_S$
<b><math>F_S</math></b>	- rovnovážná hodnota výtěžku fluorescence chlorofylu měřená na světlo aklimovaném vzorku
<b><math>F_V/F_M</math></b>	- <b>poměr variabilní/maximální fluorescence chlorofylu</b> ( <i>Syn:</i> poměr $F_V/F_M$ , maximální výtěžek primárních fotochemických procesů PS II, potenciální výtěžek fotochemických reakcí ve PS II)
<b><math>\Phi_{II}</math></b>	- kvantový výtěžek fotochemických reakcí ve PS II ( <i>Syn:</i> efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie ve PS II, kvantový výtěžek elektronového transportu PS II)
<b><math>\Psi</math></b>	- vodní potenciál (chemický potenciál vody v systému, vyjádřený v jednotkách tlaku a srovnávaný s chemickým potenciálem čisté vody za atmosférického tlaku a teže teploty)

<b><math>\Psi\pi</math></b>	- osmotický potenciál listů
<b>PAR</b>	- fotosynteticky aktivní záření
<b>PPFD</b>	- fotosyntetická hustota toku fotonů
<b>PS I</b>	- fotosystém I
<b>PS II</b>	- fotosystém II
<b>Q<sub>A</sub></b>	- chinon A, primární elektronový akceptor PS II
<b>NP</b>	- rychlost čisté fotosyntézy
<b>NP<sub>max</sub></b>	- maximální rychlost čisté fotosyntézy
<b>NPQ</b>	- koeficient nefotochemického zhášení fluorescence chlorofylu ( <i>Syn:</i> nefotochemické zhášení variabilního výtěžku fluorescence chlorofylu)
<b>RWC</b>	- relativní obsah vody
<b>SP</b>	- saturační puls
<b>WC</b>	- obsah vody ve stélce
<b>WC<sub>NPmax</sub></b>	- obsah vody ve stélce, při kterém je dosaženo maximální rychlosti čisté fotosyntézy
<b>WSD</b>	- vodní sytostní deficit



# 1. Úvod

Lišejníky jsou podvojně organismy, vznikající symbiózou houby (mykobiont), a sinice nebo řasy (fotobiont). Mykobiont je dominantní složkou stélky lišejníku, jeho růst a rozvoj utváří tvar stélky. Mykobiont je většinou vřeckovýtrusná houba, výjimečně houba stopkovýtrusná. Ve většině případů je přímý kontakt mezi buňkami jednotlivých složek (ale nemusí k němu dojít) – na hyfách mykobionta se vytvářejí haustoria pronikající do buněk fotobionta. Celý organismus je tedy autotrofní, soužití je oboustranně výhodné pro oba symbionty a umožňuje osídlení i extrémních lokalit. Toto symbiotické soužití je tak těsné, že vegetativní tělo lišejníků, jejich stélka (thallus), má zvláštní znaky, které nenalezneme u řasy ani u houby, pěstujeme-li je izolovaně. Pro lišejníky je typická vysoká diferenciací v lupenité a keříčkovité růstové formy a pozoruhodně široké spektrum sekundárních metabolitů (některé s antibiotickými účinky) (Kremer *et al.* 1997). Vědní obor zabývající se studiem lišejníků se nazývá lichenologie.

Je obecně známo, že lišejníky jsou organismy rozšířené v extrémních prostředích jako je Arktida, Antarktida, vysokohorské prostředí a pouště (Lange *et al.* 2001). Spolu se sinicemi a řasami jsou lišejníky považovány za průkopníky života (pionýrské organismy) na holých skalách, jejichž povrch narušují látkami, které vylučují. Jsou velmi citlivé na znečištěné prostředí, a proto jich bývá využíváno jako bioindikátorů čistoty ovzduší (Garty *et al.* 2001). Nejcitlivější jsou druhy s keříčkovitou stélkou, například provazovky (*Usnea* sp.), dále druhy s lupenitou stélkou a nakonec druhy s korovitou stélkou, protože keříčkovité lišejníky mají největší povrch, kdežto korovité lišejníky, které jsou ploché, mají nejmenší povrch. Největším povrchem se vstřebává nejvíce škodlivých látek. Na místech, kde je prostředí velmi znečištěné, se lišejníky nevyskytují. Těmto místům se také říká lišejníková poušť (Grünert *et al.* 1995).

Některé druhy lišejníků se využívají ve farmaceutickém (puklélka islandská) nebo potravinářském průmyslu, vzácně jako potrava („mana“ - *Lecanora esculenta*), potrava pro zvěř, některé druhy se používají v lidovém lékařství (*Lobaria pulmonaria*), pro výrobu barviv, v parfumerii aj. (Grünert *et al.* 1995).

Lišejníky dominují na 8% zemského povrchu, což jim dává důležitou roli v uhlíkovém toku jak na lokální, tak i na globální úrovni (Ahmadjian 1995). V posledních desetiletích významně roste zájem vědeckých týmů o fotosyntetickou aktivitu lišejníků. Tento zvýšený zájem přináší více poznatků o roli lišejníků v citlivých

ekosystémech jako jsou například biologické půdní krusty. Nárůst počtu odborných prací věnovaných v posledních dvou desetiletích různým aspektům fotosyntézy lišejníků je umožněn zejména lepší dostupností přenosných měřicích přístrojů a rozvojem měřicích technik. Měření fotosyntézy různých druhů lišejníků, pro které byla získána důležitá data jak v laboratoři, tak i v terénu, byla založena na měření rychlosti čisté fotosyntézy pomocí infračervených analyzátorů plynů a v posledních letech rovněž fluorescence chlorofylu. V současné době se pozornost zaměřuje zejména na odezvu fotosyntézy lišejníků na proměnlivost přírodních faktorů, zejména fyzikálních (Kershaw 1985, Nash 1996, Palmqvist 2000).

Lišejníky jsou poikilohydrické organismy a okamžitý obsah vody v jejich stélce je tedy velmi závislý na přírodních podmínkách. Příjem i ztráta vody jsou fyzikální procesy, které nejsou lišejníky metabolicky řízeny (nemohou si tedy sami regulovat obsah vody ve stélce). Fotosyntetická produkce u lišejníků v extrémních podmínkách je často ovlivněna právě krátkou či nedostatečnou dostupností kapalné vody tak, jak tomu je například v Antarktidě nebo poušti. Aktuální výskyt se odráží v přítomnosti pravidelného zásobování vodou (Green *et al.* 1999, Lange *et al.* 1991). Vztah mezi obsahem vody ve stélce a čistou výměnou CO<sub>2</sub> u lišejníků je však druhově specifický a mezi jednotlivými druhy často existují významné rozdíly (Lange *et al.* 2001).

Lišejníky mají pozoruhodnou schopnost přežívat kratší nebo delší periody v dehydratovaném stavu. Ačkoliv je fotosyntetická aktivita lišejníků inhibována během vysychání, mají schopnost úplně obnovit svoji fotosyntetickou a metabolickou aktivitu při následné rehydrataci. Vysychání lišejníkové stélky je doprovázena celkovou inaktivací fotosyntetické výměny plynů, ale následná rehydratace kapalnou vodou vede k obnovení fotosyntetické aktivity během několika minut (Lange *et al.* 1989, Jensen *et al.* 1999). Značná část lišejníků má výjimečnou odolnost k dehydrataci a dokáže přežít velmi nízký obsah vody v průběhu dlouhých časových úseků. V dehydratovaném stavu se lišejníky stávají vysoce odolnými k různým environmentálním stresům. Navzdory výše uvedeným poznatkům, existují značné mezidruhové rozdíly ve schopnostech lišejníků odolávat dehydrataci. Současné znalosti o fyziologii lišejníků jsou neúplné, a proto nejsme schopni jednoznačně odpovědět na otázku, do jaké míry jsou jednotlivé mechanismy zodpovědné za pozoruhodnou toleranci lišejníků k extrémním podmínkám stanovišť (Hájek 2002).

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na studium primárních fotosyntetických procesů různých druhů lišejníků v závislosti na stupni nasycení stélky vodou. Cílem této diplomové práce je určení závislosti  $F_V/F_M$ , NPQ a kvantového výtěžku fotochemických procesů fotosystému II u vybraných druhů lišejníků na přirozeně se snižujícím obsahu vody v lišejníkových stélkách definovaném vodním potenciálem respektive vodním sytostním deficitem.

## 2. Přehled literatury

### 2.1. Charakteristika lišejníků

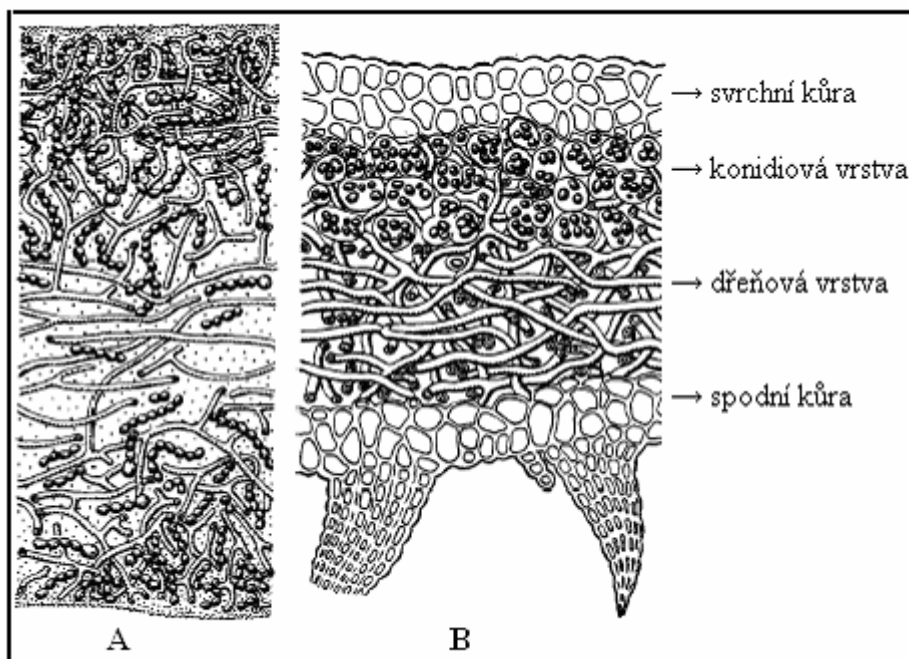
Lišejník je komplexní organismus, obecně definován jako morfologicko-fyziologická jednotka, ve které je obligátně vázán určitý druh houby (**mykobiont**) s určitým druhem řasy nebo sinice (obecně **fotobiont**). Fotosyntetizujícím partnerem (fotobiontem) jsou většinou sinice nebo zelené řasy. Houbovým partnerem (mykobiontem) je většinou vřeckovýtrusná houba (*Ascomycetes*), u několika málo výjimek též stopkovýtrusná houba (*Basidiomycetes*). Mezi vřeckovýtrusnými houbami převažují formy s miskovitými plodničkami (apotecii), existují však i formy s ponořenými plodničkami (perithecií). Houba většinou určuje vnější vzhled stélky, řasa je hlavním dodavatelem sacharidů vznikajících při fotosyntéze (Kubátová 2006).

Některé lišejníky mají vedle primárního ještě sekundárního fotobionta (většinou je to sinice rodu *Nostoc*), který často roste v bradavičnatých útvarech na stélce nebo uvnitř ní. Tyto útvary se označují jako cefalodia (Kremer *et* Mühle 1998).

Společný růst řasy, resp. sinice a houby umožňuje velkou rozmanitost v utváření stélky, vznik zvláštních útvarů nepohlavního rozmnožování a produkci ojedinělých sekundárních metabolitů (např. lišejníkových kyselin) (Kubátová 2006).

#### 2.1.1. Anatomická stavba stélky

Schematicky můžeme rozlišit dva stavební typy stélky, a to stejnorodou (**homeomerickou** obr. 1A) a vrstevnatou (**heteromerickou** obr. 1B). Homeomerická stélka se vyskytuje zejména u rosolovitých lišejníků (např. *Collema*), u nichž sinice často určuje růstovou formu. Buňky fotobionta a vlákna mykobionta jsou zde volně rozptýleny. U heteromerické stélky se řasy (většinou zelené řasy) nacházejí v ohraničené vrstvě uvnitř stélky (Kremer *et* Mühle 1998). Tvar heteromerických stélek určuje mykobiont, zatímco tvar homeomerických stélek spíše fotobiont.



Obr. 1 : Anatomická stavba lišejníkové stélky, A – homeomerická, B – heteromerická.  
(zdroj : upraveno dle Denffer 1978)

#### Diferenciace heteromerické stélky na jednotlivé vrstvy :

- **svrchní kůru** tvoří na řezu pevné izodiametrické buňky mykobionta (mechanická ochrana a omezení výparu), které k sobě těsně přiléhají
- **konidiová vrstva** (vrstva fotobionta) obsahuje buňky fotobionta, mezi nimi řídce propleteny hyfy (pronikají do buněk fotobionta haustorii nebo na povrchu tvoří apresoria)
- **dřeňová vrstva** (medula) obsahuje rozvolněná vlákna mykobionta, navzájem propletená, tato vrstva slouží především jako zásobárna vody
- **spodní kůra** je stejné stavby jako svrchní (v ní bývají vytvořeny "otvory", jimiž proniká dřeňová vrstva na podklad – tzv. cyfely - slouží pro čerpání vody a živin, je-li namísto "otvorů" spodní kůra přerušena, mluvíme o pseudocyfelách), chybí u korovitých lišejníků, (Sedlářová *et al.* 2004)

## 2.1.2. Morfologie stélky ( heteromerické)

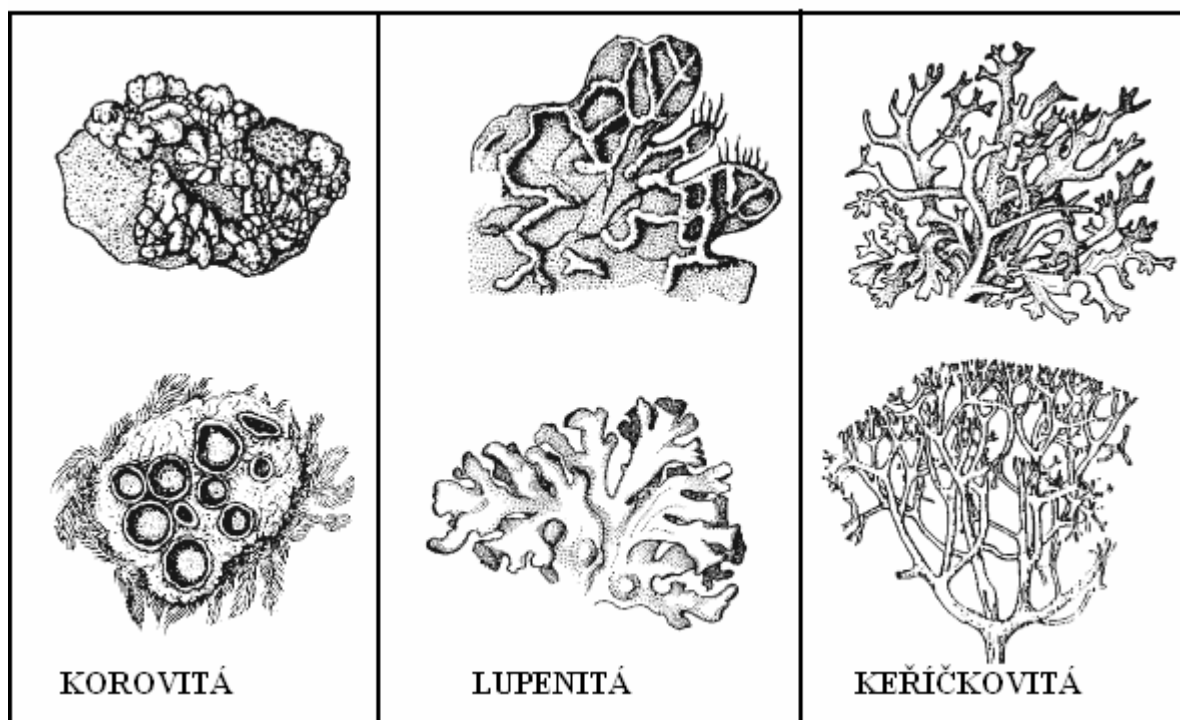
**Podle vzhledu lišejníku možno rozlišit stélku na 3 základní typy :**

– **korovitá** - celou plochou přirostlá (nebo vrostlá) na substrát, obvykle chybí spodní kůra (*Rhizocarpon geographicum*), stélku většinou nelze oddělit nebo jen velmi těžko

– **lupenitá** - plochá, k podkladu přirůstá jen některými místy, tzv. rhiziny, část laločnaté stélky může od podkladu odstávat (*Lobaria pulmonaria*, *Xanthoria parietina*, *Parmelia physodes*), laloky mají zřetelně odlišenou lícovou a rubovou stranu

– **keříčkovitá** - se substrátem je v kontaktu jen v bazální části (rhizinami nebo přichytnými terčíky), stélka je stužkovitá nebo okrouhlého průřezu a většinou je bohatě rozvětvena, vláknité, často převislé formy se někdy označují jako „vousovité“ (u epifytických druhů, rodu *Usnea*), charakteristická radiální stavba

– přechodným typem je stélka **dimorfická** - část stélky je lupenitá (thallus horizontalis) a část keříčkovitě vystoupavá (thallus verticalis), (Sedlářová *et al.* 2004, Kremer *et Muhle* 1998)



Obr. 2 : Základní morfologické typy stélek heteromerických lišejníků.

(upraveno z [www.thallobionta.szm.sk/fungilich/lichenes.htm](http://www.thallobionta.szm.sk/fungilich/lichenes.htm))

### 2.1.3. Vzájemný vztah fotobiont – mykobiont

Vzájemný vztah dvou partnerů může být dvojitý:

- 1) **antagonistický** - mykobiont může působit fotobiontovi újmu, a to buď lokální omezenou nekrózu nebo i jeho odumření.
- 2) **mutualistický** - vytváří se stabilní asociace bez zjevného poškození fotobionta.

Mutualistický typ symbiózy je přínosem pro obě zúčastněné složky. Takto striktní dělení obou typů soužití je však dáno jen lidským pohledem. Kromě toho lze ještě připomenout komenzalistické soužití, v němž sice jeden partner má větší prospěch, avšak nikoli za cenu újmy druhého partnera. Navíc vzájemný vztah organismů může za různých podmínek či okolností procházet proměnami (Liška 2000).

U některých lišejníků (asi 500 druhů) se současně mohou vyskytovat dva různé fotobionti, vedle řasy je druhým nejčastějším fotobiontem sinice. Většinou je jeden fotobiont základní a dominující. Tvoří samostatnou vrstvu v rámci lišejníkové stélky, zatímco druhý je izolován do jakýchsi ostrůvků, a to buď uvnitř stélky, nebo častěji v tvarově a barevně nápadných morfologických útvarech na stélce - cefalodiích. Podobně se může počet fotobiontů rozšířit až na tři, kdy se vytvářejí různá cefalodia obsahující rozdílné fotobionty.

Také mykobiontů může být v rámci jedné stélky více, a to například tehdy, když je lišejník napaden houbou. Ta však nemusí na hostitele působit vždy vyloženě destruktivně, a proto druhého houbového partnera v takovém případě označujeme jako parasymbionta a příslušný vztah jako komenzalizmus. Houby vázané svým výskytem na lišejníky se označují jako lichenizující houby a jejich celkový počet se zatím udává kolem 1000 druhů. Parasymbiont získává organické látky od fotobionta, fyziologicky se tedy tyto houby od sebe neliší (Liška 2000).

Vzájemný vztah partnerů může být komplikovaně provázán a je lépe ho označit jako asociaci. Na jednom lišejníku se může vyskytovat více parazitů či parasymbiontů, a proto může být vyšší i počet mykobiontů. Další modifikací tohoto typu soužití jsou případy, kdy mykobiont parazituje na existující asociaci, postupně eliminuje původního mykobionta, a posléze vytváří s fotobiontem vlastní mutualistickou stélku (např. *Diploschistes muscorum*).

Známe také lišejníky, které alespoň v počátečním stádiu vývinu potřebují ke svému úspěšnému růstu hostitelský lišejník. Na rozdíl od předchozích případů však mají

vlastního fotobionta. Tyto lichenikolní lišejníky představují asociaci dvou mykobiontů a dvou fotobiontů. Počet jejich druhů je odhadován na 200 až 300.

Kromě toho existují i mechanické hybridy (pravé chiméry), které vznikly fúzí mycelií nebo mladých stélek pocházejících z několika rozmnožovacích částic stejných či různých druhů, popřípadě dokonce též různých rodů (Liška 2000).

#### 2.1.4. Rozmnožování lišejníků

Pohlavně se může rozmnožovat pouze mykobiont. Nová stélka vznikne za předpokladu, že se hyfa klíčící ze spor (askospóry, bazidiospóry) opětovně setká s příslušným fotobiontem. U některých lišejníků (*Endocarpon*, *Staurothele*) se vytváří hymeniální gonidie, které zajišťují společné šíření buněk fotobionta spolu se spory mykobionta a usnadňují tak vytváření nových stélek.

Mnohem účinnější a častější je u lišejníků rozmnožování vegetativní, které umožňuje současné šíření obou partnerů. Nejčastějším typem je fragmentace stélky (způsobená např. větrem, zvěří) a následný růst nových stélek z úlomků. Některé lišejníky vytvářejí speciální orgány vegetativního rozmnožování (izidie, soredie). Izidie jsou výrůstky (ojedinělé, seskupené) na svrchní straně stélky, jejichž vnitřní stavba odpovídá heteromerické stélce. Mechanickými vlivy se snadno odlamují, jsou roznášeny vodou nebo větrem a vytvářejí základ nové stélky. Soredie - jsou velmi drobná tělíska (pod 1 mm), tvořená shluky buněk fotobionta, které jsou hustě propleteny houbovými vlákny. Vytvářejí se na celém povrchu stélky nebo v ohraničených ložiscích (sorálu). Soredie nemají tak diferencovanou stavbu jako izidie, jsou drobnější a lehčí, což umožňuje jejich šíření (větrem, vodou) na delší vzdálenosti (Hájek 2002).

#### vegetativní rozmnožování lišejníků



Obr. 3 : Způsoby vegetativního rozmnožování lišejníků (Liška 2000)



### 2.1.5. Rychlost růstu

Růst lišejníků se často vyjadřuje lineárním měřením ( $\text{mm.rok}^{-1}$ ), tj. jako přírůstek poloměru u lupenitých (foliózních) a korovitých (krustózních) lišejníků, nebo jako přírůstek délky vrcholu u keříčkovitých (frutikózních) druhů. Lupenité druhy přirůstají  $0,5 - 4 \text{ mm.rok}^{-1}$ , keříčkovité druhy  $1,5 - 5 \text{ mm.rok}^{-1}$  a korovité druhy  $0,5 - 2 \text{ mm.rok}^{-1}$  (Hale 1973), ale mnoho lišejníků nespadá do tohoto intervalu rychlosti růstu (Nash 1996).

Tato lineární měření mají však omezenou vypovídací hodnotu. Rychlost lineárního růstu stélky závisí na její již existující ploše a její specifické hmotnosti. Bylo by proto lépe vyjadřovat růst lišejníků jako relativní přírůstek plochy nebo hmotnosti vztažený k počáteční ploše nebo hmotnosti. Tímto postupem bylo zjištěno, že epifytické druhy jako například *Lobaria oregana* (Rhoades 1977), *Lobaria pulmonaria* (Muir *et al.* 1997) a *Ramalina menziesii* (Binicher *et Nash* 1990) mohou zvýšit biomasu o 30-50% za rok. Podobně vysoké rychlosti růstu byly také zaznamenány u na zemi rostoucích druhů *Peltigera* a *Nephroma* (Sundberg *et al.* 1999b) a u *Cladonia portentosa* (Hyvärinen *et Crittenden* 1998). Nicméně, roční přírůstky biomasy nejsou vždy tak vysoké, u některých druhů bývají pod 2-3% za rok (Renhorn *et al.* 1997, Palmqvist *et Sundberg* 2000). Rychlosti růstu také kolísají meziročně, liší mezi jednotlivými stanovišti a dokonce i mezi jednotlivými laloky téže stélky (Armstrong 1993).

Poikilohydrické lišejníky nejsou schopny aktivně řídit obsah vody ve stélce. Růst lišejníků proto silně závisí na dostupnosti vody v prostředí (Armstrong 1974, Hyvärinen *et Crittenden* 1998, Muir *et al.* 1997, Renhorn *et al.* 1997). Za vlhka je růst lišejníků primárně limitován zářením. Například lišejník *Lobaria pulmonaria* rostl rychleji na jaře než na podzim (Muir *et al.* 1997) a rychleji blízko odlesněného okraje než uvnitř lesa (Renhorn *et al.* 1997). Teplota je pro růst a primární produkci lišejníků méně důležitá než voda nebo záření (Nash 1996), přinejmenším v boreálním a mírném klimatu. Nicméně, teploty nad  $20 - 25 \text{ °C}$ , které se často vyskytují u lišejníků v tropech, mohou významně snížit čistý zisk uhlíku v důsledku zvýšení rychlosti respirace (Lange *et al.* 1994, Zotz *et al.* 1998). Palmqvist *et Sunberg* (2000) testovali hypotézu, zda může růst lišejníků přímo souviset s úhrnem ozáření, kterou lišejníky přijímají během růstové sezóny, když jsou vlhké a metabolicky aktivní. Palmqvist *et Sunberg* (2000) zjistili, že efektivita využití záření lišejníky je snížena, když je omezena dostupnost dusíku. Výše

uvedené výsledky ukazují, že jak obsah vody ve stélce, dostupnost záření i dusíku mohou patřit k faktorům ovlivňujícím růst lišejníků (Hájek 2002).

### **2.1.6. Ekologické nároky a tolerance k extrémním podmínkám prostředí**

Vzhledem k extrémním podmínkám biotopů, které lišejníky často kolonizují, mohou být některé lišejníky metabolicky aktivní pouze zlomek roku. Například u antarktických druhů uvádí Schroeter *et al.* (1997) dobu aktivního metabolismu během roku pouze mezi 30-50%.

Jedno z velmi nepříznivých prostředí na Zemi představují takzvaná suchá údolí v centrální části Antarktidy, která jsou trvale bez pokryvu bez sněhu a ledu, s podnebím velmi studeným. Například na jihu Viktoriiny země dosahují hory výše 2400 m, teplota vzduchu v létě -15 až 0 °C, v zimě až -60 °C. V této mrazové poušti nejsou zřejmé stopy po rostlinném ani živočišném životě, ale pod povrchem skal je tenká průsvitná a porézní vrstva s příznivým mikroklimatem, kterou kolonizují mikroorganismy. Tam převládá endolitická lišejníková vegetace, vyskytují se však i volně rostoucí houby, řasy a sinice. S výjimkou volného oceánu lišejníky osídlují téměř všechna prostředí na Zemi. Proto nepřekvapuje, že lišejníky mají významnou roli v rostlinné ekologii, zejména v koloběhu dusíku, fosforu a uhlíku (Černohorský 2000). Lišejníky jsou také specificky ovlivňovány režimem sněhových srážek, existují druhy, které se častěji vyskytují na stanovištích s velkým úhrnem sněhových srážek. Některé druhy jsou těžce poškozeny, pokud se opozdí sněhová pokrývka. Fotosyntetická produktivita v teplotách pod nulou a za současného vlivu ležícího sněhu a ledu byla u lišejníků sledována pouze v několika málo studiích (Kappen *et al.* 1999b, Schroeter *et Scheidegger* 1995). Získané údaje ukazují, že lišejníky kontinentální Antarktidy jsou schopny mít značný příjem CO<sub>2</sub> i v teplotách pod nulou, v polních podmínkách až v teplotách kolem -17 °C (*U. aprina*) (Kappen *et al.* 1996b). V přírodních podmínkách jsou nízké teploty doprovázeny vysycháním stélky, tedy výrazným snížením vodního potenciálu. Nicméně toto snížení dostupnosti vody neznamena u lišejníků zásadní omezení fotosyntézy. Je známo, že lišejníky, které mají jako symbionta zelenou řasu, jsou aktivovány dostatečným příjmem vodních par i za vodního potenciálu až -35 MPa (Schroeter *et Scheidegger* 1995).

Mráz způsobuje různé typy poškození, které jsou přímo nebo nepřímo spojeny se zamrznáním vody v pletivech. Lišejníky, které jsou tolerantní k mrznutí, snášejí především extracelulární zmrznutí vody a vyhýbají se negativním účinkům vzniku

hexagonálních krystalů ledu tím, že okamžitým vysycháním protoplastu podstatně sníží vodní potenciál (Schroeter *et* Scheidegger 1995). Při rychlém vysychání (vyschnutí a přechod do metabolicky neaktivního stavu) je intracelulární zamrzání buď zcela potlačeno nebo je neškodné, i pokud je teplota lišejníku dále snižována, a to až k -196 °C (Kappen *et* Lange 1972).

Příjem vody stélkou lišejníku je závislý na prostředí. Mohou velmi rychle přijímat vodu dešťovou i vodu v podobě vodních par. Tato voda však většinou obsahuje nečistoty. Schopnost lišejníku hromadit vláhu je vázána na pletivo z houbových vláken (dřeň) uvnitř stélky. Vlhko a sucho se mohou střídát velmi rychle, ale lišejníky snášejí vysychání opravdu dobře. Když jsou vysušené, přerušují přeměnu látkovou – přecházejí do „metabolického spánku“ (inhibice fotosyntézy a respirace), ale jejich stélky zůstávají ještě poměrně živé.

Jedním z dalších ochranných mechanismů je produkce sekundárních metabolitů. Počet těchto metabolitů dnes přesahuje číslo 700. Zdá se, že jsou produkovány lišejníky jako reakce na stres prostředí a dovolují jim růst v extrémních podmínkách (Černohorský 2000). Tyto látky vytváří zpravidla mykobiont (ale pouze při symbióze s fotobiontem). Mohou sloužit buď jako filtr chránící fotobiota před vysokou ozářeností nebo mají význam v obraně vůči herbivorům (Gauslaa *et* Solhaug 2001), případně mají zásobní nebo odpadní funkci. U řady z nich byly prokázány antibiotické či toxické účinky (přehledně viz Hájek 2002).

Při silném ozáření, zejména ultrafialovými zářeními UV-B (280-315 nm), některé lišejníky, např. antarktický *Neuropogon aurantiacoater* s keříčkovitou stélkou, vytvářejí kyselinu usnovou, jejíž množství ve stélce kolísá podle ročních období. Dnes se chemici pokoušejí využít tuto kyselinu a další lišejníkové sloučeniny v kosmetice jako ochranný prostředek člověka proti slunečnímu záření. Při hromadění jedovatých kovů z podkladu, např. mědi u druhu *Acarospora rugulosa*, se ve stélkách lišejníků uplatňují oxaláty. Podle jejich nerozpustnosti se dá předpokládat, že jejich syntéza je jedním z mechanismů užívaných lišejníky, umožňujících jim snášet koncentrace kovu, které by jinak působily jedovatě (Černohorský 2000).

Aklimatizací antarktických lišejníků k vysoké ozářenosti za nízkých teplot se zabývali Kappen *et al.* (1998). Předpokládali, že nízké teploty výrazně omezují biochemické procesy fotosyntézy, a proto dojde k fotoinhibici. Výsledky však ukázaly, že zkoumaný antarktický druh *Umbilicaria aprina* nevykazuje žádnou známku fotoinhibice i za velmi vysoké ozářenosti při teplotách kolem 0 °C. Parametr  $F_V/F_M$

během světelné periody (11 h) dokonce spíše rostl než klesal. Současná laboratorní měření výměny CO<sub>2</sub> potvrdila adaptaci lišejníků na silné ozáření a nízkou teplotu. Kappen *et al.* (1998) konstatovali, že většina antarktických lišejníků a zvláště ty, které rostou na otevřených místech, jsou dobře adaptované na místní podmínky a mohou být fotosynteticky aktivní za nízkých teplot i za silné ozářenosti (Kocmanová 2002).

## 2.2. Vliv vysychání na fyziologické procesy lišejníků

### 2.2.1. Vodní režim lišejníků

Tyto autotrofní organismy jsou poikilohydrické povahy, tzn. že stav vody v jejich stélce není regulován vlastním organismem a příjem i ztráta vody jsou fyzikální procesy (Blum 1973). Ve vyschlém stavu jsou fyziologické procesy velmi rychle aktivovány po hydrataci tajícím sněhem, deštěm, mlhou, rosou nebo jen vysokou vlhkostí vzduchu. Jakmile zdroj ovlhčení zmizí, stélky lišejníků okamžitě vysychají a postupně ztrácí více než 97 % obsahu vody a přechází do anabiotického stavu. V přírodních podmínkách to znamená, že stélky lišejníků často střídají stav metabolické aktivity a inaktivity. Například druh *Umbilicaria antarctica* je v přírodních podmínkách aktivní pouze přibližně 30 % času (Schlensong *et* Schröeter 2001). V mnoha typech prostředí je dostupnost vody určujícím (limitujícím) faktorem pro produktivitu těchto organismů. Rozsah fyziologické aktivity lišejníků se mění v závislosti na druhích fotobionta (Lange *et al.* 1986, Scheidegger *et al.* 1995, Sundberg *et al.* 1997b), druhové morfologii (Lange *et al.* 1993), a charakteru stanoviště (Bewley 1979). Typické lišejníky obsahují při maximální hydrataci 1 - 3 g vody na g suché hmotnosti (Blum 1973, Rundel 1988). Rosolovité lišejníky však mohou obsahovat 20-30 g vody na gram suché hmotnosti (počítáme-li v to také externí vodní vrstvu) (Lange *et al.* 1993). V závislosti na podmínkách prostředí mohou lišejníky změnit obsah vody ve stélce, ze stavu zcela dehydratovaného do stavu plné hydratace (a naopak), během několika málo minut (Lange *et al.* 1993, Sundberg *et al.* 1997b, Palmqvist *et* Sundberg 2000).

Rychlost příjmu či ztráty vody stélkou lišejníku je druhově specifická vlastnost a závisí na množství vody ve stélce (tj. množství vody, kterou může stélka zadržet při saturaci), anatomii, morfologii a barvě stélky (Rundel 1982, 1988). Například vláknité a keříčkovité druhy lišejníků přijímají a ztrácí vodu rychleji, než lupenité druhy, protože

mají větší povrchovou plochu v poměru k objemu stélky. Některé lišejníky mají pro vodu nepropustnou svrchní kůru, která slouží obdobně jako kutikula u listů vyšších rostlin ke snížení evaporace. U stélek lišejníků s rhizinami významně vzrůstá schopnost zadržovat vodu, pokud je voda dostupná ze substrátu. To je charakteristické pro druhy získávající vodu ze substrátu, zatímco vysoce pórovitý a hygroskopický svrchní povrch je typický pro druhy získávající vodu z okolního vzduchu (Valladares 1994).

Příjem a ztráta vody stélkou lišejníků jsou určovány dvěma hlavními faktory (Rundel 1988): (1) rozdílem tlaku vodní páry mezi pletivem stélky a přilehlou atmosférou, (2) rezistencí pro pohyb vody uvnitř stélky. Rezistence stélky je dána několika podsložkami: rezistencí kůry (korová), rezistencí meduly (dřeňová) a rezistencí buněčné stěny houby (Kershaw 1985). Rezistence hraniční vrstvy je další složkou rezistence pro pohyb vody.

Příjem i ztrátu vody u lišejníků je možné empiricky stanovit gravimetricky nebo pomocí impedance (Coxson 1991, Renhorn *et al.* 1997, Palmqvist *et Sundberg* 2000), která je velmi vhodná pro polní měření (Hájek 2002).

Beckett (1995) použil termočláňkový psychrometr pro studium vodního režimu osmi druhů lišejníků z míst s kontrastním vodním stavem. Jedním z parametrů, který vypovídá o vodním stavu lišejníku je vodní potenciál ( $\Psi$ ), což je chemický potenciál vody v systému, vyjádřený v jednotkách tlaku a srovnávaný s chemickým potenciálem čisté vody za atmosférického tlaku a téže teploty. Vodní potenciál stélky byl stanovován pomocí termočláňkového psychrometru *SC-10A* (*Decagon, USA*) spojeného s mikrovoltmetrem *HR-33T* (*Wescor*). Předběžné experimenty, které byly uskutečněny, zjistily minimální dobu potřebnou k ustálení rovnováhy mezi lišejníkovou stélkou a vnějším prostředím. Experimenty ukázaly, že pro rostliny s vodním potenciálem nižším než -5 MPa je postačující doba 2-5 hodin.

Po ustálení rovnováhy po 2-5 hodinách a měření asi 100mg hydratovaného materiálu rostliny ztratily něco mezi 2 až 3mg vody a po 2-5 hodinách byl znovu měřen  $\Psi$ . Toto měření bylo opakováno 10-13krát na každém z pěti vzorků a lišejníky dosahovaly RWC (relativní obsah vody ve stélce) asi 45% a  $\Psi$  asi -5 MPa. Poslední sada měřených vzorků lišejníků měla vodní potenciál nižší než -5 MPa a tyto vzorky byly ponechány po 12 hodin, aby se ustálily. Standardní roztoky známého vodního potenciálu byly vždy souběžně uloženy se vzorky a hodnoty  $\Psi$  upraveny při teplotě 20 °C (Beckett 1995).

Lišejníky vystavené suchému prostředí měly snížené koncentrace cytoplazmy v buňkách tvořících stélku, ale nižší osmotický potenciál než lišejníky ze stanoviště s mírnou vlhkostí. Výsledná koncentrace cytoplazmy přispěla mnohem menším dílem k osmotickému potenciálu v lišejnících ze suchých oblastí než nízká koncentrace cytoplazmy, která je důležitá pro toleranci k vysychání. Při saturaci (nasycení) obsahovaly méně vody lišejníky ze suchých oblastí a měli nižší elasticitu stélky a menší podíl vody lokalizované v apoplastu. Ztratily tedy turgor při nižším relativním obsahu vody než rostliny z vlhčích oblastí (Beckett 1995).

Mnoho vědců studovalo vlivy hydratace stélky na fyziologické procesy u lišejníků (Blum 1973, Kershaw 1985, Rundel 1988), ale dosud nejsou k dispozici dostačující informace o vodním režimu lišejníků za různých situací. Např. se málo ví o hodnotách vodního potenciálu ( $\Psi$ ) a jeho komponent a rozsahu modulu elasticity stélky lišejníků ( $\epsilon_v$ ). Znalosti o těchto charakteristikách nám zlepšují schopnost porozumět jak lišejníky optimálně využívají vodu a jak některé druhy mohou snášet dlouhá období s nízkým RWC. Relativní obsah vody je zde definován jako :

$RWC = \text{obsah vody (WC)} / \text{turgidní obsah vody,}$

tj. čerstvá váha – suchá váha / turgidní váha – suchá váha (Beckett 1995)

Radin (1983) navrhl, že u vyšších rostlin nižší osmotický potenciál listů ( $\Psi\pi$ ) a nižší rozsah modulu elasticity ( $\epsilon_v$ ) pletiv listů možná zvyšují toleranci k vysychání. Je zajímavé uvážit, zda by toto tvrzení platilo i u lišejníků. Vyšší turgor při daném RWC by mohl být prospěšný, jestliže lišejníky by potřebovali kladný turgor pro růst (Rundel 1988).

Ačkoliv nízký  $\Psi\pi$  znamená, že  $\Psi$  při poklesu turgoru by se mohl snížit, toto by nemuselo být prospěšné pro lišejníky, jestliže by nasály vodu ze substrátu. Vysoká roztažitelnost buněčné stěny (jako následek nízkého  $\epsilon_v$  pletiv) má za následek při vyšším turgoru určitý RWC a nižší RWC při poklesu turgoru. Nevýhodou pro vyšší rostliny je, že  $\Psi$  listu je redukován méně za jednotku ztráty vody (Schulte 1992), ale nízký  $\Psi$  stélky není pravděpodobně prospěšný pro lišejníky. Nízký obsah vody v apoplastu bude také snižovat ztrátu turgoru za jednotku ztráty vody. V kontrastu s tím, lišejníky rostoucí v oblasti s nedostatkem vody však mají pravděpodobně v důsledku adaptací na tento typ prostředí prospěch z nízkého  $\Psi\pi$  a  $\epsilon_v$  pletiv (Beckett 1995).

Barták *et al.* (2005) se zabývali fotosyntetickými charakteristikami lišejníku *Xanthoria elegans* v závislosti na denních chodech světla, teploty a hydratace v podmínkách maritimní Antarktidy (ostrov Galindez). Součástí studie bylo stanovení závislosti kvantového výtěžku fotosystému II ( $\Phi_{II}$ ) na vodním potenciálu ( $\Psi$ ).

Závislost  $\Phi_{II}$  na  $\Psi$  byla měřena pomocí modulovaného fluorometru *OSI-FL* (*OptiScience, USA*) a vlhkoměru *WP4T* (*Decagon Device, USA*) s programovým řízením teploty. Tento přístroj využívá techniky stanovení rosného bodu umožňující rychlé měření relativně rozsáhlého množství vzorků (až do 40mm v průměru) s přesností na 0,1 MPa. Pro tato měření byly stélky lišejníků přeneseny do laboratoře na Vernadského stanici. Čerstvě nasbírané a plně hydratované stélky *X. elegans* byly umístěny do plastových nádob (průměr 40mm, výška 10mm) a vystaveny pomalému vysychání při pokojové teplotě (20°C), relativní vlhkosti 40% a konstantnímu umělému ozáření  $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR (fotosynteticky aktivní záření). Ke stanovení  $\Psi$  byly nádobky se vzorky umístěny do měřicího přístroje a vyrovnala se relativní vlhkost. Poté byly zaznamenány hodnoty  $\Psi$  a bezprostředně následovalo měření  $\Phi_{II}$ . Obě měření byla u vzorků opakována během období vysychání dokud nebyl  $\Phi_{II}$  detekován.

Snížení  $\Psi$  stélky od optimální hodnoty ( $\Psi=0$ ) na -7MPa nevedlo k významné ztrátě aktivity fotosyntetických procesů ve PSII (fotosystém II). V tomto rozsahu hodnot  $\Psi$  byl  $\Phi_{II}$  mírně snížený, více či méně lineárně od 0,580 do 0,500. Další vysychání stélky (oblast hodnot  $\Psi$  -8 až -22 MPa) indukovala mnohem strmější snížení  $\Phi_{II}$  od 0,480 do 0,100. Kritická hodnota  $\Psi$  (-25 MPa) způsobila přerušení fotochemické aktivity PS II (hodnoty  $\Phi_{II}$  se blížily k nule).

Při měření *X. elegans* byl zaznamenán negativní účinek vysoké saturace stélky vodou, neboť při postupném vysychání stélky v rozsahu  $\Psi = 0$  až -8 MPa hodnoty nejprve mírně rostly a poté se ustálily na konstantní hodnotě. První projevy inhibice fotochemických procesů nastaly pak až při hodnotě vodního potenciálu -8 MPa. Při hodnotách pod tuto hranici byly fotochemické procesy silně inhibovány a kritický vodní potenciál, při kterém bylo dosaženo téměř nulové hodnoty  $\Phi_{II}$ , byl dosažen při  $\Psi$  -25 MPa (Barták *et al.* 2005). Toto zjištění je velmi blízko kritické hodnotě  $\Psi$  udávané pro lišejníky (Nash *et al.* 1990). Kritická hodnota  $\Psi$  byla poněkud nižší ve srovnání s hodnotou -20 MPa, kterou uvedli Chakir *et Jensen* (1999) pro tři druhy osmoticky ovlivněných foliálních lišejníků. V dřívější studii (Hájek *et al.* 2005) při použití přibližně stejné úrovně dehydratace navozené osmoticky byla zjištěla kritická hodnota  $\Psi$  u dvou druhů *Lasallia Pustulata* a *Umbilicaria hirsuta* -18,8 MPa (Barták *et al.* 2005).

### 2.2.2. Vysychání a změny anatomie a fyziologie lišejníkové stélky

U lišejníků je vysychání stélky mnohem rychlejší než u vyšších rostlin, což vychází z jejich poikilohydrické povahy. Rychlost vysychání stélky je však mnohem pomalejší než saturace tekutou vodou a závisí především na vzdušné vlhkosti, teplotě, rychlosti větru, slunečním záření, morfologii stélky a mikroreliefu lokality (přehledně viz např. Chmelík 2003). Vysychání způsobuje změnu optických vlastností stélky, snížení metabolické aktivity fotobiontů, vyvolává redukci v pronikání záření přes svrchní kůru (Büdel *et al.* 1994) a narušuje i funkční integritu buněčných membrán včetně fotochemického aparátu tím, že se vysycháním zablokuje elektronový řetězec, nedochází k tvorbě primárních produktů fotosyntézy, kterými jsou ATP a NADPH<sub>2</sub> (Sigfridsson 1980, Gauslaa *et al.* 1999). Společně s postupným svinováním stélek, tento mechanismus představuje účinnou ochranu proti účinkům vysoké ozářenosti u dehydratovaných stélek (Hájek 2002). Během vysychání jsou aktivovány také další mechanismy chránící makromolekulární látky a biomembrány, příliš se neliší od způsobu ochrany před mrazem a zasolením. Představují hromadění chaotropních iontů (Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) inhibujících metabolické procesy, ale také syntézu a akumulaci nízkomolekulárních látek, jako jsou sacharidy, terciální aminy, polyoly a aminokyseliny. Dochází také ke zvýšení produkce antioxidantních enzymů a substrátů (superoxiddismutáza, askorbát, redukovaný glutathion) (přehledně viz Chmelík 2003). Další změnou, která se přímo týká fotosyntetického aparátu, je aktivace xantofylového cyklu, jako disipační cesty pro energii z PSII a charakteristická přestavba chloroplastů (Hájek *et al.* 2001, Hartung *et al.* 1998).

Za běžných teplot pod nulou můžeme pozorovat extracelulární krystalky ledu mezi buňkami kortexu. Tento extracelulární led vzniká při postupném zmrazování. Naopak během nepřirozeně rychlého zmrazování, např. během fixace vzorků mrazem (kryofixace), vzniká led intracelulární (Schroeter *et al.* 1995). Přitom se nenachází žádná extracelulární voda v malých mezibuněčných prostorách kortexu ani ve větších vzduchových prostorách střední vrstvy. Pomalé mrznutí má tedy za následek vznik extracelulárního ledu, který následně způsobí silnou dehydrataci buněk. Ledové krystalky se vyskytují kolem značné části intracelulárního prostoru a často zcela obklopují též střední části stélky spolu s buňkami fotobionta. Vznikají dutiny v buňkách kortexu. Plazmalema těchto buněk je v tuhém stavu a je narušena, v buňkách bez dutin pak méně. Jestliže je stélka po vzniku extracelulárního ledu opět zahřívána (na 15 °C),



všechna voda, která byla předtím extracelulárně zmrazena na vláknech hyf a povrchu buněk fotobionta, je zpětně absorbována a ve stélce se tedy opět nevyskytuje žádná extracelulární voda.

V období vysychání setrvávají lišejníky ve stavu, během kterého jsou schopny přežívat s pouhými 10 % vody z celkové hmotnosti stélky. V tomto stavu dokáží odolávat nedostatku vody pomocí látek stabilizující membrány a proteiny (ribitol, manitol, glutathion a neredukující cukry) (Gauslaa *et al.* 1999, Palmqvist 2000). Lišejníky během tohoto stavu anabiózy dokáží lépe odolávat škodlivým látkám z prostředí (Chmelík 2003).

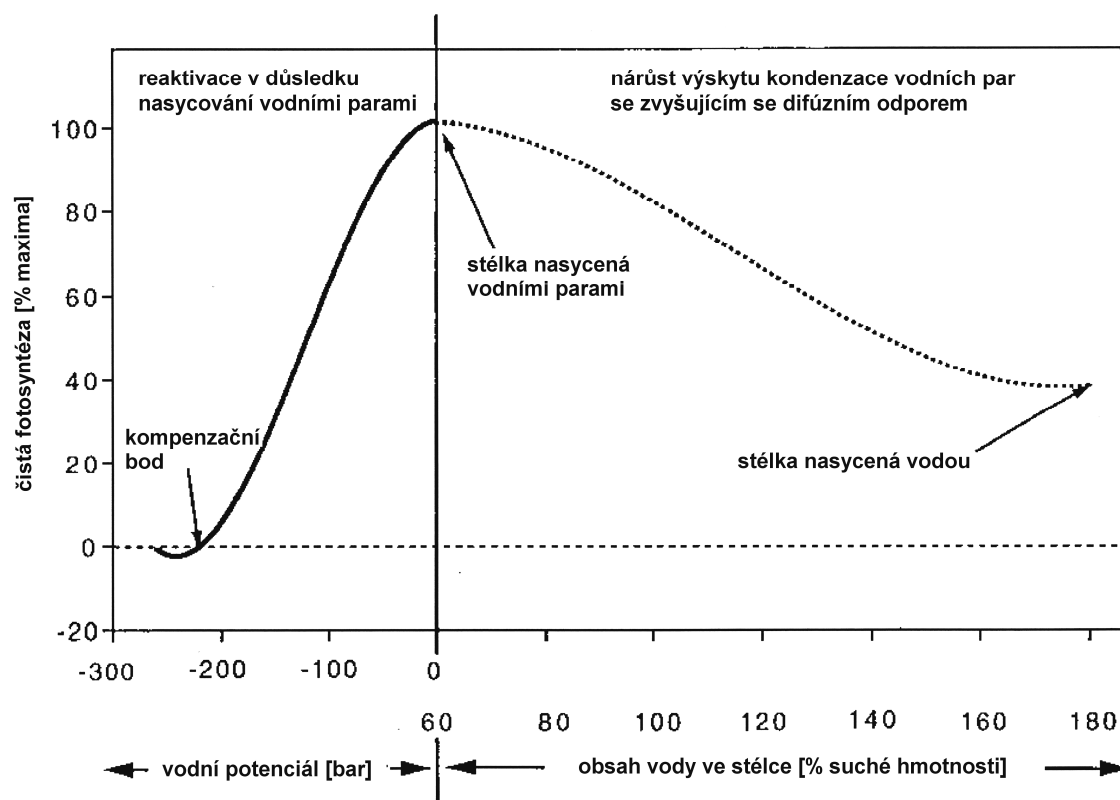
### 2.2.3. Fotosyntéza lišejníků a vysychání, suprasaturační efekt

Fotosyntetická produkce u lišejníků je převážně ovlivněna dostupností vody v přírodních podmínkách. Aktuální výskyt se odráží v přítomnosti pravidelného zásobování vodou (Green *et al.* 1999, Lange *et al.* 1991). Interakce mezi obsahem vody ve stélce a čistou výměnou CO<sub>2</sub> u lišejníků je spíše chápána jako komplex s podstatným mezidruhovým odlišením. Rozsáhlé výzkumy provedené v minulých dvou desetiletích o fotosyntéze lišejníků ve vztahu k obsahu vody ukázaly dva jednotlivé směry zájmu: (1) snížení čisté fotosyntézy při vysokém obsahu vody ve stélce, tzv. suprasaturace (vysoké nasycení), to znamená, že lišejníky obsahují více vody než je nezbytné k nasycení fotosyntézy, (2) a schopnost některých lišejníků se opět rehydratovat a být fotosynteticky aktivní pouze díky příjmu vodní páry z vlhkého vzduchu. Oba jevy byly dostatečně demonstrovány při laboratorních studiích, ale otázkou zůstává, jestli jsou důležité v přírodních podmínkách, to znamená, jestli mohou tyto jevy skutečně nastat v přírodě a jestli jsou v takové míře významné pro celkovou produktivitu lišejníků. Tyto otázky jsou založeny částečně na nesnázích při studiu stupně hydratace a výměně plynů u lišejníků v přírodě a měnící se lokální mikroklimatické poměry (Lange *et al.* 2001).

Lange *et al.* (2001) shrnuli poznatky o tom, že u studovaných (*Ramalina maciformis*, *Xanthoria calcicola*, *Pseudocyphellaria pubescens*, *Pseudocyphellaria aurata*) druhů lišejníků má suprasaturace větší význam a může mít za následek snížení fotosyntézy až o třetinu času, kdy jsou lišejníky fotosynteticky aktivní. Reaktivace fotosyntézy lišejníků se zelenou řasou jako fotobiontem nastává při zvýšení vlhkosti, což je zřejmě úplně běžné v některých prostředích, např. ve vlhkém deštném lese mírného pásma nastává tento jev každou noc. V této lokalitě jsou pravděpodobně

převládající lišejníky se zelenou řasou jako fotobiontem, spíše než sinicové druhy, což vyplývá z jejich schopnosti využít vodní páru. Obecně řečeno, laboratorní studie jsou schopny předvídat velmi dobře funkce lišejníků v jejich přirozeném stanovišti (Lange *et al.* 2001).

Na obr. 4 je znázorněna idealizovaná fotosyntetická odpověď na obsah vody ve stélce (WC). Tento obr. byl sestaven z velkého množství křivek fotosyntézy vytvořených pro pouštní lišejníky, *Ramalina maciformis*.



Obr. 4 : Idealizovaná fotosyntetická odezva (rychlost čisté fotosyntézy) na obsah vody ve stélce (WC), (Lange 2001).

Další lišejníky se liší v detailech v důsledku druhově specifických odlišností v rozsahu WC a čisté fotosyntézy (NP). Zvláště u sinicových lišejníků se objevují kladné hodnoty NP při zvýšeném WC a dosahují vyššího maxima WC, zvláště homoiomerní druhy. Dynamika odezvy lišejníků na ovlhčení je podobná pro všechny lišejníky. Vzestup NP nastane při zvýšení WC pokud je dosaženo maxima (NP<sub>max</sub> je značeno na vertikální čáře na obr. 4) WC<sub>NPmax</sub>. S dalším zvýšením WC může zůstat NP relativně konstantní až do hodnoty NP<sub>max</sub> nebo nastane pokles různého rozsahu

v závislosti na druzích lišejníků. Velké množství křivek fotosyntézy bylo studováno a shrnuto již v dřívějších pracích (Lange *et* Matthes 1981, Kershaw 1985). Při hodnotě větší než  $WC_{NPmax}$  je přítomna ve stélce volná (kapilární) voda a lišejníky mají hodnotu vodního potenciálu blížíící se k nule (Green *et* Snelgar 1982). WC snížený pod  $WC_{NPmax}$  může dosáhnout vyvážené hodnoty u lišejníků, v jejichž okolí je indikován vzduch s vhodnou relativní vlhkostí než u lišejníků, jejichž vodní potenciál musí být nižší než nula a obsah vody je zde omezen na buněčnou stěnu a buněčné obsahy (Cowan *et al.* 1979). Na obr. 4 je uvedeno, že WC nižší než  $WC_{NPmax}$  je dán jednotkami vodního potenciálu a hodnota větší než  $WC_{NPmax}$  je uvedena jako procentuální obsah vody ve stélce. Podobný rozdíl je v obsahu vody ve stélce v oblasti (free-water) „volné dostupnosti vody“ (vodní potenciál se blíží nule) a v oblasti „omezené dostupnosti vody“ (limited-water) se zvyšujícím se negativním vodním potenciálem, což bylo navrženo pro mechorosty (Proctor 1982).

$NP_{max}$  (při  $WC_{NPmax}$ ) tedy rozděluje křivky fotosyntézy do dvou oblastí, to zvyšuje zájem o to, zda jsou aktuálně platné laboratorní studie v přírodních podmínkách. Suprasaturační zóna ( $WC > WC_{NPmax}$ ) se stala nejzajímavější, protože relativně snadno bylo dosaženo vyšších obsahů vody v laboratorních studiích, které tvrdí, že toto není dosažitelné v přírodě. Je tedy možné, že poikilohydrické organismy jsou zcela závislé na vodě z prostředí, světlo tak negativně působí na vysoký WC. Zóna omezené dostupnosti vody ( $WC < WC_{NPmax}$ ) získala také značný zájem, protože lišejníky se zelenou řasou jako fotobiontem dosahují pozitivních hodnot NP, když se zvyšuje obsah vodní páry v prostředí a může dosáhnout rovnovážného vodního potenciálu při vlhkém vzduchu. Je známo, že lišejníky se sinicovými fotobionty nemají tuto schopnost (Nash 1996).

Výskyt fotosyntetického snížení při vysokém WC byl dostatečně demonstrován v laboratoři pro řadu druhů (Green *et al.* 1994). Snížení NP je nejzřetelnější při nasyceném (saturačním) PPF (fotosyntetická hustota toku fotonů) a možná menší, ale přesto značné snížení NP je při nenасыceném PPF. Díky zjištění, že zvýšené  $CO_2$  může zlepšit snížení NP (jestli by bylo dost vysoké, mohlo by být odstraněno úplně) (Lange *et* Tenhunen 1981), bylo navrženo, že tento jev vzniká snižujícím se difúzním odporem. Bylo zjištěno, že voda a  $CO_2$  nemají ve stélce stejnou transportní cestu, proto nebylo možné použít klasické postupy analýz používané u vyšších rostlin. Tento problém byl vyřešen použitím směsi helia a kyslíku k úpravě konstantní difúze  $CO_2$  umožňující výpočet difúzního odporu a byl také potvrzen výskyt snížení difúzního

odporu CO<sub>2</sub> při suprasaturaci vodou. Oba případy a mechanismus snížení NP při vysokém WC byly zcela potvrzeny při laboratorních studiích (Lange *et al.* 2001).

Dosud nejsou v odborné literatuře k dispozici žádná data, kde by byl WC lišejníků sledován v souvislosti s regulovaným měřením NP po dlouhé období v terénu. Nejvíce podobné jsou studie, kde vzorky lišejníků měly hodnoty NP a WC determinované v regulovaných intervalech v kyvetě, ale byly navozené normální podmínky mezi měřeními.

Výskyt snížení NP při suprasaturaci vodou může být rozpoznán *in situ* po identifikování významných zákonitostí nebo znaků v denním průběhu NP a fluorescence chlorofylu. Typický znak pro suprasaturaci vodou je relativně konstantní a nízká hodnota NP v denním časovém úseku s nelimitovaným PPFD a dobrými podmínkami pro vysychání a v následném časovém úseku je NP mnohem vyšší před konečným klidovým stavem, což je způsobeno postupným vysycháním. Vypočítaná rychlost transportu elektronů (ETR) je obvykle považována za ukazatel rychlosti fotosyntetické fixace uhlíku, jestliže platí rovnováha mezi primárními procesy fotosyntézy a rychlostí fixace CO<sub>2</sub> (Schreiber *et al.* 1994). U lišejníků však tato rovnováha (vyjádřená jako lineární vztah mezi ETR a NP) neplatí nezbytně pro všechny situace. Například vysoké hodnoty ETR zjištěné současně s nízkou rychlostí NP ukazují na výrazné omezení v dostupnosti CO<sub>2</sub> pro biochemické procesy fotosyntézy způsobené vysokým difúzním odporem stélky díky suprasaturaci vodou (Leisner *et al.* 1997). Fotosyntetické parametry lišejníků pro dynamicky se měnící přírodní podmínky mohou být měřeny pomocí automatizovaných fluorometrických a gazometrických zařízení. Příkladem je dlouhodobé měření lišejníku *Lecanora muralis* v expoziční kyvetě (Lange *et al.* 1997b) instalované do přírodních podmínek (nedotčený skalní podklad), které vyústilo v získání více než ročního chodu fotosyntetických parametrů tohoto druhu (Lange *et al.* 2001).

Frekvence výskytu suprasaturace byla také měřena v přírodních podmínkách. Suprasaturované lišejníky jsou rozpoznávány v denním průběhu NP. Dvanáctiměsíční analýzy průběžného měření využívající klapp-kyvety (Bavaria) zjistily, že lišejníky *Lecanora muralis* byly metabolicky inaktivní (vysušení nebo úplné zmrazení) z 64,4 % a hydratované a metabolicky aktivní z 35,6 % z celkového časového úseku, fotosyntetizující z 16,7 % a vykazující respiraci z 18,9 % z časového úseku. Během více než 1/3 fotosynteticky aktivního období (37 %) bylo snížení NP způsobené vysokým WC. Toto tedy ukazuje, že suprasaturace je obecný jev nejméně u tohoto a mnoha

dalších druhů lišejníků a obsah vody ve stélce potřebný k produkci jsou neomezené v laboratorních i ve zvláštních poměrech v terénu. Ačkoliv jak už bylo řečeno dříve, ne všechny druhy lišejníků vykazují snížení NP při vysokém WC (Lange *et al.* 2001).

V souladu s autorovými (Lange *et al.* 2001) zkušenostmi probíhá fotosyntéza lišejníků v terénu zřídka při tzv. optimálních podmínkách. Téměř vždy jsou limitovány faktory jako je nízký a vysoký obsah WC nebo nízkého PPFD. Toto zjištění potřebuje další výzkum. Suprasaturaci a reaktivaci vlhkým vzduchem je těžké zabudovat do celkových uhlíkových modelů a vyvstávají pochybnosti, jestli tyto modely mohou být efektivně použity bez znalostí aktuálního obsahu vody ve stélce. Výzkum efektivního uhlíkového modelu a strukturálních znalostí o vodní závislosti lišejníků zůstává velmi důležitým vědeckým cílem ekofyziologů v oblasti lichenologie. Laboratorní studie jsou schopné identifikovat a kvantifikovat neobvyklé reakce NP na WC velmi dobře předtím, než jsou známy z přírodního prostředí a tak slouží jako užitečný pomocník v interpretaci terénních prací u lišejníků.

#### **2.2.4. Aktivita fotosyntézy v závislosti na teplotě**

Lišejníky jsou známy tím, že mohou být fotosynteticky aktivní za teplot pod 0 °C (Lange *et al.* 1965 1972, Hovenden *et al.* 1994, Schroeter *et al.* 1994, Kappen *et al.* 1996a,b). Například Lange *et al.* (1965, 1972) naměřili fotosyntézu při -24 °C u *Cladonia alcornis* a temperátních lišejníků, při -11 °C v *Umbilicaria decussata*, a při -14 °C u *Physcia caesia*. Schroeter *et al.* (1994) naměřil fotosyntézu u lišejníku *Umbilicaria aprina* při -17 °C v polních podmínkách (Hájek 2002).

Longton (1988a) vypracoval rozsáhlý přehled maximálních rychlostí čisté fotosyntézy a optimálních teplot pro polární mechorosty a lišejníky. Kappen (1988, 1993a) doplnil další podrobná data pro lišejníky. U lišejníků byly zjištěny různé rychlosti fotosyntézy od 0,08 mg CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> pro *Rhizoplaca melanophthalma* do 0,8 mg CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> pro *Umbilicaria aprina* (Hájek 2002).

Lechowicz (1982) zkoumal vztah mezi několika fotosyntetickými parametry a zeměpisnou šířkou pro severní polokouli. Z jeho analýzy vyplynulo, že v zeměpisných šířkách vyšších než 65° jsou maximální rychlosti čisté fotosyntézy podstatně nižší a tyto naměřené hodnoty jsou podobné těm, zaznamenaným v Antarktidě. Kappen (1988) uvedl, že u kontinentálních antarktických lišejníků jsou rychlosti čisté fotosyntézy nižší než u druhů z pobřežní oblasti (Hájek 2002).

### 2.2.5. Obnovení fotosyntézy při rehydrataci

Četné laboratorní studie dokázaly, že fotosyntéza u lišejníků může být velmi rychle reaktivována z vlhkého vzduchu (Lange *et* Kilian 1985). U lišejníků se zelenou řasou jako fotobiontem, umístěných v prostředí s relativní vlhkostí 96%, se projeví rehydratace, respektive obnova fyziologických procesů včetně fotosyntézy během několika hodin. V případě rychlosti čisté fotosyntézy dojde k obnově a dosažení maximální rychlosti za 20 hodin (Lange *et al.* 1988). Během stejné časové periody se WC stabilizuje asi na 50-70%, aktuálně dosažený WC v závislosti na relativní vlhkosti. Pozorování zmrzlých hydratovaných stélek za nízkých teplot v rastrovacím mikroskopu ukázalo, že tato metoda umožňuje sledování turgoru lišejníkového fotobionta a mykobionta a lze kvantifikovat změny ve WC (Büdel *et* Lange 1991, Scheidegger *et al.* 1995). Snížená hodnota čisté fotosyntézy s vodním potenciálem stélky dosáhla nuly téměř při -400 barech (Nash *et al.* 1990). Rychlost poklesu je nezávislá na metodě užívané pro dosažení nízkého vodního potenciálu, tj. relativní vlhkosti, sorbitu (umělé potravinářské sladidlo) nebo solného roztoku (Lange 2001).

Sinicové lišejníky oproti lišejníkům se zelenou řasou nevykazují tak výrazné schopnosti dosáhnout kladných hodnot NP po hydrataci vodní párou (Lange *et al.* 1986). Oba typy lišejníků (se zelenou řasou i sinicí jako fotobiontem) dosahují přibližně stejného WC při sycení vlhkým vzduchem. (Schlensog *et al.* 2000). Avšak sinicové druhy patrně vyžadují mnohem vyšší WC než druhy s zelenou řasou jako fotobiontem pro kladnou NP. Takových hodnot WC však nemůže být dosaženo v rovnováze s vlhkým vzduchem, ale především vodou v tekutém skupenství (Kappen *et* Valladares 1999). Fyziologická podstata těchto odlišností ještě není zcela jasná (Lange 2001), ale jejich světlosběrná anténa není při ovlhčování stélky z plně vyschnutého stavu funkčně spojena s PSII, dokud není přidána kapalná voda (Bilger *et al.* 1989, Lange *et al.* 1989). Lichenizovaný *Nostoc* vytváří ve stélce malé kolonie, obklopené želatinovou (polysacharidovou) pochvou, kterou prorůstají houbové hyfy (Honegger 1991). Pro nasáknutí této pochvy a buněk fotobionta vodou je nezbytná poněkud delší rehydratační perioda. Při měřeních bývá zaznamenána typická 10-15 minutová prodleva, ke které dochází u těchto lišejníků mezi přidáním kapalné vody a indukcí fotosyntézy (Lange *et al.* 1989). Plné obnovení fotosyntetické aktivity po rehydrataci vyžaduje opravu nebo *de novo* syntézu poškozených bílkovin (Badger *et al.* 1993, Palmqvist *et al.* 1994).

Kappen (1989) dokázal, že k rehydrataci a reaktivaci *Usnea sphacelata* dochází pod sněhem a za teplot pod 0 °C. Toto bylo velmi důležité zjištění, neboť také díky pozdějším studiím (Schroeter *et* Scheidegger 1995) je nyní jasné, že lišejníky se zelenou řasou jako fotobiontem mohou reaktivovat fotosyntézu pod sněhem, aniž by byla přítomna tekutá voda, například bez potřeby cyklů oblevy. Vliv sněhové pokrývky na fotosyntézu lišejníků přehledně zpracoval Kappen (1993a,b). Sníh může zabezpečit dostatečnou izolaci proti větru a extrémním mrazovým teplotám (např. na ostrově East Ongul). V kontinentální Antarktidě klesají teploty lišejníků pod sněhem pouze na -21 °C, zatímco teplota vzduchu dosahuje -40 °C (Matsuda 1968).

Přes 15-ti cm sněhovou pokrývku (Kappen *et* Breuer 1991) proniká dostatek záření (odpovídá 10-30% hodnot dopadajícího záření), což je více než dostatečné množství pro procesy fotosyntézy za nízkých teplot. Pomocí modelů byla zjišťována fotosyntetická produkce přímořských antarktických mechů pod sněhem (Collins *et* Callaghan 1980) a *Cetraria nivalis* ve Švédsku (Kappen *et al.* 1996b). Z výsledků lze usoudit, že významné rychlosti fotosyntézy může být dosaženo za mrazových teplot dlouho předtím, než teploty vystoupí nad 0 °C, i když jsou lišejníky stále pokryty sněhem. Tuto hypotézu, ale bude nutné ještě důkladně experimentálně ověřit (Hájek 2002).

Bukhov *et al.* (2004) publikovali studii o fotochemické efektivitě fotosystému I (PSI) a fotosystému II (PSII), která byla provedena na lišejnících *Hypogymnia physodes* v různém stupni vyschnutí stélky. V suchých stélkách jsou reakční centra PSII fotochemicky inaktivní, o čemž svědčí nepřítomnost variabilní fluorescence chlorofylu (Chl). Oproti tomu primární donor elektronů PSI, P700, je vystavován ireverzibilní oxidaci při kontinuálním světle. Znovu navlhčením *H. physodes* nastává postupné obnovení reverzibilních světlem indukovaných redoxních reakcí ve PSII a PSI, ale z výše uvedeného důvodu je obnovení fotochemických procesů fotosyntézy rychlejší ve PSI.

### 3. Materiál a metody

#### 3.1. Charakteristika vybraných druhů

##### *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. – terčovka bublinatá

- Typ stélky : - foliózní (lupenitá)
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Trebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - stélka je růžicovitá nebo jednosměrně rostoucí, šedozelená  
- rtovité sorály jsou charakteristické pro vzhůru ohnuté okraje laloků stélek, na spodní straně černá, nafoukle dutá  
- na okrajích laloků možno pozorovat též drobné, četné pyknidy
- Stanoviště : - většinou na kyselé borce stromů, dřevě a horninách
- Rozšíření : - od Arktidy až po Středomoří, ve střední Evropě hojná  
- relativně toxitolerantní vůči mírnému znečištění ovzduší
- Lokalita sběru : - Třeboň, v parku na kůře dubu zimního *Quercus petraea*  
- 48° 59' 40" N, 14° 46' 4" E



Obr. 5 : *Hypogymnia physodes*

(zdroj : [www.univ-lehavre.fr/cybernat/pages/hypophys.htm](http://www.univ-lehavre.fr/cybernat/pages/hypophys.htm).)



***Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. – terčník zední**

- Typ stélky : - lupenitá
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Trebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - stélka s lekanorovitým typem apothecií, žluté zbarvení je způsobeno antrachinony, bez soralů a apothecií  
- lupeny často splývají dohromady a zakrývají substrát
- Stanoviště : - epifyticky na dřevě, zvláště na stromech podél komunikací, či epilitticky na skalách, častý v blízkosti lidských sídlišť  
- na zdech v prostředí obohaceném živinami, častý nitrofilní druh  
- velmi tolerantní ke znečištění vzduchu
- Rozšíření : - rozšířen v Evropě, vzácně ve vysokých polohách hor a na nejzazším severu
- Lokalita sběru : - Nemojany, Dražanská vrchovina, údolí potoka Rakovec  
- 49° 15' 42" N, 16° 54' 2" E



Obr. 6 : *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.

(zdroj : <http://popgen.unimaas.nl/~jlindsey/commanster/Mushrooms/Lichens/Xanthoria.parietina.jpg>)

***Peltigera canina* (L.) Willd. – hávnatka psí**

- Typ stélky : - lupenitá
- Fotobiont : - modrozelená sinice rodu *Nostoc* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - mají velkou šedozelenou nebo nahnědlou stélku  
- na okrajích laloků jsou umístěna velká hnědá nebo načervenalá apothecia  
- stélka tlustá, spodní strana bělavá se slabě vláknitými rizinami chomáčkovitě větvenými, mnohotvárný druh
- Stanoviště : - na zastíněném půdním povrchu, na skalách, na pařezech a bázích stromů, často v mechových porostech
- Rozšíření : - od nížin až po lesní hranici, častěji jen ve středních horských polohách v oblastech listnatých lesů
- Lokalita sběru A : - Křtiny, na skále  
- 49° 17' 54" N, 16° 44' 39" E
- Lokalita sběru B : - Brněnská přehrada, na skále  
- 49° 15' 16" N, 16° 50' 64" E



Obr. 7 : *Peltigera canina* (L.) Willd.

(zdroj : <http://www.stridvall.se/lichens/albums/Peltigera/BBBB0946.sized.jpg>)

***Evernia prunastri* (L.) Ach. – větvičnick slívový**

- Typ stélky : - keříčkovitá
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Trebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - stélka stužkovitá, odstávající až převislá  
- žlutozelená, svrchní a spodní strana má odlišné zbarvení – spodní strana je bělavá  
- okraje stélky na svrchní straně větévek jsou posety moučnatě zrnitými sorály  
- často s kulovitými sorály, apotécia vzácná
- Stanoviště : - na křovinách a osaměle stojících stromech na místech otevřených světlu a větru  
- vzácněji na skalách nebo povrchu půdy
- Rozšíření : - hojný od severní Evropy po Středozeší
- Lokalita sběru : - Třeboň, 48° 59' 40" N, 14° 46' 4" E



Obr. 8 : *Evernia prunastri* (L.) Ach.

(zdroj : [http://www.youngreporters.org/article.php3?id\\_article=738](http://www.youngreporters.org/article.php3?id_article=738))



***Cladonia rangiformis* Hoffm. – dutohlávka bodavá**

- Typ stélky : - keříčkovitá
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Trebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - podecia vzpřímená, většinou řídce keříčkovitá  
- vždy bez pohárku a bez soredií  
- šedá až lehce nahnědlá stélka, hladká nebo s hrudkovitou kůrou  
- prosvítavé skupinky řas jim dodávají tečkovaný vzhled  
- koncové větévky většinou dvakrát více méně pravidelně vidličnatě dělené, ve stínu silně šupinaté, exempláře z výsluní méně šupinaté nebo bez šupin
- Stanoviště : - na vápnatých půdách od atlantických dun až po mediteránní vřesoviště, většinou na světlých stanovištích
- Rozšíření : - od nížin až do středních poloh  
- chybí na extrémním severu a ve vyšších horách
- Lokalita sběru : - Brněnská přehrada, na mechem porostlé půdě nad hrází  
- 49° 13' 58" N, 16° 31' 11" E



Obr. 9 : *Cladonia rangiformis* Hoffm.

(zdroj : <http://www.jardin-mundani.org/liquenes/cladonia-rangiformis.jpg>)

***Umbilicaria antarctica* Frey & I. M. Lamb – pupkovka antarktická**

- Typ stélky : - lupenitá
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Trebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - stélka ve středu přirůstající k podkladu stopkou („pupkem“)  
- stélka má velikost obvykle 5-15 cm v průměru  
- okraj stélky je laločnatý, apothecia nebyla nalezena  
- svrchní strana je šedá až šedozeleňá  
- spodní strana je černá, s vlákny hyf a thalosporami
- Stanoviště : - je hojná především na vlhkých skalních stěnách, také ale roste na osamělých suchých kamenech
- Rozšíření : - maritimní antarktida, je to antarktický endemit
- Lokalita sběru : - na skále, severní pobřeží ostrova Galindez, Antarktida  
- 65° 15' S, 64° 16' W



Obr. 10 : *Umbilicaria antarctica* Frey & I. M. Lamb  
(zdroj : Doc. Barták)

## ***Lasallia pustulata* (L.) Mérat – pupkovka puchýřnatá**

- Typ stélky : - lupenitá
- Fotobiont : - zelená řasa rodu *Pseudotrebouxia* (Brodo *et al.* 2001)
- Znaky : - stélka je až 10 cm široká, okraj chobotnatý nebo laločnatý, stélka je šedá nebo hnědá, bez rhizin, po obou stranách opatřená kůrou  
- ve středu přirůstá k podkladu stopkou („pupkem“), dřev řidká  
- svrchní strana s pravidelnými oválnými puchýřky, kterým na jemně bradavičnaté spodní straně odpovídají vyklenutá místa
- Stanoviště : - na vápnem chudých silikátových horninách, většinou na velmi drsných plochách hnojených ptačím trusem a usazováním prachu, hlavně v pruzích zvlhčovaných prosakující vodou  
- roste na skalách exponovaných k větru a světlu, na zvětralém substrátu
- Rozšíření : - v nížinách, pahorkatinách, vzácně na bludných balvanech  
- roztroušeně v horském stupni, nad lesní hranicí chybí
- Lokalita sběru : - Brněnská přehrada, na skále v údolí potoka Veverka  
- 49° 15' 20" N, 16° 27' 53" E



Obr. 11 : *Lasallia pustulata* (L.) Mérat

(foto: Dr. Váci)



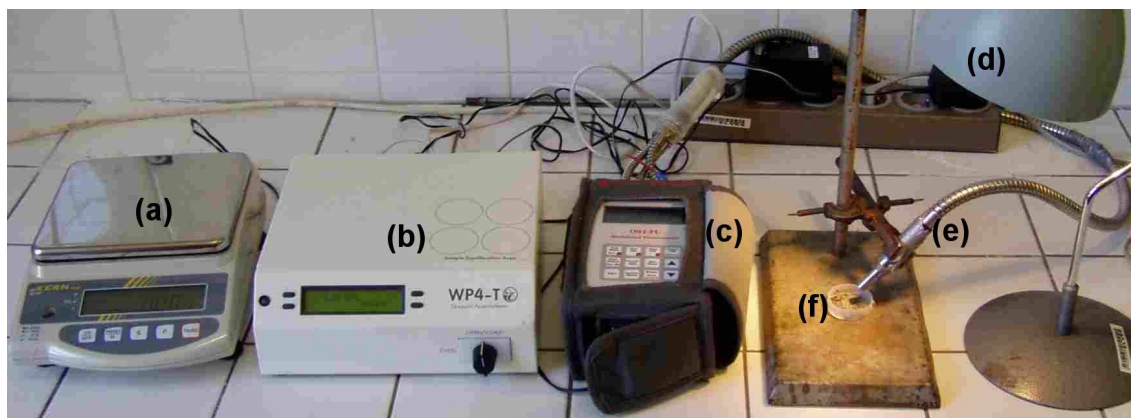
### 3.2. Manipulace se vzorky lišejníků a příprava stélek k měření

Lišejníkový materiál byl po sběru vysušen a uskladněn za tmy při teplotě do 5 °C, pouze vzorky druhu *Umbilicaria antarctica* byly po převozu z Antarktidy a vysušení uloženy v mrazničce v teplotě -22 °C. Před experimenty byly po 48 hodin uskladněny v komorové lednici při 5 °C.

Před měřením byly stélky lišejníků intenzivně navlhčeny pomocí rozprašovače s destilovanou vodou a umístěny na navlhčenou buničitou vatu do Petriho misek. Takto byly ponechány 15 až 20 hodin při laboratorní teplotě (asi 22 °C) pro dosažení stavu plné hydratace. Přebytečná voda ze stélek byla odsáta buničitou vatou. Stav plné hydratace ( $\Psi=0$ ) byl testován pomocí přístroje *WP4T* (*Decagon Devices, USA*).

Pro vlastní měření byly stélky lišejníků umístěny do měřících kyvet doplněných pro měření stélek lišejníků fixačními úchytkami.

Všechna měření byla u všech sledovaných druhů provedena nejméně v pěti opakováních. Do výsledků byly použity všechny naměřené hodnoty.



Obr. 12 : Měřící aparatura – a) laboratorní váhy, b) přístroj na měření vodního potenciálu *WP4-T*, c) fluorometr *OSI-FL*, d) stolní lampa, e) próba fluorometru, f) kyveta se vzorkem.

### 3.3. Definování stavu vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání

#### 3.3.1. Přímé měření vodního potenciálu

Stanovování vodního potenciálu -  $\Psi$  bylo prováděno přímým měřením na vzorcích lišejníků v kyvetách pomocí přístroje *Dewpoint Water Potential Meter WP4-T (Decagon Devices, USA)*. Měření bylo prováděno při laboratorní teplotě (22 °C). Kyvety se vzorky byly od stavu plné hydratace ( $\Psi=0$  MPa) a za postupného samovolného vysychání umísťovány na naznačená místa na krytu přístroje, která slouží k udržování teploty. Jednotlivé vzorky byly postupně vkládány do měřicí komůrky přístroje, kde byl automaticky na základě měření rosného bodu stanovován vodní potenciál (v MPa). Změření jednoho vzorku trvá přibližně 10-25 min; u vzorků s vyššími hodnotami  $\Psi > -4$  Mpa 10 min, u vzorků s  $\Psi < -10$  Mpa 15-25 min. Postupně se prodlužující doba stanovení se snižujícími se hodnotami  $\Psi$  a poikilohydrická povaha lišejníků způsobovaly nerovnoměrné množství naměřených hodnot v měřeném rozsahu. Měření bylo ukončeno stanovením kritické hodnoty  $\Psi$  naměřené u vzorků s kvantovým výtěžkem fotochemických reakcí fotosystému II -  $\Phi_{II} \leq 0,1$ .

#### 3.3.2. Stanovování vodního sytostního deficitu

Vodní sytostní deficit WSD (Water Saturation Deficit) vyjadřuje množství vody scházejícího rostlině k plnému nasycení. Vzorky mezi jednotlivými měřeními samovolně vysychaly při laboratorní teplotě. Postupným vážením na laboratorních vahách *KERN EW 2200-2NM (Kern&Sohn, Germany)* byl zjišťován okamžitý úbytek hmotnosti. WSD se pak vypočítá dle vzorce :

$$\mathbf{WSD [\%] = 100 * \{ 1 - (FM_a - DM) / FM_{max} - DM \}}$$

**WSD [%]** = vodní sytostní deficit, 0% - stav plné hydratace, 100% - stav úplného vyschnutí

**FM<sub>a</sub>** [g] = aktuální čerstvá hmotnost stélky

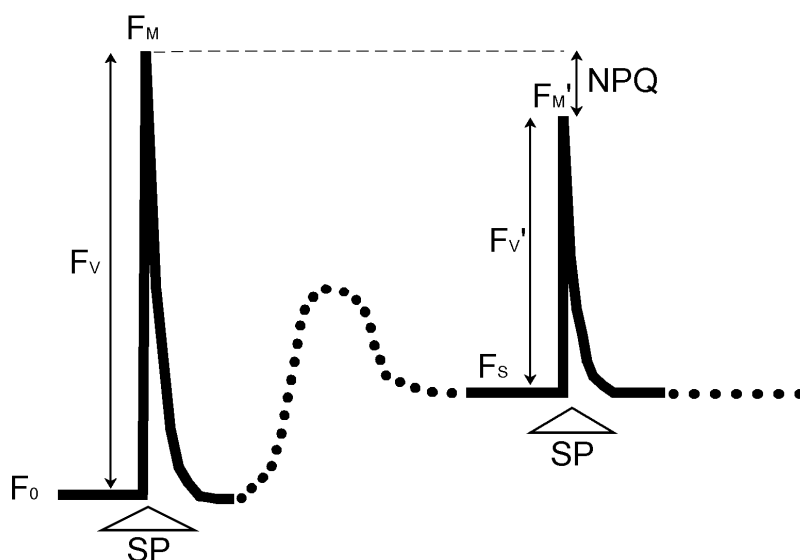
**FM<sub>max</sub>** [g] = maximální čerstvá hmotnost vodou plně nasycené stélky

**DM** [g] = hmotnost suché stélky



### 3.4. Měření parametrů indukované fluorescence chlorofylu

Pro zhodnocení aktivity fotosyntetických procesů na úrovni fotochemických reakcí ve fotosystému II bylo využito techniky měření indukované fluorescence chlorofylu *a*. Měření fluorescenčních parametrů bylo prováděno pomocí fluorometru *OSI-FL (Optiscience, USA)*. V rámci experimentů byla stanovována maximální kapacita fotochemických reakcí ve fotosystému II (základní fluorescenční poměr) -  $F_v/F_M$ , kvantový výtěžek fotochemických reakcí ve fotosystému II -  $\Phi_{II}$  a koeficient nefotochemického zhášení – NPQ.



Obr. 13 : Schéma měření parametrů indukované fluorescence chlorofylu;  $F_0$  – bazální fluorescence měřená na předzatemněném vzorku,  $F_M$  – maximální fluorescence měřená po aplikaci saturačního pulsu (SP) aplikovaného na předzatemněný vzorek,  $F_v$  – variabilní fluorescence předzatemněného vzorku stanovená z rozdílu  $F_M - F_0$ ,  $F_s$  – rovnovážná (steady-state) fluorescence měřená na světlo aklimovaném vzorku (za rovnovážného stavu fotochemických reakcí ve fotosystému II),  $F_M'$  – maximální fluorescence měřená po aplikaci SP na světlo aklimovaném vzorku (za rovnovážného stavu fotochemických reakcí ve fotosystému II),  $F_v'$  – variabilní fluorescence na světlo aklimovaného vzorku stanovená z rozdílu  $F_M' - F_s$ , NPQ – koeficient nefotochemického zhášení fluorescence stanoven z rozdílu  $F_M$  (neovlivněného vzorku) –  $F_M'$  normalizovaného na hodnotu  $F_M'$ .

### 3.4.1. Stanovování základního fluorescenčního poměru - $F_V/F_M$

Maximální kapacita fotochemických reakcí ve fotosystému II (základní fluorescenční poměr,  $F_V/F_M$ ) byla stanovována na základě měření indukované fluorescence chlorofylu na předzatemněných, plně hydratovaných vzorcích lišejníkových stélek. Hodnota  $F_V/F_M$  byla stanovena dle vzorce:

$$F_V/F_M = \frac{F_M - F_0}{F_M}$$

( $F_0$  – bazální fluorescence měřená na předzatemněném vzorku,  $F_M$  – maximální fluorescence měřená po aplikaci saturačního pulsu (SP) aplikovaného na předzatemněný vzorek)

### 3.4.2. Stanovování kvantového výtěžku fotochemických reakcí ve fotosystému II - $\Phi_{II}$

Aktuální kvantový výtěžek fotochemických reakcí ve PS II -  $\Phi_{II}$  byl na světlo ( $60 \mu\text{mol}(\text{fotonů})\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) aklimovaných vzorcích stanovován dle vzorce:

$$\Phi_{II} = \frac{F_V'}{F_M'} = \frac{F_M' - F_S}{F_M'}$$

( $F_S$  – rovnovážná (stady-state) fluorescence měřená na světlo aklimovaném vzorku (za rovnovážného stavu fotochemických reakcí ve fotosystému II),  $F_M'$  – maximální fluorescence měřená po aplikaci SP na světlo aklimovaném vzorku (za rovnovážného stavu fotochemických reakcí ve fotosystému II),  $F_V'$  – variabilní fluorescence na světlo aklimovaného vzorku stanovovaná z rozdílu  $F_M' - F_S$ )

Vzorek byl před měřením aklimován na ozáření (cca. 90s).  $\Phi_{II}$  byl na vzorcích lišejníkových stélek stanovován opakovaně v průběhu jejich vysychání po měření  $\Psi$ .

### 3.4.3. Stanovování koeficientu nefotochemického zhášení - NPQ

Koeficient nefotochemického zhášení fluorescence chlorofylu označován jako NPQ (Nonphotochemical quenching) byl stanoven dosazením již dříve naměřených parametrů indukované fluorescence chlorofylu do vzorce :

$$\text{NPQ} = \frac{F_M - F_M'}{F_M'}$$

( $F_M'$  – maximální fluorescence chlorofylu na světlo adaptovaného vzorku indukovaná saturačním pulsem,  $F_M$  – maximální fluorescence chlorofylu předzatměného vzorku indukovaná saturačním pulsem)

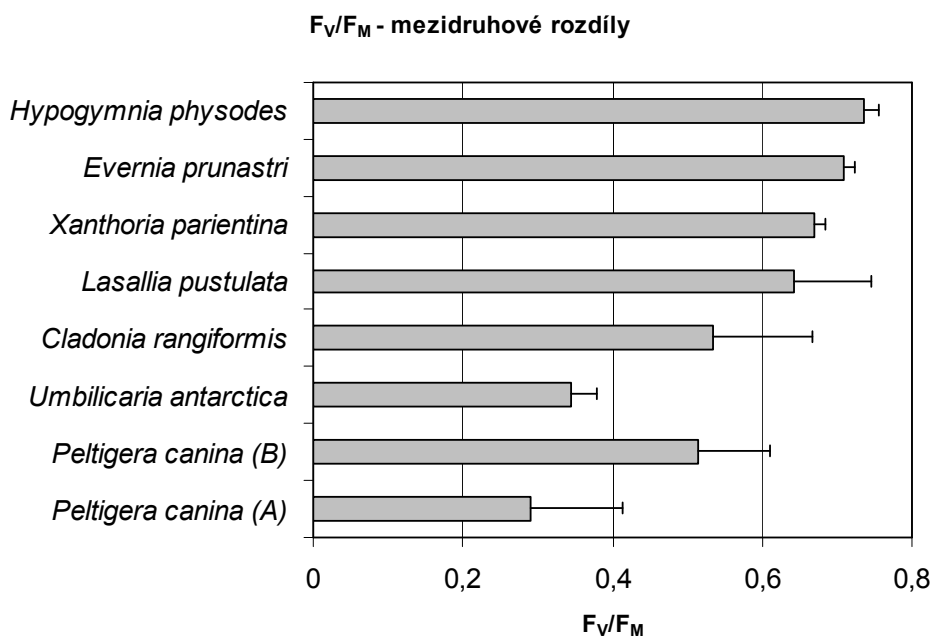
## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Měření parametrů indukované fluorescence chlorofylu

#### $F_V/F_M$ , $\Phi_{II}$ a NPQ

##### 4.1.1. $F_V/F_M$ a porovnání mezidruhových rozdílů

Na základě měření parametru maximální kapacity fotochemických procesů v PS II ( $F_V/F_M$ ) byly zjištěny rozdíly mezi sledovanými druhy lišejníků. Vyšších hodnot  $F_V/F_M$  ( $>0,642$ ) dosahovaly stélky druhů : *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Xanthoria parietina* a *Lasallia pustulata*. Nejvyšší hodnoty  $F_V/F_M$  (0,737) byly zaznamenány u druhu *H. physodes* (obr. 14). Nejnižší hodnoty  $F_V/F_M$  (0,290) byly naměřeny u druhu *Peltigera canina* (lokality A–Křtiny; obr. 14) a u antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* (0,344). Při měření  $F_V/F_M$  u stélek *P. canina* byl zjištěn významný rozdíl v tomto parametru indukované fluorescence chlorofylu mezi stélkami pocházejícími z různých lokalit sběru. Vyšších hodnot dosahovaly stélky z lokality B – Brněnská přehrada (obr. 14).



Obr. 14 : Mezidruhové porovnání  $F_V/F_M$  u vybraných druhů lišejníků. Chybové úsečky znázorňují smodch. Hodnota  $F_V/F_M$  je u každého druhu průměr minimálně z 5 opakování. Varianty A a B u druhu *Peltigera* se liší lokalitou sběru (A–Křtiny, B–Brněnská přehrada).

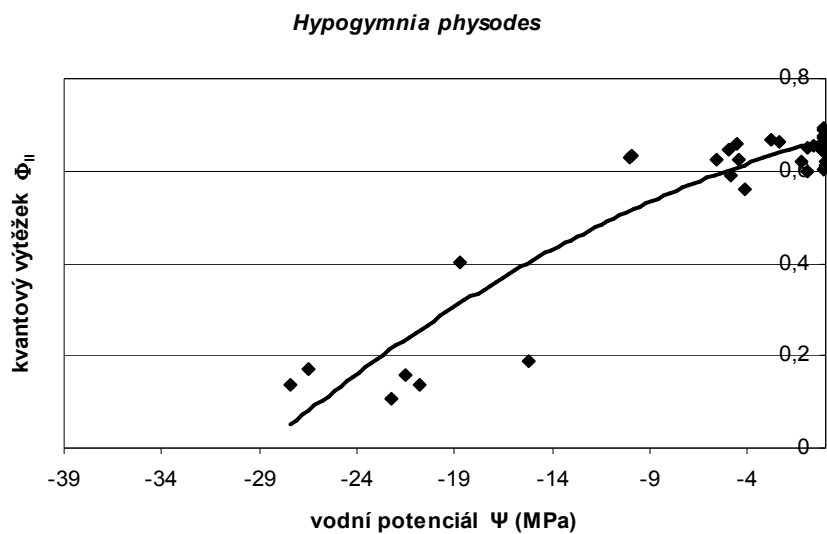
#### 4.1.2. Změny vodního potenciálu ( $\Psi$ ) a kvantového výtěžku fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) v průběhu vysychání stélek lišejníků

Nejvyšších hodnot  $\Phi_{II}$  bylo u všech sledovaných druhů lišejníků naměřeno za plné hydratace ( $\Psi=0$  MPa). Nejvyšší hodnoty kvantového výtěžku (0,707; obr. 22) byly naměřeny u druhu *Lasallia pustulata* a u druhu *Peltigera canina* (lokalita B–Brněnská přehrada; 0,701; obr. 18).

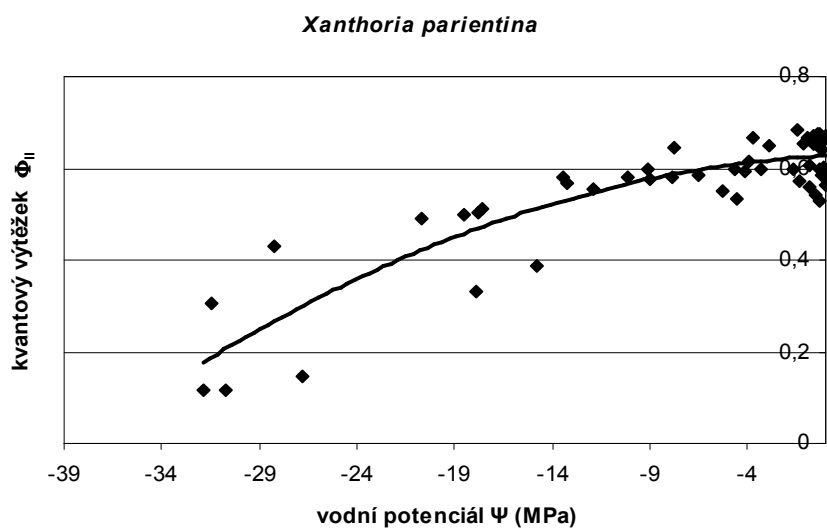
Po mírném vyschnutí ( $\Psi > -10$  MPa) došlo u druhů *H. physodes* (obr. 15), *X. parietina* (obr. 16), *E. prunastri* (obr. 19), a *L. pustulata* (obr. 22) jen k mírnému poklesu  $\Phi_{II}$  (o méně než 10% z maxima), zatímco u druhů *P. canina* (A, B; obr. 17,18), *C. rangiformis* (obr. 20) a *U. antarctica* (obr. 21) byl zaznamenán výraznější pokles hodnot  $\Phi_{II}$  (o 15% - *P. canina*, 25% - *C. rangiformis* a 30% - *U. antarctica*).

Dalším postupným vysycháním docházelo k poklesu hodnot  $\Psi$  a  $\Phi_{II}$  až ke kritickým hodnotám  $\Psi$  (při  $\Phi_{II} < 0,1$ ). Nejnižší hodnota kvantového výtěžku, kdy ještě probíhá fotosyntéza, byla naměřena u druhu *Evernia prunastri* (obr. 19)  $\Phi_{II} = 0,083$  při  $\Psi = -34,6$  MPa. Nejnižší hodnota  $\Psi = -38,1$  MPa byla naměřena u druhu *Peltigera canina* (A; obr. 17) a při této hodnotě vodního potenciálu byl kvantový výtěžek = 0,131.

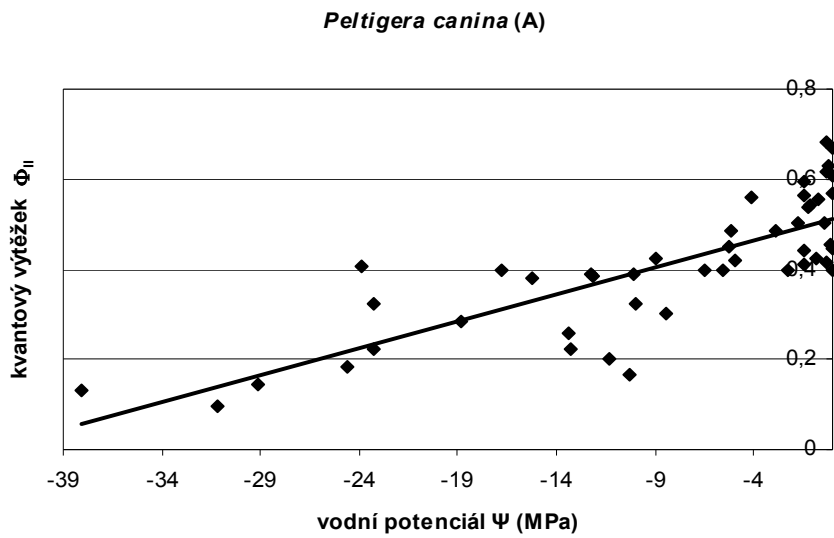
Závislost  $\Phi_{II}$  na  $\Psi$  za postupného vysychání stélek lišejníků měla u druhů *H. physodes*, *E. prunastri*, *X. parietina* logaritmicky klesající průběh. U druhů *P. canina*, *C. rangiformis*, *U. antarctica* a *L. pustulata* byl zaznamenán lineární průběh závislosti  $\Phi_{II}$  na  $\Psi$ . U druhu *Cladonia rangiformis*, kde byla odděleně měřena horní více větvená a dolní téměř nevětvená část stélky, byl pokles aktivity fotosyntézy strmější u horní části stélky.



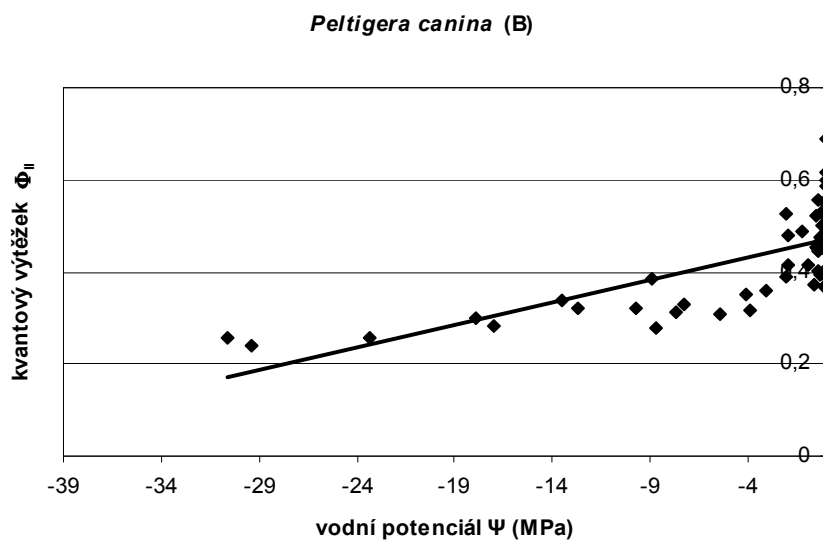
Obr. 15 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Hypogymnia physodes*.



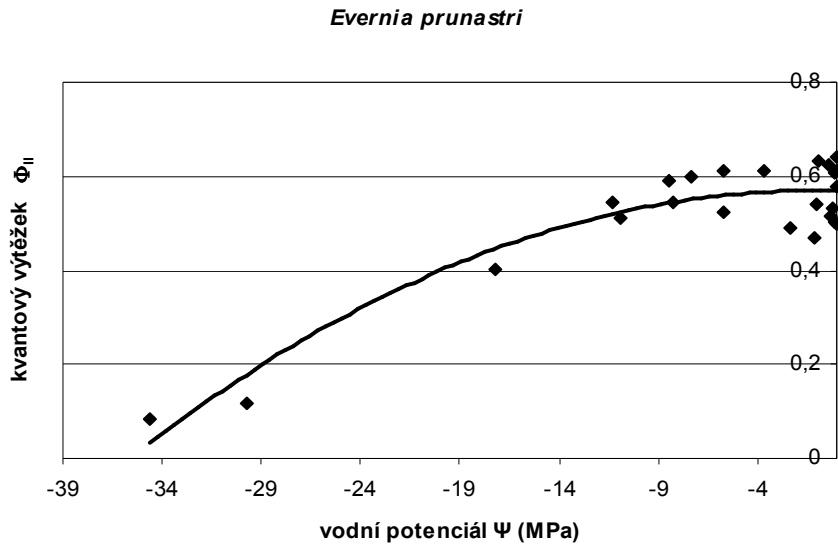
Obr. 16 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Xanthoria parientina*.



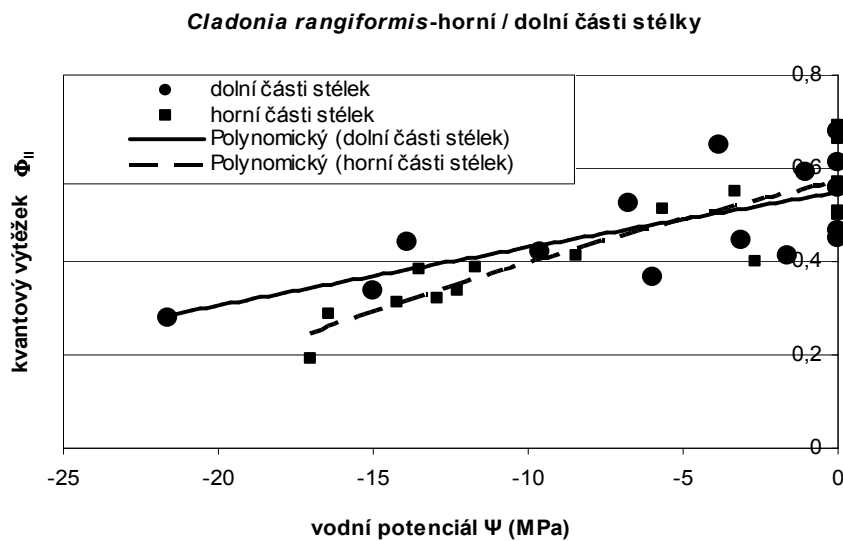
Obr. 17 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (A).



Obr. 18 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (B).

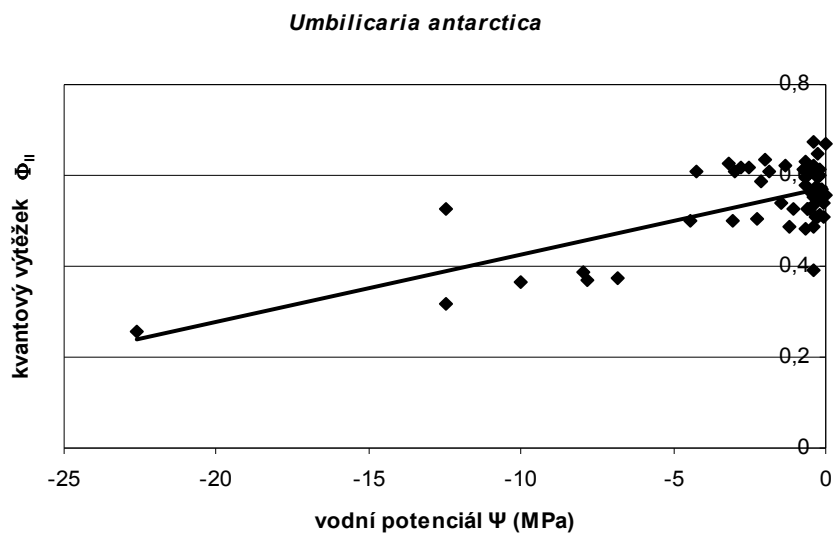


Obr. 19 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Evernia prunastri*.

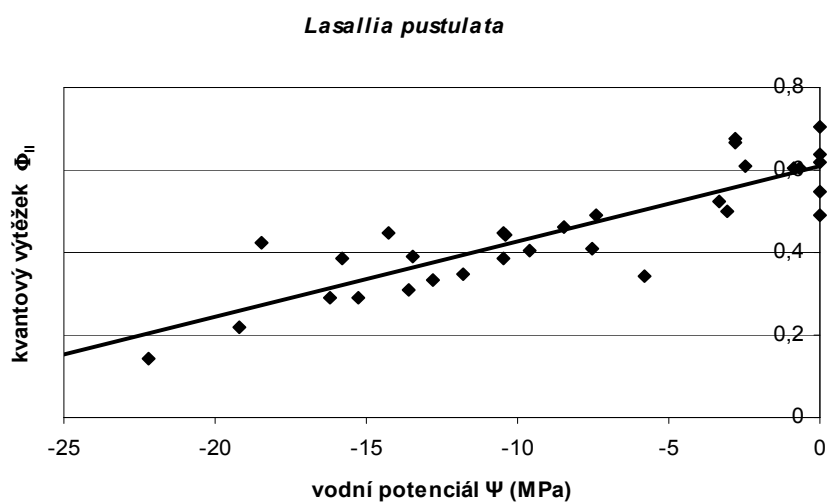


Obr. 20 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Cladonia rangiformis*, porovnání dolní a horní části stélky.





Obr. 21 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Umbilicaria antarctica*.

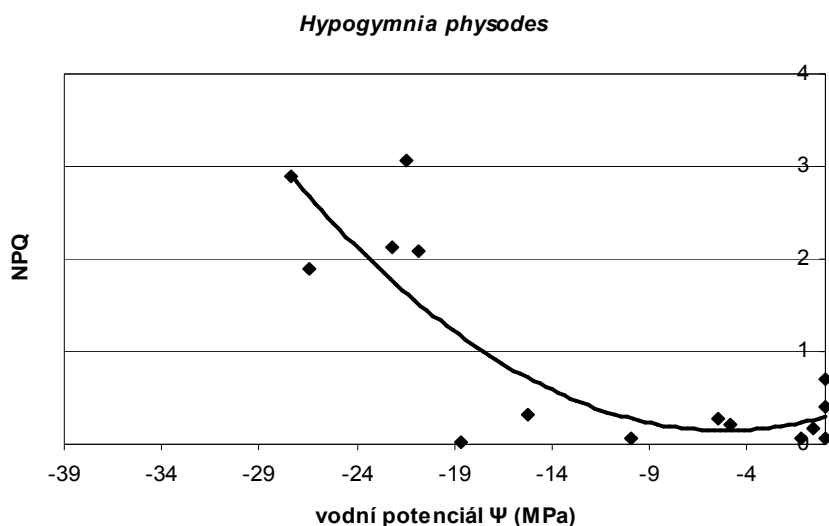


Obr. 22 : Závislost kvantového výtěžku  $\Phi_{II}$  na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Lasallia pustulata*.

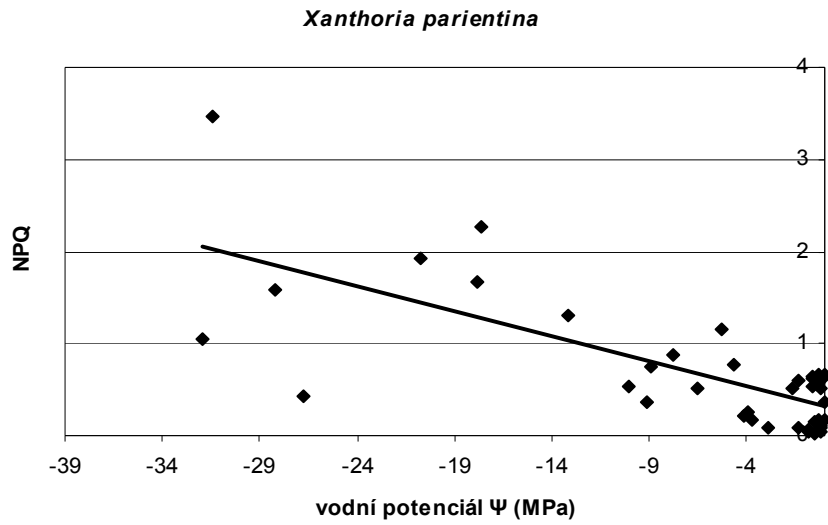
#### 4.1.3. Závislost koeficientu nefotochemického zhášení NPQ na vodním potenciálu $\Psi$

Za postupného snižování hodnot  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek byl u všech sledovaných druhů zaznamenán vzestup koeficientu NPQ z nulových hodnot naměřených za stavu plné hydrace stélek ( $\Psi=0$  Mpa) až po nejvyšší zjištěné hodnoty 3,1 (*H. physodes*; obr. 23) a 3,47 (*X. parietina*; obr. 24).

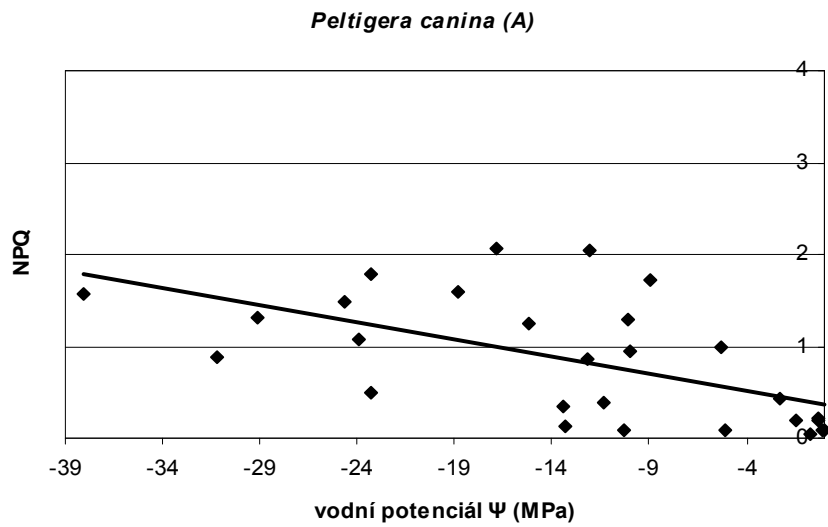
U sledovaných druhů byl zaznamenán lineární průběh závislosti NPQ na  $\Psi$  za postupného vysychání stélek (obr. 24 - 28), s výjimkou druhu *H. physodes* vykazujícího exponenciální nárůst parametru NPQ za poklesu  $\Psi$  (obr. 23).



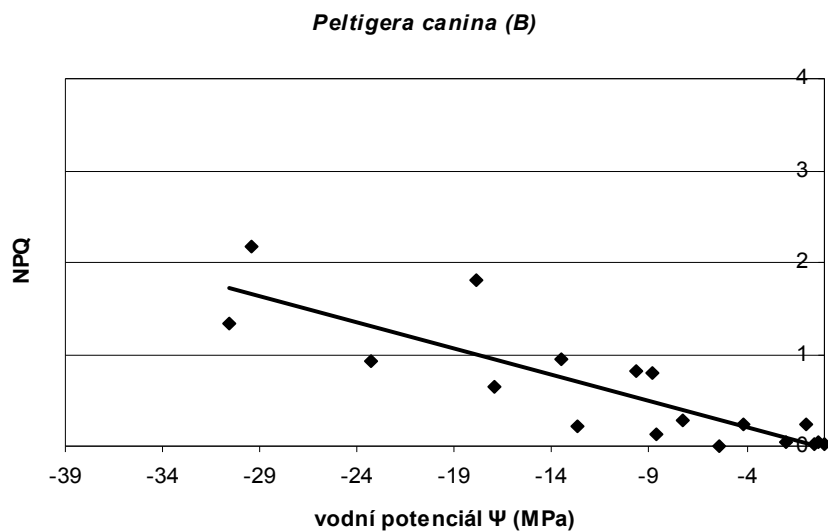
Obr. 23 : Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Hypogymnia physodes*.



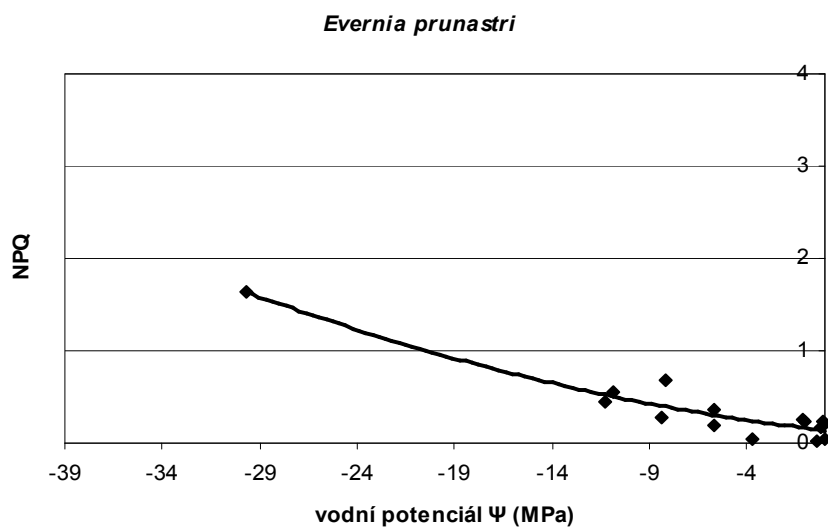
Obr. 24: Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Xanthoria parientina*.



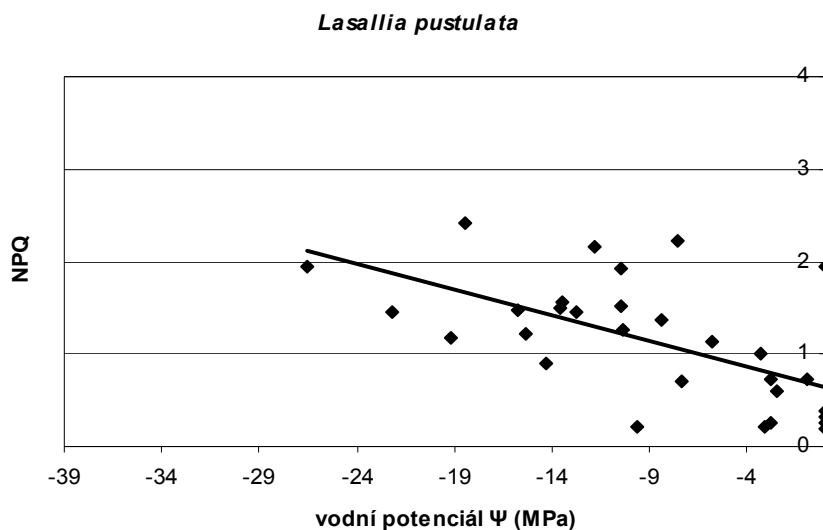
Obr. 25 : Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (A).



Obr. 26 : Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (B).



Obr. 27 : Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Evernia prunastri*.



Obr. 28 : Závislost NPQ na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Lasallia pustulata*.

## 4.2. Obsah vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání

### 4.2.1. Vodní potenciál

Při měření vodního potenciálu byly nejnižší zjištěné hodnoty  $\Psi$  (-38,1 MPa) u druhu *Peltigera canina* (A; obr. 17) a (-34,6 MPa) u druhu *Evernia prunastri* (obr. 19). Při WSD 90% jsou srovnatelné hodnoty  $\Psi$  u druhů *Cladonia rangiformis* (-16,4 MPa; obr. 34) a *Lasallia pustulata* (-16,2 MPa; obr. 36). Také u druhů *Peltigera canina* (A; -13,4 MPa; obr. 31) a *Xanthoria parietina* (-13,4 MPa; obr. 30). U ostatních druhů *Hypogymnia physodes* (-10 MPa; obr. 29), *Peltigera canina* (B; -7,5 MPa; obr. 32) a *Evernia prunastri* (-7,37 MPa; obr. 33) jsou tyto hodnoty  $\Psi$  vyšší.

Kritické hodnoty vodního potenciálu ( $\Psi \leq -22$  MPa) byly naměřeny u všech vybraných druhů lišejníků při WSD  $\geq 95\%$ . U antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* (obr. 35) byla nejnižší naměřená hodnota  $\Psi$  pouze -12,5 MPa při hodnotě WSD 80%.

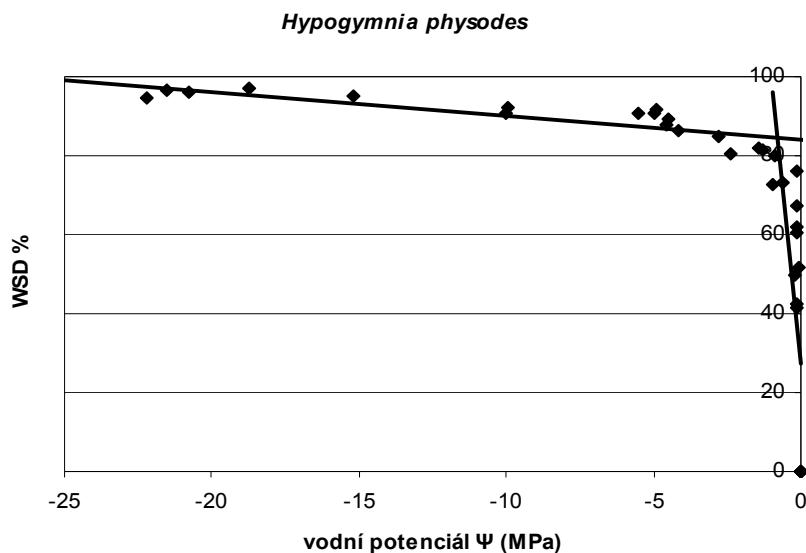
#### 4.2.2. Vzájemný vztah vodního potenciálu a vodního sytostního deficitu

Za stavu plné hydratace  $\Psi = 0$  MPa je WSD = 0%. S postupným snižováním vodního potenciálu se WSD zvyšuje až na 100%, což je stav úplného vyschnutí stélky.

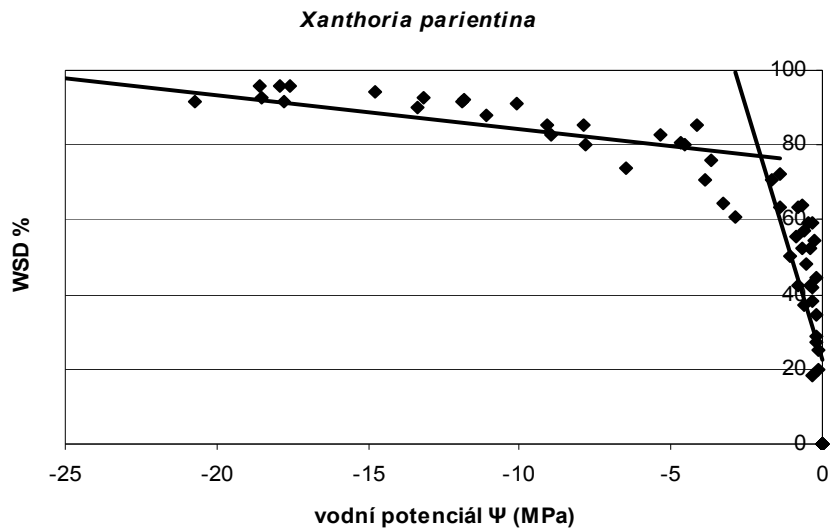
Vzájemný vztah  $\Psi$  a WSD vyjadřuje lineární průběh závislosti, která je rozdělena na dvě části :

1) pomalý pokles vodního potenciálu za poměrně rychlé ztráty vody - nárůstu WSD od 0% až do zlomového bodu, který u druhu *Umbilicaria antarctica* (obr. 35) dosahuje 62,1% při  $\Psi = -1,86$  MPa, u druhu *Xanthoria parientina* (obr. 30) 75,6% při  $\Psi = -1,63$  MPa, u ostatních studovaných druhů *Cladonia rangiformis* (obr. 34), *Evernia prunastri* (obr. 33), *Hypogymnia physodes* (obr. 29), *Lasallia pustulata* (obr. 36), *Peltigera canina* (A-obr.31,B-obr. 32) tento zlomový bod dosahuje hodnot WSD 80-84% při  $\Psi$  v rozmezí hodnot -1,29 až -3,4 MPa;

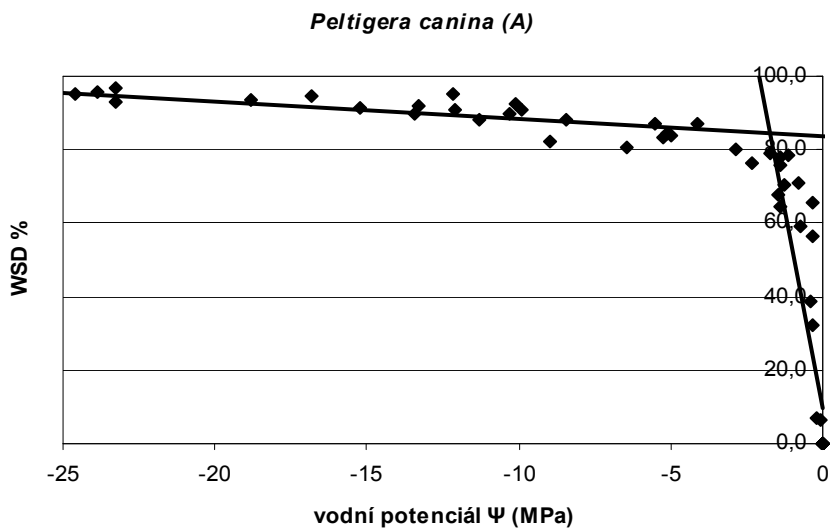
2) rychlý pokles  $\Psi$  za pozvolného poklesu WSD od již zmiňovaného zlomového bodu po úplnou ztrátu vody, kdy je WSD = 100%.  $\Psi$  se postupně snižuje v průměru od -2,3 MPa až ke kritickým hodnotám ( $\Psi \leq -20$  MPa).



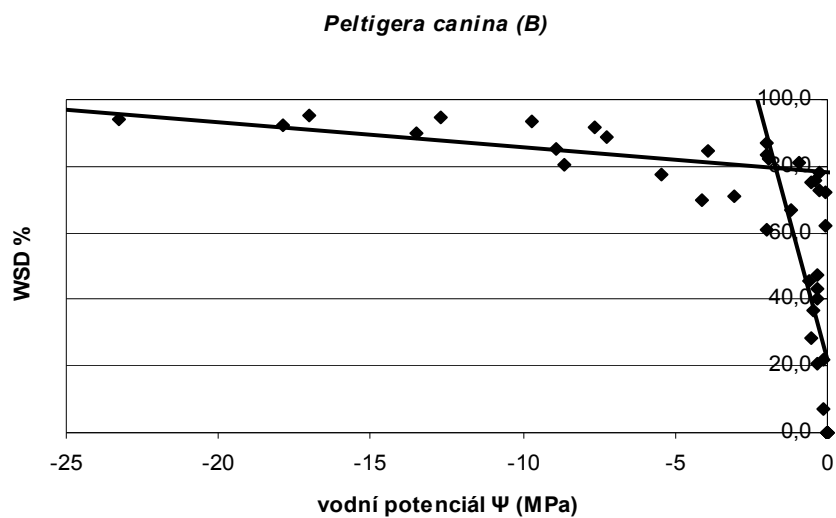
Obr. 29 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Hypogymnia physodes*.



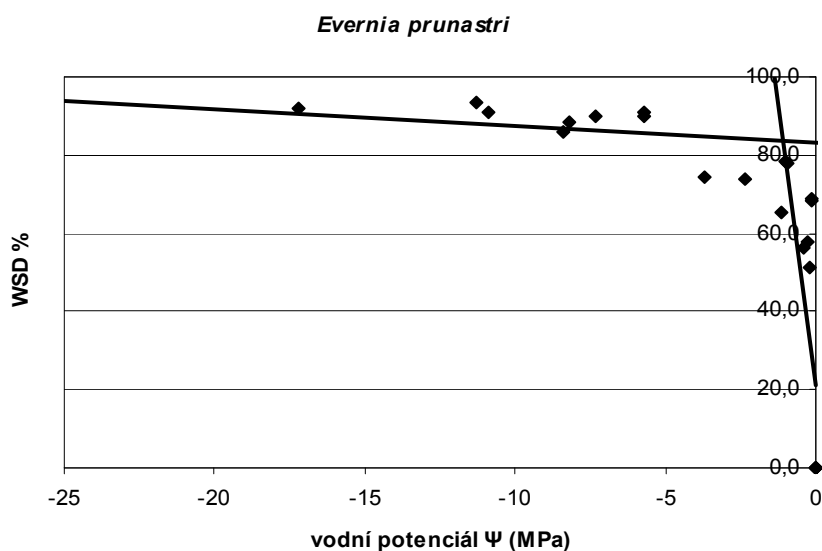
Obr. 30 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Xanthoria parietina*.



Obr. 31 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (A).

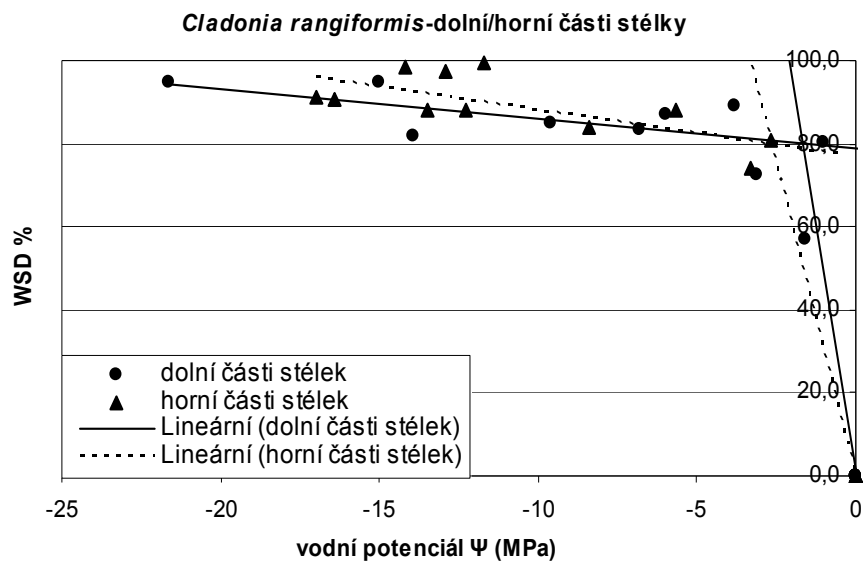


Obr. 32 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Peltigera canina* (B).

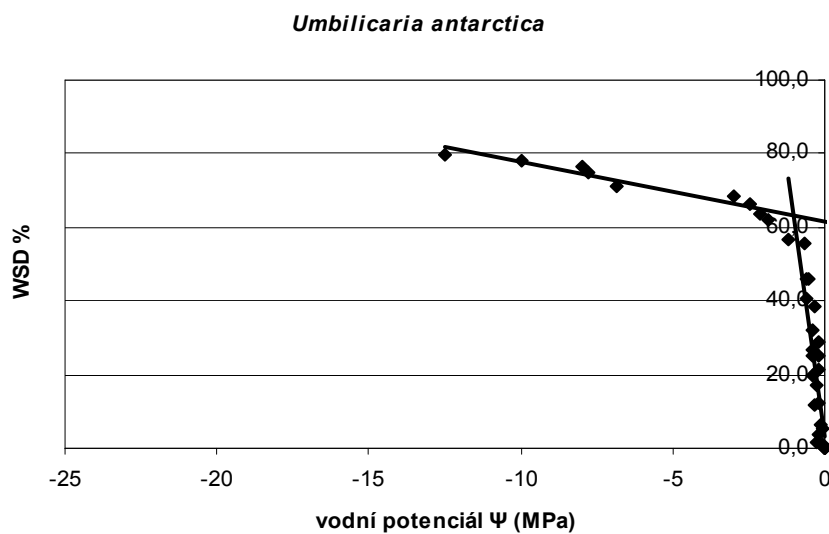


Obr. 33 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Evernia prunastri*.

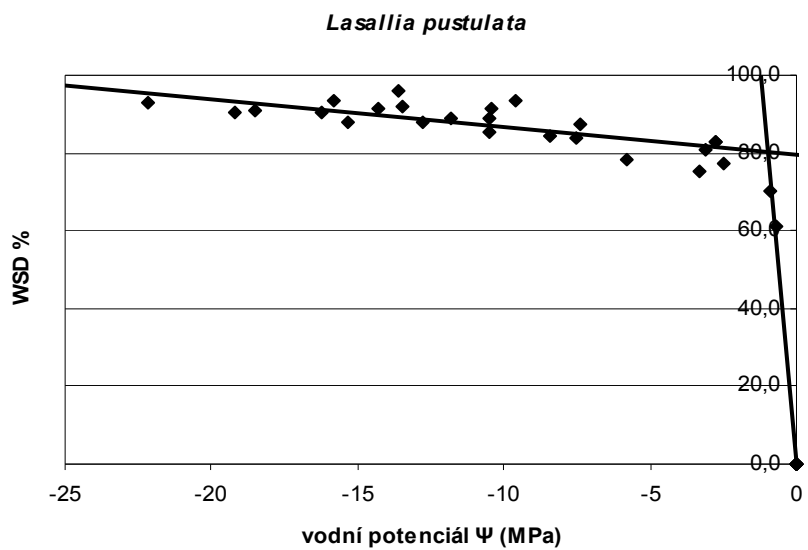




Obr. 34 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Cladonia rangiformis*, porovnání dolní a horní části stélky.



Obr. 35 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Umbilicaria antarctica*.



Obr. 36 : Závislost vodního sytostního deficitu WSD na vodním potenciálu  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek druhu *Lasallia pustulata*.

## 5. DISKUZE

### 5.1. Mezidruhové rozdíly sledované na základě rozdílů v maximální aktivitě fotochemických procesů v PS II ( $F_V/F_M$ )

Na základě měření parametru maximální kapacity fotochemických procesů v PS II ( $F_V/F_M$ ) byly zjištěny rozdíly mezi sledovanými druhy lišejníků (obr. 14). Vyšších hodnot  $F_V/F_M$  ( $>0,642$ ) dosahovaly stélky druhů : *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Xanthoria parietina* a *Lasallia pustulata*. Nejvyšší hodnoty  $F_V/F_M$  (0,737) byly zaznamenány u druhu *Hypogymnia physodes* (obr. 14). Tato hodnota odpovídá  $F_V/F_M$  (0,7), zjištěné za stavu plného nasycení vodou, kterou uvádí u *H. physodes* Jensen *et al.* (1999). Vysoké hodnoty  $F_V/F_M$  zjištěné pro druh *Lasallia pustulata* lze vysvětlit typickou anatomickou stavbou stélky a uspořádáním buněk fotobionta uvnitř stélky. *Lasallia pustulata* má kompaktní vrstvu buněk fotobionta v konidiové vrstvě, což může být vysvětleno tendencí fotobionta zaujmout v rámci stélky optimální pozici z hlediska zisku zářivé energie. Valladares *et al.* (1996) došli k závěru, že řasová vrstva uvnitř lišejníkové stélky funguje jako optická jednotka a uspořádání buněk fotobionta ve stélce má zřejmě větší vliv na rychlost čisté fotosyntézy než množství buněk fotobionta v řasové vrstvě.

Nejnižší hodnoty  $F_V/F_M$  (0,290) byly naměřeny u druhu *Peltigera canina* (lokalita A–Křtiny; obr. 14) a u antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* (0,344; obr. 14). Druh *P. canina* má jako fotobionta sinici rodu *Nostoc* narozdíl od ostatních studovaných druhů, jejichž fotobiontem je zelená řasa rodu *Trebouxia*, tato odlišnost je jedním z faktorů, které mají vliv na nízkou hodnotu  $F_V/F_M$  u studovaných druhů. Měření, která provedli Sundberg *et al.* (1997) na pěti druzích lišejníků s fotobiontem rodu *Nostoc* dosahovala hodnot  $F_V/F_M$  v rozmezí 0,43 - 0,61. Při měření  $F_V/F_M$  u stélek *P. canina* byl zjištěn významný rozdíl v tomto parametru indukované fluorescence chlorofylu mezi stélkami pocházejícími z různých lokalit sběru. Vyšších hodnot dosahovaly stélky z lokality B – Brněnská přehrada (0,51; obr. 14). Stélky lišejníků z této lokality měly větší tloušťku než z lokality A–Křtiny. Stélky lišejníků se také mohou lišit stářím, které může mít tak vliv na hodnotu  $F_V/F_M$ . Dalším faktorem, který mohl ovlivnit nízké hodnoty  $F_V/F_M$  je čas sběru stélek v terénu, neboť tento parametr vykazuje u lišejníků sezónní dynamiku (MacKenzie *et al.* 2001, Vráblíková *et al.* 2006) v závislosti na aktuálních teplotních, vlhkostních a světelných podmínkách.

U antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* (0,344; obr. 14) nižší hodnoty  $F_v/F_M$  mohou ukazovat na nižší kapacitu fotochemických procesů v PSII. Snížení kapacity může být také projevem trvalého přizpůsobení ke světelnému stresu *in situ*. U lišejníků vystavených vysoké ozáření bylo popsáno zvětšení zásobníku pigmentů xantofylového cyklu, díky němuž se sníží maximální fluorescence -  $F_M$  (Jensen *et al.* 1999), a tím i numerická hodnota  $F_v/F_M$ . Tento mechanismus by mohl vysvětlit nižší fotochemický výtěžek *Umbilicaria antarctica*. Rovněž fakt, že *Umbilicaria antarctica* se přirozeně vyskytuje zpravidla v trvale nezastíněném prostředí, může mít vliv na nízké hodnoty  $F_v/F_M$ . Ve studiích, které se věnovaly tomuto problému (např. Kappen *et al.* 1998) bylo zjištěno, že druhy s vysokými hodnotami  $F_v/F_M$  se nacházely převážně v zastíněných, před přímým světlem chráněných místech. Nízké hodnoty  $F_v/F_M$  mohly být rovněž částečně způsobeny dlouhodobým uskladněním vysušených stélek v mrazničce před začátkem vlastních měření.

Aklimatizací antarktických lišejníků k vysoké ozáření za nízkých teplot se zabývali Kappen *et al.* (1998). Předpokládali, že nízké teploty výrazně omezují biochemické procesy fotosyntézy, a proto dojde k fotoinhibici. Výsledky však ukázaly, že zkoumaný antarktický druh nevykazuje žádnou známku fotoinhibice i za velmi vysoké ozáření při teplotách kolem 0 °C. Parametr  $F_v/F_M$  během světelné periody (11h) dokonce spíše rostl než klesal. Současná laboratorní měření výměny CO<sub>2</sub> potvrdila adaptaci lišejníků na silné ozáření a nízkou teplotu. Kappen *et al.* (1998) konstatovali, že většina antarktických lišejníků a zvláště ty, které rostou na otevřených místech, jsou dobře adaptované na místní podmínky a mohou být fotosynteticky aktivní za nízkých teplot i za silné ozáření (Kocmanová 2002).

## **5.2. Změny aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy v průběhu**

### **vysychání lišejníkových stélek**

#### **5.2.1. Závislost kvantového výtěžku fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) na vodním potenciálu ( $\Psi$ )**

Nejvyšší hodnoty  $\Phi_{II}$  byly u všech sledovaných druhů lišejníků naměřeny za plné hydratace ( $\Psi=0$  MPa). Nejvyšší hodnoty kvantového výtěžku (0,707; obr. 22) byly naměřeny u druhu *Lasallia pustulata* a u druhu *Peltigera canina* (lokalita B–Brněnská přehrada; 0,701; obr. 18).

Po mírném vyschnutí ( $\Psi$  v intervalu 0 až -10 MPa) došlo u druhů *H. physodes* (obr. 15), *X. parietina* (obr. 16), *E. prunastri* (obr. 19), a *L. pustulata* (obr. 22) jen k mírnému poklesu  $\Phi_{II}$  (o méně než 10% z maxima), zatímco u druhů *P. canina* (A, B; obr. 17, 18), *C. rangiformis* (obr. 20) a *U. antarctica* (obr. 21) byl zaznamenán výraznější pokles hodnot  $\Phi_{II}$  (o 15% - *P. canina*, 25% - *C. rangiformis* a 30% - *U. antarctica*).

Dalším postupným vysycháním docházelo k poklesu hodnot  $\Psi$  a  $\Phi_{II}$  až ke kritickým hodnotám  $\Psi$  (při  $\Phi_{II} < 0,1$ ). Nejnižší hodnota kvantového výtěžku, kdy ještě probíhají primární fotochemické procesy fotosyntézy, byla naměřena u druhu *Evernia prunastri* (obr. 19)  $\Phi_{II} = 0,083$  při  $\Psi = -34,6$  MPa. Nejnižší hodnota  $\Psi = -38,1$  MPa byla naměřena u druhu *Peltigera canina* (A; obr. 17) a při této hodnotě vodního potenciálu byl kvantový výtěžek = 0,131.

Závislost  $\Phi_{II}$  na  $\Psi$  za postupného vysychání stélek lišejníků měla u druhů *H. physodes* (obr. 15), *E. prunastri* (obr. 19), *X. parietina* (obr. 16) logaritmicky klesající průběh. U druhů *P. canina* (obr. 17, 18), *C. rangiformis* (obr. 20), *U. antarctica* (obr. 21) a *L. pustulata* (obr. 22) byl zaznamenán lineární průběh závislosti  $\Phi_{II}$  na  $\Psi$ . U druhu *Cladonia rangiformis* (obr. 20), kde byla odděleně měřena horní více větvená a dolní téměř nevětvená část stélky, byl pokles aktivity fotosyntézy strmější u horní části stélky. Výše uvedené mezidruhové rozdíly v poklesu  $\Phi_{II}$  v závislosti na  $\Psi$  lze přisoudit rozdílné anatomické stavbě stélky sledovaných druhů lišejníků. Jako příčinu nelze ani vyloučit druhové rozdíly na úrovni fotosyntetických procesů jednotlivých fotobiontů za srovnatelných fyzikálních podmínek měření.

Barták *et al.* (2005) při měření *X. elegans* zjistili, že se hodnota  $\Phi_{II}$  postupně exponenciálně snižovala od nasycení vodou až po extrémní dehydrataci. Tyto data naznačují, že první značná inhibice fotochemických procesů započala při hodnotě vodního potenciálu -8 MPa. Při hodnotách ještě nižších ( $\Psi$  -25 MPa) byly fotochemické procesy silně inhibovány, což se projevilo téměř nulovou hodnotou  $\Phi_{II}$  při (Barták *et al.* 2005). Tato hodnota  $\Psi$  je velmi blízko kritické hodnotě udávané pro lišejníky (Nash *et al.* 1990). I z dalších dostupných literárních zdrojů (např. Chakir *et Jensen* (1999) je zřejmé, že hodnota kritického vodního potenciálu se pro většinu lišejníků nachází v intervalu -20 až -25 MPa. Tito autoři uvádějí kritickou hodnotu  $\Psi$  -20 MPa pro tři druhy osmoticky ovlivněných foliálních lišejníků. V dřívější studii (Hájek *et al.* 2005) při použití přibližně stejné úrovně dehydratace navozené osmoticky byla zjištěna kritická

hodnota  $\Psi$  u dvou druhů *Lasallia pustulata* a *Umbilicaria hirsuta* -18,8 MPa (Barták *et al.* 2005).

### 5.2.2. Závislost koeficientu nefotochemického zhášení NPQ na vodním potenciálu $\Psi$

Za postupného snižování hodnot  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek byl u všech sledovaných druhů zaznamenán vzestup koeficientu NPQ z nulových hodnot naměřených za stavu plné hydrace stélek ( $\Psi=0$  MPa) až po nejvyšší zjištěné hodnoty 3,1 (*H. physodes*; obr. 23) a 3,47 (*X. parietina*; obr. 24).

U sledovaných druhů byl zaznamenán lineární průběh závislosti NPQ na  $\Psi$  za postupného vysychání stélek (obr. 24 - 28), s výjimkou druhu *H. physodes* (obr. 23), který vykazoval exponenciální nárůst parametru NPQ za poklesu  $\Psi$ .

Pozorované zvýšení NPQ v průběhu dehydratace svědčí o zapojení mechanismů nezářivé disipace absorbované světelné energie. Zvýšená nezářivá disipace energie v průběhu silné dehydratace lišejníkových stélek chrání reakční centra PSII řasových fotobiontů před negativními účinky dehydratace. Při částečné dehydraci dochází ve fotosyntetickém aparátu, zejména v reakčním centru PS II, k tvorbě reaktivních forem kyslíku a následně k poškození struktury proteinových složek PSII (Hájek 2002). Tyto změny snižují efektivitu přenosu absorbované radiační energie v PS II. Aby tyto negativní účinky byly minimalizovány, zapojují se u dehydratovaných lišejníkových stélek další dva ochranné mechanismy: odpojení LHC II od RC PS II (Bilger *et al.* 1989) a konverze violaxantinu na zeaxantin, tj. xantofylový cyklus (Calatayud *et al.* 1997).

Skutečnost, že u lišejníků není funkčnost PS II s pokračující dehydratací výrazně omezena, se zpravidla přisuzuje odpojení LHC II od RC PS II nebo redistribucí excitační energie z PS II na PS I (přehledně např. Palmqvist 2000). Nicméně u lišejníků, které mají jako fotobionta zelenou řasu *Trebouxia* sp., pravděpodobně existuje ještě další mechanismus, který chrání jejich fotosyntetický aparát před dehydratací vyvolaným poškozením PS II. Tímto mechanismem je přítomnost látek, které mohou být náhradou za vodu a stabilizovat proteiny a membrány (Farrar 1988). Jde o cukernaté alkoholy (lišejníkové polyoly): ribitol, arabitol a manitol. Další skupinou látek, které

mohou hrát roli v toleranci lišejníků vůči dehydrataci jsou antioxidanty, například glutathion (Kranner *et* Grill 1995; Hájek 2002).

Příjem i ztráta vody jsou fyzikální procesy, které nejsou u lišejníků metabolicky řízeny (nemohou si tedy sami regulovat obsah vody ve stélce). Dehydratace stélky lišejníku je doprovázena některými strukturními a funkčními změnami ve fotosyntetickém aparátu, které se projevují nárůstem NPQ a zároveň aktivací ochranných mechanismů. Velmi důležitá je například aktivace tvorby zeaxantinu z violaxantinu, protože nově vytvořený zeaxantin slouží jako disipativní cesta pro excitační energii v PS II (Calatayud *et al.* 1997). Další odezvou lišejníkové stélky k dehydrataci je zvýšení syntézy antioxidantních enzymů a substrátů (například superoxidismutáza, askorbát, a redukovaný glutathion). Hrají významnou roli v rezistenci k dehydrataci vyvolanému oxidačnímu stresu. Rovněž strukturální přeskupování chloroplastů v buňkách fotobionta může být považováno za důsledek dehydratace stélky, protože bylo nalezeno při dehydrataci mechorestů (Bartošková *et al.* 1999a,b; Matoušková *et al.* 1999; Hájek 2002).

### 5.3. Vzájemný vztah $\Psi$ a WSD v průběhu vysychání lišejníkových stélek

Při měření vodního potenciálu byly nejnižší zjištěné hodnoty  $\Psi$  (-38,1 MPa) u druhu *Peltigera canina* (A; obr. 17) a (-34,6 MPa) u druhu *Evernia prunastri* (obr. 19). Při WSD 90% jsou srovnatelné hodnoty  $\Psi$  u druhů *Cladonia rangiformis* (-16,4 MPa; obr. 34) a *Lasallia pustulata* (-16,2 MPa; obr. 36). Také u druhů *Peltigera canina* (A; -13,4 MPa; obr. 31) a *Xanthoria parietina* (-13,4 MPa; obr. 30) jsou srovnatelné hodnoty  $\Psi$ . U ostatních druhů *Hypogymnia physodes* (-10 MPa; obr. 29), *Peltigera canina* (B; -7,5 MPa; obr. 32) a *Evernia prunastri* (-7,37 MPa; obr. 33) jsou tyto hodnoty  $\Psi$  vyšší.

Kritické hodnoty vodního potenciálu ( $\Psi \leq -22$  MPa) byly naměřeny u všech vybraných druhů lišejníků při WSD  $\geq 95\%$ . U antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* (obr. 35) byla nejnižší naměřená hodnota  $\Psi$  pouze -12,5 MPa při hodnotě WSD 80%.

Za stavu plné hydratace  $\Psi = 0$  MPa je WSD = 0%. S postupným snižováním vodního potenciálu se WSD zvyšuje až na 100%, což je stav úplného vyschnutí stélky.

Vzájemný vztah  $\Psi$  a WSD vyjadřuje lineární průběh závislosti, která je rozdělena na dvě části :

1) pomalý pokles vodního potenciálu za poměrně rychlé ztráty vody - nárůstu WSD od 0% až do zlomového bodu, který u druhu *Umbilicaria antarctica* (obr. 35) dosahuje 62,1% při  $\Psi = -1,86$  MPa, u druhu *Xanthoria parietina* (obr. 30) 75,6% při  $\Psi = -1,63$  MPa, u ostatních studovaných druhů *Cladonia rangiformis* (obr. 34), *Evernia prunastri* (obr. 33), *Hypogymnia physodes* (obr. 29), *Lasallia pustulata* (obr. 36), *Peltigera canina* (A-obr.31,B-obr. 32) tento zlomový bod dosahuje hodnot WSD 80-84% při  $\Psi$  v rozmezí hodnot -1,29 až -3,4 MPa;

2) rychlý pokles  $\Psi$  za pozvolného poklesu WSD od již zmiňovaného zlomového bodu po úplnou ztrátu vody, kdy je WSD = 100%.  $\Psi$  se postupně snižuje v průměru od -2,3 MPa až ke kritickým hodnotám ( $\Psi \leq -20$  MPa).

Z uvedených výsledků je patrné, že částečné snížení obsahu vody neznamena u lišejníků zásadní omezení aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy. Je známo, že lišejníky, které mají jako symbionta zelenou řasu, jsou aktivovány dostatečným příjmem vodních par i za vodního potenciálu až -35 MPa (Schroeter *et* Scheidegger 1995).



## 6. ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na studium primárních fotosyntetických procesů různých druhů lišejníků (*Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina*, *Peltigera canina*, *Evernia prunastri*, *Cladonia rangiformis*, *Umbilicaria antarctica*, *Lasallia pustulata*) v závislosti na stupni nasycení stélky vodou. Byla hodnocena mezidruhová variabilita sledovaná na základě rozdílů zjištěných v maximální aktivitě fotochemických procesů v PSII ( $F_V/F_M$ ). Dalšími sledovanými parametry fluorescence chlorofylu měřenými v průběhu vysychání lišejníkových stélek byl kvantový výtěžek fotochemických procesů v PS II ( $\Phi_{II}$ ) a koeficient nefotochemického zhášení (NPQ). U těchto parametrů byla zjišťována závislost na vodním potenciálu ( $\Psi$ ). Dále byl hodnocen obsah vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání, který byl definován vzájemným vztahem vodního potenciálu ( $\Psi$ ) a vodního sytostního deficitu (WSD). V této práci byl poprvé stanoven vztah mezi  $\Psi$  a WSD na základě souběžného měření za standardizovaných podmínek u více druhů lišejníků s rozdílnou anatomickou stavbou stélky za současného měření aktivity fotochemických procesů fotosyntézy. Tyto informace jsou doposud v odborné literatuře jen velmi sporadicky a komparativní studie na více druzích nebyly dosud uskutečněny.

Na základě měření parametru maximální kapacity fotochemických procesů v PSII ( $F_V/F_M$ ) byly zjištěny rozdíly mezi sledovanými druhy lišejníků. Nejvyšší kapacita fotochemických procesů v PSII ( $F_V/F_M$ ) byla zjištěna u druhu *Hypogymnia physodes* (0,737) a naopak nejnižší (0,290) u druhu *Peltigera canina* (lokality A–Křtiny). U antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* byla naměřena hodnota 0,344.

Při hodnocení změny aktivity fotochemických reakcí fotosyntézy v průběhu vysychání lišejníkových stélek bylo zjištěno, že nejvyšší hodnoty kvantového výtěžku za stavu plné hydratace ( $\Psi=0$  MPa) byly naměřeny u druhu *Lasallia pustulata* (0,707) a (0,701) u druhu *Peltigera canina* (lokality B–Brněnská přehrada). Po mírném vyschnutí ( $\Psi$  v intervalu 0 až -10 MPa) došlo u druhů *H. physodes*, *X. parietina*, *E. prunastri*, a *L. pustulata* jen k mírnému poklesu  $\Phi_{II}$  (o méně než 10% z maxima), zatímco u druhů *P. canina* (A, B), *C. rangiformis* a *U. antarctica* byl zaznamenán výraznější pokles hodnot  $\Phi_{II}$  (o 15% - *P. canina*, 25% - *C. rangiformis* a 30% - *U. antarctica*). Dalším postupným vysycháním docházelo k poklesu hodnot  $\Psi$  a  $\Phi_{II}$  až ke kritickým hodnotám  $\Psi$  (při  $\Phi_{II}<0,1$ ). Nejnižší hodnota kvantového výtěžku, kdy ještě probíhají primární

fotchemické procesy fotosyntézy, byla naměřena u druhu *Evernia prunastri*  $\Phi_{II} = 0,083$  při  $\Psi = -34,6$  MPa. Nejnižší hodnota  $\Psi = -38,1$  MPa byla naměřena u druhu *Peltigera canina* (A) a při této hodnotě vodního potenciálu byl kvantový výtěžek = 0,131. U druhu *Cladonia rangiformis*, kde byla odděleně měřena horní více větvená a dolní téměř nevětvená část stélky, byl pokles aktivity fotosyntézy strmější u horní části stélky. Tato zjištění byla srovnána s dostupnými literárními údaji a diskutována v Diskuzi.

Za postupného snižování hodnot  $\Psi$  v průběhu vysychání lišejníkových stélek byl u všech sledovaných druhů zaznamenán vzestup koeficientu NPQ z nulových hodnot naměřených za stavu plné hydrace stélek ( $\Psi=0$  MPa) až po nejvyšší zjištěné hodnoty 3,1 (*H. physodes*) a 3,47 (*X. parietina*).

Obsah vody v lišejníkových stélkách za postupného vysychání byl přesně stanovován a spolu s přímými měřeními  $\Psi$  umožnil kvantifikovat vztah mezi  $\Psi$  a WSD. Tento vztah má dvě dobře rozlišitelné fáze, které mohou být proloženy lineární závislostí: 1) pomalý pokles vodního potenciálu za poměrně rychlé ztráty vody - nárůstu WSD od 0% až do zlomového bodu, který u druhu *Umbilicaria antarctica* dosahuje 62,1% při  $\Psi=-1,86$  MPa, u druhu *Xanthoria parietina* 75,6% při  $\Psi=-1,63$  MPa, u ostatních studovaných druhů *Cladonia rangiformis*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Lasallia pustulata*, *Peltigera canina* (A, B) tento zlomový bod dosahuje hodnot WSD 80-84% při  $\Psi$  v rozmezí hodnot -1,29 až -3,4 MPa; 2) rychlý pokles  $\Psi$  za pozvolného poklesu WSD od již zmiňovaného zlomového bodu po úplnou ztrátu vody, kdy je WSD = 100%.  $\Psi$  se postupně snižuje v průměru od -2,3 MPa až ke kritickým hodnotám ( $\Psi \leq -20$  MPa). Kritické hodnoty vodního potenciálu ( $\Psi \leq -22$  MPa) byly naměřeny u všech studovaných druhů lišejníků při WSD  $\geq 95\%$ . U antarktického druhu *Umbilicaria antarctica* byla nejnižší naměřená hodnota  $\Psi$  pouze -12,5 MPa při hodnotě WSD 80%.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že částečné snížení obsahu vody neznamena u lišejníků zásadní omezení aktivity fotchemických reakcí fotosyntézy a že mezi sledovanými druhy lišejníků existují mezidruhové rozdíly v odolnosti vůči vysychání.

## 7. PŘEHLED CITOVANÉ LITERATURY

- AHMADJAN V. 1995. Lichens are more important than you think. *BioScience* 45: 124.
- ARMSTRONG R.A. 1974. A comparison of the growth-curves of the foliose lichen *Parmelia conspersa* determined by a cross-sectional study and by direct measurement. *Environmental and Experimental Botany*. 32: 221-227.
- ARMSTRONG R.A. 1993. Factors determining lobe growth in foliose lichen thalli. *New Phytologist*. 124: 675-679.
- BADGER M.R. , PFANZ H. , BÜDEL B. , HEBER U. , and LANGE O.L. 1993. Evidence for the functioning of photosynthetic CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in lichens containing green algal and cyanobacterial photobionts. *Planta*. 191: 57-70.
- BARTOŠKOVÁ H. , KOMENDA J. , and NAUŠ J. 1999a. Functional changes of photosystem II in the moss *Rhizomnium punctatum* (Hedw.) induced by different rates of dark desiccation. *Journal of Plant Physiology*. 154: 597-604.
- BARTOŠKOVÁ, H., J. NAUŠ, and M. VÝKRUTA. 1999b. The arrangement of chloroplasts in cells influences the reabsorption of chlorophyll fluorescence emission. The effect of desiccation on the chlorophyll fluorescence spectra of *Rhizomnium punctatum* leaves. *Photosynthesis Research*. 62: 251-260.
- BARTÁK M. , GLOSER J. , and HÁJEK J. 2005. Visualized photosynthetic characteristics of the lichen *Xanthoria elegans* related to daily courses of light, temperature and hydration : a field study from Galindez Island, maritime Antarctica. *The Lichenologist*. 37(5): 433-443.
- BECKETT R.P. 1995. Some Aspects of the water relations of lichens from habitats of contrasting water Status studied using Thermocouple Psychrometry. *Annals of Botany*. 76: 211-217.
- BEWLEY J.D. 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annual Review of Plant Physiology*. 30: 195-238.
- BILGER W. , RIMKE S. , SCHREIBER U. , and LANGE O.L. 1989. Inhibition of energy transfer to photosystem II in lichens by dehydration : Different properties of reversibility with green and blue-green phycobionts. *Journal of Plant Physiology*. 134: 261-268.
- BLUM O.B. 1973. Water relations. *The lichens*. pp. 381-400.
- BRODO I.M. , SHARNOFF S.D. , and SHARNOFF S. 2001. *Lichens of North America*.
- BUKHOV N.G. , GOVINDACHARY S. , EGOROVA E.A. , and CARPENTIER R. 2004. Recovery of photosystem I and II activities during re-hydration of lichen *Hypogymnia physodes* thalli. *Planta*. 219: 110-120.
- BÜDEL B. and LANGE O.L. 1991. Water status of green and blue-green phycobionts in lichen thalli after hydration by water vapor uptake : do they become turgid? *Botanica Acta*. 104: 361-366.
- BÜDEL B. and LANGE O.L. 1999. The role of the cortical and epineural layers in the lichen genus *Peltula*. *Cryptogamic Botany*. 4: 262-269.
- CALATAYUD A. , DELTORO V.I. , BARRENO E. , and DEL VALLE-TASCON S. 1997. Changes in in vivo chlorophyll fluorescence quenching in lichen thalli as a function of water content and suggestion of zeaxanthin-associated photoprotection. *Physiologia Plantarum*. 101: 93-102.
- CHAKIR S. and JENSEN M. 1999. How does *Lobaria pulmonaria* regulate photosystem II during progressive desiccation and osmotic water stress? A chlorophyll fluorescence study at room temperature

and at 77K. *Physiologia Plantarum*. 105: 257-265.

CHMELÍK F. 2003. Studium závislosti fotosyntézy lišejníků pomocí fluorometrických a gazometrických metod. *Diplomová práce*.

COLLINS N.J. and CALLAGHAN T.V. 1980. Predicted patterns of photosynthetic production on maritime antarctic mosses. *Annals of Botany*. 45: 601-620.

COVAN D.A. , GREEN T.G.A. , and WILSON A.T. 1979. Lichen metabolism. 1. The use of tritium labelled water in studies of anhydrobiotic metabolism in *Ramalina celastri* and *Peltigera polydactyla*. *New Phytologist*. 82: 489-503.

COXSON D. 1991. Impedance measurement of thallus moisture content in lichens. *Lichenologist*. 23: 77-84.

ČERNOHORSKÝ Z. 2000. Lišejníky rostou všude - jejich odolnost vůči nečistotám v prostředí je značně rozmanitá. *Vesmír*. 79: 629.

FARRAR J.F. 1988. Physiological buffering. In: Galun M. (ed.). *CRC Handbook of lichenology*. pp. 101-105.

GARTY J. , TAMIR O. , HASSID I. , ESHEL A. , COHEN Y. , KARNIELI A. , and ORLOVSKY L. 2001. Photosynthesis, chlorophyll integrity, and spectral reflectance in lichens exposed to air pollution. *Journal of Environmental Quality*. 30: 884-893.

GAUSLAA Y. and SOLHAUG K.A. 1999. High-light damage in air-dry thalli of the old forest lichen *Lobaria pulmonaria* - interactions of irradiance, exposure duration and high temperature. *Journal of Experimental Botany*. 50: 697-705.

GAUSLAA Y. and SOLHAUG K.A. 2001. Fungal melanins as a sunscreen for symbiotic green algae in the lichen *Lobaria pulmonaria*. *Oecologia*. 126: 462-471.

GREEN T.G.A. , LANGE O.L., and COWAN I.R. 1994. Ecophysiology of lichen photosynthesis : the role of water status and thallus diffusion resistances. *Cryptogamic Botany*. 4: 166-178.

GREEN T.G.A., SCHROETER B., and SANCHO L.G. 1999. Plant life in Antarctica. *Handbook of functional plant ecology* 495-543.

GREEN T.G.A. and SNELGAR W.P. 1982. Carbon dioxide exchange in lichens : relationship between the diffusive resistance of carbon dioxide and water vapour. *Lichenologist*. 14: 255-260.

GRÜNERT, H. and R. GRÜNERTOVÁ. 1995. *Houby*.

HALE M.E. 1973. Growth. In *Ahmadjian V.; Hale M.E. (eds.) : The Lichens*. 473-492.

HARTUNG W. , SCHILLER P. , and DIETZ K.J. 1998. Physiology of poikilohydric plants. *Progress in Botany*. 59: 299-327.

HONEGGER R. 1991. Functional aspects of lichen symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 42: 553-578.

HOVENDEN M.J. , JACKSON A.E. , and SEPPELT R.D. 1994. Field photosynthetic activity of lichens in the Windmill Islands oasis, Wilkes Land, continental Antarctica. *Physiologia Plantarum*. 90: 567-576.

HYVÄRINEN M. and CRITTENDEN P.D. 1998. Growth of the cushion-forming lichen, *Cladonia portentosa*, at nitrogen-polluted and unpolluted heathland sites. *Environmental and Experimental Botany*. 40: 67-76.

HÁJEK J. 2002. Fotosyntetická odezva stélek lišejníků k dehydrataci a nízké teplotě detekovaná pomocí

fluorescence chlorofylu. *Disertační práce*.

HÁJEK J. , BARTÁK M. , and DUBOVÁ J. 2005. Inhibition of photosynthetic processes in foliose lichens induced by temperature and osmotic stress. *Biologia Plantarum*.

HÁJEK J. , BARTÁK M. , and GLOSER J. 2001. Effect of thallus temperature and hydration on photosynthetic parameters of *Cetraria islandica* from contrasting habitats. *Photosynthetica*. 39: 427-435.

JENSEN M., CHAKIR S., and FEIGE G.B. 1999. Osmotic and atmospheric dehydration effects in the lichen *H. physodes*, *L. pulmonaria* and *P. aphthosa*; an *in vivo* study of the chlorophyll fluorescence induction. *Photosynthetica* 37: 393-404.

KAPPEN L. 1988. Ecophysiological relationship in different climatic regions. *CRC Handbook of lichenology*. pp.37-100.

KAPPEN L. 1989. Field measurements of carbon dioxide exchange of the Antarctic lichen *Usnea sphacelata* in the frozen state. *Antarctic Science*. 1: 31-34.

KAPPEN L. 1993a. Lichens in the Antarctic region. *Antarctic Microbiology*. pp.433-490.

KAPPEN L. 1993b. Plant activity under snow and ice, with particular reference to lichens. *Arctic*. 46: 297-302.

KAPPEN L. and BREUER M. 1991. Ecological and physiological investigations in continental Antarctic cryptogams. II. Moisture relations and photosynthesis of lichens near Casey station, Wilkes Land. *Antarctic Science*. 3: 273-278.

KAPPEN L. and LANGE O.L. 1972. Die Kalteresistenz einiger Macrolichenen. *Flora*. 161: 1-29.

KAPPEN L., SCHROETER B. , GREEN T.G.A. , and SEPPELT R.D. 1998. Chlorophyll *a* fluorescence and CO<sub>2</sub> exchange of *Umbilicaria aprina* under extreme light stress in the cold. *Oecologia*. 113: 325-331.

KAPPEN L. , SCHROETER B. , HESTMARK G. , and WINKLER J.B. 1996a. Field measurements of photosynthesis of umbilicarius lichens in winter. *Botanica Acta*. 109: 292-298.

KAPPEN L. , SCHROETER B. , SCHEIDEGGER C, SOMMERKORN M. , and HESTMARK G. 1996b. Cold resistance and metabolic activity of lichens below 0 °C. *Adv. Space. Res.* 18: 119-128.

KAPPEN L. and VALLADARES F. 1999. Opportunistic growth and desiccation tolerance : the ecological success of poikilohydrous autotrophs. *Handbook of functional plant ecology*. 9-80.

KERSHAW K.A. 1985. Physiological Ecology of Lichens. *Cambridge University Press*.

KOCMANOVÁ A. 2002. Závislost primárních procesů fotosyntézy foliálních lišejníků na teplotě. *Diplomová práce*.

KRANNER I. and GRILL D. 1995. The role of glutathione and related enzymes in seed and poikilohydric plants during desiccation and rehydration. *Acta Pharmaceutica*. 2: 157-163.

KREMER B.P. and MUHLE H. 1997. *Lišejníky, mechorosty, kaprad'orosty*.

KUBÁTOVÁ D. 2006. Botanika-bezcévné rostliny. *Elektronický zdroj z Karlovy univerzity v Praze*.

LANGE O.L. and BERTSCH A. 1965. Photosynthese der Wüstenflechte *Ramalina maciformis* nach Wasserdampfaufnahme aus dem Luftraum. *Naturwissenschaften*. 52: 215-216.

LANGE O.L., BILGER W., RIMKE S., and SCHREIBER U. 1989. Chlorophyll fluorescence of lichens containing green and blue-green algae during hydration by water vapour uptake and by addition of liquid water. *Botanica acta* 102: 306-313.

- LANGE O.L. , BÜDEL B. , HEBER U. , MEYER A. , ZELLER H. , and GREEN T.G.A. 1993. Temperate rainforest lichens in New Zealand : high thallus water content can severely limit photosynthetic CO<sub>2</sub> exchange. *Oecologia*. 95: 303-313.
- LANGE O.L. , BÜDEL B. , ZELLNER H. , ZOTZ G. , and MEYER A. 1994. Field measurements of water relations and CO<sub>2</sub> exchange of tropical, cyanobacterial basidiolichen *Dictyonema glabratum* in a Panamanian Rainforest. *Botanica Acta*. 107 : 279-290.
- LANGE O.L., GREEN T.G.A., and HEBER U. 2001. Hydration-dependent photosynthetic production of lichens : what do laboratory studies tell us about field performance? *Journal of Experimental Botany* 52, No. 363: 2033-2042.
- LANGE O.L., GREEN T.G.A. , and ZIEGLER H. 1988. Water status related photosynthesis and carbon isotope discrimination in species of the lichen genus *Pseudocyphellaria* with green and blue-green photobionts and in photosymbiodemes. *Oecologia*. 75: 394-411.
- LANGE O.L. and KAPPEN L. 1972. Photosynthesis of lichens from Antarctica. *Antarctic Terrestrial Biology*. 20: 83-96.
- LANGE O.L. and KILIAN E. 1985. Reaktivierung der Photosynthese trockener Flechten durch Wasserdampfaufnahme aus dem Luftraum : Artspezifisch unterschiedliches Verhalten. *Flora*. 176: 7-23.
- LANGE O.L. , KILIAN E. , and ZIEGLER H. 1986. Water vapour uptake and photosynthesis of lichens : performance differences in species with green and blue-green algae as phycobionts. *Oecologia*. 71: 104-110.
- LANGE O.L. and MATTHES U. 1981. Moisture-dependent CO<sub>2</sub> exchange of lichens. *Photosynthetica*. 15: 555-574.
- LANGE O.L., MEYER A., and ULLMAN I. 1991. Mikroklima, Wassergehalt und Photosynthese von Flechten in der küsternen Nebelzone der Namib-Wüste. *Flora* 185: 233-266.
- LANGE O.L. , REICHENBERGER H. , and WALZ H. 1997b. Continuous monitoring of CO<sub>2</sub> exchange of lichens in the field : short-term enclosure with an automatically operating cuvette. *Lichenologist*. 29: 259-274.
- LANGE O.L. and TENHUNEN J.D. 1981. Moisture content and CO<sub>2</sub> exchange of lichens. II. Depression of net photosynthesis in *Ramalina maciformis* at high water content is caused by increased thallus carbon dioxide diffusion resistance. *Oecologia*. 51: 426-429.
- LECHOWITZ M.J. 1982. Ecological trends in lichen photosynthesis. *Oecologia*. 53: 330-336.
- LEISNER J.M.R., GREEN T.G.A. , and LANGE O.L. 1997. Photobiont activity of a temperate crustose lichen : long-term chlorophyll fluorescence and CO<sub>2</sub> exchange measurements in the field. *Symbiosis*. 23: 165-182.
- LIŠKA J. 2000. Vázaný a nevázaný život lišejníků. Lichenizace jako příklad úspěšné strategie. *Vesmír* 79: 623-629.
- MACKENZIE T.D.B. , MACDONALD T.M. , L. A. DUBOIS , and CAMPBELL D.A. 2001. Seasonal Changes in Temperature and Light Drive Acclimation of Photosynthetic Physiology and Macromolecular Content in *Lobaria Pulmonaria*. *Planta*. 214: 57-66.
- MATOUŠKOVÁ M. , BARTOŠKOVÁ H. , NAUŠ J. , and NOVOTNÝ R. 1999. Reaction of photosynthetic apparatus to dark desiccation sensitively detected by the induction of chlorophyll fluorescence quenching. *Journal of Plant Physiology*. 155: 399-406.
- MATSUDAT. 1968. Ecological study of the moss community and microorganisms in the vicinity of Syowa Station, Antarctica. *Japanese Antarctic Research Expedition Scientific Reports*. E29: 1-58.

- MUIR P.S. , SHIRAZI A.M. , and PATRIE J. 1997. Seasonal growth dynamics in the lichen *Lobaria pulmonaria* . *Bryologist*. 100: 458-464.
- NASH III. T.H. , REINER A. , DEMMING-ADAMS B. , KILIAN E. , KAISER W.M. , and LANGE O.L. 1990. The effect of atmospheric desiccation and osmotic water stress on photosynthesis and dark respiration in lichens. *New Phytologist*. 116: 269-276.
- NASH T.H. 1996. Photosynthesis, respiration, productivity and growth. *Lichen biology*. 88-120.
- PALMQVIST K. 2000. Carbon economy in lichens. *New Phytologist* 148: 11-36.
- PALMQVIST K. , SAMUELSSON G. , and BADGER M.R. 1994. Photobiont-related differences on carbon acquisition among green-algal lichens. *Planta*. 195: 70-79.
- PALMQVIST K. and SUNDBERG B. 2000. Light use efficiency of dry matter gain in five macro-lichens : relative impact of microclimate conditions and species-specific traits. *Plant, Cell and Environment*. 23: 1-14.
- PROCTOR M.C.F. 1982. Physiological ecology : water relations, light and temperature responses, carbon balance. *Bryophyte ecology*. 333-381.
- RADIN J.W. 1983. Physiological consequences of cellular water deficits : osmotic adjustment. *Limitations to efficient water use in crop production*. 267-276.
- RENHORN K.E. , ESSEN P.A. , and PALMQUIST K. SUNDBERG B. 1997. Growth and vitality of epiphytic lichens. *Oecologia*. 109: 1-9.
- RHOADES F.M. 1977. Growth rates of *Lobaria oregana* as determined from sequential photographs. *Canadian Journal of Botany*. 55 : 2226-2233.
- RUNDEL P.W. 1982. Water uptake by organs other than roots. Physiological Plant Ecology II. Water relations and carbon assimilation. *Encyclopedia of Plant Physiology 12B*. 111-134.
- RUNDEL P.W. 1988. Water relations. *CRC Handbook of lichenology*. pp. 17-36.
- SCHEIDEGGER C. , SCHROETER B. , and FREY B. 1995. Structural and functional processes during water vapour uptake and desiccation in selected lichens with green algal photobionts. *Planta*. 197: 399-409.
- SCHLENSOG M. , SCHROETER B. , and GREEN T.G.A. 2000. Water dependent photosynthetic activity of lichens from New Zealand : differences in the green algal and the cyanobacterial thallus parts of photosymbiodemes. *Bibliotheca Lichenologica*. 75: 149-160.
- SCHLENSOG M. and SCHROETER B. 2001. A new method for the accurate *in situ* monitoring of chlorophyll *a* fluorescence in lichens and bryophytes. *Lichenologist*. 33: 443-452.
- SCHREIBER U. , BILGER W. , and NEUBAUER C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. *Ecophysiology of photosynthesis*. 100: 49-70.
- SCHROETER B. , GREEN T.G.A. , KAPPEN L. , and SEPPELT R.D. 1994. Carbon dioxide exchange at subzero temperatures. Field measurements on *Umbilicaria aprina* in Antarctica. *Cryptogamic Botany*. 4: 233-241.
- SCHROETER B. , KAPPEN L. , GREEN T.G.A. , and SEPPELT R.D. 1997. Lichens and the Antarctic environment : Effects of temperature and water availability on photosynthesis. *Balcerna, Rotterdam*.
- SCHROETER B. and SCHEIDEGGER CH. 1995. Water relations in lichens at subzero temperatures : structural changes and carbon dioxide exchange in the lichen *Umbilicaria aprina* from continental Antarctica. *Phytol*. 131: 273-285.

- SCHULTE P.J. 1992. The units of currency for plant water status. *Plant, Cell and Environment*. 15: 7-10.
- SEDLÁŘOVÁ M. and VAŠUTOVÁ M. 2004. *Atlas houbových organismů*.
- SIGFRIDSSON B. 1980. Some effects of humidity on the light reaction of photosynthesis in the lichens *Cladonia impexa* and *Collema flaccidum*. *Physiologia Plantarum*. 49: 320-326.
- SUNDBERG B. , CAMPBELL D. , and PALMQVIST K. 1997. Predicting CO<sub>2</sub> gain and photosynthetic light acclimation from fluorescence yield and quenching in cyano-lichens. *Planta*. 201: 138-145.
- SUNDBERG B. , NÄSHOLM T. , and PALMQVIST K. 1999b. The effect of nitrogen on growth and co-ordinated development of lichen photo- and mycobionts. *Physiological ecology of lichen growth*.
- SUNDBERG B. , PALMQVIST K. , ESSEN P.A. , and RENHORN K.E. 1997b. Growth and vitality of epiphytic lichens. II. Modeling of carbon gain using field and laboratory data. *Oecologia*. 109: 10-18.
- VALLADARES F. 1994. Texture and hygroscopic features of the upper surface of the thallus in the lichen family Umbilicariaceae. *Annals of Botany*. 73: 493-500.
- VALLADARES F. , SANCHO L.G. , and ASCASO C. 1996. Functional Analysis of the Intrathalline and Intracellular Chlorophyll Concentrations in the Lichen Family *Umbilicariaceae*. *Annals of Botany*. 78: 471-477.
- VRÁBLÍKOVÁ H. , MCEVOY M. , SOLHAUG K.A. , BARTÁK M. , and GAUSLAA Y. 2006. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 83: 151-162.
- ZOTZ G. , LANGE O.L. , BÜDEL B. , ZELLNER H. , and MEYER A. 1998. *In situ* studies of water relations and CO<sub>2</sub> exchange of the tropical macrolichen, *Stricta tomentosa*. *New Phytologist*. 139: 525-535.