

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE BIOLOGICKÉ FAKULTY
JIHOČESKÉ UNIVERSITY



Mykorrhizy ve vývoji vegetace na výsypkách

Felberová Lada

1996

Vedoucí práce: RNDr. Anna Lepšová CSc.

Prohlašuji, že jsem uvedenou práci vypracovala samostatně,
pouze s použitím uvedené literatury.

České Budějovice, 10. května 1996

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat své školitelce Anně Lepšové za všestrannou pomoc při vyhotovování této práce.

Můj veliký dík patří i Janě Rydlové-Kostkové z Katedry botaniky PřFUK za pomoc při odběru vzorků, Honzovi Jansovi z PřFUK a Milanovi Gryndlerovi z MBÚ v Praze za cenné rady a trpělivou pomoc při barvení kořenů a extrakci spór.

1. Úvod	1
2. Cíle práce	5
3. Charakteristika lokalit	6
4. Metodika	7
4.1. Odběr vzorků	7
4.1.1. Odběr pro stanovení VAM	7
4.1.2. Odběr pro stanovení počtu spór VAM v půdě	7
4.1.3. Odběr pro stanovení ECM	7
4.2. Příprava a zpracování vzorků	8
4.2.1. Stanovení procenta infekce VAM	8
4.2.2. Stanovení počtu spór VAM v půdě	9
4.2.3. Stanovení přítomnosti ECM	10
4.2.4. Stanovení pH půdy	11
5. Výsledky	12
5.1. Infekce kořenů VAM	12
5.2. Výskyt spór VAM v půdě	15
5.3. Infekce kořenů Betula pendula ECM	17
5.4. PH půdy	20
6. Diskuse	21
6.1. Infekce kořenů VAM	21
6.2. Výskyt spór VAM v půdě	22
6.3. Infekce kořenů Betula pendula ECM	23
6.4. PH půdy	23
7. Závěr	24
8. Literatura	25
9. Fotografická příloha	28

1. ÚVOD

Výsypky po těžbě hnědého uhlí jsou dnes velkoplošným krajínotvorným prvkem Mostecka. Nejsou-li po nasypání rekultivovány (což je celkem běžné vzhledem k nedostatku kapacit nebo zamýšlenému dalšímu převrstvování), můžeme zde velmi dobře sledovat proces spontánního zarůstání vegetací čili sukcesí. V tomto případě lze mluvit o primární sukcesí, která probíhá na surových neoživených substrátech (Prach 1989).

Všeobecně se přijímá, že s postupující sukcesí se zvyšuje množství mutualistických vztahů a klesá dostupnost živin, které jsou buď vymývány nebo vázány v biomase (Odum 1977).

K nejdůležitějším mutualistickým vztahům v rostlinném společenstvu patří soužití hub s kořeny vyšších rostlin = MYKORHIZA (Klán 1989), která výrazně zvyšuje kompetiční schopnosti rostliny při přijímání živin (Mejstřík 1988). Dostupnost mykorhizního inokula proto byla navržena jako jeden z faktorů ovlivňujících sukcesí (Trappe et Luoma 1992).

Závislost rostlin na mykorhizní infekci tvoří kontinuum od nezávislých, přes fakultativně závislé, až po obligátně závislé druhy.

Obligátně mykotrofní druhy nemohou projít celým životním cyklem, včetně rozmnožování, nejsou-li infikovány. Pouze ve velice úrodných půdách mohou dosáhnout reprodukční zralosti bez této symbiózy, avšak taková situace v přírodních podmínkách nenastává (Janos 1980).

Fakultativně mykotrofní druhy mohou dosáhnout reprodukční zralosti i bez mykorhizní infekce a to v půdách, které jsou dosti úrodné. V pozdějších sukcesních stádiích, s klesající dostupností živin, se tyto druhy stávají stále více závislými na mykorhize (Baylis 1975).

Nemykotrofní druhy jsou zcela nezávislými na mykotrofním způsobu výživy (Janos 1985).

Typy závislostí rostlin na mykorrhizní infekci při různé dostupnosti živin a infektivitě půdy (Janos 1980) uvádí Fig.1.

Fig.1: Závislost rostlinných druhů na mykotrofním způsobu výživy při různé dostupnosti živin a infektivitě půdy (Janos 1980).

		DOSTUPNOST ŽIVIN	
		vysoká	nizká
INFEKTIVITA PŮDY	vysoká	C - strategie M±	M+
	nizká		M-

M- nemykotrofní druhy
 M± fakultativně mykotrofní druhy
 M+ obligátně mykotrofní druhy

Při zkoumání různých typů závislostí rostlin na mykotrofii objevil Reeves (1985) paralelu mezi životní strategií rostliny (Grime 1977) a stupněm závislosti na mykorrhizní infekci (Fig.2).

Fig.2: Vztah mezi životní strategií rostliny (Grime 1977) a její závislostí na mykotrofním způsobu výživy (Reeves 1985).

		INTENZITA STRESU	
		nizká	vysoká
INTENZITA DISTURBANCE	nizká	C - strategie M±	S - strategie M+
	vysoká	R - strategie M-	neživotaschopná strategie

Mnoho rostlin osidlujících nová stanoviště je nemykorrhizní nebo patří ke slabě závislým fakultativním mykotrofům (Janos 1980). V pozdějších sukcesních stádiích přibývá fakultativních, až posléze i obligátních mykotrofů.

Jedním z faktorů řídících primární sukcesi vegetace je dostupnost mykorhizního inokula.

- Inokulum vesikulo-arbuskulární mykorhizy (VAM) se šíří spolu s půdními částicemi v podobě chlamydospór (dále jen spór VAM) nebo spolu s infikovanými kořeny. Transport je zajišťován drobnými savci, hmyzem, větrnou a vodní erozí a v neposlední řadě i přirozeným šířením mezi kořeny.

- Ektomykorhizní (ECM) inokulum se šíří vzduchem v podobě basidiospór (Mejstřík 1988).

Není-li v substrátu dostatek nebo dokonce žádné mykorhizní inokulum, je nástup mykotrofních druhů dlouho bržděn a tím zpomalen vývoj ekosystému (Trappe et Luoma 1992).

Na mosteckých výsypkách bylo rámcově rozlišeno 5 základních sukcesních stádií (Prach 1989):

- I. 1 - 3 roky: iniciální stádium s převahou jednoletých druhů (*Polygonum lapathifolium*, *Senecio viscosus*, druhy r. *Chenopodium*, aj.) o celkové nízké pokryvnosti (většinou pod 10 %).
- II. 4 - 6 let: stádium s dominující *Atriplex nitens* s průměrnou pokryvností vegetace kolem 50 %.
- III. 7 - 12 let: stádium s *Carduus acanthoides* a *Sisymbrium loeselii*, pokryvnost vegetace kolem 80 %.
- IV. 13 - 19 let: stádium s převahou vytrvalých robustních bylin s roztroušenými dřevinami, především *Sambucus nigra*, pokryvnost se blíží 100 %.
- V. 20 a více let: stádium s převahou trav, hlavně *Arrhenatherum elatius* a *Calamagrostis epigejos*, a s roztroušenými dřevinami.

Vesikulo-arbuskulární mykorhizou, jako faktorem sukcese, se na severočeských výsypkách zabývala Kostková (1987). Sledovala 4 mostecké výsypky o stáří 1, 9, 18 a 30 let. V závěru práce potvrzuje hypotézu o existenci vztahu mezi typem životní

strategie rostliny (Grimme 1977) a stupněm její závislosti na mykotrofním způsobu výživy (Reeves 1985).

2. CÍLE PRÁCE

Po odborné stránce by tato práce měla navazovat na diplomovou práci Jany Kostkové (1987), která se problematikou mykorrhizy na různě starých mosteckých výsypkách zabývala v průběhu 80.let.

Mými úkoly tedy bylo:

1. zjistit procento infekce VAM na kořenech vybraných dominantních rostlin
2. stanovit počet spór VAM v půdě
3. pro ucelenější přehled zjistit i výskyt ECM u zdejšího dominantního stromu *Betula pendula*, ačkoli Kostková (1987) se ektomykorrhizou ve své práci nezabývala
4. vše zpracovat a vyhodnotit výskyt mykorrhizy ve vztahu s postupující sukcesí.

Vzhledem k tomu, že se na společném pracovišti BF JU a AV ČR v Českých Budějovicích VAM dosud nezpracovává, bylo cílem této práce také podrobně předvést metody používané ke zjišťování % infekce kořenů VAM a metody extrakce spór VAM z půdy, pro snadný přístup studentům BF JU i ostatním zájemcům.

Výše zmíněnou metodiku jsem převzala od Dr. Milana Gryndlera z MBÚ AV ČR v Praze.

3. CHARAKTERISTIKA LOKALIT

Kostková (1987) svá pozorování prováděla na 4 různě starých mosteckých výsypkách, z kterých jsou v současné době zachovány, bez zásahu člověka, již jen dvě.

- Středně stará část komplexu Růžodolské výsypky (R2), nacházející se 1.5 km jihovýchodně od Litvínova (okres Most), která byla navržena v roce 1976.
- Albrechtická výsypka (A), nacházející se 8 km jihozápadně od Litvínova, která byla navržena v letech 1954-1956.

Důležité charakteristiky těchto lokalit jsou shrnuty v Tab.1:

Tab.1: Charakteristiky vybraných mosteckých výsypek (Jonáš 1975, Surový 1958)

	Růžodol	Albrechtice
nadmořská výška	270 m.n.m.	244 m.n.m.
klimatické poměry	oblast mírně teplá, mírně vlhká, s mírnou zimou	oblast mírně teplá, mírně suchá, s převážně mírnou zimou
průměrná roční teplota vzduchu	7-8 °C	7-8 °C
průměrný roční úhrn srážek	550-600 mm	450-500 mm
substrát	šedé kaoliniticko-illitické jíly	šedé kaoliniticko- montmorilloniticko-illitické jíly

Hojně zastoupenými rostlinnými druhy na růžodolské výsypce jsou *Calamagrostis epigejos* a *Tanacetum vulgare*, které společně pokrývají asi 50% plochy. Často se zde vyskytuje i *Deschampsia caespitosa*, *Tussilago farfara*, *Rubus fruticosus*; z dřevin *Sambucus nigra* a *Betula pendula*.

Na albrechtické výsypce jsou velice hojné *Calamagrostis epigejos* a *Arrhenatherum elatius*, které společně pokrývají asi 85% plochy. Z dřevin jsou hojněji zastoupeny *Betula pendula* a *Salix caprea*.

Uvedené názvosloví je podle Rothmalera (1994).

4. METODIKA

4.1. ODBĚR VZORKŮ

Vzorky jsem odebírala v průběhu září 1995.

4.1.1. Odběr pro stanovení VAM

Na každé výsypce jsem si vytyčila trvalou pokusnou plochu o rozměrech 10×10m. Jako pokusné rostliny jsem zvolila druhy, které dominovaly a zároveň se vyskytovaly na obou lokalitách. Jedná se o *ARRHENATHERUM ELATIUS*,

CALAMAGROSTIS EPIGEJOS,

CIRSIUM ARVENSE,

TANACETUM VULGARE.

Pomocí rýče jsem získala celou rostlinu i s jejím kořenovým systémem. Nadzemní část rostliny jsem odstranila a očištěné kořeny ukládala do PE-sáčků.

4.1.2. Odběr pro stanovení počtu spór VAM v půdě

Půdu, kterou jsem získala společně s kořeny výše popsaných rostlin jsem již v terénu zbavila kamenů a pečlivě zhomogenizovala. Do laboratoře jsem odnášela vzorky o hmotnosti cca 100 g.

4.1.3. Odběr pro stanovení ECM

Vzorky kořenového systému *Betula pendula* jsem odebírala na trvalé pokusné ploše o rozměrech 30×30m. Odebírala jsem 5 náhodných vzorků z každé lokality a to vždy 0.5m západně od paty vybraného stromu.

4.2. PŘÍPRAVA A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

4.2.1. Stanovení procenta infekce VAM

Kořeny jsem omyla a roztřídila na tenké (pod 0.6 mm) a silné, s kterými jsem již nadále nepracovala (Kostková 1987). K barvení VAM struktur u tenkých kořenů jsem použila metodu Phillipse a Haymana (Phillips et Hayman 1970) modifikovanou podle Gryndlera (ústní sdělení).

Postup při barvení VAM v kořenech :

1. ponořené kořeny v 10% KOH dát na 60 minut do pece (90 °C)
2. důkladně promýt vodou
3. okyselit roztokem kyseliny mléčné po dobu 30 minut
(2 ml 80% k. mléčné/ 200 ml vody)
4. barvit roztokem trypanové modři v laktofenolu při teplotě 90 °C po dobu 30 minut
(příprava: 1g trypanové modři/ 1 litr laktofenolu
laktofenol = k.mléčná, fenol, voda v poměru hmotností 1:1:1)
5. důkladně promýt vodou.

Obarvené kořeny jsem původně skladovala v destilované vodě. Po objevení plísně ve vzorcích jsem kořeny uložila do laktofenolu, čímž se mi je podařilo zachovat.

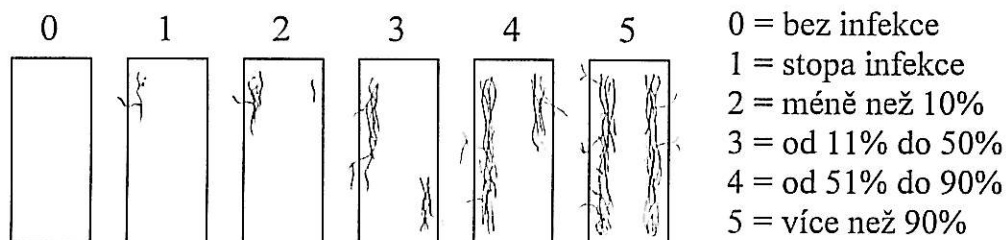
Pro zjištění % infekce kořenů endomykorhizou existuje více metod.

Kostková (1987) ve své práci použila modifikovanou metodu gridline-intersect (Giovanetti et Mosse 1980). V následujících letech (1987,1988) opět odebrala vzorky rostlin z růžodolské a albrechtické výsypky a stanovila infekci kořenů VAM podle Giovanettiho et Mosse (1980), tentokráte bez modifikace metody (Kostková-nepublikováno). BR, A

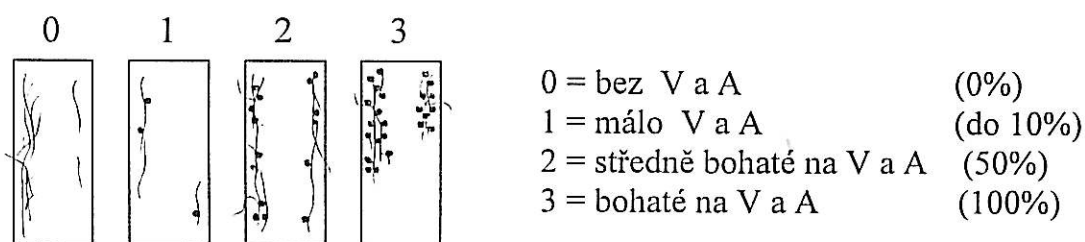
Já jsem pro svá pozorování zvolila metodu popsanou Trouvelotem, Koughem a Gianinazzi-Pearsonovou, která počítá nejen s procentuální mykorhizovanou délkou kořene, ale i s celkovou vesikulo-arbuskulární kvalitou (Trouvelot et al. 1986). Od

každého vzorku kořene jsem si připravila 30 fragmentů o délce cca 1cm. Fragменты jsem jednotlivě pozorovala pod binokulární lupou při 50-násobném zvětšení. Celkové ohodnocení každého z fragmentů spočívalo v následujících krocích:

1. odhad intenzity mykorhizy podle stupnice o 6 třídách :



2. odhad množství vesikulů (V) a arbuskulů (A) podle stupnice o 4 třídách :



Takto získaná data jsem zpracovala pomocí počítačového programu TRANGL (Gryndler 1991). Disketa s programem je přiložena k práci.

Vzorky dominantní rostliny obou výsypek *Calamagrostis epigejos* jsem ohodnotila oběmi výše zmíněnými metodami (Giovanetti et Mosse 1980 ; Trouvelot et al. 1986).

Své výsledky o infekci kořenů VAM v závěru práce srovnávám s výsledky nemodifikované metody Giovanettiho et Mosse (1980), Kostková (nepublikováno).

4.2.2. Stanovení počtu spór VAM v půdě

K izolaci spór jsem použila metodu dekantace, prosévání za mokra (Pacioni 1992) a centrifugaci v roztoku 2.5M sacharózy. Metoda je v bodě 3., 5., 7. modifikována (Gryndler -ústní sdělení).

Postup byl následující:

1. navážila jsem 50g odebraného vzorku půdy
2. suspenzi půda+voda jsem promývala skrze sérii 2 kovových sít o průměrech ok 250 μ m a 63 μ m
3. nerozpuštěné hrudky jílu z vrchního síta jsem mixovala v mixéru při nejnižších otáčkách po dobu 10s
4. opět jsem suspenzi půdy s vodou promývala skrze síta
5. následovalo 2. mixování, opět po dobu 10s, ale při středně rychlých otáčkách
6. naposledy jsem suspenzi promývala skrze síta
7. aby se mi podařilo vyizolovat opravdu maximální množství spór, převedla jsem přesátou frakci ze síta s nejmenšími oky do nádobky, kde jsem ji pomocí injekční stříkačky ještě 30x propístovala.
8. dokonale rozdrčený obsah nádobky jsem kvantitativně převedla do centrifugačních zkumavek, přilila několik mililitrů 2.5M roztoku sacharózy a centrifugovala 3 minuty při 4000 otáčkách/min.
9. vyizolované spóry jsem z centrifugačních zkumavek odebrala pipetkou a přenesla na vývěvu s celulózním filtračním papírem
10. filtrační papír se spórami jsem dala do lékovek s glutaraldehydovou fixací (Alexander et Bigg 1981), kde jsem je uchovávala.

Při počítání spór jsem nejprve obsah lékovek přefiltrovala přes filtrační papír s narýsovanou mřížkou (vzdálenost čar v mřížce cca 2mm), která usnadňuje orientaci při počítání. Spóry jsem počítala pod binokulární lupou při 50-násobném zvětšení.

Půdu, z které jsem spóry vyizolovala, jsem nechala vyschnout na vzduchu a dosušila v peci při teplotě 90 °C po dobu 20 hodin. Nakonec jsem půdu zvažila.

4.2.3. Stanovení přítomnosti ECM

Kořeny každého vzorku jsem omyla a roztřídila dle tloušťky do 3 kategorií:

silné	(nad 2mm)
středně silné	(1-2mm)
tenké	(pod 1mm)

U jednotlivých kategorií jsem stanovila délku a hmotnost kořenů. Délka byla zjištěna pomocí programu DIAS (Delta-T Devices, Ltd. 1990) s přesností na 3 desetinná místa. Hmotnost usušených kořenů (20 hodin při teplotě 90 °C) byla stanovena zvážením na předvážkách zn. Sartorius s přesností na 4 desetinná místa. V kategorii tenkých kořenů jsem pomocí binolupy při 25-násobném zvětšení spočítala počet ektomykorhizních špiček.

Kořeny jsem uchovávala v glutaraldehydové fixáži (Alexander et Bigg 1981).

4.2.4. Stanovení pH půdy

U každého vzorku jsem navážila 10g na vzduchu vysušené půdy, zalila 50ml převařené deionizované vody o laboratorní teplotě a při stálém míchání měřila pH. (kombinovaná skleněná elektroda, digitální pH-metr OP-211/1 Radelkis).

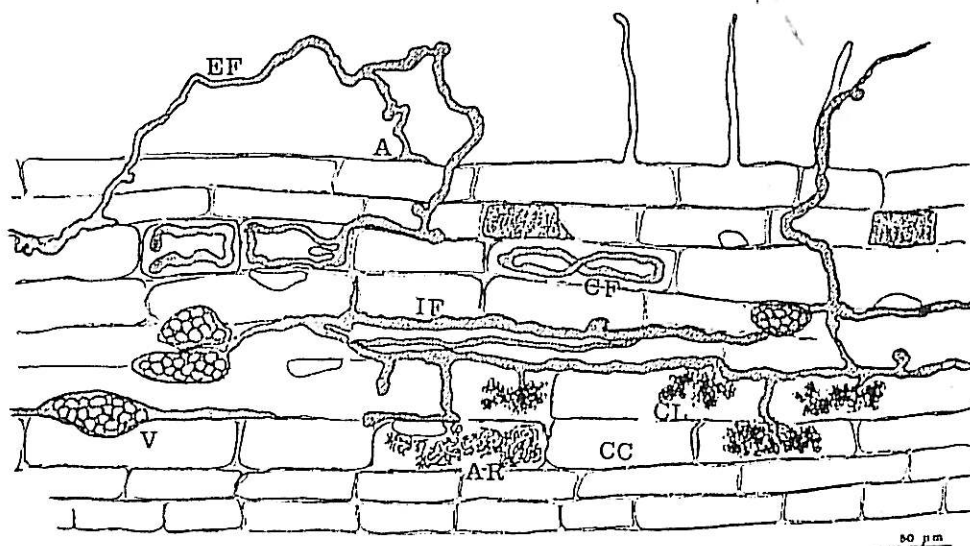
5. VÝSLEDKY

5.1. INFEKCE KOŘENŮ VAM

Mykorhizní infekcí kořenů VAM rozumíme celkový obsah hyf, vesikulů a arbuskulů v kořeni (Fig.3).

Fig.3 : Infekce kořenů VAM (Bonfante-Fasolo 1984)

- EF = extramatrikální hyfa
- A = apresorium
- CF = zkroucená hyfa
- IF = intercelulární hyfa
- CL = houbový shluk
- V = vesikulus
- CC = korová buňka
- AR = arbuskulus



Procentuální mykorhizovaná délka kořenů a vesikulo-arbuskulární kvalita přítomné mykorhizy (= obsah V+A), zjištěny metodou Trouvelota et al. (1986), jsou uvedeny v Tab.2.

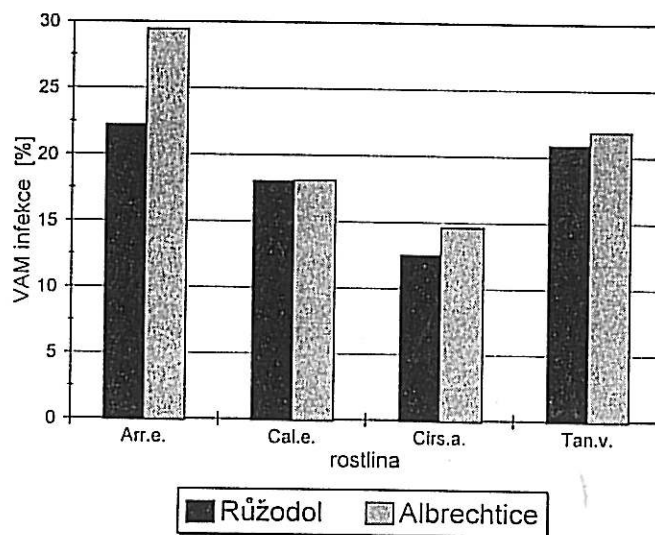
Tab.2 : Infekce kořenů VAM (metoda: Trouvelot et al. 1986).

		Růžodol (stáří 19 let)		Albrechtice (stáří 39-41 let)	
		mykorhizní infekce (% kořene)	obsah vesikulů a arbuskulů (% kořene)	mykorhizní infekce (% kořene)	obsah vesikulů a arbuskulů (% kořene)
Arrhenatherum elatius	1	35,8	22,8	52,2	26,8
	2	21,7	14,8	21,1	14,0
	3	10,5	2,7	41,0	17,3
	4	9,6	1,5	8,1	0,7
	5	33,6	24,1	24,8	15,8
mean		22,24	13,8	29,44	14,92
s.d.		12,36	10,73	17,31	9,36
Calamagrostis epigejos	1	24,1	4,4	11,7	3,0
	2	17,2	10,4	11,3	3,1
	3	23,8	14,7	22,9	14,5
	4	14,8	13,6	20,0	12,3
	5	10,3	2,6	24,7	15,5
mean		18,04	9,14	18,12	9,68
s.d.		5,94	5,42	6,27	6,16
Cirsium arvense	1	17,3	10,0	1,7	0,1
	2	6,6	13,1	9,3	3,2
	3	24,6	7,5	27,4	2,6
	4	13,1	3,5	17,8	4,3
	5	1,0	0,1	17,0	4,5
mean		12,52	6,84	14,64	2,94
s.d.		9,18	5,15	9,67	1,77
Tanacetum vulgare	1	14,8	5,0	36,2	19,1
	2	50,9	37,5	34,7	25,0
	3	13,5	10,6	9,6	4,8
	4	14,8	13,6	11,7	3,9
	5	10,3	4,5	17,3	9,6
mean		20,86	14,24	21,9	12,48
s.d.		16,89	13,55	12,7	9,24

Průměrnou infekci kořenů sledovaných rostlin, stanovenou dle Trouvelota et al. (1986), vystihuje Graf 1..

Graf 1: Průměrná infekce kořenů VAM (metoda :Trouvelot et al.1986).

Arr.e. - Arrhenatherum elatius
Cal.e. - Calamagrostis epigejos
Cirs.a. - Cirsium arvense
Tan.v. - Tanacetum vulgare



Ačkoli je patrný jakýsi trend zvyšujícího se % infekce kořenů VAM se stářím výsypky, po otestování dvoucestnou ANOVOU nebyly zjištěny průkazné rozdíly v zastoupení VAM ani mezi výsypkami ani mezi jednotlivými rostlinnými druhy v rámci každé výsypky

(neprůkazný rozdíl mezi lokalitami povrzuje $F=0,473$, $P=0,5037$, d.f.=1;

neprůkazný rozdíl mezi jednotlivými rostlinami potvrzuje $F=1,867$, $P=0,1551$, d.f.=3).

Procentuální mykorhizovaná délka u kořenů dominantní rostliny Calamagrostis epigejos byla pro srovnání s výsledky Kostkové (nepublikováno) stanovena také metodou gridline-intersect (Giovanetti et Mosse 1980). Zjištěné výsledky jsou uvedeny v Tab.3.

Tab.3: Porovnání zjištěných intenzit mykorhizní infekce u *Calamagrostis epigejos* stanovených metodou gridline-intersect (Giovanetti et Mosse 1980) a metodou dle Trouvelota et al. (1986).

		Růžodol		Albrechtice	
		Giovanetti et Mosse (1980)	Trouvelot et al. (1986)	Giovanetti et Mosse (1980)	Trouvelot et al. (1986)
Calamagrostis epigejos	1	21,7	24,1	11,2	11,7
	2	21,8	17,2	22,8	11,3
	3	26,5	23,8	25,4	22,9
	4	15,6	14,8	16,6	20,0
	5	24,6	10,3	20,7	24,7
mean		22,04	18,04	19,34	18,12
s.d.		4,13	5,94	5,57	6,27

Pro srovnání výše uvedených metod jsem opět použila dvoucestnou ANOVU. Hodnoty testu ($F=1,102$, $P=0,3094$, $d.f.=1$) potvrzují shodnost obou metod.

5.2. VÝSKYT SPÓR VAM V PŮDĚ

Zjištěné počty spór z kořenových balů vybraných rostlin jsou uvedeny v Tab. 4. V této tabulce jsou sice počty spór vztaženy k jednotlivým rostlinným druhům, avšak vzhledem k tomu, že monolity půdy, ve kterých byl počet spór zjišťován, obsahovaly kromě kořenů uvedeného druhu i mnoho kořenů rostlin jiných druhů, nelze zjištěné počty jednoznačně vztahovat k danému druhu (Kostková 1987).

Tab.4: Počty spór z kořenových balů vybraných rostlin.

		počet spór na 1g usušené půdy	
		Růžodol (stáří 19 let)	Albrechtice (stáří 39-41 let)
Arrhenatherum elatus	1	18.8	23.3
	2	16.0	17.9
	3	9.5	16.0
	4	13.2	16.4
	5	15.6	18.2
mean		14,62	18,36
s.d.		3,48	2,92
Calamagrostis epigejos	1	27.2	18.5
	2	18.9	21.9
	3	23,9	23.8
	4	19,6	24.8
	5	17.8	25.4
mean		21,48	22,88
s.d		3,95	2,79
Cirsium arvense	1	17.0	13.2
	2	12.2	15.9
	3	15.7	13.2
	4	21.9	16.9
	5	21,6	19.4
mean		17,68	15,72
s.d		4,11	2,63
Tanacetum vulgare	1	15.7	19.3
	2	15,6	22.3
	3	20,7	20.0
	4	18,7	17.1
	5	14,1	14,8
mean		16,96	18,7
s.d		2,68	2,86

Rozdílnost obou lokalit v obsahu spór (na 1g usušené půdy) jsem testovala s použitím dvouvýběrového T-testu. Výsledky testu ($t = -1.10275$, $P = 0,277$, $d.f. = 19$) nedovolují zamítnout nulovou hypotézu o rovnosti těchto dvou souborů.

Z toho vyplývá, že albrechtická a růžodolská výsypka se, co do počtu spór VAM, neliší.

5.3. INFEKCE KOŘENŮ BETULA PENDULA ECM

Stanovená biomasa a délka kořenů *Betula pendula* jsou uvedeny v Tab. 5,6.

Tab 5: Biomasa kořenů *Betula pendula* ve vzorku odebíraném do hloubky 12cm.

vzorek	kategorie kořene	HMOTNOST [g suš.m ⁻²]	
		Růžodol (stáří 19 let)	Albrechtice (stáří 39-41 let)
1	15-2 mm	98,4	552
	2-1 mm	33,6	10,8
	< 1 mm	12	2,4
2	15-2 mm	117,6	63,6
	2-1 mm	4,8	25,2
	< 1 mm	18	4,8
3	15-2 mm	296,4	486
	2-1 mm	39,6	10,8
	< 1 mm	8,4	4,8
4	15-2 mm	537,6	0
	2-1 mm	19,2	20,4
	< 1 mm	12	6
5	15-2 mm	450	74,4
	2-1 mm	13,2	22,8
	< 1 mm	9,6	4,8
mean ; s.d.	15-2 mm	300 ; 195,5	235,2 ; 261,67
	2-1 mm	22,08 ; 14,37	18 ; 6,79
	< 1 mm	12 ; 3,7	4,56 ; 1,31

Tab.6: Délka kořenů *Betula pendula* ve vzorku odebíraném do hloubky 12cm.

vzorek	kategorie kořene	DÉLKA [m.m ²]	
		Růžodol (stáří 19 let)	Albrechtice (stáří 39-41 let)
1	15-2 mm	26,7	27,59
	2-1 mm	44,52	16,25
	< 1 mm	241,01	57,05
2	15-2 mm	27,68	19,19
	2-1 mm	57,38	37,24
	< 1 mm	335,94	81,48
3	15-2 mm	44,08	41,68
	2-1 mm	48,50	9,96
	< 1 mm	164,41	88,01
4	15-2 mm	44,69	0
	2-1 mm	37,52	29,58
	< 1 mm	196,07	108,08
5	15-2 mm	22,32	15,84
	2-1 mm	26,42	30,04
	< 1 mm	192,67	89,52
mean ; s.d.	15-2 mm	33,09 ; 10,51	20,86 ; 15,35
	2-1 mm	42,87 ; 11,66	24,61 ; 11,16
	< 1 mm	226,02 ; 67,29	84,83 ; 18,41

Po otestování 2-výběrovým T-testem ($t= 4,52551$, $P= 1,9358E-3$, d.f.= 4) bylo zjištěno, že lokality se značně liší v přítomnosti jemných kořenů (do 1mm tloušťky).

V kategorii tenkých kořenů (do max. tloušťky 1mm) bylo stanoveno množství ECM špiček (Tab.7). Počet morfotypů stanovován nebyl, poněvadž pro kvalitní zhodnocení by bylo zapotřebí nejméně 40 vzorků (Nylund et al. 1995).

Pouze orientačně: na obou lokalitách převládala větvená ECM oranžové barvy. Ve vzorcích z albrechtické výsypky se v minoritním zastoupení vyskytovala i černá nevětvená ECM.

Tab.7: Specifický počet ektomykorhizních špiček u *Betula pendula* (stanoveno u kořenů do max. tloušťky 1mm).

vzorek	POČET EKTOMYKORHIZNÍCH ŠPIČEK [cm ⁻¹]	
	Růžodol (stáří 19 let)	Albrechtice (stáří 39-41 let)
1	5,4	4,0
2	4,1	4,7
3	4,2	2,7
4	4,6	6,5
5	2,2	4,3
mean	4,1	4,44
s.d.	1,18	1,37

Po otestování 2-výběrovým T-testem ($t = -0,41993$, $P = 0,685599$, $d.f. = 4$) možno říci, že není prokazatelný rozdíl v množství ECM u obou lokalit.

V září 1995 byl proveden na obou výsypkách orientační odběr plodnic hub. Seznam nalezených druhů je uveden v Tab.8.

Tab.8: Seznam druhů hub, nalezených při jednorázovém odběru v září 1995 (ektomykorhizní houby jsou označeny x).

Růžodol	<i>Clavaria vermicularis</i>	
	<i>Lactarius glyciosmus</i>	x
	<i>Lactarius pubescens</i>	x
	<i>Lactarius rufus</i>	x
	<i>Rhodophyllus</i> sp.	
	<i>Russula aeruginea</i>	x
	<i>Russula</i> cf. <i>pectinatoides</i>	x
	<i>Russula</i> cf. <i>pulchella</i>	x
	<i>Russula</i> sp.	x
	<i>Telamonia</i> sp.	x
Albrechtice	<i>Crinipellis stipitaria</i>	
	<i>Laccaria laccata</i>	x
	<i>Mycena aetites</i>	
	<i>Paxillus involutus</i>	x
	<i>Rhodophyllus</i> sp.	
	<i>Rickenella fibula</i>	
	<i>Russula pulchella</i>	x
	<i>Telamonia</i> sp.	x
	<i>Telamonia</i> sp.	x

Uvedené názvosloví je podle Jülicha (1984) a Mosera (1983).

5.4. PH PŮDY

Zjištěné hodnoty pH půdy, stanovené ve vodním výluhu, jsou uvedeny v Tab.8.

Tab.8: PH půdy stanovené ve vodním výluhu jednotlivých vzorků půdy.

		Růžodol (stáří 19 let)	Albrechtice (stáří 39-41 let)
Arrhenatherum elatius	1	6,39	4.59
	2	6,50	5.55
	3	6,65	5.41
	4	6,24	5.51
	5	6,33	5.80
Calamagrostis epigejos	1	5,55	5.35
	2	6,39	5.29
	3	5,91	5.59
	4	6,35	5.05
	5	6,29	5.43
Cirsium arvense	1	6,45	5.07
	2	6,59	5.05
	3	6,33	5.35
	4	5,25	5.34
	5	6,27	5.49
Tanacetum vulgare	1	6,30	5.15
	2	6,19	5.09
	3	6,12	5.39
	4	6,15	5.39
	5	6,25	5.45
mean ; s.d.		6,04 ; 0,33	5,22 ; 0,26

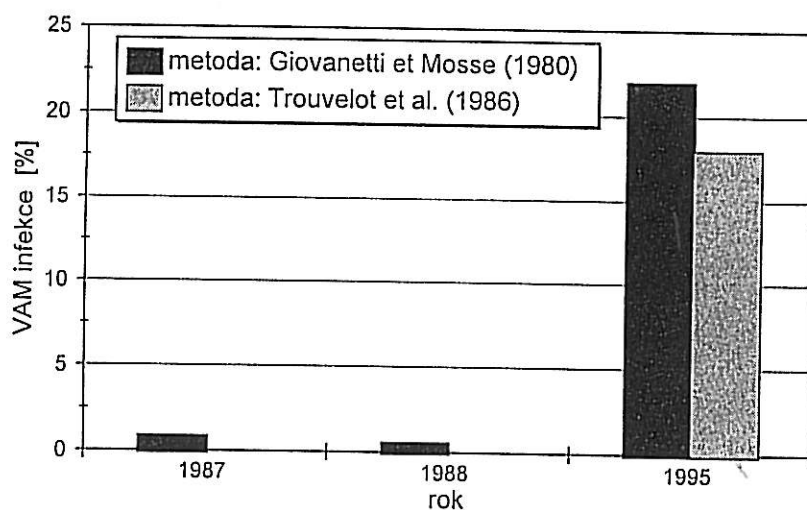
Užitím 2-výběrového T-testu ($t = -4,223$, $P = 1,45E-4$, $d.f. = 19$) byl nalezen prokazatelný rozdíl v pH půdy mezi oběma lokalitami.

6. DISKUSE

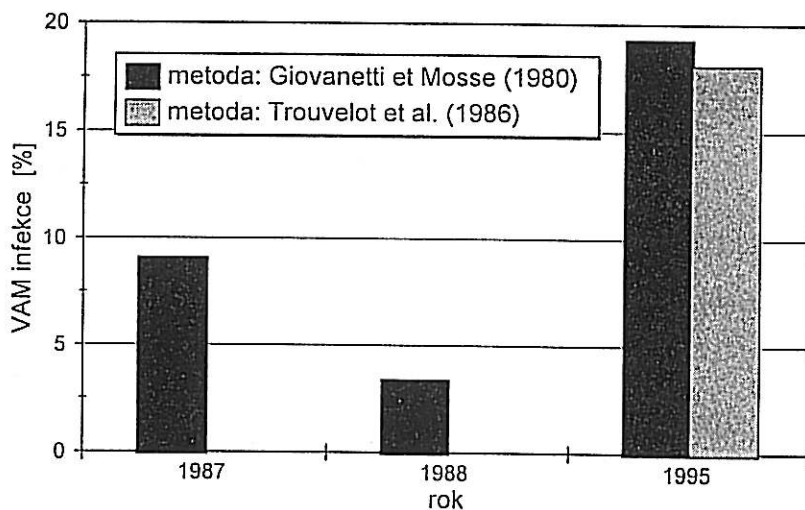
6.1. INFEKCE KOŘENŮ VAM

Intenzity infekce kořenů *Calamagrostis epigejos* z let 1987, 1988 (Kostková-nepublikováno) a z roku 1995 uvádí Graf 2,3.

Graf 2 : VAM-infekce kořenů *Calamagrostis epigejos* zjištěna na růžodolské výsypce.



Graf 3 : VAM-infekce kořenů *Calamagrostis epigejos* zjištěna na albrechtické výsypce.



Zřetelné rozdíly v nalezených hodnotách mohlo způsobit několik faktorů :

1. Klimatické podmínky; během vegetačního období v letech 1987 a 1988 byly méně příznivé než v roce 1995 (Hydrometeorologický Ústav v Ústí nad Labem - ústní sdělení).
2. Sukcese; se stářím výsypky klesá dostupnost živin v půdě (Odum 1977), proto je zapotřebí vyšší infekce kořenů VAM pro zajištění přísunu potřebných živin.
3. Subjektivita metod na určování intenzity infekce VAM.

V roce 1995 nebyl mezi lokalitami nalezen žádný rozdíl v infekci kořenů VAM. Podle Pracha (1989) spadá albrechtická výsypka do 5. sukcesního stádia vývoje vegetace a růžodolská výsypka tohoto stádia právě dosahuje. Rostlinný pokryv na růžodolské výsypce tvoří již 100% a lokality mají mnoho dominantních rostlinných druhů, závislých na VAM, společných.

Můžeme konstatovat, že se výsypky stupněm rozvoje VAM vyrovnaly.

6.2. VÝSKYT SPÓR VAM V PŮDĚ

Množství spór v půdě zjištěné v roce 1985 (Kostková 1987) se evidentně liší od počtů zjištěných v roce 1995.

- Kostková (1987) uvádí, že se na mosteckých výsypkách setkávala s 0-9 spórami na 50g usušené půdy.
- Mnou zjištěné počty se pohybují v intervalu 475-1360 spór na 50g usušené půdy.

Nejpravděpodobněji je tento, až 2,5 řádový, rozdíl způsoben modifikací metody extrakce spór, kterou jsem použila (viz kap. 4.2.2., bod 3, 5, 7).

Po provedení dodatečného pokusu se výše zmíněná domněnka potvrdila (Rydlová-Kostková - ústní sdělení).

Značnou rozkolísanost dat o počtech spór v půdě vysvětluje Anderson et al. (1983), který uvádí, že hustota spór v půdě je prostorově i časově velice proměnlivá.

6.3. INFEKCE KOŘENŮ BETULA PENDULA ECM

Zjištěná biomasa jemných kořenů (do 1mm tloušťky) je na růžodolské výsypce asi 3x vyšší než na albrechtické výsypce. Může to být způsobeno tím, že albrechtická výsypka patří do oblasti s nižším ročním úhrnem srážek (450-500mm) než růžodolská výsypka (550-600mm). Proto je velice pravděpodobné, že jemné kořeny stromu se budou na albrechtické výsypce nacházet ve větší hloubce (Kocourek 1991).

Množství ECM závisí na mnoha faktorech, přičemž nejdůležitější je druh hostitelské dřeviny a úživnost daného stanoviště. Vzhledem k tomu, že nebyl nalezen rozdíl v množství ECM mezi výsypkami, můžeme opět usoudit, že růžodolská výsypka ve svých 19-ti letech dosahuje stádia, kdy je stejně úživná jako o 20 let starší albrechtická výsypka.

6.4. PH PŮDY

Během sukcese na výsypkách se z půdy mírně zásadité stává středně kyselá (Toběrná 1973), protože dochází k postupnému vyluhování zásaditých kationtů a jejich nahrazování H^+ (Němeček 1990).

Zjištěné průměrné hodnoty pH 19-leté růžodolské výsypky (pH= 6,04) a 40-leté albrechtické výsypky (pH= 5,22) jsou v souladu s výše uvedenými údaji.

7. ZÁVĚR

Při pokusu provedeném v roce 1995 bylo zjištěno, že 19-letá růžodolská a 40-letá albrechtická výsypka se NELIŠÍ v přítomném množství :

- VAM (prům. infekce kořenů = 19,7%)
- spór VAM v půdě (prům. počet spór na 1g usušené půdy = 18,3)
- ECM (prům. počet ektomykorhizních špiček na 1cm délky kořene = 4,3).

Rozdíl mezi lokalitami byl nalezen pouze u pH půdy :

- průměrná hodnota pH půdy u mladší růžodolské výsypky je 6,04
- průměrná hodnota pH půdy u starší albrechtické výsypky je 5,22.

Mnou zjištěné výsledky o množství spór v půdě vycházely asi 150x vyšší než výsledky Kostkové (1987). Bylo to způsobeno modifikací metody extrakce spór, kterou jsem použila. Výsledky tedy nebylo možno srovnat.

Procenta infekce kořenů VAM se v mé práci pohybují kolem 20%. Výsledky Kostkové z roku 1987 a 1988 (nepublikováno) se pohybují okolo 3%. Vzestup mykorhizní infekce kořenů nejpravděpodobněji zapříčinila sukcese a příznivé klimatické podmínky během vegetační sezóny v roce 1995.

8. LITERATURA

- Alexander I.J., Bigg W.L. (1981) : Light microscopy of ectomycorrhizas using glykol methacrylate. - Trans. Brit. Mykol.Soc., 77 : 425-429.
- Anderson R. C. (1983) : Spatial variation in vesicular-arbuscular mycorrhiza spore density. - Bull. Torrey Bot. Club, 110 : 519-525.
- Baylis G. T. S. (1975) : The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root system derived from it. - In: Sanders F.E., Mosse B., Tinker P.B. (eds.) : Endomycorrhizas. Academic Press, London, pp. 373-389.
- Bonfante-Fasolo P. (1984) : Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. - In: Powell C. L1., Bagyaraj D. J. (eds.) : VA mycorrhiza. CRC Press, Boca Raton, pp. 5-33.
- Giovanetti M., Mosse B. (1980) : An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. - New Phytol., 84 : 489-500.
- Grime J.P. (1977) : Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. - Am. Nat., 111 : 1169-1194.
- Janos D.P. (1980) : Mycorrhizae influence tropical succesion. - Biotropica, 12 : 56-64.
- Janos D.P. (1985) : Mycorrhizal fungi : agents or symptoms of tropical community composition ? - In: Molina R. (ed.) : Proceedings of the 6th NACOM, Bend, Oregon, pp. 98-103.
- Jonáš F. (1975) : Určení způsobů rekultivace a tvorba nových půd na výsypkách v severočeském hnědouhelném revíru. - Výzk. ústav meliorací, Praha, pp. 55-58.
- Jülich W. (1984) : Die Nichtblätterpilze, Gallerpilze und Bauchpilze. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 626 pp.
- Klán J. (1989) : Co víme o houbách. SPN, Praha, 151 pp.

-
- Kostková J. (1987) : Vesikulo-arbuskulární mykorhizy v sukcesi na výsypkách. - Ms. [Dipl. pr., depon. in : Knih. katedry botaniky Př. Fak. UK, Praha, 130 pp].
- Mejstřík V. (1988) : Mykorrhizní symbiózy. Academia, Praha, 150 pp.
- Moser M. (1983) : Die Röhrlinge und Blätterpilze. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 533 pp.
- Němeček J., Smolíková L., Kutílek M. (1990) : Pedologie a paleopedologie. Academia, Praha, pp. 263-320.
- Nylund J.E., Dahlberg A., Högborg N., Kärén O., Grip K., Jonsson L. (1995) : Methods for studying species composition of mycorrhizal fungal communities in ecological studies and environmental monitoring. - In : Stocchi V. (ed.) : Biotechnology of ectomycorrhizae. Plenum Press, New York, pp. 229-239.
- Odum E.P. (1977) : Základy ekologie. Academia, Praha, p. 344.
- Pacioni G. (1992) : Wet-sieving and decanting techniques for the extraction of spores of vesicular-arbuscular fungi. - In : Norris J. Read D., Varma A.K. (eds.) : Techniques for Mycorrhizal Research. Academic Press, London, pp. 777-782.
- Prach K. (1989) : Sukcese vegetace na mosteckých výsypkách - účast jednotlivých druhů. - Severočes. Přír., 23 : 77-83.
- Reeves F.B. (1985) : Survival of VA mycorrhizal fungi - interactions of secondary succession, mycorrhizal dependency in plants, and resource competition. - In: Molina R. (ed.) : Proceedings of the 6th NACOM, Bend, Oregon, pp. 110-113.
- Rothmaler W. (1995) : Exkursionflora von Deutschland. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 750 pp.
- Syrový S. (1958) : Atlas podnebí Československé republiky. Ústřední Správa geodesie a kartografie, Praha, nestr.
- Toběrná V. (1973) : Fytocenologická charakteristika vybraných rostlinných společenstev některých výsypek Mostecka. - Ms. [Kand. dis. práce, depon. in : Knih. katedry botaniky Př. Fak. UK, Praha, 130 pp].
-

Trappe J.M., Luoma D.L. (1992) : The ties that bind : Fungi in ecosystems.

- In: Carroll G.C., Wicklow D.T. (eds.) : The fungal community its organization and role in the ecosystem. Dekker, Inc., New York, pp. 17-27.

Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V. (1986) : Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle.

- In: Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (eds.) : Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Service des Publications INRA, Paris, pp. 217-221.

9. FOTOGRAFICKÁ PŘÍLOHA

Foto 1 : Růžodolská výsypka (okres Most), stáří 19 let.



Foto 2 : Albrechtická výsypka (okres Most), stáří 40 let.



Foto 3 : Vesikulo-arbuskulární mykorhiza v kořenech *Calamagrostis epigejos*.

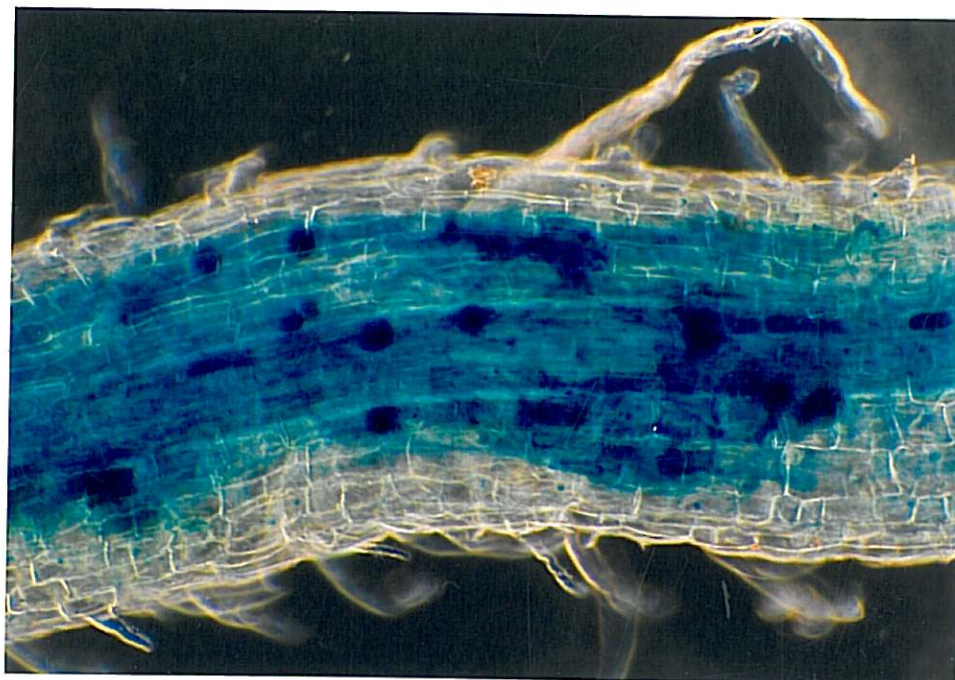


Foto 4 : Inokulum VAM - chlamydospóra r. *Glomus*.



Foto 5 : Převládající morfortyp ECM v kořenovém systému *Betula pendula*.



Foto 6 : Černá ECM v kořenovém systému *Betula pendula*.

