

Jihočeská universita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Bakalářská práce

**Sinice rodu *Scytonema* a *Calothrix* z oblasti Great Smoky
Mountains National Park, USA**

Jarmila Michálková

Školitel: Doc. RNDr. Jan Kaštovský, Ph.D.

České Budějovice

2013

MICHALKOVA, J. (2013): Sinice rodu *Scytonema* a *Calothrix* z oblasti Great Smoky Mountains National Park, USA. [Cyanobacteria genus *Scytonema* and genus *Calothrix* in Great Smoky Mountains National Park, USA., Bachelor thesis, in Czech] – University of South Bohemia, Faculty of Science, České Budějovice, Czech Republic, 42 pp.

Anotace:

The aim of this thesis was isolation and morphological description of Cyanobacterial strains taxonomically obscure genus *Scytonema* and genus *Calothrix* from samples collected from the Great Smoky Mountains National Park, USA, and find the optimal cultivation practices. This aim of my work was realized because five species were isolated. It was genus *Scytonema* (*Scytonema hofmanii*, *Scytonema cf. millei* and *Scytonema subgelatinosum*) and genus *Calothrix* (*Calothrix parasitica*, *Calothrix fusca*).

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou Universitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách a to, se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Tcheses.cz, provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 24. 4. 2013

.....
Jarmila Michálková

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli Doc. RNDr. Janu Kaštovskému, Ph.D. za umožnění pracovat na tomto tématu, jeho podnětné nápady a trpělivost. Své rodině a přátelům za podporu při studiu i mimo něj. Jmenovitě pak Janu Štefloví za pomoc s programem ArcGis 10 (ArcMap), Janu Fialovi a Zdeňku Ipserovi za pomoc s typografií. Marku Rennerovi za pomoc s programem Corel DRAW 12 (Corel Corp.). Dále pak Evě Dostálkové za podnětné rady a Lukáši Jurkovi za fotodokumentaci postupu práce. Svému příteli Petru Dobrovolnému za to, že tu vždy byl, když jsem potřebovala.

Obsah:

| | |
|---|----|
| 1. Úvod | 1 |
| 1.1 Stručná charakteristika sinic | 1 |
| 1.2 Stručná charakteristika rodu <i>Scytonema</i> | 1 |
| 1.3 Stručná charakteristika rodu <i>Calothrix</i> | 2 |
| 1.4 Cíle práce | 2 |
| 2. Metodika | 3 |
| 2.1 Popis lokality | 3 |
| 2.2 Charakteristika vzorků | 8 |
| 2.3 Postup práce | 12 |
| 3. Výsledky | 14 |
| 4. Diskuse | 20 |
| 5. Závěr | 23 |
| 6. Literatura | 24 |
| 7. Přílohy | 27 |
| 7.1 Příloha 1 | 27 |
| 7.2 Příloha 2 | 31 |
| 7.3 Příloha 3 | 32 |
| 7.4 Příloha 4 | 33 |
| 7.5 Příloha 5 | 34 |
| 7.6 Příloha 6 | 35 |
| 7.7 Příloha 7 | 36 |
| 7.8 Příloha 8 | 37 |

1. Úvod

1.1. Stručná charakteristika sinic

Sinice jsou autotrofní prokaryotické organismy, jež jsou velmi staré a jsou schopné žít téměř ve všech biotopech na Zemi. Jako u všech prokaryotických organismů je stavba buňky velmi jednoduchá. Chybí jim jádro, mitochondrie, Golgiho aparát, endoplazmatické retikulum, vakuoly aj. Nejvýznamnějším útvarem v buňce jsou tylakoidy, jedná se o vaky obsahující fotosyntetický aparát, jež slouží k fotosyntéze (Kalina, Váňa, 2005). Sinice mají také další specifické struktury, jimiž jsou aerotopy, heterocyty a akinety. Aerotopy jsou válcovité struktury naplněné plynem, které umožňují sinicím pohybovat se ve vodním sloupci. Heterocyty jsou tlustostěnné buňky, v nichž se za účasti nitrogenázy fixuje vzdušný dusík za vzniku amoniaku. Akinety jsou mnohem větší než heterocyty a umožňují sinicím přežít v nepříznivých podmínkách (Graham, Wilcox, 2000). Rozmnožování sinic probíhá nepohlavně zaškrfováním plazmatické membrány. Sinice tvoří několik typů stélek. Jednobuněčné, jež tvoří kolonie a jsou často obaleny slizem (*Microcystis*). Vlákenné sinice tvoří hned několik typů: nevětvené (*Leptolyngbya*), pravě větvené (*Stigonema*) a nepravě větvené (*Scytonema*). Nepravě větvené znamená, že vlákna jsou spojena pouze slizovou pochvou (Castenholz, 2001).

1.2. Stručná charakteristika rodu *Scytonema*

Rod *Scytonema* je charakteristický jednořadým uspořádáním vláken a nepravým větvením (Whitford, Schumacher, 1969). Vlákna mají vždy pevně a ostře naznačenou pochvu, která může být hyalinní či zabarvená, homogenní nebo lamelovaná se žlutohnědým zabarvením. Zabavení pochvy je způsobeno sloučeninami schopnými absorbovat UV záření. Tyto sloučeniny tak pozitivně přispívají k samotné ochraně buněk. Hlavním pigmentem zastávajícím tuto úlohu je scytonemin. Jedná se o žlutohnědý v tučích rozpustný dimerický pigment, který je vylučován do slizového obalu obklopujícího samotnou sinici (Sinha et al., 1998). Scytonemin neslouží sinici pouze k ochraně proti UV záření, umožňuje jí bránit se napadení patogeny, rozkladu bakteriemi či okusu herbivory (Sinha, Hader, 2008). Šířka vláken je stejná po celé délce nebo se na konci zužuje (Geitler, 1932). U tohoto rodu jsou heterocyty přítomny ve všech fázích vývoje, ale akinety jsou u nich vzácné nebo zcela chybí (Smith, 1950). Heterocyty jsou interkalární a vyskytují se samostatně, vzácně v párech. Jsou válcovitého nebo

sudovitého tvaru. Sinice rodu *Scytonema* rostou aerofyticky nebo subaerofyticky na mokřích površích, kamenech, v prosacích, dřevě, půdě a v blízkosti termálních vod. Podklad je především alkalického charakteru. Několik druhů tvoří dominanty v travertinových pramenech a tím pádem jsou inkrustovány uhličitanem vápenatým. Rod se velmi často vyskytuje zejména v tropických oblastech, ale variabilita těchto taxonů je doposud méně známá (Komárek, 1992).

1.3. Stručná charakteristika rodu *Calothrix*

Do rodu *Calothrix* se řadí vláknité sinice tvořící heterocyty. Osidlují sladkovodní a terestrická stanoviště. Nemají tak vysoké nároky na obsah sodných, hořečnatých a vápenatých iontů, v porovnání s ostatními druhy sinic. Rozmnožování u nich probíhá, dle pozorování, dvojitým způsobem. Jednak podvojným štěpením a za druhé rozpadem transcelulárního trichomu. Zralé trichomy mají krátké cylindrické buňky a jsou velmi dlouhé. Basální vegetativní buňky trichomů mohou dosahovat v průměru délky až 24 μm , ale byly pozorovány i druhy s tímto rozměrem daleko menším. Mnoho zástupců se nepravě větví (Prescott, 1951). Hormogonia se uvolňují z dělivých zón apikálního a subapikálního konce zralého trichomu a nevykazují žádné zužování. Zato trichomy se zužují od bazálního heterocytu (Prescott, 1951). Bylo popsáno pouze několik málo druhů, které tvořily akinety. Na rozdíl však od tradičních skupin, byla zjištěna tvorba jedné až dvou subterminálních akinet. Barva pochvy může být světle až tmavě hnědá (Castenholz, 2001). Mohou se vyskytovat epifyticky nebo endofyticky (ve slizu jiných řas) nebo na vlhkých kamenných površích s vápenitým podložím (Prescott, 1951).

1.4. Cíle práce

Cílem práce bylo zanalyzovat vybrané vzorky sinic, vyizolovat a morfologicky popsat kmeny sinic taxonomicky nejasných rodů *Scytonema* a *Calothrix* ze vzorků nasbíraných z Great Smoky Mountains National Park v USA a najít optimální kultivační postupy.

2. Metodika

2.1. Popis lokality

Great Smoky Mountains National Park (GSMNP) je národní park nacházející se na území Spojených států amerických ve státech Severní Karolína a Tennessee v oblasti Apalačského pohoří a asi 200 km severně od Atlanty (Brett, 2005). Své jméno získal podle mlžného oparu stoupajícího z lesního porostu, který mnohým lidem připomínal kouř (Göbel, 1999). Rozloha parku se odhaduje na 2114 km² a jde o nejnavštěvovanější národní park v USA. Každoroční návštěvnost je okolo devíti milionů lidí, což je třikrát více než navštíví Národní park Yellowstone (<http://listosaur.com/travel.html>, červenec 2012).



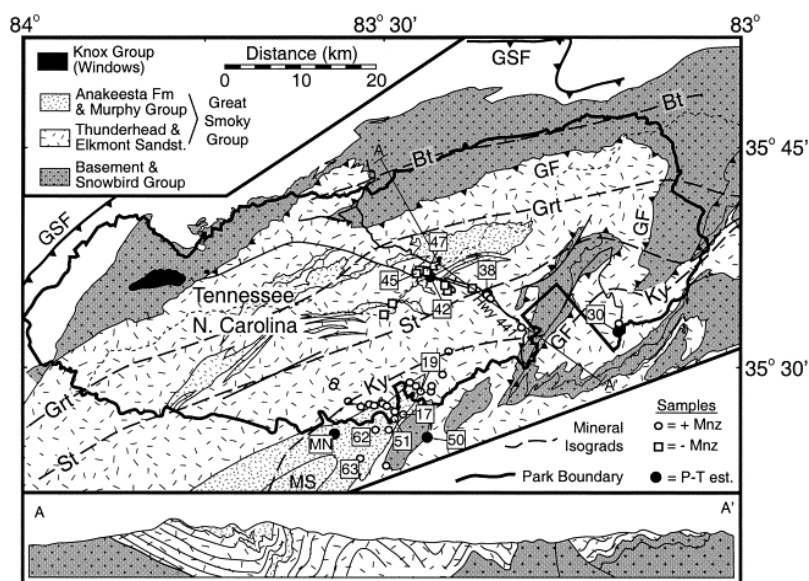
Obr. 1: Mapa Severní Ameriky s vyznačením polohy Great Smoky Mountains.

(zdroj: https://www.e-education.psu.edu/geosc10/l4_p2.html)

Pro svou rozmanitost bylo toto území v roce 1983 téměř po 50 letech od svého založení zařazeno do světového dědictví UNESCO. To tímto chrání střední část jednoho z geologicky nejstarších pohoří světa a ekosystém, jehož jedinečná mnohotvárnost se vyvinula v poslední době ledové (Neubert, Maass, 2007). Tato druhová rozmanitost a změny lesního typu byly možné díky nadmořské výšce parku, jež se pohybuje mezi 275–2025 m (Brett, 2005). Bezpochyby zde sehrálo roli také to, že horské hřebeny Apalačských hor se táhnou od severovýchodu k jihozápadu. To na rozdíl od střední Evropy umožňovalo zvířatům a rostlinám pohybovat se v rytmu klimatických změn ze severu na jih a potom zase zpátky na sever a díky tomu nedocházelo k tak drastickému snižování počtu druhů během střídání dob ledových a meziledových (Göbel, 1999).

Co se týče podnebí, v lednu mohou teploty klesnout k $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$, zatímco v červenci můžeme předpokládat teploty okolo $27\text{ }^{\circ}\text{C}$. Léto je převážně deštivé a často se vyskytují mlhy. V průměru 50 dní v roce jsou v GSMNP bouřky (Brett, 2005) a roční úhrn srážek činní okolo 130–200 cm (<http://www.srh.noaa.gov>, listopad 2012).

Většinu skal na tomto území tvoří metamorfované sedimentární horniny. Tyto horniny se tvořily v období 800–450 milionů let akumulací jílu, bahna, písku, šterku a menšího množství uhličitanu vápenatého. Jednalo se především o pískovce, prachovce a břidlice, které mají v národním parku nejčastější výskyt. Prachovce se při vysokých teplotách a tlacích měnily na břidlice, které nalezneme především ve východní části parku. Dalšími metamorfovanými horninami, jež se v parku nachází, jsou ruly a žuly, jedná se o nejstarší horniny na tomto území, jež mají svůj výskyt v blízkosti Bryson City, Ela a Cherokee, tedy v jihozápadní části parku. Jsou zde také přítomny křemenné žíly. Geologové určili okolo 20 různých "formací" hornin v Great Smoky Mountains. Na východním okraji oblasti se dále nacházely ložiska nerostných surovin především živce, sloužícího pro výrobu keramiky, skla a kaolinu. Také se zde těžilo olovo a zinek. (Hadley, Goldsmith, 1963).



Obr. 2: Geologická a geografická mapa oblasti Great Smoky Mountains ukazující významné zlomy a rozšíření litologických a metamorfních stupňů. Metamorfóza se zvyšuje směrem k jihu a je nejlépe prokázána v pískovci formací Thunderhead a Anakeesta. Zkratky: GSF = Great Smoky zlom (vrásnění Alleghanian), GF = Greenbrier zlom (premetamorfické vrásnění), MS = Murphy koryto. Příčný řez ukazuje opakované vrásnění, kdy prvotní látky pronikaly svislými rýhami na povrch (Kohn, Malloy, 2004).

Co se týče flory a fauny v národní parku Great Smoky Mountains, nalezneme zde přes 17000 druhů organismů z toho 4000 druhů rostlin (Brett, 2005), z nichž 1500 druhů tvoří jednoděložné a 2200 výtrusné rostliny (v americkém smyslu slova, včetně řas) (Neubert, Maass, 2007) a pět odlišných typů lesa (Brett, 2005), z nichž 1/5 až 1/3 představuje pralesní porosty (Göbel, 1999).

V těchto pěti různých typech lesních porostů roste 130 druhů stromů (Neubert, Maass, 2007). V nižších polohách liliovník tulipánokvětý (*Liriodendron tulipifera*), javor červený (*Acer rubrum*), dřín květnatý (*Cornus florida*) či jedlovec kanadský (*Tsuga canadensis*). V nadmořské výšce nad 1000 m se vyskytuje javor cukrový (*Acer saccharum*), bříza žlutá (*Betula alleghaniensis*) nebo buk velkolistý (*Fagus grandiflora*) a na horských hřebenech smrk červený (*Picea rubens*) a jedle Fraserova (*Abies fraseri*).



Obr. 3: Krajina v Great Smoky Mountains. (Foto: Jeffrey R. Johansen)

Území je také bohaté na živočichy, svůj domov zde má na 200 druhů ptáků, 66 druhů savců, 50 druhů ryb a 39 druhů plazů (<http://www.nps.gov/grsm/index.htm>, listopad 2012). Mohli bychom zmínit medvěda baribala (*Ursus americanus*), jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*), rysa červeného (*Lynx rufus*) či kojota prérijního (*Canis latrans*). Na území národního parku proběhla také úspěšná reintrodukce vlka rudohnědého (*Canis rufus*) a vydry říční (*Lutra lutra*). Přírozenou migrací ze Severní Karolíny se zde dostali i bobři (*Castor canadensis*). Z menších živočichů stojí za zmínku vačice viržinská

(*Didelphis virginianus*), skunk pruhovaný (*Mephitis mephitis*), čipmanka tmavá (*Tamias striatus*) a svišť lesní (*Marmota monax*) (Brett, 2005).

Území Great Smoky Mountains bylo kdysi domovem indiánského kmene Cherokee. Ti byli ve 20. letech 19. století násilně vystěhováni a evropští osadníci začali území odlesňovat a obdělávat. To vedlo k devastaci 2/3 horských lesních porostů a následné erozi půdy. Díky tomu se ve 20. století začalo více lidí přiklánět k myšlence založení národního parku v horách Great Smoky Mountains. I přestože finanční podpora od vlády byla nízká, podařilo se komisi pro vytvoření parku shromáždit 2,5 milionu dolarů pro vykoupení značného množství půdy pro budoucí park. Dalších 2,5 milionů dolarů poskytly státy Severní Karolína a Tennessee. Konečnou sumu peněz značně navýšil i dar od rodiny Rockefellerů, který činil pět milionů dolarů. Národní park Great Smoky Mountains byl tedy roku 1934 ustaven Kongresem Spojených států a v roce 1940 oficiálně vyhlášen prezidentem Franklinem Rooseveltem (Brett, 2005).



Obr. 4: Mapa Národního parku Great Smoky Mountains, USA.

(zdroj: <http://www.hikinginthesmokys.com/map.htm>)

Park představuje pro svou druhovou rozmanitost vědecky ceněnou oblast. Díky tomu se zde provádí výzkumy zaměřené nejen na klasickou faunu a floru, ale také na podstatně menší organismy, jakýmiž jsou sinice a řasy. Doposud zde bylo nalezeno a popsáno 1000 druhů těchto organismů, pocházejících téměř ze všech doposud známých skupin sinic a řas (Johansen et al., 2007) (Tab. I).

Tab. I: Nalezené skupiny sinic a řas a jejich počty druhů v GSMNP.

(dle Johansen *et al.*, 2007)

| Název skupiny | Počet nalezených druhů |
|-----------------|------------------------|
| Cyanobacteria | 190 |
| Charophyta | 137 |
| Chlorophyta | 108 |
| Cyanidiophyta | 1 |
| Rhodophyta | 4 |
| Chrysophyta | 3 |
| Synurophyta | 7 |
| Prymnesiophyta | 1 |
| Raphidiophyta | 1 |
| Tribophyta | 16 |
| Eustigmatophyta | 2 |
| Bacillariophyta | 488 |
| Cryptophyta | 1 |
| Dinophyta | 21 |
| Euglenophyta | 19 |

Do skupiny Cyanobacteria bylo zařazeno 190 nalezených druhů, z toho devět druhů patřilo do rodu *Scytonema* a čtyři druhy do rodu *Calothrix*. Jednalo se o rod *Scytonema crispum*, *S. figuratum*, *S. guyanense*, *S. cf. holstii*, *S. hyalinum*, *S. ocellatum*, *S. cf. pseudohofmannii*, *S. cf. stuposum*, *S. tolypotrichoides*, *Calothrix braunii*, *C. elenkinii*, *C. fusca* a *C. parietina*.

2.2. Charakteristika vzorků

Vzorky pro mou bakalářskou práci byly získány Doc. RNDr. Janem Kaštovským, Ph.D., RNDr. Tomášem Hauerem, Ph.D. ve spolupráci s Prof. Jeffrey R. Johansenem, Ph.D. při výpravě po národním parku Great Smoky Mountains ve dnech 9. 8.–12. 8. 2009.

Vzorky byly odebírány z aerofytických lokalit (Příloha 1), především se jednalo o makroskopické povlaky na kamenných površích v blízkosti vodopádů (Tab. II). Sběr se uskutečňoval základní terénní metodou – seškrabem. Po předběžné mikroskopické analýze na místě a určení dominant byly vzorky usušeny, aby mohly být později znovu použity.

Tab. II: Popis odběrových lokalit zkoumaných vzorků.

| Číslo lokality | Identifikační zkratka vzorku | Název lokality | Místo sběru | Makroskopický vzhled |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 1 | AF-A | Abrams Falls | v malé jeskyni | modrozelený samet |
| | AF-C | Abrams Falls | na mokré skále | povlak |
| | AF-E | Abrams Falls | na skále | zelený samet |
| | AF-H | Abrams Falls | na skále | barevný samet |
| | AF-J | Abrams Falls | na skále na druhé straně řeky | povlak |
| | AF-K | Abrams Falls | na skále na druhé straně řeky | povlak |
| | | | | |

| Číslo lokality | Identifikační zkratka vzorku | Název lokality | Místo sběru | Makroskopický vzhled |
|-----------------------|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| 1 | AF-L | Abrams Falls | na skále na druhé straně řeky | povlak |
| | AF-M | Abrams Falls | na skále na druhé straně řeky | povlak |
| | AF-N | Abrams Falls | na skále na druhé straně řeky | povlak |
| 2 | DCT-E | Deep Creek Trail | na skále | zelený povlak |
| 3 | ICF-A | Indian Creek Falls | na zastíněné stěně | povlak |
| | ICF-B | Indian Creek Falls | na zastíněné stěně | povlak |
| 4 | LCT-B | Laurel Creek Tunel | na skále poblíž tunelu | povlak |
| | LCT-D | Laurel Creek Tunel | v tunelu | povlak |
| | LCT-E | Laurel Creek Tunel | v tunelu | sametový nárost |
| 5 | LF-L | Laurel Falls | uprostřed vodopádu | povlak |
| | LF-M | Laurel Falls | na skále vodopád | povlak |
| 6 | LRR | Little River Road | na skále | velká nárostová biomasa |

| Číslo lokality | Identifikační zkratka vzorku | Název lokality | Místo sběru | Makroskopický vzhled |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|---|------------------------------|
| 6 | LRR-A | Little River Road | na skále | povlak |
| | LRR-B | Little River Road | na skále | povlak |
| | LRR-C | Little River Road | na skále | povlak |
| 7 | MF-F | Meigs Falls | na převisu, velmi vlhké a stinné místo | povlak |
| | MF-G | Meigs Falls | na malém převisu | vzpřímená vlákna |
| 8 | SFW-A | Spruce Flat Waterfalls | na skále | nárost |
| | SFW-G | Spruce Flat Waterfalls | na skále | světle zelená vlákna |
| 9 | WOF-G | White Oak Falls | na skále | tmavě zelená vlákna |
| 10 | WOW-A | White Oak Wall | na skále | kalcifikovaná vlákna |
| | WOW-C | White Oak Wall | na skále | nekalifikovaná vlákna |
| | WOW-G | White Oak Wall | na skále | samet |
| | WOW-H | White Oak Wall | na skále | povlak |
| | WOW-I | White Oak Wall | na skále | povlak |
| | WOW-L | White Oak Wall | na skále | žlutohnědý sliz |

V tabulce jsou tučně zvýrazněné vzorky, jež byly dále používány při kultivaci. Zbylé vzorky byly pouze mikroskopicky zhodnoceny (Tab. III-A, III-B).

Pro lepší představivost, odkud zkoumavé vzorky pocházejí, byla vytvořena mapa v programu ArcGis 10 (ArcMap) a doplněná o čísla odběrových lokalit (Příloha 2).



Obr. 5: Odběr vzorků ze smáčené stěny vodopádu. (Foto: Jeffrey R. Johansen)



Obr. 6: Odběr vzorků na skále nedaleko vodopádu. (Foto: Jan Kaštovský)

2.3. Postup práce

Z celkového množství 111 nasbíraných vzorků bylo vybráno 32, v nichž se podle předběžného mikroskopického vyhodnocení bezprostředně po odběru, nejčastěji vyskytovaly sinice rodu *Scytonema* a *Calothrix*. Po podrobnější mikroskopické analýze bylo z nich vybráno 22 pro kultivační pokusy.

Vzorky byly mikroskopicky zkontrolovány za použití světelného mikroskopu Olympus BX 51 vybaveného Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastem s vysokým rozlišením, digitální kamerou Olympus DP 71 a softwarem DP Controller (Olympus Inc.). Jejich určování probíhalo podle publikací *Geitler 1932* a *Gardner 1927*. Při odhadování relativních četností druhů ve vzorcích byla použita obdoba Braun-Blanquetovy stupnice, přičemž „+“ je označení pro ojediněle zastoupený druh ve vzorku a „6“ představuje jednoznačnou dominantu druhu ve vzorku (*Kaštovský et al., 2008*).

Poté byly vzorky pro snazší iniciaci růstu zvlhčeny tekutým médiem BG 11 (*Stainer et al., 1971*) po dobu dvou dnů nebo ponechány bez zvlhčení. Dále následovala vlastní kultivace. Při kultivaci jsem opět používala kultivační média BG 11 a také Z8 (*Staub, 1961*) a to jak v tuhé formě s 1,5% roztokem agaru, tak jako nezpevněný roztok. Jako další varianta byla použita „semiakvatická“ forma, při níž byl na dno Petriho misky nejprve nalit roztok média s agarem a po zatuhnutí ještě přilito tekuté médium. Na každý z vybraných vzorků bylo aplikováno všech šest variant kultivace.

Kromě modifikací v podobě média jsem používala i modifikace ve stylu kultivací – misky jsem utěsnila nebo neutěsnila parafilmem, otáčela agarem vzhůru nebo nechávala v přirozené poloze, zkumavky s vodným roztokem jsem jedenkrát týdně protřepávala anebo nechávala v klidu.

Misky jsem jedenkrát týdně kontrolovala pod binokulárním mikroskopem Olympus SZ 51.

Samotná kultivace probíhala při teplotě 20–21 °C při 12 hodinách světla a 12 hodinách tmy klasicky po dobu dvou měsíců. Pokud byly sinice mikroskopickou analýzou shledány jako monodruhové, byly izolovány a přesazeny do zkumavek se šikmým agarem, aby mohly být dále využity. Pokud se nevyskytovaly jako monodruhové, byly jejich nežádoucí příměsi odstraněny kultivační ředící řadou. Získané kmeny byly následně zdokumentovány fotografiemi a vědeckou kresbou a pro

přehlednost byly v programu Corel DRAW 12 (Corel Corp.) vytvořeny obrazové tabule jednotlivých druhů (Příloha 3–7).



Obr. 7: Analýza nárostů pomocí binokulárního mikroskopu. (Foto: Lukáš Jurek)



Obr. 8: Přesazování čistých kmenů do zkumavky se šikmým agarem. (Foto: Lukáš Jurek)

3. Výsledky

Různými kultivačními postupy se z 22 analyzovaných a následně kultivovaných vzorků (Tab. II) podařilo izolovat pět čistých kmenů rodu *Scytonema* a *Calothrix*. Jednalo se o druhy *Scytonema hofmanni*, *Calothrix parasitica*, *Calothrix fusca*, *Scytonema millei*, *Scytonema subgelatinosum*, které jsou blíže popsány v této kapitole a doplněné o fotografickou dokumentaci a kresbu v přílohách 3–7. Zbylé druhy byly učeny pouze mikroskopicky nebo se je nepodařilo uchovat po izolaci.

Soupis všech nalezených druhů s jejich relativní četností je uveden v tabulce III-A, III-B. Popis jednotlivých izolovaných kmenů je uveden dále v této kapitole.

Popis jednotlivých kmenů:

JM 2013/1

Druh: *Scytonema hofmanni*

Obr: viz příloha 3

Identifikační zkratka vzorku: AFA

Morfologická charakteristika:

šířka vláken: 5–13 μm

délka buněk: 3,5–7 μm

šířka buněk: 1–3 μm

délka heterocytů: 4,5–10 μm

šířka heterocytů: 4,5–10 μm

Makroskopicky vytváří trávově zelené chomáčky. Vlákna jsou symetrická s nepravým větvením. Buňky čtvercového a na konci kulovitěho tvaru. Heterocyty bezbarvé a cylindrického tvaru. Pochva je průhledná a viditelná.

Rozšíření: kosmopolitní

Dřívější výskyt ve zkoumané oblasti nebyl dříve zaznamenán.

JM 2013/2

Druh: *Calothrix parasitica*

Obr: viz příloha 4

Identifikační zkratka vzorku: LCTD1

Morfologická charakteristika:

šířka vláken: 10–14 μm

délka buněk: 9–13 μm

šířka buněk: 5,5–6, 5 μm

délka heterocytů: 7–8 μm

šířka heterocytů: 4–5 μm

Makroskopicky vytváří tmavě zelené až šedé nárosty. Vlákna se na bázi nápadně rozšiřují a na koncích zužují. Heterocyt je viditelný. Tvoří hormogonie a občasně se nepravě větví. Buňky na koncích vláken jsou zaoblené nebo tvoří hrotovitou špičku. Délka buněk je větší než šířka. Pochva je průhledná a tenká a v některých případech přerůstá vlákno.

Rozšíření: Evropa, Maroko, Severní Amerika

Dřívější výskyt ve zkoumané oblasti byl dříve zaznamenán.

JM 2013/3

Druh: *Calothrix fusca*

Obr: viz příloha 5

Identifikační zkratka vzorku: LCTD2

Morfologická charakteristika:

šířka vláken: 8–19 μm

délka buněk: 7–18 μm

šířka buněk: 4–6 μm

délka heterocytů: 6–7 μm

šířka heterocytů: 6–10 μm

Makroskopicky vytváří zelenohnědé nárosty. Vlákna jsou na bázi rozšířená a na koncích se zužují. Heterocyt je viditelný. Tvoří nepravě větvení. Buňky jsou na koncích kulovitě zaoblené v některých případech výrazněji zaškrcované a také jsou širší než delší. Pochva je tenká a průhledná.

Rozšíření: kosmopolitní

Dřívější výskyt ve zkoumané oblasti byl dříve zaznamenán.

JM 2013/4

Druh: *Scytonema cf. millei*

Obr: viz příloha 6

Identifikační zkratka vzorku: WOWC

Morfologická charakteristika:

šířka vláken: 10–17 μm

délka buněk: 10–12 μm

šířka buněk: 5–6 μm

délka heterocytů: 14–15 μm

šířka heterocytů: 8–10 μm

Makroskopicky vytváří zelenožluté nárosty. Vlákna jsou symetrická s pravidelným uspořádáním. Pochva je výrazná a snadno viditelná. V ranějším vývojovém stádiu je průhledná, ve stáří se barví do oranžova. Heterocyty jsou oranžové barvy a jsou v buňce velmi nápadné a zastoupené ve velkém počtu. Větvení je nepravé a časté. Heterocyty jsou také velmi často umístěny před a za větvením. Buňky místy zaškrcované. Konce vláken zaoblené.

Rozšíření: Guyana, Papua, Afrika, Severní Amerika

Dřívější výskyt ve zkoumané oblasti nebyl dříve zaznamenán.

Pozn. V popisu tohoto druhu se uvádí, že barva pochvy je hnědá, ne oranžová, jako je tomu v případě tohoto kmene.

JM 2013/5

Druh: *Scytonema subgelatinosum*

Obr: viz příloha 7

Identifikační zkratka vzorku: WOWG

Morfologická charakteristika:

šířka vláken: 5–13 μm

délka buněk: 3,5–7 μm

šířka buněk: 1–3 μm

délka heterocytů: 4,5–10 μm

šířka heterocytů: 4,5–10 μm

Makroskopicky vytváří světle zelené nárosty. Vlákna jsou symetrická, v některých případech se k okrajům zužují a konce jsou zaoblené. Buňky jsou čtvercového tvaru

s nápadným hererocytem. Pochva je v raném vývojovém stádiu světlá, v pozdějším stádiu tmavne až dohněda. Tvoří hormogonie a nepravě se větví.

Rozšíření: Portoriko

Dřívější výskyt ve zkoumané oblasti nebyl dříve zaznamenán.

Tabulka III-A: Nalezené druhy v GSMNP a jejich relativní četnosti AF-A až LF-M (tučně zvýrazněné vzorky byly používány při kultivaci, zbylé vzorky byly pouze mikroskopicky zhodnoceny).

| | AF-A | AF-C | AF-E | AF-H | AF-J | AF-K | AF-L | AF-M | AF-N | DCT-E | ICF-A | ICF-B | LCT-B | LCT-D | LCT-E | LF-L | LF-M |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| <i>Anabaena sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Aphanothece nidulas</i> | | 2 | | | | | | | 3 | | | | | | | | |
| <i>Asterocapsa sp.1</i> | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | |
| <i>Asterocapsa sp.2</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Brasilonema sp.</i> | | | | | | | | 6* | | | | 4 | | | | | |
| <i>Diatoma sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Eunotia bigibba</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Chroococcus minutus</i> | | 4 | | | | | | | 3 | | | | 3 | | 4 | | + |
| <i>Chroococcus minutus calf.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Chroococcus turgidus</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Leptolyngbya sp.</i> | | | | | | | | | 3 | | | | | | | | |
| <i>Merismopedia glauca</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Microchaete tenera</i> | | | | | | | | | | | 6* | | | | | | |
| <i>Navicula sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Nostoc macrosporum</i> | + | | | | | | | | | | | | 5 | 2 | | | |
| <i>Nostoc planctonicum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Oocystis sp.1</i> | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | |
| <i>Oocystis sp.2</i> | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | |
| <i>Pandorina morum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Petalonema sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Petalonema sp. calf.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema capitatum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema coactile</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema hofmanni</i> | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema javanicum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema longiarticulatum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | 5 |
| <i>Scytonema sp.1</i> | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.2</i> | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | |
| <i>Scytonema sp.3</i> | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | |
| <i>Scytonema sp.4</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.5</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.6</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.7</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.8</i> | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | |
| <i>Scytonema sp. calf.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema stuposum</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema tenue</i> | | | | | | | | | | | | | | 5 | | | |
| <i>Stigonema hormoides</i> | | | | | | | | | 3 | | | | | | | 4 | |
| <i>Stigonema mammosum</i> | | 4 | | 6* | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Stigonema ocellatum</i> | | | | | | 5 | 3 | | 3 | | | | | | | | |
| <i>Stigonema sp.</i> | | 3 | | | 6* | 5 | | | | | | | | | | | |
| <i>Synechococcus elongatus</i> | | | | | | | | | | | | 4 | | | | | |
| <i>Tolypothrix brevis</i> | | | | | | | 5 | | | | | | | | | | |
| <i>Tolypothrix sp. calf.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| vlákno nedefinovatelné | | | 6* | | | | | | | | | | | | | | |

Pozn. 6* – ve vzorku se nacházel pouze uvedený druh a zbytek tvořily anorganické částice.

Tabulka III-B: Nalezené druhy v GSMNP a jejich relativní četnosti LRR-A až WOW-L (tučně zvýrazněné vzorky byly používány při kultivaci, zbylé vzorky byly pouze mikroskopicky zhodnoceny).

| | LRR-A | LRR-B | LRR-C | MF-F | MF-G | SFW-A | SFW-G | WOF-G | WOW-A | WOW-C | WOW-G | WOW-H | WOW-I | WOW-L |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Anabaena sp.</i> | | | | | | + | | | | | | | | |
| <i>Aphanothece nidulus</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Asterocapsa sp.1</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Asterocapsa sp.2</i> | | | | | | 2 | | | | | | | | |
| <i>Brasilonema sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Diatoma sp.</i> | | | | | | | | | 4 | 3 | | | | |
| <i>Eunotia bigibba</i> | | | | | | | | | | 3 | | | | |
| <i>Chroococcus minutus</i> | 4 | 4 | 6 | | 4 | 4 | | | | 3 | | 1 | 4 | |
| <i>Chroococcus minutus calf.</i> | | | | | | | | | | | | | 2 | |
| <i>Chroococcus turgidus</i> | | | | | 2 | | | | | | | | | |
| <i>Leptolyngbya sp.</i> | | 2 | 1 | | | 1 | | | | | 3 | | | |
| <i>Merismopedia glauca</i> | | | | | | 1 | | | | 2 | | | | |
| <i>Microchaete tenera</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Navicula sp.</i> | | | | | | | | | 4 | 4 | | | | 6* |
| <i>Nostoc macrosporum</i> | | | | | 4 | 3 | | | | 4 | | | | |
| <i>Nostoc planctonicum</i> | | | | | | | | | 3 | | | | 2 | |
| <i>Oocystis sp.1</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Oocystis sp.2</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Pandorina morum</i> | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Petalonema sp.</i> | | | | | | | | | | | | 5 | | |
| <i>Petalonema sp. calf.</i> | | | | | | | | | 2 | | | | | |
| <i>Scytonema capitatum</i> | | | | | | | | | | 3 | | | | |
| <i>Scytonema coactile</i> | | | | | | | | | | | 4 | | | |
| <i>Scytonema hofmanni</i> | | | | | | | | | | 3 | | | | |
| <i>Scytonema javanicum</i> | | | | | | 2 | | | | | | | | |
| <i>Scytonema longiarticulatum</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.1</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.2</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.3</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.4</i> | | | | 4 | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.5</i> | | | | | 4 | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.6</i> | | | | | | | | 6* | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.7</i> | | | | | | | | 6* | | | | | | |
| <i>Scytonema sp.8</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Scytonema sp. calf.</i> | | | | | | | | | | | | | 3 | |
| <i>Scytonema stuposum</i> | | | | | | | | | | 2 | | | | |
| <i>Scytonema tenue</i> | 4 | 4 | 2 | | | | | | | | | | | |
| <i>Stigonema hormoides</i> | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Stigonema mammosum</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Stigonema ocellatum</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Stigonema sp.</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Synechococcus elongatus</i> | | | | 4 | | | | | | | | | | |
| <i>Tolypothrix brevis</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Tolypothrix sp. calf.</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| vlákno nedefinovatelné | | | | | | | | | | | | | | |

Pozn. 6* - ve vzorku se nacházel pouze uvedený druh a zbytek tvořily anorganické částice.

4. Diskuse

Spojené státy americké jsou velmi rozmanitou oblastí a to díky své velikosti. Tím, že leží hned v několika podnebných pásech, můžeme zde nalézt druhy temperátní zóny, tropické, subtropické či arktické. Proto jsem se snažila vybrat z dřívějších studií ty, ve kterých byly nalezeny druhy spadající do zájmových rodů, a zároveň každá z nich zastupovala jinou oblast.

Severní část území USA leží v mírném pásu, a proto zde uvádím studii zabývající se floristickým mapováním národního parku Acadia v Maine. Výsledky ukázaly, že dominantami v této oblasti byly sice větve Chrophyta a Bacillariophyta, ale také zde byly nalezen vzácný druh *Scytonema coactile* Bornet & Flahault 1886 (Vaccarino *et al.*, 2011). Na Hawaii na ostrově Oahu, ležícím v tropickém pásu, byly izolovány nové vláknité druhy rodu *Brasilonema angustatum sp. nov.* (Vaccarino *et al.*, 2012). Dalším významným druhem z tohoto ostrova je málo známý rod *Scytonematopsis* KISELEVA a nově nalezený druh *Scytonematopsis contorta*, jež byl nalezen rostoucí na skále na vlhkých stanovištích, potocích a vodopádech (Vaccarino *et al.*, 2011). V Portoriku, přidruženému státu s vnitřní samosprávou, bylo podle studie z roku 1927 nalezeno hned několik zástupců rodu *Scytonema* a *Calothrix*. Za zmínku stojí *Scytonema evanescens*, *S. capitatum*, *S. longiarticulatum*, *S. subgelatinosum*, *S. ocellatum* a *S. javanicum* (Gardner, 1927). Při studiu půdních krust na ostrově San Nicolas, patřícího Kalifornii se ukázalo, že půdní krusty mají významnou biologickou rozmanitost a podle disturbačních modelů je zjevné, že existují paternity mezi některými taxony na ostrově a v západní části Severní Ameriky. Mezi taxony, jež se rozšířily i do pouštních oblastí patří i *Tolypothrix distorta*. Dále byly ve vzorcích půdních krust nalezeny rody *Scytonema obscurum var. terrestre* a to převážně ve vlhké půdě, jež je podobná rodu *Scytonema tenellum* nalezeném na lávových kamenech, *Scytonema ocellatum*, *Tolypothrix distorta var. symplocoides* popsána ze zahrad a půd ve sklenících a *Tolypothrix cf. rupestris* (Flechtner *et al.*, 2008). V bakalářské práci Jana Mareše zabývající se perifytickými sinicemi z Everglades z Floridy se uvádí dominantní výskyt rodu *Scytonema hofmanii* spolu s rodem *Schizothrix calcicola* na tomto území (Mareš, 2006). V roce 2010 byla provedena studie na zrevidování sinic a řas v Arkansasu a byl zjištěn výskyt druhu *Scytonema coactile* a *Calothrix fusca* (Smith, 2010). Rod *Calothrix sp.* byl také nalezen v Ozark Mountains v Oklahomě při studii jeho odolnosti na šeskrab (Power, 2003). V magisterské práci Markéty Krautové je výskyt rodu *Calothrix* na území Utahu

potvrzen (Krautová, 2008). Výskyt hned několika druhů na území Severní Karolíny také potvrzuje publikace A Manual of the fresh-water algae in North Carolina (Whitford, Schumacher, 1969). Výskyt rodu *Calothrix* v USA nalezneme i v publikaci Algae of the western great lakes area (Prescott, 1951). V samotné zkoumané oblasti Great Smoky Mountains byly podle dřívější studie nalezeny rody *Scytonema* a *Calothrix*. Jednalo se o *Scytonema crispum*, *S. figuratum*, *S. guyanense*, *S. cf. holstii*, *S. hyalinum*, *S. ocellatum*, *S. cf. pseudohofmannii*, *S. cf. stuposum*, *S. tolypotrichoides* *Calothrix braunii*, *C. elenkinii*, *C. fusca* a *C. parietina* (Johansen et al., 2007).

Ze zkoumaných 22 vzorků se mi podařilo vyizolovat pět čistých kmenů. Jednalo se o rody *Scytonema hofmanni*, *Calothrix parasitica*, *Calothrix fusca*, *Scytonema cf. millei*, *Scytonema subgelatinosum*. Morfologický popis z větší části odpovídá popisu stávajících druhů, jen *Scytonema cf. millei* se liší barvou pochvy. Ekologicky se jednalo především o kosmopolitně se vyskytující druhy. Z těchto kmenů byly dosud z GSMNP uváděny jen *Calothrix parasitica* a *Calothrix fusca*, druhy *Scytonema hofmanni*, *Scytonema cf. millei* a *Scytonema subgelatinosum* jsou pro tento park nalezeny jako nové.

Co se týče kultivačních postupů, používala jsem velké množství modifikací, blíže popsanych v kapitole o postupu práce. Důvodem byla malá a pomalá intenzita růstu nasazených sinic a řas. Zprvu jsem používala kultivační medium BG 11, jež je zejména určené ke kultivaci sinic. Následně pak kultivační medium Z8, univerzální médium, které lze použít pro kultivaci téměř všech řas a sinic i přestože mým cílem bylo izolovat výhradně sinice. Jednotlivá média se totiž od sebe liší obsahem a poměrem zastoupených prvků v roztoku. Proto na určitém médiu se sinici daří lépe než na jiném, každé sinici pravděpodobně vyhovuje poněkud jiný poměr živin. Z nejdůležitějších živin medium BG11 obsahuje 15 g dusičnanu sodného a 4 g hydrogenfosforečnanu draselného, zatímco medium Z8 46 g dusičnanu sodného a 3,1 g hydrogenfosforečnanu draselného (porovnávány dva roztoky o stejném objemu, každý o 1000 ml). V případě nepoužití parafilmu k utěsnění Petriho misky sice nárost roste rychleji, ale zvyšuje se riziko napadení houbami, plísněmi či roztoči. Vložení vzorku do vodného média opět může urychlit růst vzorku, ale manipulace s nárostem je o to složitější, že se u hrdla zkumavky po čase vytvoří krusta a odseparování jednotlivých druhů od sebe je náročnější. Ponechání misek v přirozené poloze umožňuje snadnější manipulaci. Na druhou stranu, zde může dojít (zejména v případě utěsnění parafilmem), ke kondenzaci vody na víčku Petriho misky, což zhoršuje kontrolu nárostů pod binokulárním mikroskopem bez

otevření Petriho misky. Také v případě doposud neupevněného vzorku v médiu může dojít k jeho posunu po ploše.

Z dosavadních výše zmíněných postupů mohu konstatovat, že mým vzorkům nejlépe vyhovoval následující postup. Ponoření na týden do vodného kultivačního média, s pravidelným protřepáváním, aby se zabránilo vytvoření krusty. Následné přenesení na Petriho misku obsahující zpevněné příslušné kultivační médium. BG11 bylo pro většinu vzorků lepším médiem, Z8 vyhovovalo více pouze kmeni *S. subgelatinosum*. Jako výhodnější se také ukázal postup s utěsněním misky parafilmem a ponecháním v přirozené poloze agarem k podložce.

5. Závěr

Cílem práce bylo vyizolovat a morfologicky popsat kmeny sinic taxonomicky nejasných rodů *Scytonema* a *Calothrix* ze vzorků nasbíraných z Great Smoky Mountains National Park, USA a najít optimální kultivační postupy. Tento cíl byl splněn, byly vyizolovány tři kmeny rodu *Scytonema* (*Scytonema hofmanni*, *Scytonema* cf. *millei* a *Scytonema subgelatinosum*) a dva rodu *Calothrix* (*Calothrix parasitica*, *Calothrix fusca*).

Tyto kmeny budou zachovány ve sbírce a použity pro následné molekulárně-taxonomické studie.

6. Literatura

BRETT, M. (2005) *Národní parky a další přírodní památky USA*. Beta, Praha, 25–29 p.

CASTENHOLZ, R. W. (2001) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, 474 p.

FLECHTNER, V. R., JOHANSEN, J. R., BELNAP, J. (2008) *The biological soil crusts of the San Nicolas Island: Enigmatic algae from a geographically isolated ecosystem*. *Western North America Naturalist* 68(4): 405–436 p.

GARDNER, N. L. (1927) *New Myxophyceae from Porto Rico*. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 7: 1–144 p.

GEITLER, L. (1932) *Cyanophyceae*. In *Kryptogamen-flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 677–797 p.

GÖBEL, P. (1999) *Přírodní parky, krajinné oblasti a přírodní ráje pod záštitou UNESCO*. Euromedia, Praha, 94–95 p.

GRAHAM, L. E., WILCOX, L. W. (2000) *Algae*. Prentice Hall, Upper Saddle river, NJ, 115–119 p.

HADLEY, J. B., GOLDSMITH, R. (1963) *Geology of the eastern Great Smoky Mountains, North Carolina and Tennessee*. United states government printing office, Washington, Geological survey professional paper 349-B.

JOHANSEN, J. R., LOWE, R. L., CARTY, S., FUČÍKOVÁ, K., OLSEN, C.E., FITZPATRICK, M.H., RESS, J.A., FUREY, P.C. (2007) *New algal species records for Great Smoky Mountains National Park with an annotated checklist of all reported algal taxa for the park*. *Southeastern Naturalist* 6 (2): 99–134 p.

KALINA, T., VÁŇA, J. (2005) *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Nakladatelství Karolinum, Praha, 60 p.

KAŠTOVSKÝ, J., ŘEHÁKOVÁ, K., BASTL, M., VYMAZAL, J., & KING, R. S. (2008). *Experimental assessment of phosphorus effects on algal assemblages in dosing mesocosms*. In *The Everglades Experiments*. (Richardson, C., editor), 461–476. Springer, New York.

- KRAUTOVÁ, M.,(2008) *Cyanobacteria of wet walls, seep walls, and hanging gardens in Grand Staircase-escalante National Monument*. Utah, 89p.
- MAREŠ, J., (2006) *Periphytic Cyanobacteria of the Everglades (Florida) and their relation to water chemistry and different substrata*. České Budějovice,74p.
- NEUBERT, H. J., MAASS, W. (2007) *100 nejkrásnějších národních parků světa*. Rebo Productions, Praha, 13 p.
- POWER, M. E., STEWART, A. J., MATTHEWS, W. J.,(2003) *Grazer control of algae in an Ozark Mountains stream: Effects of short-term exclusion*. Ecology 69 (6): 1894-1898pp.
- PRESCOTT, G.W. (1951) *Algae of the western great lakes area*.The Cranbrook Press, Michigan, 551p.
- SINHA, R. P., HADER, D. P. (2008) *UV protectants in cyanobacteria*. Plant Science 174 (3): 278–289 p.
- SINHA, R. P., KLISCH, M., GRONIGER, A., HADER, D. P. (1998) *Ultravioletabsorbing screening substances in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae*. Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology 47 (2–3): 83–94 p.
- SMITH, G. M. (1950) *The fresh-water algae of The United States*. McGraw-hill book company, Inc., New York, 587–591 p.
- SMITH, T.E. (2010). *Revised list of algae from Arkansas, U.S.A. and new additions*. International Journal on Algae 12(3): 230-256p.
- STANIER, R. Y., KUNISAWA, R., MANDEL, M., COHENBAZ, G. (1971) *Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales)*. Bacteriological Reviews 35 (2): 171–205 p.
- STAUB, R. (1961) *Ernährungsphysiologisch-autökologische Untersuchungen an Oscillatoria rubescens DC.*, Journal of Hydrology 23: 82–198 p.
- VACCARINO, M. A., JOHANSEN, J. R. (2011) *Scytonematopsis contorta sp. nov. (Nostocales), a new species from the Hawaiian islands*. Fottea, 11 (1): 149–161 p.

VACCARINO, M. A., JOHANSEN, J. R. (2012) *Brasilonema angustatum* sp. nov. (*Nostocales*), a new filamentous cyanobacterial species from the Hawaiian islands. *Journal of Phycology*, 48 (5): 1178–1186 p.

VACCARINO, M. A., VESELÁ, J., JOHANSEN, J. R. (2011) *The algal flora of Acadia National Park, Maine*. *Western North America Naturalist*, 18 (4): 457–474 p.

WHITFORD, L. A., SCHUMACHER, G. J. (1969) *A manual of the fresh-water algae in North Carolina*. The North Carolina agricultural experiment station, North Carolina, 144–147 p.

https://www.e-education.psu.edu/geosc10/14_p2.html

<http://www.hikinginthesmokys.com/map.htm>

<http://listosaur.com/travel/top-10-u.s.-national-park-units-in-attendance.html>

<http://mappery.com/Great-Smoky-Mountains-National-Park-Park-map>

<http://www.nps.gov/grsm/index.htm>

<http://www.srh.noaa.gov/mrx/research/climo/sappfig3.php>

7. Přílohy

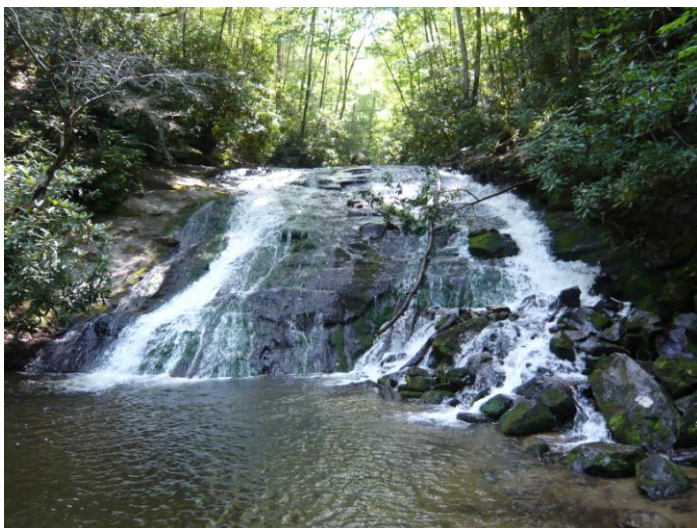
7.1. Příloha 1 – Fotografie odběrových lokalit.

Lokalita č. 1



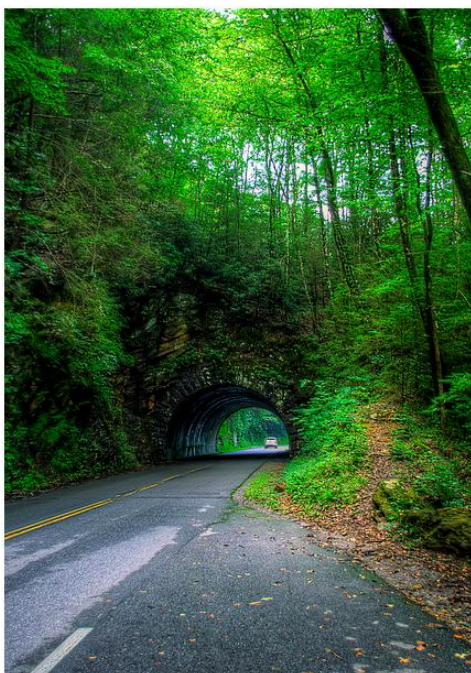
Obr. 9: Abrams Falls. (Foto: Tomáš Hauer)

Lokalita č. 3



Obr. 10: Indian Creek Falls. (Foto: Tomáš Hauer)

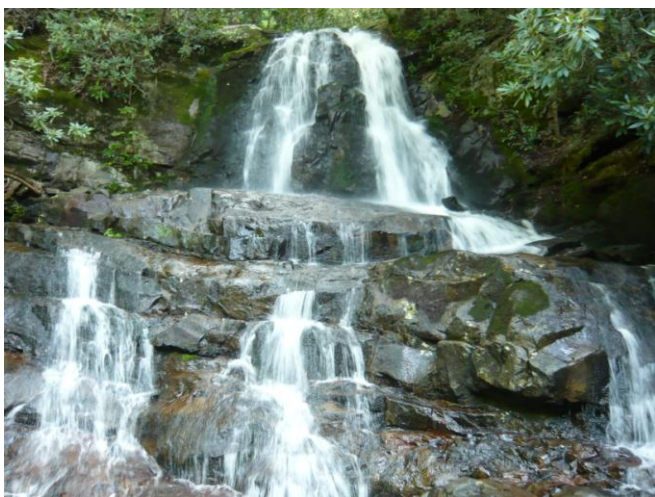
Lokalita č. 4



Obr. 11: Laurel Creek Tunel. (Foto: Chris Kaskel)

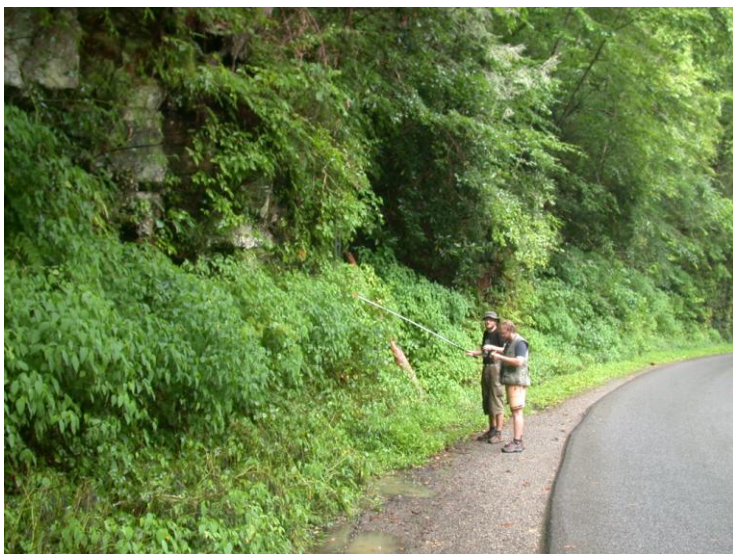
(zdroj: <http://www.flickr.com/photos/soundman1488/5988431400/>)

Lokalita č. 5



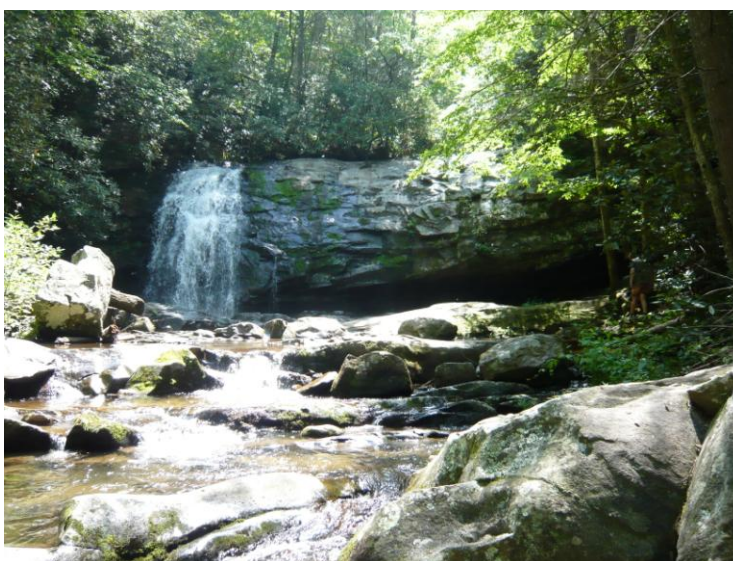
Obr. 12: Laurel Falls. (Foto: Tomáš Hauer)

Lokalita č. 6



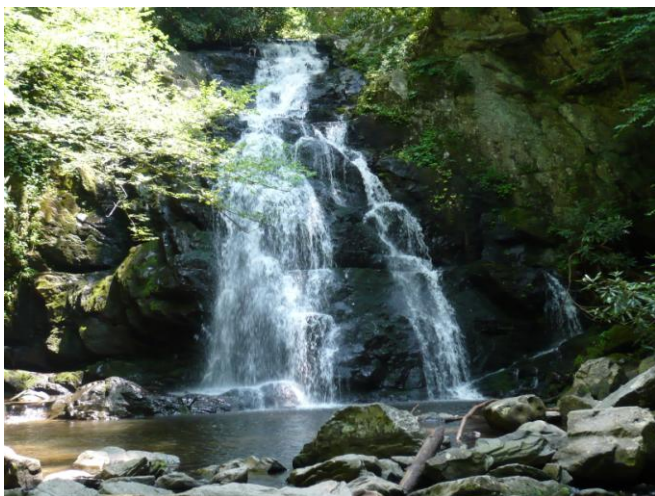
Obr. 13: Little River Road. (Foto: Jeffrey R. Johansen)

Lokalita č. 7



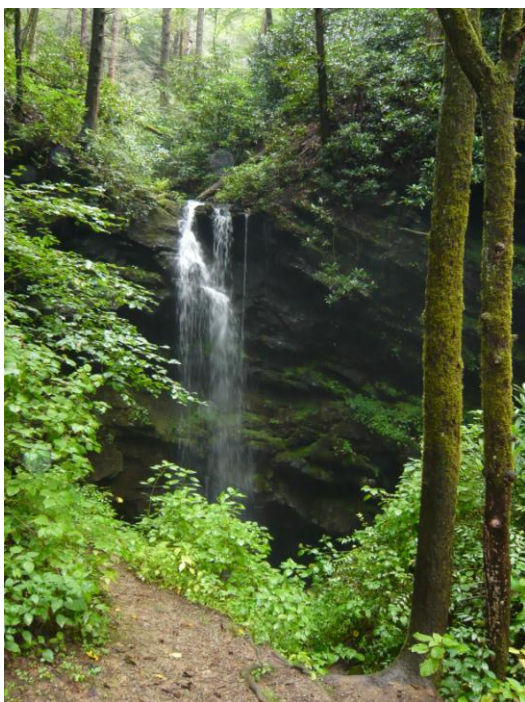
Obr. 14: Meigs Falls. (Foto: Tomáš Hauer)

Lokalita č. 8



Obr. 15: Spruce Flat Waterfalls. (Foto: Tomáš Hauer)

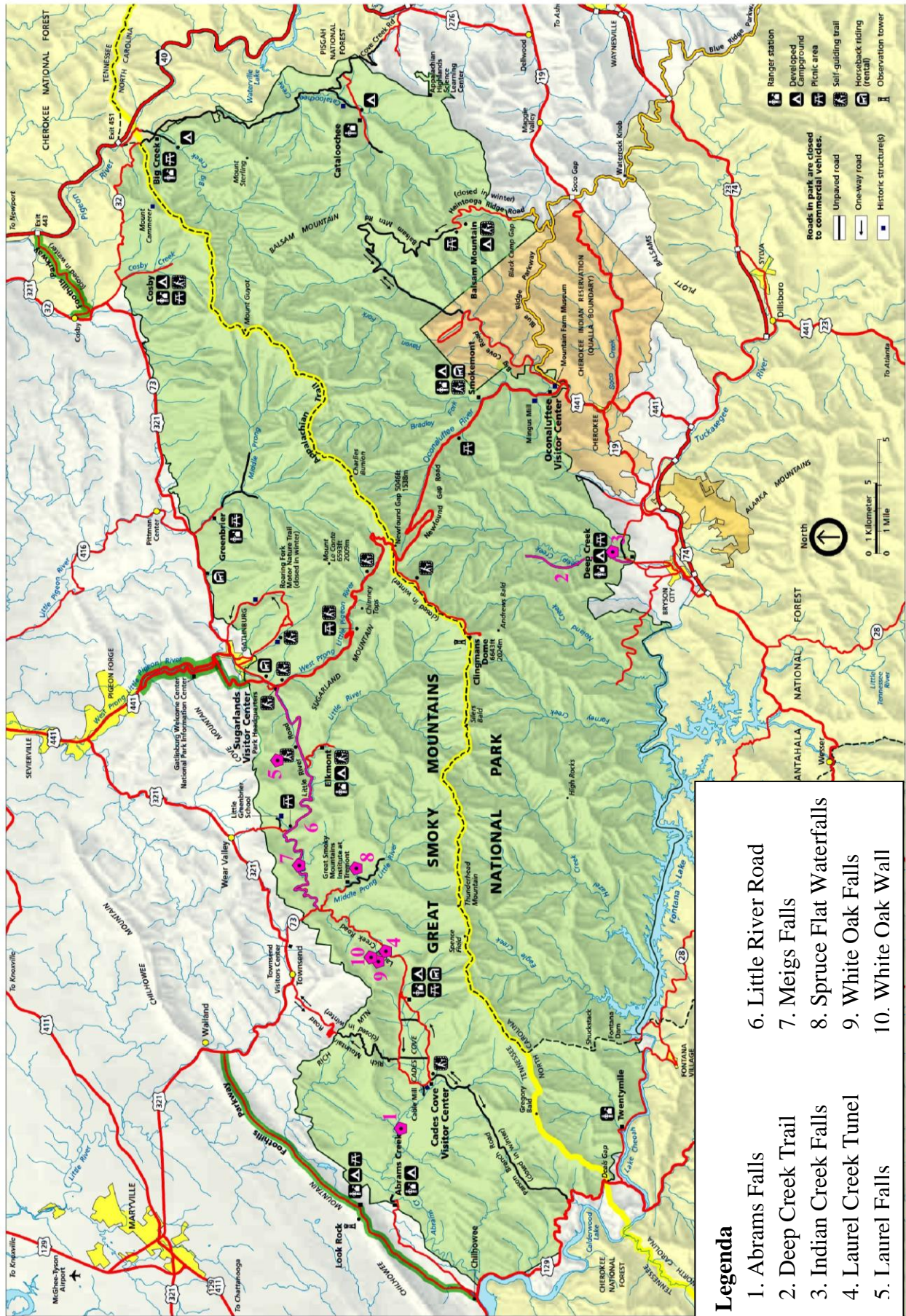
Lokalita č. 9



Obr. 16: White Oak Falls. (Foto: Tomáš Hauer)

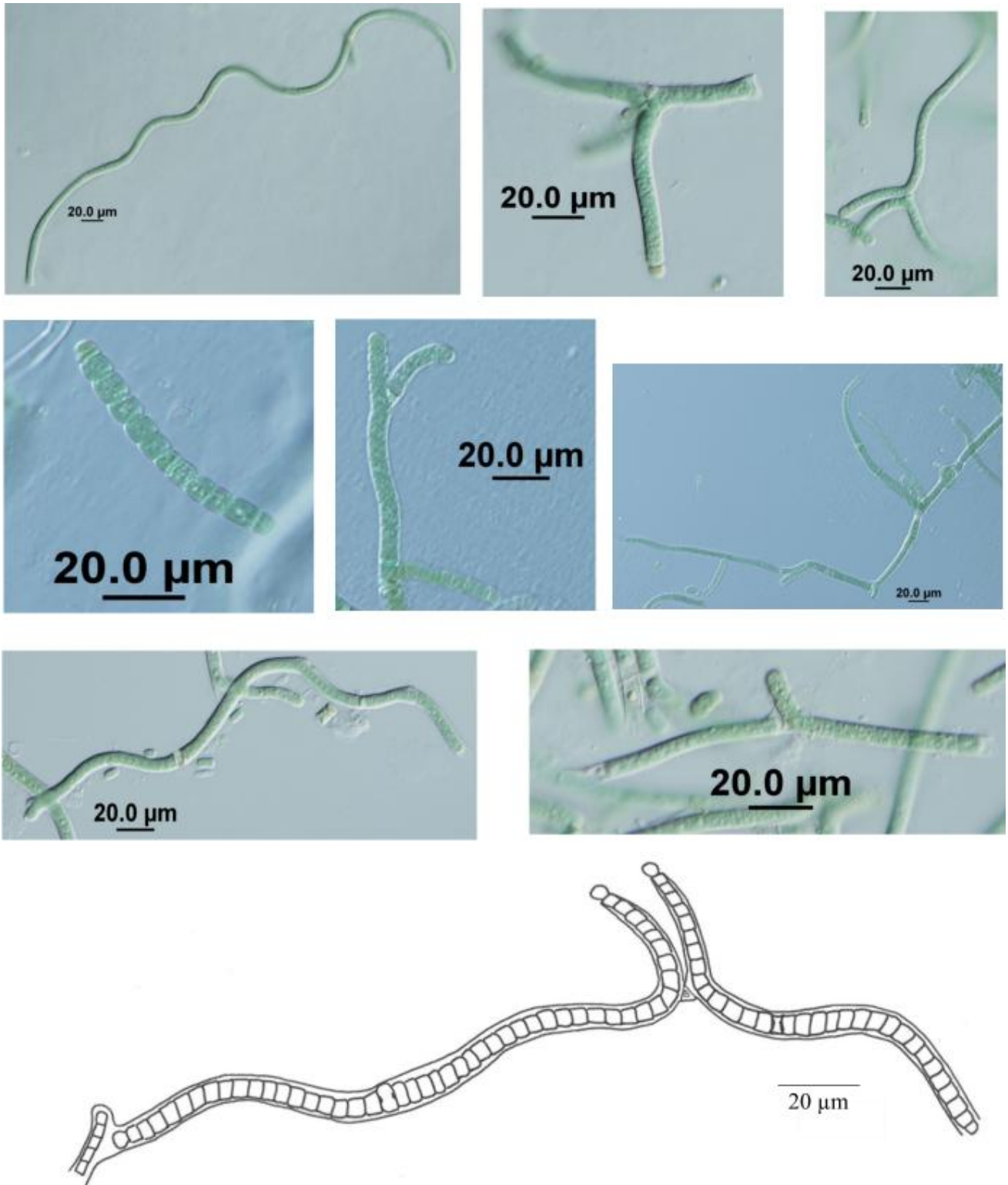
7.2. Příloha 2

7.2. Příloha 2



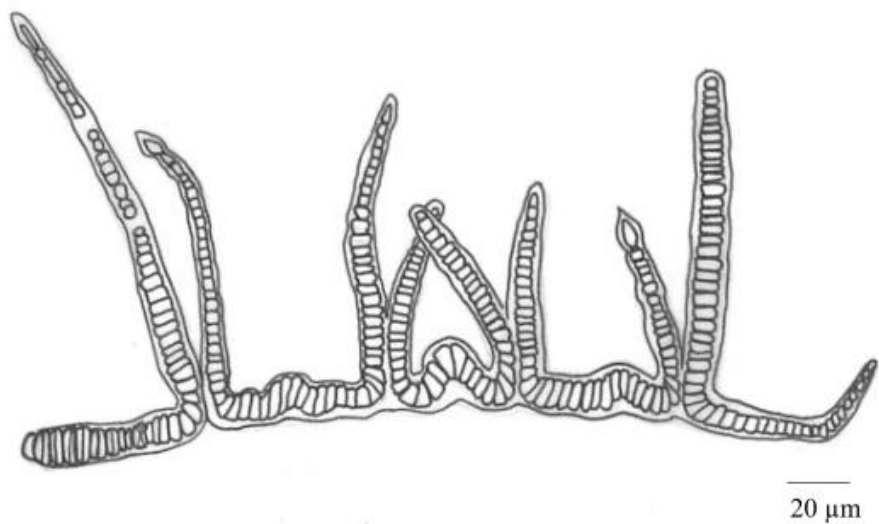
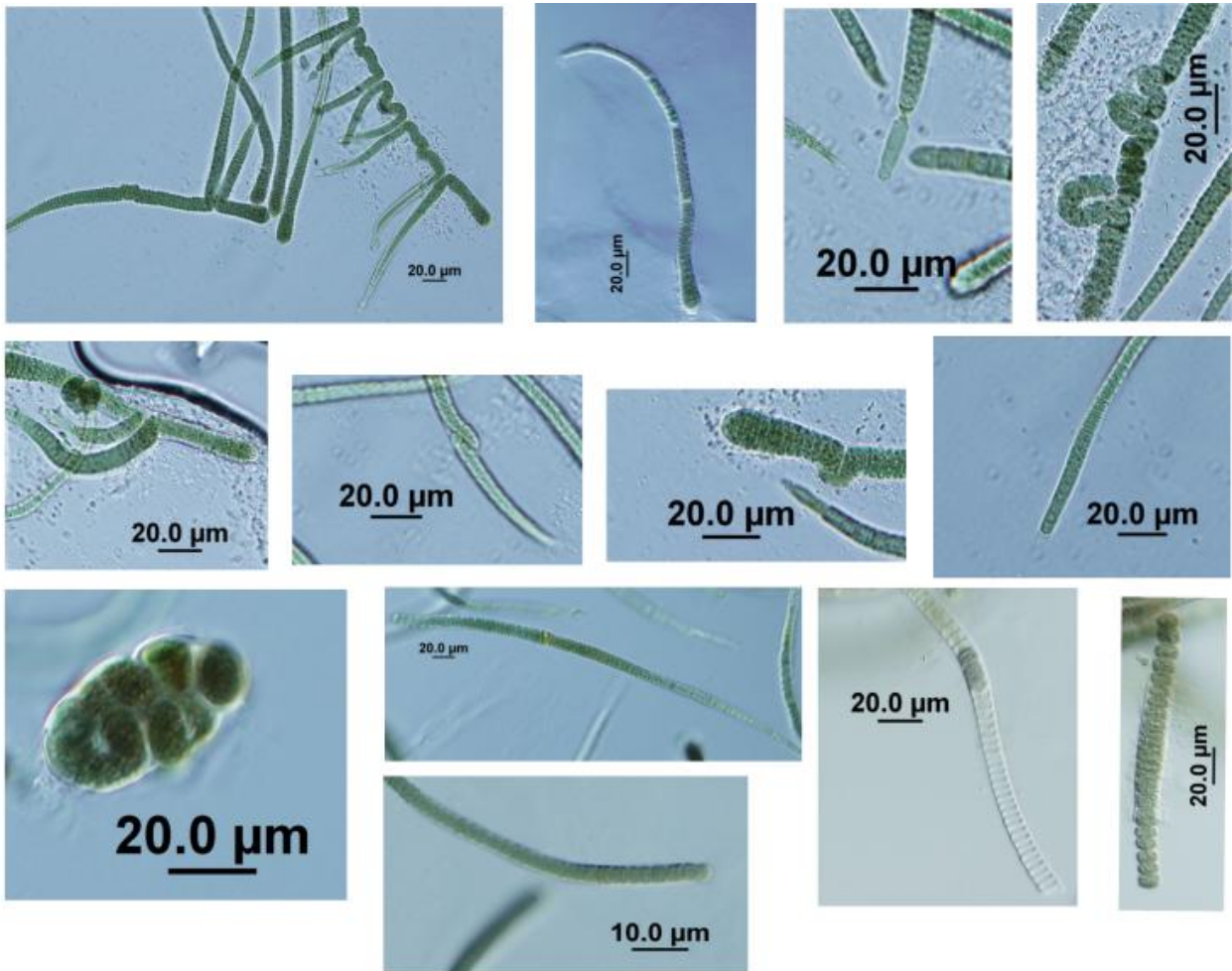
Obr. 17: Geografická mapa GSMNP s vyznačením odběrových lokalit. (zdroj: <http://mappery.com/Great-Smoky-Mountains-National-Park-Map>)

7.3. Příloha 3



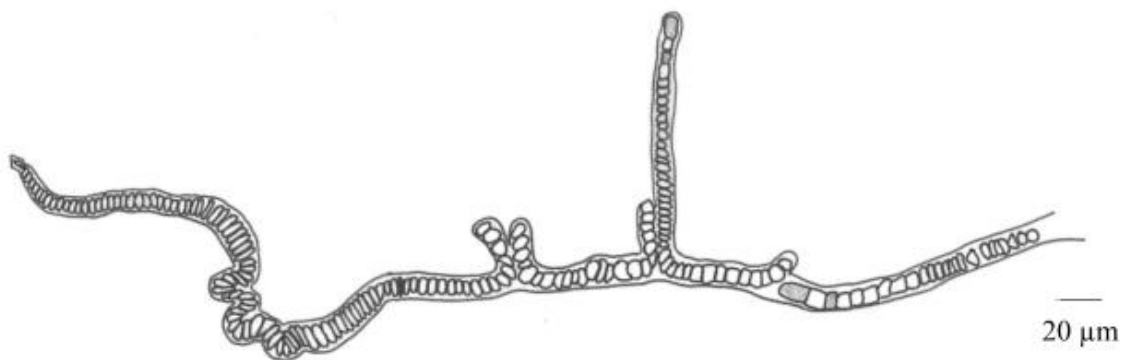
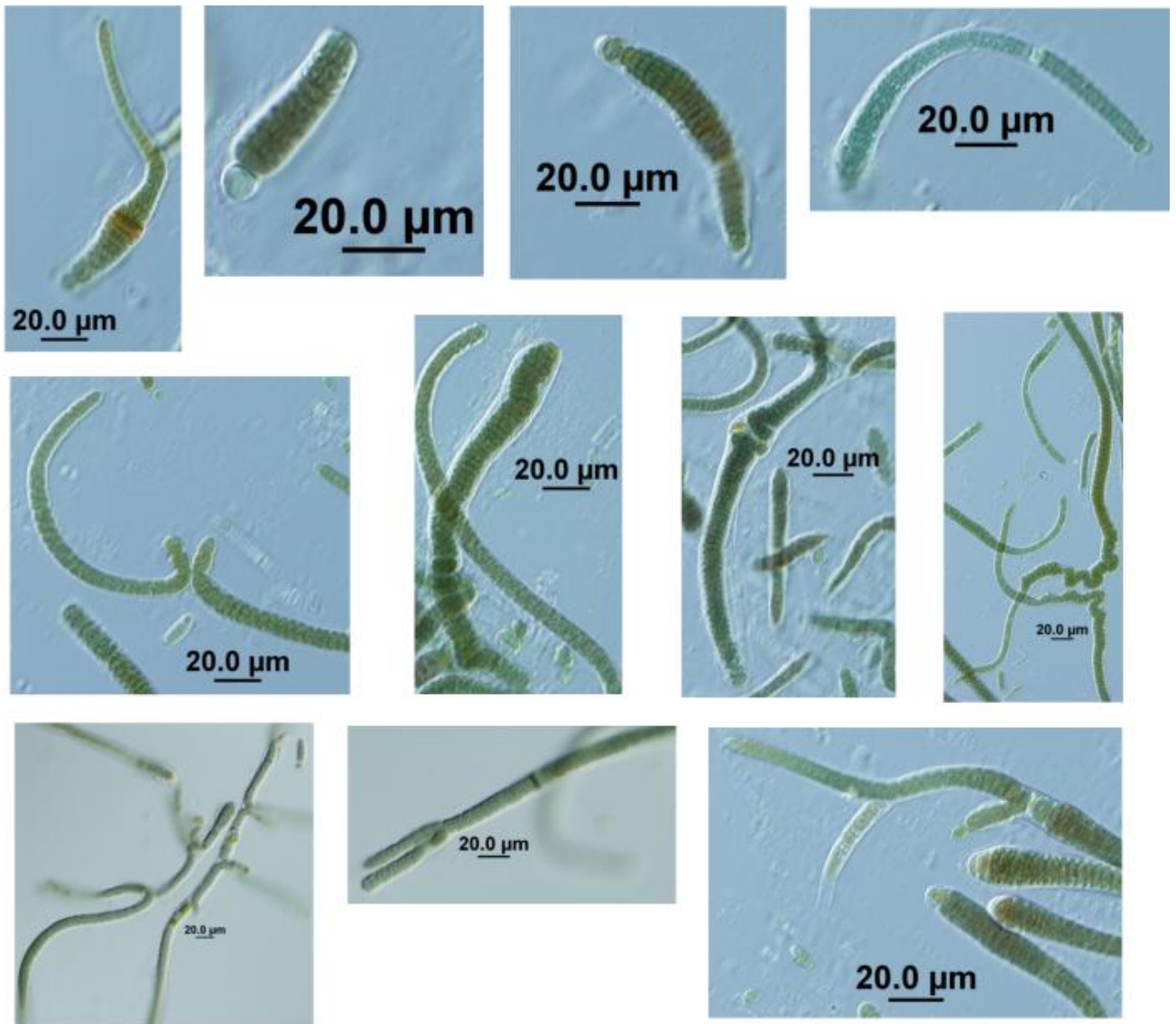
Scytonema hofmanni

7.4. Příloha 4



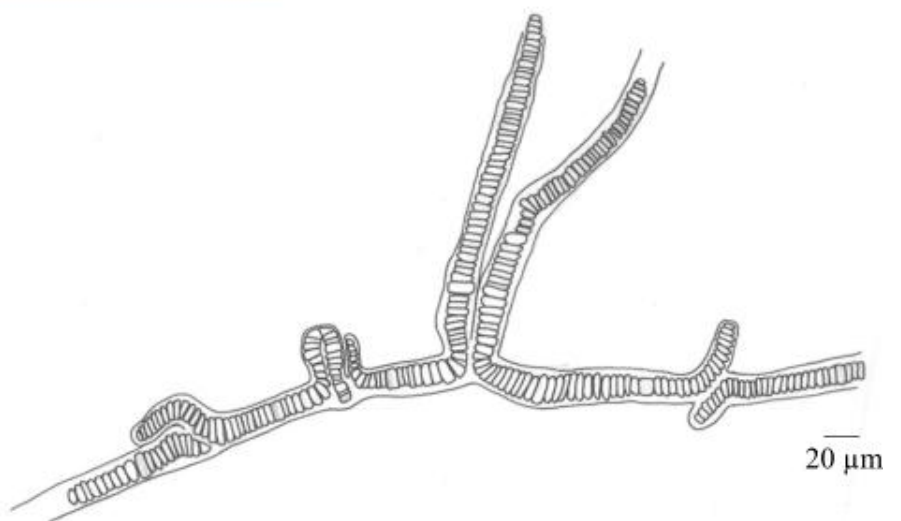
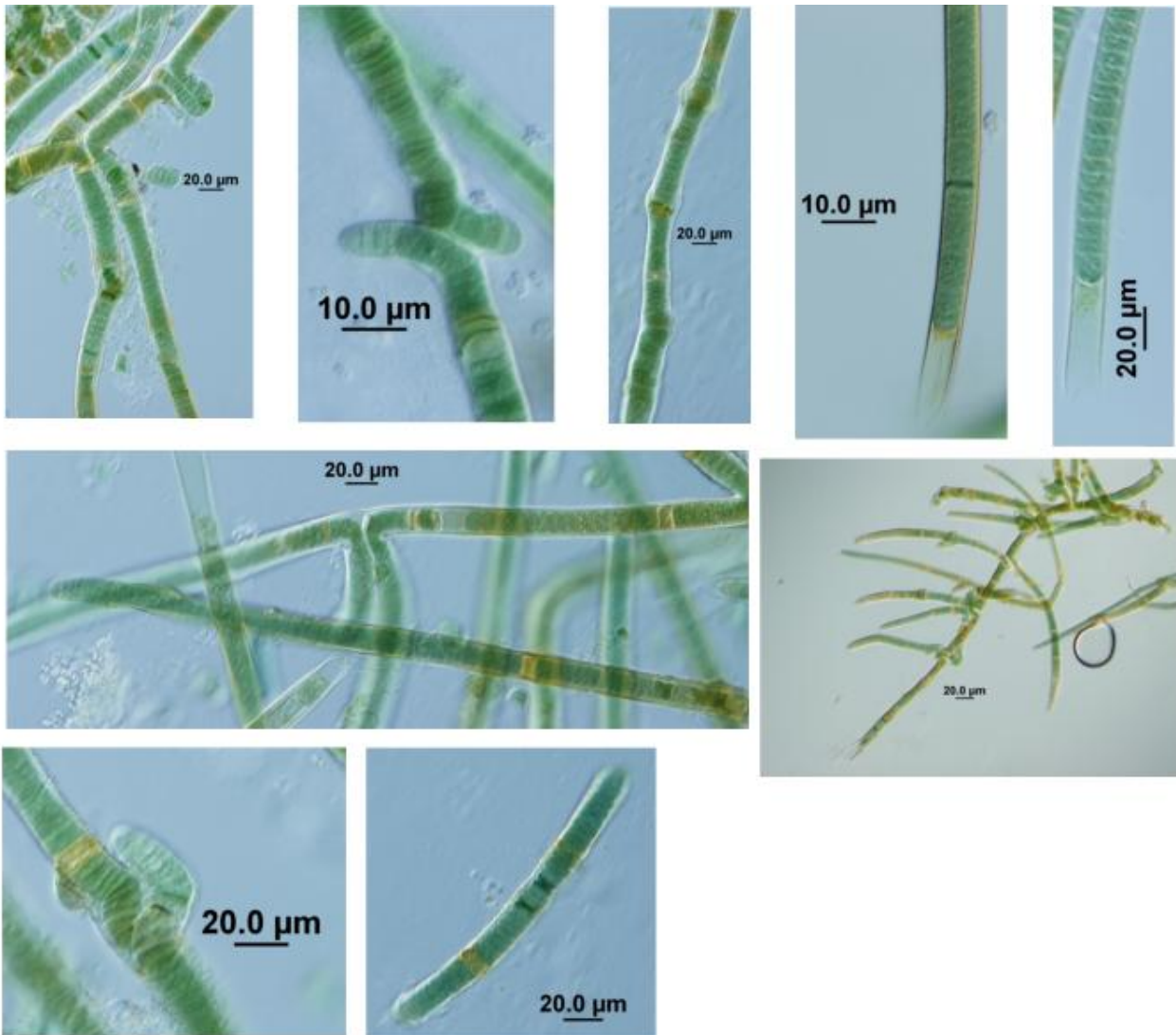
Calothrix parasitica

7.5. Příloha 5



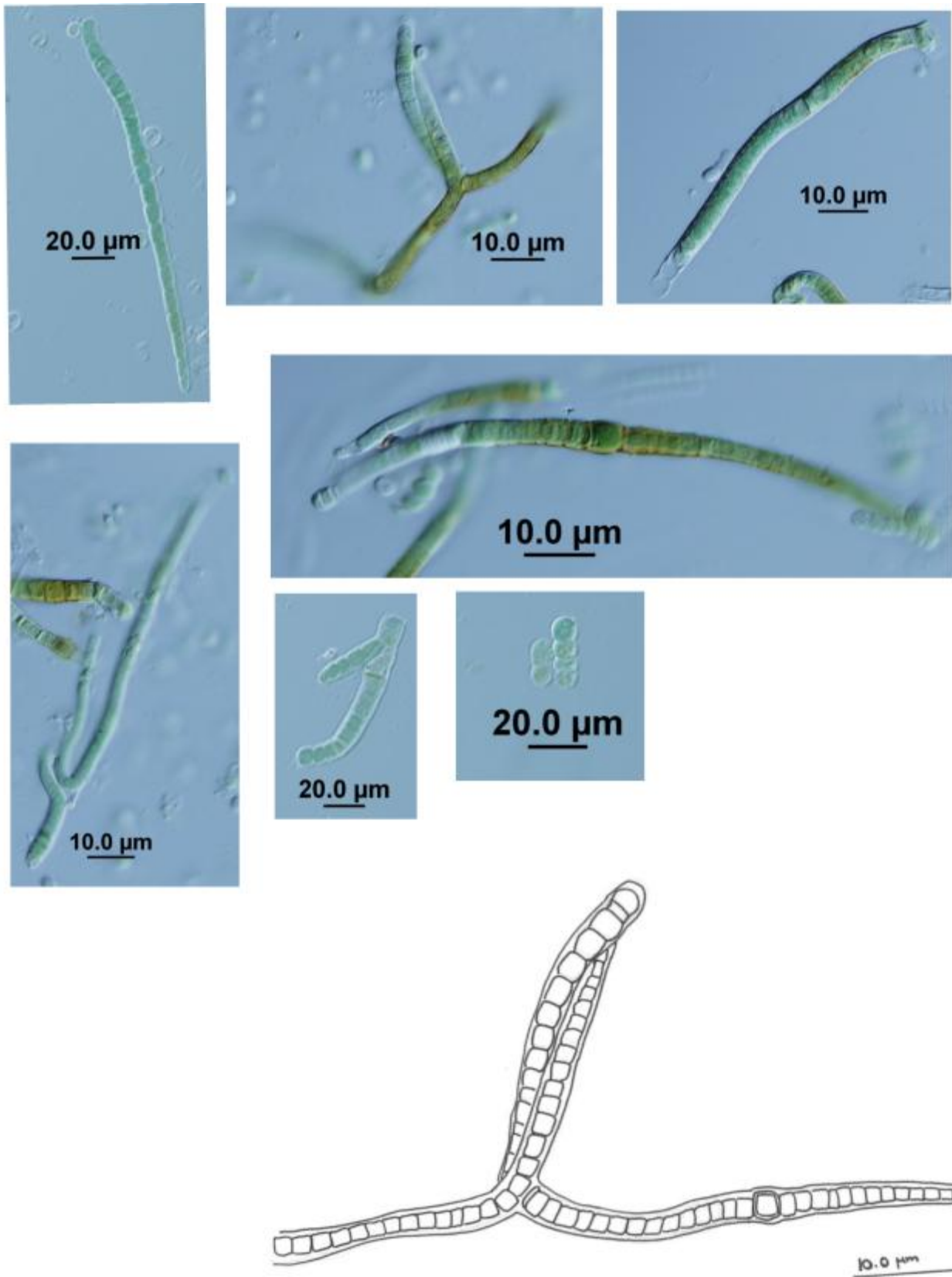
Calothrix fusca

7.6. Příloha 6



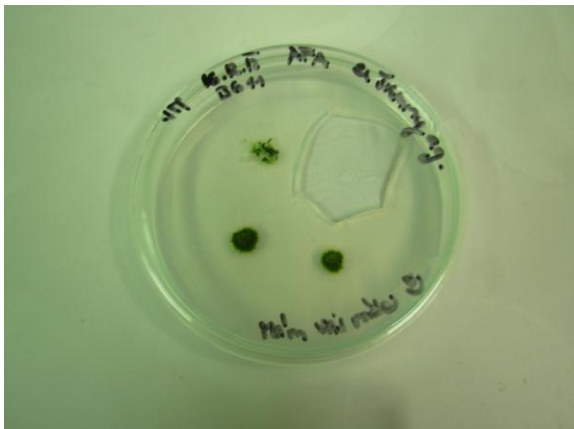
Scytonema cf. millei

7.7. Příloha 7

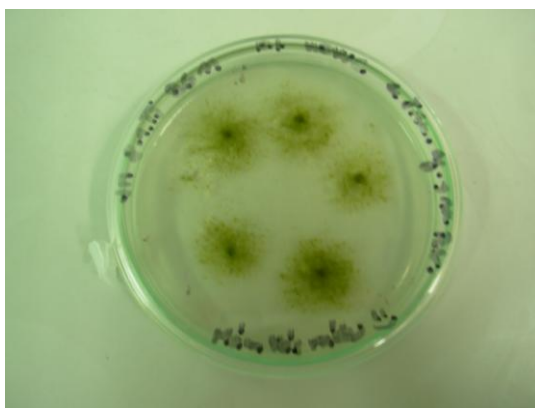


Scytonema subgelatinosum

7.8. Příloha 8



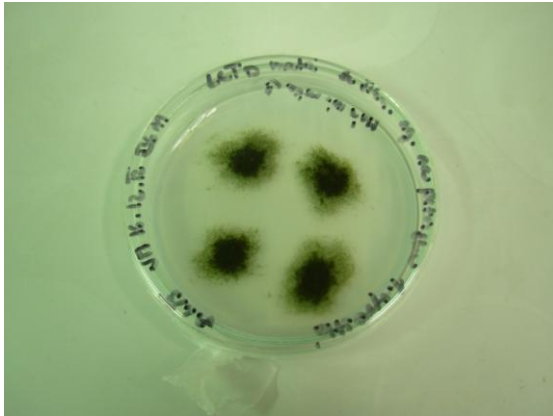
Obr. 17: *Scytonema hofmanni*. (Foto: Jarmila Michálková)



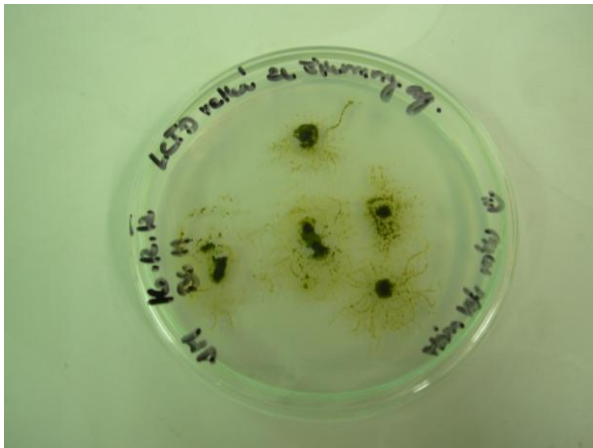
Obr. 18: *Scytonema cf. millei*. (Foto: Jarmila Michálková)



Obr. 19: *Scytonema subgelatinosum*. (Foto: Jarmila Michálková)



Obr. 20: *Calothrix parasitica*. (Foto: Jarmila Michálková)



Obr. 21: *Calothrix fusca*. (Foto: Jarmila Michálková)