

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



Magisterská práce

Mykorhizní symbióza u druhu *Plantago lanceolata*
na stanovištích s různou vlhkostí a nabídkou živin.

Martina Lokvencová

Školitel: RNDr. Marie Šmilauerová, PhD.

České Budějovice 2010

Lokvencová M. (2010) Mykorhizní symbióza u druhu *Plantago lanceolata* na stanovištích s různou vlhkostí a nabídkou živin. [Mycorrhizal symbiosis of *Plantago lanceolata* at locations with differing moisture and nutrient availability.] –41p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation: Arbuscular mycorrhizal infection of seedlings and adult plants of *Plantago lanceolata* was examined at twenty locations with differing moisture and nutrient availability. At each location two control and two fertilized plots were established. Mycorrhizal infection of seedlings was higher on control plots but the symbiosis of adults plants was not affected by fertilization. Relative arbuscular infection of adult plants decreased with increasing C/N ratio. Mycorrhizal infection was further distinguished into four morphotypes (*Acaulospora*, *Scutellospora*, *Glomus*, fine endophyte). Frequency of two morphotypes in the roots of adult plants was correlated with soil moisture. Morphotype *Acaulospora* decreased its abundance with increasing soil moisture, but the fine endophyte morphotype increased its abundance along the same gradient. Relative frequencies of the four morphotypes differed between seedlings and adult plants.

Poděkování

Mé největší poděkování patří školitelce Majce, která mi pomáhala s touto diplomovou prací od zakládání pokusu a objíždění lokalit až po cenné připomínky k textu. Chtěla bych ji moc poděkovat za velkou ochotu a trpělivost mi vždy poradit a pomoci. Děkuji Petrovi Šmilauerovi za pomoc při určování mykorhizních morfotypů a hlavně za velkou pomoc při statistickém zpracování dat, Blance Divišové za pomoc při obarvování kořenů rostlin, Milanu Štechovi za pomoc při určování rostlin a také děkuji za rady a povzbuzení Áje Vítové, Katce Štajerové a Tomáši Havlíkovi. Dále děkuji svojí mamince a tatínkovi za psychickou i finanční podporu.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pouze s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 5. 1. 2010

.....

Martina Lokvencová

Obsah

1	Úvod.....	6
2	Metodika	10
2.1	Vytyčení ploch.....	10
2.2	Založení hnojených a nehnojených plošek.....	10
2.3	Snímkování vegetace	10
2.4	Výsadba semenáčků	11
2.5	Odběr semenáčků	11
2.6	Zpracování odebraných rostlin z louky	11
2.7	Postup barvení (Vierheilig et al., 2005, s modifikacemi).....	12
2.8	Odběr půdy na chemické analýzy a na vlhkost půdy	12
2.9	Zjištění půdní vlhkosti	12
2.10	Zpracování půdy na chemickou analýzu	13
2.10.1	Stanovení celkového dusíku a uhlíku na C/N poměr	13
2.10.2	Stanovení koncentrace fosforu v půdě	13
2.11	Odhad polohy lokalit na gradientu živin a vlhkosti pomocí Ellenbergových indikačních čísel.....	13
2.12	Charakteristika lokalit.....	14
2.13	Mykorhizní morfotypy	14
2.14	Vyhodnocování intenzity mykorhizní infekce	15
2.15	Statistické zpracování dat	16
2.15.1	Zpracování výsledků v programu Statistika 8.....	16
2.15.2	Mnohorozměrné analýzy v programu Canoco	17
3	Výsledky	20

3.1	Vliv stanovištních půdních charakteristik na celkovou AM infekci	20
3.2	Vliv stanovištních půdních charakteristik na zastoupení mykorhizních morfotypů	20
3.3	Vliv hnojení na intenzitu AM infekce	24
3.4	Vliv původu semenáčku na AM infekci	25
3.5	Srovnání AM symbiózy mezi semenáčky a dospělými jitroceli	25
3.6	Vliv rostlinného společenstva na AM infekci odebíraných rostlin	27
4	Diskuze	31
4.1	Vliv stanovištních půdních charakteristik	31
4.2	Vliv hnojení	33
4.3	Původ semenáčku	33
4.4	Srovnání AM symbiózy mezi semenáčky a dospělými rostlinami.....	34
4.5	Vliv okolního společenstva rostlin	35
4.6	Určování morfotypů	36
5	Závěr	37
6	Literatura.....	38
7	Přílohy.....	Chyba! Záložka není definována.

1 Úvod

Uchycení semenáčků, kompetice mezi rostlinnými druhy a samotné udržení rostlinného společenstva závisí na charakteru prostředí, které zahrnuje různé biotické a abiotické faktory. Tyto faktory jsou zase naopak ovlivňovány rostlinným společenstvem i mezi sebou navzájem. Jedním z nich je i arbuskulární mykorhizní (dále v textu používám označení AM) symbióza. AM symbióza je tvořena kořeny cévnatých rostlin a arbuskulárními mykorhizními houbami (dále v textu AMF). AMF patří do řádu *Glomerophyta* a odhadem tvoří symbiózu se 65% cévnatých rostlin (Wang a Qiu, 2006). AMF se šíří pomocí spór nebo mimokořenovými hyfami dočasně přežívajícími bez hostitele, které pronikají do primární kořenové kůry nové hostitelské rostliny (Gryndler et al., 2004, Smith a Read, 1997). Tam vytvářejí v apoplastu buňky hostitele dichotomicky větvené útvary arbuskuly a intra- nebo intercelulární útvary zvané vezikuly. Arbuskuly a vnitrokořenové hyfy slouží k výměně látek mezi AMF a rostlinou. AMF přispívají rostlinám hlavně příjmem fosforu, ale i dusíku, draslíku, a zinku (Smith a Read, 1997). V přírodních ekosystémech rostliny obdrží od AMF až 90 % fosforu (van der Heijden et al., 2008). AMF může v infikované rostlině vyvolat fyziologické a chemické změny, které mohou následně rostlinu chránit před patogeny (Borowicz, 2001), měnit „chutnost“ rostliny a tím ovlivňovat složení hmyzu žijícího na rostlině (Gange a West, 1994, Gange et al., 2002), upravovat u rostliny vodní režim (Augé, 2001). Rostlina zase odevzdává houbě až 20% fixovaného uhlíku (Jakobson et al., 2002). Tento výdaj může rostlinu vyčerpávat nebo může být kompenzován větším přísunem fosforu a jeho kladným vlivem na růst rostliny, či jinými kladnými vlivy AM symbiózy. Proto se symbiotický vztah mezi AMF a rostlinou pohybuje mezi vztahem mutualistickým až parazitickým (Johnson et al., 1997).

Podle Standishe et al. (2007) některé druhy rostlin adaptované na půdu s nízkým obsahem fosforu přijímají a následně zpracují fosfor efektivněji s AM symbiózou než bez ní i při jeho vysoké koncentraci v půdě. To jsou však výjimky. V půdě s vysokým obsahem živin, a to zejména fosforu a dusíku, se zdá, že výhodu mají rostliny bez AM infekce nebo s nízkým procentuálním zastoupením AM infekce (Javot et al., 2007). Rostlina má v takové půdě snadnou dostupnost živin a nepotřebuje AMF k jejich dobývání. Tvoří-li rostlina i v živinově bohaté půdě AM symbiózu, musí zbytečně dodávat fixovaný uhlík houbě, a tím se oslabuje (Smith a Read, 1997). Jestliže neplní AM symbióza jiné kladné efekty, jako je

například ochrana před herbivory, v živinově bohaté půdě rostlinu vyčerpává. Proto v některých experimentech se zásahem hnojení dojde ke snížení hustoty a diverzity AM spor v půdě a ke snížení kolonizace kořenů AMF (např. Wang et al., 2009, Santos, 2006), nebo alespoň ke snížení zastoupení arbuskul či vesikul v kořeni rostliny (Titus a Lepš, 2000, Šmilauer a Šmilauerová, 2000). V jiných experimentech přidání dusíkatého hnojiva buď nemělo vliv na intenzitu AM infekce (např. Jumpponen, 2005, Johnson et al., 2003), nebo se intenzita AM symbiózy po tomto zásahu ještě zvýšila (Johnson et al., 2003). Jedním z velmi významných faktorů určující chování i samotnou prospěšnost AM symbiózy pro rostliny je poměr fosforu a dusíku v půdě. V půdě, která byla znečišťována po desítky let fosfátovým prachem, ale měla nízkou hladinu dusíku, dosahovala AM symbióza až 74,5% infekce v kořenech rostlin (Renker et al., 2005). Na lokalitách s nízkým poměrem N/P (vysoký obsah fosforu) se vlivem pohnojení dusíkem intenzita AM infekce snížila, zatímco na lokalitách s vysokým poměrem N/P (nízký obsah fosforu) se zvýšila (Johnson, 2003).

Vlivem zvýšení dostupnosti živin se také může změnit složení společenstva AMF na lokalitě (Wang et al., 2009, Corkidi et al., 2002, Jumpponen, 2005, Egerton-Warburton et al., 2007). Jak se druhové složení změní záleží i na typu hnojiva (Wang et al., 2009, Toljander et al., 2008). Zvýšená koncentrace dusíku i fosforu většinou vede nejen ke snížení intenzity AM infekce u rostlin, ale i hojnosti druhů AMF a diverzity jejich společenstva (Wang et al., 2009, Renker et al., 2005). Avšak v půdách s vysokým N/P poměrem (nízkým obsahem fosforu) zvýšení koncentrace živin zase druhovou diverzitu AMF zvýšilo (Egerton-Warburton et al., 2007, Alguacil, 2009). AMF diverzita je ovlivněna i složením rostlinného společenstva (Johnson, 2004) a naopak AMF může ovlivnit kompetici mezi rostlinami a tím i druhové složení rostlinného společenstva (Scheublin et al., 2007). Podle modelu Urcelay a Diaz (2003) vliv AMF na diverzitu rostlinného společenstva závisí na stupni mykorhizní závislosti nedominantních druhů rostlin. Je-li tato závislost velká, tak jim AMF pomáhá v kompetici s dominantami a zvyšuje diverzitu rostlin na lokalitě. Podle pokusu Collinse a Fostera (2009) nezáleží jenom na mykorhizní závislosti nedominantních rostlin, ale i na dostupnosti živin, hlavně na dostupnosti fosforu. AM symbióza zvýšila rostlinnou diverzitu tam, kde byl fosfor špatně dostupný, ale v půdě s větší koncentrací fosforu AM symbióza měla nepatrný vliv na rostlinné společenstvo.

Jedním z faktorů, jehož vliv na intenzitu mykorhizní infekce poměrně dobře prozkoumán, je vlhkost půdy. Většina prací se zabývá reakcí AMF na extrémní stresové

situace jako je buď velké sucho nebo pravidelné zaplavování půdy. Delší doba zaplavení snižuje intenzitu AM infekce v kořeni (Escudero a Mendoza, 2005, Miller, 2000), sucho ve většině případů zvyšuje intenzitu AM infekce (Augé, 2001). Intenzita AM infekce se také liší podle druhu či čeledi rostlin. Některé druhy rostlin nevytvářejí s AMF symbiózu, zejména zástupci čeledí *Cruciferae*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae* a *Polygonaceae* (Francis a Read, 1994). Ale i u běžně mykorhizních druhů vliv jednoho druhu AMF na růst rostlin velmi závisí na genotypu samotné hostitelské rostliny (Kliromonos, 2003) a přínos různých druhů AMF se může lišit i pro stejný hostitelský genotyp (Cavagnaro et al., 2005). Proto výsledek kompetice uvnitř rostlinného společenstva záleží i na identitě druhů AMF (Scheublin et al., 2007).

Mykorhizní symbióza může podporovat růst a následné přežití semenáčků (van der Heijden, 2004, van der Heijden a Horton, 2009). S největší pravděpodobností arbuskulární mycelium zvětšuje schopnost kořene přijímat živiny (Smith a Read, 1997) a tím zvýší schopnost mladé rostlinky přežít v konkurenci okolních rostlin. Poměr zastoupení druhů AMF se mění v kořenech v průběhu kolonizace (Jansa et al., 2008). Na začátku kolonizace kořene mykorhizní houbou se objevují druhy AMF s R-strategií, později s K-strategií (Jansa et al., 2008, Sýkorová et al., 2007).

Identita druhů AMF se v minulosti určovala podle morfologické odlišnosti spór v půdě. Poměr spór v půdě však nemusí odpovídat poměru zastoupení druhů AMF v kořeni rostlin (Renker et al., 2005). O rozlišení AMF uvnitř kořene hostitelské rostliny se pokusili – alespoň na úrovni čeledí - Merryweather a Fitter (1998a). Rozlišili a popsali 4 morfotypy AMF (typ *Scutellospora*, typ *Acaulospora*, typ *Glomus*, typ fine endophyte). Tyto čeledi mohou různě reagovat na půdní podmínky (Johnson et al., 1991) a na zásah hnojení na zkoumaných lokalitách (např. Wang et al., 2009). V dnešní době se ve většině prací identita AMF kolonizujících kořen rostliny určuje molekulárními metodami.

V mé práci jsem se zabývala mykorhizní symbiózou u druhu *Plantago lanceolata* na stanovištích s různou vlhkostí a nabídkou živin. Zkoumala jsem AM symbiózu v počátečních stádiích u vysazených semenáčků jitrocele i dlouhodobě udržovanou AM symbiózu dospělých rostlin. Semenáčky jitrocele byly dvojího původu. Jedny semenáčky byly ze semínek odebrané na zkoumaném stanovišti, tyto semenáčky označuji jako lokální. Druhé semenáčky byly dodané firmou Planta Naturalis, Markvartice, které dále označuji jako referenční. Předpokládám, že lokální semenáčky budou lépe adaptované na místní

druhy AMF, s kterými budou snadněji tvořit AM infekci než referenční semenáčky. Proto předpokládám, že lokální semenáčky budou mít vyšší intenzitu AM infekce než semenáčky referenční. Na druhou stranu předpokládám výraznější odezvu u AM symbiózy referenčních semenáčků na zásah hnojení, protože nebudou tak adaptované a přístupné místním druhům AMF a v pohnojených plochách jejich infekci budou snadněji redukovat. Ve své práci jsem pro nastínění možné odlišnosti taxonomického složení a poměrů různých AMF infikujících kořeny zkoumaných rostlin rozlišovala vizuálně pod mikroskopem čtyři morfortypy AMF podle Merryweather a Fitter (1998a).

Kladla jsem si následující otázky:

Liší se míra AM infekce u kořenů *Plantago lanceolata* ze stanovišť na gradientech živin a půdní vlhkosti?

Jaká je AM infekce kořenů v interakci mezi živinovou nabídkou na stanovišti a odezvou na její experimentální zvýšení?

Liší se odezva AM infekce na navýšení živin mezi semenáčky a dospělými rostlinami?

Liší se AM infekce kořenů semenáčků vypěstovaných ze semen nasbíraných na zkoumané lokalitě a ze semen referenčních?

2 Metodika

2.1 Vytyčení ploch

Koncem srpna 2007 jsem východně od Českých Budějovic na území mezi Rudolfovem, Srubcem a Lišovem vybrala 20 luk (dále označované jako lokality), na kterých se vyskytuje jitrocel kopinatý *Plantago lanceolata* (poloha lokalit viz Příloha 1). Na každé lokalitě jsem vytyčila čtverec $2 \times 2 \text{ m}^2$. Rohy čtverce jsem označila bambusovými tyčkami a zatlučenými kovovými zátkami s hřebíky. Polohu čtverce na louce jsem si odměřila pomocí měřicího pásma od „významného“ bodu, např. stromu směrem k dalšímu bodu, nebo jsem ji lokalizovala pomocí azimutu k vzdáleným bodům (vysílače, komíny a pod.).

2.2 Založení hnojených a nehnojených plošek

Každý vytyčený čtverec $2 \times 2 \text{ m}^2$ jsem rozdělila na čtyři metrové plochy, dvě na hnojení a dvě jako kontrolní. Uspořádání zásahů bylo šachovnicové. V říjnu 2007 a opakovaně v březnu 2008 jsem na hnojené plochy rovnoměrně nasypala univerzální hnojivo Cererit (výrobce AGRO CS a.s.), které obsahuje: 8% celkového dusíku, 24% fosforu ve formě P_2O_5 , 11% draslíku jako K_2O , 2% hořčíku jako MgO , sírany jako S 15%, bór 0,06%, molybden 0,01%, měď 0,008%, zinek 0,016% a chloridy 1%. Na každý metrový čtverec určený pro pohnojení jsem při každém hnojení nasypala 50g hnojiva. Kontrolní čtverce byly bez jakéhokoli zásahu.

2.3 Snímkování vegetace

V září 2007 jsem na vytyčených čtvercích provedla soupis druhů bylin s odhadem jejich pokryvností. Zjištěné hodnoty ze snímkování jsem použila pro orientační zjištění úživnosti a vlhkosti půdy podle Ellenbergových čísel (Ellenberg, 1988). Před odběrem semenáčků na začátku května 2008 jsem snímkovala jednotlivé plochy $1 \times 1 \text{ m}^2$ v každém čtverci $2 \times 2 \text{ m}^2$. Nomenklatura rostlin je sjednocena podle Kubáta et al. (2002).

2.4 Výsadba semenáčků

Na podzim 2007 jsem na každé lokalitě sesbírala semínka *Plantago lanceolata*, vždy od více jedinců od sebe vzdálených několik metrů. Sesbíraná semínka jsem označila číslem lokality a nechala uschnout v Petriho miskách při pokojové teplotě. Takto získaná semínka (a později z nich vyklíčené semenáčky) označuji dále jako lokální. Jako referenční jsem dále používala semínka (a semenáčky z nich vyklíčené) dodané firmou Planta Naturalis, Markvartice.

Na jaře 2008 jsem dala vyklíčit lokální i referenční semínka na sterilizovaný písek v Petriho miskách do místnosti s nastavenou teplotou a regulovanou délkou osvětlení ($T = 19^{\circ}\text{C}$, světlá perioda 12 hodin). Dva až tři týdny po vyklíčení, na začátku dubna, jsem vyklíčené semenáčky jitrocele vysazovala na lokality. Do každého pohnojeného i kontrolního čtverce $1 \times 1 \text{ m}^2$ jsem zasadila pět semenáčků lokálních a pět semenáčků referenčních, vždy ve dvojici jeden lokální a jeden referenční semenáček společně (ve vzájemné vzdálenosti do 10 cm, s barevným brčkem, usnadňujícím pozdější nalezení, uprostřed). Oba typy semenáčků byly odlišeny barvou gumových kroužků, do jejichž středu byly vysazeny. Před výsadbou do ploch jsem u náhodně vybraných tří semenáčků změřila délku děložních lístků a délku hlavního kořene.

2.5 Odběr semenáčků

Po šesti až sedmi týdnech jsem z každé plochy $1 \times 1 \text{ m}^2$ odebrala jeden lokální semenáček, jeden referenční semenáček a jeden dospělý jitrocel. Snažila jsem se, aby odebírané rostliny rostly co nejvíce ve vzájemné blízkosti. Kolem odebíraných rostlin jsem si poznamenala okolní vegetaci (v okruhu do 10 cm).

2.6 Zpracování odebraných rostlin z louky

Kořenové soustavy odebraných rostlin byly opatrně pod vodou očištěny od zeminy. U každého semenáčku jsem si zaznamenala počet listů a délku kořene. U dospělého jitrocele

jsem si zaznamenala počet listů. K obarvení arbuskulární mykorhizy jsem používala barvivo Chlorazol Black E.

2.7 Postup barvení (Vierheilig et al., 2005, s modifikacemi).

Kořenové systémy semenáčků jsem nechávala vcelku. U dospělých jitrocelů, které měly kořeny o dost delší a rozvětvenější, jsem nastříhala reprezentativní vzorky kořenových segmentů dlouhých asi 1,5 cm z různých částí kořenového systému. Kořínky určené k barvení jsem při laboratorní teplotě nechala 16 hodin v 10% roztoku KOH. Poté byly kořeny důkladně promyty pod tekoucí vodou na sítku. Na malých Petriho miskách se ponechaly kořeny asi 2 minuty v 1% HCl a byly přeneseny do zkumavek s roztokem barviva Chlorazol Black E (ve směsi 35 ml kyseliny mléčné s 2,5 ml glycerolu a 2,5 ml destilované vody se rozmíchala špetka barviva) a hodinu se udržovaly ve vodní lázni při teplotě 90°C. Potom se kořeny přemístily do malých lahviček s odbarvovacím roztokem (35 ml kyseliny mléčné s 2,5 ml glycerolu a 2,5 ml destilované vody) na pročištění a uložily se do ledničky nejméně na dva dny. Obarvené kořeny byly použity na zhotovení polotrvalých roztlakových preparátů. Obvod krycího sklíčka byl dvakrát přetřen bezbarvým lakem na nehty.

2.8 Odběr půdy na chemické analýzy a na vlhkost půdy

V srpnu 2007 a v květnu 2008 jsem v bezprostřední blízkosti každého čtverce 2×2 m² odebrala sondou o průměru 4,5 cm sloupky půdy cca 10 cm dlouhé. V jednotlivém odběru jsem u každého čtverce odebrala dva sloupky na vlhkost (každý sloupek půdy uložen odděleně) a čtyři na chemii půdy (uloženy všechny čtyři sloupky půdy dohromady v sáčku). Na chemické analýzy byl použit jen odběr ze srpna 2007.

2.9 Zjištění půdní vlhkosti

Půda byla uchována mezi odběrem a zpracováním v mikrotenových sáčcích v chladnu a hned v den odebrání se každý sloupek přirozeně vlhké půdy zvažil a dal do označeného papírového sáčku. Vzorky se sušily 24 hodin při 80°C. Potom se suché vzorky zvažily a

vypočítala se hmotnostní vlhkost každého vzorku podle vzorce $V_{hm} = (M_w/M_s) \times 100 \%$, kde M_w je hmotnost vody ve vzorku (rozdíl hmotnosti vlhkého a sušeného vzorku) a M_s je hmotnost vysušeného vzorku. Dané hodnoty hmotnostních vlhkostí pro každou lokalitu ze všech odběrů jsem zprůměrovala.

2.10 Zpracování půdy na chemickou analýzu

Všechny čtyři sloupky půdy z jedné plochy se smíchaly dohromady. Homogenizovaná půda se v papírovém sáčku nechala uschnout při pokojové teplotě. Potom jsem ji přesila přes síto s velikostí ok 5 mm.

2.10.1 Stanovení celkového dusíku a uhlíku na C/N poměr

V achátové třecí misce jsem rozetřela suchou půdu o hmotnosti 2 g a prosila přes jemné síto o velikosti ok 100 μm . Na katedře biologie ekosystémů byl stanoven celkový dusík a celkový uhlík na CN analyzátoru (NC 2100 Soil Analyzer).

2.10.2 Stanovení koncentrace fosforu v půdě

V Botanickém ústavu AVČR v Průhonicích stanovili koncentraci výměnných fosforečnanů v půdě fotometrickou metodou podle Olsena (Olsen, 1982).

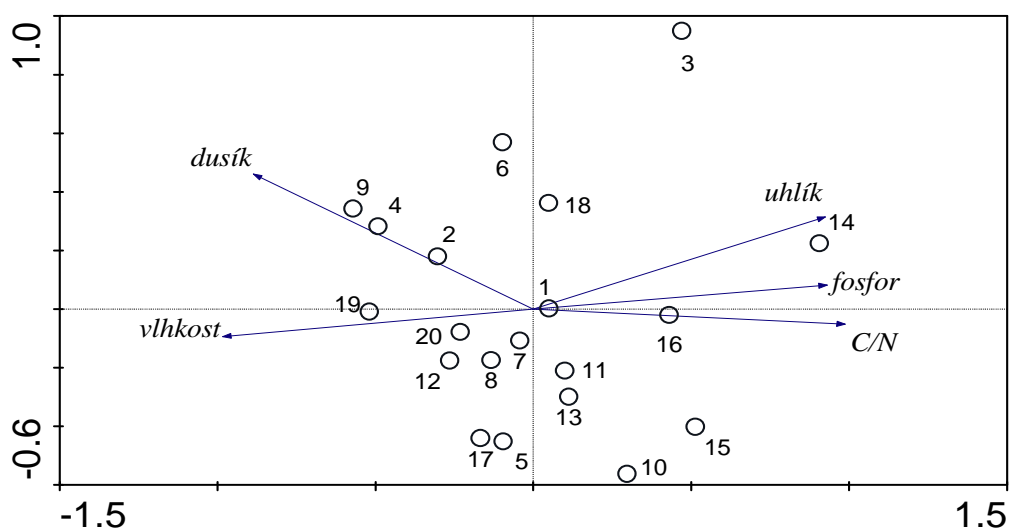
2.11 Odhad polohy lokalit na gradientu živin a vlhkosti pomocí Ellenbergových indikačních čísel

Na podzim 2007 při zakládání pokusu jsem neměla žádné chemické analýzy ani změřené hodnoty půdní vlhkosti na jednotlivých lokalitách. První orientační zjištění polohy vybraných lokalit na gradientech živin a vlhkosti jsem provedla pomocí Ellenbergových indikačních čísel (Ellenberg, 1988). Pokryvnosti jednotlivých druhů na lokalitě jsem násobila Ellenbergovým číslem vlhkosti F nebo živin N pro daný druh, poté z těchto čísel byl vypočítán průměr indikačního čísla vlhkosti F' nebo průměr indikačního čísla živin N'

pro každou lokalitu. Takto odhadnutou polohu jednotlivých lokalit na gradientech vlhkosti a živin podle Ellenbergových čísel ukazuje graf v příloze 2.

2.12 Charakteristika lokalit

Naměřené hodnoty půdních charakteristik na lokalitách jsou shrnuty v příloze 3. Ordinační diagram PCA ukazuje polohu lokalit na gradientech živin a vlhkosti podle naměřených hodnot (obr1). První dvě osy představují 95% z celkové variability dat.



Obrázek 1 Ordinační diagram PCA. Poloha jednotlivých lokalit v ordinačním prostoru definovaném naměřenými půdními charakteristikami. C/N – poměr uhlíku a dusíku.

2.13 Mykorhizní morfotypy

Morfotypy jsem určovala pomocí morfologických odlišností jednotlivých struktur AMF v kořeni podle článků Mearryweather a Fitter (1998a), Šmilauer (2001) a podle informací na internetové adrese <http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/genuskey.htm>.

AMF jsem určovala do čtyř základních morfotypů: *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora* a fine endophyte (viz příloha 4).

Typ *Glomus* (viz příloha 4 C,D) má vezikuly oválné nebo kulaté, pravidelné, většinou s tenkou hladkou stěnou. Arbuskuly jsou viditelně dichotomicky větvené. Vnitrokořenové hyfy tvoří zákruty většinou jen u místa proniknutí houby do kořene.

Typ *Acaulospora* (příloha 4 A,B). má vezikuly nepravidelné, většinou přítomné u místa proniknutí hyfy do kořene, k hyfě jsou většinou připojeny laterálně. Arbuskuly často vyplňují celou buňku a mají tzv. cihlový vzhled. Vnitrokořenová hyfa na začátku kolonizace vytváří zákruty. Typ *Acaulospora* je častěji slabě obarvený než ostatní morfotypy.

Typ *Scutellospora* (příloha 4 F) nemá vezikuly. Arbuskuly mají tlustý kmen a první větvení s několika jemnými výběžky. Vnitrokořenová hyfa je v průměru tlustší než u ostatních morfotypů ($> 5 \mu\text{m}$), má na sobě často hrbolky a různé výstupky. Hyfa je na začátku kolonizace výrazně kroucená.

Typ fine endophyte (příloha 4 E) nemá vezikuly. Hyfa je velmi tenká ($< 1,5 \mu\text{m}$). Často se u tohoto typu vytvářejí typické zakulacené („knoflíkovité“) útvary.

2.14 Vyhodnocování intenzity mykorhizní infekce

Přítomnost mykorhizních struktur a jejich morfologii jsem zjišťovala mikroskopováním při zvětšení $200\times$ nebo $400\times$. Poté jsem při $40\times$ zvětšení v každém zorném poli odhadla podíl p délky kořene s houbovými útvary (hyfy, arbuskuly, vesikuly) pro celkovou infekci AMF a pro jednotlivé morfotypy. Pro celý kořen o délce x zorných polí to bylo: $P = (\sum p) / x$, a pro všechny kořeny odebrané z jedné rostliny a rozložené na jednom podložním skle $P_{\text{rost}} = (\sum P_j \times x_j) / \sum x_j$.

Hodnota P_{rost} představuje všechny druhy měřených charakteristik: celkovou mykorhizní infekci, intenzitu arbuskulární infekce (s houbovými koloniemi obsahující arbuskulami), vesikulární infekci (s vesikulami), celkovou, arbuskulární a vesikulární infekci jednotlivých morfotypů. Pro další výpočty se celková mykorhizní infekce P_{cel} stala dělitelem pro ostatní charakteristiky:

$$P_{\text{rel}} = P / P_{\text{cel}}$$

Proto dále v textu označení celková mykorhizní infekce představuje podíl celkové délky kořene kolonizovaný AMF. Označení relativní podíl arbuskul (vezikul, morfotypů,

arbuskul a vezikul od morfotypů) představuje relativní zastoupení arbuskul (vezikul, morfotypů, arbuskul a vezikul od morfotypů) na celkové intenzitě AM infekce.

Při přiřazování houbových útvarů k morfotypům jsem si zaznamenávala v každém zorném poli pro jednotlivé morfotypy jistotu správného určení od jedničky do pěti, kde jednička znamená 100% jistotu určení a pětka nejmenší jistotu. Z těchto hodnot jsem udělala pro každý vzorek průměr a použila ho při statistickém zpracování jako váhu vzorku. V případech, ve kterých nebyli vidět žádné znaky určující morfotyp, jsem mykorhizní infekci morfotypu označila jako neurčenou.

2.15 Statistické zpracování dat

Data o intenzitě celkové mykorhizní infekce a relativní podíly měřených mykorhizních charakteristik (nabývajících hodnot od 0 do 1) jsem pro přiblížení Gausově distribuci transformovala arcsinovou transformací $P_{cel}' = \arcsin\sqrt{(P_{cel})}$ nebo $P_{rel}' = \arcsin\sqrt{(P_{rel})}$ (Lepš, 1996).

Pro hodnoty některých půdních charakteristik (fosfor, dusík, C/N poměr) jsem použila logaritmickou transformaci.

Výsledky byly zpracovávány v programu Statistika 8 a Canoco for Windows 4.5. Všechny uvedené výpočty byly provedeny zvlášť pro semenáčky a zvlášť pro dospělé jitrocele, kromě testu rozdílu v hodnotách jednotlivých charakteristik mykorhizní infekce mezi semenáčky a dospělými rostlinami.

2.15.1 Zpracování výsledků v programu Statistika 8

V programu Statistika 8 jsem použila metodu mnohonásobné regrese (General linear models a Multiple regression). U modelů zabývajících se mykorhizními morfotypy byl každý vzorek vážen tzv. kvalitou vzorku, která vyjadřuje jistotu správného určení morfotypu při mikroskopování.

Vyhodnocovala jsem vliv faktorů (lokalita, typ semenáčku: lokální vs. referenční, zásah hnojení: hnojeno nebo nehnojeno) a interakce faktorů (typ semenáčku x zásahhnojení) na jednotlivé charakteristiky mykorhizní infekce (celková infekce, podíl s arbuskulami, podíl s vezikulami) a na podíl hyf jednotlivých morfotypů (*Glomus*, *Acaulospora*,

Scutellospora, fine endophyte). Lokalitu jsem zadala jako faktor s náhodným efektem, typ semenáčku je hierarchicky vnořen ve faktoru lokalita.

Potom jsem vypočítala průměry hodnot mykorhizní infekce pro semenáčky a zvláště pro dospělé rostliny na jednotlivých lokalitách. S těmito daty jsem vyhodnocovala vliv půdních faktorů (fosfor, celkový dusík, poměr C/N a stanovenou půdní vlhkost) na jednotlivé charakteristiky mykorhizní infekce (celková, arbuskulární a vezikulární infekce) a podíl hyf jednotlivých morfotypů.

S daty o mykorhizní infekci zprůměrovanými z hnojených a nehnojených plošek na každé lokalitě jsem vyhodnocovala vliv interakce půdních parametrů se zásahem hnojení.

2.15.2 Mnohorozměrné analýzy v programu Canoco

Dospělá rostlina vs. semenáček

Pomocí metody RDA (redundační analýza) jsem nejprve testovala rozdíly v zastoupení mykorhizních charakteristik (celková infekce, relativní podíl arbuskul, relativní podíl vezikul) a v druhém testu míru zastoupení relativního podílu morfotypů (*Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, fine endophyte) a jejich arbuskul a vezikul u semenáčků a dospělých jitrocelů. Vysvětlující proměnnou je charakter rostliny (semenáček nebo dospělec) zapsané jako dummy variables, jako kovariáty byly použity faktory hnojení a lokalita. V analýzách byla použita neomezená permutace s permutačními bloky určenými lokalitami.

AMF a společenstvo rostlin

V analýzách, ve kterých jsem studovala korelaci mezi složením společenstva kolem odebíraných jitrocelů a intenzitou mykorhizní infekce, byly jednotlivé charakteristiky mykorhizní infekce použity jako vysvětlující proměnné a složení okolního společenstva jako vysvětlované proměnné, ačkoliv směr příčiny a následku by byl opačný (tj. složení rostlinného společenstva může ovlivňovat intenzitu mykorhizní infekce). Tuto záměnu je třeba brát v úvahu při hodnocení výsledků.

Pro tyto analýzy jsem použila údaje o rostlinách kolem semenáčku nebo kolem dospělého jitrocele jako vysvětlované proměnné a charakteristiky mykorhizní infekce jako vysvětlující. Vzhledem k povaze dat a k délce gradientu v analýze DCA s těmito daty, jsem pro tyto analýzy použila unimodální metodu CCA (kanonická korespondenční analýza).

Testovala jsem najednou vliv všech faktorů (celkové infekce, relativní podíl arbuskulární infekce a relativní podíl vezikulární infekce) na rostlinné společenstvo. Pokud byla dosažena hladina významnosti menší nebo rovna 0,1, tak jsem otestovala každý z těchto faktorů zvlášť. Do ordinačních diagramů jsem vložila jen ty faktory, u kterých v samostatných testech jejich vlivu na složení rostlinného společenstva byla hladina signifikance menší než 0,06. Stejný postup jsem zvolila i u testování podílu celkové infekce morfotypů a relativního zastoupení arbuskulární infekce u morfotypů.

S daty určenými pro každý odebraný jitrocel zvlášť (záznam nejbližší vegetace kolem semenáčku a intenzita mykorhizní infekce v jeho kořenech) jsem testovala vliv mykorhizní infekce na celkovou variabilitu ve složení rostlinného společenstva v okolí semenáčku. V této analýze byly použity jako kovariáty zásah hnojení a lokalita. Permutace byla úplně náhodná.

Další analýza se zaměřuje na rozdíly ve složení rostlinného společenstva v okolí semenáček mezi lokalitami. U některých lokalit chybí mykorhizní data pro odebrané rostliny a počet záznamů pro každou lokalitu není stejný. Aby se mohly lokality zadat jako jednotlivé bloky (split plot design), musela jsem v další analýze CCA použít průměry hodnot z dat složení vegetace kolem semenáčku pro hnojené a nehnojené plochy na lokalitě. V tomto testu byl faktor zásahu hnojení kovariáta.

Složení společenstva morfotypů

Pro analýzy vysvětlující složení společenstva morfotypů jsou vysvětlované proměnné buď celkové infekce morfotypů, nebo arbuskulární infekce morfotypů. Použila jsem v těchto analýzách metody CA (korespondenční analýza) nebo CCA, protože je v datech velká heterogenita.

Pro shrnutí variability společenstva morfotypů a vnesení jednotlivých faktorů (zásah hnojení, typ semenáčku, půdní charakteristiky) jsem provedla metodu CA.

Pomocí metody CCA jsem testovala vliv půdních faktorů (C/N poměr, celkový dusík, fosfor a vlhkost půdy) na složení společenstva morfotypů. V tomto testu jsem pracovala s průměry hodnot mykorhizní infekce u odebraných rostlin na jednotlivých lokalitách. Pro analyzování vlivu faktorů na složení společenstva morfotypů byl proveden postupný výběr (forward selection) vysvětlujících proměnných.

Analýzou CCA jsem provedla test rozdílu mezi semenáčky lokálními a referenčními. V testu se porovnávaly páry semenáčků rostoucí na stejném čtverci (hnojeném či nehnojeném). Faktory zásahu hnojení a lokalita byly kovariátami.

3 Výsledky

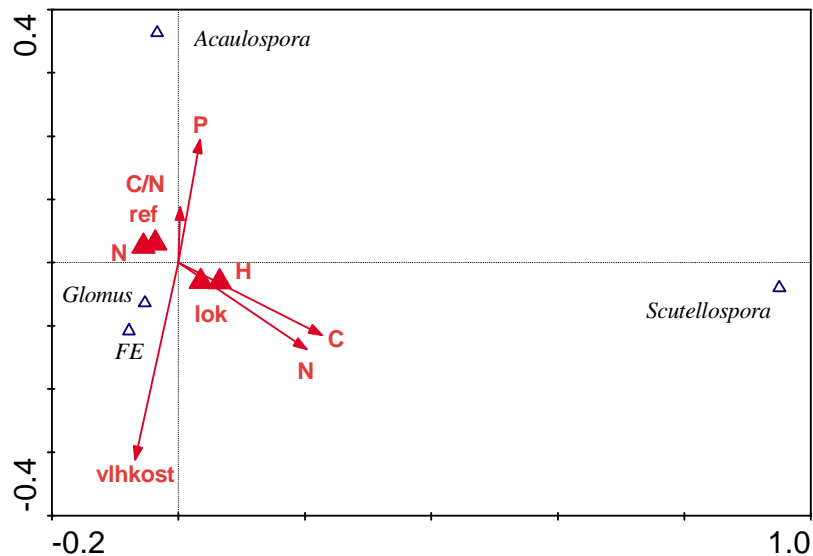
3.1 Vliv stanovištních půdních charakteristik na celkovou AM infekci

Půdní vlastnosti, jako je koncentrace celkového fosforu a celkového dusíku v půdě, hmotnostní vlhkost půdy a celkový poměr C/N, neměly průkazný vliv na intenzitu mykorhizní infekce (vyjádřenou jako celková intenzita AM infekce, relativní podíl arbuskul nebo vezikul) u zkoumaných rostlin, kromě vlivu poměru C/N na relativní podíl arbuskul u dospělých jitrocelů ($F_{1,17} = 12,85$, $p = 0,002$). S rostoucím poměrem C/N se u nich snižuje relativní zastoupení arbuskulů.

3.2 Vliv stanovištních půdních charakteristik na zastoupení mykorhizních morfotypů

1) u semenáčků jitrocele

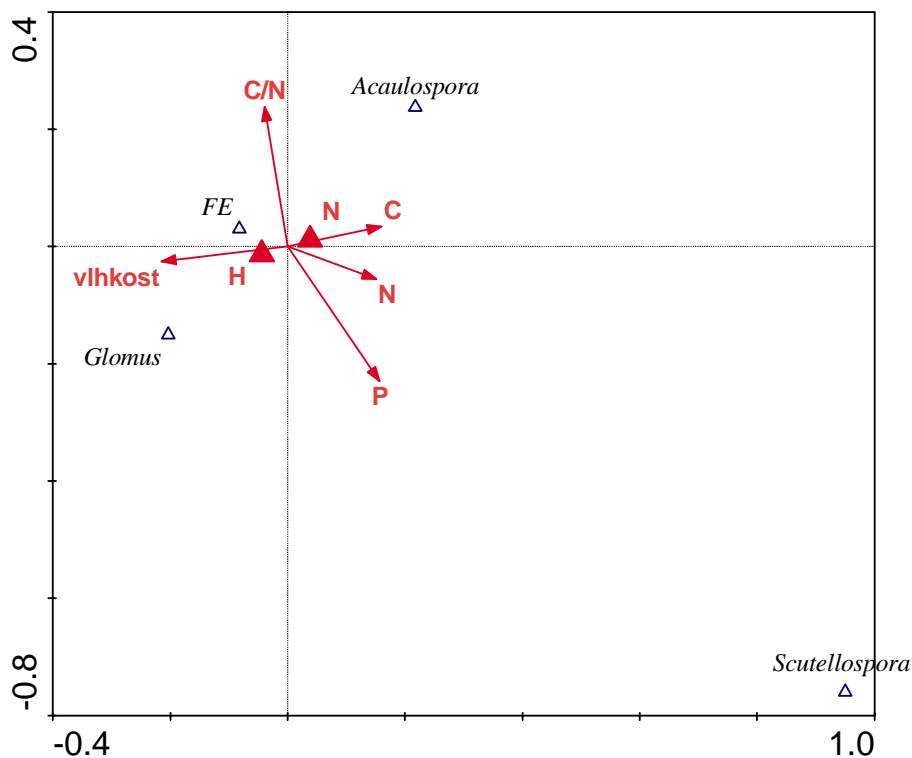
I když v testu mnohonásobné regrese v programu Statistika nebyl vliv žádné z půdních charakteristik na zastoupení jednotlivých morfotypů průkazný, ordinační diagram CA ukazuje, že morfotyp *fine endophyte* má větší zastoupení na lokalitách s vyšší vlhkostí půdy a nižší koncentrací fosforu v půdě, zatímco typ *Acaulospora* je hojnější na sušších, na fosfor bohatších lokalitách a typ *Scutellospora* je nejhojnější na lokalitách s vyšší koncentrací dusíku a uhlíku (obr. 2).



Obrázek 2 Ordinační diagram CA shrnující zastoupení morfotypů u semenáčků jitrocele. První dvě osy vysvětlují 85% z celkové variability dat. Vysvětlující proměnné jsou do něj jen pasivně promítnuty. P - fosfor, C - celkový uhlík, N - celkový dusík, C/N - poměr uhlíku a dusíku. Trojúhelníky v diagramu představují: H - hnojené plochy, N - kontrolní plochy, lok - lokální původ semenáčku, ref - referenční semenáček. FE – fine endophyte

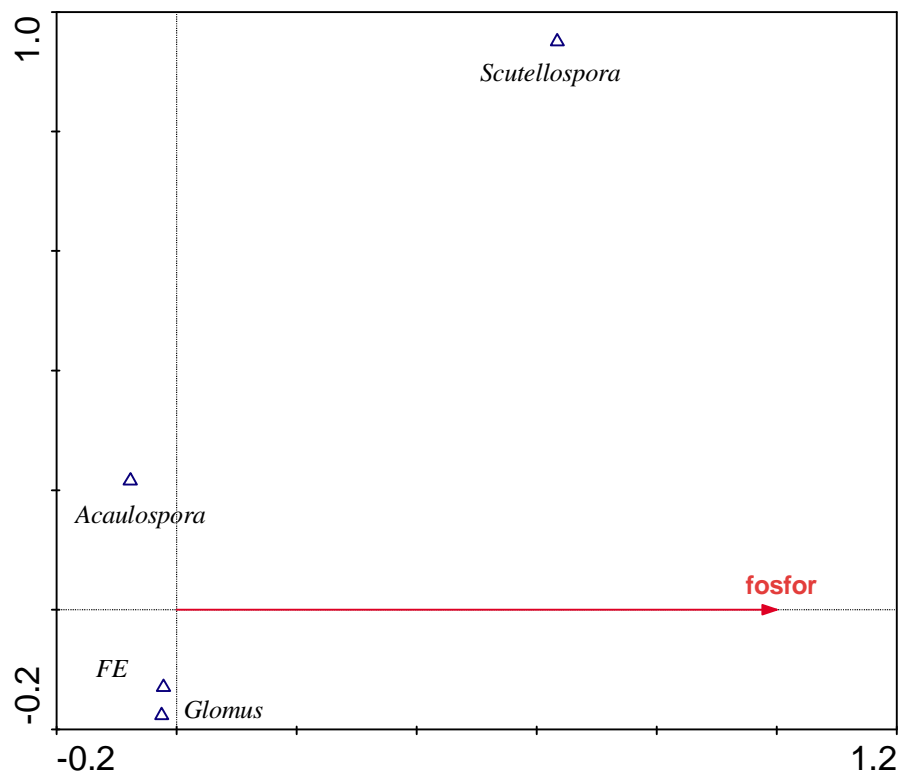
2) u dospělých jitrocelů

U dospělých jitrocelů byl vztah morfotypů k půdní vlhkosti, naznačený u semenáčků jen jako trend, průkazný ($F_{1,17} = 5,21$, $p = 0,04$ u morfotypu *Acaulospora* a $F_{1,17} = 5,35$, $p = 0,03$ u morfotypu fine endophyte). To ukazuje i ordinační diagram nepřímé gradientové analýzy CA (obr. 3).



Obrázek 3 Ordinační diagram CA shrnující zastoupení morfotypů u dospělých jitrocelů. První dvě ordinační osy vysvětlují 75,2% variability dat. Vysvětlující proměnné jsou do něj jen pasivně promítnuty. P – fosfor, C – celkový uhlík, N - celkový dusík, C/N - poměr uhlíku a dusíku. Trojúhelníky v diagramu představují: H - hnojené plochy, N - kontrolní plochy. FE – fine endophyte

Z půdních charakteristik měla koncentrace fosforu téměř průkazný vliv jak na složení společenstva morfotypů (pseudo-F=2,71, p=0,08, vysvětleno 13,1% variability), tak na relativní zastoupení jejich arbuskulů (pseudo-F=3,35, p=0,058, vysvětleno 15,7% variability). Morfotyp *Scutellospora* se častěji vyskytuje na lokalitách s vyšší koncentrací fosforu (obr. 4).



Obrázek 4 Ordinační diagram CCA. Vliv fosforu na složení společenstva morfotypů u dospělých jitrocelů. FE – fine endophyte

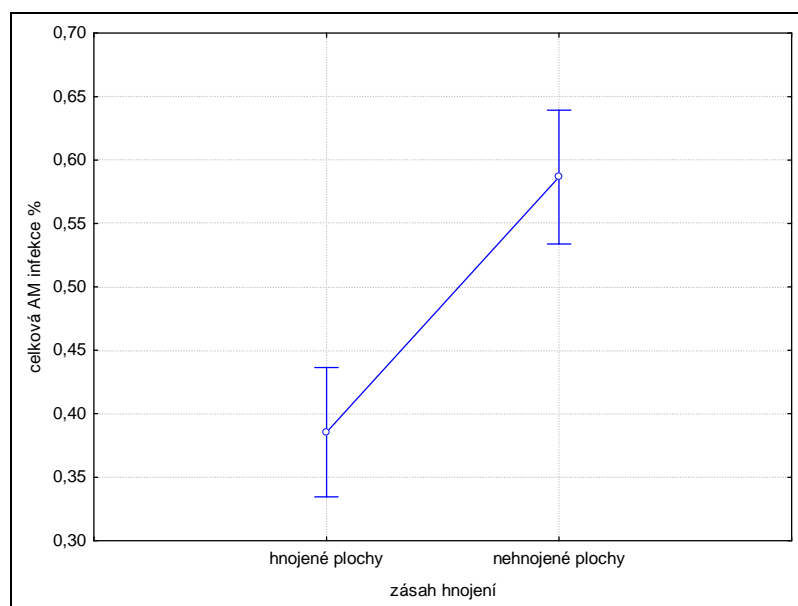
3.3 Vliv hnojení na intenzitu AM infekce

1) u semenáčků

Intenzita AM infekce se lišila průkazně mezi semenáčky z nehnojených a hnojených ploch (tabulka 1). V hnojených plochách byly nižší celková mykorhizní infekce (obr. 5), relativní podíl arbuskulární i vezikulární infekce a relativní zastoupení morfotypů *Acaulospora* a fine endophyte.

Tabulka 1 Vliv hnojení na intenzitu AM infekce a na relativní podíl morfotypů u semenáčků. morf = morfotyp, rel. zast. = relativní zastoupení

	F	DF	p
celková AM infekce	23,65	1, 40	0,0001
relativní podíl arbuskulů	14,84	1, 41	0,0004
relativní podíl vezikul	7,30	1, 41	0,009
morf. <i>Glomus</i> - rel. zast.	1,30	1, 41	n.s.
morf. <i>Scutellospora</i> - rel. zast.	3,30	1, 41	n.s.
morf. <i>Acaulospora</i> - rel. zast.	5,66	1, 43	0,02
morf. fine endophyte- rel. zast.	12,27	1, 41	0,001



Obrázek 5 Procentuální zastoupení celkové AM infekce u semenáčků na hnojených a nehnojených plochách. Chybové úsečky ukazují 95% konfidenční interval.

Interakce přihnojení se stanovištní koncentrací fosforu je průkazná v případě relativního podílu arbuskulární infekce ($F_{1, 36} = 9,52, p = 0,004$). Na lokalitách bohatších na půdní fosfor vedlo přihnojení k výraznějšímu potlačení relativního zastoupení arbuskulů v celkové infekci AMF.

2) u dospělých jitrocelů

Na rozdíl od semenáčků se u dospělých rostlin žádná ze sledovaných charakteristik AM infekce průkazně nelišila mezi hnojenými a nehnojenými plochami.

3.4 Vliv původu semenáčku na AM infekci

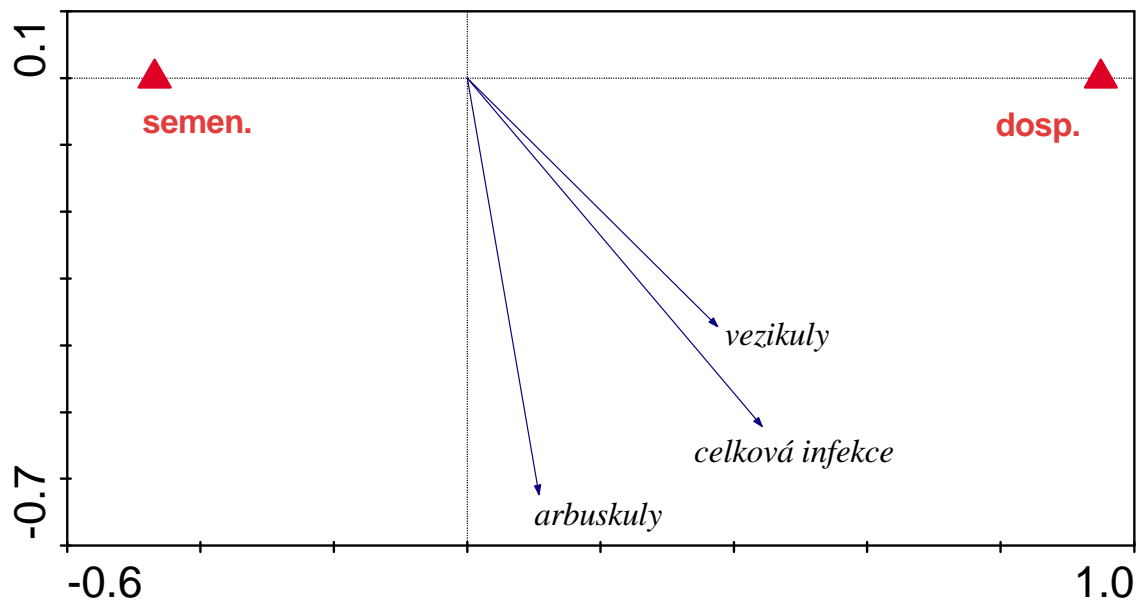
Zajímalo mě, zda se liší intenzita mykorhizní infekce u semenáčků lokálních a semenáčků z referenčních semínek. Rozdíl v intenzitě mykorhizní infekce ani rozdílná reakce na hnojení mezi typy semenáčků lišícími se původem se neprojevíly.

Rozdíl v zastoupení morfotypů mezi referenční a lokálními populacemi semenáčků testovaný metodou CCA je také neprůkazný (pseudo-F = 0,74, n.s.).

3.5 Srovnání AM symbiomy mezi semenáčky a dospělými jitroceli

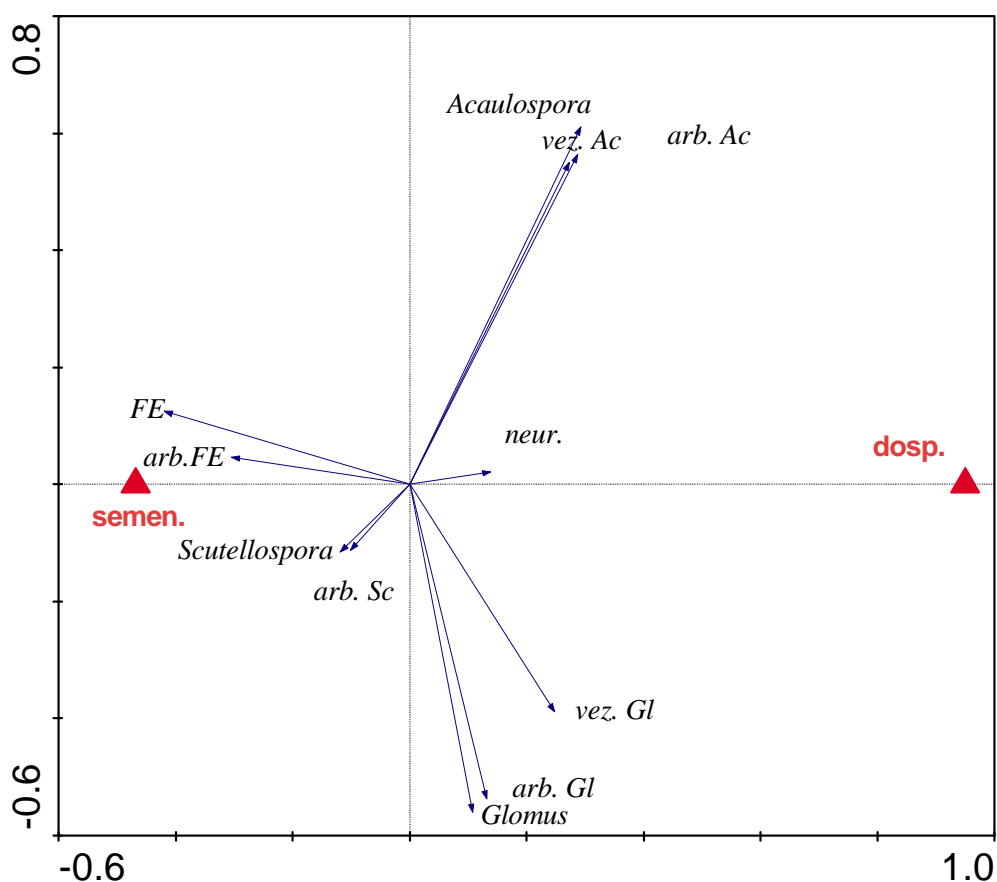
U dospělých rostlin mykorhizní symbióza kolonizovala 50-98 % zkoumaného úseku kořene, u semenáčků se procento kolonizovaného kořene pohybovalo v rozmezí 0,17 až 0,82% (viz příloha 6).

Z analýzy RDA, ve které je odstraněn vliv hnojení a lokality, vyplývá, že všechny mykorhizní struktury byly více zastoupeny v kořenech dospělých rostlin. Tento trend je výraznější pro vezikuly než pro arbuskuly (obr. 6). První kanonická osa vysvětluje 20,5% variability dat.



Obrázek 6 Ordinační diagram RDA. Porovnání celkové intenzity AM infekce a relativního podílu arbuskulů a vezikul mezi semenáčky a dospělými jitroceli. Vysvětlivky u trojúhelníků: semen. = semenáčky, dosp. = dospělé rostliny.

Složení společenstva morfotypů ukazuje ordinační diagram RDA (obr. 7). První kanonická osa vysvětluje 10,2 % variability dat. Morfotypy fine endophyte a *Scutellospora* mají větší frekvenci výskytu v kořenech semenáčků než dospělých rostlin, naopak morfotypy *Acaulospora* a *Glomus* se více vyskytují u dospělých rostlin.



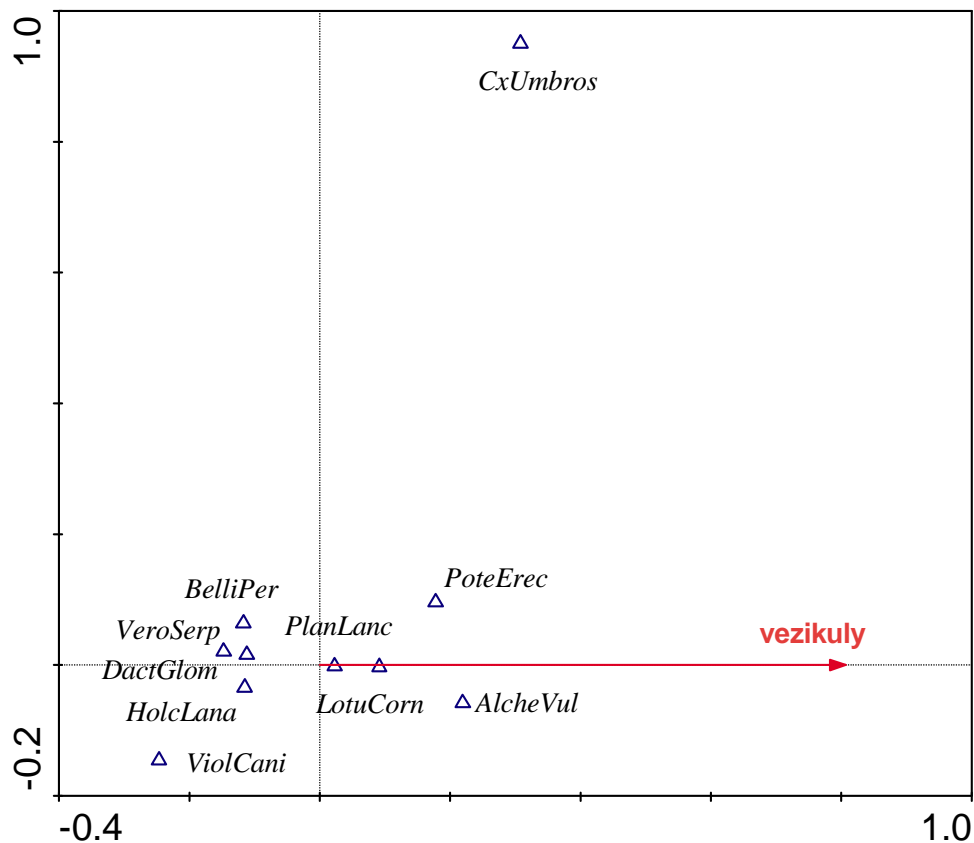
Obrázek 7 Ordinační diagram RDA. Zastoupení jednotlivých mykorhizních morfotypů v kořeni semenáčků a dospělých rostlin. Vysvětlivky u trojúhelníků: semen. = semenáčky, dosp. = dospělé rostliny. arb. – podíl arbuskul daného morfotypu z celkové infekce, vez – podíl vezikul daného morfotypu z celkové infekce, FE – morfotyp fine endofyty, Sc – morfotyp *Scutellospora*, Gl – morfotyp *Glomus*, Ac – morfotyp *Acaulospora*, neur. – podíl AM infekce nepřirazené k některému morfotypu

3.6 Vliv rostlinného společenstva na AM infekci odebíraných rostlin

V testech mnohorozměrných analýz jsem se zabývala otázkou, zda složení rostlinného společenstva v bezprostředním okolí odebíraných rostlin se dá korelovat s nějakou proměnnou popisující struktury mykorhizní infekce či podíl zastoupení AM morfotypů v jejich kořenech.

V analýze CCA, ve které vysvětlovanou proměnnou bylo okolí semenáčků a jako kovariáty byly použity faktory hnojení a lokalita, bylo složení rostlinného společenstva

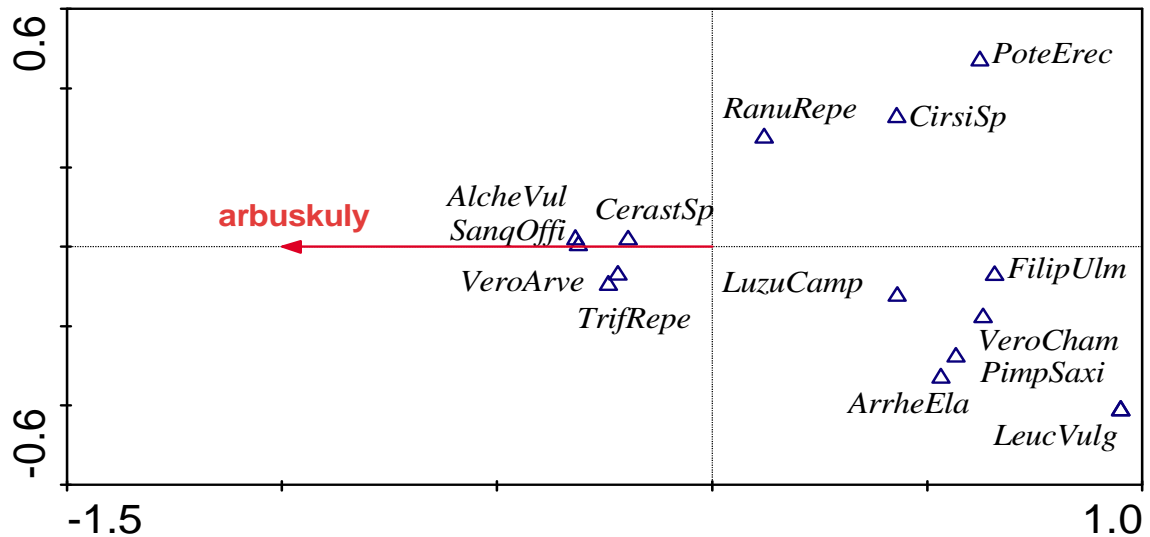
průkazně korelováno (pseudo-F = 1,54, p = 0,002) s relativním zastoupením vezikul v kořenech odebíraných semenáčků (obr. 8). Vezikuly byly více zastoupeny v kořenech semenáčků rostoucích v blízkosti druhů *Potentilla erecta*, *Alchemilla vulgaris*, *Carex umbrosa*.



Obrázek 8 Ordinační diagram CCA. Vztah složení rostlinného společenstva kolem jednotlivých semenáčků a relativního podílu vezikul v kořenech semenáčků. Zkratky druhů jsou uvedeny v příloze 5.

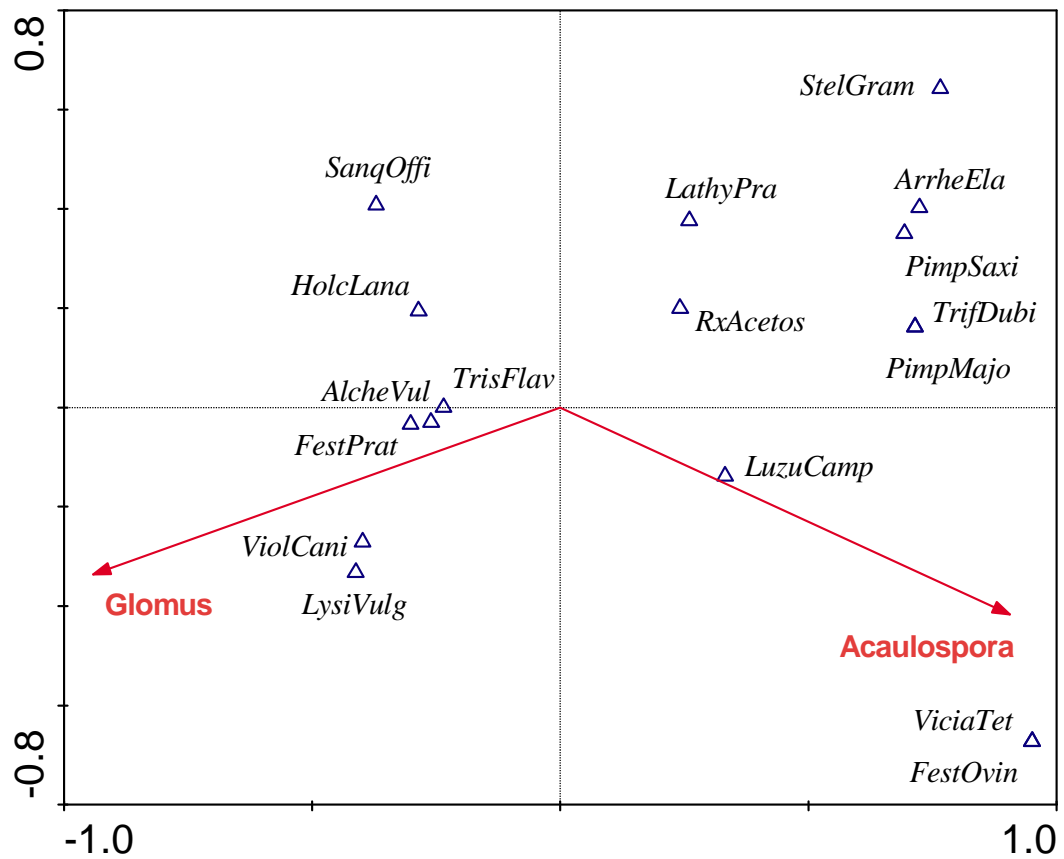
V další analýzách CCA jsem testovala korelaci mykorhizní infekce u odebraných rostlin (zvlášť pro semenáčky a zvlášť pro dospělé rostliny) a složení okolního rostlinného společenstva mezi lokalitami. Složení společenstva nejvíce korelovalo s relativním podílem arbuskul u dospělých jitrocelů (pseudo-F = 1,78, p = 0,01) a se zastoupením morfotypů *Glomus* (pseudo-F = 1,52, p = 0,05) a *Acaulospora* (pseudo-F = 1,51, p = 0,05) v jejich kořenech. Z ordinačního diagramu (obr. 9) vidíme, že výskyt arbuskulů byl větší v kořenech dospělých jitrocelů rostoucích v blízkosti druhů *Alchemilla vulgaris*, *Sanquisorba officinalis*, *Veronica arvensis*, zatímco např. v blízkosti druhů *Leucanthemum vulgare*,

Veronica chamaedrys, *Filipendula ulmaria* a *Potentilla erecta* bylo zastoupení arbuskul menší.



Obrázek 9 Ordinační diagram CCA. Vztah složení rostlinného společenstva v okolí dospělých rostlin a relativního zastoupení arbuskulů v jejich kořenech. Zkratky druhů jsou uvedeny v příloze 5. .

Morfotyp *Glomus* byl více zastoupen u dospělých jitrocelů rostoucích v blízkosti *Lysimachia vulgaris*, *Viola canina*, *Festuca pratensis*, morfotyp *Acaulospora* zase v blízkosti druhů *Festuca ovina* a *Vicia tetrasperma* (obr. 10).



Obrázek 10 Ordinační diagram CCA. Vztah složení rostlinného společenstva kolem dospělých rostlin a relativního zastoupení monotypů *Glomus* a *Acaulospora* v jejich kořenech. Zkratky druhů jsou uvedeny v příloze 5.

4 Diskuze

4.1 Vliv stanovištních půdních charakteristik

Předpokládala jsem, že intenzita AM infekce u odebraných jitrocelů bude klesat s přibývajícím hladinou fosforu nebo dusíku, podobně jako AM infekce negativně korelovala s celkovým fosforem v půdě na opuštěných polích ve státě Minnesota (Johnson, 1991), nebo jako na loukách ve Švédsku koncentrace minerálního dusíku v půdě negativně korelovala s frekvencí objevených sekvencí AMF na kořenový vzorek u druhů *Achillea millefolium* a *Festuca pratensis* (Santos, 2006). Jednotlivé druhy rostlin s podobnými ekologickými vlastnostmi mohou na variabilitu v koncentraci půdního fosforu reagovat odlišně, například v Severní Americe intenzita AM infekce u trávy *Leersia hexandra* negativně korelovala s dostupným půdním fosforem, zato na stejných stanovištích intenzita AM infekce u trávy *Panicum hemitomon* na půdním fosforu nezávisela. U obou druhů se neprojevovala závislost AM infekce na koncentraci uhlíku a dusíku v půdě (Miller, 2000). V mé práci měřené půdní charakteristiky neměly vliv na intenzitu AM infekce jak u semenáčků, tak u dospělých rostlin, kromě vlivu C/N poměru na relativní podíl arbuskul u dospělých jitrocelů. Tento podíl se snižoval se zvyšujícím se C/N poměrem. Druh *Plantago lanceolata* vždy vytváří symbiózu s AMF s vysokou mírou infekce, a rozdíly v půdních charakteristikách nejspíše nebyly mezi lokalitami dostatečně velké, aby se u tohoto druhu projevíly. Také intenzita mykorhizní infekce trávy *Ammophila arenaria*, zkoumaná na šesti lokalitách kolem pobřeží západní Evropy nezávisela na živinové bohatosti lokalit (Rodríguez-Echeverría et al., 2008).

S přibývajícím půdní vlhkostí může klesat mykorhizní infekce hlavně na lokalitách, které jsou periodicky zaplavovány vodou a alespoň část roku je hladina vody nad úroveň půdního povrchu (Miller, 2000, Escudero a Mendoza, 2005). Sucho ve většině případů kolonizaci AM symbiózy zvyšuje a AM symbióza může zvyšovat toleranci rostliny k suchu (Augé, 2001). V mé práci se rozdíly v půdní vlhkosti na celkové infekci, podílu arbuskul ani podílu vezikul přímo neprojevíly, ale myslím si, že snižování podílu arbuskul u dospělých jitrocelů se zvyšujícím se poměrem C/N může souviset s vlhkostí půdy a s dalšími mnou nesledovanými faktory. Poměr C/N většinou se zvyšující se vlhkostí stoupá (Rychnovská et al., 1993) a proto předpokládám, že negativní korelace podílu arbuskul a poměru C/N v půdě

naznačuje negativní korelaci podílu arbuskul a vlhkosti v interakci s dalšími faktory jako je např. mikrobiální činnost v půdě, poměry forem dusíku v půdě, pH půdy.

Zatímco u semenáčků se mykorhizní infekce teprve vyvíjela, u dospělých rostlin by měla být vytvořená mykorhizní symbióza již ustálená, jak pokud jde o celkovou AM infekci, tak i v druhovém složení AMF společenstva v kolonizovaném kořeni. Proto, i když ordinační diagramy CA (obr. 2 a 3) shrnující zastoupení morfotypů u semenáčků a u dospělých rostlin ukazují podobné trendy, průkazný byl jen vliv půdní vlhkosti na zastoupení morfotypů v kořenech dospělých rostlin. Kdybych u statistického zpracování metodou mnohonásobné regrese, ve které jsem zjišťovala vliv půdních vlastností i jejich interakce se zásahem hnojení na jednotlivé charakteristiky mykorhizní infekce a podíl morfotypů, použila Bonferroniho korekci, tak by vliv půdní vlhkosti na podíl morfotypu *fine endophyte* a morfotypu *Acaulospora* nevyšel průkazně. Někteří statistici by u těchto analýz Bonferroniho korekci použili.

Zastoupení morfotypu *Acaulospora* a morfotypu *fine endophyte* u dospělých rostlin se ukázalo závislé na vlhkosti půdy. Morfotyp *fine endophyte* byl hojnější na vlhčích lokalitách. Výsledky jiných pokusů ukazují, že morfotyp *fine endophyte* snižuje svoji infekci v kořeni v suchém prostředí či při náhlém vysušení půdy, zatímco jiné taxony svoji intenzitu infekce v kořeni následkem sucha nesnižují (Braunberger et al., 1994, Staddon et al., 2004). Na sušších lokalitách měl zase větší zastoupení morfotyp *Acaulospora*, i když podle Millera a Bevera (1999) se spóry druhů *Acaulospora* vyskytují hojně podél celého hydrologického gradientu. Množství spór daného druhu AMF v půdě a intenzita jeho infekce v kořenech přítomných rostlin si nemusejí vzájemně odpovídat (Renker et al., 2005), a ani celkové množství spór v půdě neodpovídá vždy celkové AM kolonizaci rostlin (např. Rodríguez-Echeverría, 2008).

Na lokalitách s vyšší půdní koncentrací fosforu se u dospělých jitrocelů častěji vyskytoval morfotyp *Scutellospora*. Také ve výzkumu Johnson et al. (1991) na opuštěných polích v prvních stádiích sukcese množství spór druhů z čeledi *Gigasporaceae*, do které patří rody *Scutellospora* a *Gigaspora*, pozitivně korelovalo s celkovým půdním fosforem, naopak v pozdních stádiích sukcese množství spór z čeledi *Gigasporaceae* zase negativně korelovalo s koncentrací celkového půdního fosforu. Půdní fosfor také ovlivňoval AMF společenstvo spór na vlhkých a semiaridních lokalitách (Egerton-Warburton et al., 2007). Větší koncentrace fosforu byla na vlhkých lokalitách než na semiaridních. Na vlhkých

lokalitách se vyskytovaly spóry devíti druhů čeledi *Acaulosporaceae* a osmi druhů z čeledi *Gigasporaceae*, zatímco na semiaridních lokalitách se spóry čeledi *Gigasporaceae* vůbec nenašly a z čeledi *Acaulosporaceae* se objevily jen dva druhy.

4.2 Vliv hnojení

Zásah hnojení byl krátkodobý (jenom na podzim a na jaře) a na mykorhizní symbiózu dlouhodobě rostoucích jitrocelů neměl vliv. Dospělé rostliny neredukovaly již existující mykorhizní symbiózu. Redukce nenastala ani u relativního podílu arbuskul, které slouží k výměně živin mezi rostlinou a mykorhizní houbou.

U semenáčků se však zásah hnojení projevil nižší intenzitou mykorhizní infekce. První pohnojení proběhlo na podzim, druhé pár týdnů před jarní výsadbou semenáčků. Vysazené semenáčky na hnojených plochách měly od počátku snadnější přístup k živinám a zdá se, že omezovaly právě vznikající mykorhizní infekci. Limitace relativního podílu arbuskul u semenáčků se silněji projevila po experimentálním zvýšení živin na lokalitách bohatších na půdní fosfor. Asi byl zde překročen určitý práh v dostupnosti živin, který vedl k regulaci relativního podílu arbuskul.

Také zastoupení morfotypů fine endophyte a *Acaulospora* reagovalo na zásah hnojení u semenáčků, zatímco intenzita infekce mykorhizními morfotypy *Glomus* a *Scutellospora* nebyla zásahem hnojení ovlivněna. V pokusu Egerton-Warburtona et al. (2007) se množství spór druhů *Glomus* zvýšilo v půdě bohaté na fosfor a i v jiných experimentech jsou některé druhy *Glomus* uváděny jako necitlivé vůči zvýšení živin, nebo se zvýšením živin se jejich množství zvětší (Toljander et al, 2008, Jumpponen, 2005). Opět je zde třeba podotknout, že množství spór v půdě nemusí odrážet zastoupení druhů v půdě nebo v kořenech.

4.3 Původ semenáčku

Vliv AMF na rostliny stejného druhu ale odlišného genotypu může být rozdílný např. v přínosu pro růst rostliny (Kliromonos, 2003) nebo ve vytvářené chemické obraně rostliny (De Deyn et al., 2009). Předpokládala jsem vyšší AM infekci a menší odezvu na faktor hnojení u lokálních semenáčků. Moje hypotéza, že lokální semenáčky by měly být místními druhy AMF rychleji kolonizovány, se ale nepotvrdila. Ani variabilita v odpovědi na vliv

hnojení se mezi typy semenáčků nelišila. Nelišící se AM infekce u srovnávaných dvou typů semenáčků mohla být zapříčiněna partnerskou univerzálností druhů AMF kolonizujících rostliny (Allen et al., 1995). Druhy AMF na lokalitách, odkud pocházela referenční semínka, mohly mít podobné vlastnosti jako druhy na zkoumaných lokalitách. Také hostitelský druh *Plantago lanceolata* je vysoce mykorhizní, takže má předpoklady vytvářet AM symbiózu s různými druhy AMF. Tyto univerzální vlastnosti mohou být příčinou nelišící se intenzity AM infekce i jednotlivých morfotypů.

4.4 Srovnání AM symbiózy mezi semenáčky a dospělými rostlinami

Všechny mykorhizní struktury byly více zastoupeny v kořenech dospělých rostlin. Tento trend byl výraznější pro vezikuly než pro arbuskuly. Arbuskuly se tvoří hned z počátku kolonizace, zatímco vezikuly většinou až v pozdější fázi mykorhizní infekce (Smith a Read, 1997). Nejspíše proto u semenáčků nebyly vezikuly dostatečně vyvinuty, a jejich podíl nebyl tak velký jako u dospělých rostlin.

Morfotypy *Scutellospora* a fine endophyte se v mém experimentu projevují jako nejčastější první mykorhizní kolonizátoři, tedy jako r-strategové, protože jejich podíly z celkové infekce byly větší v kořeni semenáčků než dospělých rostlin, zatímco morfotypy *Acaulospora* a *Glomus* mají větší zastoupení u dospělých rostlin (obr 7).

V pozorování mykorhizní infekce u dospělého jitrocele během vegetační sezóny měl morfotyp *Scutellospora* nízkou intenzitu infekce v kořenech na začátku jara, ale během jarních měsíců zastoupení morfotypu *Scutellospora* prudce stoupalo až do začátku léta (Šmilauer, 2001). Podobně se chovaly zkoumané mykorhizní morfotypy v kořenech *Hyacinthoides non-scripta* během vegetační sezóny (Merryweather a Fitter, 1998b). Na počátku vegetačního období se nejprve objevoval morfotyp *Scutellospora*, později dominovaly morfotypy *Glomus* a *Acaulospora*. Předpokládám, že počáteční jarní vzestup morfotypu *Scutellospora* se projevil ve větším relativním podílu morfotypu *Scutellospora* na celkové infekci u nově kolonizovaných semenáčků. Zato podíl morfotypu *Scutellospora* na celkové infekci u dospělých jitrocelů byl v porovnání s poměry morfotypů *Glomus* a *Acaulospora* menší, což by naznačovalo, že nemá takovou konkurenční schopnost v pozdějších stádiích kolonizace.

4.5 Vliv okolního společenstva rostlin

Předpokládala jsem, že intenzita mykorhizní infekce a jednotlivé její charakteristiky u odebraných rostlin mohou být ovlivněny rostlinnými druhy v okolí hostitelských rostlin. Provedla jsem dvě analýzy CCA, první zkoumala korelaci mykorhizní infekce (a dalších jejích měřených charakteristik) a složení rostlinného společenstva kolem každé odebrané rostliny zvlášť, druhá testovala tyto vztahy na úrovni lokalit. Ukázalo se, že složením rostlinného společenstva jsou odlišně ovlivněny ustálená mykorhizní symbióza u dospělých rostlin a počáteční stádium kolonizace kořenů AMF u semenáčků. V prvním testu nejlépe koreloval podíl vezikulární infekce u semenáčků se složením okolního rostlinného společenstva. Odezva mykorhizní infekce dospělých rostlin se výrazněji projevila v druhém testu v podobě změn podílu arbuskulární infekce a podílu morfotypů *Glomus* a *Acaulospora* se složením rostlinného společenstva na mezilokalitové úrovni. Z toho lze usuzovat, že u právě se usidlujících semenáčků má velkou úlohu bezprostřední okolí, které je zdrojem začínající AM kolonizace, ale u dospělých rostlin je stávající AM infekce již stabilnější a více odráží celkové podmínky na stanovišti.

Semenáčky měly vezikuly více zastoupeny v blízkosti druhů *Carex umbrosa*, *Potentilla erecta*, *Alchemilla vulgaris*, ale podíl vezikul byl malý u semenáčků sousedících s druhy *Veronica serpyllifolia*, *Holcus lanatus*, *Dactylis glomerata* a *Viola canina* (obr.8). Kromě druhu *Carex umbrosa*, u kterého jsem nenašla žádný záznam o mykorhizní infekci, mohou všechny druhy znázorněné v ordinačním diagramu tvořit AM symbiózu (Harley a Harley, 1987). Některé druhy rodu *Carex* mívají nízkou intenzitu mykorhizní infekce, jiné ji tvoří jen občas, a hodně druhů tohoto rodu je nemykorhizních (Muthukumar et al., 2004, Harley a Harley, 1987). Je tedy překvapivé, že v okolí nemykorhizního druhu byly semenáčky s větším podílem vezikulární infekce v kořenech, protože bych spíše předpokládala větší intenzitu kterékoli charakteristiky mykorhizní infekce v okolí rostlin silně mykorhizních. *Carex umbrosa* se ale vyskytoval jen na jedné lokalitě (lokalita 9). Na druhou stranu relativní podíl vezikulární infekce ubývá v blízkosti trav *Holcus lanatus* a *Dactylis glomerata*, které mají většinou nižší intenzitu AM infekce než dvouděložné rostliny (Wilson a Hartnett, 1998).

Složení AMF společenstva může být ovlivněno selekčním tlakem rostlin (Gollotte et al., 2004). Druhové složení okolního společenstva rostlin korelovalo se

zastoupením morfortypů *Glomus* a *Acaulospora* u dospělých rostlin (obr.10). Myslím, že se tu projevuje průkazný vliv vlhkosti na tyto morfortypy. Morfortyp *Acaulospora* je více zastoupen na sušších lokalitách a morfortyp *Glomus* na vlhčích. Morfortyp *Glomus* se objevuje více v blízkosti druhů vyskytujících se spíše na vlhčích lokalitách (výjimku tvoří *Viola canina*, která je spíše suchomilnější), a morfortyp *Acaulospora* zase blízko druhů rostlin vyskytujících se spíše na sušších a písčitých půdách.

4.6 Určování morfortypů

Morfortypy AMF jsem určovala pomocí morfologie vezikul, arbuskul a podle chování hyf v kořenech. U začínající AM infekce, u které nebyly ještě vyvinuty vezikuly a arbuskuly, jsem nemohla určit morfortyp a tento úsek AM infekce jsem zařadila do kategorie neurčená AM infekce. Také nerozpoznatelné překrývající se úseky mykorhizní infekce různých morfortypů a celkově špatnou viditelnost AM infekce jsem řadila do kategorie neurčené AM infekce. Překrývající se mykorhizní morfortypy a špatná viditelnost se vyskytovala především u AM infekce dospělých rostlin (obr. 10). Zhoršená viditelnost u dospělých rostlin u překrývajících se morfortypů v zorném poli mohla také zapříčinit přehlédnutí tenkých hyf u morfortypu fine endophyte a někdy slaběji obarveného morfortypu *Acaulospora*.

U morfortypů *Glomus* a *Acaulospora* je správné určení jistější v případech, kdy tvořily vezikuly.

5 Závěr

Na studovaných lokalitách s různou úživností a vlhkostí půdy klesalo relativního zastoupení arbuskul u dospělých jitrocelů s rostoucím C/N poměrem půdy. Zatímco zastoupení morfotypů AMF u semenáčků nebylo ovlivněno půdními charakteristikami, u dospělých rostlin závisela relativní četnost morfotypů fine endophyte a *Acaulospora* na půdní vlhkosti a relativní četnost morfotypu *Scutellospora* na koncentraci fosforu v půdě. Relativní podíl morfotypu *Acaulospora* byl vyšší na sušších lokalitách, na vlhčích byl hojnější morfotyp fine endophyte. Relativní podíl morfotypu *Scutellospora* u dospělých rostlin byl vyšší na lokalitách s vyšší koncentrací půdního fosforu.

Experimentální zvýšení dostupnosti živin se projevilo u semenáčků jak v celkové AM infekci, tak u relativního podílu arbuskul a vezikul. Na lokalitách bohatších na půdní fosfor vedlo přihnojení k výraznějšímu snížení relativního zastoupení arbuskul v celkové infekci AMF v kořenech semenáčků. Zato AM infekce dospělých rostlin nebyla přihnojením ovlivněna.

Relativní zastoupení morfotypů AMF se lišilo mezi semenáčky a dospělými rostlinami. Morfotypy fine endophyte a *Scutellospora* měly větší frekvenci výskytu v kořenech semenáčků, naopak morfotypy *Acaulospora* a *Glomus* se více vyskytovaly u dospělých rostlin.

V mém experimentu mě dále zajímalo, zda se bude lišit intenzita mykorhizní infekce u semenáčků odlišného původu. Odlišný původ semenáčků ale neměl na intenzitu mykorhizní infekce ani na další její parametry a zastoupení morfotypů vliv.

Moje výsledky také ukázaly, že složení vegetace v bezprostředním okolí semenáčků má vliv na relativní podíl vezikul v celkové infekci. U dospělých jitrocelů byl demonstrován vliv složení okolní vegetace na relativní podíl arbuskul a také na relativní podíl morfotypů *Glomus* a *Acaulospora*.

6 Literatura

Alguacil MM, Díaz-Pereire E, Caravaca F, Fernández DA, Roldán A. 2009. Increased diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment via application of organic amendments to a semiarid degraded soil. *Applied and Environmental Microbiology* **75**: 4254-4263.

Allen EB, Allen MF, Helm DJ, Trappe JM, Molina R, Rincon E. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil* **170**: 47- 62.

Augé RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* **11**: 3- 42.

Borowicz VA, 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? *Ecology* **82**: 3057-3068.

Braunberger PG, Abbott LK, Robson AD. 1994. The effect of rain in the dry-season on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the growing season of annual clover-based pastures. *New Phytologist* **127**: 107- 114.

Cavagnaro TR, Smith FA, Smith SE, Jakobsen I. 2005. Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs among fungal species. *Plant, Cell and Environment* **28**: 642- 650.

Collins CD, Foster BL. 2009. Community-level consequences of mycorrhizae depend on phosphorus availability. *Ecology* **90**: 2567-2576.

Corkidi L, Rowland DL, Johnson NC, Allen EB. 2002. Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant and Soil* **240**: 299- 310.

De Deyn GB, Biere A, van der Putten WH, Wagenaar R, Klironomos JN. 2009. Chemical defense, mycorrhizal colonization and growth responses in *Plantago lanceolata* L. *Oecologia* **160**: 433-442.

Egerton-Warburton LM, Johnson NC, Allen EB. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: A cross-site test in five grasslands. *Ecological Monographs* **77**: 527-544.

Ellenberg H. 1988. *Vegetation of Central Europe*. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

Escudero V, Mendoza R. 2005. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient. *Mycorrhiza* **15**: 291- 299.

Francis R, Read DJ. 1994. The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. *Plant and Soil* **159**: 11- 25.

Gange AC, Stagg PG, Ward LK. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi affect phytophagous insect specialism. *Ecology Letters* **5**: 11- 15.

Gange AC, West HM. 1994. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and foliar-feeding insects in *Plantago lanceolata* L. *New Phytologist* **128**: 79-87.

Gollotte A, van Tuinen D, Atkinson D. 2004. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza* **14**: 111- 117.

Gryndler M, Baláz M, Hršelová H, Jansa J, Vosátka M. 2004. *Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin*. Praha, ČR: Academia.

Harley JL, Harley EL .1987. A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New Phytologist* **105**: 1- 102.

Jakobsen I, Smith SE, Smith FA. 2002. Function and diversity of arbuscular mycorrhizae in carbon and mineral nutrition. In: van der Heijden MGA, Sanders IR, eds. *Mycorrhizal ecology*. Berlin, Německo: Springer, 75-88.

Jansa J, Smith FA, Smith SE. 2008. Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? *New Phytologist* **177**: 779- 789.

Javot H, Pumplin N, Harrison MJ. 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment* **30**: 310-322.

Johnson D, Vandenkoornhuyse PJ, Leake JR, Gilbert L, Booth RE, Grime JP, Young JPW, Read DJ. 2004. Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New Phytologist* **161**: 503 – 515.

Johnson NC, Graham JH, Smith FA. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* **135**: 575-585.

Johnson NC, Rowland DL, Corkidi L, Egerton-Warburton LM, Allen EB. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* **84**: 1895-190.

Johnson NC, Zak DR, Tilman D, Pflieger FL. 1991. Dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizae during old field succession. *Oecologia* **86**: 349- 358.

Jumpponen A, Trowbridge J, Mandyam K, Johnson L. 2005. Nitrogen enrichment causes minimal changes in arbuscular mycorrhizal colonization but shifts community composition – evidence from rDNA data. *Biology and Fertility of Soils* **41**: 217- 224 .

Kliromonos JN. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* **84**: 2292- 2301.

Kubát K, Hrouda L, Chrtek J jun., Kaplan Z, Kirschner J, Štěpánek J. (eds.). 2002. *Klíč ke květeně České republiky*. Praha, ČR: Academia.

Lepš J. 1996. *Biostatistica*. České Budějovice, ČR: Biologická fakulta Jihočeské univerzity v ČB.

Merryweather J, Fitter AH. 1998a. The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta* I. Diversity of fungal taxa. *New Phytologist* **138**: 117- 129.

Merryweather J, Fitter AH. 1998b. The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non scripta* II Seasonal and spacial patterns of fungal populations. *New Phytologist* **138**: 131- 142.

Miller SP. 2000. Arbuscular mycorrhizal colonization of semi-aquatic grasses along a wide hydrologic gradient. *New Phytologist* **145**: 145-155.

Miller SP, Bever JD. 1999. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in stands of the wetland grass *Panicum hemitomon* along a wide hydrologic gradient. *Oecologia* **119**: 586- 592.

Muthukumar T, Udaiyan K, Shanmughavel P. 2004. Mycorrhiza in sedges-an overview. *Mycorrhiza* **14**: 65- 77.

Olsen RS. 1982. Phosphorus. In: Page AL,eds. Methods in soil analysis, part 2, Agronomy series 9.ASA, Madison, Wisconsin 403- 430.

Renker C, Blanke V, Buscot F. 2005. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland spontaneously developed on area polluted by a fertilizer plant. *Environmental Pollution* **135**: 255 – 266.

Rodríguez-Echeverría S, Hol WHG, Freitas H, Eason WR, Cook R. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi of *Ammophila arenaria* (L.) Link: Spore abundance and root colonisation in six locations of the European coast. *European Journal of Soil Biology* **44**: 30-36.

Rychnovská M. ed. 1993. *Structure and functioning of seminatural meadows*. Praha, ČR: Academia

Santos JC, Finlay RD, Tehler A. 2006. Molecular analysis of arbuscular mycorrhizal fungi colonising a semi-natural grassland along a fertilisation gradient. *New Phytologist* **172**: 156-168.

Scheublin TR, van Logtestijn RSP, van der Heijden MGA. 2007. Presence and identity of arbuscular mycorrhizal fungi influence competitive interactions between plant species. *Journal of Ecology* **95**: 631- 638.

Šmilauer P, Šmilauerová M. 2000. Effect of AM symbiosis exclusion on grassland community composition. *Folia Geobotanica* **35**: 13- 25.

Šmilauer P. 2001. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland: seasonal variability and effects of environment and host plants. *Folia Geobotanica* **36**: 243-263.

Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Ed 2. London, UK: Academic press.

Staddon PL, Gregersen R, Jakobsen I. 2004. The response of two *Glomus* mycorrhizal fungi and a fine endophyte to elevated atmospheric CO₂, soil warming and drought. *Global Change Biology* **10**: 1909-1921.

Standish RJ, Stokes BA, Tibbett M, Hobbs RJ. 2007. Seedlings response to phosphate addition and inoculation with arbuscular mycorrhizas and the implications for old-field restoration in Western Australia. *Environmental and Experimental Botany* **61**: 58-65.

Sýkorová Z, Ineichen K, Wiemken A, Redecker D. 2007. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait

plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* **18**: 1-14.

Titus JH, Lepš J. 2000. The response of arbuscular mycorrhizae to fertilization, mowing, and removal of dominant species in a diverse oligotrophic wet meadow. *American Journal of Botany* **87**: 392- 401.

Toljander JF, Santos-González JC, Tehler A, Finlay RD. 2008. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long-term fertilization trial. *FEMS Microbiology Ecology* **65**: 323-338.

Urcelay C, Diaz S. 2003. The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecology Letters* **6**: 388- 391.

van der Heijden MGA. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland. *Ecology Letters* **7**: 293- 303.

van der Heijden MGA, Bardgett RD, van Straalen NM. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* **11**: 296-310.

van der Heijden MGA, Horton TR. 2009. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystem. *Journal of Ecology* **97**: 1139- 1150.

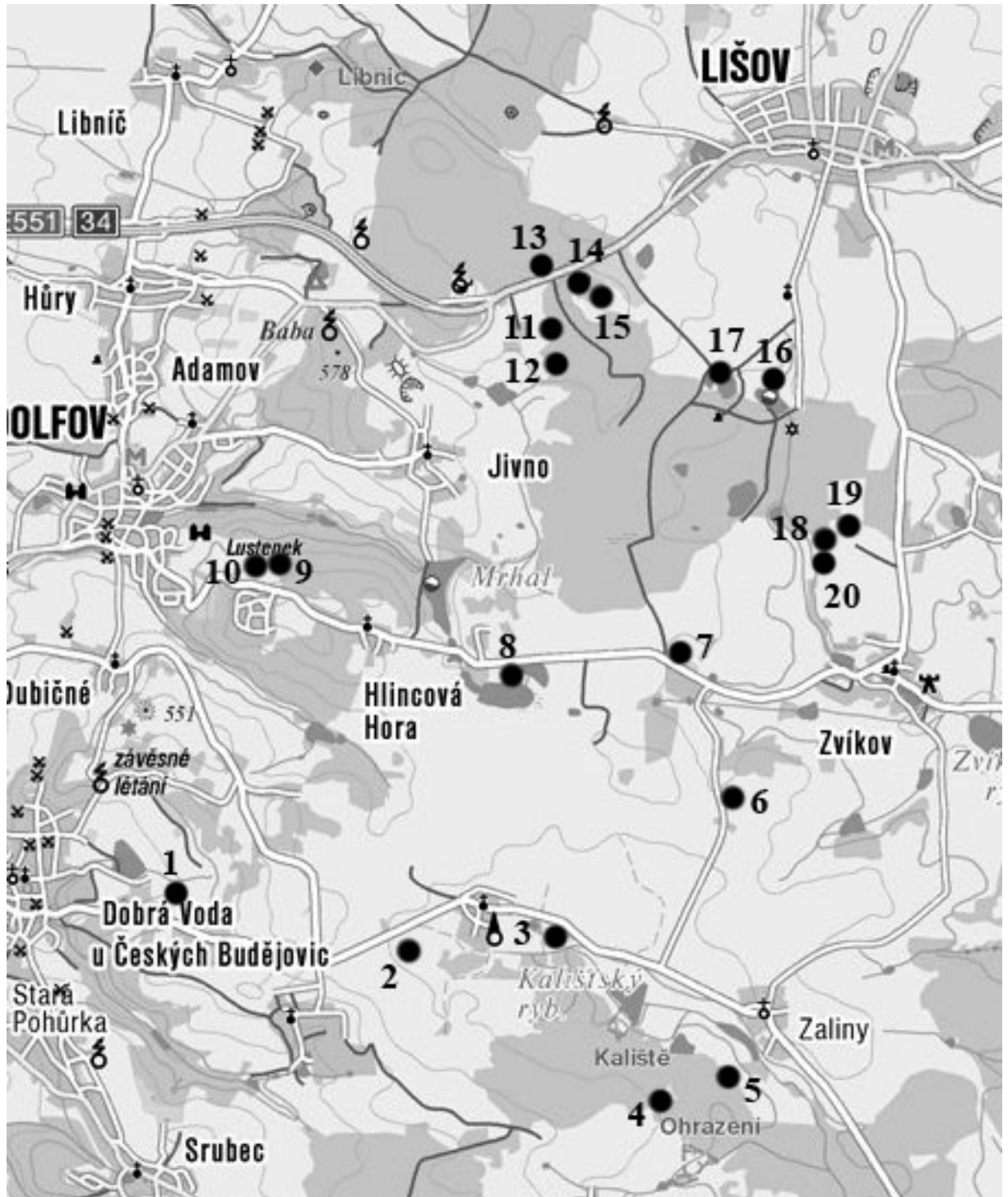
Vierheilig H, Schweiger P, Brundrett M. 2005. An overview of methods for the detection of observation of mycorrhizal fungi in roots. *Phytologia Plantarum* **125**: 393- 404.

Wang B, Qiu YL. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* **16**: 299-363.

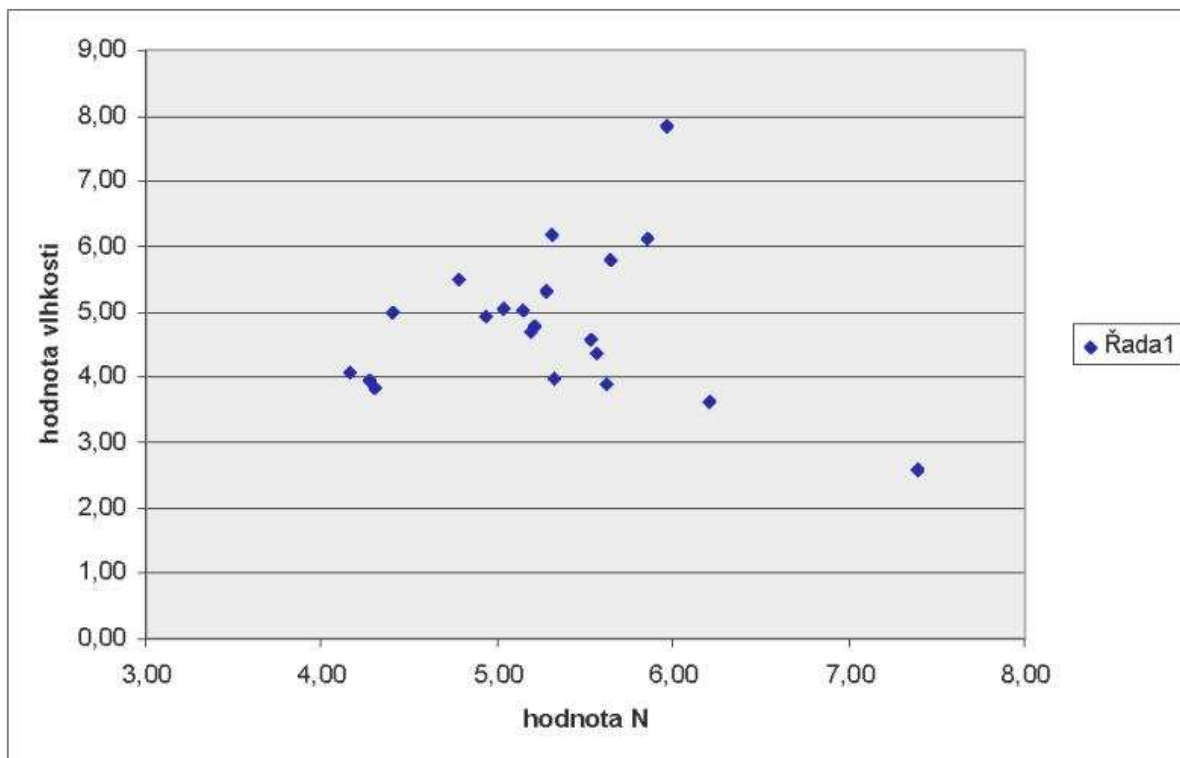
Wang MY, Hu LB, Wang WH, Liu ST, Li M, Liu RJ. 2009. Influence of long-term fixed fertilization on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Pedosphere* **19**: 663-672.

Wilson GW, Hartnett DC. 1998. Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in prairie grasses and forbs. *American Journal of Botany* **85**: 1732- 1738.

Příloha 1 Mapa lokalit



Příloha 2 Variabilita lokalit podle půdní vlhkosti a živin určených pomocí Ellenbergových idikačních čísel při zakládání experimentálních ploch.



Příloha 3 Naměřené půdní charakteristiky na lokalitách.

lokality	fosfor	dusík	uhlík	C/N	vlhkost
	mg/1000g	%	%		%
1	18,61	0,33	4,38	13,44	29,90
2	11,50	0,39	5,32	13,80	43,75
3	15,20	0,46	6,58	14,39	21,59
4	8,97	0,48	6,13	12,67	59,49
5	8,03	0,26	3,64	14,15	32,40
6	79,44	0,46	5,88	12,91	39,47
7	17,10	0,31	4,09	13,35	32,37
8	17,78	0,29	3,99	13,80	36,40
9	6,94	0,54	7,53	13,85	72,89
10	17,54	0,25	3,38	13,63	24,34
11	11,61	0,29	4,24	14,80	27,94
12	8,03	0,30	4,23	14,25	40,41
13	18,23	0,28	3,73	13,48	28,22
14	17,16	0,31	4,87	15,58	17,54
15	9,62	0,25	4,61	18,28	21,40
16	49,37	0,28	4,16	14,72	25,06
17	15,17	0,23	3,58	15,80	38,71
18	9,99	0,41	5,54	13,66	28,16
19	9,59	0,34	4,61	13,73	65,33
20	11,49	0,30	4,92	16,49	41,61

Příloha 5 Vysvětlené zkratky názvů rostlin v ordinačních diagramech.

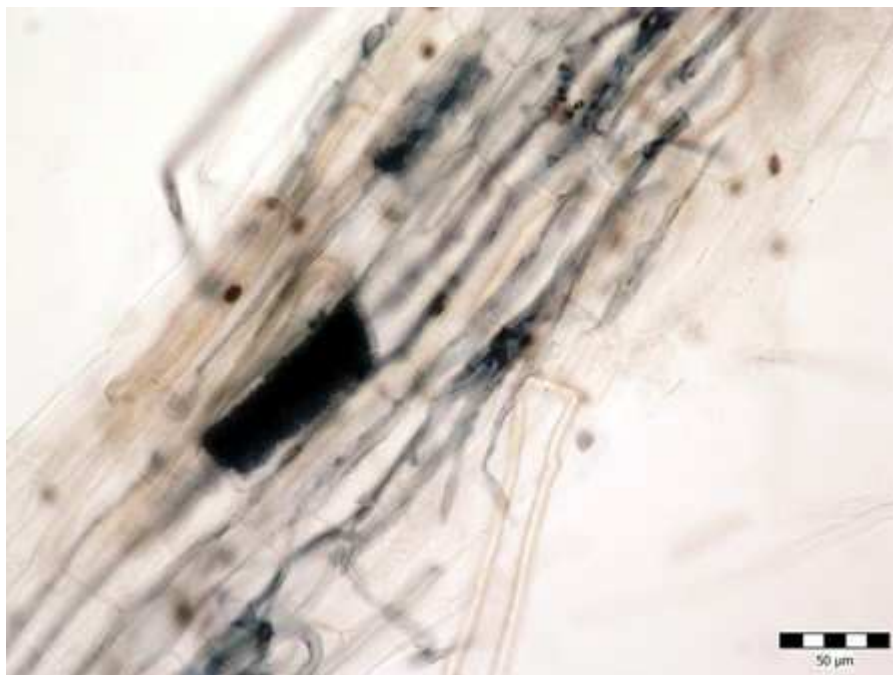
Druh rostliny	zkratka
<i>Alchemilla vulgaris</i>	AlcheVul
<i>Arrhenatherum elatius</i>	ArrheEla
<i>Bellis perennis</i>	BelliPer
<i>Carex umbrosa</i>	CxUmbros
<i>Cerastium</i> sp	CerastSp
<i>Cirsium</i> sp	CirsiumSp
<i>Dactylis glomerata</i>	DactGlom
<i>Festuca ovina</i>	FestOvin
<i>Festuca pratensis</i>	FestPrat
<i>Filipendula ulmaria</i>	FilipUlm
<i>Holcus lanatus</i>	HolcLana
<i>Lathyrus pratensis</i>	LathyPra
<i>Leucanthemum vulgare</i>	LeucVulg
<i>Lotus corniculatus</i>	LotuCorn
<i>Luzula campestris</i>	LuzuCamp
<i>Lysimachia vulgaris</i>	LysiVulg
<i>Pimpinella major</i>	PimpMajo
<i>Pimpinella saxifraga</i>	PimpSaxi
<i>Plantago lanceolata</i>	PlanLanc
<i>Potentilla erecta</i>	PoteErec
<i>Ranunculus repens</i>	RanuRepe
<i>Sanquisorba officinalis</i>	SanqOffi
<i>Stellaria graminea</i>	StelGram
<i>Trifolium dubium</i>	TrifDubi
<i>Trifolium repens</i>	TrifRepe
<i>Trisetum flavescens</i>	TrisFlav
<i>Veronica arvensis</i>	VeroArve
<i>Veronica chamaedrys</i>	VeroCham
<i>Veronica serpyllifolia</i>	VeroSerp
<i>Vicia tetrasperma</i>	ViciaTet
<i>Viola canina</i>	ViolCani

Příloha 4 Obrázky morfotypů

Morfotyp *Acaulospora*

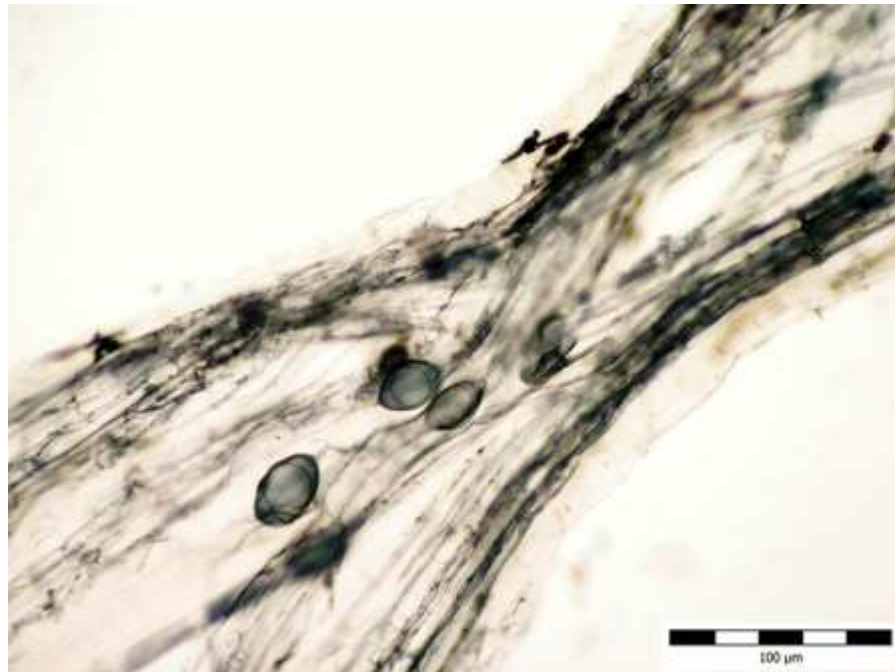


A. nepravidelné vezikuly u morfotypu *Acaulospora*



B. arbuskula vyplňující celou kořennou buňku u morfotypu *Acaulospora*

Morfotyp *Glomus*

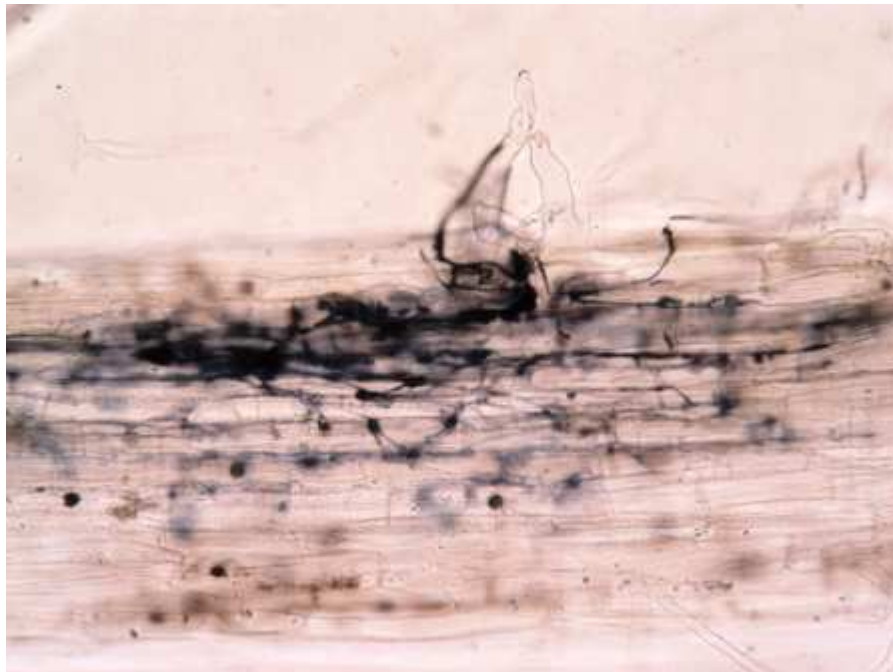


C. morfotyp *Glomus* s typickými tenkostěnnými vezikulami



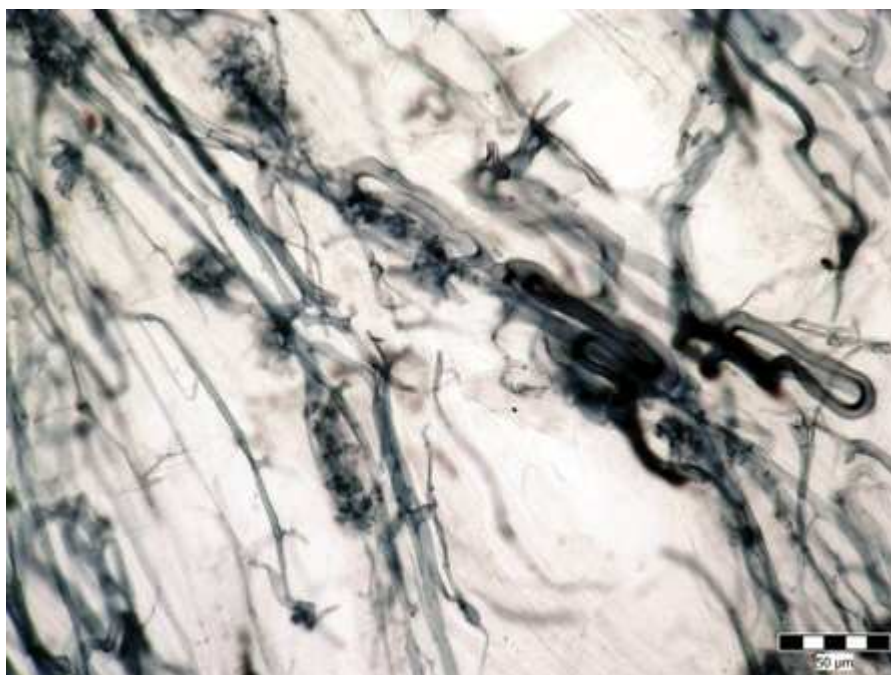
D. morfotyp *Glomus* s arbuskulami a vezikulami

Morfotyp fine endophyte



E. kulaté „knoflíkové“ rozšířeniny u morfotypu fine endophyte

Morfotyp Scutellospora



F. zakroucené hyfy u morfortypu *Scutellospora*

Příloha 6A Intenzita (%) AM infekce měřených AM charakteristik v délce kořene u dospělých rostlin na lokalitách pro hnojené a nehnojené plochy.

H-hnojené plochy, N-kontrolní plochy, arb-arbuskuly, vez-vezikuly, Gl-typ Glomus, Sc.-typ *Scutellospora*, Ac.-typ *Acaulospora*, typ FE-fine endophyte

H/N	celková%	arb.%	vez.%	Gl.%	Sc.%	Ac.%	FE%
1H	0,76	0,63	0,49	0,45	0,01	0,23	0,18
1N	0,66	0,61	0,27	0,54	0,00	0,17	0,10
2H	0,82	0,77	0,40	0,46	0,00	0,23	0,22
2N	0,84	0,70	0,27	0,28	0,00	0,37	0,16
3H	0,55	0,41	0,05	0,00	0,00	0,23	0,07
3N	0,68	0,58	0,25	0,03	0,02	0,39	0,08
4N	0,17	0,02	0,15	0,00	0,00	0,17	0,00
5H	0,74	0,65	0,16	0,25	0,02	0,44	0,01
5N	0,59	0,50	0,03	0,19	0,02	0,24	0,08
6H	0,65	0,56	0,03	0,07	0,00	0,26	0,20
6N	0,73	0,63	0,18	0,39	0,08	0,15	0,04
7H	0,50	0,44	0,04	0,38	0,00	0,00	0,06
7N	0,56	0,49	0,16	0,27	0,00	0,16	0,08
8H	0,98	0,93	0,58	0,98	0,00	0,00	0,04
8N	0,67	0,63	0,19	0,57	0,00	0,00	0,07
9H	0,79	0,67	0,48	0,74	0,00	0,04	0,06
9N	0,81	0,56	0,54	0,73	0,00	0,07	0,16
10H	0,85	0,72	0,36	0,65	0,00	0,11	0,21
10N	0,88	0,80	0,25	0,36	0,00	0,13	0,55
11H	0,88	0,85	0,54	0,83	0,00	0,05	0,09
11N	0,81	0,73	0,16	0,59	0,00	0,14	0,26
12H	0,63	0,55	0,24	0,40	0,00	0,12	0,06
12N	0,80	0,69	0,30	0,49	0,00	0,25	0,10
13H	0,57	0,50	0,13	0,29	0,00	0,13	0,13
13N	0,75	0,69	0,32	0,05	0,00	0,50	0,07
14H	0,86	0,65	0,39	0,09	0,00	0,70	0,01
14N	0,84	0,72	0,50	0,56	0,00	0,18	0,05
15H	0,42	0,29	0,20	0,07	0,00	0,29	0,03
15N	0,79	0,46	0,41	0,18	0,00	0,51	0,08
16H	0,58	0,51	0,28	0,42	0,00	0,07	0,06
16N	0,84	0,80	0,41	0,64	0,00	0,00	0,14
17H	0,73	0,50	0,41	0,43	0,00	0,17	0,15
17N	0,77	0,64	0,42	0,51	0,00	0,16	0,28
18H	0,77	0,65	0,37	0,55	0,00	0,05	0,19
18N	0,93	0,82	0,52	0,82	0,00	0,07	0,03
19H	0,78	0,66	0,03	0,11	0,00	0,03	0,66
19N	0,73	0,68	0,16	0,34	0,00	0,00	0,39
20H	0,92	0,75	0,41	0,69	0,00	0,02	0,42
20N	0,94	0,76	0,46	0,62	0,00	0,21	0,32

Příloha 6B Intenzita (%) AM infekce měřených AM charakteristik v délce kořene u semenáčků na lokalitách pro hnojené a nehnojené plochy.

H-hnojené plochy, N-kontrolní plochy, arb-arbuskuly, vez-vezikuly, Gl-typ Glomus, Sc.-typ Scutellospora, Ac.-typ Acaulospora, typ FE-fine endophyte

H/N	celková%	arb.%	vez.%	Gl.%	Sc.%	Ac.%	FE%
1H	0,20	0,17	0,03	0,13	0,04	0,00	0,09
1N	0,33	0,27	0,05	0,04	0,00	0,04	0,26
2H	0,31	0,25	0,04	0,14	0,05	0,00	0,05
2N	0,51	0,36	0,08	0,19	0,01	0,11	0,22
3H	0,33	0,29	0,03	0,04	0,09	0,04	0,17
3N	0,48	0,42	0,14	0,10	0,01	0,22	0,24
4H	0,21	0,17	0,06	0,12	0,00	0,00	0,04
4N	0,72	0,69	0,19	0,41	0,01	0,07	0,51
5H	0,42	0,34	0,06	0,23	0,02	0,14	0,05
5N	0,39	0,33	0,04	0,18	0,00	0,10	0,11
6H	0,22	0,12	0,01	0,05	0,01	0,06	0,04
6N	0,45	0,40	0,03	0,10	0,00	0,04	0,32
7H	0,35	0,24	0,00	0,08	0,00	0,00	0,23
7N	0,53	0,45	0,08	0,24	0,00	0,02	0,29
8H	0,55	0,41	0,06	0,38	0,01	0,04	0,28
8N	0,78	0,73	0,37	0,60	0,00	0,01	0,55
9H	0,52	0,46	0,27	0,47	0,01	0,01	0,14
9N	0,34	0,23	0,09	0,26	0,01	0,00	0,07
10H	0,55	0,51	0,05	0,12	0,00	0,02	0,45
10N	0,70	0,65	0,13	0,18	0,00	0,11	0,56
11H	0,51	0,46	0,05	0,41	0,00	0,07	0,16
11N	0,42	0,39	0,01	0,18	0,00	0,08	0,19
12H	0,20	0,19	0,04	0,14	0,00	0,03	0,11
12N	0,56	0,51	0,11	0,17	0,00	0,13	0,30
13H	0,25	0,20	0,02	0,05	0,01	0,06	0,12
13N	0,74	0,68	0,17	0,34	0,00	0,06	0,47
14H	0,42	0,19	0,17	0,31	0,00	0,06	0,05
14N	0,63	0,42	0,25	0,35	0,03	0,21	0,04
15H	0,30	0,26	0,13	0,19	0,01	0,03	0,05
15N	0,37	0,33	0,08	0,21	0,00	0,00	0,17
16H	0,17	0,13	0,02	0,08	0,00	0,02	0,07
16N	0,80	0,71	0,41	0,58	0,01	0,12	0,24
17H	0,44	0,32	0,06	0,11	0,00	0,06	0,34
17N	0,62	0,58	0,28	0,37	0,00	0,20	0,35
18H	0,61	0,55	0,39	0,51	0,00	0,04	0,22
18N	0,87	0,83	0,38	0,70	0,01	0,11	0,34
19H	0,67	0,62	0,07	0,30	0,00	0,08	0,48
19N	0,67	0,64	0,10	0,58	0,00	0,00	0,49
20H	0,48	0,41	0,11	0,38	0,00	0,02	0,28
20N	0,67	0,62	0,17	0,49	0,00	0,05	0,40

