

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE FAKULTA  
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ KATEDRA EKOLOGIE**



**Sekundární metabolity saxikolních lišejníků ve vybraných  
oblastech České republiky**

**Diplomová práce**

**Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Jana Kocourková, CSc.**

**Vypracovala: Bc. Anna Botová**

**2019**

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Anna Botová

Ochrana přírody

Název práce

**Sekundární metabolity saxikolních lišejníků ve vybraných oblastech České republiky**

Název anglicky

**Secondary metabolites in saxicolous lichens in selected localities of the Czech Republic**

---

### Cíle práce

Sekundární metabolity lišejníků slouží k obraně vlastního mikrobiomu lišejníku. Chrání jej nejen proti napadení různými organismy, ale odráží pravděpodobně i jejich přizpůsobení abiotickým faktorům stanovišť. Diplomová práce má porovnat rozdíly v zastoupení sekundárních metabolitů na výškovém gradientu nížina – subalpínský stupeň na studii saxikolních lišejníků 3 až 4 lokalit v České republice.

- 1/ Pomocí metody TLC zjistit a určit sekundární metabolity saxikolních druhů lišejníků
- 2/ Porovnání zastoupení sekundárních metabolitů v různých nadmořských výškách
- 3/ Porovnání zastoupení saxikolních druhů v různých nadmořských výškách
- 4/ Sepsat diplomovou práci

### Metodika

- 1/ Výběr lokalit a sběr materiálu
- 2/ Literární rešerše k tématu
- 3) Metodika Thin Layer Chromatography (TLC)

## Doporučený rozsah práce

40-60

## Klíčová slova

sekundární metabolity, saxikolní lišejníky, Thin Layer Chromatography, Brdy, Krkonoše, Podyjí

---

## Doporučené zdroje informací

- Kocourková J. (2016): Metody sběru, preparace a herbářového zpracování lišejníků, mechorostů a hub a určovací metodika lišejníků 2016. – 48 pp., Ms. [Depon in: FŽP ČZU, katedra ekologie].
- Liška J., Palice Z. (2010): Červený seznam lišejníků České republiky (verze 1.1). – Příroda, Praha 29: 3–66.
- Orange A., James P. W. & White F. J. (2010): Microchemical Methods for the Identification of Lichens. – British Lichen Society, London. 101 pp.
- Ranković B. (ed.) (2015): Lichen Secondary Metabolites. Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential. – Springer International Publishing Switzerland, Cham. 202 pp.
- Wirth V., Hauck M., Schultz M. (2013): Die Flechten Deutschlands, Band 1 & 2. – Eugen Ulmer KG, Stuttgart. 1244 pp.

---

## Předběžný termín obhajoby

2018/19 LS – FŽP

## Vedoucí práce

doc. RNDr. Jana Kocourková, CSc.

## Garantující pracoviště

Katedra ekologie

---

Elektronicky schváleno dne 27. 11. 2018

**doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.**

Vedoucí katedry

---

Elektronicky schváleno dne 28. 11. 2018

**prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.**

Děkan

V Praze dne 18. 04. 2019

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Jany Kocourkové, CSc., a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Praze, dne 18. 4. 2019

Podpis:.....

## **Poděkování**

Mé poděkování patří především vedoucí této bakalářské práce doc. RNDr. Janě Kocourkové, CSc. za podporu, ochotu a předání nových vědomostí během zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat prof. dr hab. Martinu Kukwowi za pomoc s určováním sekundárních metabolitů.

## Abstrakt

Produkcí sekundárních metabolitů je lišejník chráněn před různými vlivy prostředí. Díky nim jsou lišejníky pravděpodobně schopné adaptovat se na rozmanitou škálu nepříznivých podmínek. Chemickou analýzou TLC byly identifikovány sekundární metabolity saxikolních lišejníků silikátových sutí ze 4 lokalit, reprezentujících 4 nadmořské výšky. Rozmezí nadmořských výšek mezi nejnižší a nejvyšší položenou lokalitou je 250–1550 m. n. m. Z lokalit byly porovnávány rozdíly v zastoupení sekundárních metabolitů podél výškového gradientu nížina-subalpínský stupeň. Celkově bylo identifikováno 45 sekundárních metabolitů a 49 saxikolních druhů ze všech lokalit. Zastoupením metabolitů se lokality mezi sebou výrazně nelišily. Většina metabolitů z hlediska výskytu na nadmořskou výšku vázána není, kromě kyseliny miriquidové. Druhy rodu *Miriquidica* osidlují v převážné většině podhorské, horské a alpínské oblasti (s výjimkou *M. deusta*), proto se metabolit v nižších polohách nevyskytuje. V rámci výzkumu byl zjištěn výskyt dealpínského druhu *Dimelaena oreina* s chemotypem I v nejnižší položené lokalitě v Podyjí. Pro Krkonoše byla nově zjištěna *Miriquidica nigroleprosa* var. *liljenstroemii*. Bylo zjištěno, že zastoupení různých sekundárních metabolitů nezávisí na nadmořské výšce.

Klíčová slova: sekundární metabolity, saxikolní lišejníky, Thin Layer Chromatography, Brdy, Krkonoše, Podyjí

## Abstract

Lichens are protected from environmental factors by production of secondary metabolites. This likely allows them to adapt to broad range of harsh conditions. Secondary metabolites of saxicolous lichens were chemically analyzed by TLC. Lichen material was collected from 4 boulder scree sites representing 4 different elevations. Range of elevations was 250–1550 m. a. s. l. between the lowest and the highest lying locations. Differences in presence of metabolites from each site were compared with regard to the elevation gradient. From all analyzed samples 45 secondary metabolites in 49 saxicolous lichens were identified from all localities. There was no significant difference in distribution of metabolites amongst the locations. In most of the metabolites their presence was not dependent on the elevation with the exception of the miriquidic acid. Species of the order *Miriquidica* are found mainly in mountainous and alpine regions (except *M. deusta*) - therefore the miriquidic acid is not present in the species found in the localities with lower elevation. A dealpine species *Dimelaena oreina* with the chemotype I was found in the locality with the lowest altitude Podyjí. The variety *Miriquidica nigroleprosa* var. *liljenstroemii* was found in Krkonoše mountains (Giant Mts.). It was found that the presence of the different metabolites is not linked to the elevation.

Keywords: secondary metabolites, saxicolous lichens, Thin Layer Chromatography, Brdy, Krkonoše, Podyjí

## Obsah

1. Úvod.....	9
2. Cíle práce .....	10
3. Literární rešerše.....	11
3.1 Metabolické adaptace lišejníků .....	11
3.2 Alelopatické adaptace .....	11
3.3 Adaptace na geografické a ekologické podmínky .....	11
3.4 Adaptace proti požírání .....	12
3.5 Adaptace na UV záření .....	13
3.6 Adaptace na kyselé prostředí .....	14
3.7 Adaptace na těžké kovy .....	14
4. Charakteristika zájmových území .....	15
4.1 Podyjí .....	16
4.2 Hřebenec .....	18
4.3 Sněžka .....	19
5.1 Sběr dat v terénu .....	22
5.2 Laboratorní část.....	22
5.3 Metoda tenkovrstevné chromatografie (TLC) .....	23
6. Výsledky .....	25
6.1 Seznam určených sekundárních metabolitů .....	25
6.2 Komentovaný seznam sekundárních metabolitů .....	31
6.3 Komentáře k vybraným druhům a rodům .....	41
7. Diskuse.....	44
8. Závěr .....	49
9. Použitá literatura .....	51



## 1. Úvod

Stejně jako bakalářská práce je i tato diplomová práce zaměřena na problematiku sekundárních metabolitů. Zatímco bakalářská práce byla věnována sekundárním metabolitům epifytických lišejníků, tato práce je zaměřena na saxikolní lišejníky.

Jednou ze schopností lišejníků reagovat na abiotické faktory stanovišť je produkce sekundárních metabolitů. Tvorbou sekundárních metabolitů je tak mikrobiom lišejníku chráněn. Existuje mnoho studií, kde byly tyto vlastnosti prokázány. Nejčastějšími spouštěči produkce metabolitů bývají UV záření a pH (Ranković 2015).

Lišejníky mohou díky sekundárním metabolitům existovat v územích, kde panují nehostinné podmínky. Jsou schopné se adaptovat na různou škálu nepříznivých podmínek. Každý metabolit může plnit jinou funkci, proto jsou častým předmětem výzkumu. Účinky sekundárních metabolitů jsou nejčastěji zjišťovány měřením jejich koncentrace. K tomu slouží metoda vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC). Díky ní lze zjistit, zdali se koncentrace látky v závislosti na nějaký abiotický faktor prostředí mění.

Sekundární metabolity jsou významné i z hlediska taxonomie. Každý druh má své specifické složení lišejníkových látek, díky čemuž je možné lišejníky určit do druhu. Této vlastnosti se především využívá u druhů, které jsou obtížně určitelné. K určení metabolitů slouží metoda tenkovrstevné chromatografie TLC (Thin-layer chromatography).

## 2. Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zdali se měnizastoupení sekundárních metabolitů v různých nadmořských výškách. Tedy zdali se produkce sekundárních metabolitů liší v závislosti na výškovém gradientu nížina - subalpínský stupeň. Sekundární metabolity budou hodnoceny kvalitativně. Bude posuzována jejich přítomnost či nepřítomnost v družících, nikoliv jejich koncentrace.

Ekologické nároky a chemismus nížinných, horských, subalpínských druhů jsou díky literatuře známé. Tato práce je praktickým ověřením těchto skutečností. Zároveň bude snahou zjistit, zda jsou nějaké saxikolní druhy svým chemismem variabilní.

Aby bylo možné předchozí cíl splnit, je nezbytné sekundární metabolity identifikovat. Sekundární metabolity se určí pomocí metody tenkovrstevné chromatografie (TLC). Zároveň bude snahou saxikolní druhy determinovat.

Na základě určených sekundárních metabolitů a saxikolních druhů se vyhodnotí jejich zastoupení v různých nadmořských výškách. Pomocí získaných informací literární rešerší budou výsledky diskutovány.

### 3. Literární rešerše

#### 3.1 Metabolické adaptace lišejníků

Lišejníky jsou schopné přežívat v extrémních podmínkách, na rozdíl od většiny jiných eukaryotických organismů. Z toho důvodu jsou lišejníky někdy označovány za „extrémofilní“ organismy (Nash 2008). Mohou se adaptovat na extrémní teploty, sucho, záplavy, salinitu, vysokou koncentraci znečištění ovzduší a na živinově chudé prostředí. I přesto, že se lišejníky dokáží přizpůsobit nehostinným podmínkám, jsou citlivé ke změnám prostředí, ve kterém žijí (Ranković 2015). Právě za většinu adaptací k nepříznivým podmínkám jsou zodpovědné sekundární metabolity (Culberson 2001), které mimo jiné chrání lišejník před herbivory, hmyzem, patogeny a kompetitory. Na tvorbu sekundárních metabolitů mají vliv viditelné světlo, UV záření, nadmořská výška, kolísání teplot a sezónnost (Ranković 2015).

#### 3.2 Alelopatické adaptace

Grime (1979) kdysi předpověděl, že funkce sekundárních metabolitů je obranná. Jako příklad lze uvést přítomnost kyseliny usnové a jiných sekundárních metabolitů v lišejnících, díky kterým není lišejník spásán herbivory a požírán hmyzem (Shukla et al. 2017). Sekundární metabolity jsou také pokládány za alelochemické látky, které potlačují růst sousedních organismů (Lawrey 1995). Tato schopnost může být považována za adaptaci, jelikož pomáhá lišejníkům v kompetici s mechy či s cévnatými rostlinami (Shukla et al. 2017). Depsidy kyselina evernová a kyselina squamatová zpomalují růst mechu *Ceratodon purpureus*, *Funaria hygrometrica* a *Mnium cuspidatum* (Lawrey 1977). Saxikolní lišejníky působí alelopaticky i na mikrokoloniální houby, cyanobakterie a zelené řasy žijící na skalách. Jejich růst je inhibován kyselinou norstiktovou, kyselinou usnovou a parietinem (Gazzano et al. 2013).

#### 3.3 Adaptace na geografické a ekologické podmínky

U některých lišejníků mohou v rámci jednoho druhu vznikat různé varianty chemického složení, tzv. chemotypy. Vznik chemotypů může být vysvětlován jako

adaptace na rozdílné podmínky prostředí, ale ne vždy tomu tak je. Různé chemotypy byly zjištěny u arктоalpínských druhů *Flavocetraria cucullata* a *Flavocetraria nivalis* ze Sibiře. *F. cucullata* tvoří tři chemotypy, jejichž rozšíření se liší podle typu stanoviště. Například chemotyp III se vyskytuje pouze v arktických pouštích, kde je nízká biodiverzita. Oproti chemotypu I mu chybějí dvě kyseliny, jejichž nepřítomnost by mohla být příčinou nízké konkurenceschopnosti. Dalším zjištěním je možná existující souvislost mezi obsahem kyseliny usnové a rostoucí zeměpisnou šířkou. Vyšší obsah kyseliny usnové ve vyšších zeměpisných šířkách by mohl souviset s ochranou před slunečním zářením během polárního dne. *F. nivalis* má dva chemotypy, u kterých nebyla zjištěna žádná rozdílnost v souvislosti s geografickými či ekologickými podmínkami. Oba chemotypy obsahovaly velké množství kyseliny usnové, ale v tomto případě nebyla souvislost se zeměpisnou šířkou potvrzena. Možným vysvětlením jsou i jiné funkce této kyseliny (Prokopiev et al. 2018).

### 3.4 Adaptace proti požírání

Některé lišejníky se produkcí sekundárních metabolitů adaptovaly proti konzumaci fytofágním hmyzem a hlemýždi. Ukazuje se ale, že některé organismy se začínají na určité sekundární metabolity adaptovat také. Pöykkö et al. (2010) zjistili, že larvy motýla různorožce lišejníkového *Clerodes lichenaria* se adaptovaly na sekundární metabolity pomocí trávicí soustavy. *Clerodes lichenaria* je potravní specialista a nejvíce se zaměřuje na druh *Ramalina farinacea*, jehož sekundární metabolity dokáže ze všech lišejníků metabolicky nejlépe využít. Například většinu sekundárních metabolitů druhu *Xanthoria parietina* larvy nevyužijí a vyloučí (Pöykkö et al. 2010). Některé sekundární metabolity jsou pro larvy dokonce toxické a larvy umírají. Mezi kyseliny s letálním účinkem se řadí kyselina physodová a physodalová, které jsou obsaženy v lišejníku *Hypogymnia physodes* (Pöykkö et al. 2005).

Boch et al. (2015) zkoumali, zdali hlemýždi ve své potravě dávají přednost určitým druhům lišejníků před jinými druhy z hlediska obsahu sekundárních metabolitů. Pokusným druhem hlemýždě byla hladovka horská (*Ena montana*) a druhy z čeledi Clausilidae. Výsledky ukázaly, že nejvíce konzumovaným druhem byl lišejník *Lecanora chlorotera*, který byl zároveň nejhojněji zastoupeným druhem na stanovišti. Na základě výsledku je možné, že hlemýždi jsou schopni rozeznat nejhojnější druh lišejníku podle jeho sekundárních metabolitů, a zároveň se tak vyhýbají neznámým druhům s nízkým výskytem na stanovišti. Tím se potvrzuje

myšlenka, že konzument se adaptuje podle hojnosti výskytu zdroje potravy, což je v souladu s Feenyho teorií aparence („apparency hypothesis“). Podle této teorie se rostliny dělí na tzv. aparentní (běžné či nápadné), které neunikají pozornosti herbivorů, a neaparentní (vzácné) rostliny (Feeny 1976).

Existují metabolity, u kterých byl zjištěn účinek na růst a vývoj larev polyfágního hmyzu. Konkrétně u larev druhu *Spodoptera littoralis* byl pozorován zpomalený růst, způsobený mnoha metabolity (atranorin, pulvinový dilakton, kalycin, parietin, ...). Největší účinky zpomalující růst larev měly kyselina usnová a vulpinová (Emmerich et al. 1993, Giez et al. 1994).

Některé druhy lišejníků se produkcí sekundárních metabolitů brání před požitáním savců. Kdysi došlo k případu, kdy zemřelo 400–500 jelenů lesních (*Cervus elaphus*). Příčinou smrti byla otrava lišejníkem *Xanthoparmelia chlorochroa*. Druh vylučuje kyselinu usnovou, která je při vysokých dávkách toxická (Dailey et al. 2008).

### 3.5 Adaptace na UV záření

Lišejníky jsou schopné kolonizovat pouště nebo alpínské či arktické oblasti, pro něž jsou typické extrémní podmínky, jako je sucho nebo sluneční záření. V korové vrstvě lišejníku se nachází fotobiont, tedy řasa, která je citlivá na sluneční záření a může dojít k jejímu poškození. UV-B záření zpomaluje fotosyntézu a ničí DNA. Díky pigmentům v korové vrstvě lišejníku absorbujícím UV-B záření, je fotobiont chráněn. Mezi sekundární metabolity s touto schopností absorpce patří atranorin, kalycin, kyselina pinastrová, kyselina pulvinová, kyselina rhizokarpová, kyselina usnová a kyselina vulpinová (Galloway 1993, Rundel 1978, Solhaug & Gauslaa 1996).

V arktických podmínkách na Antarktidě roste druh pupkovky *Umbilicaria decussata*. U tohoto lišejníku Sadowsky a Ott (2015) zkoumali fotoprotektivní účinky fotobionta a pigmentu melaninu, který je produkován mykobiontem. Ochrana fotosystému II je pro přežití lišejníků v extrémních podmínkách klíčová. Samotný izolovaný fotobiont je schopen chránit fotosystém II, ale pouze při vyšších teplotách. Nejvyšší fotoprotektivní účinky má fotobiont s mykobiontem v symbiotickém stavu. Adaptace na extrémní podmínky v Antarktidě je částečně dána fyziologickými účinky fotobionta a jeho profitováním ze symbiotického vztahu s mykobiontem.

### 3.6 Adaptace na kyselé prostředí

Produkce určitých sekundárních metabolitů má souvislost s typem prostředí, ve kterém lišejníky rostou. Toleranci ke kyselému prostředí mají druhy lišejníků, které produkují fumarprotocetrarovou, perlatolovou nebo thamnolovou kyselinu. Důvodem je velmi nízká hodnota disociační konstanty  $pK_{a1}$  těchto kyselin, jejichž tvorbou jsou lišejníky adaptovány na kyselé prostředí s  $pH < 4$ . Kyselé prostředí rovněž zahrnuje rašelinné půdy nebo borku jehličnanů, která je velmi kyselá i v neznečištěném prostředí. V době kyselých dešťů a znečišťujícího se ovzduší se rozšířily druhy s fumarprotocetrarovou (*Lecanora conizaeoides*, *Mycoblastus fucatus*), perlatolovou (*Ropalospora viridis*) a thamnolovou kyselinou (*Cladonia digitata*), což bylo pravděpodobně dáno adaptací na kyselé prostředí (Hauck et al. 2009).

### 3.7 Adaptace na těžké kovy

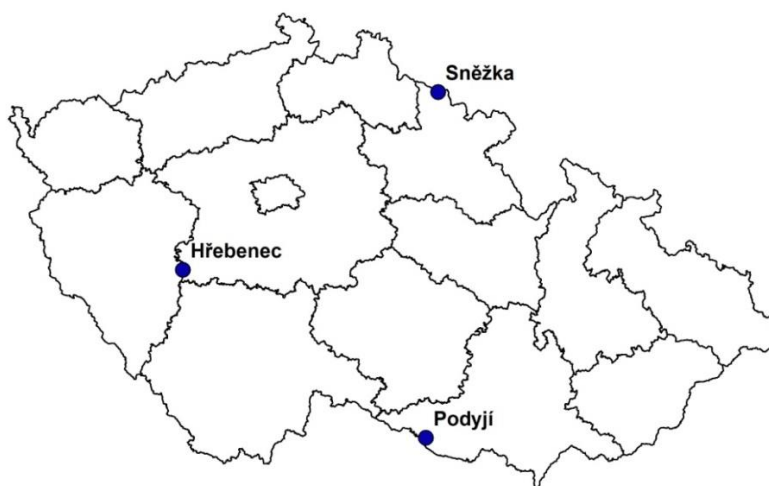
Ve znečištěném prostředí těžkými kovy a sloučeninami síry byly u druhu *Hypogymnia physodes* zaznamenány znatelné změny v obsahu jednotlivých sekundárních metabolitů. Ve stélce výrazně klesla hladina atranorinu, kyseliny physodové a kyseliny hydroxyphysodové. Naopak vzrostlo množství kyseliny physodalové, která by mohla být klíčová pro přežití ve znečištěném prostředí (Białonska and Dayan 2005). Hauck a Huneck (2007a) potvrdili účinnost kyseliny physodalové u *H. physodes*. Prokázali, že při výměně kationtů dochází k iont-specifickému snížení nebo zvýšení adsorpce těžkých kovů buněčnou stěnou pokrytou sekundárními metabolity *H. physodes*. Lišejníkové sloučeniny výrazně snížily adsorpci  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  a  $Mn^{2+}$  iontů. Naopak byla zvýšena adsorpce  $Fe^{3+}$  iontů a hladina  $Fe^{2+}$  iontů se nezměnila. Hauck (2008) došel ke stejnému výsledku u  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  a  $Fe^{2+}$  iontů. Dále zjistil, že sekundární metabolity neměly na hladinu  $Zn^{2+}$  vliv, stejně jako u  $Fe^{2+}$  iontů. *H. physodes* zbavená sekundárních metabolitů neměla na snížení či zvýšení iontů vliv. Díky sekundárním metabolitům je *H. physodes* schopná tolerovat vyšší koncentrace  $Cu^{2+}$  a  $Mn^{2+}$  iontů, které jsou toxické. Naopak neměly vliv na  $Zn^{2+}$  a  $Fe^{2+}$  ionty, u kterých ani není známo, že by ovlivňovaly přežití lišejníků (Hauck 2008). U druhu *Lecanora conizaeoides* snižuje adsorpci  $Mn^{2+}$  iontů kyselina fumarprotocetrarová, která by mohla být klíčovým faktorem ve vysoké Mn toleranci tohoto druhu (Hauck & Huneck 2007b).

Výsledky ukazují, že sekundární metabolity pomáhají lišejníkům v toleranci těžkých kovů ve znečištěných oblastech (Molnár & Farkas 2010).

Těžké kovy jsou stresovým faktorem i pro saxikolní lišejníky, které se na ně adaptovaly pomocí sekundárních metabolitů. Favero et al. (2015) dělali výzkum saxikolních lišejníků na ultramafických horninách v Alpách. Zjistili, že přítomnost určitých lišejníkových sloučenin je závislá na přítomnosti určitých minerálů hornin. Například produkce kyseliny norstiktové a jí příbuzných sloučenin jsou závislé na přítomnosti křemíku, hliníku, vápníku či chromu. Nepřímá závislost byla prokázána uniku, železa či hořčíku. Tedy pokud se v hornině nachází nikl, železo nebo hořčík, je produkce kyseliny norstiktové vyloučena.

#### 4. Charakteristika zájmových území

Výzkum probíhalna sutích v Podýjí, na Hřebenci v Brdech a na Sněžce v Krkonoších (Obr. 1). Všechny zájmové lokality se řadí k zvláště chráněným územím. Základní charakteristiky sutí zájmových lokalit uvádí tabulka (Tab. 1).



Obr. 1: Lokalizace zájmových území (zdroj mapy: ČÚZK)

Lokalita	Výškové rozmezí [m]	Délka (výška) sutě [m]	Šířka sutě [m]	Expozice	Substrát
Kamenné mořenad Dyjí (Podyjí)	240–285	115	80 + 80	JZ	granit
Hřebenec (Brdy)	710–735	500	300 + 200	JZ	granit
Suť nad Kovárnou (Sněžka)	1135–1200	125	60	JZZ	svor
Pod vrcholem Sněžky	1540–1590	125	300	JV	svor

Tab. 1: Charakteristika sutí

## 4.1 Podyjí

Balvanitá suť, na které výzkum probíhal, se nachází v I. zóně Národního parku Podyjí. NP Podyjí byl vyhlášen v roce 1991. Lokalita se nachází ve východní části NP Podyjí, na pravém břehu Dyje, 2,5 km severozápadně od obce Havraníky na Znojemsku.

Jihozápadně orientovaná suť je rozdělena porosty stromů na dvě části (Obr. 2). Obě jsou stejně vysoké (115 m) a stejně široké (80 m). Rozmezí nadmořské šířky činí 240–285 m n. m. Balvany sutí jsou tvořeny granitem a ze všech čtyř sutí se jedná o balvany s největším rozměrem, někdy v průměru i přes 1 m. Jižní část sutě je charakteristická vlhkem, jelikož se nachází blízko řeky a je krytá stromy.

Podle geomorfologického členění (Demek & Mackovčín 2006) lze území zařadit do provincie České vysočiny, Českomoravské soustavy a oblasti Českomoravská vrchovina. Dále spadá do celku Jevišovická pahorkatina, která se dělí na dvě pahorkatiny. V Bítovské pahorkatině leží západní část území a ve Znojenské pahorkatině leží střední část území. Nejvýchodnější část území zasahuje do Dyjsko-svrateckého úvalu, jež náleží soustavě Vněkarpatských sníženin a provincii Západních Karpat. Kamenné moře, na němž probíhal výzkum spadá do Znojenské pahorkatiny. Nejdůležitějším prvkem území je hluboké říční údolí, jehož říční meandry ovlivňují orientaci svahů do různých směrů. Avšak většina území je ukloněna jihovýchodním směrem (Reiterová & Škorpík 2011).



Horninové podloží národního parku tvoří ve směru od západu na východ muskovit-biotitické pararuly, dvojslídne ortoruly, amfibolity, chloritické svory, fylity, muskovitické kvarcity, mramory, krystalické vápence a erlány. Východní část, kde leží lokalita výzkumu, je složena z biotitických granitů. Granity v úrovni Znojma střídají granodiority. V údolích vodních toků se vyskytují hlinité písky, písčitohlinité a štěrkovité sedimenty (Reiterová & Škorpík 2011).

Nejrozšířenějším půdním typem jsou hnědozemě, kambizemě, které na hřbetech skal a prudších svazích přecházejí v rankery až litozemě (Reiterová & Škorpík 2011).

Klimaticky spadá lokalita v NP do teplé oblasti T2. Ta je charakteristická dlouhým teplým a suchým létem, velmi krátkým přechodným obdobím a krátkou, mírně teplou, suchou až velmi suchou zimou s velmi krátkým trváním sněhové pokrývky. Průměrný roční úhrn srážek se pohybují v rozmezí 500–600 mm a průměrná roční teplota činí 9 °C. Teplota mezi dnem a horní hranou údolí Dyje se může lišit o 1–3 °C (Quitt1971).

Z hlediska vegetace je území národního parku velmi pestré. Západní část je zastoupena bučinami asociací *Melico-Fagetum*, *Carici pilosae-Fagetum* a *Tilio cordatae-Fagetum*. Pro střední část a pro říční údolí jsou typické hercynské dubohabřiny asociace *Melampyro nemorosi-Carpinetum*. Ve východní části se uplatňují acidofilní doubravy, které jsou na okraji Českého masivu nahrazeny teplomilnými doubravami asociace *Sorbo torminalis-Quercetum*. Dolní části příkrých svahů v říčním údolí tvoří suťové lesy asociace *Aceri-Carpinetum* zatímco dolní části mírných svahů jsou porostlé hercynskými dubohabřinami. Plochy přirozené nelesní vegetace v říčních údolích lze nalézt na skalách a na sutiích, která je převážně složena z mechů a lišejníků. Na okrajích národního parku se nachází polopřirozené bezlesí, které je tvořeno suchým vřesovištěm nebo suchými acidofilními trávníky (Daníhelka J. et al. 2002).



Obr. 2: Suť nad Dyjí (foto: autor práce)

## 4.2 Hřebenec

Zájmová lokalita se nachází přibližně 7,5 km jihozápadně od obce Rožmitál pod Třemšínem ve Středočeském kraji. Přírodní památka Hřebenec byla vyhlášena v roce 1964 a je součástí chráněné krajinné oblasti Brdy (Čížek & Šamata 2008).

Suť je orientována jihozápadně a dosahuje výšky 35 metrů (Obr. 3). Porosty stromů je rozdělena na dvě části. Celkově je kamenné moře široké 600 m, ale severní část je delší (300 m) oproti jižní části (200 m). Nadmořská výška se pohybuje mezi 710–735 m n.m. Horninovým substrátem je granit. Rozměr většiny balvanů je přibližně 30 x 20 x 10 cm, ale některé jsou překryty balvany s většími rozměry (100 x 80 x 50 cm). Jižní část je tvořena většími balvany.

Území geomorfologicky patří k Brdské vrchovině, která je součástí provincie Česká vysočina (Demek 1965).

Balvany kamenného moře jsou tvořeny holšínskými slepenci. Jedná se o kambrické sedimenty, jejichž složkou je křemen a bulžník (Čížek & Šamata 2008).

Dle Quitta (1971) spadá území do chladné oblasti CH7. Tato oblast je typická krátkým až velmi krátkým létem, mírně chladným a vlhkým létem adlouhou, mírně chladnou, vlhkou zimou s dlouhým trváním sněhové pokrývky. Průměrný roční úhrn srážek se zde pohybuje v rozmezí 700–800 mm a průměrná roční teplota dosahuje 6–7 °C ([www.chmi.cz](http://www.chmi.cz)).

Okolí kamenného moře tvoří smrkové porosty s vtroušenými stromy buku lesního (*Fagus sylvatica*), jedle bělokoré (*Abies alba*), borovice lesní, břízy pýřité a bělokoré. V bylinném patře převažuje brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*), dále se zde uplatňuje metlička křivolaká (*Avenella flexuosa*) a brusnice brusinka (*Vaccinium vitis-idaea*). Ve vrcholových partiích se roztroušeně tyčí borovice lesní, smrk ztepilý, bříza bělokorá či pýřitá, jeřáb ptačí a buk lesní (Čížek & Šamata 2008).



Obr. 3: Suť Hřebenec (foto: autor práce)

### 4.3 Sněžka

Sněžka (1603,3 m n. m.) je nejvyšším vrcholem Národního parku Krkonoš a České republiky. Vrcholem Sněžky prochází česko-polská hranice.

Na Sněžce byly vybrány dvě výzkumné lokality tvořené sutěmi. Jedna lokalita se nachází přímo pod vrcholem v rozemzí 1540–1590 m n. m. a druhá lokalita se rozprostírá mezi 1135 a 1200 m n. m. (Obr. 4 a Obr. 5.) nad bývalou Kovárnou. Níže položená suť je orientována jihozápadozápadně a suť pod vrcholem je orientována na jihovýchod. Obě sutě jsou se svými 125 m stejně vysoké. Šířka sutě nad Kovárnou činí 60 m a suť pod vrcholem činí 300 m. V obou lokalitách je substrátem svor.

Z geomorfologického hlediska náleží Sněžka do provincie České vysočiny, Krkonošsko-jesenické subprovincie, Krkonošské oblasti, podcelku Krkonošské hřbety, okrsku Slezské hřbety a podokrsku Východní Slezský hřbet (Balatka & Kalvoda 2006).

Území Krkonoš geologicky spadá do krkonošsko-jizerského krystalinika. Sněžka je tvořena svory a granity krkonošsko-jizerského plutonu. Pro vrchol Sněžky

a její blízké okolí jsou charakteristické výchozy a sutě kontaktně metamorfovaných svorů. Kamenná moře vznikla rozpadem horniny vrcholových partií a hřbetů, které byly v minulosti zvětrávány mrazem v důsledku zalednění (Mackovčín & Sedláček 2002).

Kvůli kyselému horninovému podloží jsou půdy Krkonoš většinou minerálně chudé, avšak vlhkostně příznivé. Převažujícím půdním typem Krkonoš jsou podzoly. Na sutích a skalních výchozech se vyskytují litozemě a rankery (Schwarz 2010).

Podle klimatického členění Quitta (1971) jsou vrcholové partie zařazeny do chladné oblasti CH4 a zbylé oblasti do oblastí CH6 a CH7. Průměrná roční teplota na vrcholu Sněžky je 0,2 °C a při úpatí je přibližně 4 °C. Průměrný roční úhrn srážek je ve vrcholových partiích nižší (1230 mm) než v údolí (1200–1400 mm) (Schwarz 2010).

Nejvýše položená lokalita leží v alpínském vegetačním stupni a níže položená lokalita se nachází ve stupni montánním. Alpínský stupeň se vyznačuje bezlesím, nízkou bylinnou vegetací, lišejníky a mechy. Pro montánní stupeň jsou typické smrkové porosty. V době zalednění byly vrcholové partie dlouhodobě izolovány, což vedlo ke vzniku nových druhů a poddruhů, které lze považovat za krkonošské endemity. Například lze uvést lomikámen pižmový čedičový (*Saxifraga moschata* subsp. *basaltica*) a bedrník obecný skalní (*Pimpinella saxifraga* subsp. *rupestris*). Díky zalednění se Krkonoše mohou pyšnit několika glaciálními relikty např. ostružiník moruška (*Robus chamaemorus*), ostřice tuhá (*Carex bigelowii*) a vrba laponská (*Salix lapponum*). Vrcholy jsou pokryty vyfoukávanými drnovými společenstvy ze svazu *Juncion trifidi* se sítinou trojklannou (*Juncus trifidus*), psinečkem skalním (*Agrostis rupestris*), vrancem jedlovým (*Huperzia selago*) a dalšími (Mackovčín & Sedláček 2002).



Obr. 4: Suť nad Kovárnou (foto: Jana Kocourková)



Obr. 5: Suť pod vrcholem (foto: Jana Kocourková)

## 5. Metodika

Práce zahrnuje část terénní a část laboratorní. Předmětem práce je analýza sekundárních metabolitů saxikolních lišejníků sutí podél výškového gradientu. Proto byly lokality vybrány tak, aby pokryly co nejširší výškový gradient v České republice. Nadmořská výška nejnižše nalezené položené lokality činí 240 m n. m. a nejvyšší lokalita se nachází přímo pod vrcholem nejvyšší hory České republiky ve výšce 1540

m n. m. V rozmezí nadmořské výšky nejnižší a nejvyšší položené lokality bylo třeba nalézt další dvě lokality. Aby byly nadmořské výšky lokalit podél gradientu rovnoměrně rozloženy, byl zvolen interval 400 m. Další dvě lokality se sutěmi byly tedy hledány s výskytem ve výšce nad 700 m n. m. a nad 1100 m n. m. Dalším kritériem byla snaha nalézt sutě s co nejpodobnějším geologickým substrátem, expozicí a stabilními sutěmi (velké balvany).

Veškeré práce byly prováděny v laboratoři a v herbáři Fakulty životního prostředí České zemědělské univerzity v Praze.

## 5.1 Sběr dat v terénu

Práce v terénu probíhaly od srpna do listopadu v roce 2018 na předem vybraných lokalitách silikátových sutí. Jedná se o lokality Podyjí, Hřebeneč a Sněžka. Všechny lokality jsou součástí zvláště chráněných území.

Na lokalitách byly sbírány pouze saxikolní lišejníky, které byly odebírány pomocí majzlíku a kladiva. Vzorky druhů byly následně vloženy do papírových pytlíků, na které se zaznamenalo příslušné datum sběru, lokalita, substrát, GPS souřadnice a identifikační číslo vzorku. Terénní údaje byly souběžně zaznamenány do notýsku. Než se provede chemická analýza, je nutné nasbíraný materiál vysušit a vymrazit po dobu alespoň 10 dnů při teplotě  $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Kocourková 2016).

Materiál určený k determinaci jsem na Hřebenci a v Podyjí sbírala sama a na Sněžce mi se sběrem pomohla vedoucí práce doc. RNDr. Jana Kocourková, CSc.

## 5.2 Laboratorní část

V herbáři byly morfologické znaky lišejníků zkoumány pomocí stereomikroskopu a mikroskopu. Sekundární metabolity byly identifikovány provedením bodových chemických testů, metody UV fluorescence a metody tenkovrstevné chromatografie. Chemická analýza sekundárních metabolitů metodou tenkovrstevné chromatografie probíhala v laboratoři. Při metodě UV fluorescence se používá UV box s dlouhovlnným zářením (366 nm). Výše zmíněné metody identifikace sekundárních metabolitů byly prováděny dle metodiky Kocourková (2016), Orange et al. (2010). Metody identifikace druhů a především metodika TLC je detailně popsána v mé bakalářské práci (Botová 2017), v této práci bude popsána obecně.

Vzorky budou zpracovány do herbářových položek a budou uloženy do herbáře na Fakultě životního prostředí, České zemědělské univerzity v Praze.

### 5.3 Metoda tenkovrstevné chromatografie (TLC)

Metoda tenkovrstevné chromatografie (Thin-Layer Chromatography) následuje metodiku dle Orange et al. (2010) a Kubiak & Kukwa (2011).

Metoda TLC je určena k identifikaci sekundárních metabolitů. Funguje na principu rozdílné schopnosti adsorpce a migrace složek směsi v systému dvou fází. Jedná se o fázi stacionární a mobilní. Stacionární fází je skleněná nebo hliníková deska pokrytá vrstvou silikagelu. Mobilní fáze sestává ze systému rozpouštědel (tzv. solventní systém). Konkrétně byly použity solventní systém A (toluen, dioxan, kyselina octová) a solventní systém C (toluen a kyselina octová). Na desku se narýsuje tzv. startovní linie 2 cm od spodního okraje, na kterou se vynese 18 nebo 20 bodů (pozic). Každou desku je nutné popsat číslem TLC sady, typem solventu a popřípadě jménem vykonavatele.

Před samotným provedením metody TLC by měly být připraveny odebrané vzorky lišejníků v jednorázových mikrozkuvkách, tzv. eppendorfkách. Do mikrozkuvka je přikapán aceton, do kterého se sekundární metabolity extrahují. Acetonový extrakt se aplikuje pomocí skleněných kapilár do příslušných bodů na desku. Poté se deska s nanešenými vzorky umístí téměř kolmo do skleněné komory se solventním systémem, po které rozpouštědlo vzlíná směrem k hornímu okraji desky.

Ve chvíli, kdy se rozpouštědlo nachází přibližně 5 cm od horního okraje desky, se desky z komory vyjmou. Z desek se musí rozpouštědlo odpařit, s čímž pomůže vysoušeč vlasů. Suché desky se vloží do UV boxu pod krátké vlny o délce 254 nm a pod dlouhé vlny o délce 366 nm, kde se sekundární metabolity zviditelní a označí tužkou.

Dalším krokem je zjistit přítomnost mastných kyselin. Desky se posprejují destilovanou vodou a mastné kyseliny se díky svým hydrofobním vlastnostem zviditelní a označí tečkovanou čarou. Desky se opět musejí vysušit.

Poslední krokem je aplikace 10% kyseliny sírové, která je na desku nanášena štětcem nebo sprejem. Deska je poté vložena na TLC vařič nebo do trouby, kde se suší při teplotě 110°C. Deska se musí hlídat, aby nezhněla. Tedy až se skvrny

vybarví, desku je potřeba z vařiče nebo z trouby vyjmout. Potom se desky zkoumají pod dlouhovlnným UV zářením. Kyselina sírová se používá k zviditelnění skvrn na denním světle a také k jinému zbarvení sekundárních metabolitů pod dlouhovlnným UV zářením.

Desky je třeba po provedení metody TLC vyhodnit, tedy určit sekundární metabolity. K vyhodnocení byla použita literatura Elix (2014) a Orange et al. (2010), kde jsou uvedeny jako retardační faktor ( $R_f$ ), barva pod UV zářením před a po aplikaci kyseliny sírové a barva po zahřátí. Retardační faktor vyjadřuje vzdálenost uraženou od startovní linie. Jedná se tedy o pozici skvrny na desce. Pro ulehčení určení pozice sekundárního metabolitu může být použita kontrola, tzv. standard. Vybere se lišejník s předem známým sekundárním metabolitem, u něž je retardační faktor znám. Kontrolní vzorek také může sloužit k ověření přítomnosti očekávané látky, nebo když si nejsme jistí správnou identifikací látky.



## 6. Výsledky

### 6.1 Seznam určených sekundárních metabolitů

Ze všech čtyř lokalit bylo celkem identifikováno 45 sekundárních metabolitů.

- 2'-O-demethylpsoromová kyselina** (2'-O-demethylpsoromic acid)
- 2'-O-methylmikrofyllinová kyselina** (2'-O-methylmicrophyllinic acid)
- 2'-O-methylperlatolová kyselina** (2'-O-methylperlatolic acid)
- 2'-O-methylsuperfyllinová kyselina** (2'-O-methylsuperphyllinic acid)
- 4-O-demethylplanaová kyselina** (4-O-demethylplanaic acid)
- 6-methylester kyseliny pannarové** (pannaric acid 6-methylester)
- alektorialová kyselina** (alectorialic acid)
- alektronová kyselina** (alectoronic acid)
- angardianová kyselina** (angardianic acid)
- atranorin** (atranorin)
- bourgeanová kyselina** (bourgeanic acid)
- diploschistová kyselina** (diploschistesic acid)
- fumarprotocetrarová kyselina** (fumarprotocetraric acid)
- gangaleoidin** (gangaleoidin)
- gyroforová kyselina** (gyrophoric acid)
- kalycin** (calycin)
- konfluentová kyselina** (confluentic acid)
- konfumarprotocetrarová kyselina** (confumarprotocetraric acid)
- konnorstiktová kyselina** (connorstictic acid)
- konsalazinová kyselina** (consalazinic acid)
- konstiktová kyselina** (constictic acid)
- lekanorová kyselina** (lecanoric acid)

**lobarová kyselina** (lobaric acid)  
**mengaziaová kyselina** (menegazziaic acid)  
**miriquidová kyselina** (miriquidic acid)  
**norstiktová kyselina** (norstictic acid)  
**oxostenosporová kyselina** (oxostenosporic acid)  
**pannarová kyselina** (pannaric acid)  
**perlatolová kyselina** (perlatolic acid)  
**planaová kyselina** (planaic acid)  
**protocetrarová kyselina** (protocetraric acid)  
**psoromová kyselina** (psoromic acid)  
**pulvinová kyselina** (pulvinic acid)  
**pulvinový dilakton** (pulvinic dilactone)  
**rangiformová kyselina** (rangiformic acid)  
**rhizokarpová kyselina** (rhizocarpic acid)  
**roccellová kyselina** (roccellic acid)  
**salazinová kyselina** (salazinic acid)  
**stenosporová kyselina** (stenosporic acid)  
**stiktová kyselina** (stictic acid)  
**thamnolová kyselina** (thamnolic acid)  
**umbilikarová kyselina** (umbilicaric acid)  
**usnová kyselina** (usnic acid)  
**vulpinová kyselina** (vulpinic acid)  
**zeorin**(zeorin)

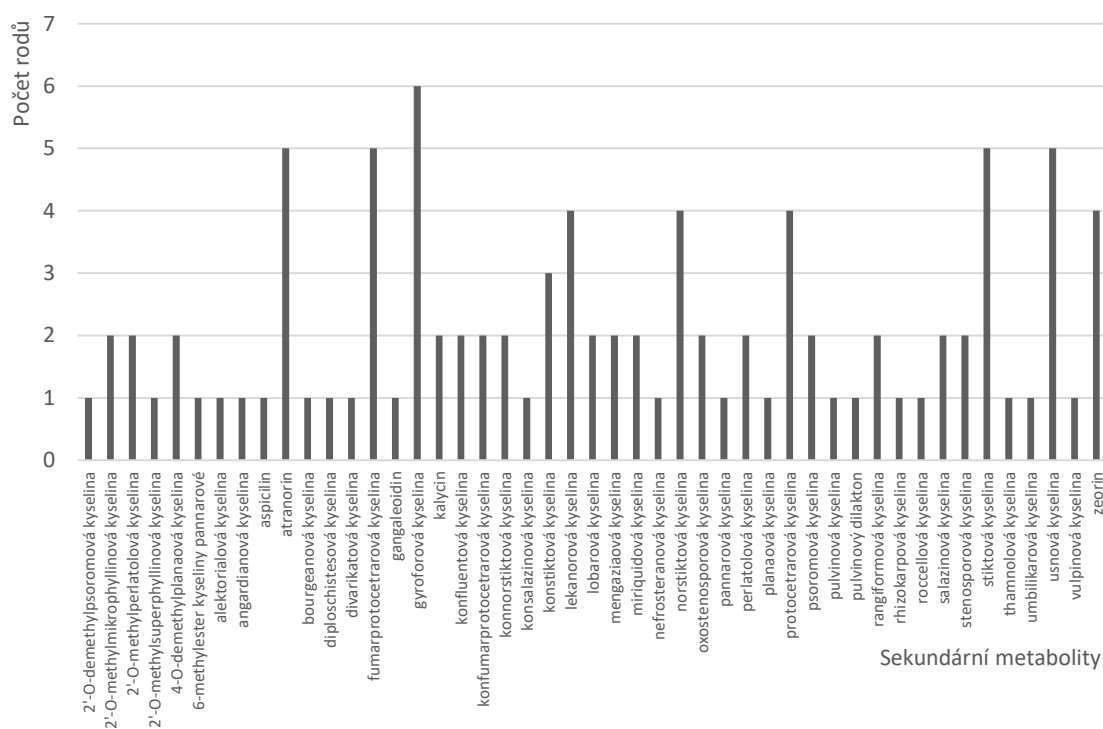
Přítomnost či nepřítomnost sekundárních metabolitů saxikolních druhů v dané lokalitě určité nadmořské výšky ukazuje tabulka (Tab. 2). Z celkových 45 sekundárních metabolitů bylo 15 sekundárních metabolitů společných pro všechny lokality. Naopak 10 lišejníkových látek bylo přítomno pouze na jedné ze čtyř lokalit. Nejvyšší zastoupení určených sekundárních metabolitů (32) má lokalita nad

Kovárnou na Sněžce. Na Sněžce je zároveň lokalita s nejnižším počtem určených sekundárních metabolitů (25) – pod vrcholem Sněžky.

	Podýjí	Hřebenec	Nad Kovárnou	Pod vrcholem Sněžky
2'- <i>O</i> -demethylpsoromová kyselina	+	+	+	+
2'- <i>O</i> -methylmikrophyllinová kyselina	+	+	+	+
2'- <i>O</i> -methylperlatolová kyselina	–	–	+	+
2'- <i>O</i> -methylsuperphyllinová kyselina	+	–	–	–
4- <i>O</i> -demethylplanaová kyselina	–	–	+	+
6-methylester kyseliny pannarové	+	–	–	–
alektorialová kyselina	–	–	–	+
alektronová kyselina	–	+	–	–
angardianová kyselina	–	–	+	–
atranorin	+	+	+	+
bourgeanová kyselina	–	–	+	+
diploschistesová kyselina	+	+	+	+
fumarprotocetrarová kyselina	+	+	+	+
gangaleoidin	–	–	+	–
gyroforová kyselina	+	+	+	+
kalycin	+	+	–	–
konfluentová kyselina	+	+	+	+
konfumarprotocetrarová kyselina	+	+	+	–
konnorstiktová kyselina	–	–	+	+
konsalazinová kyselina	–	+	+	–
konstiktová kyselina	+	+	+	+
lekanorová kyselina	+	+	+	+
lobarová kyselina	–	+	+	+
mengaziaová kyselina	–	–	+	+
miriquidová kyselina	–	–	+	+
norstiktová kyselina	–	+	+	+
oxstenosporová kyselina	+	–	–	–
pannarová kyselina	–	+	–	–
perlatolová kyselina	+	–	–	–
planaová kyselina	–	+	+	–
protocetrarová kyselina	+	+	–	–
psoromová kyselina	+	+	+	+
pulvinová kyselina	+	–	–	–
pulvinový dilakton	+	–	–	–
rangiformová kyselina	+	–	+	+
rhizokarpová kyselina	+	+	+	+
roccellová kyselina	+	+	+	–
salazinová kyselina	–	+	+	–
stenosporová kyselina	+	–	–	–
stiktová kyselina	+	+	+	+

thamnolová kyselina	–	+	+	–
umbilicarová kyselina	–	+	+	+
usnová kyselina	+	+	+	+
vulpinová kyselina	+	+	–	–
zeorin	+	+	+	+
<b>celkem</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>32</b>	<b>25</b>

Tab. 2: Přehled určených sekundárních metabolitů ve všech lokalitách a jejich početnost. Znak „+“ vyjadřuje přítomnost sekundárního metabolitu na lokalitě a znak „–“ vyjadřuje jeho absenci na lokalitě.



Obr. 6: Určené sekundární metabolity (osa x) a počet rodů lišejníků (osa y), ve kterých jsou obsaženy

V jednotlivých rodech se vyskytují různé sekundární metabolity. Některé metabolity jsou společné několika rodům, jiné jsou specifické pouze pro jeden rod. Graf znázorňuje přehled určených sekundárních metabolitů a počet rodů, v nichž jsou obsaženy (Obr. 6). Kyselina gyroforová byla identifikována v 6 rodech z celkového počtu 29 rodů saxikolních lišejníků všech čtyř lokalit. Většina sekundárních metabolitů je však charakteristická pouze pro jeden rod. Tři rody nevykazovaly žádné chemické látky. Vhodnějším ukazatelem by v tabulce byl počet druhů, než počet rodů, u kterých byl sekundární metabolit identifikován. Tabulka by pak ale byla nepřehledná.

Ze všech lokalit bylo dohromady určeno 49 druhů. Nejmenší počet určených druhů pochází z lokality Podyjí (15) a nevyšší z lokality Nad Kovárnou na Sněžce (24). Seznam určených druhů podle zastoupení na lokalitě je uveden v tabulce (Tab. 3). Přehled výčtu druhů z každé lokality zobrazuje tabulka (Tab. 4).

	Podyjí	Hřebenec	Nad Kovárnou	Pod vrcholem Sněžky
<i>Acarospora fuscata</i>	+	+	–	–
<i>Arctoparmelia incurva</i>	–	+	–	–
<i>Aspicilia laevata</i>	–	+	+	+
<i>Aspilea myrinii</i>	–	–	+	+
<i>Bellemeria sanguinea</i>	–	–	–	+
<i>Brodoa intestiniformis</i>	–	+	–	–
<i>Calvitimela armeniaca</i>	–	–	+	–
<i>Canderiella vitellina</i>	+	–	–	–
<i>Dimelaena oreina</i>	+	–	–	–
<i>Diploschistes scruposus</i>	+	+	+	+
<i>Chrysothrix chlorina</i>	+	+	–	–
<i>Lecanora intricata</i>	–	–	+	–
<i>Lecanora polytropa</i>	–	–	+	+
<i>Lecanora cenisia</i>	–	–	+	+
<i>Lecidea confluens</i>	–	+	+	+
<i>Lecidea fuscoatra</i>	+	+	–	–
<i>Lecidea lithophila</i>	–	–	+	+
<i>Lecidea plana</i>	–	+	+	–
<i>Lepraria caesioalba</i>	+	+	–	–
<i>Lepraria membranacea</i>	–	+	–	–
<i>Lepraria vouauxii</i>	+	–	–	–
<i>Melanelia hepatizon</i>	–	–	+	–
<i>Melanelia stygia</i>	–	+	–	+
<i>Melanelixia fuliginosa</i>	+	–	–	–
<i>Miriquidica garovaglioii</i>	–	–	–	+
<i>Miriquidica leucophaea</i>	–	–	+	–
<i>Miriquidica nigroleprosa</i> var. <i>liljenstroemii</i>	–	–	–	+
<i>Montanelia disjuncta</i>	+	–	–	–
<i>Parmelia omphalodes</i>	–	+	–	–
<i>Parmelia saxatilis</i>	–	+	+	–
<i>Pertusaria corallina</i>	–	+	+	–
<i>Physcia dubia</i>	–	+	–	–
<i>Protoparmelia badia</i>	–	+	+	+
<i>Protoparmelia phaeonesos</i>	–	–	+	+
<i>Pseudephebe pubescens</i>	–	–	–	+
<i>Schaereria fuscocinerea</i>	+	+	+	+
<i>Stereocaulon vesuvianum</i>	–	–	+	+

<i>Rhizocarpon alpicola</i>	–	–	+	+
<i>Rhizocarpon geographicum</i>	+	–	+	+
<i>Rhizocarpon lavatum</i>	–	–	+	+
<i>Rhizocarpon lecanorinum</i>	–	+	+	+
<i>Rhizocarpon reductum</i>	+	–	–	–
<i>Tremolecia atrata</i>	–	–	–	+
<i>Umbilicaria cylindrica</i>	–	–	+	+
<i>Umbilicaria deusta</i>	–	–	–	+
<i>Umbilicaria torrefacta</i>	–	–	+	–
<i>Umbilicaria polyphylla</i>	–	+	–	–
<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	–	+	–	–
<i>Xanthoparmelia pulla</i>	+	–	–	–
<i>Xanthoparmelia protomatrae</i>	+	–	–	–
<b>celkem</b>	<b>15</b>	<b>21</b>	<b>24</b>	<b>23</b>

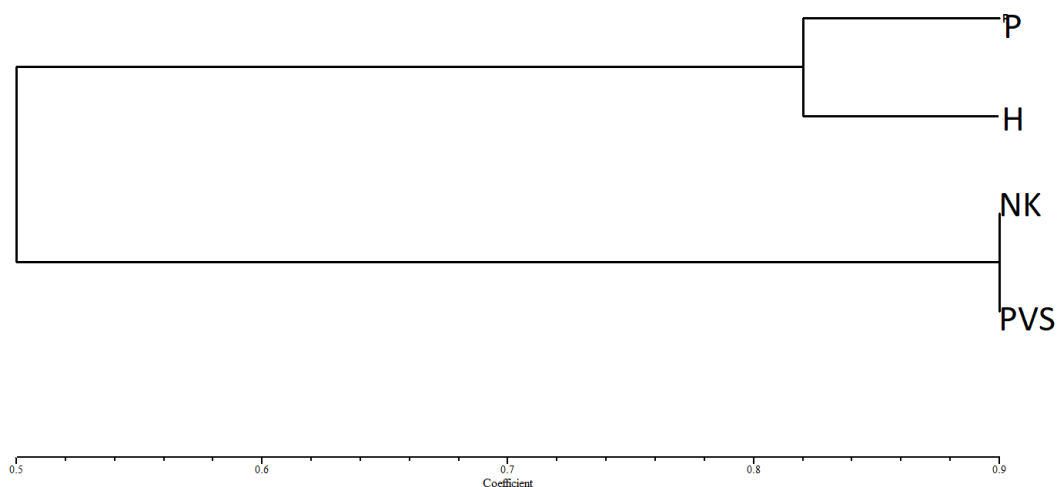
Tab. 3: Seznam určených druhů, kde znak „+“ vyjadřuje přítomnost výskytu druhu na lokalitě

Podyjí	Hřebenec	Nad Kovárnou	Pod vrcholem Sněžky
<i>Acarospora fuscata</i>	<i>Acarospora fuscata</i>	<i>Aspicilia laevata</i>	<i>Aspicilia laevata</i>
<i>Candieriella vitellina</i>	<i>Arctoparmelia incurva</i>	<i>Aspilidea myrinii</i>	<i>Aspilidea myrinii</i>
<i>Dimelaena oreina</i>	<i>Aspicilia laevata</i>	<i>Calvitimela armeniaca</i>	<i>Bellemeria sanguinea</i>
<i>Diploschistes scruposus</i>	<i>Brodoo intestiniformis</i>	<i>Diploschistes scruposus</i>	<i>Diploschistes scruposus</i>
<i>Chrysothrix chlorina</i>	<i>Diploschistes scruposus</i>	<i>Lecanora intricata</i>	<i>Lecanora polytropia</i>
<i>Lecidea fuscoatra</i>	<i>Chrysothrix chlorina</i>	<i>Lecanora polytropia</i>	<i>Lecanora cenisia</i>
<i>Lepraria caesioalba</i>	<i>Lecidea confluens</i>	<i>Lecanora cenisia</i>	<i>Lecidea confluens</i>
<i>Lepraria vouauxii</i>	<i>Lecidea fuscoatra</i>	<i>Lecidea confluens</i>	<i>Lecidea lithophila</i>
<i>Melanelixia fuliginosa</i>	<i>Lecidea plana</i>	<i>Lecidea lithophila</i>	<i>Melanelia stygia</i>
<i>Montanelia disjuncta</i>	<i>Lepraria caesioalba</i>	<i>Lecidea plana</i>	<i>Miriquidica garovaglioii</i>
<i>Rhizocarpon geographicum</i>	<i>Lepraria membranacea</i>	<i>Melanelia hepatizon</i>	<i>Miriquidica nigroleprosa</i> var. <i>Liljenstroemii</i>
<i>Rhizocarpon reductum</i>	<i>Melanelia stygia</i>	<i>Miriquidica leucophaea</i>	<i>Protoparmelia badia</i>
<i>Schaereria fuscocinerea</i>	<i>Parmelia omphalodes</i>	<i>Parmelia saxatilis</i>	<i>Protoparmelia phaeonesos</i>
<i>Xanthoparmelia pulla</i>	<i>Parmelia saxatilis</i>	<i>Pertusaria corallina</i>	<i>Pseudephebe pubescens</i>
<i>Xanthoparmelia protomatrae</i>	<i>Pertusaria corallina</i>	<i>Protoparmelia badia</i>	<i>Rhizocarpon alpicola</i>
	<i>Physcia dubia</i>	<i>Protoparmelia phaeonesos</i>	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
	<i>Protoparmelia badia</i>	<i>Rhizocarpon alpicola</i>	<i>Rhizocarpon lavatum</i>
	<i>Rhizocarpon lecanorinum</i>	<i>Rhizocarpon geographicum</i>	<i>Rhizocarpon lecanorinum</i>
	<i>Schaereria fuscocinerea</i>	<i>Rhizocarpon lavatum</i>	<i>Schaereria fuscocinerea</i>

	<i>Umbilicaria polyphylla</i>	<i>Rhizocarpon lecanorinum</i>	<i>Stereocaulon vesuvianum</i>
	<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	<i>Schaereria fuscocinerea</i>	<i>Tremolecia atrata</i>
		<i>Stereocaulon vesuvianum</i>	<i>Umbilicaria cylindrica</i>
		<i>Umbilicaria cylindrica</i>	<i>Umbilicaria deusta</i>
		<i>Umbilicaria torrefacta</i>	

Tab. 4: Seznam určených druhů podle lokalit

Pro vizualizaci podobnosti lokalit z hlediska metabolitů byl pomocí software NTSYSpc Version 2.21q vypočítán Jaccardův index podobnosti. Vstupní data byla kvalitativní, pouze presence (1) či absence (0) metabolitů. Výsledek zobrazuje dendrogram (Obr. 7). Největší podobnost v zastoupených sekundárních metabolitech mají lokality Pod vrcholem Sněžky a Nad Kovárnou ze Sněžky. Podobnost se pak nachází mezi lokalitami Hřebenec a Podyjí. Čím vyšší hodnota koeficientu, tím vyšší podobnost.



Obr. 7: Dendrogram podobnosti lokalit (NTSYSpc Version 2.21q). PVS – Pod vrcholem Sněžky, NK – Nad Kovárnou, H – Hřebenec, P – Podyjí.

## 6.2 Komentovaný seznam sekundárních metabolitů

Tato kapitola rozšiřuje problematiku významu sekundárních metabolitů z hlediska možných adaptací lišejníků na faktory stanovišť. U každého metabolitu jsou sepsány dosavadní poznatky o účincích metabolitů. Dále jsou zde uvedeny lokality výskytu metabolitů a druhy, u nichž byly dané lišejníkové látky identifikovány.

U některých metabolitů je zmíněn pouze výčet druhů. Nebyla k nim totiž nalezena žádná literatura popisující funkce konkrétního metabolitu.

### **Rhizokarpová kyselina**

Kyselina je zaznamenána na všech lokalitách, tedy v celém výškovém gradientu nížina – subalpínský stupeň. Na rozdíl od většiny sekundárních metabolitů, vyskytujících se ve všech nadmořských výškách, byla identifikována pouze v jednom rodu – *Rhizocarpon*, který byl na lokalitách dominantním rodem. Je přítomna i v jiných rodech, které však nejsou předmětem výzkumu. Například druh *Acarospora schleicheri* ji produkuje také. U tohoto druhu byla zjištěna pozitivní korelace mezi koncentrací látky a UV-B zářením. V největší nadmořské výšce, kde je intenzita UV-B záření vysoká, bylo naměřeno největší množství kyseliny rhizokarpové (Rubio et al. 2002). Metabolit patří mezi deriváty kyseliny šikimové, které se vyznačují fotoprotektivními účinky. Kyselina rhizokarpová se sice vyskytuje ve všech nadmořských výškách, ale záleží na jejím množství. Dalo by se tedy předpokládat, že koncentrace v rodu *Rhizocarpon* bude největší z lokality pod vrcholem Sněžky.

*Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.

*Rhizocarpon lecanorinum* Anders

### **Diploschistová kyselina**

Stejně jako kyselina rhizokarpová, byla identifikována na všech lokalitách a také pouze v jednom rodu. Žádným jiným rodem není pravděpodobně produkována. Druh *Diploschistes scruposus* je zastoupen v celém výškovém gradientu. Jeho hlavním produktem je kyselina lekanorová. Jako samotná není kyselina diploschistesová produkována a někdy ani její funkce v lišejníku není známa, má především taxonomický význam pro identifikaci rodu. Bylo by zajímavé zjistit, zdali chrání buňky před oxidativním stresem stejně jako kyselina lekanorová. Nebo by mohly být změřeny a porovnány koncentrace kyseliny diploschistesové ve všech nadmořských výškách.

*Diploschistes scruposus* (Schreber) Norman

### **Kalycin, pulvinová kyselina, pulvinový dilakton, vulpinová kyselina**

Všechny čtyři metabolity jsou odvozeny od metabolické cesty kyseliny šikimové. Vyskytují se pouze u dvou druhů na dvou lokalitách, v Podyjí a na Hřebenci. Kalycin je přítomen v druzích *Chrysothrix chlorina* (na obou lokalitách) a



v *Candelariella vitellina* (pouze v Podyjí). Vulpinová kyselina je zastoupena pouze v *Chrysothrix chlorina* a pulvinová kyselina s jejím dilaktonem jsou zaznamenány u *Candelariella vitellina*. Všechny látky jsou známy svou fotoochrannou funkcí. Nicméně *Chrysothrix chlorina* porůstá stinné plochy kamenů, většinou ve štěrbinách nebo na svislých plochách, chráněných před deštěm. Druh tedy není UV záření tolik vystavován. U derivátů kyseliny pulvinové byly prokázány další vlastnosti, které souvisejí s pH. Velmi nízká disociační konstanta těchto pigmentů umožňuje lišejníkům kolonizovat kyselé substráty. Naopak při vyšším pH jsou druhy s těmito metabolity schopny adsorbovat kovy, jsou tedy schopné žít i na živinově bohatých stanovištích (čerpání živin z okolí) (Hauck et al. 2009). Výskyt druhu *Candelariella vitellina* byl zaznamenán pouze v Podyjí a to ojediněle. Přísun živin má nejspíše díky ptactvu (ornitokopofilní druh) - *Chrysothrix chlorina* nemá velké nároky na živiny, ale díky kyselině vulpinové a kalycinu je schopna žít na silikátových substrátech. Na Sněžce ve vyšších nadmořských výškách nebyla přítomna zřejmě z důvodu nedostatku svislých a stinných ploch kamenů.

***Candelariella vitellina* (Hoffm.) Müll.Arg.**

***Chrysothrix chlorina* (Ach.) J. R. Laundon**

### **Lekanorová kyselina**

Vyskytuje se ve všech nadmořských výškách a je zastoupena ve třech rodech. Obsahuje ji výše zmíněný rod *Diploschistes*, dále pak rod *Umbilicaria* a *Melanelixia*. Kyselina lekanorová je velmi účinným antioxidantem. Přítomnost této kyseliny byla zjištěna u druhu *Umbilicaria antarctica*, díky které pravděpodobně přežívá v Antarktidě. Extrémní podmínky Antarktidy podmiňují tvorbu reaktivních molekul kyslíku (ROS), které vedou k poškození proteinů, lipidů a nukleových kyselin lišejníku. Kyselina lekanorová tvorbě ROS brání a v těchto oblastech je její koncentrace zvýšená (Luo et al. 2009).

Metabolit je sice produkován různými druhy, ale je zastoupen na všech lokalitách, kde mohou panovat nepříznivé podmínky jako je sucho (Podyjí) nebo intenzivní sluneční záření (Sněžka). Lišejníky jsou tedy ohroženy tvorbou ROS, před kterou jsou chráněny produkcí kyseliny lekanorové.

***Diploschistes scruposus* (Schreber) Norman**

***Melanelixia fuliginosa* (Fr. ex Duby) O. Blanco, A. Crespo, Divakar, Essl., D. Hawksw. & Lumbsch**

***Umbilicaria torrefacta* (Lightf.) Schrader**

## Gyroforová kyselina

Tato kyselina byla nejčastěji se vyskytujícím metabolitem ve všech lokalitách a obsahovalo ji nejvíce rodů ze všech sekundárních metabolitů. Vyznačuje se fotoochrannými a antioxidačními účinky (Buçukoglu et al. 2012, Nguyen et al. 2013). Z výše uvedených důvodů je přítomna u většiny druhů a v celém výškovém gradientu. Největší koncentrace by byla předpokládána v největší nadmořské výšce, z důvodu největší intenzity UV záření.

*Acarospora fuscata* (Schrader) Arnold

*Lecidea fuscoatra* (L.) Ach.

*Porpidia* sp.

*Rhizocarpon distinctum* Th. Fr.

*Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.

*Rhizocarpon lecanorinum* Anders

*Schaereria fuscocinerea* (Nyl.) Clauzade & Cl. Roux

*Umbilicaria deusta* (L.) Baumg.

*Umbilicaria polyphylla* (L.) Baumg.

*Umbilicaria torrefacta* (Lightf.) Schrader

## Usnová kyselina

Je zastoupena ve všech nadmořských výškách, ale ne tak v hojném počtu jako například kyselina gyroforová. Na Sněžce na obou lokalitách byla identifikována pouze v jednom rodu *Lecanora*. Na Hřebenci a v Podyjí byla zaznamenána u více rodů.

Kyselina usnová se vyznačuje schopností absorbce UV záření a pravděpodobně chrání lišejník před UV-B zářením. Syntézu a množství kyseliny ovlivňuje více faktorů. Podle některých autorů se koncentrace kyseliny usnové zvětšuje s rostoucí nadmořskou výškou z důvodu silnějšího UV-B záření (Fernández et al. 1998, Rubio et al. 2002). Tuto domněnku Bjerke et al. (2004) vyvracejí a tvrdí, že zvýšenou koncentraci ve vyšších polohách způsobuje nízká teplota a vlhkost, nikoliv UV-B záření.

Na Sněžce, jakožto v největší nadmořské výšce, se kyselina usnová vyskytuje z celého výškového gradientu nejméně. To však neznamená, že koncentrace kyseliny obsažené v druzích by byla na Sněžce nejmenší.

*Arctoparmelia incurva* (Pers.) Hale  
*Dimelaena oreina* (Ach.) Norman  
*Lecanora polytropa* (Hoffm.) Rabenh  
*Lecanora intricata*  
*Pertusaria pseudocorallina*  
*Xanthoparmelia conspersa* (Ehrh. ex Ach.) Hale  
*Xanthoparmelia protomatrae* (Gyeln.) Hale

### **Atranorin**

Spolu s kyselinou gyroforovou patří mezi nejhojněji zastoupený sekundární metabolit ze všech lokalit. Vyskytuje se ve všech nadmořských výškách a je zastoupen v mnoha rodech. Pod vrcholem Sněžky byl identifikován pouze jednou, konkrétně u druhu *Stereocaulon vesuvianum*.

Má fotoochrannou funkci stejně jako kyselina usnová a gyroforová. Důvodem jejich přítomnosti a množství v lišejnících jsou podmínky a změny podmínek prostředí, na které se lišejníky díky nim adaptují. Koncentrace atranorinu se může měnit přítomností různých faktorů.

*Arctoparmelia incurva* (Pers.) Hale  
*Brodoa intestiniformis* (Vill.) Goward  
*Parmelia saxatilis* (L.) Ach  
*Physcia dubia* (Hoffm.) Lettau  
*Stereocaulon vesuvianum* Pers.

### **Fumarprotocetrarová kyselina**

Identifikována ve všech nadmořských výškách, byť na Sněžce na obou lokalitách jedenkrát. Konfumarová kyselina byla u některých druhů vedlejším produktem kyseliny fumarové.

Její účinky jsou spojeny s tolerancí kyselých substrátů a kyselých dešťů. Stejně jako u kyseliny usnové, by se její množství podle některých studií mělo s rostoucí nadmořskou výškou zvyšovat. Možným vysvětlením zvýšené koncentrace jsou náročnější podmínky k přežití v horských než v nížinných oblastech (Culberson et al. 1977). Kyselina fumarprotocetrarová nebyla identifikována z lokalit v žádném druhu s korovitou stélkou (vyjma druhů *Lepraria*), která byla nejčastějším typem stélky

nalezených druhů. Celkově tento typ stélky a zároveň přítomnost kyseliny fumarprotocetrarové není téměř u žádného druhu znám.

*Brodoa intestiniformis* (Vill.) Goward

*Dimelaena oreina* (Ach.) Norman

*Lepraria caesiaalba* (B. de Lesd.) J. R. Laundon

*Melanelia stygia* (L.) Essl.

*Xanthoparmelia protomatrae* (Gyeln.) Hale

### **Protocetrarová kyselina**

Vyskytuje se pouze v Podyjí a na Hřebenci.

*Brodoa intestiniformis* (Vill.) Goward

*Parmelia omphalodes* (L.) Ach.

### **Stiktová kyselina**

Zaznamenána na všech čtyřech lokalitách a v několika rodech. Její výskyt nebyl hojný. V každé nadmořské výšce se vyskytoval v jednom nebo ve dvou druzích. Většinou je doprovázena příbuznými sekundárními metabolity, které tvoří tzv. komplex kyseliny stiktové (angl. „stictic acid complex“). Mezi tyto látky se řadí kyselina konstiktová, mengaziová a kryptostiktová. Často se objevuje s kyselinou salazinovou nebo i norstiktovou, ale i s látkami, které se nedají identifikovat.

Přítomnost kyseliny stiktové v lišejnících je spojena se schopností vázat těžké kovy (Gauslaa et al. 2016). Dále chrání organismus před parazity (Merinero et al. 2015) a před herbivorií (Asplund & Gauslaa 2008).

*Aspicilia laevata* (Ach.) Arnold

*Melanelia hepatizon* (Ach.) Thell

*Rhizocarpon lecanorinum* Anders

*Stereocaulon vesuvianum* Pers.

*Xanthoparmelia conspersa* (Ehrh. ex Ach.) Hale

### **Norstiktová kyselina**

Metabolit vyskytující na třech lokalitách mimo Podyjí. Byl identifikován v několika druzích.

Kyselina norstiktová je spolu s atranorinem a kyselinou usnovou jednou z nejprozkoumanějších lišejníkových látek. Důvodem je zřejmě častý výskyt napříč všemi druhy lišejníků. Druhy produkující tuto kyselinu preferují spíše substráty s pH > 4 (Wedin et al. 2009, Hauck et al. 2010). Podle Armaleo et al. (2008) je koncentrace kyseliny norstiktové u druhu *Parmotrema hypotropum* korelována s množstvím světla během rokunegativně. To ale nemusí platit u všech druhů. Například *Cetraria aculeata* obsahovala kyselinu norstiktovou pouze v zemích jižní Evropy. Ve střední Evropě, kde je ročně méně slunných dnů, nebyla v příslušném druhu přítomna vůbec. Autoři zároveň tvrdí, že výskyt kyseliny norstiktové ve skupině druhů *Cetraria aculeata* nesouvisí s fylogenezí, ale je spojován s faktory prostředí (Lutsak et al. 2017). U některých druhů byla zjištěna korelace s velikostí stélky. Pozitivní korelace byla pozorována u druhu *Lobaria pulmonaria* (Asplund & Gauslaa 2007), zatímco u druhu *Cetraria aculeata* byla koncentrace u jedinců s menší stélkou nižší (Nadyeina et al. 2013). Faktory, které spouštějí produkci kyseliny norstiktové, mohou být různé a mezidruhově variabilní.

*Aspicilia grisea* Arnold

*Aspilidea myrinii* (Fr.) Hafellner

*Melanelia hepatizon* (Ach.) Thell

*Protoparmelia phaeonesos* Poelt

*Pertusaria corallina* (L.) Arnold

*Xanthoparmelia conspersa* (Ehrh. ex Ach.) Hale

### **Salazinová kyselina**

Řadí se k metabolitům, které svou produkcí odpovídají na podmínky prostředí. Koncentrace kyseliny salazinové může klesat směrem z míst s nižší severní zeměpisnou šířkou do míst s vyšší severní zeměpisnou šířkou. Důvodem může být nižší roční průměrná teplota v severněji položených zemích (Deduke et al. 2012). Autoři Shukla et al. (2015) naměřili vyšší koncentrace kyseliny norstiktové a atranorinu u druhů ve vyšších nadmořských výškách. Příčinou produkce většího množství kyseliny může být zvýšená intenzita slunečního záření ve vyšších polohách. Další funkcí kyseliny norstiktové je ochrana buněk před oxidativním stresem a před UV zářením (Lohézic-Le Dévéhat et al. 2013).

Často se nachází v čeledi Parmeliaceae. To potvrzuje výskyt v určeném druhu *Parmelia saxatilis*, který byl nalezen na Hřebenci a na Sněžce nad Kovárnou. Přestože kyselina salazinová plní v lišejnících různé funkce, byla analyzována pouze

v jednom druhu. Kyselinu salazinovou často doprovází kyselina konsalazinová a je považována za její „ko-metabolit“. Stejně tak byla analyzována s kyselinou salazinovou obou lokalit. Důvodem nepřítomnosti v ostatních lišejnících může být buď chemotaxonomický význam, nebo typ stélky. Kyselina salazinová je typická především pro druhy s lupenitou stélkou, avšak mezi nalezenými saxikolními druhy převládají druhy s korovitou stélkou. Pokud by byla měřena koncentrace, měla by být podle studií vyšší v nálezů ze Sněžky.

*Parmelia saxatilis* (L.) Ach.

### **Psoromová kyselina**

Vyskytuje se ve všech lokalitách. Účinky nebyly zjištěny.

*Miriquidica nigroleprosa* var. *liljenstroemii* (Du Rietz) Owe-Larss. & Rambold

*Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.

### **Konfluentová kyselina, 2'-O-methylmikrofyllinová kyselina, 2'-O-methylperlatová kyselina, 2'-O-methylsuperphyllinová kyselina, planaová kyselina, 4-O-demethylplanaová kyselina**

Všechny tyto kyseliny jsou si navzájem biosynteticky příbuzné. Dají se označit jako metabolity ze skupiny kyseliny konfluentové.

Jejich význam je spíše chemotaxonomický. Často jsou přítomny v rodech *Lecidea* a *Porpidia*. Je zajímavé, že se ve velké většině nacházejí u saxikolních druhů preferujících silikátové horniny.

*Lecidea confluens* (Weber) Ach.

*Lecidea lithophila* (Ach.) Ach.

*Lecidea plana* (J. Lahm) Nyl.

*Porpidia tuberculosa* (Sm.) Hertel & Knoph

### **Kyselina stenosporová, oxostenosporová, perlatolová**

Přítomna pouze v Podyjí v jednom druhu.

Účinky kyseliny perlatolové jsou spojeny s tolerancí kyselých dešťů a kyselého prostředí a kyselých substrátů (Hauck et al. 2009).

*Montanelia disjuncta* (Erichsen) Divakar, A. Crespo, Wedin & Essl.

### **Thamnolová kyselina**

Kyselina zaznamenána z lokality Hřebenec a Nad Kovárnou pouze z jednoho druhu.

Stejně jako u kyselina fumarprotocetrarové a kyselina perlatolové jsou účinky spojeny s tolerancí kyselého prostředí a kyselých substrátů (Hauck et al. 2009).

*Pertusaria corallina* (L.) Arnold

### **Zeorin**

Jedná se o triterpenoid a metabolit syntetizovaný cestou kyseliny mevalonátové. U žádného z jejích metabolitů nebyly doposud prokázány žádné účinky.

*Lecanora polytropa* (Hoffm.) Rabenh

*Lecanora intricata* (Ach.) Ach.

### **Lobarová kyselina**

Zaznamenána na všech lokalitách. Účinky nebyly zjištěny.

*Parmelia omphalodes* (L.) Ach.

*Protoparmelia badia* (Hoffm.) Hafellner

### **Miriquidová kyselina**

Tento metabolit charakterizuje rod *Miriquidica*. Nacházel se pouze v lokalitách Sněžky. Účinky nebyly zjištěny.

*Miriquidica garovaglioii* (Schaer.) Hertel & Rambold

*Miriquidica nigroleprosa* var. *liljenstroemii* (Du Rietz) Owe-Larss. & Rambold

*Protoparmelia phaeonesos* Poelt

### **Alektoronová kyselina**

Výskyt pouze z lokality Hřebenec. Účinky nebyly zjištěny.

*Arctoparmelia incurva* (Pers.) Hale

### **Alektorialová kyselina**

Výskyt pouze z lokality Nad Kovárnou u arкто-alpínského druhu. Účinky nebyly zjištěny.

*Calvitimela armeniaca* (DC.) Hafellner

### **Pannarová kyselina**

Zaznamenána pouze na Hřebenci. Účinky nebyly zjištěny.

*Lepraria membranacea* (Dicks.) Lettau

### **6 - methylester kyseliny pannarové**

Výskyt pouze v Podyjí. Účinky nebyly zjištěny.

*Lepraria vouauxii* (Hue) R.C. Harris

### **Bourgeanová kyselina**

Zaznamenána v obou lokalitách na Sněžce. Součástí chemotypů rodu *Rhizocarpon*. Účinky nebyly zjištěny.

*Rhizocarpon lecanorinum* Anders

### **Rangiformová kyselina**

Zaznamenána na všech lokalitách kromě Hřebence. Účinky nebyly zjištěny.

*Lecanora polytropa* (Hoffm.) Rabenh

### **Roccellová kyselina**

Zaznamenána na všech lokalitách kromě lokality Pod vrcholem Sněžky. Účinky nebyly zjištěny.

*Lepraria membranacea* (Dicks.) Lettau

*Lecidea* sp.

### **Angardianová kyselina**

Výskyt pouze v lokalitě Nad Kovárnou. Účinky nebyly zjištěny.



### 6.3 Komentáře k vybraným druhům a rodům

Druhy jsou v této kapitole komentovány v souvislosti s jejich chemismem.

#### ***Dimelaena oreina* (Ach.) Norman**

Reliktní druh vyskytující se převážně v horských oblastech. Osidluje tvrdé, výslunné, silikátové horniny. U nás je znám spíše z nižších poloh izolovaných lokalit jako dealpínský druh. V Čechách je znám z několika lokalit, například z okolí Prahy, Českého středohoří, Sedlčanska nebo z Křivoklátska (Malíček & Kocourková 2014).

Jedná se o druh, který je z hlediska chemismu velmi variabilní. Rozeznává se u něj 7 chemotypů. Všechny chemotypy obsahují kyselinu usnovou a jeden další metabolit, kterým se liší. Chemotyp II a V se dělí na dva subtypy. Chemotyp III je tvořen pouze kyselinou usnovou. Podle autorů Leuckert & Poelt (1978) chemotyp III převažuje ve Skandinávii, chemotyp I (kyselina usnová a fumarprtocetrarová) ve střední Evropě a chemotyp V (kyselina usnová a stiktová) dominuje ve zbylých částech Evropy a v mediteránu. Toto tvrzení je v souladu s nalezeným druhem v Podýjí, kde byl identifikován chemotyp I. Jiná studie uvádí, že chemotyp I byl nejčastějším ve vyšších nadmořských výškách a chemotyp V dominoval v nižších polohách (Leuckert et al. 1981). Tato domněnka je v rozporu s výskytem chemotypu I v Podýjí.

Druh byl nalezen na lokalitě v Podýjí a jeho výskyt byl velmi ojedinělý. Nadmořská výška lokality je přibližně 250 m n. m., může se tak jednat o jednu z nejnižše položených lokalit s výskytem tohoto druhu.

#### ***Miriquidica nigroleprosa* var. *liljenstroemii* (Du Rietz) Owe-Larss. & Rambold**

Varieta se liší od *Miriquidica nigroleprosa* var. *nigroleprosa* světle šedou až bílou stélkou. Liší se především chemismem. Var. *liljenstroemii* obsahuje kyselinu miriquidovou a psoromovou, kdežto var. *nigroleprosa* pouze kyselinu miriquidovou. Roste na větrem vyfoukávaných skalách a sutích (Smith et al. 2009).

Někteří lichenologové považují varietu jako samostatný druh *Miriquidica liljenstroemii*. Podle autorů Haugan et al. (2013) jsou obě variety fylogeneticky dva odlišné druhy.

Chemická analýza prokázala tuto varietu ve třech případech. Všechny pocházejí z lokality pod vrcholem Sněžky.

### ***Montanelia disjuncta* (Erichsen) Divakar, A. Crespo, Wedin & Essl.**

Lišejník s lupenitou stélkou je podle názvu charakteristický spíše pro horské oblasti. Překvapivě byl nalezen v Podyjí, kde je nadmořská výška přibližně 250 m n. m. Druh je vázán na osluněné plochy kamenů. Podyjí je slunnou lokalitou, což zřejmě ze všech ekologických nároků preferuje nejvíce.

Stélka se vyznačuje obsahem kyseliny stenosporové a perlatolové, jejichž přítomnost byla na této lokalitě potvrzena. Kromě dvou zmíněných kyselin byla identifikována kyselina oxostenosporová, která může kyselinu stenosporovou doprovázet.

*Montanelia disjuncta* je známa také z Hřebence (Bayerová 1999), avšak v této práci při mém vlastním výzkumu nebyl nalezen. Kyselina stenosporová je v této práci uváděna pouze z lokality Podyjí. To však neznamená, že zde existuje souvislost s adaptacemi na podmínky nízkých poloh. Pro druh je výskyt ve vyšších polohách běžnější a chemismus by byl stejný. Přítomnost daných kyselin má spíše chemotaxonomický význam. Až po změření koncentrací kyseliny stenosporové z nížin a horských poloh by se dalo diskutovat o účincích ve spojitost s abiotickými faktory prostředí.

### ***Pertusaria corallina* (L.) Arnold**

Tento druh se vyznačuje thamnolovou kyselinou. Druh byla nalezen na lokalitě Hřebeneč a ze Sněžky nad Kovárnou. Z Hřebence byly chemickou analýzou identifikovány dva vzorky tohoto druhu a jeden z nich kromě kyseliny thamnolové obsahoval kyselinu norstiktovou a usnovou. To pro tento druh vůbec běžné a neexistují žádné publikace o tom, že by zmíněné kyseliny obsahoval. Podobným druhem obsahujícím pouze kyselinu norstiktovou je *Pertusaria pseudocorallina*, která se od *Pertusaria corallina* se liší přítomností hnědých vrcholů na izidiích. A přítomnost kyseliny také není pro *P. pseudocorallina* typická. Mohlo by se jednat o nový chemotyp *P. corallina*.

### ***Protoparmelia phaeonesos* Poelt**

Postavení tohoto druhu z hlediska fylogeneze je stále diskutováno. Tento druh se řadí k rodu *Protoparmelia* s. lat., u něhož někteří vědci pomocí molekulárních metod prokázali, že rod *Protoparmelia* s. lat. je polyfyletický. Šest druhů včetně *P. phaeonesos* vytvořilo monofyletickou skupinu s druhy rodu *Miriquidica*. *P. phaeonesos* je fylogeneticky bližší rodu *Miriquidica* než rodu *Protoparmelia* s. lat. (Singh et al. 2015). U druhu je charakteristická produkce kyseliny norstiktové, kterou se od metabolitů (kyselina alektoronová a lobarová) druhu *Protoparmelia* s. str. V této práci byla kromě kyseliny norstiktové identifikována navíc kyselina miriquidová, která byla přítomna ve všech vzorcích *P. phaeonesos*. To je další důvod, proč by *P. phaeonesos* měla být zařazena do rodu *Miriquidica*.

### ***Rhizocarpon* spp.**

Rod je podle zbarvení stélky rozdělen do dvou skupin druhů. Tzv. žlutá skupina má stélku díky přítomnosti kyseliny rhizokarpové zbarvenou do žluta. Tzv. hnědá skupina tuto kyselinu neobsahuje a stélky jsou hnědé, tmavě šedé až téměř bílé barvy. Obě skupiny rodu *Rhizocarpon* jsou zastoupeny na všech lokalitách.

Druhy obou skupin jsou z hlediska chemismu vnitrodruhově variabilní. McCarthy & Elix (2014) dokonce objevili u australských druhů chemotypy nové. V této práci byl zjištěn odlišný chemismus uvnitř druhu v rámci lokalit.

Druh *Rhizocarpon lecanorinum* se vyskytuje na Hřebenci a na obou lokalitách Sněžky. Kyselina rhizokarpová a gyroforová je přítomna u všech nálezů. Třetí kyselinou se liší. Z Hřebence se jedná o kyselinu stiktovou a z obou lokalit Sněžky o kyselinu bourgeanovou. Není typické, aby u tohoto druhu nebyla přítomna kyselina stiktová. Chemická analýza byla provedena ze Sněžky u šesti vzorků (2 pod vrcholem a 4 nad Kovárnou) a u všech byl zjištěn stejný chemismus. Kyselina stiktová nebyla identifikována ani v jednom vzorku. Bourgeanová kyselina není u tohoto druhu dle publikací pravděpodobně známa, alespoň z Evropy. V australském druhu ji jako běžnou prokázali McCarthy & Elix (2014).

Naopak stejný chemismus v rámci druhu byl zjištěn u druhu *Rhizocarpon geographicum*, který byl v nejnižší i nejvyšší položené lokalitě stejný. Právě tento druh má mnoho chemických variant (McCarthy & Elix 2014).

## 7. Diskuse

Původně byla stanovena hypotéza: diverzifikace sekundárních metabolitů se liší podél výškového gradientu nížina- subalpínský stupeň. Je známo, že hypotézy jsou buď zamítnuty nebo potvrzeny na základě statistické analýzy. Pro tuto práci byla pro každou nadmořskou výšku vybrána jedna lokalita. Aby mohlo být statistické hodnocení prováděno a mělo především relevantní výsledky, musela by být každá nadmořská výška reprezentována více než jednou lokalitou. Nalezení silikátových sutí se stejnou expozicí a ve stejné nadmořské výšce je však obtížné. Například větší počet lokalit v nadmořské výšce 1500–1600 m n. m. nelze v České republice nalézt. Musely by být vybrány lokality z pohoří v zahraničí (např. Vysoké Tatry). Výzkum by se stal časově náročnějším a nestačila by na něj pouze jedna sezóna, která je za normálních podmínek vyhrazena pro výzkum k diplomové práci. Z tohoto důvodu nejsou závěry vyvozeny na základě statistické analýzy.

Statistickou analýzu sekundárních metabolitů druhů by bylo možné provést i bez TLC pouze na základě literatury. Z té je možné vyčíst ekologii druhů a jejich metabolity, jež jsou u většiny druhů přítomny konstantně (kvalitativně se nemění). Výzkum a analýza byly praktickým ověřením těchto skutečností (ekologie, metabolity druhu). Z literatury se dá také zjistit, které lišejníky jsou nížinné, horské či subalpínské. Analýzu by tedy teoreticky bylo možné provést, ale jednalo by se o adaptace v hrubém měřítku. Každá nadmořská výška se vyznačuje odlišnými druhy a jejich vazbou na lokální růstové podmínky jako je: geologie substrát (kyselý x bazický), mikroklima-osvit (severní stinnější x jižní slunci exponované), teplota, nebo stupeň zachycení srážek (vertikální x horizontální plochy kamenů). V této práci bylo snahou zachytit rozdíly v zastoupení metabolitů v jemnějším měřítku, tedy právě v závislosti na specifických lokálních podmínkách.

Analýza sekundárních metabolitů pomocí TLC byla v této práci nezbytná, jelikož se bez ní některé druhy s málo odlišnými morfologickými znaky nedají určit. Z hlediska obtížného určování byly nejproblematičtější druhy s korovitou stélkou. Určování komplikovala také variabilita morfologických znaků - velikost areol, barva, přítomnost či nepřítomnost apothecií vzhledem ke stáří stélky. V tomto ohledu bylo velmi problematickou lokalitou Podyjí, kde plodnice u velké části druhů chyběly. Stélky byly velmi suché. Možným vysvětlením je vyšší teplota, nízká vlhkost a dlouhá

doba expozice sutě sluncem. S tím může též souviset i nízká pokrývnost. Z toho důvodu mohou být druhy z této lokality nesprávně určené.

Obtížně určitelné byly rody *Lecidea* a *Porpidia*. Jednak jsou fylogeneticky blízce příbuzné a jednak oba obsahují metabolity kyseliny konfluentové. Prolínají se tedy z hlediska chemismu. Pokud má například nějaký druh obsahovat pouze kyselinu konfluentovou, často se stává, že obsahuje i kyselinu 2'-O-methylmikrofyllinovou a 2'-O-methylperlatolovou, které mohou být charakteristické pro jiný druh. Přítomností těchto metabolitů se vyznačují např. druhy *Lecidea confluens*, *Porpidia melidones* a *P. tuberculosa*. Obdobným případem jsou druhy *Lecidea lithophila* a *Lecidea plana*, které oba mohou produkovat kyselinu planaovou a kyselinu 4-O-demethylplanaovou. *Lecidea lithophila* by měla mít jako hlavní (s vyšší koncentrací) kyselinu 4-O-demethylplanaovou a *Lecidea plana* kyselinu planaovou. U těchto druhů by byla doporučená revize lichenologem, taxonomickým specialistou na danou skupinu. Molekulární analýzy pro tuto skupinu chybí.

Většina výzkumů se zaměřuje na účinky malého množství vybraných sekundárních metabolitů měřením koncentrace. Vlastnosti metabolitů jsou tedy zkoumány kvantitativně. Množství metabolitu může být s příslušným faktorem pozitivně či negativně korelováno. Tedy koncentrace některých metabolitů se s faktorem zvyšuje či snižuje, nebo mezi nimi žádná závislost neexistuje. V rámci metabolitů i druhů je množství vyprodukované lišejníkové látky v závislosti na určitém faktor velmi variabilní. Například u druhu *Parmotrema hypotropum* se koncentrace atranorinu v závislosti na množství světla zvyšuje a u kyseliny norstiktové klesá (Armaleo et al. 2008). Naopak Stephenson & Rundel (1979) u druhu *Letharia vulpina* nepotvrdili žádnou závislost mezi koncentrací atranorinu a intenzitou světla. Tato práce se na příčiny produkce metabolitů nezaměřuje kvantitativně, nýbrž kvalitativně. Tedy přítomností či nepřítomností metabolitů u lišejníků v dané nadmořské výšce. Konkrétně v souvislosti s nadmořskou výškou byla produkce některých metabolitů již zkoumána, avšak kvantitativně. Podle Swanson et al. (1996) koncentrace kyseliny usnové obsažené v *Umbilicaria americana* s rostoucí nadmořskou výškou klesá, kdežto u kyseliny rhizokarpové v *Acarospora schleicheri* roste (Rubio et al. 2002). Příčinou syntézy sekundárních metabolitů není pravděpodobně pouze nadmořská výška, ale komplex různých měnících se abiotických faktorů daného stanoviště. Nicméně v práci byl stanovený design s co nejpodobnějšími ekologickými nároky, a proto by bylo v budoucnu doporučeno změřit koncentraci u druhů se sekundárními metabolity přítomnými v celém výškovém gradientu. Pro určení koncentrace

sekundárních metabolitů metoda tenkovrstevné chromatografie nestačí. K detekci a měření koncentrace sekundárních metabolitů slouží metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie, tzv. HPLC (High-performance liquid chromatography), která je finančně velmi nákladná. Jedná se o separační metodu složek směsi, která je prováděná v zařízeních s kolonami. Stacionární fáze je zakotvena v koloně, kterou díky vysokotlakému čerpadlu protéká mobilní fáze. K rozdělení pak obvykle dochází podle míry interakce analytu se stacionární fází kolony. Množství analytu se pak určuje podle intenzity signálu na detektoru (nejčastěji UV-vis spektrometr či případně hmotnostní spektrometr) metodou kalibrační křivky či interního standardu. Touto metodou by mohly být určeny neidentifikované metabolity z této práce. Mnoho z nich jich bylo také neznámých. Např. mastné kyseliné kyseliny, terpeny, terpenoidy, xynthony. U druhů s metabolity kyseliny konfluentové se objevovalo v menším množství několik dalších neonově svítících látek. Takto zbarvené jsou právě látky ze skupiny kyseliny konfluentové. Některé mohou být stále nepojmenované a jejich výskyt je velmi variabilní.

Atranorin, kyselina gyroforová, usnová, stiktová, norstiktová a fumarprotocetrarová jsou metabolity, které byly identifikovány ve velkém počtu rodů a zároveň postihly zastoupení v celém výškovém gradientu. Všechny zmíněné metabolity vznikají acetyl-polymalonátovou cestou. Tyto metabolity obsahují fenolickou skupinu a podle ní jsou nazývány fenolickými sloučeninami. Pro ně jsou typické fotoochranné, antioxidační, antimikrobiální a antiherbivorní účinky. Proto jsou potřebné mnoha lišejníkům a vyskytují se v celém rozmezí nadmořských výšek. Jak již bylo zmíněno výše, bylo by u nich vhodné změřit koncentraci a dále hodnotit závislost na faktorech prostředí.

Produkcí kyseliny fumarprotocetrarové jsou lišejníky schopné tolerovat kyselé prostředí a kyselé substráty. Kyselina byla přítomna pouze v družích s lupenitou stélkou. Může zde existovat silná vazba na typ stélky a následné umožnění těmto druhům zvládat kyselost prostředí. Mezi fenolické sloučeniny se řadí i deriváty kyseliny pulvinové (kyselina vulpinová, kalycin, pulvinový dilakton), které jsou naopak syntetizovány cestou kyseliny šikimové. U nich se také jedná o adaptaci na kyselé prostředí.

Mezi metabolity syntetizované cestou kyseliny mevalonové patří zeorin a pak několik neznámých terpenů a terpenoidů. Dodnes jich spousta není pojmenována a není u nich znám význam přítomnosti v lišejnících. V této práci se nacházely sporadicky a měly spíše chemotaxonomický význam.

Rod *Lecidea* a *Porpidia* jsou častými druhy s výskytem na silikátových horninách a zároveň mají časté zastoupení v horských a subalpínských polohách. Jejich sekundárními metabolity spadající do skupiny kyseliny konfluentové nebyly z hlediska účinků zkoumány. Přesto se zdá, že by mohla existovat závislost mezi produkcí kyselin a silikátovými substráty. Z toho důvodu by mohly být metabolity v budoucnu kyseliny konfluentové předmětem výzkumu.

Rod *Rhizocarpon* se vyznačuje vnitrodruhovou variabilitou sekundárních metabolitů. Chemickou analýzou byly u druhu *Rhizocarpon lecanorinum* v rámci nadmořských výšek či spíše lokalit zjištěny odlišnosti v přítomnosti sekundárních metabolitů. Druh z Hřebence druh obsahoval často přítomnou kyselinu stiktovou. Na lokalitě Sněžka byla kyselina stiktová zastoupena kyselinou bourgeanovou, která není z evropských publikací u tohoto druhu známa. U australského druhu tato kyselina identifikována byla. Závislost mezi syntézou metabolitu a nadmořskou výškou zde nejspíše hledat nelze. Jelikož z australských položek byla kyselina stiktová přítomna i v nadmořské výšce 1600 m n. m. (McCarthy & Elix 2014). Nelze říci, co spouští produkci různých metabolitů v rámci jednoho druhu.

Nejvíce metabolitů bylo identifikovaných z lokality Nad Kovárnou, která sdílela spoustu druhů s lokalitou Pod vrcholem Sněžky (*Aspilidea myrinii*, *Lecanora polytropa*, *Lecidea lithophila*, *Protoparmelia phaeonesos*, *Stereocaulon vesuvianum*, atd.). Další shodu v zastoupení druhů má i s lokalitou Hřebenec (*Parmelia saxatilis*, *Pertusaria corallina*). Ty naopak obsahují metabolity, které nejsou druhy z lokality Pod vrcholem Sněžky produkovány. Proto je lokalita Nad Kovárnou z hlediska metabolitů nejpočetnější.

Překvapivě s nejmenším počtem identifikovaných metabolitů je lokalita Pod vrcholem Sněžky, ač je zastoupena druhým největším počtem druhů. Příčinou je produkce podobných metabolitů v rámci mnoha různých druhů. Rodově je lokalita oproti ostatním lokalitám homogennější. Z toho důvodu je možné, že druhy stejného rodu produkují podobné metabolity, např. kyselina miriquidová.

Většina druhů ze Sněžky má arкто-alpínské rozšíření. Mezi vzácné a ohrožené druhy patří *Bellemeria sanguinea*, *Calvitimela armeniaca*, *Miriquidica garovaglioii*, *Protoparmelia phaeonesos*, *Stereocaulon vesuvianum*, *Tremolecia atrata* a kriticky ohrožená *Umbilicaria torrefacta*. Hřebenec se také může pyšnit druhem s arкто-alpínským rozšířením – *Brodoa intestiniformis*. V nejnižší nadmořské – v Podyjí, nebyly nalezeny typicky nížinné druhy. Většina z nich může osidlovat i vyšší polohy. Dalším problémem byla špatná determinace v důsledku malého množství fertilních

lišejníků na lokalitě. V porovnání zastoupení sekundárních metabolitů mezi nížinnými a arкто-alpínskými druhy, nebyly shledány velké rozdíly. Kyselina miriquidová je zastoupena pouze u horských a alpínských druhů. Kyselina alektorialová byla zaznamenána pouze v Podyjí. Je nutné si uvědomit, že do výzkumu byly zahrnuty výhradně saxikolní druhy lišejníků a přítomnost jejich metabolitů. Kyselina alektorialová se v rámci tohoto výzkumu vyskytuje pouze v Podyjí. Naopak kyselina miriquidová je charakteristická pouze pro Sněžku. Její obsah je pro druhy rodu *Miriquidica* typický, má tedy především taxonomický význam. Druhy *Miriquidica* jsou spíše vázané na submontánní, horské a subalpínské oblasti. V nížinách se nevyskytují vyskytuje pouze *M. deusta*, která kyselinu miriquidovou neprodukuje. Ta je zastoupena kyselinou lobarovou. Výskyt kyseliny miriquidové v horských polohách je z hlediska zastoupení kyselin ve výškovém gradientu zajímavým zjištěním. Ale větší význam spojený s produkcí je taxonomický.

Velkou odchylku tvořila přítomnost kyseliny stenosporové a derivátů kyseliny pulvinové. Ty se díky třem druhům vyskytovaly v nížině. Nijak zvlášť se tedy metabolity nejnižší a nejvyšší zastoupené nadmořské výšky nelišily. Většinu metabolitů měly společných (atranorin, kyselina usnová, gyroforová, norstiktová, atd.).

Pomocí indexů podobnosti byly zjišťovány rozdíly v zastoupení metabolitů na lokalitách. Do jaké míry jsou si lokality přítomností metabolitů podobné, které metabolity sdílejí. Z dendrogramu lze vyčíst, že nejpodobnější jsou lokality ze Sněžky. Nejmenší podobnost je mezi Podyjím a Sněžkou, kde jsou za tento výsledek odpovědné deriváty kyseliny pulvinové atd. Hřebenec se od metabolitů Sněžky liší tím, že obsahuje metabolity druhů *Lepraria* a některé společné metabolity s Podyjím (vulpinová kyselina, calycin), které na Sněžce chybí. Největší podobnost lokality na Sněžce může být dána výskytem společných reliktních druhů (dáno díky ledovci). Dalším vysvětlením může být krátká vzdálenost mezi dvěma lokalitami, které mají reprezentovat jinou nadmořskou výšku. Obě se však nacházejí na stejném vrcholu pohoří. Podobnost lokalit by mohla vyjít jinak v případě, že by byly vybrány lokality z rozdílných pohoří.

Rozdíly v zastoupení sekundárních metabolitů v závislosti na typ geologického substrátu nebyl statisticky hodnocen. Přestože jsou svory (Podyjí, Hřebenec) o trochu uživnější než granity (Pod vrcholem Sněžky, Nad Kovárnou), nebyly rozdíly v zastoupení zpozorovány.



Výskyt sekundárních metabolitů podél výškového gradientu se kvalitativně výrazně neliší. Samotný vliv nadmořské výšky na produkci sekundárních se spíše neprokázal. Na produkci sekundárních metabolitů má vliv mnoho různých faktorů. Nejspíše nelze říci, který z nich má největší vliv. A velkou roli může hrát mikroklima.

## 8. Závěr

Práce předkládá kvalitativní rozbor výskytu sekundárních metabolitů saxikolních lišejníků ve výškovém gradientu nížina - subalpínský stupeň. Cílem bylo porovnat zastoupení metabolitů v různých nadmořských výškách. U metabolitů byla zjišťována přítomnost či nepřítomnost na lokalitě, nikoliv jejich koncentrace. Pomocí metody tenkovrstevné chromatografie (TLC) bylo chemickou analýzou identifikováno 45 sekundárních metabolitů ze 4 lokalit sutí. Nejběžnějšími a nejznámějšími metabolity z hlediska účinků jsou atranorin, kyselina usnová, gyroforová, stiktová a norstiktová, které se vyskytovaly ve všech nadmořských výškách. O jejich biologických vlastnostech vypovídá spíše vyprodukované množství než pouze přítomnost v těle lišejníku.

Zastoupení sekundárních metabolitů se mezi lokalitami s různou nadmořskou výškou výrazně nelišilo. Jediným metabolitem, který by mohl korelovat s nadmořskou výškou je kyselina miriquidová. Druhy rodu *Miriquidica* se touto kyselinou vyznačují a zároveň osidlují pouze horské a alpské polohy. V této práci byl objeven výskyt kyseliny miriquidové u druhu *Protoparmelia phaeonesos*, což nebylo doposud publikováno. Existují studie, které prokázaly příbuznost druhu spíše s rodem *Miriquidica* než s rodem *Protoparmelia* s lat. Nová skutečnost přítomnosti kyseliny v tomto druhu by mohla pomoci budoucím výzkumům a taxonomickým zařazením.

Dohromady bylo určeno 49 druhů. Nejvíce ze Sněžky, z Hřebence a nejméně z Podyjí. Na lokalitě Podyjí byla spousta lišejníků ve sterilním stavu bez apothecií, bez jejichž přítomnosti se druhy obtížně určují. Z toho důvodu je z této lokality nízký počet určených druhů. Práce byla především zaměřena na chemickou složku lišejníků, proto je do budoucna doporučena revize určených druhů.

Zajímavými nálezy byl druh *Dimelaena oreina*, který byl zjištěn z Podyjí jako dealpínský druh. Jedná se nejspíše o nejnižší položenou lokalitu výskytu tohoto druhu v České republice (250 m n. m.). Ze sedmi existujících chemotypů je nález z Podyjí chemotyp I, který je charakteristický pro střední Evropu.

Díky chemické analýze byla ze Sněžky determinována nová varieta druhu *Miriacidica nigroleprosa* var. *lijjenstroemii*.

Na produkci sekundárních metabolitů má vliv mnoho různých faktorů. Nejspíše nelze říci, kterých z nich má největší vliv.

Do budoucna by bylo vhodné vybrat více lokalit ze stejných nadmořských výšek, díky nimž by se dala provést statistická analýza, a výsledky by pak měly větší váhu.

## 9. Použitá literatura

- Armaleo D. , Zhang Y. & Cheung S. (2008):** Light might regulate divergently depside and depsidone accumulation in the lichen *Parmotrema hypotropum* by affecting thallus temperature and water potential. – *Mycologia* 100(4): 565–76.
- Asplund J. & Gauslaa Y. (2007):** Content of secondary compounds depends on thallus size in the foliose lichen *Lobaria pulmonaria*. – *Lichenologist* 39: 273–278.
- Asplund J. & Gauslaa Y. (2008):** Mollusc grazing limits growth and early development of the old forest lichen *Lobaria pulmonaria* in broadleaved deciduous forests. – *Oecologia* 155: 93–99.
- Balatka B. & Kalvoda J. (2006):** Geomorfologické členění reliéfu Čech. Geomorphological regionalization of the relief of Bohemia. – Kartografie Praha a.s., 79 p.
- Bayerová Š. (1999):** Lichenologická studie Brd. – Ms., 181 pp. [Diplomová práce; depon. in Katedra botaniky PŘF UK, Praha].
- Białonska D. & Dayan F. E. (2005):** Chemistry of the lichen *Hypogymnia physodes* transplanted to an industrial region. – *Journal of Chemical Ecology* 31: 2975–2991.
- Bjerke J. W., Joly D., Nilsen L. & Brossard T. (2004):** Spatial trends in usnic acid concentrations of the lichen *Flavocetraria nivalis* along local climatic gradients in the Arctic (Kongsfjorden, Svalbard). – *Polar Biology* 27: 409–417.
- Boch S., Fischer M. & Pratti D. (2015):** To eat or not to eat—relationship of lichen herbivory by snails with secondary compounds and field frequency of lichens. – *Journal of Plant Ecology* 8(6): 642–650.
- Botová A. (2017):** Chemická analýza obtížně určitelných lišejníků vysokohorských smrčín a bučin České republiky. – Ms. [Bakalářská práce; depon. in Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha].
- Buçukoglu T. Z., Albayrak S., Halici M. G. & Tay T. (2012):** Antimicrobial and antioxidant activities of extracts and lichen acids obtained from some *Umbilicaria* species from central Anatolia, Turkey. – *Journal of Food Processing and Preservation* 37(6): 1103–1110.
- Culberson C. F. & Culberson W. L. (2001):** Future directions in lichen chemistry. – *The Bryologist* 104(2): 230–234.
- Culberson, C. F., Culberson W. L. & Arwood D. A. (1977):** Physiology and

fumarprotocetraric acid production in the *Cladonia chlorophaea* group in North Carolina. – *Bryologist* 80: 71–75.

**Český hydrometeorologický ústav (2009):** Dlouhodobé průměry vybraných klimatických charakteristik za období 1981–2010. – URL: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/mapy-charakteristik-klimatu> (19. 1. 2019)

**Čížek O. & Šamata J. (2008):** Plán péče o přírodní památku Hřebenec na období 2009–2018. – Ms. [depon. in: AOPK ČR, Praha.]

**Dailey R.N., Montgomery D.L., Ingram J.T., Siemion R., Vasquez M. & Raisbeck M.F. (2008):** Toxicity of the lichen secondary metabolite (+)-usnic acid in domestic sheep. – *Veterinary Pathology* 45: 19–25.

**Danihelka J., Antonín V., Grulich V. & Chytrý M. (2002):** Národní park Podyjí. Botanický průvodce. – Česká botanická společnost, Praha.

**Deduke C., Timsina B. & Piercey-Normore M. D. (2012):** Effect of Environmental Change on Secondary Metabolite Production in Lichen-Forming Fungi. – In: Silvern, S. S. Y. a. S. E. (Ed.) *International Perspectives on Global Environmental Change*. InTech 197–230 pp.

**Demek J. (1965):** Geomorfologie českých zemí. – 335 p., Praha.

**Demek J. & Mackovčín P. (2006):** Zeměpisný lexikon ČR: Hory a nížiny. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Brno.

**Elix J. A. (2014):** A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Third Edition. Elix, Canberra.

**Emmerich R., Giez I., Lange O. L. & Proksch P. (1993):** Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. – *Phytochemistry* 33(6): 1389–1394.

**Favero-Longo S. E., Matteucci E., Morando M., Rolfo F., Harris T. & Piervittori R. (2015):** Metals and secondary metabolites in saxicolous lichen communities on ultramafic and non-ultramafic rocks of the Western Italian Alps. – *Australian Journal of Botany* 63: 276–291.

**Feeny P. (1976):** Plant apparency and chemical defense. – *Recent Advances in Phytochemistry* 10: 1–40.

**Fernández E., Quilhot W., Rubio C. & Barre E. (1998):** Lichen's adaptation to altitude. In: Garab G (ed) *Photosynthesis: mechanisms and effects*, vol V. Kluwer, Dordrecht, pp 4093–4096.

**Galloway D. J. (1993): Global environmental change:** Lichens and chemistry. – Bibl. Lichenol. 53: 87–95.

**Gauslaa Y., Yemets O. A., Asplund J. & Solhaug K. A. (2016):** Carbon based secondary compounds do not provide protection against heavy metal road pollutants in epiphytic macrolichens. – Science of The Total Environment 541: 795–801.

**Gazzano C., Favero-Longo S. E., Iacomussi P. & Piervittori R. (2013):** Biocidal effect of lichen secondary metabolites against rock-dwelling microcolonial fungi, cyanobacteria and green algae. – International Biodeterioration & Biodegradation 84: 300–306.

**Giez I., Lange O. L. & Proksch P. (1994):** Growth retarding activity of lichen substances against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. – Biochemical Systematics and Ecology 22: 113–120.

**Grime J. P. (1979):** Plant strategies and vegetation processes. – Wiley. London.

**Hauck M. (2008):** Metal homeostasis in *Hypogymnia physodes* is controlled by lichen substances. – Environmental Pollution 153: 304–308.

**Hauck M. & Huneck S. (2007a):** Lichen substances affect metal adsorption in *Hypogymnia physodes*. – Journal of Chemical Ecology 33: 219–223.

**Hauck M. & Huneck S. (2007b):** The putative role of fumarprotocetraric acid in the manganese tolerance of the lichen *Lecanora conizaeoides*. – Lichenologist 39: 301–304.

**Hauck M., Jürgens S.-R., Huneck S. & Leuschner Ch. (2009):** High acidity tolerance in lichens with fumarprotocetraric, perlatolic or thamnolic acids is correlated with low  $pK_{a1}$  values of these lichen substances. – Environmental Pollution 157: 2776–2780.

**Hauck M., Jürgens S.-R. & Leuschner Ch. (2010):** Norstictic acid: Correlations between its physico-chemical characteristics and ecological preferences of lichens producing this depsidone. – Environmental and Experimental Botany, 68(3): 309–313.

**Hauck M., Jürgens S.-R., Willenbruch K., Huneck S. & Leuschner Ch. (2009):** Dissociation and metal-binding characteristics of yellow lichen substances suggest a relationship with site preferences of lichens. – Annals of Botany 103: 13–22.

**Kocourková J. (2016):** Metody sběru, preparace a herbářového zpracování lišejníků, mechorostů a hub a určovací metodika lišejníků 2016. – 48 pp., Ms.

[Depon in: FŽP ČZU, katedra ekologie].

- Kubiak D. & Kukwa M. (2011):** Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) w lichenologii. – In: Dynowska M. et Ejdys E. (eds): Mikologia laboratoryjna: przygotowanie materiału badawczego i diagnostyka. – Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, 176–190.
- Leuckert C. & Poelt J. (1978):** Über Nord-Süd-Gradienten von Chemotypen europäischer Flechten. – *Plant Systematics and Evolution* 130: 53–77.
- Leuckert C., Buschardt A. & Hertel H. (1981):** Die Verteilung der Chemotypen von *Dimelaena oreina* (Lichenes) auf verschiedene Höhenstufen an einem Transekt im Vinschgau (Südtirol, Italien). – *Nova Hedwigia* 34: 623–632.
- Lawrey J. D. (1977):** Adaptive significance of O-methylated lichen depsides and depsidones. – *Lichenologist* 9: 137–142.
- Lawrey J. D. (1995):** Lichen allelopathy – a review. *ACS Symp. Ser.* 582: 26–38.
- Lohézic–Le Dévéhat F., Legouin B., Couteau C., Boustie J. & Coiffard L. (2013):** Lichenic extracts and metabolites as UV filters. – *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 120: 17–28.
- Luo H., Yamamoto Y., A Kim J., Jung J. S., Koh Y. J. & Hur J.-S. (2009):** Lecanoric acid, a secondary lichen substance with antioxidant properties from *Umbilicaria antarctica* in maritime Antarctica (King George Island). – *Polar Biology* 32 (7): 1033–1040.
- Lutsak T., Fernández-Mendoza F., Nadyeina O., Şenkardesler A. & Printzen C. (2017):** Testing the correlation between norstictic acid content and species evolution in the *Cetraria aculeata* group in Europe. – *The Lichenologist* 49 (01): 39–56.
- Mackovčín P. & Sedláček M. (2002) [ed.]:** Chráněná území ČR, svazek V. – Královéhradecko. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha.
- Malíček J. & Kocourková J. (2014):** Lišejníky chráněných území Na Babě a Vraní skála na Křivoklátsku. Lichens of protected areas Na Babě and Vraní skála in the Křivoklát region (Central Bohemia). – *Bryonora* 53: 1–15.
- McCarthy P.M. & Elix J.A. (2014):** The lichen genus *Rhizocarpon* in mainland Australia. – *Telopea* 16: 195–211.
- Merinero S., Bidussi M. & Gauslaa Y. (2015):** Do lichen secondary compounds play a role in highly specific fungal parasitism? – *Fungal Ecology* 14: 125–129.

**Molnár K. & Farkas E. (2010):** Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: A Review. – Zeitschrift für Naturforschung Section C-A Journal of Biosciences 65c: 157–173.

**Nadyeina O., Lutsak T., Blum O., Grakhov V. & Scheidegger C. (2013):** *Cetraria steppae* Savicz is conspecific with *Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr. according to morphology, secondary chemistry and ecology. Lichenologist 45:841–856.

**Nash III T. H. (2008):** Lichen Biology (Second Edition). – Cambridge University, Cambridge. 486 p.

**Nguyen K.-H., Chollet-Krugler M., Gouault N. & Tomasi S. (2013):** UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners. – Natural Product Reports 30(12): 1490–1508.

**Orange A., James P. W. & White F. J. (2010):** Microchemical Methods for the Identification of Lichens. – British Lichen Society, London.

**Pöykkö H., Bačkor M., Bencúrová E., Molcanová V., Bačkorová M., & Hyvärinen M. (2010):** Host use of a specialist lichen-feeder: dealing with lichen secondary metabolites. – Oecologia 164: 423–430.

**Pöykkö H., Hyvärinen M. & Bačkor M. (2005):** Removal of lichen secondary metabolites affects food choice and survival of lichenivorous moth larvae. – Ecology 86: 2623–2632.

**Prokopiev I. A., Poryadina L. N., Konoreva L. A., Chesnokov S. V. & Shavarda A. L. (2018):** Variation in the Composition of Secondary Metabolites in *Flavocetraria* Lichens from Western Siberia. – Russian Journal of Ecology 49(5): 401–405.

**Quitt E. (1971):** Klimatické oblasti Československa. – Academia, Studia Geographica 16: 1–73.

**Ranković B. (ed.) (2015):** Lichen Secondary Metabolites. Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential. – Springer International Publishing Switzerland, Cham.

**Reiterová L. & Škorpík M. (2011) [ed.]:** Plán péče o Národní park Podyjí a jeho ochranné pásmo 2012–2020. – Ms. [depon. in: Správa NP Podyjí, Znojmo.]

**Rubio C., Fernández E., Hidalgo M. E. & Quilhot W. (2002):** Effects of solar UV-B radiation in the accumulation of rhizocarpic acid in a lichen species from alpine zones of Chile. – Boletín de la Sociedad Chilena Química 41:61–12.

**Rundel P. W. (1978):** The ecological role of secondary lichen substances. – *Biochemical Systematics and Ecology* 6: 157–170.

**Sadowsky A. & Ott S. (2016):** Symbiosis as a successful strategy in continental Antarctica: performance and protection of *Trebouxia* photosystem II in relation to lichen pigmentation. – *Polar Biology* 39: 139–151.

**Shukla V., Patel D. K., Bajpai R., Semwal M., & Upreti D. K. (2015):** Ecological implication of variation in the secondary metabolites in Parmelioid lichens with respect to altitude. – *Environmental Science and Pollution Research* 23(2): 1391–1397.

**Shukla V., Kumar N. & Kumar S. (2017):** Plant adaptation strategies in changing environment. – Springer Nature Singapore Pte Ltd., Singapore.

**Schwarz O. (2010):** Plán péče. Krkonošský národní park a jeho ochranné pásmo (2010–2020). Část A – rozbor. Vrchlabí. 179 pp.

**Singh G., Dal Grande F., Divakar P. K., Otte J., Leavitt S. D., Szczepanska K., Crespo A., Rico V. J., Aptroot A., Cáceres M. E. da Silva, Lumbsch H. T., Schmitt I. (2015):** Coalescent-based species delimitation approach uncovers high cryptic diversity in the cosmopolitan lichen-forming fungal genus *Protoparmelia* (Lecanorales, Ascomycota). – *PLoS ONE* 10(5): e0124625.

**Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., Fletcher A., Gilbert O. L., James P. W. & Solhaug K. A. & Gauslaa Y. (1996):** Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina*. – *Oecologia* 108: 412–418.

**Stephenson N. L. & Rundel P. W. (1979):** Quantitative variation and the ecological role of vulpinic acid and atranorin in thallus of *Letharia vulpina*. – *Biochemical Systematics and Ecology* 7: 263–267.

**Swanson A., Fahselt D., & Smith D. (1996):** Phenolic levels in *Umbilicaria Americana* in relation to enzyme polymorphism, altitude and sampling date. – *The Lichenologist* 28(04): 331–339.

**Wolseley P. A. (2009):** The Lichens of Great Britain and Ireland. – The British Lichen Society, London.