

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky

Studijní program: Biologie

Obor: Botanika



Diplomová práce

**Změny druhového složení půdních fototrofních mikroorganismů v
závislosti na nadmořské výšce ve východním Ladaku**

**Changes in diversity of microbial phototrophic organisms
depending on altitude in mountain ranges of Ladak**

Kateřina Janatková

Praha 2011

Školitel: RNDr. Yvonne Němcová, Ph.D.

Prohlášení:

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

V Praze, 5. 5. 2010

Podpis: Kateřina Janatková

Summary

Abundance and diversity of microbial phototrophic communities (cyanobacteria and eukaryotic microalgae) were investigated at two localities in main mountain ranges of Ladakh (Tibetan Plateau and Eastern Karakoram), India. Samples were collected along a two representative altitudinal gradients at each locality (E Karkoram 4620 – 5100 m asl., Tibetan Plateau 5346 – 5833 m asl.) in alpine and subnival zones in the vicinity of cushion plant *Thylacospermum caespitosum* (Caryophyllaceae). At each altitude 6 soil samples were taken from below cushion and 6 samples from outside the cushion. The epifluorescent microscopy and DGGE-method were used to determine diversity and biomass of phototrophs in the studied soils. Physico-chemical analyses (pH, texture, organic matter, nitrogen, ammonia and phosphorus content, concentration of chlorophylls and carotenoids) were also performed on the samples. The effect of altitude, mountain ranges and *T. caespitosum* on the composition and biomass of phototrophs and physico-chemical parameters of soil was tested by multivariate redundancy analysis and variance partitioning procedure. This study shows that the semiarid and arid soil of high elevation in Ladakh Mts. is suitable place for the development of microbial phototrophic communities and is important part of the ecosystem. The community composition is unique to the climate and vegetation cover that delineates each ecosystem.

Poděkování:

Ráda bych na tomto místě poděkovala všem, kteří mi pomohli s vytvářením mé práce a s jejím přenesením z náhorních plošin Ladaku, přes mnohá úskalí laboratoří, až na papír. Můj obrovský dík patří Kláře Řehákové za to, že mé obzory rozšířila o velké výšky Himaláje s jejich miniaturními zelenými obyvateli, a můj batoh o tolik potřebnou porci sušenek. Jí a Standovi Řehákovi děkuji za vytvoření takřka rodinných podmínek během mého pobytu u nich při práci v laboratořích na jihu Čech. Dále děkuji Dolymu za jeho statisticky prokazatelně významnou pomoc s analýzou dat, a za to, že mě u toho nezabil. Alici Chroňákové děkuji, že nevzdala náš dlouhý boj s profily DGGE proužků. Yvonne Němcové patří dík za usměrňování a cenné připomínky při psaní této práce a Jirkovi Neustupovi za jeho veskrze motivující posemináře. Dále děkuji všem kamarádům a kolegům z Ladaku, kteří ve svých batozích vláčeli po horách kilogramy hlíny i ve chvílích, kdy nebylo sil a kyslíku nazbyt. Také jim děkuji za uvedení do tajů botaniky cévnatých rostlin v Ladaku a Manali. Můj nemalý dík patří mým kamarádům v Mrtvé Rybě, u nichž nacházím oporu a odreagování, které bylo v mnoha chvílích nezbytné. Nakonec, ale ne v poslední řadě, děkuji svým rodičům za podporu, pomoc a péči, bez níž bych práci nikdy nedokončila.

Obsah

Summary	3
1 Cíle práce.....	8
2 Úvod.....	10
2.1 Mikrobiální půdní krusty.....	10
2.1.1 Co jsou mikrobiální půdní krusty?	10
2.1.2 Organismy půdních krust	11
2.1.3 Typ půdního substrátu a vznik půdních krust.....	14
2.2 Výskyt mikrobiálních krust	14
2.2.1 Klasifikace mikrobiálních krust	15
2.2.2 Biogeografie půdních mikrobiálních krust	18
2.3 Ekologická funkce mikrobiálních krust v ekosystému.....	19
2.3.1 2.3.1 Produkce živin.....	19
2.3.2 Stabilizace půdy a distribuce vody.....	19
2.3.3 2.3.3 Omezení šíření invazních druhů.....	20
2.4 Fyzikální krusty.....	20
2.5 Ameliorační efekt <i>Thylacospermum caespitosum</i> (Cambessèdes) Schischkin	22
3 Popis zkoumané oblasti	23
3.1 Celkové fyziogeografické a přírodní poměry	23
3.1.1 Tsomoriri.....	26
3.1.2 Nubra valley	27
4 Materiál a metody.....	28
4.1 Odběr vzorků.....	28
4.2 Uchovávání vzorků.....	29
4.3 Měření fyzikálně-chemických parametrů půdy.....	29
4.4 Kvantifikace půdních fototrofů a bakterií	29
4.5 Druhová determinace fototrofních mikroorganismů	30

4.6	Molekulární analýza fototrofních mikroorganismů.....	30
4.6.1	Extrakce DNA	30
4.6.2	PCR DNA amplifikace	30
4.6.3	Analýza cyanobakteriálních společenstev metodou DGGE	31
4.7	Statistické vyhodnocení dat.....	32
5	Výsledky.....	33
5.1	Vliv <i>Thylacospermum caespitosum</i> a nadmořské výšky na fyzikálně-chemické parametry půdy	33
5.2	Druhové složení sinicových společenstev	35
5.2.1	Molekulární analýza	35
5.2.2	Analýza za použití epifluorescenční mikroskopie	38
5.3	Biomasa mikrobiálních společenstev	40
5.3.1	Biomasa bakteriálních společenstev	40
5.3.2	Biomasa fototrofních společenstev.....	41
5.3.3	Vztah mezi <i>Thylacospermum caespitosum</i> , nadmořskou výškou a půdním chemismem na biomasu fototrofních společenstev	43
6	Diskuse	48
7	Závěr.....	55
8	Seznam použité literatury:.....	56
9	Přílohy	62

1 Cíle práce

Předkládaná práce se zabývá studiem půdních fototrofních společenstev na doposud mikrobiologicky neprozkoumaném území horských pásem indického Ladaku, která jsou součástí Tibetké náhorní plošiny a Východního Karákoramu. Výzkum byl proveden na půdních vzorcích odebraných v červenci a srpnu v roce 2009 na obou lokalitách.

Vysokohorské ekosystémy a zejména jejich subnivální zóny, patří mezi místa s nejextrémnějšími podmínkami prostředí na světě (Swan 1992). Celkem pokrývají přibližně 3% zemského povrchu a nejvýše položené subnivální oblasti se nacházejí v pohoří Himaláje (Chapin a Körner 1996). Životní podmínky jsou zde nehostinné nejen pro organismy, které zde trvale žijí, ale i pro případné badatele, kteří by chtěli tyto oblasti zkoumat (a kteří navíc nejsou na tyto podmínky adaptováni). O druhové diversitě a fungování ekosystému těchto odlehklých míst toho tedy víme velice málo a zejména Himaláje patří k těm nejméně prozkoumaným. Přitom tyto oblasti patří k těm, které budou nejcitelněji reagovat na změny způsobené stávajícím globálním oteplováním (Körner 2003, Pauli a spol. 2007).

Organismy žijící na „střeše světa“ se musí vypořádat zejména s nízkým přísunem živin, nízkou dostupností vody a extrémními výkyvy teplot (Schmidt a spol. 2009). Vegetace je zde velice řídká a v subnivální zóně, ve výškách nad 5000 m n. m., převažují půdní mikrobiální společenstva nad vyššími rostlinami. Často dochází k vytváření půdních společenstev, která jsou ve vysokých nadmořských výškách dominována sinicemi. Tato společenstva svou činností zpevňují půdní povrch a vytvářejí tak kompaktní půdní krusty, které jsou pro fungování zdejšího ekosystému klíčové – kromě toho, že zabraňují erozi půdy, zvyšují její vlhkost a dodávají do systému potřebné živiny (Belnap a Lange 2001, Johansen a Schubert 2001). Mikrobiální půdní krusty zároveň podporují klíčivost semen vyšších rostlin a přežívání jejich semenáčků v těchto jinak nepříznivých podmínkách.

Předkládaná práce je součástí projektu GA AV IAA600050802 „Migrace rostlin do subniválních poloh: úloha rostlinných vlastností a interakcí v oteplujícím se klimatu“ jehož řešitelem je Dr. J. Doležal. Mimo jiné se tento projekt věnuje vlivu polštářové rostliny *Thylacospermum caespitosum* na cévnaté rostliny, jejímu vlivu na chemismus půdy a také vlivu na mikrobiální společenstvo. Na *T. caespitosum* byla testována stresová- gradientová hypotéza, která říká, že se zhoršujícími se podmínkami prostředí přibývá pozitivních vztahů mezi organismy. Doposud byla studována stresová-gradientová hypotéza v rámci interakce mezi cévnatými rostlinami (Nuñez a spol. 1999, Cavieres a spol. 2002, Haussmann a spol. 2010), případně byl sledován vliv polštářových rostlin na složení okolní půdy (Cavieres a spol. 2006, Nuñez a spol. 1999). Velice málo se ale ví o tom, jaký vliv mají polštářové rostliny na složení půdních mikrobiálních společenstev, která jsou, jak již bylo řečeno, velice důležitou složkou vysokohorských ekosystémů (Arredondo-Núñez a spol. 2009). Součástí mikrobiálního společenstva půd jsou heterotrofní a fototrofní mikroorganismy, houby a lišejníky.

Ve své magisterské práci jsme studovala převážně fototrofní složku mikrobiálního společenstva vysokých nadmořských výšek indického Ladaku. Oblast se nachází na území tzv. Transhimaláje, který leží ve srážkovém stínu hlavního hřebene Himaláje (více viz

kap. 3 – Popis lokalit). Zdejší vysokohorské oblasti jsou extrémně suché a zdrojem vody jsou pouze ledovce a trvalá sněhová pokrývka – přičemž obojího dnes prokazatelně ubývá. Obecně platí, že ekosystémy a společenstva, která je utvářejí, na změny nereagují komplexně jako celky, ale prostřednictvím jednotlivých druhů, které je vytvářejí a vztahů mezi nimi (Foden a spol. 2008).

Práce si kladla za cíl přinést první poznatky o půdních mikrobiálních společenstvech z dosud neprozkoumaných oblastí vysokohorských pásem Ladaku s větším zaměřením na fototrofní mikroorganismy, které hrají ve zdejších půdních společenstvech alpínské a subnivální zóny důležitou roli.

Vzhledem k tomu, že ve zdejších strmých horských údolích se spolu se prudkým nárůstem nadmořské výšky rychle mění klimatické podmínky, lze na krátkých vzdálenostech sledovat případné změny půdních mikrobiálních společenstev spolu s měnícími se podmínkami okolního prostředí. Jednotlivé cíle práce byly:

1. Určit kvalitativní a kvantitativní složení půdních fototrofních mikroorganismů ve zdejších mikrobiálních společenstvech.
2. Zjistit vliv proměnných prostředí (fyzikálně-chemické parametry půdy, nadmořská výška, množství bakterií) na fototrofní společenstvo.
3. Srovnat tyto nově získané informace o fototrofních mikrobiálních společenstvech vysokohorských pouští Ladaku spolu s daty z dosud prozkoumaných podobných oblastí.

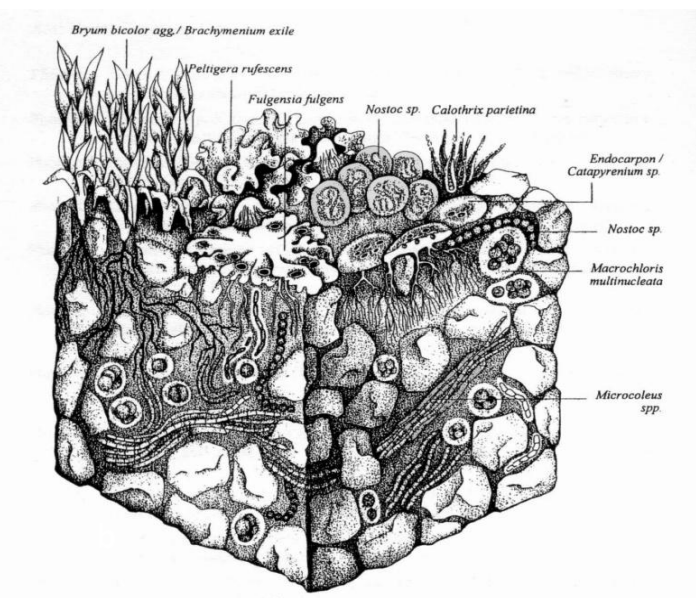
Předkládané výsledky jsou součástí komplexní studie subniválních a alpínských zón Transhimaláje a přináší nové poznatky o fototrofním mikrobiálním společenstvu půd doposud neprozkoumaných oblastí. Získaná data přispívají k objasnění vlivu některých podmínek prostředí na diversitu společenstva půdních sinic a řas. Zároveň tím otvírají prostor pro další podrobnější studie, které bude třeba v budoucnu provést, abychom pochopili vzájemné interakce i v takto relativně jednoduchém ekosystému subniválních půd. Pro zjištění druhové rozmanitosti celého mikrobiálního společenstva je nutno použít lepší molekulární metody např. pyrosekvenování a současně se zaměřit na kultivaci jednotlivých morfotypů nalezených sinic. Získané kmeny bude možno popsat jak morfologicky, tak fylogeneticky. Na základě získaných dat bude možné popsat nové druhy sinic. Jak je již patrné z předkládaných výsledků, půdy subniválních zón Ladaku jsou osidlovány doposud nepopsanými druhy. Druhové složení samotné nám však neříká nic o skutečné aktivitě společenstva mikrobiálních krust. Další doposud nezodpovězenou otázkou je, za jakých podmínek jsou fototrofové v krustách aktivní a jaká část společenstva je aktivní. Tato otázka se dá řešit na molekulární úrovni pomocí mRNA (cDNA po reverzní transkripci) nebo manipulativními pokusy v laboratorních podmínkách (fixace dusíku, respirace za různých podmínek např. teplota, vlhkost).

2 Úvod

2.1 Mikrobiální půdní krusty

2.1.1 Co jsou mikrobiální půdní krusty?

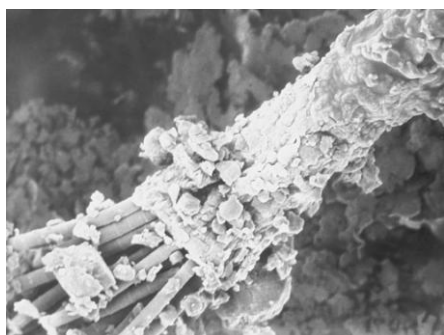
Biologické půdní krusty (BSC – biological soil crusts) představují společenstvo, které je tvořeno částicemi půdy, sinicemi, řasami, mikroskopickými houbami, lišejníky a mechy žijícími na povrchu a v několika svrchních centimetrech půdy (0-4cm); (Obr. 1.b; Belnap 2001). Toto společenstvo se od jiných, volně či samostatně žijících půdních společenstev liší tím, že svou aktivitou shlukuje částčky půdy a vytváří tak pevnou koherentní vrstvu zeminy (Obr. 1. a). BSC se nacházejí v aridních či semiaridních územích po celém světě, včetně polárních a napříč všemi vegetačními pásy. V oblastech, kde se vyskytují, mohou zabírat veškerý volný povrch půdy, který není pokryt stromy, keři či jinými cévnatými rostlinami a jejich pokryvnost může dosahovat až 70 % (Rosentreter a spol. 2007).



Obr. 1.: Biologická půdní krusta a) Biologická půdní krusta – částice půdy spojené dohromady činností mikroorganismů; černá barva indikuje dominantní zastoupení cyanobakterií b) Detail půdní krusty dle Belnap 2001.

2.1.2 Organismy půdních krust

Fotosyntetizující složka půdních mikrobiálních krust je tvořena sinicemi, lišejníky, mechy a zelnými řasami. Z nich jsou to právě vláknité druhy sinic, které svou činností jako první shromáždí a slepí volné půdní částice dohromady a umožní tak další sukcesi vznikající půdní krusty (Roger a Reynaud 1982, Ellis-Evans a Walton 1990). Nejčastějším zástupcem těchto cyanobakterií jsou druhy rodu *Microcoleus* (Obr. 4a) vytvářející bohaté snopce vláken



Obr. 2.: Snopce vláken rodu *Microcoleus* ve slizové pochvě; zdroj: www.soilcrust.org

produkující množství extracelulárních polysacharidů (Obr. 2.). Tyto polysacharidy vytvářejí pochvy okolo trichomů a poskytují sinicím rodu *Microcoleus* ochranu před vysycháním a UV zářením, a zároveň jim umožňují se v půdě vertikálně fototakticky pohybovat směrem k povrchu a posléze horizontálně po něm. Extracelulární polysacharidy pochev stmelují okolní půdní částice (Obr. 3). Při nepříznivých podmínkách se vlákna stáhnou pod povrch, kde si vytvoří nové pochvy. Staré pochvy, které zůstanou na povrchu, pevně drží půdní částičky pohromadě a tak ovlivňují pevnost

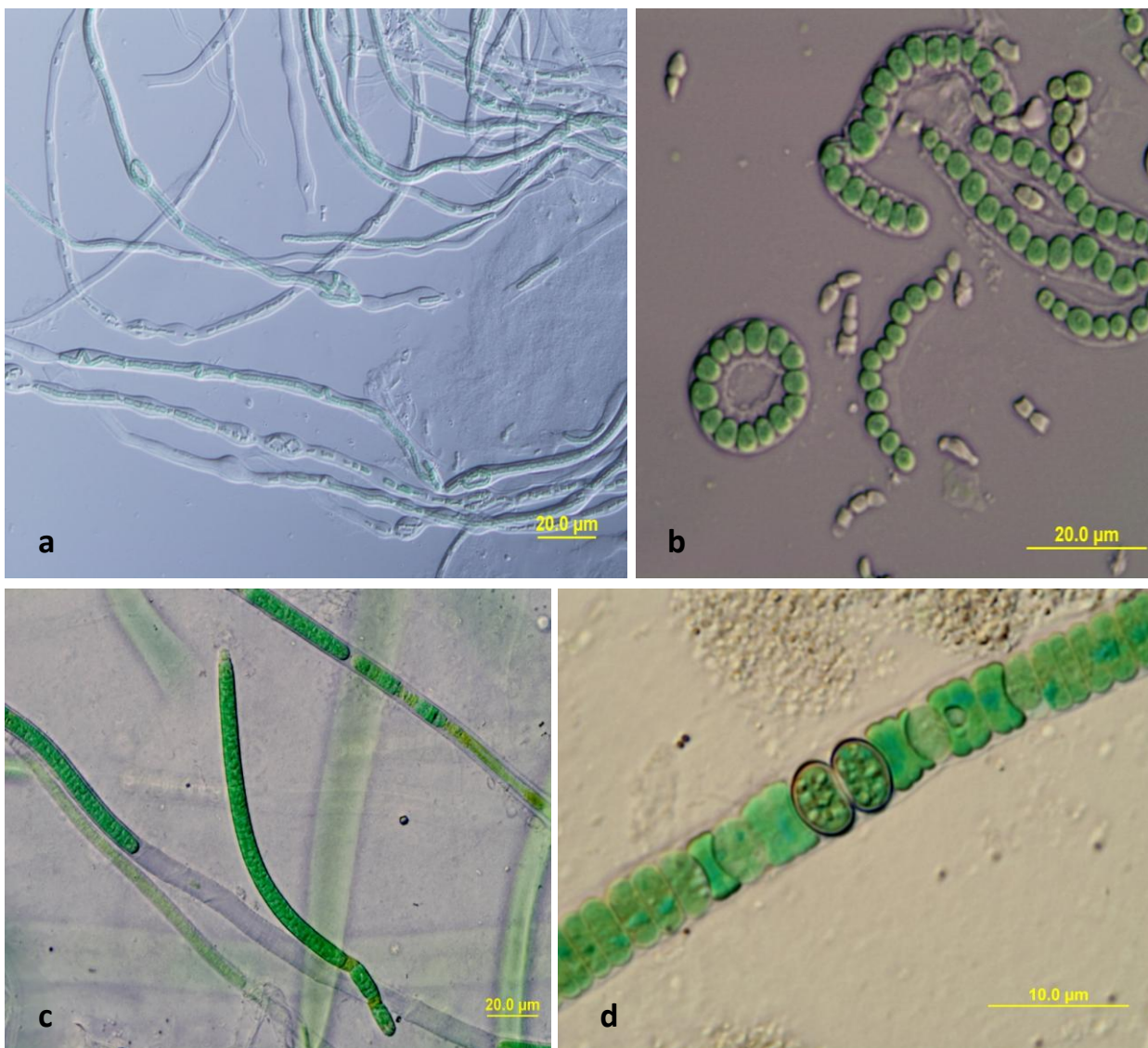
povrchu půdních krust. Nejčastějším zástupcem pouštních mikrobiálních krust je *Microcoleus vaginatus*, který mnohdy tvoří i největší podíl této biomasy (Belnap 2001, Johansen 1993). Podobným způsobem utvářejí krusty i ostatní zástupci cyanobakterií, kteří se zde vyskytují. Dalším běžným rodem je *Nostoc* (Obr. 4b), vytvářející na povrchu silné slizové povlaky a vyskytující se v krustách téměř ve všech typech habitatů od Arktidy, přes tropy a pouště (Johansen 1993, Kvíderová a spol. 2001). Dalšími běžnými vláknitými rody jsou *Phormidium*, *Nodularia* (Obr. 4c-d), *Scytonema*, či *Calothrix*.

V dalším sukcesním stadiu, kdy už je půda dostatečně zpevněna činností větších a pohyblivějších vláknitých sinic, se začnou vyskytovat kokální sinice například rodu *Gloeocapsa*, či další zástupci řádu Chroococcales. Práci zabývajících se přímo sinicemi v mikrobiálních krustách je poměrně málo, přesto se zdá, že konkrétních druhů, které se v nich vyskytují, není mnoho a jejich výskyt v krustách je kosmopolitní. Například studie využívající sekvenování genu pro 16S rRNA prokázaly, že hojný druh *Microcoleus*



Obr. 3.: Pochvy vláknitých sinic stmelující okolní částice; zdroj: www.soilcrust.org

vaginatus se vyskytuje v krustách po celém světě (USA, J Evropa, JZ Asie) (Garcia-Pichel 1996). Z eukaryotických řas byl zaznamenán výskyt zástupců linie Chlorophyta, Euglenophyta a některá Chromophyta jako jsou Bacillariophyceae. Nejčastější eukaryotní řasou bývají kokální rody *Chlorococcus*, *Macrochloris* a *Stichococcus* (Johansen 1993, Rosentreter 2007). Z dosud studovaných lokalit byly zaznamenány stovky druhů sinic a zelených řas, ale vzhledem k tomu, že jejich biomasa je malá, mají při formování a fungování krust druhořadou důležitost.



Obr. 4. Vybrané druhy sinic podílející se na tvorbě biologických mikrobiálních krust; a) *Microcoleus* sp.; b) *Nostoc* sp. ; c) *Phormidium* sp. ; d) *Nodularia* sp.

Po zpevnění půdy sinicemi kolonizují krusty lišejníky a mechy. Vyskytují se zde lišejníky se sinicovým symbiontem i se symbiotickou zelenou řasou. Většina lišejníků rostoucí v půdních krustách má stratifikovanou stélku, i když několik cyano-lišejníků má stélku gelatinózní (Rosentreter 2007). Obě formy stélek pak nacházíme v různých růstových formách. Pro tvorbu a soudržnost půdních krust jsou významní zástupci tvořící homogenní nebo gelatinózní stélku, kterou mají například rody *Collema* nebo *Peccanina*. Stélka je

uchycena k podkladu hustou sítí rhizinů a hyf, které pronikají do půdy do hloubky kolem 5mm a fixují tak půdní částice dohromady (Saers 1994). Není známo, že by lišejníky touto cestou získávaly vodu nebo živiny – rhiziny pouze upevňují stélku v půdě a zabraňují tak erozi. Nesouvisle dělenou krustózní stélku mají rody *Psora* či *Trapelia*. Dále se na krustách nacházejí rody s foliozní stélkou (rod *Peltigera*), keříčkovitá stélka je častá na krustách v chladnějších oblastech a je charakterizována rody *Cladonia* či *Aspicilia*. Zvláštní formu stélky mají lišejníky některých stepních a pouštních krust, která není nijak připevněna k podkladu (Rosentreter 1993) jako např. *Xanthoparmelia* spp. ze stepí Severní Ameriky a Asie nebo *Xanthomaculina* z pouští Namibie (Crum 1993).

Mechy a játrovky se ve společenstvu krust vyskytují převážně ve vlhčích habitatech, i když několik jich bylo nalezeno v aridních oblastech východní Austrálie (Eldridge at Tozer 1997). Běžnými druhy BSC jsou mechy *Syntrichia ruralis*, *Pterygoneurum datum*. Z játrovek se nejhojněji vyskytuje rod *Riccia*. Studie, které se zabývají mechy a játrovkami v suchých oblastech, je nezmiňují jako aktivní složku společenstva mikrobiálních krust (Belnap 2001).

Heterotrofní složkou BSC jsou mikroskopické houby, kvasinky, bakterie spolu s amébami, ciliáty, Nematoda a Arthropoda. Půda a stejně tak i půdní krusty slouží jako obrovské úložiště pro asimilační a reprodukční části půdních hub – endofytů, fakultativních parazitů vyšších rostlin, saprotrofů či symbiontů. Svými hyfami přispívají houby k tvorbě krust. Shluky bakterií a aktinomycet se v krustách často nacházejí ve slizovitém obalu sinic (Cameron 1971) a hojně také porůstají již opuštěné slizové pochvy. Pravděpodobně tedy slouží i jako reducenti řasové biomasy (Frankla 1971). Vzhledem k silné metabolické afinitě pro specifické sloučeniny uhlíku, přítomnost rozdílných druhů půdních hub je silně korelována s predominantním typem vegetace (Christensen 1981, States 1981). V pouštních krustách jsou početně nejhojnější bakterie (Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes), druhy odolné vůči vysychání (Kieft 1991). V krustách dominovaných sinicemi jsou hlavními dekompozitory. Houby se nevyskytují v takovém množství, jako bakterie ale mají srovnatelně velkou biomasu. Kvasinky a plísňe jsou pak hojnější v krustách chladnějších pouští, protože jsou schopné snášet mrazové procesy (Cameron a Blank 1967).

Pro vývoj krust jsou rovněž důležití dekompozitoři jako améby a ciliáti, kteří redukuje biomasu sinic, řas a bakterií. Stejně tak jako zástupci řádů Nematoda a Arthropoda – ti navíc konzumují mycélia hub a zároveň na sobě přinášejí nové spory hub, části lišejníků a cysty sinic (Steinberger 1991).

Lokální druhová bohatost mikrobiálních krust, jejich biomasa a výskyt konkrétních dominantních organismů jsou ovlivněny salinitou substrátu, obsahem uhlíku a strukturou půdy. V regionálním měřítku je distribuce krust, jejich biodiversita a biomasa určována interakcí geologických, geomorfologických a klimatických podmínek, z nichž nejvýznamnější jsou nadmořská výška, půdní materiál a s ním spojené pH, teplotní režim a srážky (mlha i rosa) (Johansen 1993, Lange a spol. 1994, Angel a spol. 2010).

V místech s častějšími srážkami a se spíše kyselou půdou se v krustách hojněji vyskytují zelené řasy (Lukešová 2001), naopak v alkalických půdách s větší mírou salinity budou nejčastěji sinice – a to zejména v půdách chudých na dusík a s minimem vláhy. Je tedy obvyklé, že čím více jsou podmínky extrémní, tím více budou v zastoupení společenstva převládat sinice. Lišejníky rostou hojněji na krustách tvořených z jemných půdních textur s vyšším podílem jílu a naopak řidčeji se vyskytují v půdě s hrubší, písčnou texturou, která

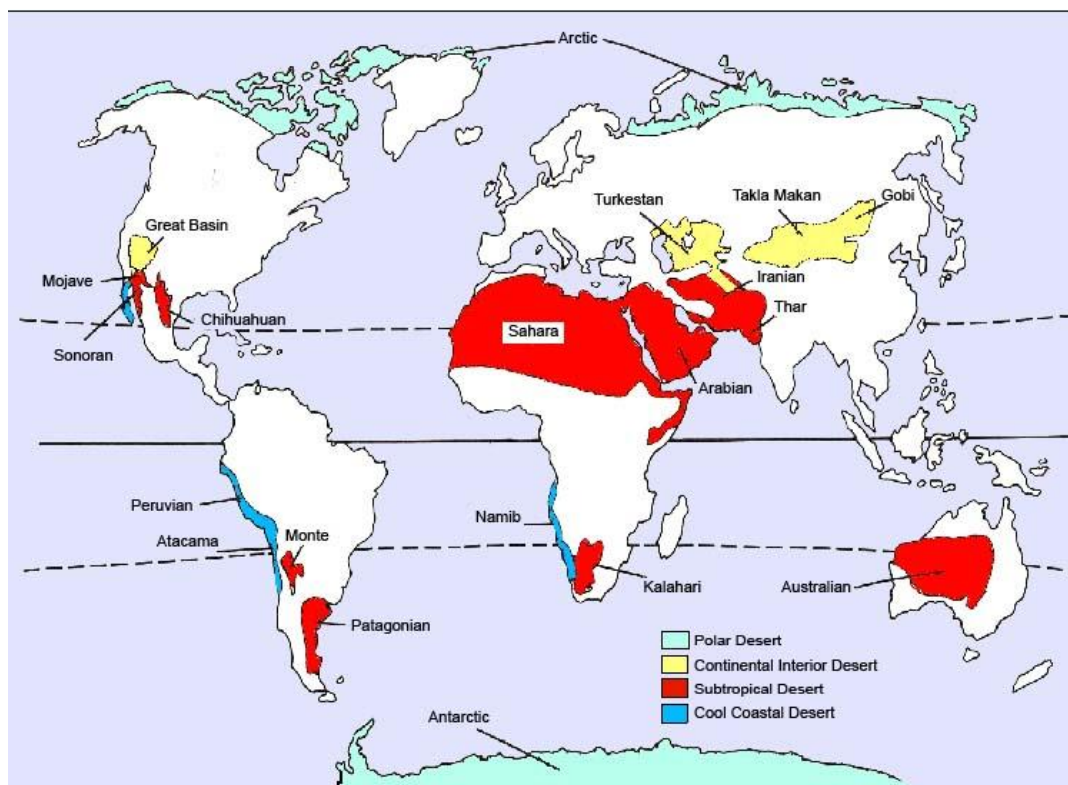
není tak stabilní a nemá tak velkou kapacitu pro zadržování vody. Výskyt lišejníků není nijak omezen hodnotami pH, liší se pouze jejich druhové složení. Mechy vyžadují stabilní, již vyvinuté půdní krusty, požadují dostatečnou vlhkost, více fosforu a síry (Star a spol. 1981).

2.1.3 Typ půdního substrátu a vznik půdních krust

Vznik krust není nijak omezen typem půdy (Rosentreter 2007). Nacházíme je v půdách s dostatkem i nedostatkem živin, různou mírou salinity či rozdílnou texturou půdy. Jediné, co jejich vznik limituje, jsou půdy s vyšším obsahem jílu – ty mají tendenci se podle různé intenzity vlhkosti smršťovat a opět zvětšovat, což znesnadňuje, až znemožňuje mikrobiálnímu společenstvu udržet půdní povrch kompaktní, zároveň na jílovité půdy často tvoří hladký kompaktní povrch, který znemožňuje kolonizaci mikroorganismy (Belnap a spol. 2001).

2.2 Výskyt mikrobiálních krust

Půdní mikrobiální krusty se nacházejí v mnoha regionech po celém světě (Belnap 2001). Vyskytují se v arktických i temperátních oblastech. Vzhledem k tomu, že mikrobiální krusty nejsou schopny kompetice s cévnatými rostlinami o zdroje světla, je jejich výskyt odkázan na místa s nízkou pokryvností, kde klimatické podmínky umožní růst pouze rostlinám v trsech, řídce nebo v nízkých vrstvách. Naopak BCS potřebují k svému vzniku jen málo vlhkosti – stačí jim občasné srážky, tání sněhu, nebo vláha z mlhy či rosy. Mohou se tedy vyskytovat tam, kde je výskyt cévnatých rostlin již dostupností vody limitován. Nacházíme je v mnoha rozdílných vegetačních zónách po celém světě – mezi stepní vegetací, v alpínských trávnicích, mezi stále zelenými keři mediteránu, ale nejhojněji se vyskytují v horkých i studených pouštích a polopouštích (Obr. 5.).



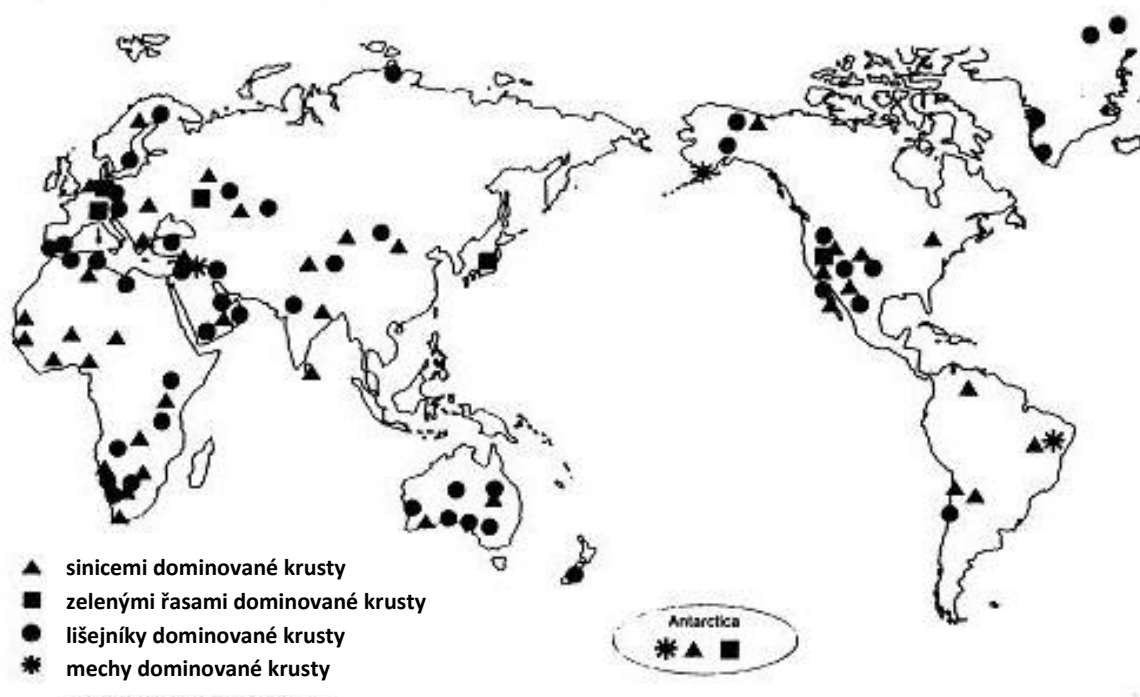
Obr.5.: Mapa pouští a polopouští; Tyrkysově – chladné pouště. Žlutá – kontinentální pouště, červená – subtropické pouště a modrá – chladné, pobřežní pouště (Kubečková 2002)

Metabolická aktivita mikrobiálního společenstva probíhá jen při alespoň minimální vlhkosti, proto v místě svého výskytu preferují spíše vlhčí mikrohabitaty, jako jsou chráněná refugia za kameny, okolí trsů rostlin a podobně.

2.2.1 Klasifikace mikrobiálních krust

Vzhledem k tomu, že v současné době se intenzita studia krust a tím i míra poznání mezi jednotlivými oblastmi světa dost liší, máme například spoustu informací o krustách Severní Ameriky (Johansen 1993, Kleiner a Harper 1977, MacMahon 1987, Rosentreter 1994), Austrálie (Rogers 1982, Eldridge a Tozer 1997) a Izraele (Danin a Barbour 1982, Danin a spol. 1989, Lange a spol. 1992), ale nevíme téměř nic o krustách Jižní Ameriky či Asie. Jedním důvodem jsou prioritní zájmy badatelů o některé regiony, druhým pak fakt, že řada publikací vychází lokálně a v jazycích jako je čínština či ruština. Zároveň se jednotlivé studie vždy detailně zabíraly spíše vždy jen jednou složkou tvořící celkové společenstvo krust (Evans a Johansen 1999) a míra informací o charakteru krust a o jejich druhovém složení se mezi studovanými geografickými oblastmi dost liší.

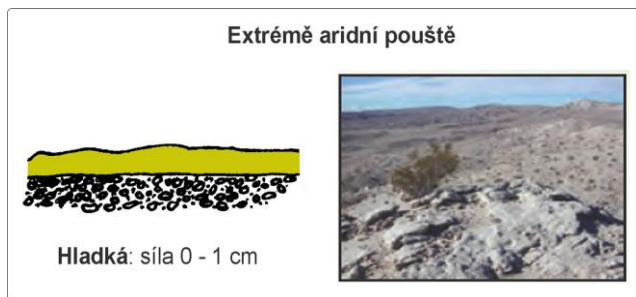
Přestože hledisko, podle kterého se mikrobiální krusty v jednotlivých studiích posuzují, není jednotné, nejčastěji jsou klasifikovány dvěma způsoby. Zaprvé jsou BSC charakterizovány podle typu dominantních společenstev, které je tvoří – sinice, zelené řasy, lišejníky, mechy (např. Galun a Garty 2001, Büdel a Eldridge 2001). Na Obr.6. je na základě současného stavu poznání znázorněno rozložení takto klasifikovaných typů krust (Büdel 2001).



Obr. 6.: Rozšíření mikrobiálních krust klasifikované podle typu dominantního společenstva. Jednotlivé symboly označují oblasti, ze kterých byly krusty popsány (Büdel 2001)

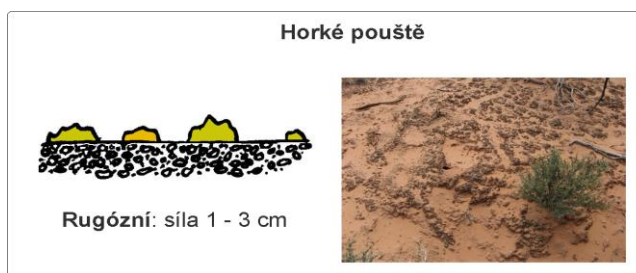
Druhý způsob klasifikace půdních mikrobiálních krust navrhli Belnap a Lange (Belnap 2001) podle jejich vnější morfologie. Ta do značné míry odráží jak druhové složení společenstev, tak rozdílné ekosystémové funkce těchto typů krust. Podle tohoto dělení rozeznáváme 4 typy půdních mikrobiálních krust: hladké (smooth), vrásčité (rugose), podhrnuté (rolling) a věžičkovité (pinnacled).

Hladké (Obr. 7.) se sestávají zejména ze sinic, zelených řas a hub. Povrch je hladký právě díky působení velkého množství sinic a hub – u krust s menším zastoupením sinic není povrch tak hladký. Vyskytují se v suchých i extrémě suchých regionech, kde jsou teploty dost vysoké a půda nikdy nezamrzá (například krusty centrální Sahary, Atacamy v Chile či duny v Izraeli) (např. Kidron a spol. 2010). Dost často je pak lze dočasně najít v jakémkoli regionu, na recentně disturbovaných místech. Jejich tloušťka dosahuje maximálně 1 cm



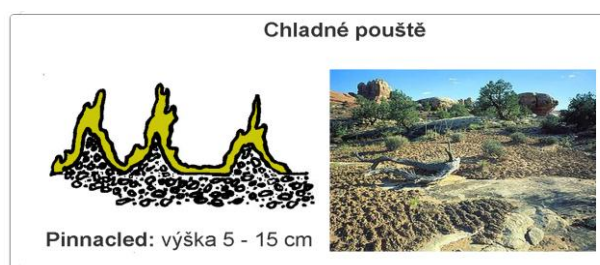
Obr. 7.: Hladká biologická půdní krusta – schematické znázornění a fotografie z terénu (foto převzato z www.soilcrust.org)

Vrásčité (rugose) krusty (Obr. 8.) se nachází v aridních a semiaridních oblastech s nižším celkovým výparem, než jaký je u míst s výskytem hladkých krust, ale podobně vyžadují oblasti, kde půda nezamrzá (např. Mohavská poušť (Rosentreter a Belnap 2001), poušť Negev v Izraeli). Jsou dominované sinicemi, řasami a houbami, ale vedle nich jsou zde přítomné i lišejníky a mechy. Vyskytují se i jako sukcesní stadia v temperátním klimatu, kde pak bývají pokryty vrstvou vláknitých zelených řas a mechů – takové se vyskytují v mediteránním typu vegetace, v křovinových porostech v Africe a ve stepích Evropy. Tvoří nepravidelné struktury vysoké 1-3 cm.



Obr. 8.: Vrásčité (rugose) biologická půdní krusta – schematické znázornění a fotografie z terénu (foto převzato z www.soilcrust.org)

Věžičkovité (pinnacled) krusty (Obr. 9.) jsou dominované sinicemi, ale lokálně mohou zaujímat mechy a lišejníky až 40% pokryvnosti. Jsou charakteristické nápadně vystouplými špičatými kupičkami, které vznikají vyzdvihováním půdy při jejím zamrznutí a mohou snadno podléhat erozi. Tyto muldy mohou být až 15 cm vysoké. Vyskytují se ve středních výškách, studených pouštích jako je

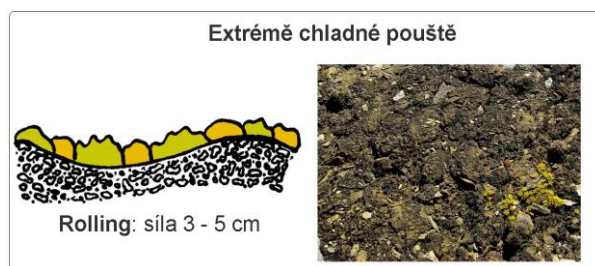


Obr. 9.: Věžičkovité (pinnacled) biologické krusty – schematické znázornění a fotografie z místa jejich výskytu (foto převzato z www.soilcrust.org)

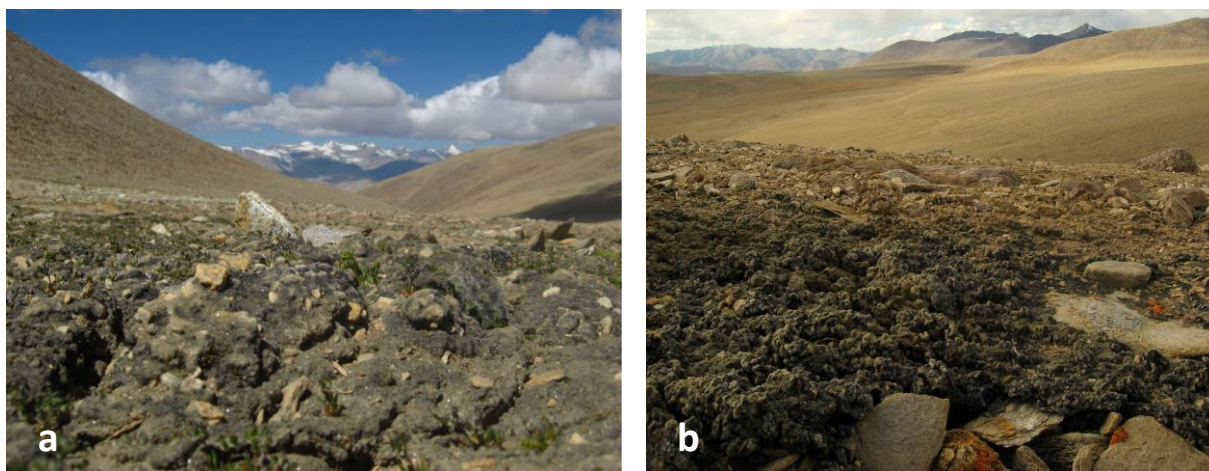
například Colorado Plateau. Tento typ půdních krust je nejvíce náchylný k disturbanci povrchu (Belnap 2001, Herrick a spol. 2010).

Podhrnuté (rolling) krusty (Obr. 10) se vyskytují v půdách, které pravidelně zamrzají, tedy v chladnějších regionech jako jsou Great Basin, severní Mongolské stepi nebo Arktida. Nízký celkový výpar zde podporuje výskyt krust dominovaných zejména lišejníky a mechy, v případě extrémních podmínek tlustou vrstvou sinic. Jejich mocnost se pohybuje kolem 5 cm.

V chladných vysokohorských pouštích Ladaku, kde půda pravidelně zamrzá, se nejčastěji vyskytoval typ „rolling“ krusty, místy věžičkovité krusty (Obr. 11.). BCS byly dominované sinicemi.



Obr. 10.: Podhrnuté (rolling) biologické krusty – schematické znázornění a fotografie z místa jejich výskytu (foto převzato z www.soilcrust.org)

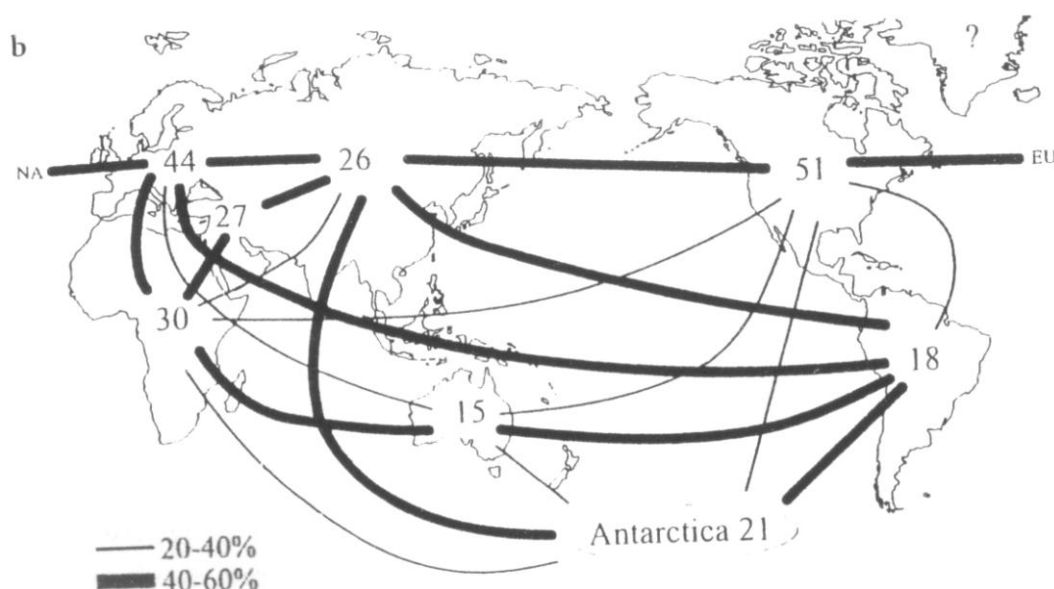


Obr. 11. : Tibetská náhorní plošina nad jezerem Tsomoriri; **a)** – „rolling“ krusty, 5700 m n. m.;
b) – věžičkovité krusty, 6000 m n. m.

2.2.2 Biogeografie půdních mikrobiálních krust

Jak již bylo zmíněno, míra vědomostí o společenstvech půdních mikrobiálních krust se mezi geografickými regiony značně liší (Evans a Johansen 1999). Büdel (2001) ve své srovnávací studii vytvořil seznam rodů, aby bylo možné porovnat biodiverzitu mezi geografickými oblastmi. Podle Sørensenova koeficientu (Q_s) je rodové rozložení sinic a řas mezi různými světovými regiony relativně shodné (Obr. 12.). Nicméně tyto výsledky jsou spíše orientační a mohou se rychle měnit spolu se vzrůstajícím počtem nových studií a podrobnějších informací o druhovém složení.

Dominantní zástupci sinicových společenstev jsou kosmopolitně rozšířeni. Jde zejména o rody *Microcoleus* a *Nostoc*, které se nacházejí téměř ve všech dosud studovaných lokalitách. Například sekvenováním genu 16S rRNA byl u druhů *Microcoleus chthonoplastes* a *M. vaginatus* prokázán jejich výskyt v půdách z různých pouštních a polopouštních lokalit na světě (Utah, Kalifornie, Španělsko, Izrael) (Garcia-Pichel a spol. 1996).



Obr. 12.: Podobnost rodů sinic a zelených řas mezi jednotlivými geografickými oblastmi, z nichž existují data o jejich druhovém složení. Síla čáry spojující vždy dvě srovnávané lokality odpovídá procentuální míře podobnosti na základě Sørensenova koeficientu. Převzato z Büdel 2001

2.3 Ekologická funkce mikrobiálních krust v ekosystému

Mikrobiální krusty hrají klíčovou roli v půdě, na které se vyskytují. Zvyšují koncentraci uhlíku a dusíku v půdě; zadržují vodu v půdním horizontu; stabilizují povrch půdy a chrání ji před erozí, významně se podílejí na sukcesi rostlin a živočichů (Belnap a Lange 2001, Johansen a Shubert 2001, Lange 1974).

2.3.1 2.3.1 Produkce živin

Díky primární produkci fototrofních organismů jsou BSC v extrémních podmínkách klíčovým dodavatelem živin do půdy, hlavně uhlíku a dusíku. Některé sinice fixují vzdušný dusík v podobě N_2 a dodávají ho ve formě NH_4^{4+} cévnatým rostlinám (Steppe a spol. 1996). Fixace dusíku je podporována činností dekompozitorů (houby a bakterie), ti dodávají fototrofům živiny a zároveň rozkladem spotřebovávají kyslík, který inhibuje právě fixaci dusíku. Dusík získaný fixací pak zpětně podporuje dekompozici (Lynch a Haper 1983). Druhou významnou živinou je uhlík, který se do ekosystému dostává fotosyntézou rostlin a dekompoziční činností mikroskopických hub. Mnoho rodů sinic má mechanismus pro zvyšování koncentrace CO_2 nutného k fotosyntéze – CCM (Badger et Price 1992, Badger a spol. 1993). CCM mechanismus byl prokázán i v sinicových mikrobiálních krustách v savanách Venezuely (Ziegel a Lute 1998). Biologické půdní krusty jsou schopné vázat a uvolňovat CO_2 v širokém rozpětí přírodních podmínek, nejvíce je však výměna ovlivňována teplotou a vlhkostí (Grote a spol. 2010). Tato tvrzení byla podpořena laboratorními pokusy, kdy byla měřena fotosyntetická aktivita druhu *Microcoleus sociatus* (Lange a spol. 1994), aerofytických zelených řas a zelených fykobintů v lišejnících (Lange at al. 1986). Eukaryotním řasám stačí k zahájení fotosyntézy jen vzdušná vlhkost, u rodu *Microcoleus* byla fotosyntéza aktivována až s přímým přísunem vody. Sinice tedy potřebují prostředí s alespoň minimálními srážkami, vláhou z rosy nebo z tání.

Mikrobiální krusty svou aktivitou (fixací, dekompozicí, fotosyntézou) zvyšují koncentraci živin a esenciálních prvků (N, P, C, K, Ca, Mg, Fe). Poskytují tyto živiny rostlinám, které na nich rostou a podporují tak jejich růst. Při srovnávání obsahu živin v pletivech mezi jedinci rostoucími na krustách a mimo ně, byla prokázána jednoznačně vyšší koncentrace živin u rostlin rostoucích na BCS (Belnap a Harper 1995, Harper a Pendleton 1993). Tito jedinci vyprodukovali i celkově více biomasy, než rostliny rostoucí mimo BCS (Harper a Pendleton 1993).

2.3.2 Stabilizace půdy a distribuce vody

BSC zlepšují infiltraci vody a zároveň prodlužují dobu retence vody v půdě (Eldridge a Tozer 2000). V aridních a semiaridních oblastech, kde se srážky vyskytují náhodně a velmi sporadicky, je velmi důležité, po jakou dobu je voda v půdním horizontu dostupná pro rostliny a živočichy. V místech, kde nejsou biologické krusty, dochází k rychlému odtoku vody nebo k vytváření fyzikálních krust. BSC zlepšují infiltraci vody a zpomalují její odtok díky tomu, že mají mnohem větší povrch (Belnap 2001). Zároveň povrch krust bývá pokryt extracelulárními pochvami sinic, které mají větší absorpční kapacitu.

Jak již bylo řečeno, BCS často zabírají téměř veškerý volný povrch půdy mezi okolní vegetací a v období sucha tak mohou být jediným činitelem, který zabraňuje erozi půd a

stabilizuje půdní povrch (Eldridge a Green 1994). Stabilizační mechanismus BSC je detailně popsán v kapitole 2.1.2 .

2.3.3 Omezení šíření invazních druhů

Jedním z nejpatrnějších projevů aktuální změny klimatu je šíření nepůvodních druhů rostlin (D'Antonio a Vitousek 1992, Walther a spol. 2005). Aridní, na živiny chudé oblasti jsou k tomu obzvláště náchylné, jelikož vývin a rozvoj zdejších společenstev je pomalý a tím pádem citlivý na jakékoliv změny (Ehleringer a spol. 1998, Körner 2003). Změny druhového složení společenstev cévnatých rostlin byly hojně zaznamenány z oblasti subniválního pásu v Evropě, S Americe či na Novém Zélandu (Grabber a spol. 1994, Pauli a spol. 2007, Wardle a spol. 1992).

Přítomnost BCS může ovšem šíření nepůvodních druhů bránit. Efektivní jsou zejména krusty dominované cyanobakteriemi vyskytující se v ekosystémech s extrémními podmínkami, jako jsou vysokohorské pouště Ladaku. Činností sinic je povrch půdy natolik zpevněn, že semena jiných, nežli původních specializovaných rostlin, nejsou schopna proniknout do půdy a uchytit se (Belnap 2001). Vyšší teplota způsobená tmavou barvou povrchu sinicových krust pak podporuje metabolickou aktivitu původních, s nimi asociovaných druhů, a tím i následný vývin semen (Salisbury a Ross 1995). Původní druhy se během svého dalšího vývoje přizpůsobují životu v asociaci s BCS - například přizpůsobeným kořenovým systémem pro efektivnější získávání živin a minerálů z BCS (Belnap a Harper 1995).

Mikroorganismy utvářející BCS v extrémních podmínkách jsou vysoce specializované a resistantní k okolním nepříznivým vlivům a proto jiné, méně odolné druhy jim budou moci konkurovat jen stěží (Evans a spol. 2001). Pokud by se tak stalo, například v důsledku změny okolního prostředí, došlo by k trvalým a nevratným změnám v těchto sice vyvážených, ale křehkých typech ekosystémů (Chapin a spol. 1996)

2.4 Fyzikální krusty

Abiotické půdní krusty tvořené vnějšími fyzikálními silami jsou častým rysem mnoha aridních regionů. Fyzikální krusty byly mnohem intenzivněji studovány, protože mohou mít škodlivý vliv na zemědělskou produkci. Pokud už se někde vytvoří, je velmi obtížné se jich zbavit (Summer a Stewart 1992). Jedná se o dočasné vrstvy půdy od 1mm do několika cm, mající odlišnou strukturu než okolní půda. Existují čtyři nejčastější způsoby vzniku fyzikálních krust: dopadem dešťových kapek, udusáním zvířaty, vypařováním vláh z půdy (tzv. chemické krusty) a zatuhnutím bublinek plynu v půdě. Mohou se vytvářet z téměř jakéhokoliv půdního substrátu, výjimku tvoří hrubé písčité substráty s nízkým obsahem jílu a bahna.

Nejčastěji vznikají kapkami deště dopadajícími na nechráněný půdní povrch, které rozbíjejí půdní částice na ještě menší a ty pak vyplňují prostor mezi většími částicemi a ucpávají póry půdy. Po vyschnutí se vytvoří kompaktní silná vrstva, která až o 90% snižuje schopnost infiltrace vody. V sušších oblastech je častý výskyt chemických krust, které jsou tvrdší než ty dešťové, vznikajících po odpaření vody z půd bohatých na soli, vápenec a

křemík. Často vznikají právě z odpařené vody z povrchu, která se nevsákla do dešťových krust. Fyzikální krusty jsou časté v aridních oblastech s vysokým podílem jílu v půdě nebo na naplaveninách. Jsou typické velkým počtem vzduchových kapes tvořených pod povrchem, které rovněž brání infiltraci vody do půdy. Mohu vzniknout kompresními silami (udusání zvířaty).

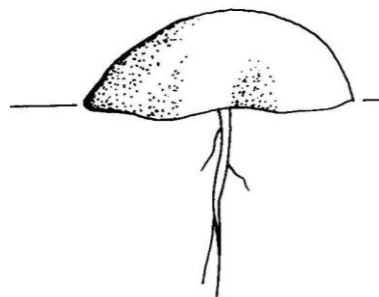
Na druhé straně v některých případech v aridních regionech, kde se vyskytují na ploše vedle rostlin a biologických krust, mohou svádět vodu, kterou nepojmou, k rostlinám a do krust (Cornet a spol. 1992).

2.5 Ameliorační efekt *Thylacospermum caespitosum* (Cambessèdes) Schischkin

Thylacospermum caespitosum patří do čeledi Caryophyllaceae. Vytváří pevné kompaktní polštáře s jedním hlavním kořenem, pevně přitisknuté k podkladu (Obr. 13.). Polštářové rostliny jsou typickými a mnohdy dominantními zástupci společenstev chladných vysokohorských lokalit (Arredondo-Núñez a spol. 2009). Právě tato růstová forma je adaptací na tvrdé podmínky prostředí (Körner 2003) a tyto rostliny jsou schopné ovlivňovat kvalitu mikroprostředí ve svém okolí (Cavieres a spol. 2007, Badano a Marquet 2009). Bylo prokázáno, že polštářové rostliny zlepšují podmínky svého okolí – zmírňují sílu větru (Hager a Faggi 1990), zlepšují dostupnost živin (Núñez a spol. 1999, Cavieres a spol. 2006), a zmenšují extrémní výkyvy teplot v půdě (Körner 2003, Cavieres a spol. 2006) a udržují půdu kolem sebe vlhčí. Pokud je biomasa polštářů velká, můžou pak ovlivňovat prostředí ve větším měřítku, než jen ve svém nejbližším okolí.

Mnohokrát bylo doloženo, že polštářové rostliny podporují růst dalších druhů rostlin, a tím zároveň zvyšují diverzitu v alpinském pásmu hor (Núñez a spol. 1999, Cavieres a spol. 2002, Haussmann a spol. 2010) (Obr. 11). Otázkou tedy je, zda to platí i pro polštáře *Thylacospermum caespitosum* ve vysokých nadmořských výškách chladných pouští Himaláje.

Velice málo se ví o tom, jaký vliv mají polštářové rostliny na složení půdních mikrobiálních společenstev, která jsou přitom velice důležitou složkou celého systému, zejména v extrémních podmínkách, kde se polštáře nejhojněji vyskytují (Cavieres a spol. 2002).



Obr. 13.: Schématické zobrazení polštáře tvořeného *T. caespitosum*

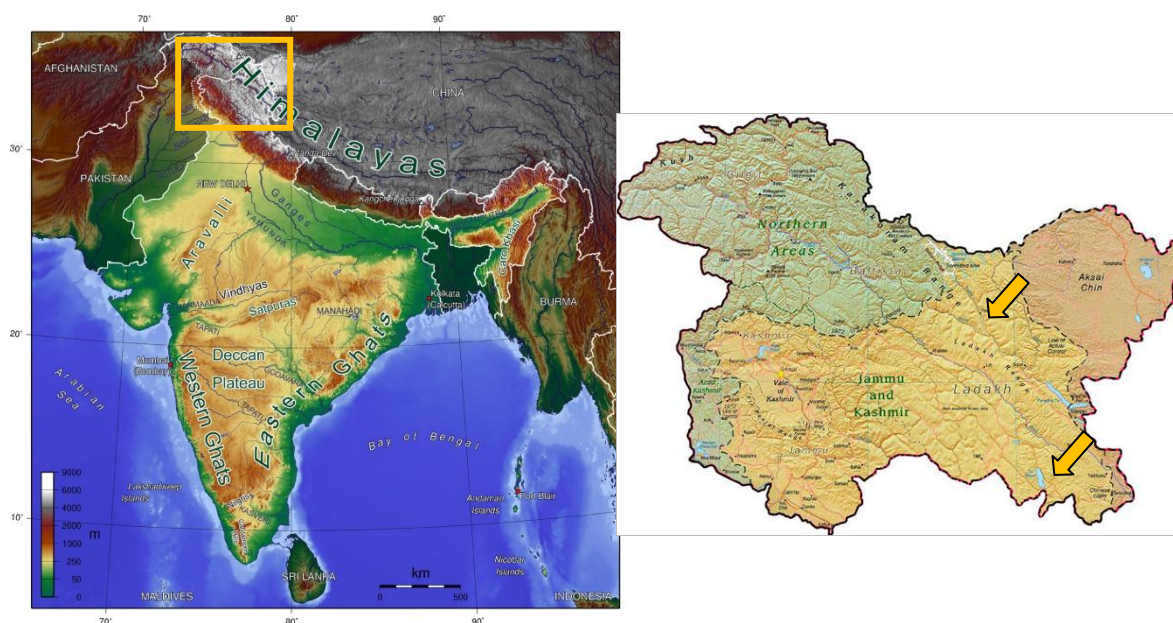


Obr. 14.: *Thylacospermum caespitosum*, lokalita Tsomoriri; foto M.Dvorský

3 Popis zkoumané oblasti

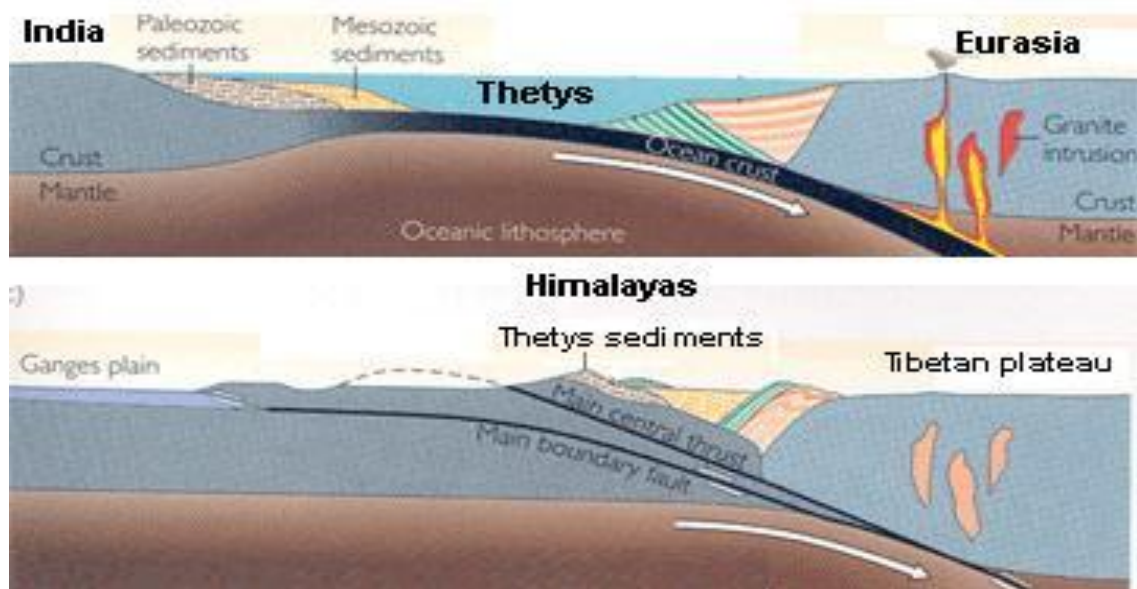
3.1 Celkové fyziogeografické a přírodní poměry

Oblast Ladaku je součástí státu Jammu & Kashmir v Indii. Rozkládá se na území o rozloze 86,904 km² s hustotou zalidnění 3 obyvk/km². V naprosté většině zde nadmořská výška neklesá pod 3000 m, průměrná výška je kolem 6000 m. Ze severu je území ohraničeno pohořím Východního Karákoramu (35° 15.6' N; 077° 50.2' E), z jihu pásmem hřebenu Velkého Himaláje (33° 38.8' N; 076° 63.8' E) a z východu zasahuje do jihozápadního výběžku Tibetské náhorní plošiny (32° 75.3' N; 079° 04.4' E).



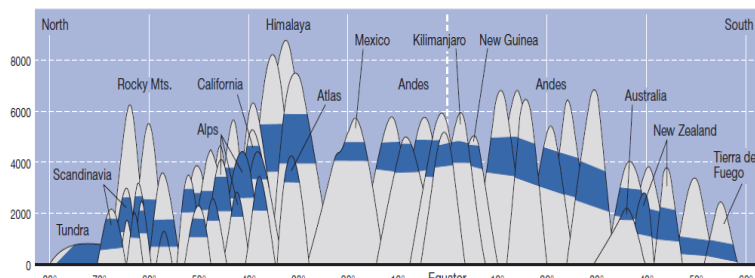
Obr. 15. : Satelitní mapa Indie s vyznačenou oblastí Ladaku. Na detailním pohledu území Ladaku, který je součástí státu Jammu & Kashmir. Šipky označují lokality, kde jsem odebírala vzorky; zdroj: *Google Maps.com*

Pohoří Himajále a Karákoramu začalo vznikat asi před 50 mil. let na přelomu druhohor a třetihor, v místě kolize Indické desky s Euroasijským subkontinentem (Pêcher a spol., 2008). Ladak leží přímo na tektonickém švu v místě, kde docházelo k subdukci a konvergenci obou desek a k vyzvednutí sedimentů z bývalého oceánu Thetys (Guillot, 2008). Geologické podloží této oblasti se skládá z metamorfovaných a vulkanizovaných hornin, pocházejících z původní litosféry obou kontinentů a ze sedimentů oceánu Tethys, které se vytvářely pod obrovským tlakem během subdukčních procesů (Obr. 16.). Obecně je území Ladaku tvořeno křemičitanovými horninami a vápencovými usazeninami (Guillot, 2008; Rolland, 2002).



Obr16. : Schéma orogeneze pohoří Himaláje s barevně vyznačeným původem hornin a jejich dnešním umístěním.

Celá oblast leží ve srážkovém stínu hlavního hřebene Himaláje a je jen vzácně zasažena monsunovými srážkami. Současně jsou místem, kde se vysokohorské ekosystémy (alpínské pásmo a subnivální oblast) vyskytují nejvýše na světě (Obr. 17.). Klimatologická data z nižších nadmořských výšek naměřená v údolí řeky Indu vykazují vzrůstající hodnoty aridity od jihovýchodu k severozápadu (Wang, 1988). Hodnoty ročních srážek klesají od



Obr. 17.: Schéma výskytu alpínské a subniválního pásu ve světových pohořích.

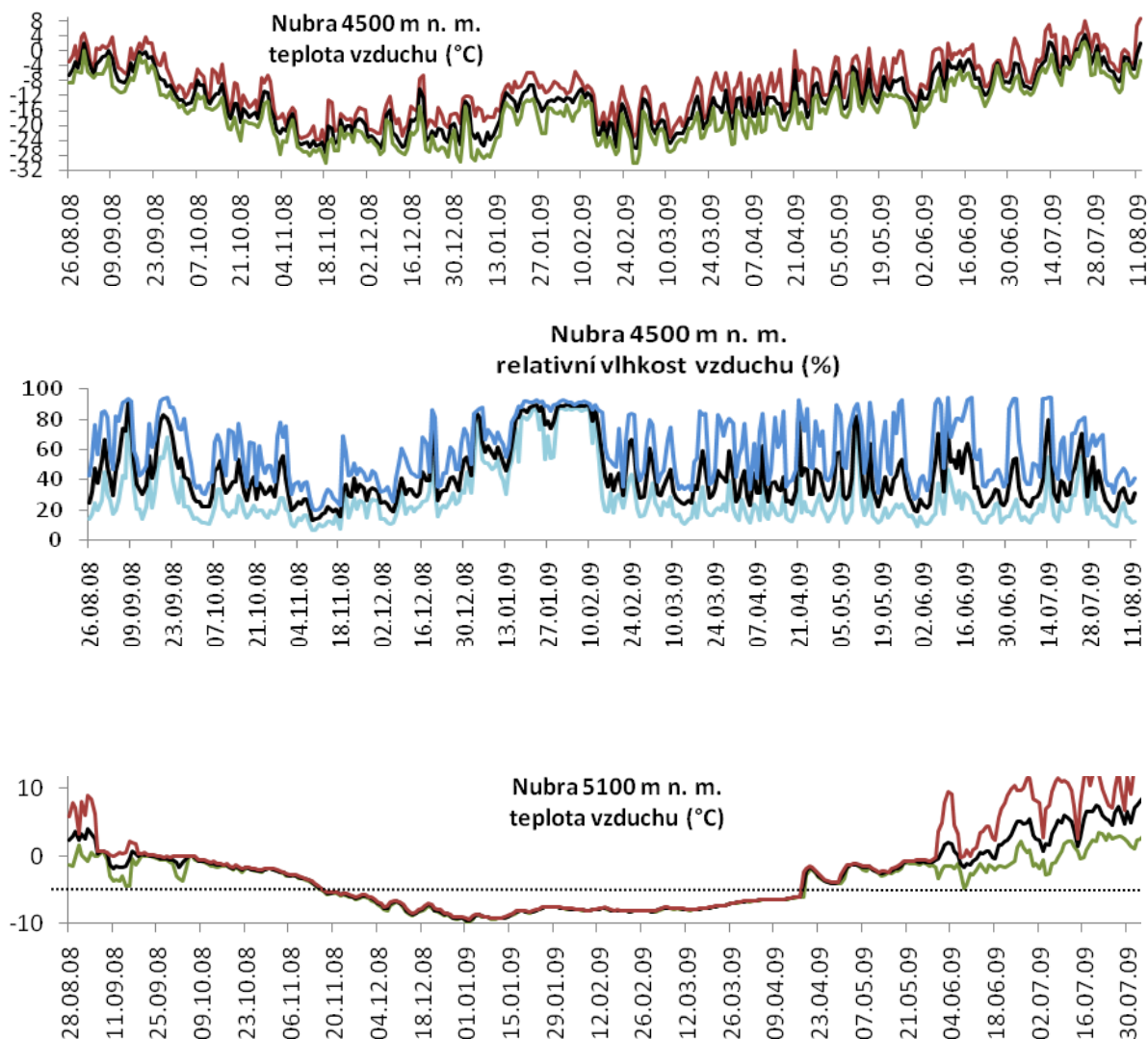
100mm/rok v západní oblasti Ladaku, až po 50 mm/rok ve východní oblasti (Miehe a spol. 2001). Dohromady s vysokými letními teplotami v nižších až středních výškách způsobují, že míra evaporace je několiknásobně vyšší než přísun vody ze srážek (Dickoré 1995; Hartmann 1997). Klima

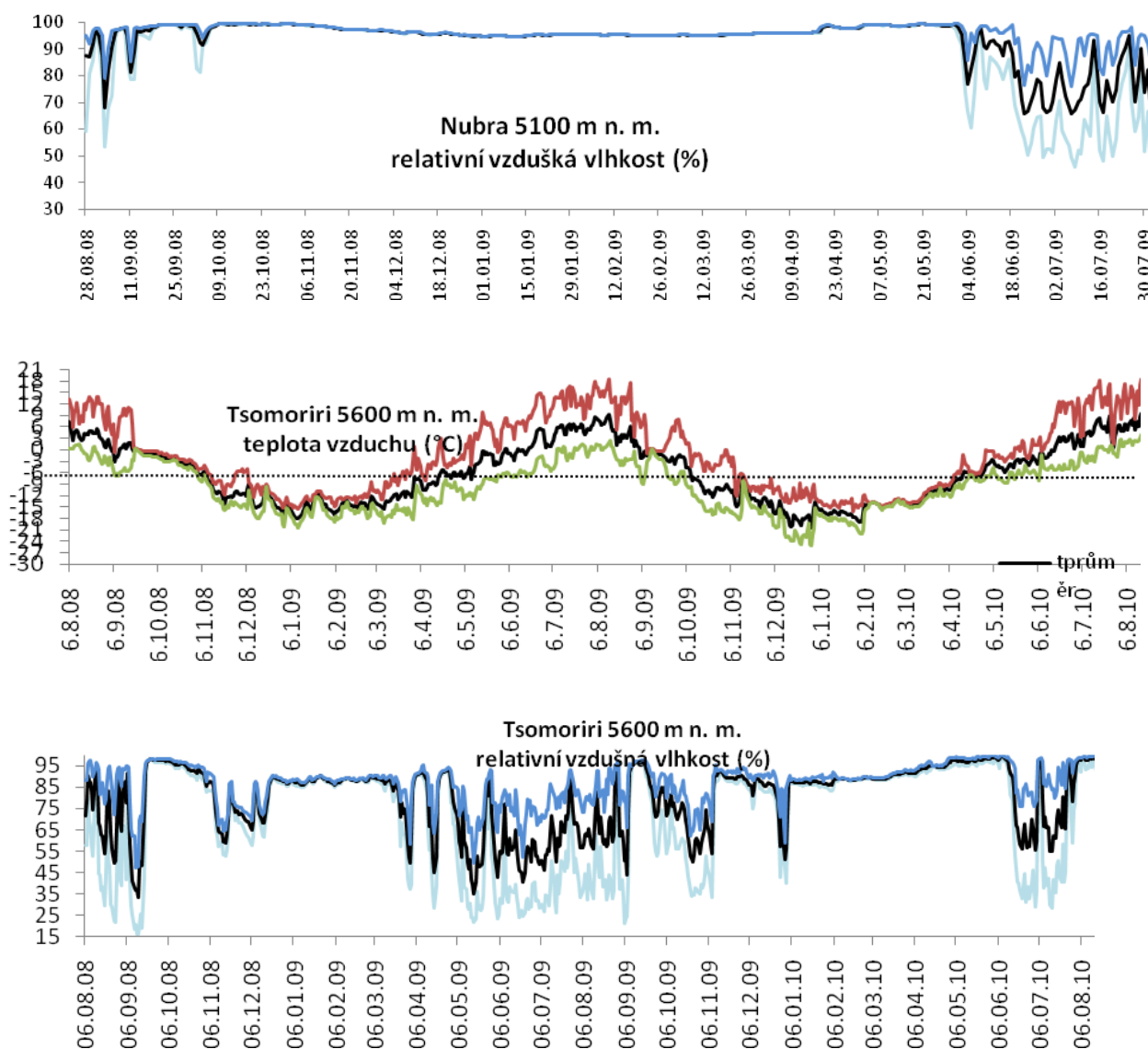
jednotlivých oblastí v Ladaku se však liší a v okolí studovaných lokalit žádné meteorologické stanice nejsou. Proto byly na studované lokality umístěny do různých nadmořských výšek teplotní a vlhkostní datalogery *HOBO Pro V2 Temp/RH*. Výsledky naměřených klimatických dat jsou zobrazeny Grafu 1. Průměrně se roční teploty vysokých nadmořských výšek pohybují kolem 0° C. V letních měsících pak může být průměrná teplota nepatrně vyšší. V zimě často teplota klesá až k -30° C (Klimeš et Doležal, 2010). V nižších polohách v oblastech stepí a polopouští může v létě teplota vzrůst až k 40 °C (Klimeš a Dickoré, 2005). Kromě aridity a extrémních výkyvů teplot mezi dnem a nocí, jsou organismy zejména ve větších nadmořských výškách vystavené dalším stresovým faktorům, jako je silné sluneční záření, silný vítr, bahnotoky a v neposlední řadě nedostatek živin.

V Ladaku se vyskytuje jak západo-himalájská lesní flora, tak vysokohorská tibetská flora. Většinou jsou zde dominantní druhy mající široký areál výskytu, pouze několik málo jich

je endemitních (Klimeš a Dickoré, 2005). V nižších polohách Ladaku se nacházejí pouštně a polopouštně, ve výškách do 5300 m převládá stepní vegetace, v níž dominují druhy rodů *Stipa* a *Artemisia*. Podél vodních toků vytékajících z tajících ledovců se rozkládají alpské trávníky tvořené nejčastěji druhy rodu *Kobresia* a *Carex* (Obr. 18 a.). Od 5300 do 5700 m n. m. se nachází alpské a subnivální vegetační pásmo charakterizované například přítomností druhů *Astragalus confertus*, *Potentilla pamirica*, ve vyšších výškách zcela dominuje *Thylacospermum caespitosum* (Obr. 18b.) (Klimešová a spol. 2010). Sněžná čára se nachází přibližně mezi 5900-6100 m n. m. a až do těchto výšek lze nalézt některé druhy cévnatých rostlin. Ladak je tak jednou z oblastí, kde cévnaté rostliny rostou nejvýše na světě (Klimeš, 2003),

V letech 2008-2010 byl zaznamenávám roční průběh teplot datalogerem (HOBO Pro V2 Temp/RH Data Logger) pod vrcholem Chamser Kangri ve výšce 5600 m n. m.. Získaná data ukazují, že přes zimu zde leží trvalá sněhová pokrývka a zároveň se sněhové srážky vyskytují po celý rok. Začátek a konec vegetační sezóny podmíněný teplotami stoupajícími nad 0 °C, je zde od počátku května do začátku října (Graf 1.)





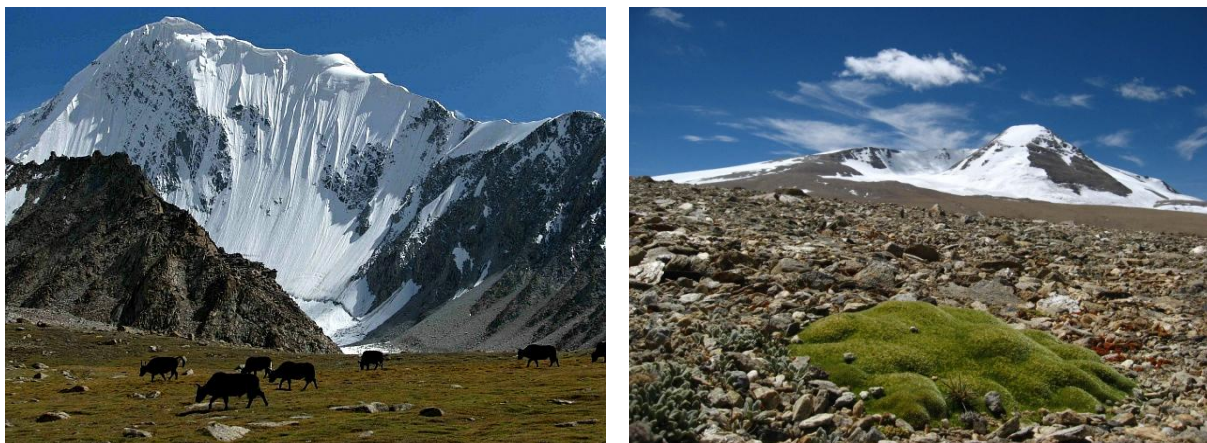
Graf 1.: Roční průběhy teplot a hodnoty relativní vzdušné vlhkosti na lokalitách Nubra a Tsomoriri, zaznamenané teplotními a vlhkostními dataloggery HOBO Pro V2 Temp/RH; Nubra – vlhkost a teplota vzduchu měřeny ve výškách 4500 m n. m. a 5100 m n. m. v období 8/2008 – 8/2009 ; Tsomoriri – vlhkost a teplota vzduchu měřeny ve výšce 5600 m n. m. v období 8/2008 – 8/2010 ; černá křivka – průměr měřených hodnot; hnědá/tmavě modrá – maximální naměřené hodnoty; zelená/světle modrá – minimální naměřené teploty

3.1.1 Tsomoriri

Lokalita nad jezerem Tsomoriri (4500 m n. m.) leží v jihozápadním výběžku Tibetské náhorní plošiny, která se nachází ve východní části Ladaku v pohoří Korzok. Studované údolí je na východní straně jezera v blízkosti hory Chamser Kangri (6611 m n. m.). Podloží je tvořeno převážně rulou s občasným výskytem amfibolitu (Guillot a spol., 2008). Vzhledem k tomu, že oblast je součástí Tibetské náhorní plošiny, zde převažuje vysokohorská tibetská flóra. V oblasti přímo kolem jezera ve výšce 4500 m n. m. se nacházejí mokřady s častým výskytem druhů *Puccinellia himalaica* a *Polygonum sibiricum*. Dalším vegetačním pásmem jsou stepi a polopouště, kde dominují druhy *Oxytropis microphylla* a *Stipa caucasica* (Dvorský a spol., 2010). Ve výškách kolem 5000 m n. m. se nachází alpský pás s rody *Artemisia*, *Stipa*,

Astragalus, *Oxytropis*, na který navazují alpské trávníky s druhy *Kobresia pygmaea*, *Kobresia royleana* a *Carex sagaensis*.

Přestože je okolí jezera využíváno k pastvě jaků, koz a koní, místa, kde byly vzorky odebrány, jsou pastvou zasažena jen minimálně nebo vůbec.



Obr. 18.: Studované lokality: a) alpské trávníky spásané jaky (Nubra Valley); b) *Thylacospermum caespitosum* ve výšce 5900m (Tsomoriri)

3.1.2 Nubra valley

Oblast Nubra Valley se nachází v severozápadní části Ladaku v pohoří Východního Karakorámu. Je tvořena nízko položenými širokými údolími s průměrnou nadmořskou výškou kolem 3000 m n. m., které lemují strmé svahy a vrcholy vysoké přes 6000 m n. m. z nichž mnoho dosahuje výšky nad 7000 m n. m.. Oblast je tvořena Východokarakoramskými granitoidy a leží na místě Karákoramského švu, kde do sebe naráží Karákoramský a Ladácký batolit. Studované údolí Sumur se nachází v západním masivu nad soutokem řek Shyok a Nubra, kde je podloží tvořeno převážně granity a leukogranity (Weinberg a Dunlap, 2000; Phillips, 2008).

V nejnižších výškách na dně údolí se nachází keříčkovitá stepní vegetace s *Kraschenninikovia ceratoides*, *Ephedra gerardiana* a také rod *Artemisia*. Ve spodních částech údolí kolem vodotečí jsou porosty *Myricaria elegant*, výše pak rozsáhlé alpské trávníky s *Carex sagaensis* a rodem *Kobresia*. V subnivální zóně je vegetace řidká, hojně se zde vyskytuje druh *Thylacospermum caespitosum* a spolu s rody *Astragalus* či *Oxytropis*.

Vzhledem k aridním podmínkám na dně hlavních údolí jsou menší boční údolí spásána jaky, stejně jako námi studované údolí, kde se stádo jaků páslo i v největší výšce tohoto údolí (5100 m n. m.).

Se stoupající nadmořskou výškou stoupá v Nubra Valley také míra srážek, s výjimkou nejnižších částí hlavního údolí, které je aridní. V sezóně 2008-2009 byly dataloggerem HOBO (Pro V2 Temp/RH Data Logger) měřeny průběhy ročních teplot a relativní vlhkost (Graf 1.). Na nejvyšší měřené lokalitě (5600 m n. m.) ležícím v blízkosti ledovce leží sníh od září do června. Na nejnižším místě (4600m n. m.) byly v průběhu zimy naměřeny nízké teploty spadající až k $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Graf 1.). Tato nízká teplota je způsobena studeným vzduchem spadajícím dolů do údolí z okolních sedmitisícovek a zároveň absence sněhové pokrývky.

4 Materiál a metody

4.1 Odběr vzorků

Vzorky půdy byly odebrány v srpnu a září roku 2009 na dvou lokalitách. První lokalita je v pohoří východního Karákoramu v oblasti Nubra Valley, a druhá v pohoří Korzok na Tibetské náhorní plošině nad jezerem Tsomoriri (podrobný popis lokalit viz kapitola. 3).

Ve východním Karákoramu (dále označováno jako lokalita Nubra) byly vzorky odebrány z údolí ležícího nad vesnicí Sumur (34° 39' N, 77° 44' E). Na druhé lokalitě byly odebírány nad východním břehem jezera Tsomoriri v údolí na západním svahu Chamser Kangri (32° 58' N, 78°20' E) (dále označována jako lokalita Tsomoriri).

Na obou lokalitách bylo dohromady odebráno 96 vzorků půdy, každý o hmotnosti 300 g. Vzorky půdy byly odebírány ze svrchních 0-5 cm půdních mikrobiálních krust vyskytujících se ve vzdálenosti 0,5 m od polštářů *Thylacospermum caespitosum*. Paralelně byla odebírána půda nacházející se přímo pod rostlinou. Vzorky byly sušeny na vzduchu 24 hod v hliníkových miskách a posléze přechovávány a transportovány ve sterilních polypropylenových sáčcích (Nasco Whirl-Pak®).

Na každé lokalitě byly půdy odebírány ve 4 různých nadmořských výškách, které pokrývaly rozsah výskytu studované rostliny *Thylacospermum*. Na lokalitě Nubra to bylo na gradientu výšek 4620 – 5100 m n. m., na lokalitě Tsomoriri byl gradient 5350 – 5800 m n. m. (přesné hodnoty všech nadmořských výšek viz Tab.1.). Nadmořská výška byla měřena pomocí GPS (Garmin, eTrex Vista). V každé nadmořské výšce bylo vytipováno 6 zdravých jedinců *Thylacospermum caespitosum* o průměru polštáře 50 cm a u každého jedince se odebral vzorek půdy pod rostlinou a vzorek BCS z okolí rostliny. Polštáře byly od sebe vzdáleny několik metrů. Ve výsledku bylo tedy z jedné nadmořské výšky na jedné lokalitě odebráno 12 půdních vzorků.

	Nubra	Tsomoriri	vzorků celkem
	nadm. výška / počet a charakter* vzorků	nadm. výška / počet a charakter* vzorků	
	4620 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	5346 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	
	4870 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	5575 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	
	5020 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	5735 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	
	5100 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	5833 m n. m. → 6 x BCS 6 x <i>Thylaco</i>	
celkem vzorků na lokalitě	48	48	96
datum sběru	8 / 2009	9 / 2009	

Tab. 1.: Hodnoty nadmořských výšek studovaných lokalit a počty odebraných vzorků; - charakter vzorku odpovídá typu habitatu odebrané půdy („BCS“ – biologická půdní krusta, „*Thylaco*“ – půda zpod povrchu polštářové rostliny)

4.2 Uchovávání vzorků

Vzorky byly po převozu do ČR rozváženy na podvzory: na analýzu DNA 5g, na fyzikálně-chemické analýzy 150g, na epifluorescenci fototrofů 2g a kultivace fototrofů 5g. Vzorky na fyzikálně-chemické analýzy, epifluorescenci a kultivaci byly uchovávány zamražené při teplotě - 20 °C po dobu maximálně 1 rok. Vzorky na DNA analýzy byly zamražené v -60°C po dobu maximálně 6 měsíců. Teplota - 20 °C není v místech, odkud půda pochází ničím výjimečná, a nemělo by tedy docházet k degradaci či změnám původního množství zastoupených organismů.

4.3 Měření fyzikálně-chemických parametrů půdy

V odebraných vzorcích půdy byly servisní analytickou laboratoří Botanického ústavu AV ČR v Třeboni stanoveny tyto fyzikálně-chemické parametry: celkový N, N-NH_4^+ , N-NO_3^- , P-PO_4^{3-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , pH, množství organické hmoty (OM), struktura půdy (procentuální zastoupení částic s průměrem větším než 0.5 mm) a množství chlorofylu *a*, *b*, *c* a karotenoidů.

Hodnoty pH byly měřeny potenciometricky v suspenzi 0.01M CaCl_2 . Koncentrace chlorofylů byla zjištěna metodou podle Kirkwood and Henley (2006). Množství celkového dusíku, N-NH_4^+ a NO_3^- bylo změřeno metodami podle Zbiral a spol. 1997, Kopáček a Hejzlar 1993 a Wolf 1982. Rozpustný fosfor (P) byl z půdy extrahován technikou podle Mehlich 1978 a jeho koncentrace změřena spektrofotometricky přístrojem SHIMADZU UV - 1650PC. Kationty Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ a K^+ byly z půdy vyextrahovány metodou EPA 200.2 (HCl-HNO_3) (<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3050b.pdf>) a jejich koncentrace stanovena spektrofotometricky metodou US EPA 3050 Kimbrough a spol. (1991).

4.4 Kvantifikace půdních fototrofů a bakterií

Počty a biomasa fototrofních mikroorganismů byla počítána epifluorescenční metodou podle Kaštovská a spol. (2005). Množství buněk bylo počítáno v půdní suspenzi (voda:půda 5:1 v/w) na mikroskopu Olympus BX60 za použití modrého a zeleného filtru (MWB filtr s modrou excitací 450–480, emisí 515+ pro eukaryotní řasy, MWG filter se zelenou excitací 510–550, emisí 590+pro sinice). Jako jednotky byly u kokálních zástupců brány jednotlivé buňky a počty buněk v koloniích. U vláknitých zástupců byly jako jednotky brány 10 μm dlouhé části vláken, jelikož při použití epifluorescenčního mikroskopu není možné rozeznat jednotlivé buňky u tenkých vláknitých sinic. Z celkového počtu buněk byl spočítán objem biomasy podle tvaru buněk (Hindák 1978).

Celkové množství bakteriálních buněk bylo počítáno v půdní suspenzi (voda:půda 100:1 v/w) za použití metody epifluorescenčního značení DAPI (Bloem a spol. 1995). Celkové počty bakterií byly zpracovány ve spolupráci s Dr. V. Kryštůfkem z Biologického centra v.v.i., Ústav půdní biologie.

4.5 Druhová determinace fototrofních mikroorganismů

Na základě morfologických znaků rozpoznatelných pod epifluorescenčním mikroskopem - tvar a rozměry vegetativních buněk, přítomnost heterocytů, přítomnost pochev - bylo možné určit fototrofní mikroorganismy jako konkrétní morfotypy a určit je na úrovni druhů, nebo alespoň rodů (viz. Tabulka 6). Pro taxonomické určení jsem použila určovací klíče: Geitler (1932), Komárek a spol. (1998, 2005). Informace o složení našich vzorků jsem použila pro srovnání sinicových společenstev biologických krust Ladaku se společenstvy sinic z biologických krust z jiných geografických oblastí světa. Použila jsme Sørensenův koeficient podobnosti. Stejným způsobem jsem porovnála druhovou podobnost dvou studovaných lokalit – Nubru a Tsomoriri.

Sørensenův koeficient podobnosti se vypočítává následujícím způsobem:

$$Q_s (\%) = \frac{2 \cdot C}{A+B} \cdot 100$$

A = počet druhů na lokalitě A

B = počet druhů na lokalitě B

C = počet shodných druhů mezi oběma lokalitami

Sinicová společenstva Ladaku jsem srovnávala se sinicemi z BSC z 9 geografických oblastí nacházejících se na všech 5 kontinentech (Úvod, Obr. 12.). Seznam sinic nalezených v těchto 9 oblastech jsem převzala ze srovnávací studie Büdel 2001. Vzhledem k tomu, že tento seznam obsahuje pouze rodové názvy sinic, provedla jsem jejich srovnání s Ladakem na úrovni rodů určených podle popsaných morfotypů. Podobnost lokalit Nubra a Tsomoriri jsem spočítala na úrovni druhů.

4.6 Molekulární analýza fototrofních mikroorganismů

4.6.1 Extrakce DNA

Extrakce DNA z půdních vzorků byla provedena pomocí PowerSoil[®] DNA Isolation Kit (MoBio Inc., Solana Beach, CA) podle pokynů v návodu. Půdní vzorky o hmotnosti 0,25 g byly dány do zkumavek se skleněnými kuličkami a s extrakčním pufrem. Zkumavky byly třepány při vysoké rychlosti v horizontální poloze (Vortex Genie). Po následné centrifugaci byl DNA supernatant několikrát přečištěn na kolonkách s filtrem. Výsledná koncentrace vyizolované DNA byla změřena pomocí NanoDropu 1000 (NanoDrop technologies). Vzorky DNA byly skladovány při – 80 °C.

4.6.2 PCR DNA amplifikace

Pro analýzu společenstva fototrofních mikroorganismů byly využity pouze vzorky odebrané z okolí polštáře rostliny, jelikož epifluorescenční analýza biomasy ukázala téměř nulové zastoupení fototrofů ve vzorcích z pod polštáře (Příloha, Tab. 15.a, 15.b.) Protože v biomase společenstva fototrofů byly zelené řasy zastoupeny v méně než v 1% byly další analýzy zaměřeny pouze na sinicová společenstva.

Během PCR byl amplifikován gen pro 16S rRNA, úsek o velikosti 422 nukleotidů. Byly použity primery CYA359F (5'-GGGGAATTTTCCGCAATGGG-3') a CYA781R(a) (5'-GACTACTGGGGTATCTAATCCCAT-3') (Nubel a spol. 1997) specifické pro cyanobakterie. Pro nested PCR byly použity stejné primery, ale CYA359F byl s GC clampem. Složení směsi pro PCR reakci o objemu 25 µl a podmínky PCR reakce viz Tab 2.. Byl použit termocykler (Cooled Gradient Palm 96x0.2ml, # Corbette research). Získaná DNA byla přečištěna kitem (Kit Nucleospin Extract II, Macherey- Nagel) a produkt opakovaně použit pro NESTED-PCR provedenou za stejných podmínek a opět přečištěn. Výsledná koncentrace DNA byla změřena na NanoDropu (NanoDrop technologies).

PCR				
podmínky PCR (DGGE, sekvenování)			směs PCR	
počáteční teplota	94°C	5 min	dNTP (2,5 mM)	0.2 mM
denaturace	94 °C	45 s	primer CYA359FGC	0.5 µM
annealing	57 °C	45 s	primer CYA781R(a)	0.5 µM
elongace	72 °C	2 min	Taq polymerase ^{*1} (1U/µl)	1 U
			DNA template	15 ng
			BSA 10x (MgCl ₂ 15mM)	1 µg µl ⁻¹
denaturace	94 °C	45 s		
annealing	54 °C	45 s		
elongace	72 °C	2 min		
finální teplota	72°C	7 min		

Tab. 2.: Složení směsí a podmínky PCR reakcí , jejichž výtěžky byly použity pro DGGE analýzu a pro sekvenování získaných produktů

4.6.3 Analýza cyanobakteriálních společenstev metodou DGGE

Pro analýzu složení společenstva fototrofních mikroorganismů jsem použila metodu DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) podle Muyzer a spol. (1993) a Boutte a spol. (2006). Metodiku jsem optimalizovala změnou rozpětí denaturačního gradientu, změnou napětí protékajícího proudu a doby migrace vzorků. Na výrobu polyakrylamidového gelu byl použit 80% denaturační roztok (složení Tab. 3.)

80% roztok pro přípravu polyakrylamidového gelu	
Močovina	50, g
Formamind	48 ml
50 x TAE, pH 7,4	3 ml
40% Acrylamid/Bisacrylamid	22,5 ml
doplnit H ₂ O do	150 ml

Tab. 3: Složení zásobního roztoku pro přípravu polyakrylamidového gelu na analýzu DGGE; TAE - Tris-acetate-EDTA

Pro DGGE analýzu byly použity přečištěné produkty Nested-PCR reakce naředěné na optimální koncentraci 100 ng/µl a smíchané s 2 µl loading dye solution (0.09% bromophenol blue, 0.09% xylen cyanol, 60% glycerol, 60 mM EDTA). DGGE reakce probíhala v přístroji Ingeny PhorU system (Ingeny, Leiden, NL) v 6% acrylamidovém gelu, rozpětí denaturačního gradientu jsem stanovila 40 – 50%. Elektroforéza běžela ve vodní lázni 1xTAE

pufru při 60 °C po dobu 16 hodin a konstantním proudem 100V. Gel byl barven roztokem 15 ml 1xTAE pufru s 3,8 µl SYBRGreen I (Molecular Probes, USA) po dobu 30 minut bez

přístupu světla. Následně byl gel zobrazen pod UV světlem a vyfocen pomocí Photo-Doc system (Vilber Lourmat, France).

Po vyfocení byly jednotlivé proužky s DGGE gelu vyříznuty, vloženy do eppendorfký s PCR vodou a ponechány přes noc extrahovat při 4 °C. Ze získaného roztoku jsem znovu amplifikovala DNA za použití stejných primerů a podmínek jako je uvedeno v Tab.2. Získaný PCR produkt byl poslán k sekvenaci do servisní laboratoře Genomiky, Biologické Centrum v.v.i. v Českých Budějovicích. Sekvenování bylo provedeno s primery CYA359F a CYA359F (a) (Nubel a spol. 1997). Získané nukleotidové sekvence byly uspořádány a upraveny programem BioEdit (biological sequence alignment editor), EditSeq a SeqMan (obojí DNASTAR Lasergene) a následně byla srovnána jejich shoda se sekvencemi z GenBanku pomocí programu BLAST (Basic local alignment search tool, NCBI, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Získané sekvence byly zalignovány programem Clustal X se sekvencemi z GenBanku (FJ90603.1, AB334295.1, EU861932.1, FJ790643.1, AY218830.1, AM711546.1, AY493593.1, FJ790617.1, EU586723.1, FJ815302.1, AF263341.1, AF263341, GQ504023.1, HQ189110.1, JF295578.1, GQ504023.1, AY 493578.1, AY493576.1, FJ790644.1, AJ639895.1, FJ790613, AF132790.1) a se sekvencemi získanými z vyizolovaných půdních kultur z Ladaku. Většina sekvencí použitých z GenBanku jsou sekvence z půd Tibetské náhorní plošiny (Wong a spol. 2010). Byla provedena analýza Neighbor-joining a Minimal-evolution, porovnání nukleotidových sekvencí za použití Kimura 2- parametru. Bootstrapová podpora byla spočítána z 1000 opakování. Byl použit program MEGA software version 4.0 (Tamura a spol., 2007; <http://www.megasoftware.net/>) k vytvoření fylogenetického stromu.

4.7 Statistické vyhodnocení dat

Pro vyhodnocení dat jsem použila mnohorozměrné metody ordinace dat. Po provedení testu (nepřímou metodou DCA) na délku gradientu, který byl kratší než 3, jsem zvolila pro vyhodnocení získaných dat lineární metodu RDA (redundanční analýza). Statistická průkaznost vztahů byla zjištěna pomocí Monte Carlo permutačního testu (999 permutací). RDA je přímá lineární metoda, jejíž cílem je najít z měřených faktorů prostředí ty, které postihují největší část variability dat. Analýzou jsem testovala závislost druhového složení a biomasy sinic a řas na nadmořské výšce a na presenci/absenci polštáře. Druhá analýza vyhodnocovala závislost fyzikálně-chemických parametrů půd na nadmořské výšce a presenci/absenci polštáře. Na každé lokalitě byly provedeny čtyři analýzy:

1. nadmořská výška x polštář (kategoriální proměnné) – analyzoval se hlavní efekt výšky, polštáře a jejich interakce, tedy celková vysvětlená variabilita.
2. nadmořská výška je proměnná prostředí a polštář byl zadán jako kovariáta. Použitím příslušnosti plochy k ploštáři/okolí polštáře jako kovariáty je snaha zjistit parciální („čistý“) efekt nadmořské výšky.
3. polštář je proměnná prostředí a nadmořská výška je kovariáta. Test čistého efektu polštáře po odfiltrování vlivu nadmořské výšky.

4. interakce nadmořské výšky a polštáře je testovanou proměnnou a kovariátami je polštář a příslušnost plochy k odběrovému místu (PlotID), tj. test neaditivní jejich vlivů.

Dále jsem testovala pomocí RDA závislost druhové skladby půdních fototrofů na fyzikálně-chemických parametrech půdy (pH, textura, obsah organické hmoty; koncentrace dusíku, amoniaku a fosforu). V této analýze byly jako doplňkové proměnné (tzv. supplementary variables) použity nadmořská výška a koncentrace chlorofylu *a*, *b* a *c*; a karotenoidů. Ordinační analýzy byly provedeny programem Canoco for Windows 4.5 (ter Braak a Šmilauer 1998). Grafický výstup byl vytvořen v programu CanoDraw (Canoco for windows, ter Braak a Šmilauer 2002).

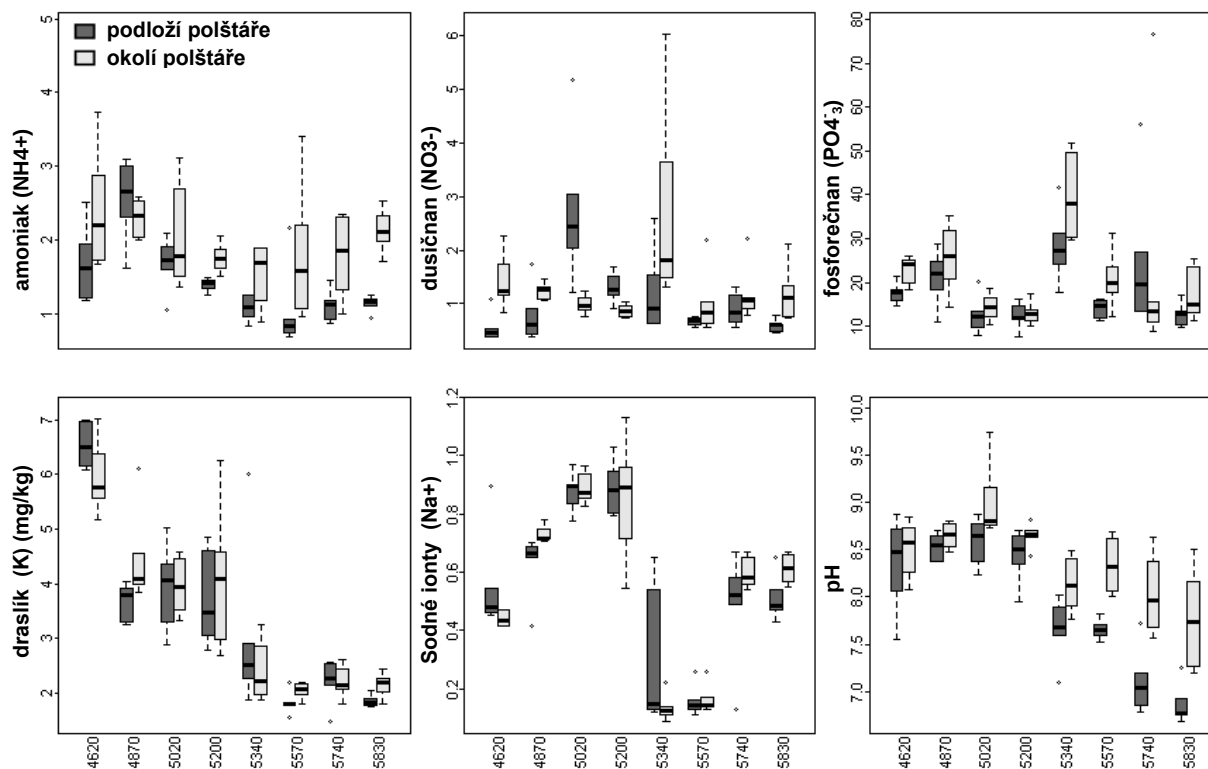
Dále jsem použila zobecněný lineární model se smíšenými efekty (GLMM), abych otestovala efekt polštáře, nadmořské výšky a jejich interakci pro jednotlivé proměnné, tj. biomasa hlavních druhů sinic a jednotlivých fyzikálně-chemických parametrů (pH, textura, obsah organické hmoty; koncentrace dusíku, amoniaku a fosforu; koncentrace chlorofylu *a*, *b* a *c*; a karotenoidů). Nadmořská výška a polštář byly charakterizovány jako faktory s pevným efektem a odběrová místa v jednotlivých nadmořských výškách (pár ploch daného polštáře) jako faktor s náhodným efektem. Parametry modelů byly odhadnuty pomocí metody maximální věrohodnosti (maximum likelihood) s χ^2 distribucí. Oba typy modelů byly spočítány za použití lme4 balíčku v R, verze 2.8 (R Development Core Team, 2009).

5 Výsledky

5.1 Vliv *Thylacospermum caespitosum* a nadmořské výšky na fyzikálně-chemické parametry půdy

Obsah NH_4^+ , PO_4^{3-} , pH a koncentrace chlorofylu *a*, *b* a *c* byl na obou lokalitách vždy vyšší v půdě z okolí polštářů (Příloha, Tab. 13). Hodnoty významnosti (P) změn měřených parametrů v závislosti na nadmořské výšce a typu habitatu jsou uvedeny v Přílohách, Tab. 14. Ve všech vzorcích na obou lokalitách množství fosforu a draslíku prokazatelně klesalo spolu s nadmořskou výškou a množství sodíku a chlorofylu *b* a *c* naopak s výškou prokazatelně rostlo. Obsah karotenoidů v půdě pod polštářem rostl spolu s nadmořskou výškou, naopak jejich obsah v půdě z okolí polštářů s nadmořskou výškou klesal.

Na lokalitě Nubra bylo ve všech vzorcích z okolí polštářů více Mg^{2+} a karotenoidů, naopak ve vzorcích z pod polštářů bylo více organické hmoty (Příloha, Tab. 14). Množství organické hmoty a NH_4^+ s narůstající nadmořskou výškou klesalo. Interakce vlivu nadmořské výšky spolu s vlivem *Thylacospermum caespitosum* byla prokázána u obsahu NO_3^- , který spolu s výškou vzrůstá v půdách pod polštářem a naopak klesá v půdě z okolí rostliny (Graf 2.). Vliv habitatu a nadmořské výšky na chemismus půdy byl testován také pomocí redundanční analýzy (RDA), kde RDA model vysvětluje 69% celkové variability testovaných dat. Z toho 34.4% variability je vysvětleno typem habitatu a 30.8% je ovlivněno nadmořskou výškou. Zbývající 3.8% vysvětlené variability je vysvětleno interakcí vlivů nadmořské výšky a typu habitatu (Tab. 4.)



Graf 2.: Krabicové diagramy pro vybrané parametry půdy znázorňující jejich hodnoty v jednotlivých nadmořských výškách obou lokalit, vždy z půdy z pod polštářem (tmavé krabice) a z okolí (světlé krabice).

Na lokalitě Tsomoriri bylo prokazatelně více NO_3^- a vápníku v půdách z okolí polštářů (Příloha, Tab 14) (Graf 2.). Bez ohledu na habitat (okolí x podloží polštáře) obsah NO_3^- a Ca^{2+} v půdě s nadmořskou výškou klesal, naproti tomu obsah celkového dusíku rostl, stejně jako vzrůstala hrubozrnost půdního substrátu. Interakce nadmořské výšky a typu habitatu byla prokázána u obsahu Ca^{2+} , který spolu s výškou rostl v půdě z okolí polštáře, a zároveň v podloží rostliny klesal. Hodnoty pH a množství K^+ s narůstající výškou klesaly, přičemž v půdě z podloží rostliny byl pokles znatelnější. Obsah Na^+ a chlorofylu *a*, *b* a *c* spolu s výškou vzrůstal a nárůst byl patrnější u vzorků z okolí polštářů (Graf 2.). Vliv nadmořské výšky a typu habitatu testovaný RDA modelem zde vysvětluje 67% celkové variability dat. Z toho 22.8% variability je vysvětleno typem habitatu a 39.4% je vysvětleno nadmořskou výškou. Zbývající 4.8% vysvětlené variability je vysvětleno interakcí vlivů nadmořské výšky a typu habitatu (Tab. 4.)

Analýza	Vysvětlující proměnná	Kovariáta	Permutace	Sum. Cano	F	P
Nubra						
1	V x H		N, N	69	12.71	0.001
2	V	H	N, O	30.8	12.64	0.001
3	H	V	O, N	34.4	42.4	0.001
4	V x H	H, PI	N, N	3.8	2.21	0.015
Tsomoriri						
1	V x H		N, N	67	11.61	0.001
2	V	H	N, O	39.4	14.96	0.001
3	H	V	O, N	22.8	25.9	0.001
4	V x H	H, PI	N, N	4.8	3.23	0.008

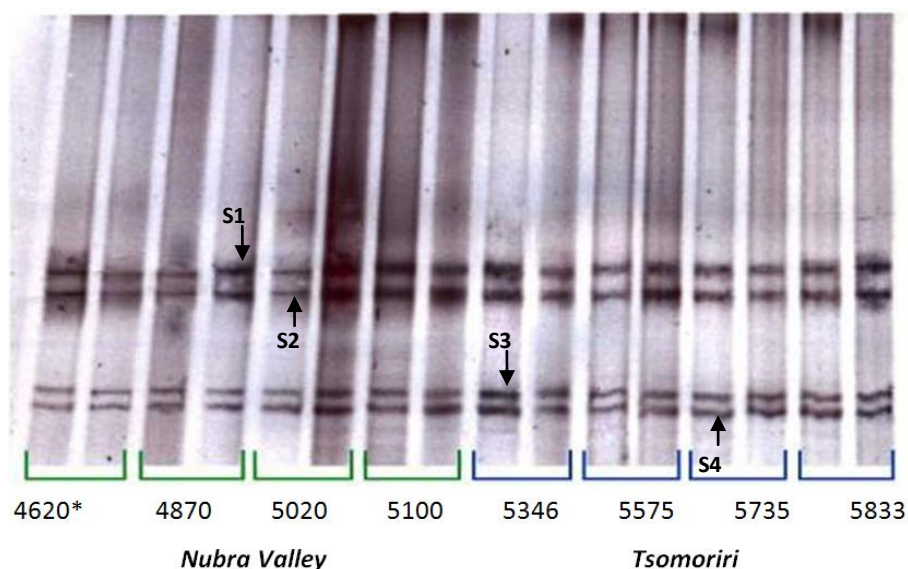
Tab. 4.: Výsledek RDA analýzy pro vliv nadmořské výšky a typu habitatu na fyzikálně-chemické složení půdy; vysvětlující proměnná – nadmořská výška (V), typ habitatu - podloží x okolí polštáře (H), interakce vlivu nadmořské výšky a habitatu (V x C); kovariáty - nadmořská výška (V), typ habitatu (H), příslušnost dvojice vzorků k odebíranému polštáři (PI – plot identity)

5.2 Druhové složení sinicových společenstev

5.2.1 Molekulární analýza

Pro srovnání variability druhové skladby sinic mezi jednotlivými půdními vzorky a lokalitami jsem použila metodu DGGE, gen pro 16S rRNA. Optimalizovala jsme podmínky metodiky podle Muyzer a spol. (1993) a Boutte a spol. (2006) (viz. Metodika).

Na všech 48 vzorcích půdy z okolí polštáře byla provedena analýza DGGE. Ve všech vzorcích byly identifikovány čtyři zřetelné proužky. Pozice těchto proužků byla vždy u všech vzorků z jednoho gelu shodná. Bohužel nebylo možné získat reprezentativní profil z čistých kmenů sinic vyizolovaných ze vzorků z Ladaku (nepodařilo se vyizolovat čisté kultury), který by sloužil jako marker nezbytný pro analýzu programem DGGE gel compare. Metoda DGGE má tu nevýhodu, že podmínky jedné analýzy nelze nikdy přesně zopakovat a vzhledem k tomu, že nebylo kapacitně možné zanalyzovat všech 48 vzorků najednou, byly nakonec vybrány reprezentativní vzorky z každé nadmořské výšky z obou lokalit, aby bylo možné výsledné profily porovnat. DGGE profily, ze kterých byly reprezentativní vzorky vybírány, zobrazovaly u všech testovaných vzorků 4 proužky ve stejné pozici, jako je tomu na obrázku 19. Pro reprezentativní analýzu byly vybrány ty nejzřetelnější. Pozice proužků se nelišila ani mezi lokalitami ani mezi vzorky z různých nadmořských výšek (Obr.19.). Stejně dominantní druhy sinic se tedy vyskytují shodně na obou lokalitách ve všech nadmořských výškách.



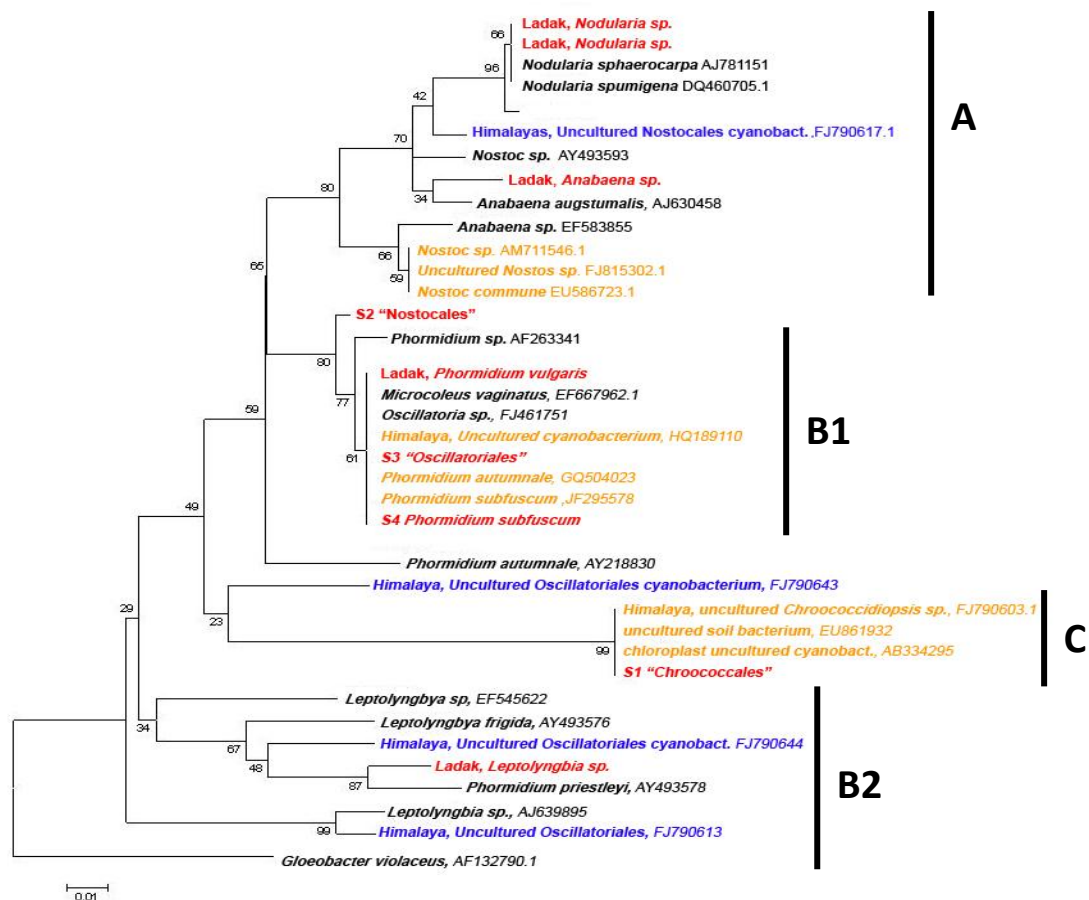
Obr. 19.: Srovnání sinicových společenstev z lokalit Nubra a Tsomoriri metodou DGGE, gen 16S rRNA. Porovnání pozic proužků (jednotlivých fylogypů) mezi oběma lokalitami a mezi odběrovými místy v různých nadmořských výškách (vždy dva náhodně vybrané vzorky z jedné výšky). Proužky S1 – S4 byly použité k sekvenování. * hodnoty v m n. m.

Z DGGE profilů jsem získala čtyři nukleotidové sekvence (S1 – S4, Obr. 19.) o délkách mezi 287 - 407 nukleotidy. Srovnávala jsem je pomocí BLASTu se sekvencemi v GenBanku. Na základě procenta podobnosti jsem určila fylotyp nejvíce podobný mým sinicím (Tab. 5.). Ukázalo se, že nejméně 2 získané fylotypy (S1 a S2) z půd Ladaku jsou unikátní (<95% podobnosti 16S rDNA) a bylo by je možno oddělit jako nový rod sinic. Fylotyp S1 patří do řádu Chroococcales, ale jeho bližší určení do rodu a druhu není možné (podobnost sekvencí 93%). Fylotyp S2 patří do řádu Nostocales, čeledi Nostocaceae. Rodové a druhové určení není možné (podobnost 90%). Fylotyp S3 je na hranici popsání nového druhu (<97% podobnosti 16S rDNA). Fylotyp S3 patří do řádu Oscillatoriales, čeledi Phormidiaceae, rod *Phormidium*, druhové určení je možné provést jako *Phormidium autumnale* sensu lato nebo popsat nový druh. Jediným fylotypem, který měl 100% podobnost se sinicí v GenBanku je fylotyp S4, který odpovídá druhu *Phormidium subfuscum*.

DGGE sekvence/počet bází	Nejpodobnější fylotypy GenBanku	Query coverage	Max ident	Accession	lokalita
S1 287 bp	uncultured <i>Chroococcidiopsis</i> sp.	98%	93%	FJ790603.1	poušť centálního Tibetu
	chloroplast uncultured cyanobacterium	98%	93%	AB334295	dolomity centrálních Alp
	uncultured soil bacterium	98%	93%	EU861932	suché louky
S2 397 bp	Uncultured <i>Nostoc</i> sp.	85%	90%	FJ815302.1	symbiont lišejníku
	<i>Nostoc</i> sp. Lukesova 5/96	85%	90%	AM711546.1	výsypka, jílovitá půda, ČR
	<i>Nostoc commune</i> NC3-K1	85%	90%	EU586723.1	Půda u nádrže Řimov, ČR
S3 407 bp	<i>Phormidium autumnale</i> CCALA 143	100%	97%	GQ504020.1	Perifyton, Tolopčany, SR
	uncultured cyanobacterium	100%	97%	HQ189023.1	půda subniválu
	uncultured cyanobacterium	100%	97%	HQ189110	půda subniválu, Nepál
S4 382 bp	<i>Phormidium subfuscum</i> CCALA 152	87%	100%	GQ504023	Nárost Labe, Hamburg
	uncultured bacterium	87%	100%	JF295578	půda
	uncultured cyanobacterium	87%	100%	HQ189110	půda subniválu, Nepál

Tab. 5. Fylogenetická podobnost 16S rRNA nukleotidových sekvencí půdního sinicového společenstva s nejpodobnějšími sekvencemi z GenBanku. Příslušnost sekvencí S1 – S4 k jednotlivým proužkům na gelu viz. Obr. 18. *Query coverage* – procento pokryvnosti ; *Max ident* – procentuální podobnost se srovnávanou sekvencí GenBanku.

Vytvořila jsem fylogenetický strom pomocí metody Neighbor-joining a Minimal - evolution pro části sekvencí 16S rRNA genu (200 bp) z našich osenkvenovaných DGGE proužků (S1-S4) spolu s nejvíce podobnými sekvencemi získanými pomocí srovnávacího programu BLAST z GenBanku. Zároveň jsem pro srovnání použila i sekvence čistých kultur z Ladaku pocházející ze vzorků z roku 2008, a dostupné sekvence z GenBanku, kde jsem se při výběru zaměřila hlavně na sekvence z půd z jiných částí Himaláje. Výsledky analýzy jsou graficky znázorněny ve fylogenetickém stromu (Obr. 20.). Výsledky z Minimal-evolution analýzy nejsou ukázány, protože se nelišily od analýzy Neighbor-joining. Ve fylogenetickém stromu jsou zřetelně odděleny 4 klastry (A, B1, B2 a C). Klastř A obsahuje sekvence řádu Nostocales, mezi nimiž jsou přítomny i sekvence z čistých kultur vyisolovaných z Ladáckých půd. V tomto klastru není žádná ze sekvencí získaných metodou DGGE. Řád Oscillatoriales je ve stromu rozdělen do dvou klastrů B1 a B2. Klastř B1 je tvořen zástupci rodů *Phormidium* a *Microcoleus* a mnou získanými sekvencemi fylotypů S3 a S4. Klastř B2 je tvořen sekvencemi rodu *Leptolyngbya*, kam spadá i sekvence kultury „Ladak *Leptolyngbya*“. Do klastru C spadají zástupci řádu Chroococcales, spolu se sekvencí fylotypu S1. Samostatnou větev, umístěnou mezi klastrem A a B1, tvoří fylotyp S2, jehož fylogenetické umístění je problematické.



Obr. 20.: Fylogenetický strom vytvořený metodou Neighbor-joining zobrazující podobnost sekvencí získaných metodou DGGE z půdních vzorků Ladaku spolu s podobnými sekvencemi z GenBanku a se sekvencemi pocházejících ze studií půd jiných částí Himaláje. *červená* – sekvence z DGGE proužků (S1-S4) a sekvence z čistých kultur vyizolovaných z půd Ladaku; *oranžová* – sekvence z GenBanku nejvíce příbuzné S1-S4 sekvencím získané srovnávacím programem BLAST (více o nich viz Tab.3); *modrá* – sekvence půd z jiných částí Himaláje získané jinými vědci?

5.2.2 Analýza za použití epifluorescenční mikroskopie

Na odebraných půdách jsme prováděla kvalitativní analýzu fototrofů pomocí epifluorescenční mikroskopie. Na základě morfologických znaků (tvar a rozměry vegetativních buněk, přítomnost heterocytů, přítomnost pochev) jsem rozlišila šest hlavních skupin sinic a řas: Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales, zelené kokální řasy, zelené vláknité řasy a rozsivky. Zelené kokální a vláknité řasy zahrnují druhy z třídy Chlorophyceae a Tribophyceae, které není na základě epifluorescence možné odlišit. Seznam všech nalezených morfotypů a jejich charakteristika je uveden Tab. 6. .

Popis nalezených morfotypů sinic a řas

Název morfotypu	průměr buňky/šířka vlákn (µm)	Popis morfotypu
Nostocales		
Calothrix sp.	5	trichomy, na jednom konci zašpičatělá, bazální heterocyt
Coleodesmium sp.	15	vlákna tvořená užšími oválnými buňkami
Nostoc sp.	5 x 5	slizové kolonie kulatých buněk, buňky v pochvách
Nodularia sp.	10	vlákna tvořená širšími oválnými buňkami
Nostocales 1	5 x 7,5	blíže neurčená vlákna s heterocytem
Scytonema sp.	10	široké vlákno, nepravé větvení u heterocytu
Oscillatoriales		
Leptolyngbya sp.	2	tenká vlákna bez pochvy
Microcoleus vaginatus	5	vlákna obalená pochvou, ve snopcích
Microcoleus steensrupii	2	snopce vláken obalené pochvou, zaškrcované buňky na přepážce
Microcoleus sp.	2,5	vlákna tohoto rozměru, s pochvou, ve snopcích
Phormidium sp.	5	Jednotlivá vlákna, zpravidla bez pochvy
Chroococcales		
Cyanothece sp.	10 x 15	oválná zaškrčená buňka
Chroococcus sp. 1	5 x 5	dvě až čtyři oválné buňky ve slizovém obalu
Chroococcus sp. 2	5 x 7,5	
Chroococcus sp. 3	7,5 x 7,5	
Chroococales 1	2,5 x 2,5	jednotlivé buňky bez slizového obalu
Chroococales 2	5 x 5	
Chroococales 3	5 x 7,5	
Chroococales 4	10 x 10	
celkem morfotypů sinic:		19
zelené řasy		
zelená řasa 1	10 x 15	oválné buňky dané velikosti (rozlišení od sinic v epifluorescenci díky jinému fotosyntetickému barvivu)
zelená řasa 2	15 x 15	
zelená řasa 3	10 x 20	
rozsivky		
rozsivka 1	10 x 15	patrná schránka, rozeznatelné dva chloroplasty
rozsivka 2	10 x 25	
Celkem morfotypů osatních fototrofů:		5

Tab. 6.: Charakteristika nalezených morfotypů sinic a řas za použití epifluorescenční mikroskopie

Pomocí epifluorescenčního mikroskopu bylo postupně ve všech vzorcích z obou lokalit identifikováno celkem 24 morfotypů fototrofních mikroorganismů. K taxonomickému určení rodů a druhů sinic a řas v půdě není možné použít světelný mikroskop. Sinice a řasy jsou přichyceny na jemnozrnných částicích půdy a je velmi těžké je pozorovat, obzvláště pak druhy s malou početností. Sinice jsou zastoupeny 19 morfotypy. Ze skupin Nostocales (6 morfotypů), Oscillatoriales (5 morfotypů) a Chroococcales (8 morfotypů). Tři morfotypy jsou zelené řasy a 2 morfotypy rozsivky. Morfologické charakteristiky nalezených morfotypů nutné k jejich rozlišení pod epifluorescenčním mikroskopem jsou uvedeny v Tab. 6.

Na lokalitě Nubra bylo nalezeno celkem 23 morfotypů, z toho 18 sinicových. Na lokalitě Tsomoriri bylo nalezeno celkem 16 morfotypů, z toho 12 morfotypů sinic. Patnáct morfotypů ze všech zaznamenaných se vyskytovalo na obou lokalitách zároveň. Výskyt konkrétních morfotypů na jednotlivých odběrových místech na lokalitách Nubra a Tsomoriri je uveden v Tab.8. Podle Sorensenova koeficientu je si složení fototrofních společenstev obou lokalit podobné ze 77%. Sinicová společenstva Ladaku, podle morfotypů určená na úroveň rodů, byla rovněž za použití Sorensenova koeficientu srovnána se sinicovými společenstvy půdních mikrobiálních krust z jiných světových regionů. Nejvíce shodných rodů bylo nalezeno v krustách Austrálie ($Q_s = 54\%$), nejodlišnější je rodové složení sinic v půdách Afriky ($Q_s = 33\%$) a Středního Východu ($Q_s = 31\%$). Podrobná tabulka viz. Tab. 6.

Podobnost geografických oblastí s oblastí Ladaku			
	počty rodů v oblasti	shodné rody	Q_s
Severní Amerika	17	6	41%
Jižní Amerika	15	6	44%
Evropa	18	6	40%
Střední východ	14	4	33%
Asie	15	6	44%
Austrálie	10	6	54%
Afrika	18	5	33%
Antarktida	13	6	48%

Tab. 7.: Podobnost rodového složení sinic geografických oblastí ve světě se studovanou oblastí Ladaku; informace o rodovém složení porovnávaných oblastí převzaty ze srovnávací studie Büdel 2001

Nadmořská výška (m n. m.)	Nubra				Tsomoriri			
	4620	4870	5020	5200	5346	5575	5735	5833
Nostocales								
<i>Calothrix</i> sp.	X							
<i>Coleodesmium</i> sp.	X							
<i>Nostoc</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Nodularia</i> sp.	X	X	X	X	X	X		X
Nostocales 1		X						
<i>Scytonema</i> sp.				X				
Oscillatoriales								
<i>Leptolyngbya</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Microcoleus vaginatus</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Microcoleus steensrupii</i>	X	X	X					
<i>Microcoleus</i> sp.	X			X	X	X	X	X
<i>Phormidium</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X	X
Chroococcales								
<i>Cyanothece</i> sp.					X	X	X	X
<i>Chroococcus</i> 1	X							
<i>Chroococcus</i> 2	X				X	X	X	
<i>Chroococcus</i> 3	X	X	X	X	X	X	X	
Chroococcales 1	X	X	X	X				
Chroococcales 2	X	X	X	X	X	X	X	X
Chroococcales 3	X	X	X	X	X	X	X	X
Chroococcales 4	X	X	X	X	X	X	X	
	celkem morfotypů sinic			18	celkem morfotypů sinic			12
zelené řasy								
zelená řasa 1	X							
zelená řasa 2	X				X	X		
zelená řasa 3				X	X		X	
rozsivky								
rozsivka 1			X		X		X	X
rozsivka 2		X	X	X	X	X	X	
	celkem morfotypů ostatních fototrofů			5	celkem morfotypů ostatních fototrofů			4
morfotypů celkem:				23	16			

Tab. 8.: Výskyt jednotlivých morfotypů půdních fototrofních mikroorganismů na studovaných lokalitách Nubra a Tsomoriri; X – označuje výskyt konkrétního morfotypu na odběrovém místě v příslušné nadmořské výšce.

5.3 Biomasa mikrobiálních společenstev

5.3.1 Biomasa bakteriálních společenstev

Ve všech nadmořských výškách z obou lokalit se vyskytuje velké množství bakterií - až 10^8 buněk/g sušiny. Ve vzorcích z nižších nadmořských výšek byly bakterie hojnější v půdě z pod polštáře (Nubra 4620 m n. m., Tsomoriri 5340 m n. m.), naopak ve vyšších výškách se hojněji

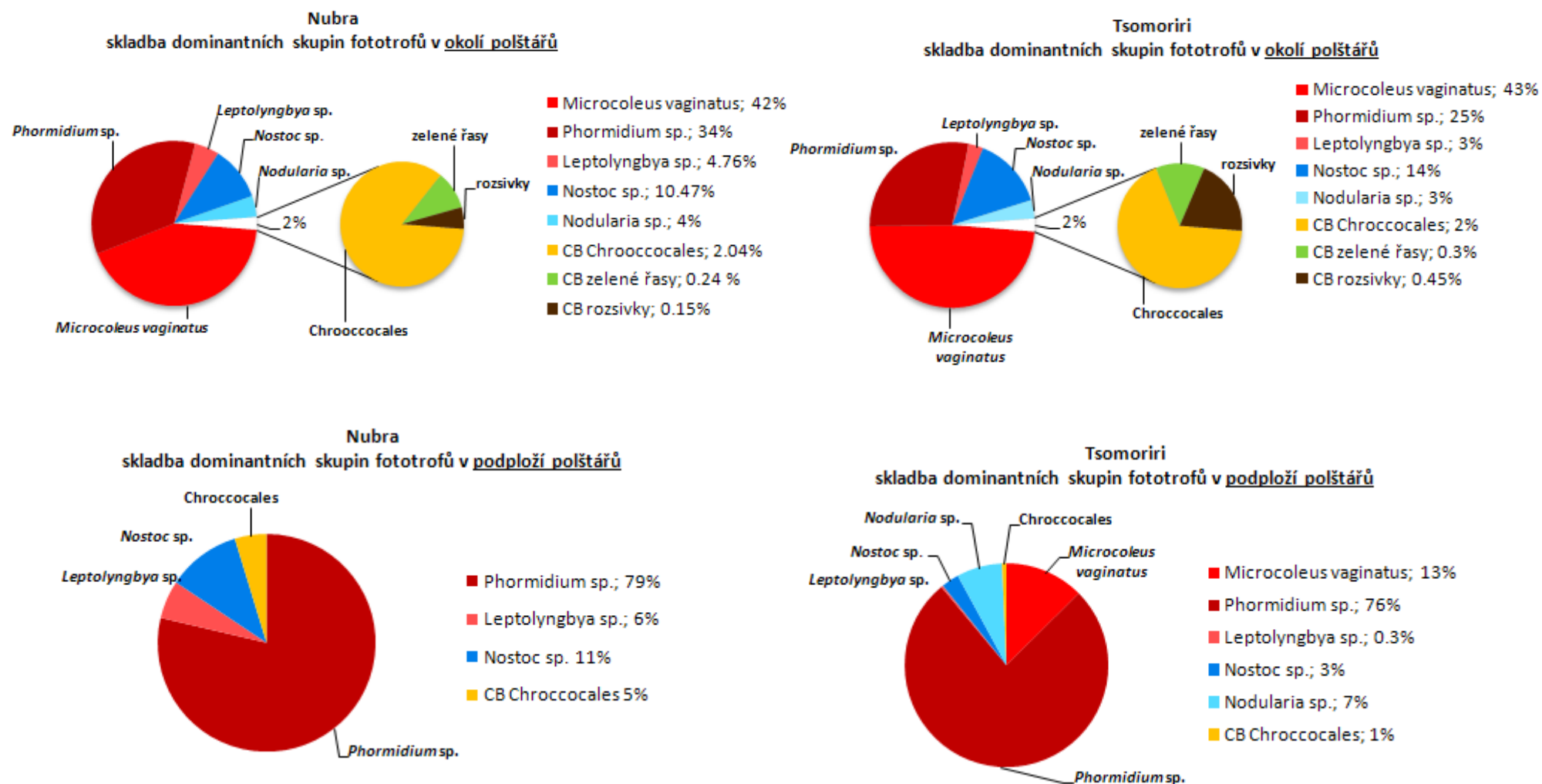
vyskytovaly v okolí polštářů. Interakce mezi polštářovou rostlinou a nadmořskou výškou byla signifikantně prokázána na lokalitě Nubra ($P < 0.05$) (viz. Příloha, Tab. 17.)

5.3.2 Biomasa fototrofních společenstev

Pomocí epifluorescence byla u jednotlivých vzorků spočítána biomasa fototrofních mikroorganismů a hodnoty byly přepočteny na $\mu\text{m}^3/\text{mg}$ sušiny. Ve vzorcích odebíraných v okolí polštáře *Thylacospermum caespitosum* dosahovalo množství fototrofů až $140 \cdot 10^8$ buněk/g organické hmoty. Naproti tomu v půdních vzorcích z pod polštáře bylo množství fototrofů mnohonásobně nižší. Hodnoty biomasy jednotlivých druhů jsou uvedeny v Příloze, Tab. 15.

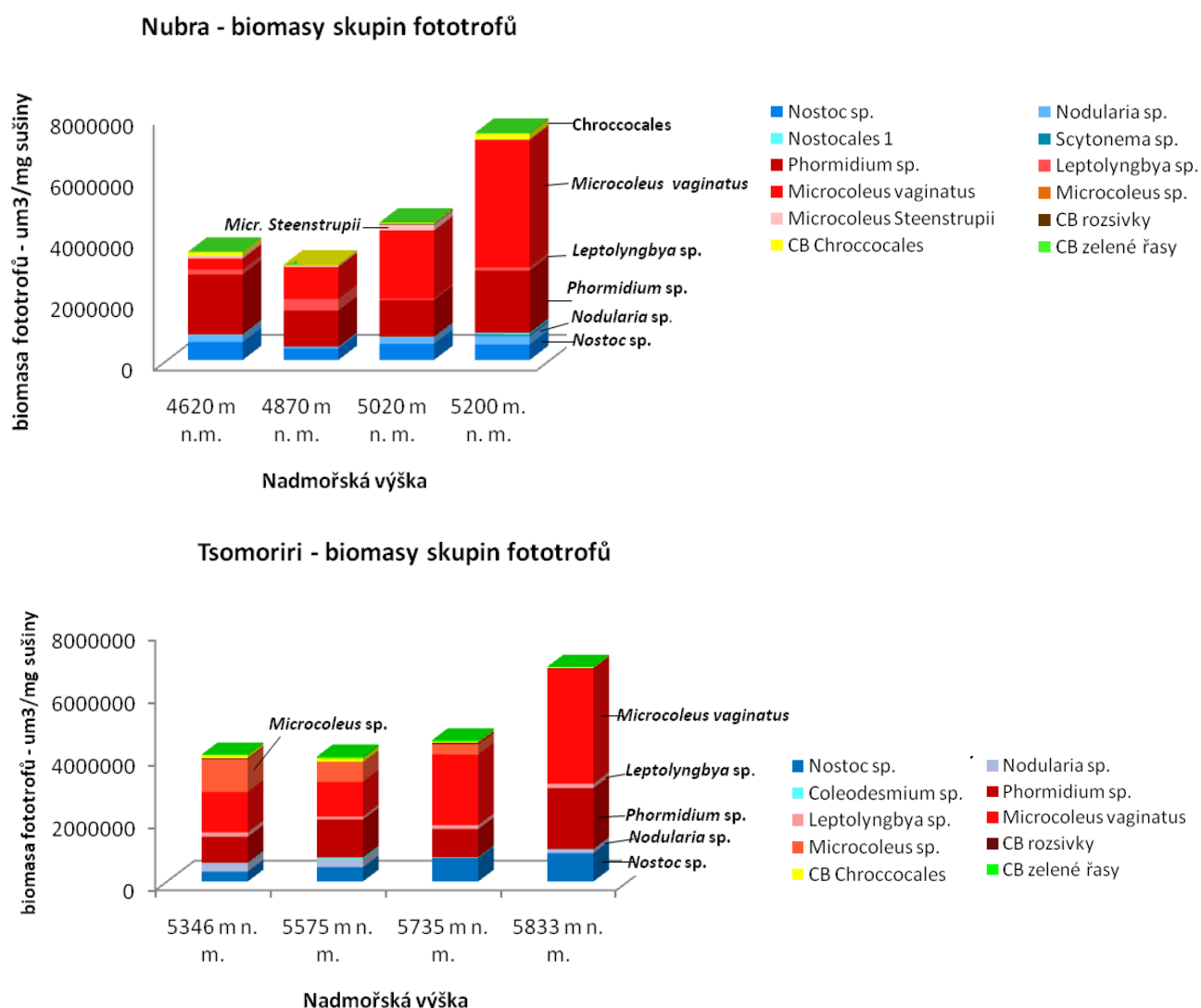
Poměry sinicových druhů zastoupených v půdách pod polštářem a z jeho okolí jsou rozdílné (Graf 3.). Ve vzorcích z okolní půdy převládá na obou lokalitách *Microcoleus vaginatus* (42 - 43%), *Phormidium* sp. (Nubra 34%, Tsomoriri 25%) a *Nostoc* sp. (Nubra 10%, Tsomoriri 14%), dalšími hojnějšími zástupci jsou *Leptolyngbya* sp. (3-4%) a *Nodularia* sp. (3-4%). Skupina Chroococcales je zastoupena 2% a zástupci zelených řas a rozsivek v celkové biomase všech fototrofů vyskytujících se v okolí polštářů nedosahují ani 1%.

Naproti tomu biomasa fotorofů v půdách z pod polštáře je na obou lokalitách dominovaná morfotypem *Phormidium* sp. (76-79%). Morfotyp *Microcoleus vaginatus* se v podloží rostliny nachází pouze na lokalitě Tsomoriri a jen v malém procentuálním zastoupení (13%). Fototrofní biomasa podloží je dále tvořena morfotypy *Nostoc* sp. (Nubra 11%, Tsomoriri 3%), *Leptolyngbya* sp. (Nubra 6%, Tsomoriri 0.3%). Skupina Chroococcales (Nubra 5%, Tsomoriri 1%) a pouze na lokalitě Tsomoriri se v podloží polštáře vyskytuje *Nodularia* sp. (7%). Zelené řasy ani rozsivky zde nejsou zastoupeny.



Graf 3.: Koláčkové grafy znázorňující procentuální zastoupení dominantních skupin fototrofů v půdě pod polštářem *Thylacospermum ceasпитosum* a v jeho okolí, vždy zvlášť pro lokalitu Nubra a Tsomoriri

Srovnávala jsem složení biomasy nejvíce zastoupených skupin fototrofů na obou studovaných lokalitách (Graf 4.). Téměř ve všech nadmořských výškách na obou lokalitách je ve společenstvech dominantní morfotyp rodu *Microcoleus*, z něj nejvíce *Microcoleus vaginatus*. Výjimkou je nejnižší odběrové místo na lokalitě Nubra (4620 m.n.m.), kde je dominantní morfotyp rodu *Phormidium*. V ostatních nadmořských výškách tvoří vláknitá sinice *Phormidium* druhý nejhojnější rod. Rod *Nostoc* se také nachází ve všech výškách, a je třetím nejhojnějším rodem. Výjimkou je odběrové místo ve 4870 m n. m. na lokalitě Nubra, kde je třetí nejhojnější skupinou monotyp skupiny Chroococcales. Minoritní část biomasy na všech odběrových místech tvoří rod *Nodularia* a *Leptolyngbya*. Konkrétní hodnoty procentuálního zastoupení všech morfotypů v jednotlivých nadmořských výškách jsou uvedeny v Přílohách, Tab. 16.



Graf 4.: Složení biomasy dominantních morfotypů fototrofních společenstev jednotlivých odběrových míst v různých nadmořských výškách.

5.3.3 Vztah mezi *Thylacospermum caespitosum*, nadmořskou výškou a půdním chemismem na biomasu fototrofních společenstev

Vliv jednotlivých parametrů prostředí (přítomnost polštáře rostliny; nadmořská výška; a půdní chemismu) na biomasu fototrofního společenstva byl testován zobecněným lineárním modelem. (viz. Přílohy, Tab. 17.) Na lokalitě Nubra (4620 – 5100 m n. m.) byla signifikantní interakce s nadmořskou výškou ($P < 0.05$) prokázána u druhů *Microcoleus vaginatus* a *Chroococcus* spp. (3 morfotypy o různých velikostech vegetativních buněk), jejichž biomasa se zvyšuje se vzrůstající výškou. Signifikantně s nadmořskou výškou vzrůstá i celková biomasa sinic a celková biomasa fototrofů ($P=0,03$).

Společný vliv habitatu a nadmořské výšky na složení fototrofních společenstev byl testován pomocí redundanční analýzy (RDA). Na této lokalitě RDA model vysvětluje 67% celkové variability testovaných dat. Z toho 60.9% variability je vysvětleno typem habitatu a 3.2% je ovlivněno nadmořskou výškou. Zbývající 2.9% vysvětlené variability je interakce vliv nadmořské výšky a typu habitatu (Tab. 9.)

<i>Analýza</i>	<i>Vysvětlující proměnná</i>	<i>Kovariáta</i>	<i>Permutace</i>	<i>Sum. Cano</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Nubra						
1	V x H		N, N	67	64.7	0.001
2	V	H	N, O	3.2	1.29	0.08
3	H	V	O, N	60.9	73.8	0.001
4	V x H	H, PI	N, N	2.9	1.14	0.273
Tsomoriri						
1	V x H		N, N	67.8	12.05	0.001
2	V	H	N, O	1.7	0.70	0.891
3	H	V	O, N	64.3	81.1	0.001
4	V x H	H, PI	N, N	1.9	0.77	0.843

Tab. 9.: Výsledek RDA analýzy pro vliv nadmořské výšky a typu habitatu na složení společenstva fototrofů; *vysvětlující proměnná* – nadmořská výška (V), typ habitatu - podloží x okolí polštáře (H), interakce vlivu nadmořské výšky a habitatu (V x C); *kovariáty* - nadmořská výška (V), typ habitatu (H), příslušnost dvojice vzorků k odebíranému polštáři (PI – plot identity)

Na lokalitě Tsomoriri (5346 – 5833 m n. m.) vzrůstá signifikantně s nadmořskou výškou biomasa rodů *Nostoc* sp. ($P=0,001$) a *Microcoleus vaginatus* ($P=0,009$). Vzrůst biomasy je zaznamenán i u rodu *Phormidium*, ale vliv nadmořské výšky není signifikantní ($P=0,06$). Biomasa *Cyanothece* sp. naopak se vzrůstající nadmořskou výškou klesá ($P=0,059$). Množství *Chroococcus* sp. klesá s nadmořskou výškou ($P=0,04$). S výškou prokazatelně vzrůstá i množství celkové biomasy fototrofů, cyanobakterií a řádu Nostocales a naopak průkazně klesá biomasa Chroococcales (viz. Přílohy, Tab. 17.).

Znázornění změn biomasy je zachyceno také v Tabulce 10. Vzhledem k tomu, že prokázaný nárůst biomasy u je všech skupin lineární, použila jsem pro znázornění tabulku, pro její větší přehlednost, než by měly krabicové diagramy.

Nubra							Tsomoriri							
Faktory:	habitat		nadmořská výška		interakce faktorů		habitat	nadmořská výška		interakce faktorů				
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P		χ^2	P	χ^2	P			
<i>Nostoc</i> sp.	35.748	0.000	0.054	0.816	0.070	0.792	41.543	0.000	10.160	0.001	↑	12.968	0.000	
<i>Phormidium</i> sp.	38.846	0.000	0.000	1.000	0.013	0.910	36.507	0.000	3.543	0.060	↑	3.879	0.049	
<i>Microcoleus vaginatus</i>	14.558	0.000	9.333	0.002	↑	11.597	0.001	28.545	0.000	6.825	0.009	↑	7.940	0.005
<i>Cyanothece</i> sp.	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	10.098	0.001	3.559	0.059	↓	3.845	0.050	
<i>Chroococcus</i> 1	2.196	0.138	4.950	0.026	↑	5.520	0.019	2.772	0.096	1.157	0.406		1.186	0.036
TB phototrophs	34.687	0.000	4.634	0.031	↑	5.136	0.023	53.864	0.000	3.618	0.057	↑	3.669	0.055
TB cyanobacteries	34.303	0.000	4.527	0.033	↑	5.005	0.025	52.934	0.000	3.570	0.059	↑	3.617	0.057
TB Nostocales	31.140	0.000	0.048	0.826		0.077	0.781	48.361	0.000	4.118	0.042	↑	3.004	0.083
TB Oscillatoriales	14.558	0.000	9.333	0.035	↑	5.520	0.025	48.864	0.000	3.559	0.039	↑	3.845	0.050
TB Chroococcales	18.672	0.000	0.708	0.400		0.762	0.383	24.481	0.000	4.943	0.026	↓	5.556	0.018

Tab. 10.: Vliv nadmořské výšky a habitatu na složení fototrofních společenstev na lokalitách Nubra a Tsomoriri. Efekt každého testovaného faktoru (habitat, nadmořská výška, jejich interakce) byl stanoven na základě maximální věrohodnosti (maximal likelihood) s χ^2 distribucí; *habitat* – půda z okolí rostliny/z jejího podloží; *interakce* – interakce vlivu nadmořské výšky a habitatu; červeně označené p-hodnoty označují signifikantně průkazný efekt daného faktoru; symbol ↑ znázorňuje pozitivní závislost hodnoty parametru s daným faktorem (červené označení); symbol ↓ znázorňuje negativní závislost s daným faktorem; (modré označení)

Na lokalitě Tsomoriri RDA model vysvětluje 67.8% celkové variability testovaných dat. Z toho 64.3% variability je vysvětleno typem habitatu a 1.7% je ovlivněno nadmořskou výškou. Zbývající 1.9% vysvětlené variability je interakce vliv nadmořské výšky a typu habitatu (Tab.9.)

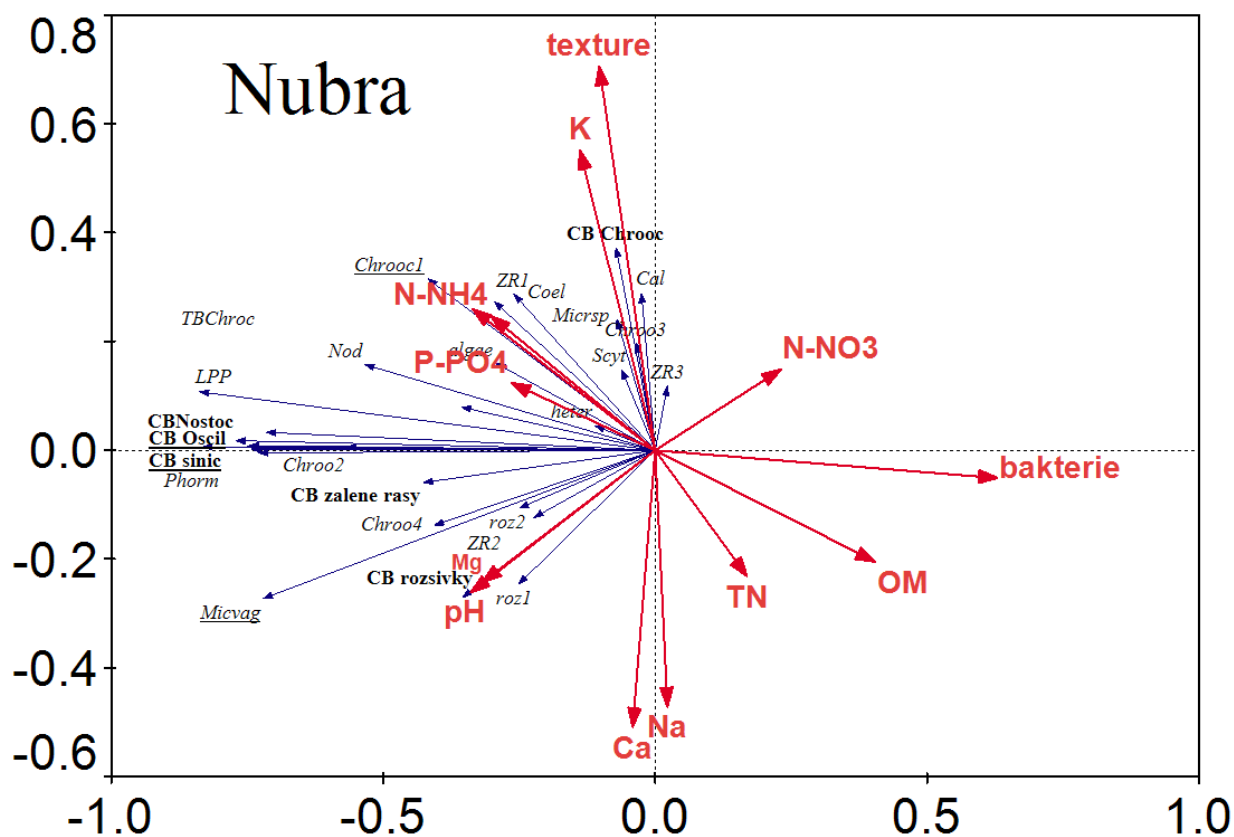
Vliv přítomnosti polštáře na biomasu sinic a řas, je na obou lokalitách signifikantně negativní. Množství fototrofů v půdě pod rostlinou je prokazatelně 100x nižší. Přestože, tento výsledek byl předpokladatelný z důvodu limitace světlem. Test vlivu polštáře na fototrofy byl proveden proto, že moje studie zapadá do projektu : Vliv *Thylacospermum caespitosum* na ekosystém – testování Stresové gradientové analýzy.

Dále jsem pomocí RDA analýzy zjišťovala, jak je výskyt sinic a řas ovlivněn fyzikálně-chemickými parametry půdy (pH, textura, obsah organické hmoty; koncentrace dusíku, amoniaku a fosforu) na jednotlivých lokalitách. Na lokalitě Nubra složení půdy vysvětlilo 52% celkové variability ve složení fototrofů (Tab. 11.). Z Grafu 5. je patrné, že zastoupení většiny skupin fototrofních organismů je negativně ovlivněno přítomností bakterií s r-strategií. Biomasa rozsivek a *Microcoles vaginatus* je pozitivně ovlivněna stoupajícím pH prostředí a obsahem hořčíku. Biomasa druhů z řádu Chroococcales je pozitivně ovlivněna obsahem fosforu a amoniaku v půdě a jeho biomasa se zvyšuje s hrubozrnností půdy. Fototrofní společenstva nejsou nijak ovlivněna obsahem celkového dusíku v půdě a množstvím organické hmoty.

Složení fototrofního společenstva a množství biomasy na lokalitě Tsomoriri je vysvětleno z 59% mnou měřenými parametry prostředí, jak ukazují výsledky redundanční analýzy (Tab. 12.). Z ordinačního diagramu (Grafu 6.) vyplývá, že spolu s rostoucím pH stoupá i hodnota biomasy u většiny fototrofů. Celková biomasa zelených řas a rozsivek stoupá spolu s obsahem fosforu. Stejně jako u lokality Nubra, ani zde není biomasa fototrofů nijak ovlivněna obsahem dusíku v půdě a množstvím organické hmoty Biomasa fototrofů není ovlivněna množstvím bakterií (r-strategů) v půdě ani její strukturou.

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.435	0.021	0.018	0.014	1.000
Species-environment correlations:	0.808	0.679	0.670	0.732	
Cumulative percentage variance					
of species data:	43.5	45.6	47.4	48.9	
of species-environment relation:	82.9	87.0	90.4	93.1	
Sum of all eigenvalues			1.000		
Sum of all canonical eigenvalues			0.525		
**** Summary of Monte Carlo test ****					
Test of significance of first canonical axis: eigenvalue =	0.435				
F-ratio =	24.648				
P-value =	0.0020				
Test of significance of all canonical axes : Trace =	0.525				
F-ratio =	2.354				
P-value =	0.0030				

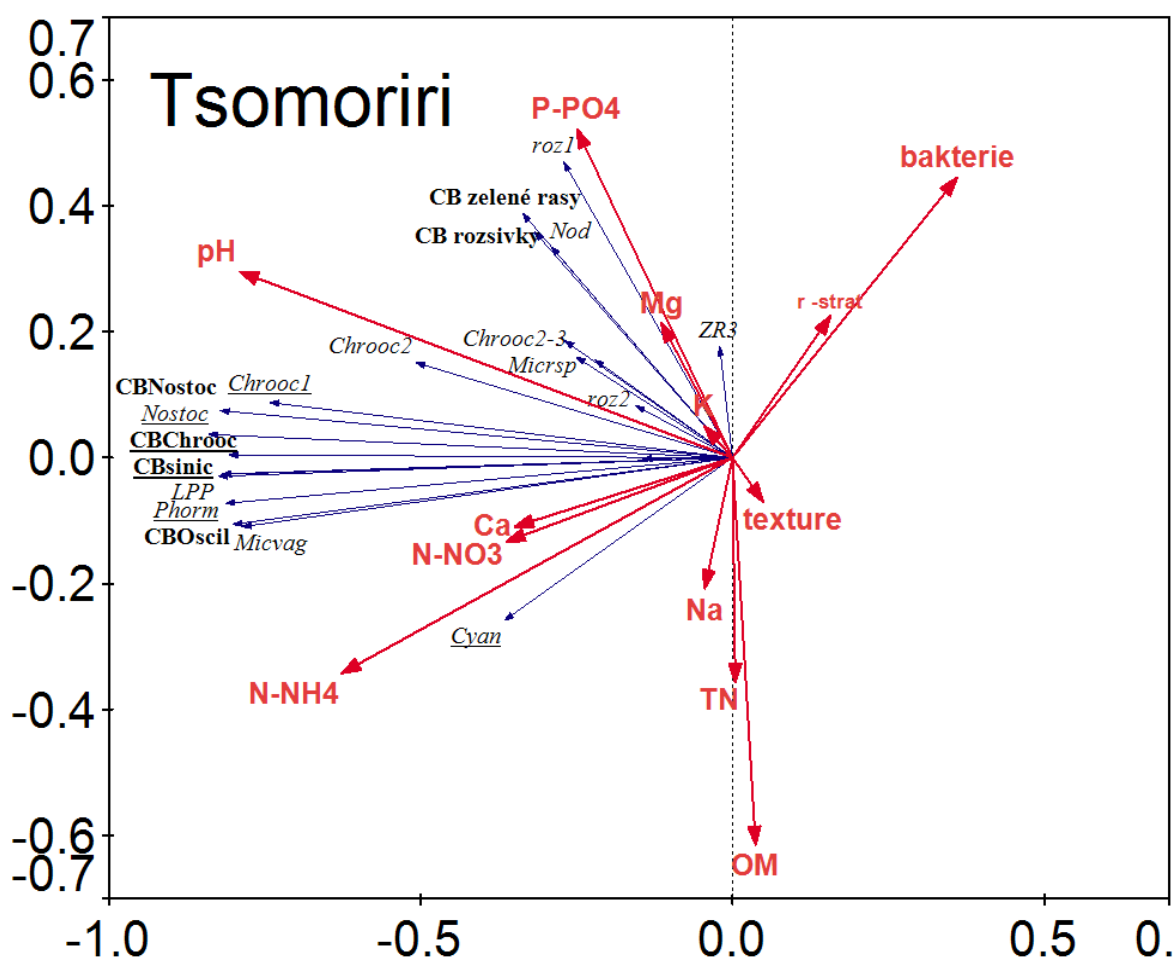
Tab. 11.: Výstup z RDA analýzy - vlivu chemických parametrů na složení fototrofních půdních společenstev na lokalitě Nubra



Graf 5.: Ordinační diagram RDA znázorňující vliv parametrů půdy na složení fototrofních společenstev na lokalitě Nubra; zkratky popisů odpovídají zkráceným názvům popsanych morfotypů, jak je uvedeno v Tab.8.

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.497	0.024	0.015	0.014	1.000
Species-environment correlations :	0.853	0.661	0.643	0.621	
Cumulative percentage variance					
of species data:	49.7	52.1	53.7	55.0	
of species-environment relation:	84.2	88.3	90.9	93.2	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.590
**** Summary of Monte Carlo test ****					
Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.497					
F-ratio = 31.606					
P-value = 0.0010					
Test of significance of all canonical axes : Trace = 0.590					
F-ratio = 3.075					
P-value = 0.0010					

Tab. 12.: Výstup z RDA analýzy - vlivu chemických parametrů na složení fototrofních půdních společenstev na lokalitě Tsomoriri



Graf 6.: Ordinační diagram RDA znázorňující vliv parametrů půdy na složení fototrofních společenstev na lokalitě Tsomoriri; zkratky popisků odpovídají zkráceným názvům popsáných morfotypů, jak je uvedeno v Tab.8.

6 Diskuse

Přes vzrůstající vědecký zájem o půdní prostředí a organismy v ní žijící, je tento biotop stále málo probádaný a mnoho otázek zůstává nezodpovězeno. Jednou z nich je samotné druhové složení mikroorganismů v půdách těžko dostupných oblastí, jako je oblast Ladaku v Indii. Zároveň, kromě těchto základních znalostí o biodiverzitě, stále neznáme faktory prostředí, které ovlivňují druhové složení bioty v půdě a vzájemné vztahy mezi jednotlivými trofickými úrovněmi tohoto biotopu. Toto jsou nezbytné znalosti k tomu, abychom mohli sledovat vliv změn klimatu v alpínském a subniválním pásmu hor, které bude klimatickými změnami postiženo nejdříve a nejvíce (Körner 2003, Walther a spol. 2005).

Ve své práci jsem studovala druhové složení a biomasu sinic a řas v subniválních a alpínských půdách Ladaku v okolí polštářové rostliny *Thylacospemum caespitosum*. Zároveň jsem hledala, jaké abiotické faktory ovlivňují fototrofní společenstvo ve vysokých nadmořských výškách Ladaku. Mnou získaná data jsou součástí projektu: Zlepšuje polštářová rostlina *T. caespitosum* své prostředí (složení půdy, mikroklima) pro ostatní organismy (jiné vyšší rostliny, heterotrofní bakterie, fototrofní mikroorganismy)? Proto je součástí předkládané práce mimo jiné i posouzení vlivu *T. caespitosum* na fyzikálně-chemické parametry půdy rovněž z tohoto hlediska.

Polštářové rostliny podporují růst jiných rostlin v alpínském pásmu světových pohoří (Alpy, Altaj, Andy) (např. Pyšek a Liška 1999, Körner 2003, Sklenář 2009) také tím, že substrát pod rostlinou je bohatší na živiny. Pozitivní vliv polštářových rostlin na složení půdních substrátů v jejich okolí byl již prokázán některými studiemi (Nuñez a spol. 1999, Cavieres a spol. 2008, Yang et al. 2010), ovšem doposud nebyl studován v této oblasti Himaláje, a až doposud nikdy u rostliny *Thylacospermum caespitosum*. Výsledky méj studie se od výsledků z ostatních geografických oblastí liší.

Většina studií, zabývajících se vlivem vyšších rostlin na kvalitativní změnu půd, ukázala, že celkový obsah důležitých živin je vyšší v půdách pod polštářem než v jejich okolí.

Nuñez a spol. (1999) naměřili v půdě z podloží polštářů prozatím vyšší pH, větší obsah živin a organického materiálu, než se vyskytovalo v jejich okolí. Studie Cavieres a spol. (2006) potvrdila tytéž výsledky na rostlině *Azorella monstrosa*, *A. madreporica* a *Adesmia subterranea*, i když pouze na níže položených lokalitách, a zároveň naměřila v půdách z větších nadmořských výšek (3200 m n. m.) větší obsah draslíku v okolí polštářových rostlin.

Nicméně studie Badano a spol. (2006) v Andách nenašla žádný rozdíl mezi dostupností základních živin (NH_4^+ , PO_4^{3-} , K) mezi vzorky z podloží a mimo něj. Jediná studie zabývajících se polštářovými rostlinami v Himaláji je od Yang a spol. (2010), kteří pracovali v oblasti jihozápadní Číny (ve výškách 4500 m n. m. a 4700 m n. m.). Na výše položené lokalitě byla půda v podloží polštářů prokazatelně bohatší na obsah celkového dusíku a draslíku. Obsah živin v půdě nižších nadmořských výšek se nijak nelišil.

Jak již bylo řečeno, výsledky naší studie prokázaly něco jiného. Obsah NH_4^+ , PO_4^{3-} , stejně jako hodnota pH, jsou na obou studovaných lokalitách prokazatelně nižší v půdě

z podloží polštáře a navíc na lokalitě Tsomoriri obsah draslíku s narůstající nadmořskou výškou klesá (navíc ho rychleji ubývá v půdách v okolí polštářů) – což je zcela v rozporu s výše uvedenými výsledky studií Nuñez a spol. (1999) a Cavieres a spol. (2006). Navíc na lokalitě Tsomoriri bylo v podloží polštářových rostlin méně NO_3^- a Ca^{2+} . Jediné, co odpovídá dřívějším zjištěním (shodným s výsledkem studie Nuñez a spol. 1999) je větší obsah organického materiálu v půdě pod polštářem, ovšem statisticky významný rozdíl je pouze na lokalitě Nubra.

Značně větší obsah hořečnatých iontů a draslíku v půdách v Nubře, narozdíl od Tsomoriri, je způsoben geochemickým složením Karákoramského batolitu bohatého na kationty hořčíku a složením leukogranitů (bohatých na draslík) (Phillips 2008). Při srovnání s ostatními studiemi z vysokých nadmořských výšek Cavieres a spol. (2006, 2008) (obojí z 3200 m n m) se hodnoty základních živin (NH_4^+ , PO_4^{3-} , K) výrazně neliší.

Důvodů, proč jsou v obou studovaných oblastech obsahy NH_4^+ , PO_4^{3-} a hodnota pH vyšší v okolí polštářů, je více. Zaprvé, dekompozice odumřelých pletiv, která je často zmiňována jako hlavní zdroj živin (Yang a spol. 2010), je v extrémě suchých a chladných podmínkách (<100mm srážek, průměrná teplota 0°C) Transhimaláje velice pomalá. Pravděpodobně tak není schopná dostatečně pokrýt ani nároky samotné rostliny. Nižší hodnoty pH v půdě pod polštářem jsou způsobeny činností kořenových exudátů, které jsou rostlinou vylučovány (Dekora a Phillips 2002). Za druhé, rozdíl mezi podložím a okolím rostliny může být způsoben i aktivitou půdních mikrobiálních krust, které jsou dominantou okolního prostředí. O BSC je známo, že jsou schopné dodávat živiny do okolí a zvyšovat tak jejich obsah v půdě, kde se vyskytují (Gold a Bliss 1995, Guo a spol. 2008, Stewart a spol. 2011). Například v práci Housman a spol. (2007), která studovala BSC v suchých oblastech Utahu, byly rovněž naměřeny větší hodnoty fosforu v půdách s mikrobiálními krustami, narozdíl od půd pocházejících z podloží rostlin. V extrémě suchých a chladných oblastech vysokých nadmořských výšek jsou to tedy pravděpodobně mikrobiální půdní krusty, kdo zlepšuje jinak nepříznivý půdní habitat a podporuje růst cévnatých rostlin.

Celkovou koncentraci prvků a živin ve studovaných půdách je obtížné porovnávat s půdami z jiných světových regionů z důvodu rozdílných typů vegetace. Například koncentrace dusíku v půdě na lokalitě Nubra je shodná s obsahem dusíku v půdách v suchých oblastech Izraele (Angel a spol. 2010) Další příklad je koncentrace fosforu, která je na obou lokalitách velice nízká ve srovnání s obsahem fosforu například z lesů či luk střední Evropy (Kalčík a Šantrůčková 1994). Obsah organické hmoty a koncentrace celkového dusíku je shodná s hodnotami nalezenými v subglaciálních a odledněných půdách na Svalbardu (Kaštovská a spol. 2005, Stibal a spol. 2006).

Subnivální oblasti Ladaku jsou z velké části tvořeny dobře rozvinutými půdními společenstvy, která zde svou činností zpevňují půdu a vytváří půdní mikrobiální krusty. Tato společenstva jsou dominována fototrofními mikroorganismy. Rozvoj a dominantní role mikrobiálních, zejména fototrofních společenstev ve vysokohorských oblastech Ladaku je způsoben tím, že vegetace cévnatých rostlin je zde velice řídká (0-50%) (Řeháková a spol.

submitted). Půdní mikroorganismy tak mají dostatek prostoru a živin pro svůj rozvoj. Pro fototrofní mikroorganismy je důležitý zejména dostatek světla.

Pokryvnost vegetace dosahuje ve výšce 5300 m n. m. na obou lokalitách pouhých 40%, se stoupající nadmořskou výškou pokryvnost vyšších rostlin klesá a na nejvýše položené studijní ploše (5833 m n. m.) byla pouze 1% (Klimeš a Doležal 2009, Řeháková a spol. submitted). Důvodů, proč je ve vysokých nadmořských výškách vegetace řídká, a mikroorganismy jim mohou snáze konkurovat, je několik. Prvním z nich je krátká délka vegetační sezóny. Ve výšce 5800 m n. m. jsou to pouze 2,5 měsíce, kdy průměrná denní teplotou vystoupí nad 0°C (Klimeš a Doležal 2009). Navíc rostliny potřebují ke svému vegetačnímu růstu teplotu vyšší než 5 °C (Kleidon a Mooney 2000), tudíž je vegetační sezóna nejvýše položených studovaných ploch ještě kratší. Ve vysokohorských podmínkách je rovněž zvýšené riziko takzvané „vynechané sezóny“, kdy nemusí vůbec dojít k roztání sněhové pokrývky (Klimeš a Doležal 2009). Nízké teploty mají vliv na kvetení, opylení hmyzem, dozrání semen, i tvorbu zásobních látek (Körner 2003, Chlumská 2010). Dále se rostliny musí vyrovnávat s narušováním stanovišť, např. soliflukcí (bahnotokem), který může způsobit poškození nadzemních částí rostlin a následnou redukci nadzemních prýtů (Prokushkin a spol 2010). Dalším omezujícím faktorem je omezená dostupnost vody vázané v permafrostu a střídavé zamrzání a rozmrzání svrchní vrstvy půdy. Oba tyto jevy způsobují mechanické narušení rostlin a jejich vytažení, hlavně semenáčků, z půdy (Beguín a spol 2006). Rostliny jsou dále omezeny nepříliš vyvinutými půdami v důsledku omezených pedogenetických a dekompozičních procesů (Körner 2003). Další faktory limitující růst cévnatých rostlin, jsou vysoké hodnoty UV záření a nižší parciální tlak (ve výšce 6000 m n. m. asi poloviční) (Körner a Alsos 2009).

Naproti tomu mikroorganismy, které se zpravidla vyskytují v extrémních biotopech alpského a subniválního pásu, jsou na klimatické a pedologické podmínky těchto stanovišť mnohem lépe adaptovány. K jejich růstu stačí velmi malé množství vody (Lange a spol. 1994), což je dáno jejich velikostí oproti vyšším rostlinám (μm-mm proti cm), schopností přijímat vodu celým povrchem buněk a mnoho druhů (např. *Nostoc*, *Microcoleus* spp.) nacházejících se ve studovaných půdách má okolo buněk slizové obaly. Slizové pochvy zpomalují vysychání a tím prodlužují období, kdy mohou fototrofové fotosyntetizovat a tvořit zásobní látky (Kvíděrová a spol. accepted). Mnoho druhů sinic a řas je psychrotolerantní nebo psychrotrofní a mohou růst i při teplotách 0°C (Vincent a spol. 2004, Morgan-Kiss a spol. 2006). Všechny tyto vlastnosti umožní sinicím a řasám růst a množit se mnohem delší období než vyšší rostliny. Navíc generační doba je u nich značně kratší (dny maximálně týdny), tudíž se stihnou během příznivých období mnohonásobně namnožit.

Půdní mikrobiální společenstva všech studovaných půd z obou lokalit byla dominována fototrofními mikroorganismy (s výjimkou půd pocházejících z podloží polštářových rostlin kde byly fototrofové zastoupeni jen minimálně).

Převážná část biomasy fototrofů byla tvořena sinicemi (99%), zelené řasy a rozsivky tvořili pouhé procento. Převaha sinicových skupin je pravděpodobně způsobena kombinací několika faktorů. Nejvýznamnějšími z nich jsou hodnota pH, nevyvinutý a nestabilní půdní substrát a vysoká míra UV radiace.

Mnoho studií sinic z půdy i z vodního prostředí ukazuje, že jejich diversita a početnost jsou větší v prostředí s vyššími hodnotami pH, ačkoli přesné vysvětlení, proč jsou v těchto podmínkách zpravidla úspěšnější než jiné organismy je stále nejasné (Witton a Pott 2000). Jedním z vysvětlení mohou být karboxyzomy, které sinice obsahují. Narozdíl od jiných mikroorganismů mohou aktivně využívat hydrogenuličitany (HCO_3^-) jako zdroj uhlíku. Oproti zeleným řasám či jiným mikroorganismům, které uhličitany nedokážou tak efektivně využívat, je jejich růst zvýhodněn (Gordiano a spol. 2005).

Další faktor ovlivňující složení fototrofních společenstev je hodnota UV záření, která je ve vysokých nadmořských výškách Himaláje značně vysoká. Sinice mají s ochranou proti UV záření historicky nejdelší zkušenost - vznikly v Prekambriu, tedy v době, kdy ozonová vrstva nebyla ještě zcela vytvořena. Musely snášet vysoké dávky UV záření a pravděpodobně proto se u nich vytvořil mechanismus pro efektivní ochranu před tímto zářením (Sinha a Hader 2002). Produkují řadu látek tzv. UV-protektanty, které je před jeho negativním vlivem chrání. Do slizových obalů ukládají barvivo scytonemin, které má největší účinnost v oblasti 325–425 nm (UV-A), ale dokáže pohltit i značnou část UV-C (250nm) i UV-B (280–320 nm) záření (Proteau a spol. 1993). Jako UV filtry působí i další barviva - karoteny a xantofyly, či mykosporinům podobné aminové kyseliny (320–335nm) (Kalina a Váňa 2005). Tolerance sinic k intenzivnímu slunečnímu záření může/mohla přispívat k jejich úspěchu při kolonizaci biotopů vysokých nadmořských výšek a zeměpisných šířek. Dominantní společenstva sinic byla rovněž zaznamenána v sukcesně mladých či nevyvinutých půdách v předpolích ledovců na Svalbardu (Kaštovská a spol. 2007) a v Arktidě (Chapin a Körner 1996); v krysolech Antarktidy (Nemergut a spol. 2007) či v suchých regionech na západě USA (Flechtner a spol. 1998). Množství fototrofů v půdách Ladaku je o jeden až tři řády vyšší ve srovnání s odledněnými půdami Svalbardu (Kaštovská a spol. 2005). Naměřené koncentrace chlorofylu *a* (odrážející množství biomasy sinic) jsou shodné s hodnotami chlorofylu *a* v pouštích a polopouštích na západě USA (<http://www.jcu.edu/mcp/soil.htm>).

Hrubozrnost půdního substrátu je také faktorem, který může zvýhodňovat zastoupená sinicová společenstva. S hrubými a nepevněnými částicemi nevyvinutých půd, jaké se ve studovaných oblastech vyskytují, si během kolonizace lépe poradí vláknité sinice. Díky produkci slizových pochev se mohou v takovéto půdě snáze pohybovat a posléze zpevnit její povrch. Tím zabrání erozi půdních částic a mohou zde vytvářet další kolonie (Belnap 2001).

Společenstva dominovaná sinicemi se vyskytují i na pláních centrálního Tibetu (Wong 2010); v půdách Negevské pouště v Izraeli (Bemer a Evanari 1978,); v Dry Valleys v Antarktidě (Broady a spol. 2005); v Namibské poušti v Africe (Budel 1991); na pobřeží Antarktidy (Smith a spol. 2000); v Mohavské poušti v USA (Schlesinger 2003); v centrální poušti Baja Kalifornie v Mexiku (Flechtner a spol. 1998); v tundře Arktidy (Cockell a spol. 2004); v poušti Atacama v Chile (Warren-Rhodes a spol. 2007), a v poušti Taklimakan v Číně (Warren-Rhodes a spol. 2007).

Jednou z otázek mé práce bylo, i porovnání druhového složení a množství fototrofů v půdě pod rostlinou a v půdě v okolí rostliny. Biomasa fototrofů pod polštářem byla 100x nižší, což je jednoznačně způsobeno nedostatkem světla. Polštář rostliny se každým rokem rozroste asi o 1 cm. Sinice a řasy, které jsem v podloží našla, se pod rostlinu dostaly tak, že polštář rostliny přerostl půdu, ve které se vyskytovaly. Kompaktnost *Thylacosperum*

caespitosum neumožňuje, pravděpodobně, propadnutí buněk sinic skrz polštář. Přes nedostatek světla však některé skupiny sinic a řas v podložní půdě rostliny přežily minimálně jeden rok. Přežívání životaschopných buněk fototrofů bylo pozorováno v subglaciálních systémech ledovců na Svalbardu (Kaštovská a spol. 2007, Řeháková a spol. 2010). Zajímavé jsou rozdíly v rodovém složení přežívajících sinic. Zatímco na Svalbardu se nacházely v sedimentu hlavně rody *Leptolyngbya*, v půdách Ladaku bylo dominantou *Phormidium*.

V 96 vzorcích půdy jsem určila 24 morfotypů fototrofních mikroorganismů. Nejvíce morfotypů patřilo sinicím (19). Nejpočetnější skupinou byly Chroococcales (8), následované řády Nostocales (6) a Oscillatoriales (5). Pouze tři morfotypy patří zeleným řasám a dva rozsivkám. Pozorované rody sinic jsou pro půdní mikrobiální krusty typické (Flechtner a spol. 1998, Belnap 2001). Obě studované lokality, přesto že jsou od sebe vzdálené 200km, jsou si složením morfotypů podobné z 77% podle Sørensenova koeficientu.

Množství nalezených morfotypů je relativně malé ve srovnání s teplými pouštěmi JZ-USA nebo Mexika. Flechtner a spol. (1989) zde našli 66 druhů sinic a řas z 32 rodů. Větší množství morfotypů v pouštních půdách USA a Mexika tvořily zelené řasy. Převaha zelených řas nad sinicemi byla způsobena pH půdy, které bylo 6,8-7,3.

Abych mohla provést porovnání svých lokalit s ostatními pracemi o BSC v jiných geografických oblastech, zařadila jsem mnou nalezené morfotypy na úroveň rodů a porovnávala jsem je s rodovým složením jiných geografických oblastí. Porovnání složení na druhové úrovni není možné, protože existuje jen velmi málo prací s těmito informacemi. Nejvíce shodných rodů bylo nalezeno v krustách Austrálie ($Q_s = 54\%$), nejodlišnější je rodové složení sinic v půdách Afriky ($Q_s = 33\%$) a Sředního Východu ($Q_s = 31\%$). Ovšem výsledky tohoto srovnání se mohou měnit podle toho, jak bude přibývat nových studií. Jak již bylo několikrát řečeno, prací, které by se specializovaly na fototrofní půdní mikroorganismy, zatím není mnoho, i když jich pomalu přibývá (např. Kaštovská a spol. 2005, Schmidt a spol. 2010). Nové studie mohou přinést detailnější poznatky o složení půdních fototrofů v oblastech, kde se hojně vyskytují a počty rodů či druhů tak budou přibývat. Prozatím je Ladak rodovým složením fototrofů nejvíce podobný společenstvům z pouští Austrálie.

Navzdory relativně vysokým hodnotám biomasy sinic bylo množství nalezených morfotypů poměrně malé. Obdobná situace byla popsána z evropských Alp Körnerem (1995), který rovněž pracoval v alpínské zóně. Na extrémní podmínky prostředí suchých a chladných oblastí je tedy pravděpodobně ideálně přizpůsobeno jen několik morfotypů sinic a řas, ale jejich adaptace jsou natolik dobré, že se jim v těchto nehostinných podmínkách dobře daří.

Celková biomasa fototrofů byla prokazatelně ovlivněna nadmořskou výškou, s níž lineárně stoupala. Pozitivní korelace mezi množstvím biomasy a výškou bylo u řádů Nostocales (pouze na lokalitě Tsomoriri) a Oscillatoriales (na obou lokalitách). Biomasa morfotypu *Microcoleus vaginatus* lineárně rostla s nadmořskou výškou na obou lokalitách. Biomasu morfotypů *Nostoc* sp. a *Phormidium* sp. prokazatelně rostla jen na lokalitě Tsomoriri. Negativní korelace byla zaznamenána na Tsomoriri u řádu Chroococcales. Signifikantní pokles u celé skupiny Chroococcales na této lokalitě byl pravděpodobně ovlivněn výskytem morfotypu *Cyanothece* sp., který se zde, oproti ostatním zástupcům tohoto

řádu, vyskytoval ve velkém množství a jeho množství prokazatelně klesalo s nadmořskou výškou. Na lokalitě Nubra se tento morfotyp vůbec nevyskytoval. Dalo by se předpokládat, že menší kulovité buňky chrookokálních sinic budou lépe snášet rozrušování půdy, které je ve vysokých nadmořských výškách způsobené silnými mrazy a častými zamrzání/rozmrznání cykly. Malé buňky přisedlé na jednotlivých částech půdy by ušly poškození, na rozdíl od dlouhých vláken oscilatoriálních sinic, které se při praskání půdy zpřetrhají. Přesto na této vysokohorské lokalitě chrookokální sinice takto zvýhodněny nejsou. Podle naměřených klimatických dat ze studovaných lokalit, leží ve vysokých nadmořských výškách přes zimu trvalá sněhová pokrývka, která zmírní mrazivé teploty a nedochází k tak silnému mrazovému narušování půdy. Přes léto sněhová pokrývka zmizí, ale přestože teploty vzduchu v těch nejvyšších výškách nezřídka kdy klesají hluboko pod bod mrazu, v půdě nedochází k tak velkému výkyvu teplot. Například ve výšce 5900 m n. m. na lokalitě Tsomoriri teplota půdy v měsíci srpnu téměř nikdy neklesá pod bod mrazu (Klimeš a Doležal 2009). K zvýšení teploty půdy může napomáhat také její tmavé šedo-černé zbarvení způsobené pigmentací vláknitých sinic na jejím povrchu. Další vlastností, která může ovlivňovat výskyt sinic řádu Oscillatoriales ve vyšších nadmořských výškách, je schopnost některých druhů pohybovat se v půdě. Za nepříznivých podmínek se stáhnout z povrchu půdy do nižších vrstev půdy, kde jsou proti nepříznivým podmínkám lépe chráněni. Vláknina rodu *Microcoleus* byla nalezena až 10 cm pod povrchem půdy (Belnap a Gardner 1993).

Nostokální řasy jsou obecně považovány za schopné kolonizovat nové nevyvinuté půdy, vzhledem k jejich schopnosti fixovat vzdušný dusík, který může být limitující živinou v půdách vyskytujících se v extrémních ekosystémech (Whitton 2000). Nicméně jeho biomasa prokazatelně narůstá se stoupající výškou na lokalitě Tsomoriri, kde zároveň průkazně narůstá i koncentrace dusíku v půdě. RDA analýza neodhalila žádný měřený fyzikálně-chemický parametr půdy, který by nárůst Nostocales, ani jiných skupin sinic vysvětloval. Pravděpodobně je jejich hojný výskyt v nejvyšších nadmořských výškách ovlivňován jiným faktorem, nebo faktory, které jsem neměřila. Podle výsledků studie opublikované Garcia-Pichel a Pringault (2001) můžeme předpokládat, že faktor, který zvýhodňuje Nostocales a Oscillatoriales ve vyšších nadmořských výškách Ladaku, je přítomnost slizových obalů u pozorovaných morfotypů (*Nostoc*, *Microcoleus*). Slizové obaly zvyšují jejich schopnost odolávat vysychání.

Přesto, že je celková biomasa fototrofů nalezených v podloží polštáře asi 100 x menší než v půdních krustách z okolí, tyto dva habitaty se liší složením dominantních morfotypů. Půdní krusty jsou téměř na všech odběrových místech dominovány morfotypem *Microcoleus vaginatus*. Výjimku tvoří nejmenší nadmořská výška v Nubře, kde je dominantní *Phormidium* sp.. V celkové biomase z okolních půd na obou lokalitách představuje *Microcoleus vaginatus* 42-43%, *Phormidium* sp. 34% (Nubra) a 25% (Tsomoriri). Složení fototrofů nalezených v podloží je oproti tomu zcela dominované morfotypem *Phormidium* sp. (76-79%). Tento morfotyp je pravděpodobně lépe přizpůsoben k delšímu přežívání bez přístupu světla. V podloží nepřežily žádné zelené řasy ani rozsivky.

Rod, či morfotyp *Microcoleus vaginatus* je zmiňován jako dominantní z většiny dosud prozkoumaných suchých či extrémě suchých oblastí světa (Belnap 2001). V Himalájích byl jeho dominantní výskyt (54%) nedávno prokázán také v suché oblasti centrálního Nepálu

(Schmidt a spol. 2010). Další nálezy jsou zaznamenány v Coloradu, v Andách, kde byl rovněž fylogeneticky prokázán (Schmidt a spol. 2009) a jako morfotyp byl nalezen v Arktidě, Alpách i Antarktických půdách (Broady 1996, Cowan 2004, Drouet 1962). Přestože jsou si tyto jednotlivé geografické oblasti značně vzdálené, výskyt tohoto jednoho druhu ve všech podobných ekosystémech by podporoval teorii globálního rozšíření (Green a spol. 2008). Například právě vysokohorské pouště Himalájí leží obklopené horkou subtropickou oblastí a tropickými biomy.

Složení fototrofních společenstev jsem určovala také pomocí molekulární metody DGGE. Použila jsem primery specifické pro gen 16S rRNA u sinic, pro úsek dlouhý 422 bází. Primery byly navrženy Nübel a spol. (2006). Zajímalo mě, zda se ve společenstvech nenacházejí kryptické druhy, které jsem nebyla schopna určit po mikroskopem, či naopak – zda jeden druh není zastoupen dvěma různými morfotypy. Nicméně se mi ve všech zkoumaných vzorcích podařilo získat profily, které obsahovaly pouze 4 proužky – fylotypy. Výsledky DGGE analýzy byly shodné ve všech 48 studovaných vzorcích. Na analýzu byly použity pouze půdy s okolí polštáře *T. caespitosum*, protože měly dostatečné množství biomasy sinic, z kterých bylo možné vyisolovat DNA. Tato oproti očekávání malá diversita fylotypů zobrazená touto metodou je pravděpodobně zapříčiněna průběhem PCR. Jak ukazují hodnoty biomas jednotlivých morfotypů, ve společenstva jsou vždy tvořena několika málo dominantními morfotypy s velkou biomasou. Vzhledem k tomu, že během PCR se nukleotidové sekvence amplifikují exponenciálně, může být signál z počátku málo zastoupených fylotypů přehlušen a ve výsledku zcela vymizet.

Čtyři získané fylotypy jsme vyizolovala a sekvence porovnávala s daty v GenBanku. Ukázalo se, že nejméně 2 získané fylotypy (S1 a S2) z půd Ladaku jsou unikátní (<95% podobnosti) a bylo by je možno oddělit jako nový rod sinic na základě podobnosti 16S rRNA. Jak bylo navrženo na základě výsledků prací Aman a spol. (1992) a Stackebrandt a Goebel (1994), které ukazují, že organismy, které mají 97% podobnost 16S rRNA mají podobnost celkové DNA větší než 70%. Hranice 95% podobnosti 16S rRNA byla stanovena podle bakteriologického kódu jako dobrý ukazatel k oddělení nového rodu a hranice 97% k odlišení nového druhu. Fylotyp S1 patří do řádu Chroococcales, ale jeho bližší určení do rodu a druhu není možné (podobnost sekvencí pouhých 93%). Fylotyp S2 patří do řádu Nostocales, bližší určení není možné (podobnost 90%). Proto také ve fylogenetickém stromě nespadá do žádného z vytvořených klastřů. V doposud neprozkoumaných oblastech Ladaku bude pravděpodobně objeveno mnoho nových druhů a rodů (Swift 1999). Fylotyp S3 je na hranici popsání nového druhu (<97% podobnosti 16S rRNA). Fylotyp S3 patří do řádu Oscillatoriales, čeledi Phormidiaceae, rod *Phormidium*, druhové určení je možné provést jako *Phormidium autumnale* sensu lato nebo popsat nový druh. Jediným fylotypem, který měl 100% podobnost se sinicí v GenBanku je fylotyp S4, který odpovídá druhu *Phormidium subfuscum*.

Jak již jsem zmínila dříve, vzorky půd Ladaku obsahovaly velké množství biomasy morfotypu *Microcoleus vaginatus*, přesto se mi ho nepodařilo metodou DGGE nalézt. Ve vzorcích nemohl být signál jeho fylotypu přehlušen jinými fylotypy, a přesto ani jedna ze získaných sekvencí neodpovídá, ani vzdáleně tomuto druhu, ani rodu. Tento fakt mohl být způsoben několika faktory. Zprv se mi nepodařilo vyisolovat jeho DNA. Z prací Boyer a

spol. (2002) a z práce O. Struneckého z Botanického ústavu v Třeboni (ústní sdělení) je však zřejmé, že u *M. vaginatus* není problém s izolací DNA. Další možností, proč jsem nenašla *M. vaginatus* při molekulární analýze může být možnost, že *M. vaginatus* a *Phormidium* sp. jsou dva morfotypy jednoho genotypu. Tuto hypotézu podporuje skutečnost, že v mnou získaných profilech DGGE dvě sekvence odpovídají fylotypům rodu *Phormidium*. Zároveň v práci Řeháková a spol. (submitted), která se věnovala složení sinic v různých vegetačních typech vysokých nadmořských výšek Ladaku, dochází k změnám biomasy *Phormidium* x *Microcoleus* v závislosti na množství biomasy řádu Nostocales. Teorie dvou morfotypů a jednoho genotypu je podpořena také doposud neopublikovanými výsledky fylogenetické analýzy genu 16S rRNA a 16S-23S ITS O. Struneckého a spol., které ukazují, že *Phormidium autumnale* sensu lato a *Microcoleus vaginatus* tvoří jeden klast. V klastu jsou zastoupeny sekvence z různých geografických oblastí, takže potvrzují teorii globálního rozšíření morfotypu *M. vaginatus*.

Z výsledků mé práce je vidět, že sinice a řasy mají schopnost zvládat specifické suché a chladné podmínky v Ladaku i ve velkých nadmořských výškách. Z literatury je známo, že heterotrofní bakterie nemají žádný výškový limit. Vyskytují se všude tam, kde mají k dispozici potřebné množství organického materiálu a alespoň trochu vláh (Swan 1992). Z výšek 8400 m n. m. na Mt. Everestu bylo vyizolováno mnoho druhů bakterií, ale mezi nimi žádné sinice. Předkládaná práce potvrdila výskyt fototrofních mikroorganismů a jejich dominanci v biologických půdních krustách až ve výškách 5833 m n. m.. Dá se předpokládat, že sinice stejně jako bakterie můžeme nalézt všude tam kde, mají dostatek světla, živin a vláh.

7 Závěr

Práce přinesla první poznatky o půdních mikrobiálních společenstvech z dosud neprozkoumaných oblastí vysokohorských pásem Ladaku. Zjistila, že zdejší mikrobiální společenstva jsou dominována sinicemi, a že jejich biomasa je největší ve vysokých nadmořských výškách. Nebyl zjištěn žádný fyzikálně – chemický parametr půdy, který by jejich výskyt ovlivňoval. Přes velké hodnoty biomasy bylo determinováno pouze 24 morfotypů fototrofních mikroorganismů, což je ve srovnání s podobnými lokalitami jinde ve světě podobné. Ladak se složením sinic nejvíce podobá suchým oblastem Austrálie. Tato zjištění tak otevírají další otázky, které bude třeba v budoucnu řešit.

8 Seznam použité literatury:

- AMUNDSON R, FRIEDMANN IE, MCKAY CP (2006):** HYPOLITHIC CYANOBACTERIA, DRY LIMIT OF photosynthesis and microbial ecology in the hyperarid Atacama Desert, Chile. - *Microb Eco* 52:389–398
- ANGEL R, SOARES MIM, INVAR ED, GILLOR O (2010)** Biogeography of soil archaea and 30 bacteria along a steep precipitation gradient - *ISME* 4: 553–563
- ANGEL R, SOARES MIM, INVAR ED, GILLOR O (2010)** Biogeography of soil archaea and bacteria along a steep precipitation gradient. *ISME* 4: 553–563
- BABTIST F., ZINGER L., CLEMENT J.C., GALLET C., GUILLEMIN R., MARTINS J.M.F., SAGE L., SHAHNAVAZ B., CHOLER PH., GEREMIA R.A. (2008):** Tannin impacts on microbial diversity and the functioning of alpine soils: a multidisciplinary approach – *Environmental Microbiology* 10: 799–809
- BARDGETT, R.D., BOWMAN, W.D., KAUFMANN, R. AND SCHMIDT, S.K. (2005)** A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, 634–641.
- BEGUIN C, SONNEY MP, VONLANTHEN M (2006):** The vegetation of polygonal soils at the upper alpine and subnival belts in Switzerland. - *BOTANICA HELVETICA* Volume: 116 Issue: 1 Pages: 41–54
- BELNAP J (2001)** Comparative structure of physical and biological soil crusts, In *Biological Soil Crusts : Structure, Function and Management*, pp. 177–191 eds. J Belnap & OL Lange (Springer-Verlag : Berlin, Germany)
- BELNAP J.: (2003).** The world at your feet: desert biological soil crusts. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1: 181–18
- BELNAP J. A GARNDNER J.S. (1993)** Microstructure of Soil *microstructure of the Colorado Plateau: The role of the cyanobacterium Microcoleus vaginatus: Great basin Nat.* 530
- BELNAP J. AND LANDE O.: Biological soil crust: Structure, Functunon and Management**
- BERNER T, EVANARI M (1978)** The influence of temperature and light penetration on the abundance of the hypolithic algae in the Negev Desert of Israel. *Oecologia* 33:255
- BOOTH, M.S., STARK, J.M. AND RASTETTER, E. (2005)** Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. *Ecological Monographs*, 75, 139–157.
- BOUTTE C., S. GRUBISIC, P. BALTHASART AND A. WILMOTTE –(2006)** Testing of primers for the study of cyanobacterial molecular diversity by DGGE. *Journal of Microbiological Methods*
- BROADY P. A. (1981)** The ecology of sublithic terrestrial algae at the Vestfold Hills, Antarctica. *British Phycol J* 16:231–240
- BROADY P. A. (2005)** The distribution of terrestrial and hydroterrestrial algal associations at three locations in southern Victoria Land, Antarctica - *Algological Studies* 118:95–112
- BUDEL B., WESSELS D. C. J. (1991):** Rock inhabiting blue green algae from hot arid regions – *Archiv Fur Hydrobiologie* 92:385–398
- CAMERON RE, KING J, DAVID CN (1970):** Soil microbial ecology of Wheeler Valley, Antarctica - *Soil Sci* 109: 110–120
- CLARK J, CAMPBELL J, GRIZZLE H, ACOSTA-MARTINEZ V, ZAK J (2009)** Soil microbial community response to drought and precipitation variability in the Chihuahuan Desert. *Microb Ecol* 57: 248–260

- COCKELL CS, STOKES MD** (2004): Widespread colonization by polar Hypoliths: *Nature* 431:414–415
- DAKORA F.D. , AND DONALD A. P. (2000)**: Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments: *Cape Technikon*, Room 2.8 Admin. Bldg., P.O. Box 652 ,Cape Town 8000, South Africa. Departement of Agronomy and Range Science , University of California, Davis, CA 95616, USA
- DVORSKÝ M., DOLEŽAL J., DE BELLO F., KLIMEŠOVÁ J. AND KLIMEŠ J.** (2011): Vegetation types of East Ladakh: species and growth form composition along main environmental gradients - *Applied Vegetation Science* (in press)
- ELDRIDGE DI, GREEN RSB** (1994) Microbiotic soil crusts: a review of their roles in soil and ecological processes in the rangelands of Australia – *Australia J. Soils. Res.* 31
- ELDRIDGE, D.J. AND ROSENTERETER, R.** (1999). Morphological groups: a framework for monitoring microphytic crusts in arid landscapes. *Journal of Arid Environments* **41**, 11–25.
- ELDRIDGE, D.J. AND TOZER, M.E.** (1996). Distribution and floristics of bryophytes in soil crusts in semi-arid and arid eastern Australia. *Australian Journal of Botany* **44**, 223–247
- ELDRIDGE, D.J. AND TOZER, M.E.** (1997). *A Practical Guide to Soil Crust Lichens and Bryophytes of Australia's Dry Country*. Department of Land and Water Conservation, Sydney
- FIERER N** (2008). Microbial biogeography: patterns in the microbial diversity across space and time. In Zengler K (ed) *Accessing Uncultivated Microorganisms: from the*
- FIERER N, JACKSON RB** (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities- *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103:626–631
- FLECHTNER VR, JOHANSEN JR, CLARK WH (1998)**: Algal composition of microbiotic crusts from the Central Desert of Baja California, Mexico - *GREAT BASIN NATURALIST* Volume: 58 Issue: 4 Pages: 295–311 Published: OCT 1998
- FODEN W., MACE G., VIE J.–CH., ANGULO A., BUTCHART S., DEVANTEIER L.** (2008): Species susceptibility to climate change impacts. IUCN Gland Switzerland, 14 pp.
- GARCIA-PICHEL F., LOPEZ-CORTES A., AND NUBEL U.** (2001) Phylogenetic and morphological diversity of cyanobacteria in soil desert crusts from the Colorado Plateau - *Appl Environ Microbiol* **67**: 1902–1910
- GARDIC C, MONTANARELLA L, ARROUAYS D, BISPO D, LEMANCEAU P, JOLIVET C, MULDER C, RANJARD L, ROMBKE C, RUTHERS M, MENTA C** (2009): Soil biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *Eur J Soil Sci* **60**: 807 –819
- GIORA J. KIDRONA, AHUVA VONSHAKB, INKA DORC, SOPHIA BARINOVAD AND AHARON ABELIOVICHE** (2010): Properties and spatial distribution of microbiotic crusts in the Negev Desert, Israel - *CATENA*, Volume 82, Issue 2, 15 August 2010, Pages 92–101
- GROTE E., BELNAP J., HOUSMAN D. C. AND SPARKS J.** (2010): Carbon exchange in biological soil crust communities under differential temperatures and soil water contents: implications for global change - *Global Change Biology* **16**, 2763–2774
- GUILLOT S., MAHÉO, G., DE SIGOYER, J., HATTORI, K.H., PÊCHER, A.** (2008): Tethyan and Indian subduction viewed from the Himalayan high- to ultrahigh-pressure metamorphic rocks - *Tectonophysics* **451**: 225–241
- GEITLER L.** (1932): Cyanophyceae. – In: Rabenhorst's Kryptog.-Fl. **14**: 1196 pp., Leipzig.
- GÓMEZ-SILVA B, AMUNDSON R, FRIEDMANN IE, MCKAY CP** (2006) Hypolithic cyanobacteria, dry limit of photosynthesis and microbial
- GORDIANO M, BEARDALL J, RAVEN JA** (2005) CO₂ concentrating mechanism, environmental modulation and evolution. *Annu Rev Plant Biol* **56**: 99–131
- HERRICKA, J.E., VAN ZEEA, BELNAP J., JOHANSEN J.R. AND REMMENG M.** (2010): Fine gravel controls hydrologic and erodibility responses to trampling disturbance for coarse-textured soils

- with weak cyanobacterial crusts - *CATENA*: Volume 83, Issues 2-3, November-December 2010, Pages 119-126
- GARCIA-PICHEL F., BELNAP J., NEUER S., SCHANZ F.** (2003) Estimates of global cyanobacterial biomass and its distribution - *Algological Studies* 109: 213–227
- HEYWOOD VH** (1995) A global strategy for the conservation of plant diversity. *Grana* 21 34: 363-366
- HINDÁK, F.** (1978): Sladkovodné riasy. Slovenské pedagogické nakladateľstvo, Bratislava p.728
- CHAPIN III F. S., KÖRNER C.** (1996): Arctic and alpine biodiversity: Pattern, causes and consequences – *Ecological Studies* 113, Springer-Verlag Berlin
- CHLUMSKÁ Z.** (2010) Funkční vlastnosti vysokohorských rostlin východního Ladaku (SZ Himaláje). Diplomová práce, PrF JCU, České Budějovice str. 80
- JOHANSEN J. R., SHUBERT L. E.** (2001): Algae in soils - *Nowa Hedwigia*, Beiheft 123: 295 – 304
- JONASSON S, MICHELSEN A, SCHMIDT IK, NIELSEN EV** (1999) Responses in microbes and plants to changed temperature, nutrient, and light regimes in the arctic. *Ecology* 80:
- KALČÍK J, ŠANTRŮČKOVÁ H** (1994) Profilová distribuce forem půdního fosforu v závislosti na stupni antropogenního ovlivnění [Profile distribution of soil phosphorus in the dependence of the intensity of anthropogenic usage]- *Rostlinná výroba* 305-314
- KAŠTOVSKÁ K, STIBAL M, ŠABACKÁ M, ČERNÁ B, ŠANTRŮČKOVÁ H, ELSTER J** (2007) Microbial community structure and ecology of subglacial sediments in two polythermal Svalbard glaciers characterized by epifluorescence microscopy and PLFA. *Polar Biol* 30:277–287
- KAŠTOVSKÁ K, ELSTER J, STIBAL M, ŠANTRŮČKOVÁ H** (2005): Microbial assemblages in soil microbial succession after glacial retreat in Svalbard (High Arctic) - *Microb Ecol* 50: 396-407
- KIMBROUGH D. E., WAKAKUWA J.** (1991) Report of the an interlabopratory study comparing EPA SW –846 method 3050 (1) and an alternative method from the California department of health services– *Waste testing and quality* 1075: 231-30
- KLIMEŠ L.** (2003): Life-forms and clonality of vascular plants along an altitudinal gradient in E Ladakh (NW Himalayas) - *Basic Appl. Ecol.* 4: 317–328.
- KLIMEŠOVÁ J., DOLEŽAL J., DVORSKÝ M., DE BELLO F. KLIMEŠ L.** (2010): Clonal Growth Forms in Eastern Ladakh, Western Himalayas: Classification and Habitat Preferences – *Folia Geobotanica*
- KOMÁREK J. AND ANAGNOSTISID K.** (1998): Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. - In: ETTL H., GÄRTNER G., HEYNIG H. and MOLLENHAUER D. (eds): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, 548 pp.
- KOPÁČEK J., HEJZLAR J.** (1993) Semi-Micro Determination of Total Phosphorus in Fresh-Waters with Perchloric-Acid Digestion - *Int J Environ An Ch* - 53: 173-183
- KÖRNER, C. AND ALSOS, I. G.** (2009) Freezing resistance in high arctic plant species of Svalbard in mid-summer. *Bauhinia*, 21, 25-32.
- KÖRNER C** (1995) Alpine plant diversity: a global survey and functional interpretation. In Chapin, FS III and Körner C (eds). Arctic and Alpine biodiversity: Patterns, Causes and Ecosystem Consequences . Springer-Verlag
- KÖRNER C.** (2003) Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems. 2nd edition, Springer, Berlin
- KUBEČKOVÁ K.** (2002) Ph.D. thesis: Ecology and Molecular Biology of Microbial Soil Crusts in the Deserts of Western USA.

- KVÍDEROVÁ J, ELSTER J, ŠIMEK M** (2011) In situ response of *Nostoc commune* s.l. colonies to desiccation in Central Svalbard, - *Norwegian High Arctic. Fottea* 11, accepted
- LUKESOVA A.** (2001): Soil algae in brown coal and lignite post-mining areas in central Europe (Czech Republic and Germany) – *Restoration Ecology* 9: 341-350
- MEHLICH A.** (1978) New extractant for soil test evaluation of phosphorus, potassium, magnesium, calcium, sodium, manganese, and zinc - *Commun. in Soil Sci Plant Anal* 9: 477 - 492
- MISHRA CH., HUMBERT- DROZ B.** (1998): Avifaunal survey of Tsomoriri Lake and adjoining Nuro Sumdo Wetland in Ladakh, Indian trans-Himalaya – *Forktail* 14: 67-70
- MORGAN-KISS RM, PRISCU JC, POCKOCK T** (2006) : Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments - *MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS* Volume: 70 Issue: 1 Pages: 222-+
- MUYZER, G. DE WAAL, E.C., AND UITTERLINDE A.G.** (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700.
- NEMERGUT D.R., COSTELLO E.K., MEYER A.F., PESCADOR M.Y., WEINTRAUB M.N., AND SCHMIDT S.K.** (2005) Structure and function of alpine and arctic soil microbial communities - *Res Microbiol* 156: 775–784
- PAULI H., GOTTFRIED M., REITER K., KLETTNER C. AND GRABHERR G.** (2007) Signals of range expansions and contractions of vascular plants in the high Alps: observations (1994-2004) at the GLORIA* master site Schrankogel, Tyrol, Austria - *Global Change Biology* 13: 147-156
- PÊCHER A., SEEBER L., GUILLOT S., JOUANNE F., KAUSAR A., LATIF M., MAJID A., MAHÉO G., MUGNIER J.L., ROLLAND Y., VAN DER BEEK P., VAN MELLE J.** (2008): Stress field evolution in the Northwest Himalayan syntaxis, Northern Pakistan - *Tectonics*
- POINTING SB, CHAN Y, LACAP DC, LAU MCY, JURGENS J, FARRELL RL** (2009) Highly specialized microbial diversity in hyper-arid polar desert - *Proc Natl Acad Sci USA* 106:19964–19969
- PYŠEK P, LIŠKA J.** 1991. Colonization of *Sibbaldia tetrandra* cushions on alpine scree in the Pamiro-Alai Mountains, Central Asia. *Arctic and Alpine Research* 23: 263–272.
- ROLLAND Y., PÊCHER A., PICARD C., LAPIERRE H., BOSCH D. AND KELLER F.** (2002): The Ladakh Arc of NW Himalaya - Slab melting and melt-mantle interaction during fast northwards drift of Indian plate - *Chemical Geology* 182: 139-178
- ŘEHÁKOVÁ K., STIBAL M., ŠABACKA´ M., ŘEHÁK J. .** (2010):, Survival and colonisation potential of photoautotrophic microorganisms within a glacierised catchment on Svalbard - *High Arctic Polar Biol* (2010) 33:737–745
- SAUGIER B., ROY J., MOONEY H. A.** (2001) Estimates of global terrestrial productivity: converging toward a single number? - *Terrestrial Global Productivity* 543–557
- SCHLESINGER WH, PIPPEN JS, WALLENSTEIN MD, HOFMOCKEL KS, KLEPEIS DM, MAHALL BE** (2003): Community composition and photosynthesis by photoautotrophs under quartz pebbles, southern Mojave Desert. *Ecology* 84:3222–3231
- SCHMIDT S. K., NEMERGUT D. R., MILLER A. E., FREEMAN K. R., KING A. J., SEIMON A.** (2009) Microbial activity and diversity during extreme freeze-thaw cycles in periglacial soils, Cordillera Vilcanota, Perú – *Extremophiles* 13: 807-816
- SCHMIDT SK** (2007) Microbial Community Succession in an Unvegetated, Recently Deglaciaded Soil - *Microbial Ecol* 53:110-122
- SINHA RP, HADER DP** (2002) UV-induced DNA damage and repair: a review - *Photoch Photobio Sci* 1: 225-236
- SKLENÁŘ P.**(2009): Presence of cushion plants increases community diversity in the

High equatorial Andes - *Flora* 204: 270–277.

SMITH M.C., BOWMAN J.P., SCOTT F.J., LINE M.A. (2000) Sublithic bacteria associated with Antarctic quartz stones: *Antarct Sci* 12:177

permafrost Zone of Central Evenkia : *BIOLOGY BULLETIN* (37): 80-88 P

STIBAL M, ŠABACKÁ M, KAŠTOVSKÁ K (2006) Microbial communities on glacier surfaces in Svalbard: the impact of physical and chemical properties on abundance and structure of cyanobacteria and algae - *Microb Ecol* 52:644-654

SWAN L.W. (1992) The aeolian biome, ecosystems of the Earth's extremes – *Bioscience* 42: 262 - 270

SWIFT M (1999) Integrating soils, systems, and society. *Nature and Resources*, 35, 12-25 20.

VINCENT WF, MUELLER DR, BONILLA S (2004): Ecosystems on ice: the microbial ecology of Markham Ice

Shelf in the high Arctic - *CRYOBIOLOGY* 48/ 2,Pages: 103-112

WALTHER G., HUGHES L., VITOUSEK P. AND STENSETH N. C. (2005) Consensus on climate change. *Trends in Ecology and Evolution* 20: 648-649

WALTHER G., POTT R. AND BEIBNER S. (2006) Climate change and high mountain vegetation shifts - *Mountain and northern ecosystems*, Münster

WARREN-RHODES K, RHODES KL, POINTING SB, BOYLE L, DUNGAN J, LIU S, ZHOU P, MCKAY CP (2007): Lithic cyanobacterial ecology across environmental gradients and spatial scales in China's hot and cold deserts. *FEMS Microbiol Ecol* 61:470–482

WARREN-RHODES K, RHODES KL, POINTING SB, EWING S, LACAP DC, GÓMEZ-SILVA B, PROTEAU, W. H. GERWICK, F. GARCIA-PICHEL AND R. CASTENHOLZ: The structure of scytonemin, an ultraviolet sunscreen pigment from the sheaths of cyanobacteria *Cellular and Molecular Life Sciences* Volume 49, Number 9, 825-829, DOI: 10.1007/BF01923559

WARREN-RHODES K, RHODES KL, POINTING SB, BOYLE L, DUNGAN J, LIU S, ZHOU P, MCKAY CP (2007): Lithic cyanobacterial ecology across environmental gradients and spatial scales in China's hot and cold deserts: *FEMS Microbiol Ecol* 61:470–482

WARREN-RHODES K, RHODES K.L., POINTING SB, EWING S, LACAP DC, S. G. PROKUSHKIN, T. N. BUGAENKO, A. S. PROKUSHKIN, AND V. G. SHIKUNOV (2010): Succession-driven Transformation of Plant and Soil Cover on Solifluction Sites in the

WOLF B. (1982): A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosing crop nutrients status - *Comm Soil Sci Plant Anal* 13: 1035-1059

WOOD S.A., RUECKERT A., COWAN D.A., AND CARY S.C. (2008) Sources of edaphic cyanobacterial diversity in the Dry Valleys of Eastern Antarctica - *ISME J* 2: 308 – 320

WHITTON BA, POTT M (2000): The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, London, Boston pp 668

YERGEAU E, NEWSHAM KK, PEARCE DA, KOWALCHUK GA (2007) Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats. *Environ Microbiol* 9: 2670–2682

ZBÍRAL J., HONSA I., MALÝ S. (1997): Analýza půd III. Jednotné pracovní postupy. [Soil analyses III. Standard methods] Brno, ÚKZÚZ, pp 150

ZELLER, V., BAHN, M., AICHNER, M. AND TAPPEINER, U. (2000) Impact of land-use change on nitrogen mineralization in subalpine grasslands in the Southern Alps. *Biology and Fertility of Soils*, 31, 441–448.

ZINGER L., GURY J., ALIBEU O., RIOUX D., GIELLY L., SAGE L., POMPANON F.,

- GEREMIO R.A.** (2008): CE-SSCP and CE-FLA, simple and high throughput alternatives for fungal diversity studies - *Journal of Microbiological Methods* 72: 42-53
- ZINGER L., GURY J., GIRAUD F., KRIVOBOK S., GIELLY L., TABERLET P., GEREMIA R.A.,** (2007): Improvements of polymerase chain reactions and capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism methods in microbial ecology: toward a high-throughput method of microbial diversity studies in soil – *Microbial Ecology* 54: 203-216
- ZINGER L., SHAHNAVAZ B., BAPTIST F., GEREMIA R.A., CHOLER P.** (2009): Microbial diversity in alpine tundra soils correlates with snow cover dynamics – *ISME Journal* 20: 1-10

9 Přílohy

Tab. 13.: Střední hodnoty a směrodatné odchylky (s.d.) fyzikálně-chemických parametrů půdy z nadmořských výšek z obou lokalit rozdělené podle typu habitatu. Textura ukazuje procentuální zastoupení půdních částic větších než 0,5 mm; OM – organická hmota (organic material); P – podloží polštářové rostliny; O – okolí polštáře

	NH4 [mg/kg]		NO3 [mg/kg]		Total N [mg/kg]		PO4 [mg/kg]		Ca [g/kg]		Mg [g/kg]		K [g/kg]		Na [g/kg]		OM %	
Výška [m n. m.]	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O
4620	1.68	2.4	0.55	1.4	487.5	612.87	17.55	22.96	5.18	7.32	8.15	7.64	6.53	5.94	0.55	0.44	2.41	1.79
4870	2.55	2.3	0.78	1.24	1686.19	1384.57	21.14	25.71	32.59	33.33	8.53	9.94	3.68	4.44	0.63	0.73	7.18	3.01
5020	1.68	2.04	2.73	0.99	1163.18	778.02	12.56	14.44	12.73	17.28	7.57	8.45	3.95	3.96	0.88	0.89	4.42	2.69
5200	1.39	1.75	1.3	0.87	985.46	1024.12	12.26	13.04	17.71	17.56	7.52	8.31	3.71	4.11	0.89	0.86	2.75	2.91
5340	1.07	2.02	1.2	2.69	833.41	738.42	28.24	39.55	2.91	2.5	3.53	3.07	3.01	2.4	0.29	0.13	2.32	2.47
5570	1.02	1.8	0.67	1.02	697.31	956.83	14.05	20.79	2.48	3.02	2.83	3.09	1.83	2.05	0.16	0.17	1.98	2.19
5740	1.11	1.78	0.89	1.19	1252.07	1147.51	24.8	23.14	2.35	2.87	2.53	2.6	2.21	2.2	0.48	0.6	2.63	2.34
5830	1.13	2.12	0.59	1.19	1415.44	1553.97	12.67	17.16	2.51	3.6	2.16	2.49	1.85	2.15	0.51	0.61	2.82	2.85
	textura %		pH		Chlorofyl a [mg/kg]		Chlorofyl P [mg/kg]		Chlorofyl c [mg/kg]		karotenoidy [mg/kg]		Bakterie Buňky*108/g OM					
Výška [m n. m.]	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O	P	O				
4620	53.96	55.43	8.36	8.51	1.22	6.75	0.98	5.93	1.3	7.09	0.43	2.03	54.73	30.89				
4870	19.93	25.93	8.53	8.66	1.22	8.52	1.58	7.18	2.43	8.66	1.02	2.22	32.29	49.54				
5020	14.37	17.97	8.59	9	1.11	5.97	1.39	6.36	2.1	7.94	0.84	1.61	7.73	44.62				
5200	42.5	35.86	8.44	8.65	1.79	10.32	2.56	11.77	3.68	14.83	1.37	1.34	26.13	35.51				
5340	11.91	13.3	7.66	8.13	0.49	1.94	0.51	2.03	0.79	3.24	0.32	0.55	56.71	49.49				
5570	10.6	10.2	7.66	8.33	1.63	11.42	2.16	13.1	3.48	16.39	0.4	0.53	57.53	68.1				
5740	15.08	13.42	7.1	8.03	4.11	11.57	5.99	12.34	9.6	16.47	0.96	0.59	66.04	76.22				
5830	20.14	18.58	6.86	7.77	3.61	18.26	5.06	22.72	8.2	29.81	1.85	0	58.87	54.32				

Nubra									Tsomoriri										
	habitat			nadmořská výška			interakce faktorů				habitat			nadmořská výška			interakce faktorů		
	χ²	P		χ²	P		χ²	P			χ²	P		χ²	P		χ²	P	
NH₄	4.68	0.030	out>in	4.48	0.034	↓	0.49	0.485	↑in↓out	18.51	0.000	out>in	0.02	0.895		0.03	0.869		
NO₃	0.84	0.359		1.25	0.264		9.27	0.002		6.71	0.010	out>in	9.23	0.002	↓	2.47	0.116		
Total N	1.44	0.230		1.54	0.215		0.26	0.609		0.45	0.503		7.27	0.007	↑	0.34	0.560		
PO₄	6.67	0.010	out>in	12.24	0.000	↓	2.82	0.093		5.84	0.016	out>in	5.82	0.016	↓	3.47	0.062		
Ca	0.80	0.370		1.09	0.296		0.05	0.830		4.08	0.043	out>in	0.51	0.477		7.11	0.008	↓in↑out	
Mg	4.80	0.029	out>in	0.24	0.621		2.60	0.107		0.09	0.762		12.15	0.000	↓	2.67	0.102		
K	0.76	0.383		17.04	0.000	↓	3.19	0.074		0.05	0.828		4.30	0.038	↓	5.55	0.019	greater in	
Na	0.11	0.738		30.29	0.000	↑	0.71	0.398		0.23	0.632		21.07	0.000	↑	10.66	0.001	greater out	
OM	8.25	0.004	in>out	0.30	0.582		0.53	0.465		0.02	0.885		1.15	0.284		0.23	0.632		
Texture	0.23	0.631		5.47	0.019	↓	1.44	0.230		0.57	0.449		7.95	0.005	↑	2.79	0.095		
pH	7.99	0.005	out>in	1.64	0.201		0.45	0.501		39.15	0.000	out>in	10.28	0.001	↓	6.62	0.010	greater in	
Půdní bakterie	1.66	0.197		1.82	0.177		3.94	0.047	↓in↑out	0.16	0.689		0.72	0.395		0.18	0.673		
Půdní fototrofové	31.56	0.000	out>in	0.00	1.000		0.02	0.894		21.29	0.000	out>in	0.27	0.603		0.31	0.581		
Chlorofyl a	49.11	0.000	out>in	2.33	0.127		1.35	0.245		26.66	0.000	out>in	26.27	0.000	↑	17.02	0.000	greater out	
Chlorofyl b	38.06	0.000	out>in	7.73	0.005	↑	3.50	0.061		21.26	0.000	out>in	24.23	0.000	↑	12.18	0.000	greater out	
Chlorofyl c	32.45	0.000	out>in	8.52	0.004	↑	3.34	0.068		19.38	0.000	out>in	22.93	0.000	↑	8.96	0.003	greater out	
Karotenoidy	13.53	0.000	out>in	0.00	0.947		8.12	0.004	↑in↓out	3.81	0.051		2.75	0.097		10.13	0.001	↑in↓out	

Tab. 14.: Vliv nadmořské výšky a habitatu na fyzikálně-chemické parametry půdy na lokalitách Nubra a Tsomoriri. Efekt každého testovaného faktoru (habitat, nadmořská výška, jejich interakce) byl odhadnut na základě maximální věrohodnosti (maximal likelihood) s χ^2 distribucí; *habitat*-půda z okolí rostliny/z jejího podloží; *interakce* – interakce vlivu nadmořské výšky a habitatu; červeně označené p-hodnoty označují signifikantně průkazný efekt daného faktoru; symbol ↑ znázorňuje pozitivní závislost hodnoty parametru s daným faktorem; symbol ↓ znázorňuje negativní závislost s daným faktorem; in – označuje ve zkratce habitat z podloží rostliny; out – označuje ve zkratce habitat z okolí rostliny

Biomasa Nubra $\mu\text{m}^3/\text{mg}$ sušiny								
	4620 O	4620 P	4870 O	4870 P	5020 O	5020 P	5200 O	5200 P
CB fototrofů	3539020	10037.91	3115168	2581	4480213	13534.87	7378722	6106.602
CB sinic	3503533	10037.91	3113414	2581	4453000	13534.87	7300687	6106.602
CB Nostocales	834407.3	813028.9	1675.2	430089	982	746085.7	863.775	838149.7
Coleodesmium sp.	21378.43	0	0	0	0	0	0	0
Nostoc sp.	584991.6	1675.2	370010	982	523807.6	863.775	507611.8	0
Nodularia sp.	224581.5	0	55543	0	222278.1	0	268346.1	0
Nostocales 1	0	0	4536	0	0	0	0	0
Calothryx sp.	3455.76	0	0	0	0	0	0	0
Scytonema sp.	0	0	0	0	0	0	62191.8	0
CB Oscillatoriales	2572628	7480.935	2644757	1501	3667970	12527.13	6320322	5710.643
Phormidium sp.	1960712	7480.935	1179239	844	1198501	12527.13	2030475	4535.685
Leptolyngbya sp.	160485.5	0	385757	657	51076.13	0	116908.4	1174.958
Microcoleus vaginatus	356807.2	0	1043856	0	2222486	0	4149720	0
Microcoleus sp.	2699.813	0	0	0	0	0	23218.39	0
Microcoleus Steenstrupii	91923.22	0	35905	0	195907	0	0	0
CB Chroococcales	120756.1	881.7703	39145	98	44127.75	143.9625	183101.1	395.9588
Chroococcus 1	16411.73	0	0	0	0	0	0	0
Chroococcus 2	4.4	0	0	0	0	0	0	0
Chroococcus 3	46166.79	0	6480	0	11501.2	0	86178.02	323.9775
Chroococcales 1	800.7914	17.99531	396	98	413.8922	0	3347.128	0
Chroococcales 2	36998.36	863.775	30559	0	21522.39	143.9625	50746.78	71.98125
Chroococcales 3	17494.79	0	1134	0	5507.618	0	1943.865	0
Chroococcales 4	2879.25	0	576	0	5182.65	0	40885.35	0
CB zelené řasy	11229.08	0	0	0	0	0	34557.6	0
zelená řasa 1	7773.975	0	0	0	0	0	0	0
zelená řasa 2	3455.1	0	0	0	0	0	0	0
zelená řasa 3	0	0	0	0	0	0	34557.6	0
CB rozsivky	0	0	1178	0	22030.47	0	2591.82	0
rozsivky 1	0	0	0	0	19438.65	0	0	0
rozsivky 2	0	0	1178	0	2591.82	0	2591.82	0

Tab. 15.a.: Biomasa jednotlivých fototrofních skupin na lokalitě Nubra, spočítaná pomocí elektronového mikroskopu;
P – podloží polštářové rostliny; O – okolí polštářové rostliny

Biomasa Tsomoriri um3/mg sušiny								
	5346 O	5346 P	5575 O	5575 P	5735 O	5735 P	5833 O	5833 P
CB fototrofů	4016918	5759.366	3915484	2990.1	4449575	3338.926	6850742	54992.03
CB sinic	3993587	5759.366	3860417	2990.1	4401196	3338.926	6835623	54992.03
CB Nostocales	576120.5	647.8313	690300	863.78	742198.7	359.9063	1030124	51250.65
Nostoc sp.	315939.9	647.8	455353.4	863.8	742198.7	359.9	906891.8	0.0
Nodularia sp.	260180.6	0.0	234946.8	0.0	0.0	0.0	123231.9	51250.7
CB								
Oscillatoriales	3322095	5111.535	3045322	2036.4	3616607	2591.82	5773823	3741.375
Phormidium sp.	828833.7	3167.67	1214916	749.1	898713.6	431.97	1948617	501.6
Microcoleus vaginatus	1296579	1943.865	1114915	1079.9	2260499	2159.85	3685352	3239.775
Microcoleus sp.	1054916	0	622877	0	328667.1	0	0	0
Leptolyngbya sp.	141765.8	0	92614.4	207.35	128727.1	0	139854.6	0
CB Chroococcales	95371.66	0	124795	89.977	42390.77	387.2	31676.41	0
Chroococcus 2	8043.369	0	12812.7	0	1727.55	0	0	0
Chroococcus 3	103.2	0	630.3	0	91.3	387.2	0	0
Cyanothece sp.	63520.33	0	32829.7	0	7775.46	0	24406.31	0
Chroococcales 2	5360.431	0	3014.21	89.977	2924.238	0	1079.719	0
Chroococcales 3	12165.93	0	68022.3	0	22386.17	0	6190.388	0
Chroococcales 4	6178.4	0	7486.05	0	7486.05	0	0	0
TB algae	2.2	0	48587.3	0	6910.2	0	0	0
zelená řasa 2	1.1	0	48587.3	0	0	0	0	0
zelená řasa 3	1.1	0	0	0	6910.2	0	0	0
diatoms	23328.58	0	6479.55	0	41469.12	0	15118.95	0
rozsvivky 1	19439.75	0	0	0	25918.2	0	15118.95	0
rozsvivky 2	3888.83	0	6479.55	0	15550.92	0	0	0

Tab. 15.b.: Biomasa jednotlivých fototrofních skupin na lokalitě Tsomoriri, spočítaná pomocí elektronového mikroskopu; P – podloží polštářové rostliny; O – okolí polštářové rostliny

Nubra – procentuální zastoupení nalezených skupin sinic a řas				
	4620 O	4870 O	5020 O	5200 O
CB sinic	99.00%	99.94%	99.39%	98.94%
CB Nostocales	23.21%	13.81%	16.75%	11.48%
Coleodesmium sp.	2.56%	0.00%	0.00%	0.00%
Nostoc sp.	70.11%	86.03%	70.21%	60.56%
Nodularia sp.	26.92%	12.91%	29.79%	32.02%
Nostocales 1	0.00%	1.05%	0.00%	0.00%
Calothryx sp.	0.41%	0.00%	0.00%	0.00%
Scytonema sp.	0.00%	0.00%	0.00%	7.42%
CB Oscillatoriales	73.43%	84.95%	82.37%	86.57%
Phormidium sp.	76.21%	44.59%	32.67%	32.13%
Leptolyngbya sp.	6.24%	14.59%	1.39%	1.85%
Microcoleus vaginatus	13.87%	39.47%	60.59%	65.66%
Microcoleus sp.	0.10%	0.00%	0.00%	0.37%
Micr. Steenstrupii	3.57%	1.36%	5.34%	0.00%
CB Chroococcales	3.45%	1.26%	0.99%	2.51%
Chroococcus 1	13.59%	0.00%	0.00%	0.00%
Chroococcus 2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Chroococcus 3	38.23%	16.55%	26.06%	47.07%
Chroococales 1	0.66%	1.01%	0.94%	1.83%
Chroococales 2	30.64%	78.07%	48.77%	27.72%
Chroococales 3	14.49%	2.90%	12.48%	1.06%
Chroococales 4	2.38%	1.47%	11.74%	22.33%
CB zelené řasy	0.32%	0.00%	0.00%	0.47%
zelená řasa 1	69.23%	0.00%	0.00%	0.00%
zelená řasa 2	30.77%	0.00%	0.00%	0.00%
zelená řasa 3	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%
CB rozsivky	0.00%	0.04%	0.49%	0.04%
rozsivky 1	0.00%	0.00%	88.24%	0.00%
rozsivky 2	0.00%	100.00%	11.76%	100.00%

Tsomoriri – procentuální zastoupení nalezených skupin sinic a řas				
	5346 O	5575 O	5735 O	5833 O
CB sinic	99.42%	98.59%	98.91%	99.78%
CB Nostocales	14.43%	17.88%	16.86%	15.07%
Nostoc sp.	54.84%	65.96%	100.00%	88.04%
Nodularia sp.	45.16%	34.04%	0.00%	11.96%
CB Oscillatoriales	83.19%	78.89%	82.17%	84.47%
Phormidium sp.	24.95%	39.89%	24.85%	33.75%
Microcoleus vaginatus	39.03%	36.61%	62.50%	63.83%
Microcoleus sp.	31.75%	20.45%	9.09%	0.00%
Leptolyngbya sp.	4.27%	3.04%	3.56%	2.42%
CB Chroococcales	2.39%	3.23%	0.96%	0.46%
Chroococcus 2	8.43%	10.27%	4.08%	0.00%
Chroococcus 3	0.11%	0.51%	0.22%	0.00%
Cyanothece sp.	66.60%	26.31%	18.34%	77.05%
Chroococales 2	5.62%	2.42%	6.90%	3.41%
Chroococales 3	12.76%	54.51%	52.81%	19.54%
Chroococales 4	6.48%	6.00%	17.66%	0.00%
CB zelené řasy	0.00%	1.24%	0.16%	0.00%
zelená řasa 2	50.00%	100.00%	0.00%	0.00%
zelená řasa 3	50.00%	0.00%	100.00%	0.00%
CB rozsivky	0.58%	0.17%	0.93%	0.22%
rozsivky 1	83.33%	0.00%	62.50%	100.00%
rozsivky 2	16.67%	100.00%	37.50%	0.00%

Tab. 16.: Procentuální zastoupení biomasy nalezených morfotypů sinic a řas na jednotlivých nadmořských výškách na obou lokalitách. Procenta jednotlivých morfotypů odrážejí jejich podíl v celkové biomase skupiny, do které patří

Tab. 17.: Vliv nadmořské výšky a habitatu na složení fototrofních společenstev na lokalitách Nubra a Tsomoriri. Efekt každého testovaného faktoru (habitat, nadmořská výška, jejich interakce) byl odhadnut na základě maximální věrohodnosti (maximal likelihood) s χ^2 distribucí; *habitat*–půda z okolí rostliny/z jejího podloží; *interakce* – interakce vlivu nadmořské výšky a habitatu; červeně označené p-hodnoty označují signifikantně průkazný efekt daného faktoru; symbol $\uparrow$ znázorňuje pozitivní závislost hodnoty parametru s daným faktorem; symbol $\downarrow$ znázorňuje negativní závislost s daným faktorem; in – označuje ve zkratce habitat z podloží rostliny; out – označuje ve zkratce habitat z okolí rostliny

Nubra							Tsomoriri							
Faktory:	habitat		nadmořská výška		interakce faktorů		habitat		nadmořská výška		interakce faktorů			
	χ²	P	χ²	P	χ²	P	χ²	P	χ²	P	χ²	P		
Nostoc sp.	35.748	0.000	0.054	0.816	↑	0.070	0.792	41.543	0.000	10.160	0.001	↑	12.968	0.000
Phormidium sp.	38.846	0.000	0.000	1.000		0.013	0.910	36.507	0.000	3.543	0.060	↑	3.879	0.049
Microcoleus vaginatus	14.558	0.000	9.333	0.002		11.597	0.001	28.545	0.000	6.825	0.009	↑	7.940	0.005
Microcoleus sp.	1.279	0.258	1.308	0.253		1.345	0.246	2.715	0.099	1.677	0.195		1.737	0.187
Microcoleus steensrupii	3.766	0.052	0.112	0.738		0.136	0.713	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
Nodularia sp.	17.658	0.000	0.356	0.551		0.380	0.538	6.140	0.013	1.299	0.254		2.924	0.087
Leptolyngbya sp.	11.134	0.000	0.655	0.418		0.699	0.403	34.754	0.000	0.000	1.000		0.013	0.909
Calothrix sp.	1.032	0.310	2.236	0.135		2.345	0.126	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
Nostocales 1	2.793	0.095	1.747	0.186		1.813	0.178	0.577	0.448	0.505	0.477		0.210	0.647
Cyanothece sp.	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	10.098	0.001	3.559	0.059	↓	3.845	0.050
Scytonema sp.	1.032	0.310	1.747	0.186		1.813	0.178	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
Coleodesmium sp.	1.032	0.310	2.236	0.135		2.345	0.126	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
Chroococcus sp. 1*	2.196	0.138	4.950	0.026	↑	5.520	0.019	2.772	0.096	1.157	0.0404		1.186	0.276
Chroococcus 2*	2.772	0.096	1.167	0.280		1.196	0.274	0.577	0.448	0.002	0.967		0.756	0.385
Chroococcus 3*	6.441	0.011	0.687	0.407		0.684	0.408	15.272	0.000	4.199	0.040		4.526	0.033
Chroococcales 1*	5.639	0.018	2.608	0.106		2.951	0.086	12.508	0.000	0.258	0.611		0.282	0.595
Chroococcales 2*	25.318	0.000	0.220	0.639		0.341	0.559	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
Chroococcales 3*	3.304	0.069	2.211	0.137		2.318	0.128	4.977	0.026	0.505	0.477		0.529	0.467
Chroococcales 4*	2.793	0.095	3.069	0.080		3.279	0.070	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
zelená řasa 1*	1.032	0.310	2.236	0.135		2.345	0.126	1.033	0.310	0.382	0.811		0.406	0.777
zelená řasa 2*	1.032	0.310	2.236	0.135		2.345	0.126	1.032	0.310	0.057	0.811		0.081	0.777
zelená řasa 3*	1.032	0.310	1.747	0.186		1.813	0.178	1.000	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000
rozsivky 1*	3.144	0.310	0.000	0.135		0.018	0.126	2.418	0.120	0.003	0.954		0.027	0.870
rozsivky 2*	1.032	0.310	0.187	0.666		0.210	0.647	3.144	0.076	0.003	0.960		0.026	0.872
CB fototrofů	34.687	0.000	4.634	0.031	↑	5.136	0.023	53.864	0.000	3.618	0.057		3.669	0.055
CB sinic	34.303	0.000	4.527	0.033	↑	5.005	0.025	52.934	0.000	3.570	0.059		3.617	0.057
CB Nostocales	31.140	0.000	0.048	0.826		0.077	0.781	48.361	0.000	4.118	0.042	↑	3.004	0.083
CB Oscillatoriales	14.558	0.000	9.333	0.035		5.520	0.025	48.864	0.000	3.559	0.039		3.845	0.050
CB Chroococcales	18.672	0.000	0.708	0.400		0.762	0.383	24.481	0.000	4.943	0.026	↓	5.556	0.018
CB zelené řasy	3.824	0.051	0.032	0.858		0.055	0.814	6.007	0.014	0.000	1.000		0.013	0.908
CB rozsivky	1.823	0.177	0.435	0.510		0.459	0.498	5.561	0.018	0.017	0.896		0.041	0.840

