

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí



**Vliv zpětné vazby mezi rostlinou a půdou na mezidruhovou  
a vnitrodruhovou kompetici**

The role of plant-soil feedback in intraspecific and interspecific competition

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce

Ing. Michal Knapp Ph.D.

Vypracoval

Bc. Adam Šťasta

Praha, 2017

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci Vliv zpětné vazby mezi rostlinou a půdou na mezidruhovou a vnitrodruhovou kompetici vypracoval samostatně, s pomocí mého vedoucího práce a odborné konzultantky, a že jsem uvedl všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpal.

V Praze dne .....

.....

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl poděkovat Michalu a Janě Knappovým za vedení práce a pomoc, kterou mi poskytli při jejím vypracování. Práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky ([www.gacr.cz](http://www.gacr.cz), grant č. 16-09659S) a částečně Akademií věd České republiky ([www.cas.cz](http://www.cas.cz), RVO67985939).

## Abstrakt

Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou (plant-soil feedback, PSF) je považována za důležitý faktor utvářející rostlinná společenstva, hrající roli v kompetici, sukcesi, či rostlinných invazích. Tato práce se zabývá vlivem PSF na vnitrodruhovou a mezidruhovou kompetici u dvou rostlin středoevropských suchých trávníků, *Bromus erectus* Huds. (*Poaceae*) a *Inula salicina* L. (*Asteraceae*), a dále zjišťuje, zda jsou PSF různě ovlivněny semenáčky a dospělé rostliny, a zda má na PSF vliv stres.

Provedený experiment měl dvě části. V první části byla získána půda ovlivněná růstem studovaných druhů. V druhé části byl nejprve testován vliv PSF a kompetice na uchycení semenáčků, poté vliv PSF, kompetice a stresu (sucha) na dospělé rostliny.

Žádné přímé vlivy PSF na klíčení a uchycení semenáčků nebyly zjištěny, což ale mohlo být ovlivněno designem experimentu – v předchozím výzkumu byl vliv nalezen. Výsledky nicméně naznačují možnou interakci PSF s mechanismy ovlivňujícími klíčení.

Dospělé rostliny byly PSF signifikantně ovlivněny. Biomasa *I. salicina* byla snížena v obou ovlivněných půdách, u *B. erectus* byl vliv minimální. Oba druhy ale měly sníženou kompetiční schopnost v půdě ovlivněné vlastním druhem, což odpovídá předpokladům, že PSF může umožňovat koexistenci na úrovni společenstev. Vlivy stresu se u obou druhů lišily a dále ovlivňovaly výsledky kompetice, přímé ovlivnění PSF stresem nalezeno nebylo.

Výsledky ukazují, že PSF může ovlivňovat vnitrodruhovou i mezidruhovou kompetici, přičemž ovlivňuje kompetiční schopnosti jednotlivých druhů způsobem, který nelze jednoduše předvídat.

*Klíčová slova:* kompetice, půdní prostředí, zpětná vazba, živiny

## Abstract

Plant-soil feedback (PSF) is considered to be an important factor shaping plant communities, it has been shown to influence processes such as competition, coexistence, succession, or plant invasions. This study investigated the role of PSF in intra- and interspecific competition, using two Central European dry grassland species, *Bromus erectus* Huds. (*Poaceae*) and *Inula salicina* L. (*Asteraceae*), and examined whether effects of PSF differ between seedlings and adult plants, and whether they are affected by stress.

Two-phase PSF experiment was used. In first phase, soil conditioning was performed. Second phase was divided into two parts, first assessing PSF and competition effects on seedling establishment, second assessing PSF, competition and drought stress effects on grown-up plants in a target-neighbor design.

No direct PSF effects on seeds/seedlings were found, which might have been influenced by experimental setup, as it contradicts previous research. Nevertheless, results showed possible interactions of PSF and biochemical recognition mechanisms in seeds. We suggest this to be tested.

In grown-up plants, PSF effects were significant. *I. salicina* showed negative PSF effect on biomass, while *B. erectus* biomass was not affected. However, both species were disadvantaged when competing in self-conditioned soil, which, to some extent, supports the notion of PSF mediating plant coexistence. Drought stress effects were species-specific, further influencing competition outcomes. PSF was not affected by stress.

The results indicate that PSF can shape outcomes of both intraspecific and interspecific plant competition, while interacting with species' competitive abilities in ways which are not easily predicted.

*Key words:* competition, soil conditions, feedback, nutrients

## Obsah

1. Úvod.....	7
1.1 Vnitrodruhová zpětná vazba .....	8
1.2 PSF a mezidruhová kompetice.....	9
1.3 Vliv stresu na mezidruhovou kompetici .....	11
1.4 Vliv životních fází na mezidruhovou kompetici .....	12
1.5 Studované druhy.....	13
1.6 Cíle práce .....	15
2. Manuskript .....	16
3. Shrnutí .....	50
4. Literární zdroje.....	56

## 1. Úvod

Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou (anglicky *plant-soil feedback*, dále také zkratka PSF) je koncept, který zahrnuje ovlivnění biotické i abiotické složky půdy přítomností rostliny, a zpětné působení takto ovlivněné půdy na rostliny v ní rostoucí. Půdní zpětnovazební interakce byly v posledních letech zjištěny jako významná součást různých ekologických procesů, jako sukcese (Van Der Putten et al., 2013) a utváření společenstev (Casper & Castelli, 2007; Hemrova et al., 2016), nebo rostlinné invaze (Reinhart & Callaway, 2006; Dostalek et al., 2016). V rámci rostlinných společenstev může PSF spoluurčovat prostorovou i časovou dynamiku výskytu jednotlivých druhů (Kulmatiski et al., 2008; Petermann et al., 2008; Hemrova et al., 2016).

Rostliny svou přítomností ovlivňují abiotické vlastnosti půdy i její biotickou složku. Fyzikální vlastnosti půdy, jako její struktura, budou ovlivněny přítomností a charakterem kořenového systému. Chemické složení půdy ovlivní rostliny odčerpáváním či vypouštěním různých látek kořeny. Zdrojem PSF může být vyčerpávání živin, to přichází v úvahu především v případě specifických nároků některého druhu (Ehrenfeld et al., 2005). Zvláštním případem toho, jak mohou rostliny ovlivňovat půdní prostředí, je vylučování toxických kořenových exsudátů – alelopatie. Ta je nepříliš prostudovaným mechanismem, co se týče jejího vlivu na procesy probíhající v přirozených společenstvech, také vzhledem k obtížnosti prokázání původu nalezených látek – toxiny mohou kromě rostlin vytvářet i půdní organismy, např. při rozkladných procesech (Lau et al., 2008; Inderjit et al., 2011).

Další část PSF spočívá v ovlivnění druhové skladby a abundancí jednotlivých druhů půdní bioty (Bever et al., 1997). Půdní společenstva jsou tvořena extrémně širokým spektrem organismů, jako jsou např. houby, bakterie, archea, prvoci, kroužkovci, členovci, nebo hlístice, přičemž rostliny (především jejich kořeny) tvoří základ jejich potravních řetězců. Půdní společenstva se většinou těžko studují, zároveň jsou často poměrně málo prozkoumána (Bever, 2003). Vliv půdních organismů na růst rostlin se může lišit od silně pozitivního u mutualistů, jako jsou mykorrhizní houby nebo dusík vázající kořenové bakterie, až po silně negativní u množství organismů, které jsou rostlinnými patogeny či parazity; přičemž se ale velmi pravděpodobně v dané půdě vyskytují všechny najednou (Bever et al., 1997).

Další skupiny, jako rozkladači, budou přítomností různých rostlinných druhů také ovlivněni, vzhledem k rozdílům ve složení mrtvých částí těl různých druhů rostlin. Rozkladači svou aktivitou přímo ovlivňují chemické složení půdy, a tím její následnou vhodnost pro různé druhy rostlin (Bever, 2003).

Kvůli komplexnosti a náročnosti zkoumání půdních vztahů je koncept PSF založen na hodnocení změn půdy na základě vyhodnocení v následného růstu rostlin v ovlivněné půdě. Ty jsou jednoduše měřitelné. V případě lepšího růstu rostlin v ovlivněné půdě oproti půdě kontrolní hovoříme o pozitivním PSF, v opačném případě jde o PSF negativní. Předpokladem je, že redukce veškerých změn v půdě na jednu proměnnou podle následné výhodnosti či nevýhodnosti pro rostlinu je dostatečně přesná pro zkoumání rostlinných interakcí. Konkrétní příčiny zjištěných jevů mohou být dodatečně zkoumány jinými metodami (Bever et al., 1997).

## **1.1 PSF a vnitrodruhová kompetice**

Základní projevy zpětné vazby mezi rostlinami a půdou pozorovali lidé již v dávných dobách při zemědělství. Úspěšnost uchycení semenáčků ovocných stromů se snižovala, pokud byly přesazeny na místo, kde předtím rostly stromy stejného druhu či rodu. Snižující se výnosy při pěstování monokultury opakovaně na stejném místě vedly k vývoji středověkých systémů rotace plodin. Že jsou tyto jevy do značné míry důsledkem působení půdních organismů bylo zjištěno v 19. století při pokusech se sterilizací půdy (Van Der Putten et al., 2013).

Vnitrodruhový PSF je u většiny dosud zkoumaných druhů negativní, tzn. rostlina v půdě ovlivněné předchozím růstem jedinců jejího vlastního druhu roste hůře, než v půdě neovlivněné, či ovlivněné jiným druhem (Klironomos, 2002). Hlavním důvodem je akumulace půdních patogenů. Ty bývají většinou druhově specifické a spíše méně pohyblivé. Dochází k jejich hromadění v rhizosféře rostlin, odkud se šíří na další jedince stejného druhu v bezprostředním okolí (Van Der Heijden et al., 2008).

Pozitivní zpětné vazby mezi rostlinami a půdou jsou obecně méně časté, mohou se vyskytovat u druhů, které vyžadují specifické druhy bakterií pro vázání vzdušného dusíku (Larson & Siemann, 1998), nebo u druhů závislých na specifických druzích mykorrhizních hub (Rejmanek & Richardson, 1996). Také invazní druhy rostlin



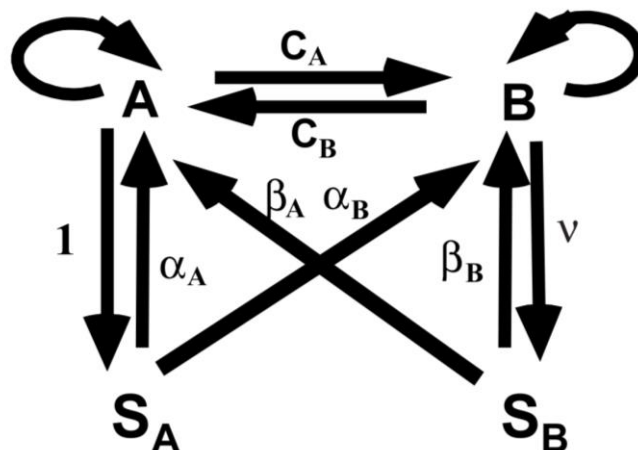
mohou vykazovat pozitivní PSF, protože v sekundárním areálu často nemají žádné specializované půdní patogeny (Keane & Crawley, 2002; Dostalek et al., 2016). Existují i druhy schopné, v určitých případech, ovlivnit rozkladné procesy na stanovišti ve svůj prospěch: chemickým složením či rychlostí dekompozice svého opadu (příp. mrtvých těl) mohou měnit obsah dostupných živin v půdě (Van Der Putten et al., 2013).

## 1.2 PSF a mezidruhov<sup>á</sup> kompetice

V půdě probíhá kompetice mezi rostlinami o vodu a živiny. Půdní kompetice má významný vliv především v prostředích, kde je těchto zdrojů nedostatek. V případě vyšší koncentrace živin a dostatku vody se hlavní část kompetice přesouvá nad zem, protože přístup ke světlu může být mnohem jednodušeji zablokován než přístup k živinám (Rebele, 2000). Kompetiční vyloučení na základě podzemní kompetice kořenů je možné (Wedin & Tilman, 1993), ale ve většině přírodních společenstev k němu pravděpodobně dochází vzácně (Rebele, 2000).

V případě vlivu vnitrodruhového PSF na kompetici více druhů na stanovišti nemá vliv její absolutní směr a velikost u daného jedince, ale její relativní směr a velikost v porovnání s PSF, který působí na jeho kompetitory. Tedy i negativní zpětná vazba pro druh může být stále výhodou, pokud jsou ostatní druhy svými vlastními PSF potlačovány více (Bever et al., 1997).

Zároveň, při výskytu více druhů rostlin na stanovišti, bude hrát roli půdní zpětná vazba mezidruhov<sup>á</sup>, kdy jeden druh bude růst v půdě ovlivněné předchozím růstem jedinců jiného druhu – což bude mít vliv na jeho růst v součtu s případným vnitrodruhovým PSF a zároveň s kompeticí (obr. 1) (Bever, 2003). Pro vlivy PSF na vztahy a procesy v rámci společenstev můžeme předpovědět několik různých scénářů.



Obr. 1: Schéma potenciálních interakcí mezi dvěma druhy ( $A$ ,  $B$ ) a jejich půdním prostředím ( $S_A$ ,  $S_B$ ). Přítomnost druhu  $A$  povede k vyššímu zastoupení půdy  $S_A$ , které může následně ovlivnit jeho vlastní růst (parametr  $\alpha_A$ ) i růst druhu  $B$  (parametr  $\alpha_B$ ). Obdobně druh  $B$  může skrz změny půdního prostředí ovlivňovat vlastní růst (parametr  $\beta_B$ ) i růst druhu  $A$  (parametr  $\beta_A$ ). Na oba druhy může mít vliv také jejich vzájemná kompetice a efekt hustotní závislosti v rámci každého druhu (Bever, 2003).

Vnitrodruhové zpětné vazby budou obecně ovlivňovat míru zastoupení druhů ve společenstvu. Negativní vnitrodruhový PSF může zabraňovat dominanci kompetičně silného druhu, čímž bude umožňovat koexistenci druhů na lokální úrovni, nebo udržovat vzácnost u druhu, který má silnější negativní zpětnou vazbu oproti ostatním druhům ve společenstvu (Klironomos, 2002; Van Der Putten et al., 2013). Pozitivní vnitrodruhové PSF budou naopak u druhů zvyšovat zastoupení, případně podporovat dominanci v rámci stanoviště (Klironomos, 2002).

K sukcesi bude docházet v případě, kdy rostlina kolonizující volné plochy vykazuje pozitivní mezidruhový PSF, tedy svou přítomností zlepšuje půdní podmínky pro výskyt jiných, často kompetičně silnějších, druhů. Zároveň bude k sukcesi docházet v případě rostlin, které vykazují silný negativní vnitrodruhový PSF, tedy rychle akumulují půdní patogeny a následně na daném stanovišti nejsou schopny úspěšné kompetice s dalšími druhy (Padilla et al., 2012; Van Der Putten et al., 2013). Mechanismy vlivu půdní zpětné vazby na kompetici u raně sukcesního druhu s rychlou akumulací specifických půdních patogenů byly popsány na kamýši písečném (*Ammophila arenaria* L.) (Vanderputten et al., 1988; Vanderputten et al., 1993). Zároveň může výskyt (či absence) určitého druhu v rané sukcesi, právě díky vlivu na složení půdního společenstva, měnit skladbu následných rostlinných společenstev v horizontu několika let (Kardol et al., 2007).

Při kompetici mezi druhy přispívají negativní PSF k výskytu Janzen-Connellova efektu, který obecně znamená snížení přežívání semen a semenáčků jednoho druhu při jejich výskytu blízko mateřské rostliny či rostlin stejného druhu (Janzen, 1970; Connell, 1971 ex Petermann et al., 2008). Původní hypotéza se zabývá stromy v tropických lesích a označuje za původce predátory semen, ale Janzen-Connellův efekt způsobený PSF byl zjištěn mj. i v travních společenstvech mírného pásu. Ve studii (Petermann et al., 2008) z 24 studovaných evropských druhů ze tří funkčních skupin (trávy, bobovité, ostatní dvouděložné) naprostá většina vykazala negativní vnitrodruhový PSF (konkrétně způsobený akumulací půdních patogenů), spojený se snížením kompetiční schopnosti v půdě ovlivněné předchozím růstem jedinců vlastního druhu. Na úrovni lokality bude Janzen-Connellův efekt podporovat střídání druhů na jednotlivých ploškách tím, že jeden druh se, důsledkem PSF, nebude schopen na konkrétním místě dlouhodobě udržet. To může fungovat jako mechanismus udržující biodiverzitu na úrovni společenstev (Petermann et al., 2008).

Ve smíšených společenstvech více druhů mohou být díky nižší relativní abundanci jednotlivých druhů negativní vnitrodruhové zpětné vazby potlačeny. Díky tomu může docházet k vyšší celkové akumulaci biomasy než v monokulturách (De Kroon et al., 2012; Van Der Putten et al., 2013).

V mechanismech rostlinných invazí hraje často roli nepřítomnost specializovaných přirozených nepřátel invazního druhu v jeho sekundárním areálu – včetně půdních patogenů (Keane & Crawley, 2002). Jejich absence v půdních společenstvech může vést u invazních druhů ke změně v půdní zpětné vazbě v sekundárním areálu: jejich vnitrodruhový PSF může být pozitivní, neutrální, případně méně negativní ve srovnání s místními druhy, což jim bude usnadňovat či umožňovat dominanci (Klironomos, 2002; Reinhart & Callaway, 2006). Invazní chování druhu může být umožněno či urychleno i navázáním nového půdního mutualismu v sekundárním areálu (Reinhart & Callaway, 2006).

### **1.3 Vliv stresu na mezidruhovou kompetici**

Stresem u rostliny chápeme obecně jakoukoliv dlouhodobě nepříznivou situaci ve vnějším prostředí. Stres může být způsoben jak biotickými, tak abiotickými vlivy. Tato práce se zabývá stresem abiotickým, který může být způsoben např. vodou (jejím nedostatkem, ale i anoxií při zatopení), teplotou (vysokou i nízkou), nebo chemickým

složením prostředí (např. nedostatkem některé živiny nebo zvýšenou koncentrací nějaké látky, kterou rostlina špatně toleruje). Stres ovlivňuje růst jedince, jeho fitness a zároveň i kompetiční schopnosti. Tolerance vůči různým formám stresu, a zároveň i reakce na něj, se budou lišit mezi jednotlivými druhy (Chen et al., 2013). Za různých abiotických podmínek tak může s různými výsledky probíhat i kompetice v rámci společenstva (Rebele, 2000; Chen et al., 2013; Knappova et al., 2013). Zároveň se reakce na vnější podmínky může měnit i mezi životními fázemi v rámci druhů, například na semenáčky může zastínění působit pozitivně, ale to samé většinou nebude platit o dospělých rostlinách travních společenstev (Brooker et al., 2008; Knappova et al., 2013).

Pro věrohodné popsání dynamiky v rámci společenstva je tedy potřeba zkoumat výsledky kompetice za různých abiotických podmínek, včetně stresu.

#### **1.4 Vliv životních fází na mezidruhovou kompetici**

Kompetiční schopnosti se liší mezi rostlinnými druhy v rámci společenstev, zároveň se mohou významně lišit i mezi jednotlivými životními fázemi v rámci jednoho druhu (Lamb & Cahill, 2006). Životní fáze, v nichž se konkrétní jedinci při mezidruhové kompetici nachází, tedy může ovlivnit její výsledky. To ověřili Lamb & Cahill (2006) u kompetice mezi řebříčkem obecným (*Achillea millefolium* L.) a zlatobýlem *Solidago missouriensis* (Nutt.): u *A. millefolium* jsou semenáčky kompetičně slabé a s dospíváním rostlin jejich kompetiční schopnost prudce roste, zatímco *S. missouriensis* má konstantní kompetiční schopnost během životních fází. Důležitost kompetiční schopnosti ve stadiu semenáčků by obecně měla růst s celkovou úrovní kompetice ve společenstvu (Lamb & Cahill, 2006; Craine & Dybzinski, 2013). Zároveň ale společenstva vhodná pro úspěšné uchycení semenáčku nutně nezaručují, že se v nich týž jedinec později dokáže udržet a úspěšně reprodukovat (Knappova et al., 2013).

Semena mohou reagovat na kontakt se specifickými chemickými látkami vylouhovanými z jiných rostlin či semen v jejich okolí. Může dojít k urychlení klíčení, aby dříve vyklíčený semenáček získal výhodu v následné kompetici, nebo k jeho inhibici, čímž se jedinec může vyhnout kompetici tím, že klíčení odloží na

potenciálně vhodnější dobu (Dyer et al., 2000; Tielborger & Prasse, 2009; Renne et al., 2014). Obě strategie obsahují trade-off: dříve klíčící semenáček získá výhodu v kompetici, ale může vyklíčit do nepříznivého prostředí, v němž nepřežije; semeno odkládající klíčení riskuje, že nepřežije v půdní bance (Orrock & Christopher, 2010). Dyer et al. (2000) zkoumali 7 druhů severoamerických trav, u některých našli urychlení klíčení při přítomnosti semen jiných druhů, u většiny pak pomalejší klíčení v blízkosti semen vlastního druhu. Studie na 4 druzích izraelské pouště ukazuje, že interakce semen mohou mít vliv i v rámci sukcese, protože raně sukcesní druhy klíčily hůře v přítomnosti sukcesně pozdějších (Tielborger & Prasse, 2009).

Pro získání realistického obrazu o kompetici mezi druhy je tedy důležité zahrnout interakce více životních stádií, vzhledem k různorodým mechanismům, které na průběh a výsledky kompetice mohou mít vliv.

## 1.5 Studované druhy

Jako modelové druhy pro tuto studii byly použity oman vrbolistý (*Inula salicina* L.) a sveřep vzpřímený (*Bromus erectus* Huds.). *B. erectus* je vytrvalá tráva z čeledi lipnicovité (*Poaceae*), dorůstá výšky 40–120 cm, při klonálním šíření tvoří husté kompaktní trsy (Dostál, 1989). *I. salicina* je vytrvalá rostlina z čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*), dorůstá výšky 25–80 cm, klonálně se může šířit dlouhými podzemními výběžky (Slavík & Štěpánková, 2004). Druhy se liší mírou závislosti na mykorrhize: zatímco *I. salicina* je obligátně mykorrhizní rostlinou (Knappova et al., 2016), *B. erectus* se bez mykorrhizy obejde, při jejím potlačení se jeho zastoupení ve společenstvu zvyšuje (Dostalek et al., 2013).

Oba studované druhy se vyskytují jako dominantní ve společenstvech širokolistých suchých trávníků (Chytrý in Chytrý et al. [eds] 2001). Se změnami ve využívání krajiny během posledních desetiletí se plošné zastoupení těchto společenstev u nás snižuje (Knappova & Munzbergova, 2015). Poznání mechanismů ovlivňujících dominanci, kompetici a koexistenci druhů v těchto společenstvech může být prakticky využito při jejich managementu, zároveň může pomoci i ochraně vzácných druhů, které se v nich vyskytují (Knappova & Munzbergova, 2015).



Obr. 2: *Inula salicina* (foto Josef Tecl, zdroj: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id41495/>)



Obr. 3: *Bromus erectus* (foto David Průša, zdroj: <http://botany.cz/cs/bromus-erectus/>)

## 1.6 Cíle práce

Tato práce si klade následující otázky:

1. Je kompetice mezi studovanými druhy ovlivněna PSF?
2. Liší se vliv PSF při vnitrodruhové a mezidruhové kompetici?
3. Liší se vlivy PSF na různá životní stádia studovaných druhů?
4. Je význam PSF ve výše zmíněných situacích ovlivněn stresem?

Pro zjištění odpovědí byl proveden zahradní a skleníkový experiment ve spolupráci s Botanickým ústavem Akademie věd ČR v Průhonicích. Hlavní částí práce je manuskript odborného článku (kapitola 2), jeho shrnutí v češtině je obsahem kapitoly 3.



## 2. Manuskript

**Role of plant-soil feedback in intraspecific and interspecific competition differs between life stages and with varying moisture:  
experiment with two grassland perennials**



Skleníkový experiment, květen 2016 (foto Adam Štásta)



1 **Title**

2 Role of plant-soil feedback in intraspecific and interspecific competition differs  
3 between life stages and with varying moisture: experiment with two grassland  
4 perennials

5

6 **Authors**

7 Adam ŠŤASTA<sup>1</sup>, Jana KNAPPOVÁ<sup>2,3</sup>

8

9 **Address**

10 1: Department of Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of  
11 Life Sciences Prague, Kamýcká 129, CZ-165 21 Prague, Czech Republic, 2: Institute  
12 of Botany, Academy of Sciences, Zámek 1, CZ-252 43 Průhonice, Czech Republic,  
13 3: Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague, Benátská  
14 2, CZ-128 01 Prague, Czech Republic; e-mail: adam.stasta@gmail.com

15

16 **Abstract**

17 Plant-soil feedback (PSF) is considered to be an important factor shaping plant  
18 communities, it has been shown to influence processes such as competition,  
19 coexistence, succession, or plant invasions. This study investigated the role of PSF in  
20 intra- and interspecific competition, using two Central European dry grassland  
21 species, *Bromus erectus* Huds. (*Poaceae*) and *Inula salicina* L. (*Asteraceae*), and

22 examined whether effects of PSF differ between seedlings and adult plants, and  
23 whether they are affected by stress.

24 Two-phase PSF experiment was used. In first phase, soil conditioning was  
25 performed. Second phase was divided into two parts, first assessing PSF, density and  
26 competition effects on seedling establishment, second assessing PSF, competition and  
27 drought stress effects on grown-up plants in a target-neighbor design.

28 No direct PSF effects on seeds/seedlings were found, which might have been  
29 influenced by experimental setup, as it contradicts both theory and previous research.  
30 Nevertheless, results showed possible interactions of PSF and biochemical  
31 recognition mechanisms controlling seed germination. We suggest this to be tested.

32 In grown-up plants, PSF effects were significant. *Inula* showed negative PSF  
33 effect on biomass, while *Bromus* biomass was not affected. However, both species  
34 were disadvantaged when competing in self-conditioned soil, which, to some extent,  
35 supports the notion of PSF mediating plant coexistence. Drought stress effects were  
36 species-specific and interacted with other effects influencing competition outcomes.

37 Our results indicate that PSF can shape outcomes of both intraspecific and  
38 interspecific plant competition, while interacting species' competitive ability in ways  
39 which are not easily predicted.

40

41 **Key words:** *Bromus erectus*, *Inula salicina*, coexistence, germination, Janzen-  
42 Connell hypothesis

43

44 **INTRODUCTION**

45 Plant-soil feedback (PSF) is a concept, which includes plants' influences on  
46 both biotic and abiotic conditions of the soil in which they grow, and subsequent  
47 effects of the soil on plants growing in it. In the last years, PSF's have been shown to  
48 be an important factor in succession (Kulmatiski et al., 2008), community  
49 organization (Casper & Castelli, 2007; Hemrova et al., 2016), or plant invasions  
50 (Reinhart & Callaway, 2006; Mangla et al., 2008; Dostalek et al., 2016). Plant-soil  
51 feedback might be an important factor shaping plant communities, particularly, it can  
52 influence spatial and temporal patterns of species occurrence (Bever, 2003;  
53 Kulmatiski et al., 2008; Van Der Putten et al., 2013; Hemrova et al., 2016), and it can  
54 be one of the mechanisms behind Janzen-Connel effects even in temperate grasslands  
55 (Petermann et al., 2008).

56 Plant-soil feedback can have several origins. Plant species can alter physical  
57 and chemical soil characteristics (Hemrova et al., 2016), e.g. their rates of  
58 consumption of various nutrients can differ (Ehrenfeld et al., 2005) or they can release  
59 allelopathic compounds into soil (Callaway et al., 2005; Holzapfel et al., 2010). Soil  
60 biota is another cause of PSF, as it includes plant mutualists (such as arbuscular  
61 mycorrhizal fungi [AMF] or nitrogen-fixing bacteria) and pathogens (Smith et al.,  
62 1999; Van Der Putten et al., 2013). Many plant-soil biota interactions are species-  
63 specific, therefore presence of a plant species changes soil community abundance and  
64 composition (Bezemer et al., 2006; Hendriks et al., 2015; Teste et al., 2017), which,  
65 in turn, affects further plant performance (Reynolds et al., 2003). AMF, as main soil  
66 mutualists, are not strictly host-specific, yet their communities still vary in presence  
67 of different plant species (Davison et al., 2011), while some plant species' occurrence  
68 depends on AMF community composition (Van Der Heijden et al., 1998; Pankova et  
69 al., 2008; Dostalek et al., 2013). Soil pathogens, such as bacteria or fungi, are usually

70 much more species-specific, and closely bound to plant root zone, which determines  
71 larger-scale effects of their presence (Petermann et al., 2008; Van Der Heijden et al.,  
72 2008).

73 In intraspecific competition, negative plant-soil feedback usually occurs,  
74 mostly due to accumulation of species-specific pathogens with growing density of  
75 plant species individuals (Kulmatiski et al., 2008; Van Der Heijden et al., 2008). This  
76 can lead to degeneration of a plant or part of a clone, and higher mortality of seedlings  
77 growing close to their parents (Van Der Putten et al., 2013). Nutrient consumption  
78 can also cause lowered performance of a species at a locality in time in case of specific  
79 requirements (Ehrenfeld et al., 2005). Positive feedbacks can also occur: typically in  
80 species that require specific soil-borne mutualists (Bever et al., 1997; Bever, 2003) or  
81 species which can influence decomposition processes at a habitat to their advantage  
82 (Van Der Putten et al., 2013).

83 In interspecific competition, direction and strength of total PSF relative to  
84 other competing species is decisive, incorporating both intraspecific (direct) and  
85 interspecific (indirect) feedbacks (Bever, 2003; Van Der Putten et al., 2013).  
86 Interspecific competition can be influenced by PSF in several ways: strong negative  
87 intraspecific PSF may, on a community level, either prevent competitive exclusion,  
88 and thus facilitate species coexistence (Bever, 2003), or, conversely, promote  
89 successional species replacement (Kulmatiski et al., 2008; Padilla et al., 2012; Van  
90 Der Putten et al., 2013). Positive intraspecific feedbacks may lead to dominance  
91 (Klironomos, 2002), e.g. in invasive species released from specialized pathogens  
92 found in their native range (Keane & Crawley, 2002; Mangla et al., 2008; Dostalek et  
93 al., 2016). High diversity of a community can lead to higher yields than in  
94 monocultures due to moderation of negative intraspecific PSFs (Hendriks et al., 2013;

95 Van Der Putten et al., 2013). Feedbacks between species (interspecific, or indirect)  
96 are also important. Early successional plants may enhance soil nutrient content  
97 through nitrogen-fixing mutualisms and/or quickly accumulate species-specific  
98 pathogens to which they are sensitive, in both cases making their sites more suitable  
99 for later successional species, which then outcompete them (Vanderputten et al., 1988;  
100 Vanderputten et al., 1993). Dominant species can suppress or remove soil mutualist  
101 communities, which may lead to disappearance of subordinate species due to absence  
102 of their favored AM symbionts (Van Der Heijden et al., 1998; Meadow & Zabinski,  
103 2012).

104 Competition between species can also be affected by abiotic conditions, e.g.  
105 nutrient availability (Rebele, 2000) or drought stress (Chen et al., 2013). Reactions to  
106 stress caused by various environmental factors may differ significantly between  
107 species of one community, thus affecting results of their competition under varying  
108 conditions (Chen et al., 2013; Knappova et al., 2013). Different environmental  
109 tolerances and stress reactions can also be observed between life stages of a species,  
110 e.g. shading often can be beneficial to seedlings but usually not to adult plants of  
111 grassland ecosystems (Brooker et al., 2008; Knappova et al., 2013).

112 Competitive abilities in plant individuals might shift significantly with age.  
113 Growth rate can vary between species, but also between life stages of one species  
114 (Lamb & Cahill, 2006). Competitive ability of seedlings might be an especially  
115 important factor in communities with high overall level of competition (Lamb &  
116 Cahill, 2006; Craine & Dybzinski, 2013). Seed behavior can be affected by contact  
117 with phytochemicals coming from plants or other seeds in their vicinity, which can  
118 either induce or suppress germination (i.e. to gain an advantage in competition or to

119 avoid it by postponing germination) (Dyer et al., 2000; Tielborger & Prasse, 2009;  
120 Renne et al., 2014).

121 Determining PSFs' influence on competition and community organization has  
122 become a subject of experiments in recent years (e.g. Casper & Castelli, 2007;  
123 Hendriks et al., 2013; Hol et al., 2013; Maron et al., 2016; Stanescu & Maherali,  
124 2017). Yet studies assessing this through more life stages and including stress factors  
125 are still, to our knowledge, missing.

126 In our study, we aimed to answer following questions:

127 (1) Does plant soil feedback significantly affect competition between our two model  
128 species?

129 (2) Is PSF affecting intra- and interspecific competition in different ways?

130 (3) Are any of above effects influenced by stress?

131 (4) Do any PSF effects differ between life stages in our model species?

132 To answer these questions, we performed a two-phase PSF experiment on both  
133 seeds/seedlings and grown-up plants. Adult plants were grown under two moisture  
134 regimes to incorporate drought stress.

135

136

## 137 **MATERIALS AND METHODS**

### 138 *Study species*

139 *Bromus erectus* Huds. (*Poaceae*) and *Inula salicina* L. (*Asteraceae*) (further  
140 referred to as by genus names), two dry grassland dominants from Czech Republic,

141 Europe, were used as model species in this study. Both are long-lived, clonally  
142 growing perennials. *Bromus* forms dense, compact clumps, *Inula* can spread by long  
143 underground rhizomes. A previous study has shown significant negative intraspecific  
144 PSF in both species (Hemrova et al., 2016).

#### 145 ***Experimental set-up***

146 A two-phase plant-soil feedback (PSF) experimental design was used (Bever  
147 et al., 1997; Casper & Castelli, 2007; Kulmatiski et al., 2008), with a separate  
148 assessment of germination and growth in feedback phase. The experiments were  
149 performed at the Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Průhonice, Czech  
150 Republic (49°59'42" N, 14°33'57" E, 350 m asl, average annual temperature 8.8°C,  
151 mean annual precipitation 560 mm).

#### 152 ***Conditioning phase***

153 The conditioning phase was started in 2015. The soil for the whole experiment  
154 was taken from a field road edge in the region with natural occurrence of study  
155 species, approximately 60 km apart from the Institute of Botany (50°29'41" N,  
156 14°18'04" E). At this site the steep soil surface was almost bare, so little or no  
157 influence from vegetation was expected (Hemrova et al., 2016). Six hundred circular  
158 pots with a diameter of 18 cm were filled with collected soil, placed at common garden  
159 and sown with study species. The seeds were collected in 2014 at three localities per  
160 species, then stored in paper bags at room temperature. Seeds from all localities of  
161 each species were mixed, and then sown at the beginning of July 2015. Two hundred  
162 pots were sown with *Inula* seeds, 200 with *Bromus* seeds, and the remaining 200 pots  
163 were used as controls. All pots were watered regularly and plants of non-target species  
164 were regularly removed. The plants grew for the rest of the season and then

165 overwintered. During the first half of April 2016, conditioning plants were removed  
166 from their pots. Roots were extracted, carefully washed, dried and weighed, to assess  
167 conditioning strength for each pot. Soil from each pot (including controls) was sieved  
168 through a 0.8 cm sieve and the amounts of both fine and stony fractions of the soil  
169 were standardized to compensate for any changes in soil volume during conditioning.  
170 One mixed soil sample per soil type (*Bromus*, *Inula* and control) was taken for  
171 analyses of soil nutrients performed at Analytical laboratory of Institute of Botany.

### 172 ***Feedback germination phase***

173         The germination experiment took place at a glasshouse. Pots sized 10×10 cm  
174 were filled with sterilized sand approx. 1.5 cm below the edge. Then small amounts  
175 of conditioned soil were taken from conditioning phase pots, sieved through a 2-mm  
176 sieve, and placed on top of the sand, creating a layer approx. 1 cm thick. Soil was  
177 taken in a way that each germination pot received soil from one pot from conditioning  
178 phase. Seeds used in germination phase were acquired from a local seed supplier,  
179 Planta Naturalis ([www.plantanaturalis.com](http://www.plantanaturalis.com)). Because of seed size and germination  
180 rate disparity in studied species, we chose to use equivalent weight of *Inula* seeds  
181 based on an average obtained by weighing 600 *Bromus* seeds (Hemrova et al., 2016).  
182 Healthy looking *Inula* seeds were then counted in five lowest density doses to get an  
183 average number to be used in data analyses. The seeds were sown in four intraspecific  
184 densities: 8, 16, 32, and 64 *Bromus* seeds (and weight equivalents of *Inula*); and in  
185 two interspecific densities: 8+8 and 32+32 (again, the numbers refer to *Bromus* seed  
186 count with a weight equivalent of *Inula*). There were 10 seed combinations in total, 3  
187 soil types (*Bromus*-conditioned, *Inula*-conditioned, control), and 10 replicates  
188 resulting in 300 pots in total. Seeds were sown on top of the soil, we tried to spread  
189 them evenly across the surface. Pots were watered with a fine spraying multiple times



190 a day, with additional watering applied when the soil was dry. The experiment ran for  
191 10 weeks, from beginning of April to second half of June. At the end, live seedlings  
192 were counted in each pot.

### 193 *Feedback growth phase*

194 Seedlings from the germination experiment were then transplanted into the  
195 18cm pots with conditioned soil in the garden. Seedlings were transplanted into the  
196 same soil type in which they germinated. A target-neighbor design was used (Gibson  
197 et al., 1999), with following variants: sole target plant, three neighbors around target,  
198 six neighbors around target; in both intraspecific and interspecific target-neighbor  
199 combinations (10 configurations in total). The seedlings were watered intensively for  
200 two weeks after transplantation to maximize their survival; during these two weeks,  
201 any dead seedlings were replaced. Afterwards, dead plants were not replaced. After  
202 the first two weeks, half of the pots was watered daily, while the other half was left to  
203 be watered only in case of prolonged drought (of more than a week) or signs of  
204 excessive drought stress (wilting) in test plants – so that effects of soil conditioning  
205 and water shortage on competition results could be assessed. Therefore, 3 soil types,  
206 2 different watering regimes, 10 target- neighbor combinations with 10 replicates  
207 resulted in a total of 600 pots. During the third week of the experiment, leaves were  
208 counted and the longest leaf was measured in all target plants to evaluate size variation  
209 at the start. Temperature and moisture were recorded throughout the experiment in  
210 four selected pots (two watered, two dry) by TOMST TMS3 climatic stations  
211 (TOMST Co., [www.tomst.com](http://www.tomst.com)) (Hemrova et al., 2016). The experiment was left to  
212 run for 12 weeks, then all plants were cut approx. 1 cm above soil surface. Resulting  
213 biomass was dried and weighed separately for each target plant and each group of  
214 neighbor plants.

215 **Data analysis**

216 ***Feedback germination phase***

217 Data from germination phase were first analyzed separately for both studied  
218 species. GLM with quasibinomial distribution of the dependent variable was used.  
219 Soil type, number of species' seeds sown in pot, and their interaction were used as  
220 explanatory variables, and proportion of successfully established seedlings was used  
221 as response.

222 To assess feedback together for both species, we calculated relative feedback  
223 intensity (RFI) as  $(S_i - S_{c1})/S_{c1}$ , where  $S_i$  is the proportion of successfully established  
224 seedlings of a species in a pot, and  $S_{c1}$  is the mean proportion of successfully  
225 established seedlings in pots with the same species and seed density sown on control  
226 (non-conditioned) soil. In pots sown with both species, RFI was calculated and used  
227 separately for each species in further analysis. Then GLM was used, with RFI as  
228 response, and target species, soil type, and their interactions as predictors. The  
229 analysis was performed on a subset of pots with conditioned soils and lowest seed  
230 density (to avoid effects of competition).

231 To assess competition together for both species, we calculated relative  
232 competition intensity (RCI) as  $(S_i - S_{c2})/S_{c2}$ , where  $S_i$  is the proportion of successfully  
233 established seedlings of a species in a pot, and  $S_{c1}$  is the mean proportion of  
234 successfully established seedlings in pots with same soil type and half the seed density  
235 (e.g. 8-seed *Bromus* pots were used as “no-competition” controls for 16- seed *Bromus*  
236 pots, and 8 *Bromus* + 8 *Inula* equivalent interspecific competition pots). In pots sown  
237 with both species, RCI was calculated separately for each of them. GLM was used,  
238 with RCI as dependent variable, and target species, soil type, competition type, seed

239 density, and all possible interactions as predictors. The analysis was performed on a  
240 subset of pots with interspecific competition and their intraspecific seed density  
241 equivalents.

#### 242 *Feedback growth phase*

243 Data from growth phase were first analyzed using GLM to test for the effect  
244 of initial plant size on biomass of target plants. For this purpose, studied species were  
245 analyzed separately. As value representing initial size, we chose between largest leaf  
246 size, leaf number, or their product (logarithmically transformed to achieve normality).  
247 The latter was found to be the best predictor of target biomass in both *Inula* and  
248 *Bromus*. Therefore, residuals from these models were used in further analyses instead  
249 of biomass to compensate for effects of initial size variability. To avoid negative  
250 values in further calculations, we added absolute value of the lowest residual to all  
251 values, resulting variable is further referred to as biomass residuals.

252 To compare effects of species, soil type and moisture treatment on overall  
253 plant growth, ANOVA with F test was used, with biomass residuals as the dependent  
254 variable and target species, soil type, moisture treatment, and all possible interactions  
255 as predictors. This test was performed only using control plants (i.e. targets growing  
256 without competition from neighbors).

257 To compare intensity of feedback among species, soil types and moisture  
258 treatments, we calculated relative feedback intensity (RFI) as  $(R_i - R_{cI})/R_{cI}$ , where  $R_i$   
259 is the biomass residual of target, and  $R_{cI}$  is the mean biomass residual of all control  
260 (i.e. non-competing) targets from the same moisture treatment in control (i.e. non-  
261 conditioned) soil. Afterwards, ANOVA was used, with relative feedback intensity as  
262 response, and target species, soil type, moisture treatment, and all their interactions as

263 predictors. The model was applied to a subset of control targets growing in  
264 conditioned soils only.

265 To compare intensity of competition among species, soil types, and moisture  
266 treatments, we calculated relative competition intensity index (RCI) (Weigelt &  
267 Jolliffe, 2003) from above mentioned biomass residuals as  $(R_i - R_{c2})/R_{c2}$ , where  $R_i$  is  
268 the biomass residual of target, and  $R_{c2}$  is the mean biomass residual of all control (i.e.  
269 non-competing) targets from the same soil type and moisture treatment. Then GLM  
270 was used with RCI as the dependent variable. The predictors were target species, soil  
271 type, moisture treatment, competition type, neighbor density and all possible  
272 interactions. Due to significant interaction of target species with most other variables,  
273 two GLMs were subsequently applied separately to each target species, with same  
274 parameters, only excluding target species from predictors. The last three models were  
275 also performed using log+1 transformed final neighbor biomass instead of neighbor  
276 density.

## 277 **RESULTS**

### 278 *Feedback germination phase*

279 In the germination phase, across all treatments, 53.7% of *Inula* seeds sown  
280 managed to establish as seedlings, in *Bromus*, the rate was 72,4%. In the model  
281 comparing effects soil type and seed number on proportion of germinated seedlings,  
282 no significant effects were found in both *Inula* (soil type:  $F_{2,114} = 0.02$ ,  $P = 0.914$ ; seed  
283 no.:  $F_{1,114} = 0.039$ ,  $P = 0.533$ ) and *Bromus* (soil type:  $F_{2,114} = 0.96$ ,  $P = 0.386$ ; seed  
284 no.:  $F_{1,114} = 2.06$ ,  $P = 0.132$ ).

285 Relative feedback intensity (RFI) was not significantly affected by target  
286 species ( $F_{1,36} = 0.01$ ,  $P = 0.917$ ), soil type ( $F_{1,36} = 0.01$ ,  $P = 0.942$ ) or their interaction  
287 ( $F_{1,36} = 0.95$ ,  $P = 0.335$ ).

288 Relative competition intensity (RCI) was significantly affected by seed density  
289 and interaction between soil and competition type. Marginally significant effects of  
290 soil type and interaction of soil type and seed density were found (Table 1, Fig. 1a,  
291 b).

### 292 ***Feedback growth phase***

293 In the growth phase, final weight was significantly affected by initial plant size  
294 in both *Inula* ( $F_{1,298} = 57.58$ ,  $P < 0.001$ ) and *Bromus* ( $F_{1,298} = 71.36$ ,  $P < 0.001$ ).

295 Biomass residuals were significantly affected by soil type and moisture, and a  
296 significant interaction between target species and soil type was found. The model was  
297 applied to subset of control plants to exclude competition (for full results, see Table  
298 2). *Inula* biomass residuals were reduced to a similar extent in both conditioned soils  
299 compared to control soil. *Bromus* was overall much less affected (Fig. 2).

300 Relative feedback intensity expressed as RFI was significantly affected by  
301 target species and soil type, and a marginally significant interaction between target  
302 species and soil type was found (Table 3). Again, *Inula* showed a negative reaction to  
303 conditioned soils, while *Bromus* was barely affected (Fig. 3).

304 RCI (relative competition intensity) was significantly affected by target  
305 species, moisture treatment, competition type, and neighbor density, significant  
306 interactions were found between target species and soil type, soil type and moisture  
307 treatment, target species and competition type, and the quadruple interaction between

308 target species, moisture treatment, competition type and neighbor density (Table 4).  
309 In *Inula*, significant effects of soil type, moisture treatment, competition type,  
310 neighbor density, and the interaction between soil type and moisture treatment were  
311 found; in *Bromus*, soil type, competition type, neighbor density, and the interaction  
312 between moisture, competition type and neighbor density, were significant predictors  
313 (Table 5, Fig. 4a, b). When final neighbor biomass was used in the last three models  
314 instead of neighbor density, results were largely similar. Therefore, only results of  
315 models using neighbor density are presented here.

## 316 **DISCUSSION**

317 Our aim was to assess whether the effects of plant-soil feedback can affect  
318 competition within and between our model species, and whether competition  
319 outcomes and feedback effects change depending on species identity, life stage of  
320 plants, and drought stress. We found no significant effects of conditioned soil on  
321 seedling establishment, but there was an indirect effect on competition in the  
322 germination phase. In the growth phase, we have found effects of conditioned soil on  
323 plant size in *Inula*, and it also influenced competition responses – differently in each  
324 of our model species.

325 Reduction of germination success in self-conditioned soil would be expected  
326 according to both theory (Janzen-Connell hypothesis) (Petermann et al., 2008) and  
327 previous experiments (Hemrova et al., 2016). However, there were no direct effects  
328 of conditioned soil on seedling emergence or competition in our study. We suspect  
329 that experimental setup may have influenced these results (see below). In contrast,  
330 direct PSF effects on plant size were found during growth phase and their strength  
331 was species-specific. While *Inula* size was strongly reduced in soils conditioned by  
332 both species compared to control soil, *Bromus* showed no significant reaction to soil

333 type (Fig. 2). This could be explained by trait differences between experimental  
334 species. *Inula* is obligately AMF-dependent (Knappova et al., 2016), therefore it ought  
335 to be more susceptible to nutrient depletion – at least in soils with a poor soil fungal  
336 community, like we can expect in our experiment. Grasses, including *Bromus*,  
337 generally have a more robust root system and utilize AMF much less, and are therefore  
338 more likely to be indifferent to this type of changes in the soil (Dostalek et al., 2013).

339 PSF effects on competition (as expressed by RCI), again, varied between  
340 species. In this experiment, growing in self-conditioned soil seemed to disadvantage  
341 both species in competition. Interestingly, PSF effects on biomass did not directly  
342 translate into changes of competition ability in conditioned soils, which supports the  
343 suggestion that, in order to reliably evaluate their role on a community level,  
344 feedbacks and competition cannot be tested separately (Casper & Castelli, 2007).

345 Each species has specific requirements on soil environment and its particular  
346 components. As a result, PSF can have different effects on intra- and interspecific  
347 competition. Indeed, in seedlings, RCI varied between intra- and interspecific  
348 competition. In high seed densities, effect of *Bromus* presence on number of *Inula*  
349 seedlings in self-conditioned soil was actually positive, and effects of intraspecific  
350 competition were more negative than in other soils (Fig. 1a, b). We think that in high  
351 densities, phytochemical-induced reduction of seedling emergence took place, to  
352 avoid excessive intraspecific competition (Renne et al., 2014; Houseman & Mahoney,  
353 2015). The fact that this only happened in self-conditioned soils suggests that soil  
354 played a role in these mechanisms in the experiment. Our results point to the  
355 possibility of other species' seeds and/or seedlings presence promoting germination  
356 in a high-density interspecific mixture (Dyer et al., 2000). We suggest that soil

357 conditioning by adult plants should be tested as a source of phytochemicals which  
358 affect density-dependent germination.

359         In the growth phase, both species reacted negatively to competition when  
360 grown in self-conditioned soil. That led to differences in how intra- and interspecific  
361 competition were affected, e.g. when *Inula*, overall the weaker competitor, performed  
362 better against *Bromus* in *Bromus*-conditioned soil than in any other soil. This, to some  
363 extent, supports the idea that negative intraspecific PSF effects might, on a community  
364 level, sometimes work as a factor acting against dominance and/or competitive  
365 exclusion (Bever, 2003; Van Der Putten et al., 2013). RCI in *Inula* was high in control  
366 soil, and similarly to feedback effects, we attribute this result to nutrient depletion by  
367 neighbor plants.

368         A change in abiotic conditions may affect species' growth rates depending on  
369 their tolerances and stress reactions and thus influence competition outcomes along  
370 environmental gradients (Rebele, 2000; Chen et al., 2013). In our study, drought stress  
371 did not significantly affect feedback strength (as expressed by RFI). In competition,  
372 effect of stress was species-specific, likely due to differing tolerances of individual  
373 species: *Inula* grew significantly worse in dry treatment, while *Bromus* was not  
374 affected. That further shaped competition between species, as *Bromus* gained  
375 advantages of not being negatively affected by stress, and of facing lower intensity of  
376 competition from *Inula*, which was negatively affected. Stress reactions in  
377 competition also interacted with neighbor density effects: difference between relative  
378 competition intensity resulting from the two neighbor densities was species-specific  
379 (both target and neighbor) and influenced by stress. The difference increased with  
380 stress in *Inula* neighbors, as in dry treatment specifically, 3 individuals were not  
381 enough to competitively influence *Bromus* performance. The difference decreased



382 with stress in *Bromus* neighbors, possibly because of water limitation in 6 neighbor  
383 plants growing in dry treatment.

384 Our results showed PSF effects on size in grown-up plants as opposed to no  
385 direct effects on numbers of established seedlings. The absence of direct feedback  
386 effects in the germination phase was unexpected, and contrasts with previous results  
387 from both field and garden experiments using the same species (Hemrova et al., 2016).  
388 Some part of experimental setup perhaps influenced our results: 1 cm layer of  
389 conditioned soil might have been insufficient to directly affect seedling establishment  
390 (as soil-driven results were clear in the growth phase). Although, at least regarding  
391 colonization by AMF and soil pathogens, even smaller amounts of soil inoculum are  
392 regularly used in experiments with soil sterilization (e.g. Pankova et al., 2014).  
393 Alternatively, the glasshouse conditions were too favorable for seedlings (i.e. full  
394 lighting, frequent watering, high temperature), which could have overpowered more  
395 subtle negative effects (Renne et al., 2014), e.g. of soil pathogen accumulation in our  
396 case. These effects could also have remained undetected due to relatively short  
397 duration of the germination experiment. Additionally, our data collection was limited  
398 by the fact that we needed the seedlings alive later for the growth phase of the  
399 experiment – there might have been some results, such as effects on biomass, which  
400 we were not able to obtain. Size variation of seedlings was visible, and significant in  
401 growth phase results, but not feasible to measure in more than 14 000 individuals that  
402 germinated. Number and density of seedlings also made it unfeasible to precisely  
403 measure seedling survival rates, even though mortality was overall very low. A design  
404 using larger amounts of conditioned soil (Hemrova et al., 2016) or sowing into more  
405 natural (i.e. less favorable) conditions could capture more effects of soil conditioning  
406 on germination.

407           In conclusion, we have found that PSF can shape outcomes of both  
408 intraspecific and interspecific plant competition in complex ways, while interacting  
409 with other decisive factors, such as mechanisms influencing germination, species'  
410 competitive ability or stress tolerance. All these factors seem to influence competition  
411 outcomes together, with unique results in varying conditions, which do not seem to  
412 be easily predictable. Further research is necessary to understand how plant  
413 competition can be affected by PSF and to incorporate plant-soil feedbacks into  
414 ecological theory on a community level.

415

#### 416 **ACKNOWLEDGEMENTS**

417 The work was supported by the Grant Agency of Czech Republic ([www.gacr.cz](http://www.gacr.cz), grant  
418 no. 16-09659S) and partly by the Czech Academy of Sciences ([www.cas.cz](http://www.cas.cz), project  
419 no. RVO67985939).

420

#### 421 **References**

- 422 Bever J. D., 2003: Soil community feedback and the coexistence of competitors:  
423       conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist*, 157: 465-473.
- 424 Bever J. D., Westover K. M. & Antonovics J., 1997: Incorporating the soil community  
425       into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of*  
426       *Ecology*, 85: 561-573.
- 427 Bezemer T. M., Lawson C. S., Hedlund K., Edwards A. R., Brook A. J., Igual J. M.,  
428       Mortimer S. R. & Van der Putten W. H., 2006: Plant species and functional group

429 effects on abiotic and microbial soil properties and plant-soil feedback responses  
430 in two grasslands. *Journal of Ecology*, 94: 893-904.

431 Brooker R. W., Maestre F. T., Callaway R. M., Lortie C. L., Cavieres L. A., Kunstler  
432 G., Liancourt P., Tielborger K., Travis J. M. J., Anthelme F., Armas C., Coll L.,  
433 Corcket E., Delzon S., Forey E., Kikvidze Z., Olofsson J., Pugnaire F. I., Quiroz  
434 C. L., Saccone P., Schiffers K., Seifan M., Touzard B. & Michalet R., 2008:  
435 Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of*  
436 *Ecology*, 96: 18-34.

437 Callaway R. M., Ridenour W. M., Laboski T., Weir T. & Vivanco J. M., 2005: Natural  
438 selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants. *Journal of*  
439 *Ecology*, 93: 576-583.

440 Casper B. B. & Castelli J. P., 2007: Evaluating plant-soil feedback together with  
441 competition in a serpentine grassland. *Ecology Letters*, 10: 394-400.

442 Chen L. P., Zhao N. X., Zhang L. H. & Gao Y. B., 2013: Responses of two dominant  
443 plant species to drought stress and defoliation in the Inner Mongolia Steppe of  
444 China. *Plant Ecology*, 214: 221-229.

445 Craine J. M. & Dybzinski R., 2013: Mechanisms of plant competition for nutrients,  
446 water and light. *Functional Ecology*, 27: 833-840.

447 Davison J., Opik M., Daniell T. J., Moora M. & Zobel M., 2011: Arbuscular  
448 mycorrhizal fungal communities in plant roots are not random assemblages. *Fems*  
449 *Microbiology Ecology*, 78: 103-115.

450 Dostalek T., Munzbergova Z., Kladivova A. & Macel M., 2016: Plant-soil feedback  
451 in native vs. invasive populations of a range expanding plant. *Plant and Soil*, 399:  
452 209-220.

453 Dostalek T., Pankova H., Munzbergova Z. & Rydlova J., 2013: The Effect of AMF  
454 Suppression on Plant Species Composition in a Nutrient-Poor Dry Grassland. *Plos*  
455 *One*, 8(11).

456 Dyer A. R., Fenech A. & Rice K. J., 2000: Accelerated seedling emergence in  
457 interspecific competitive neighbourhoods. *Ecology Letters*, 3: 523-529.

458 Ehrenfeld J. G., Ravit B. & Elgersma K., 2005: Feedback in the plant-soil system.  
459 *Annual Review of Environment and Resources*, 30: 75-115.

460 Gibson D. J., Connolly J., Hartnett D. C. & Weidenhamer J. D., 1999: Designs for  
461 greenhouse studies of interactions between plants. *Journal of Ecology*, 87: 1-16.

462 Hemrova L., Knappova J. & Munzbergova Z., 2016: Assessment of Habitat  
463 Suitability Is Affected by Plant-Soil Feedback: Comparison of Field and Garden  
464 Experiment. *Plos One*, 11(6).

465 Hendriks M., Mommer L., de Caluwe H., Smit-Tiekstra A. E., van der Putten W. H.  
466 & de Kroon H., 2013: Independent variations of plant and soil mixtures reveal soil  
467 feedback effects on plant community overyielding. *Journal of Ecology*, 101: 287-  
468 297.

469 Hendriks M., Ravenek J. M., Smit-Tiekstra A. E., van der Paauw J. W., de Caluwe  
470 H., van der Putten W. H., de Kroon H. & Mommer L., 2015: Spatial heterogeneity  
471 of plant-soil feedback affects root interactions and interspecific competition. *New*  
472 *Phytologist*, 207: 830-840.

473 Hol W. H. G., de Boer W., ten Hooven F. & van der Putten W. H., 2013: Competition  
474 Increases Sensitivity of Wheat (*Triticum aestivum*) to Biotic Plant-Soil Feedback.  
475 Plos One, 8(6).

476 Holzapfel C., Shahrokh P. & Kafkewitz D., 2010: Polyphenol oxidase activity in the  
477 roots of seedlings of *Bromus* (Poaceae) and other grass genera. American Journal  
478 of Botany, 97: 1195-1199.

479 Houseman G. R. & Mahoney A. K., 2015: Intraspecific seed interactions alter seedling  
480 emergence of *Lespedeza cuneata* under field conditions. Population Ecology, 57:  
481 539-544.

482 Keane R. M. & Crawley M. J., 2002: Exotic plant invasions and the enemy release  
483 hypothesis. Trends in Ecology & Evolution, 17: 164-170.

484 Klironomos J. N., 2002: Feedback with soil biota contributes to plant rarity and  
485 invasiveness in communities. Nature, 417: 67-70.

486 Knappova J., Knapp M. & Munzbergova Z., 2013: Spatio-Temporal Variation in  
487 Contrasting Effects of Resident Vegetation on Establishment, Growth and  
488 Reproduction of Dry Grassland Plants: Implications for Seed Addition  
489 Experiments. Plos One, 8(6).

490 Knappova J., Pankova H. & Munzbergova Z., 2016: Roles of Arbuscular Mycorrhizal  
491 Fungi and Soil Abiotic Conditions in the Establishment of a Dry Grassland  
492 Community. Plos One, 11.

493 Kulmatiski A., Beard K. H., Stevens J. R. & Cobbold S. M., 2008: Plant-soil  
494 feedbacks: a meta-analytical review. Ecology Letters, 11: 980-992.

- 495 Lamb E. G. & Cahill J. F., 2006: Consequences of differing competitive abilities  
496 between juvenile and adult plants. *Oikos*, 112: 502-512.
- 497 Mangla S., Inderjit & Callaway R. M., 2008: Exotic invasive plant accumulates native  
498 soil pathogens which inhibit native plants. *Journal of Ecology*, 96: 58-67.
- 499 Maron J. L., Smith A. L., Ortega Y. K., Pearson D. E. & Callaway R. M., 2016:  
500 Negative plant-soil feedbacks increase with plant abundance, and are unchanged  
501 by competition. *Ecology*, 97: 2055-2063.
- 502 Meadow J. F. & Zabinski C. A., 2012: Linking symbiont community structures in a  
503 model arbuscular mycorrhizal system. *New Phytologist*, 194: 800-809.
- 504 Padilla F. M., Mattingly W. B., Swedo B. L., Clay K. & Reynolds H. L., 2012:  
505 Negative plant-soil feedbacks dominate seedling competitive interactions of North  
506 American successional grassland species. *Journal of Vegetation Science*, 23: 667-  
507 676.
- 508 Pankova H., Munzbergova Z., Rydlova J. & Vosatka M., 2008: Differences in AM  
509 fungal root colonization between populations of perennial Aster species have  
510 genetic reasons. *Oecologia*, 157: 211-220.
- 511 Pankova H., Munzbergova Z., Rydlova J. & Vosatka M., 2014: Co-Adaptation of  
512 Plants and Communities of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Their Soil  
513 Conditions. *Folia Geobotanica*, 49: 521-540.
- 514 Petermann J. S., Fergus A. J. F., Turnbull L. A. & Schmid B., 2008: Janzen-Connell  
515 effects are widespread and strong enough to maintain diversity in grasslands.  
516 *Ecology*, 89: 2399-2406.

- 517 Rebele F., 2000: Competition and coexistence of rhizomatous perennial plants along  
518 a nutrient gradient. *Plant Ecology*, 147: 77-94.
- 519 Reinhart K. O. & Callaway R. M., 2006: Soil biota and invasive plants. *New*  
520 *Phytologist*, 170: 445-457.
- 521 Renne I. J., Sinn B. T., Shook G. W., Sedlacko D. M., Dull J. R., Villarreal D. &  
522 Hierro J. L., 2014: Eavesdropping in plants: delayed germination via biochemical  
523 recognition. *Journal of Ecology*, 102: 86-94.
- 524 Reynolds H. L., Packer A., Bever J. D. & Clay K., 2003: Grassroots ecology: Plant-  
525 microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics.  
526 *Ecology*, 84: 2281-2291.
- 527 Smith M. D., Hartnett D. C. & Wilson G. W. T., 1999: Interacting influence of  
528 mycorrhizal symbiosis and competition on plant diversity in tallgrass prairie.  
529 *Oecologia*, 121: 574-582.
- 530 Stanescu S. & Maherali H., 2017: Mycorrhizal feedback is not associated with the  
531 outcome of competition in old-field perennial plants. *Oikos*, 126: 248-258.
- 532 Teste F. P., Kardol P., Turner B. L., Wardle D. A., Zemunik G., Renton M. & Laliberte  
533 E., 2017: Plant-soil feedback and the maintenance of diversity in Mediterranean-  
534 climate shrublands. *Science*, 355: 173-180.
- 535 Tielborger K. & Prasse R., 2009: Do seeds sense each other? Testing for density-  
536 dependent germination in desert perennial plants. *Oikos*, 118: 792-800.
- 537 van der Heijden M. G. A., Bardgett R. D. & van Straalen N. M., 2008: The unseen  
538 majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial  
539 ecosystems. *Ecology Letters*, 11: 296-310.

540 van der Heijden M. G. A., Klironomos J. N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel  
541 R., Boller T., Wiemken A. & Sanders I. R., 1998: Mycorrhizal fungal diversity  
542 determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396:  
543 69-72.

544 van der Putten W. H., Bardgett R. D., Bever J. D., Bezemer T. M., Casper B. B.,  
545 Fukami T., Kardol P., Klironomos J. N., Kulmatiski A., Schweitzer J. A., Suding  
546 K. N., Van de Voorde T. F. J. & Wardle D. A., 2013: Plant-soil feedbacks: the past,  
547 the present and future challenges. *Journal of Ecology*, 101: 265-276.

548 Vanderputten W. H., Vandijk C. & Peters B. A. M., 1993: Plant-specific soil-borne  
549 diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature*, 362: 53-56.

550 Vanderputten W. H., Vandijk C. & Troelstra S. R., 1988: Biotic soil factors affecting  
551 the growth and development of *Ammophila arenaria*. *Oecologia*, 76: 313-320.

552 Weigelt A. & Jolliffe P., 2003: Indices of plant competition. *Journal of Ecology*, 91:  
553 707-720.

554

555



556 **Tables**

557 **Table 1**

558 **Effects of target species, soil type, competition type, seed density and their**  
559 **interactions on relative competition intensity (RCI) in germination phase.**

	<b>Df</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Species	1	0.40	0.527
Soil	2	2.44	0.090
Competition type	1	0.01	0.915
Seed density	<b>1</b>	<b>9.09</b>	<b>0.003</b>
Species×Soil	2	0.55	0.580
Species×Competition type	1	0.03	0.860
Soil×Competition type	<b>2</b>	<b>3.62</b>	<b>0.029</b>
Species×Seed density	1	0.08	0.778
Soil×Seed density	2	2.40	0.093
Competition type×Seed density	1	0.64	0.426
Species×Soil×Competition type	2	0.71	0.491
Species×Soil×Seed density	2	1.46	0.234
Species×Competition type×Seed density	1	0.39	0.532
Soil×Competition type×Seed density	2	0.76	0.470
Species×Soil×Competition type×Seed density	2	0.79	0.456
Residuals	216		

560

561

562 **Table 2**

563 **Effects of target species, soil type, moisture treatment and their interactions on**

564 **biomass residuals of target plants in growth phase.**

	<b>Df</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Species	1	1.74	0.190
Soil	<b>2</b>	<b>4.78</b>	<b>0.010</b>
Moisture	<b>1</b>	<b>31.79</b>	<b>&lt;0.001</b>
Species×Soil	<b>2</b>	<b>3.24</b>	<b>0.043</b>
Species×Moisture	1	0.50	0.480
Soil×Moisture	2	0.14	0.866
Species×Soil×Moisture	2	0.26	0.769
Residuals	108		

565

566

567 **Table 3**

568 **Effects of target species, soil type and moisture treatment on relative feedback**

569 **intensity (RFI) in growth phase.**

	<b>Df</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Species	<b>1</b>	<b>11.31</b>	<b>0.001</b>
Soil	<b>2</b>	<b>4.13</b>	<b>0.019</b>
Moisture	1	0.10	0.755
Species×Soil	2	2.84	0.063
Species×Moisture	1	0.86	0.355
Soil×Moisture	2	0.03	0.974
Species×Soil×Moisture	2	0.46	0.634
Residuals	108		

570

571

572 **Table 4**

573 **Effects of target species, soil type, moisture treatment, competition type,**  
574 **neighbor density and their interactions on relative competition intensity (RCI)**  
575 **in growth phase.** Non-significant triple and quadruple interactions not shown.

	<b>Df</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Species	<b>1</b>	<b>24.43</b>	<b>&lt;0.001</b>
Soil	2	1.12	0.326
Moisture	<b>1</b>	<b>6.79</b>	<b>0.009</b>
Competition type	<b>1</b>	<b>3.88</b>	<b>0.049</b>
Neighbor density	<b>1</b>	<b>30.42</b>	<b>&lt;0.001</b>
Species×Soil	<b>2</b>	<b>15.37</b>	<b>&lt;0.001</b>
Species×Moisture	1	0.85	0.356
Soil×Moisture	<b>2</b>	<b>7.67</b>	<b>&lt;0.001</b>
Species×Competition type	<b>1</b>	<b>8.77</b>	<b>0.003</b>
Soil×Competition type	2	0.31	0.732
Moisture×Competition type	1	0.55	0.458
Species×Neighbor density	1	0.56	0.454
Soil×Neighbor density	2	0.34	0.710
Moisture×Neighbor density	1	0.00	0.946
Competition type×Neighbor density	1	0.00	0.981
Species×Moisture×Competition type×Neighbor density	<b>1</b>	<b>8.56</b>	<b>0.004</b>
Residuals	432		

576

577

578 **Table 5**

579 **Effects of soil type, moisture treatment, competition type, neighbor density and**  
 580 **their interactions on relative competition intensity (RCI) in growth phase,**  
 581 **separately for each species.**

	<i>Bromus erectus</i>			<i>Inula salicina</i>	
	<b>Df</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Soil	<b>2</b>	<b>6.71</b>	<b>0.001</b>	<b>5.77</b>	<b>0.004</b>
Moisture	1	1.13	0.288	<b>4.39</b>	<b>0.037</b>
Competition type	<b>2</b>	<b>24.80</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>35.25</b>	<b>&lt;0.001</b>
Neighbor density	<b>1</b>	<b>11.83</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>16.63</b>	<b>&lt;0.001</b>
Soil×Moisture	2	1.79	0.168	<b>4.71</b>	<b>0.010</b>
Soil×Competition type	4	1.28	0.278	0.75	0.558
Moisture×Competition type	2	0.18	0.833	0.80	0.450
Soil×Neighbor density	2	0.61	0.544	0.25	0.780
Moisture×Neighbor density	1	0.26	0.613	0.30	0.583
Competition type×Neighbor density	1	0.31	0.580	0.27	0.604
Soil×Moisture×Competition type	4	0.64	0.638	0.90	0.467
Soil×Moisture×Neighbor density	2	1.46	0.234	1.17	0.310
Soil×Competition type×Neighbor density	2	1.93	0.147	0.95	0.387
Moisture×Competition type×Neighbor density	<b>1</b>	<b>5.26</b>	<b>0.023</b>	3.10	0.080
Soil×Moisture×Comp. type×Neighbor density	2	1.03	0.359	0.03	0.972
Residuals	270				

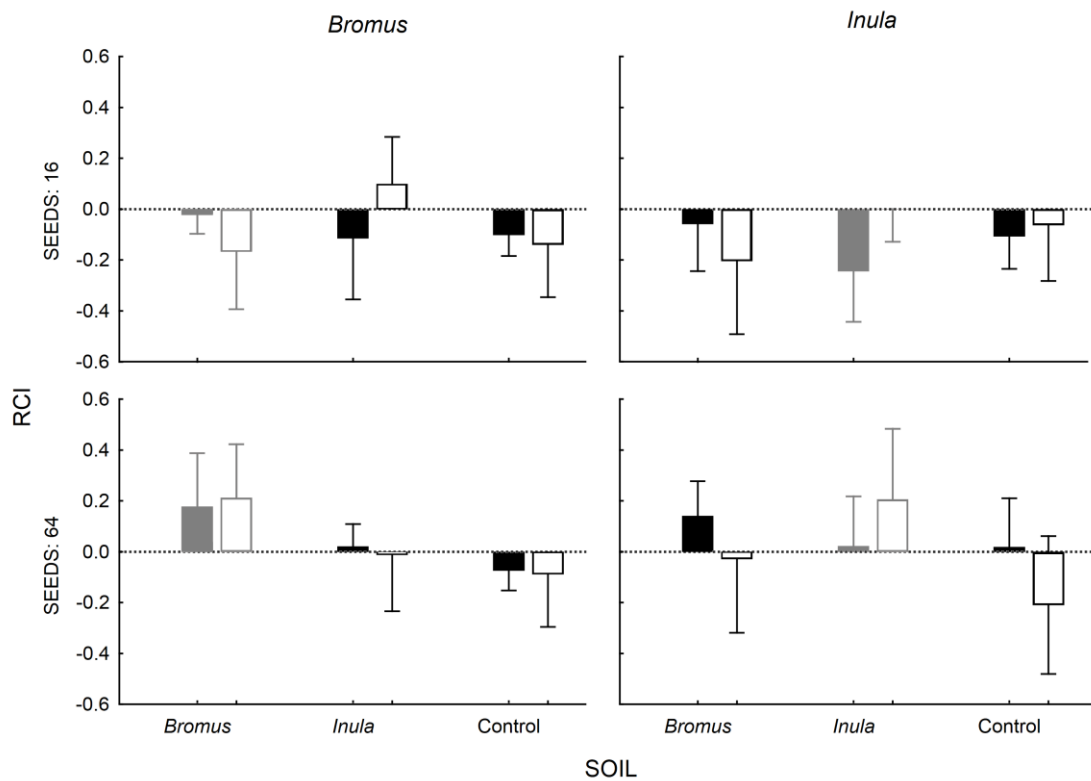
582

583

584 **Figures**

585 **Figure 1a, b**

586 **Effects of soil type and seed density on relative competition intensity (RCI, see**  
587 **Materials and methods) in germination phase.** Dotted line (zero) represents RCI  
588 average of pots with half the seed density of target species only (used as no-  
589 competition control) from the same soil. Grey bars indicate self-conditioned soil. Full  
590 bars indicate intraspecific competition. Empty bars indicate interspecific competition.  
591 Mean  $\pm$  1.96 SE shown.



592

593

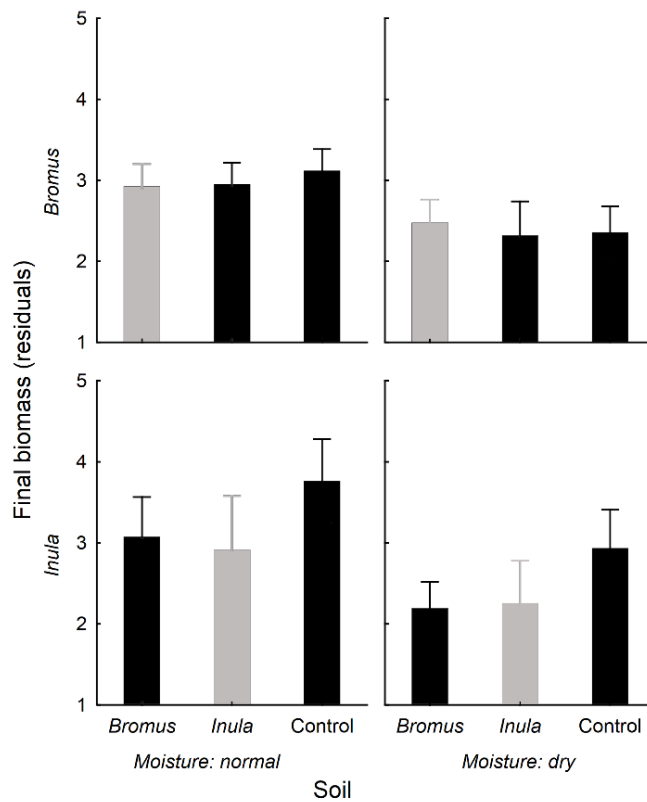
594 **Figure 2**

595 **Effects of soil type and moisture treatment on final biomass in growth phase.**

596 Biomass is expressed as residuals from regression of final biomass against initial size

597 (see Materials and methods). Grey bars indicate self-conditioned soil. Mean  $\pm$  1.96

598 SE shown.

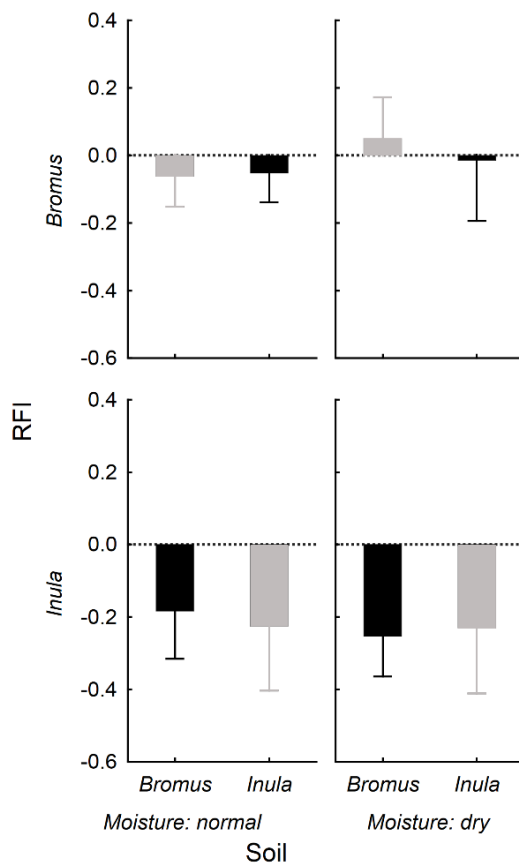


599

600

601 **Figure 3**

602 **Effects of soil type and moisture treatment on relative feedback intensity (RFI,**  
603 **see Materials and methods) in growth phase.** Dotted line (zero) represents RFI  
604 average of pots with control soil and the same moisture treatment (used as no-  
605 feedback controls). Grey bars indicate self-conditioned soil. Mean  $\pm$  1.96 SE shown.



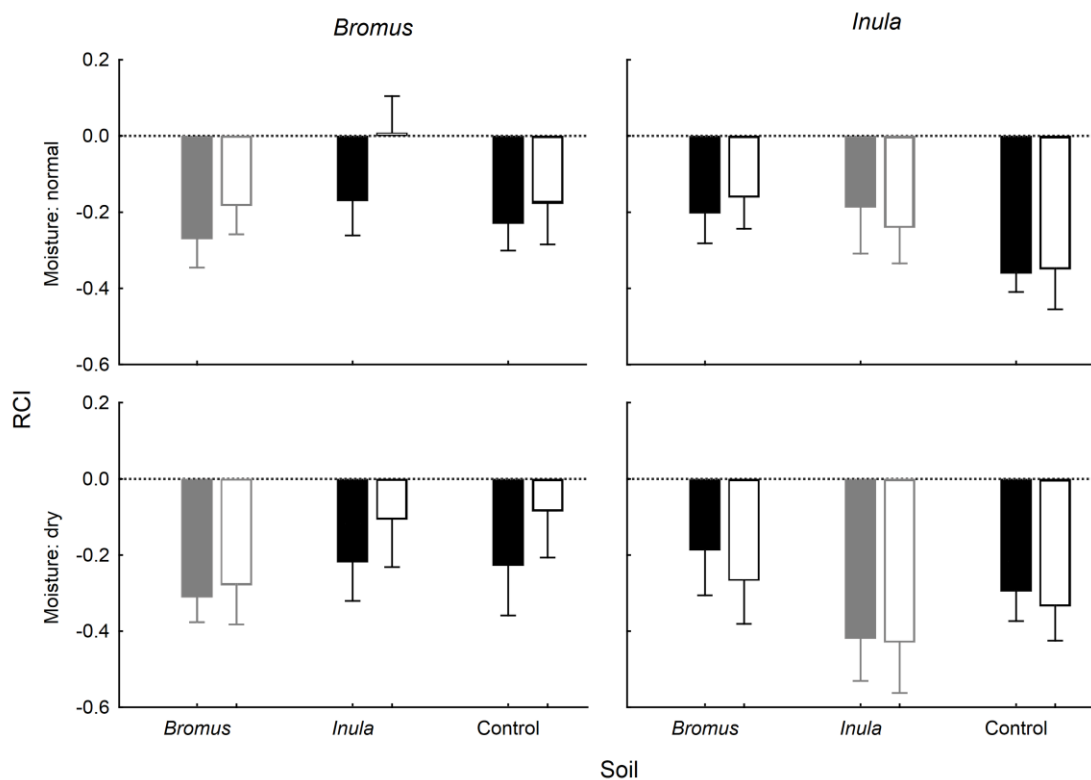
606

607



608 **Figure 4a, b**

609 **Species-specific effects of soil type and moisture treatment on relative**  
610 **competition intensity (RCI, see Materials and methods) in growth phase.** Dotted  
611 line (zero) represents RCI average of pots with one individual of target species only  
612 (used as no-competition control) from the same soil. Grey bars indicate self-  
613 conditioned soil. Full bars indicate intraspecific competition. Empty bars indicate  
614 interspecific competition. Mean  $\pm$  1.96 SE shown.



615

616

### 3. Shrnutí

Cílem této práce bylo zjistit, jestli, a případně jakým způsobem, ovlivňuje zpětná vazba mezi rostlinami a půdou kompetici mezi dvěma modelovými druhy (*Bromus erectus* a *Inula salicina*). Dalšími otázkami bylo, zda PSF ovlivňuje různě vnitrodruhovou a mezidruhovou kompetici, zda kompetice v ovlivněné půdě probíhá jinak ve stresových podmínkách a jestli se vlivy PSF projevují různě na rostlinách v různých životních fázích. Pro zjištění odpovědí na tyto otázky byl na zahradě a ve skleníku Botanického ústavu Akademie věd ČR v Průhonicích proveden kompetiční experiment v PSF ovlivněných půdách zahrnující semenáčky a dospělé rostliny. Dospělé rostliny byly pěstovány ve dvou vlhkostních režimech, aby byl zahrnut vodní stres.

Půda použitá pro experiment byla získána z obnaženého okraje polní cesty poblíž lokality studovaných druhů, bylo u ní tedy možné předpokládat minimální ovlivnění předchozím růstem rostlin. V červenci 2015 bylo touto půdou na zahradě Botanického ústavu naplněno 600 květináčů o průměru 18 cm. Následně bylo 200 z nich hustě oseto semeny *B. erectus*, 200 bylo hustě oseto semeny *I. salicina*, 200 bylo ponecháno bez rostlin jako kontrola. V dubnu 2016 byly rostliny z květináčů odstraněny. Tím byla získána půda ovlivněná růstem jednotlivých druhů.

Následující část experimentu se skládala ze dvou fází: klíčení a růst. Fáze klíčení probíhala ve skleníku. Bylo použito 300 květináčů o rozměrech 10×10 cm. Ty byly naplněny sterilním pískem asi 1,5 cm pod okraj. Na písek byla nanášena 1 cm vrstva ovlivněné půdy z květináčů v zahradě. Výsledkem bylo 100 květináčů s půdou ovlivněnou *B. erectus*, 100 s půdou ovlivněnou *I. salicina* a 100 s půdou kontrolní – neovlivněnou. Vzhledem k rozdílům v hmotnosti a klíčivosti semen studovaných druhů (viz také Hemrova *et al.*, 2016) byla použita následující metoda: semena *B. erectus* byla počítána, u semen *I. salicina* byla vždy použita odpovídající hmotnost. Semena studovaných druhů byla vyseta na povrch půdy v následujících hustotách: 8, 16, 32, 64 semen *B. erectus* (a odpovídající hmotnosti *I. salicina*) s vnitrodruhovou kompeticí, a 8+8 a 32+32 s mezidruhovou kompeticí (čísla opět značí počet semen *B. erectus* s odpovídající hmotností *I. salicina*). Semena byla rovnoměrně rozptýlena na povrch půdy v květináčích. Květináče byly zalévány několikrát denně tak, aby nedocházelo k vysychání. Experiment trval 10 týdnů, od začátku dubna do

poloviny června. Na konci experimentu byly spočítány živé semenáčky ve všech květináčích.

Pro fázi růstu byly semenáčky přesazeny do květináčů v zahradě. Byl použit experimentální design s cílovou rostlinou uprostřed a sousedícími rostlinami rozmístěnými okolo ní (target-neighbor design, Gibson et al., 1999), s cílovou rostlinou buď samotnou, se 3 sousedícími rostlinami, nebo se 6 sousedícími rostlinami. Variant kombinace druhů a hustot cílových a sousedících rostlin bylo celkem 10. Dále byly použity 3 druhy půdy, 2 vlhkostní režimy (normální a suchý) a 10 opakování, takže celkem bylo využito 600 květináčů. Po uchycení semenáčků byla polovina květináčů denně zalévána, druhá polovina byla zalévána pouze v případě více než 7 dnů bez deště nebo v případě viditelného usychání rostlin. U cílových rostlin byly na počátku experimentu spočítány listy a změřen nejdelší list pro zachycení počáteční velikostní variability. Experiment běžel 12 týdnů, poté byly všechny rostliny ostříhány přibližně 1 cm nad zemí, výsledná biomasa byla usušena a zvážena zvlášť vždy pro každou cílovou rostlinu a pro každou skupinu sousedících rostlin pocházejících z jednoho květináče.

Data byla zpracována zvlášť pro obě fáze. Ve fázi klíčení byl pro porovnání úrovní PSF v ovlivněných půdách byl vypočítán index relativní intenzity PSF (RFI) pomocí poměru úspěšně vyklíčených semenáčků a průměrného poměru úspěšně vyklíčených semenáčků stejného druhu na kontrolní půdě. Byly použity pouze květináče s nejnižší hustotou semen, u kterých byl předpoklad nulové nebo velmi malé kompetice. Pro porovnání úrovní kompetice byl vypočítán index relativní intenzity kompetice (RCI) pomocí poměru úspěšně vyklíčených semenáčků a průměrného poměru úspěšně vyklíčených semenáčků stejného druhu na stejné půdě v květináči s poloviční celkovou hustotou semen.

Ve fázi růstu byla nejprve data o výsledné biomase zbavena vlivu počáteční velikostní variability rostlin. Reziduály biomasy z tohoto modelu byly použity v následných analýzách. Pro porovnání úrovní PSF v ovlivněných půdách byl vypočítán index relativní intenzity PSF (RFI) pomocí reziduálu biomasy a průměru reziduálů rostlin stejného druhu v kontrolní půdě. Byly použity květináče s ovlivněnou půdou a se samotnou cílovou rostlinou, tedy bez kompetice. Pro porovnání úrovní kompetice byl vypočítán index relativní intenzity kompetice (RCI) pomocí reziduálu biomasy a průměru reziduálů biomasy rostlin stejného druhu

rostoucích bez kompetice ve stejné půdě a vlhkostním režimu. Byly použity květináče s kompeticí – tj. s přítomností sousedících rostlin.

Ve fázi klíčení dokázalo úspěšně vyklíčit 53,7 % semen *I. salicina*, u *B. erectus* to bylo 72,4 %. Úspěšnost klíčení nebyla ani u jednoho druhu signifikantně ovlivněna půdou, počtem semen, ani jejich interakcí. RFI nebyl signifikantně ovlivněn druhem, půdou, ani jejich interakcí. RCI byl signifikantně ovlivněn hustotou semen a interakcí půda×typ kompetice, marginální vliv byl nalezen u půdy a interakce půda×hustota semen.

V růstové fázi byly reziduály biomasy signifikantně ovlivněny půdou, vlhkostním režimem a interakcí druh×půda. Biomasa *I. salicina* byla výrazně snížena v obou ovlivněných půdách, u *B. erectus* půda na biomasu neměla téměř žádný vliv. RFI byl signifikantně ovlivněn druhem a půdou, marginálně interakcí druh×půda. Podobně jako u biomasy byl zjištěn negativní vliv u *I. salicina*, zatímco u *B. erectus* se téměř žádné vlivy PSF neprojeví. Relativní intenzita kompetice byla ovlivněna druhem, vlhkostním režimem, typem kompetice, počtem sousedících rostlin a interakcemi druh×půda, půda×vlhkostní režim, druh×typ kompetice a druh×vlhkostní režim×typ kompetice×počet sousedících rostlin. Vzhledem k výraznému vlivu druhu byla analýza provedena ještě pro oba druhy zvlášť. U *I. salicina* byl RCI ovlivněn půdou, vlhkostním režimem, typem kompetice, počtem sousedících rostlin a interakcí půda×vlhkostní režim. U *B. erectus* byla RCI ovlivněna půdou, typem kompetice, počtem sousedících rostlin a interakcí vlhkostní režim×typ kompetice×počet sousedících rostlin.

V této studii nebyly zjištěny žádné přímé vlivy PSF na uchycení semenáčků, byly nalezeny nepřímé vlivy na jejich kompetici. U dospělých rostlin byly nalezeny vlivy PSF na růst u *I. salicina* a různé vlivy PSF na kompetici u obou studovaných druhů.

Sníženou úspěšnost uchycení semenáčků v půdě ovlivněné růstem jedinců vlastního druhu předpokládá teorie (Janzen-Connellova hypotéza *sensu* Petermann et al., 2008), zároveň byla nalezena v předchozím experimentu se studovanými druhy (Hemrova et al., 2016). Její nepřítomnost v tomto experimentu mohla být způsobena některým z aspektů použitého designu (podrobněji níže). Oproti tomu růst dospělých rostlin byl signifikantně ovlivněn PSF, přičemž vliv se lišil u obou studovaných druhů.

Biomasa *I. salicina* byla výrazně nižší v obou ovlivněných půdách, zatímco u *B. erectus* se téměř nezměnila. Možným vysvětlením je rozdílnost vlastností studovaných druhů: *I. salicina* je závislá na mykorrhizní symbióze (Knappova et al., 2016), takže mohla být v tomto experimentu více ovlivněna vyčerpáním živin – vzhledem k tomu, že byla použita půda, v níž lze očekávat řídké osídlení mykorrhizními houbami. *B. erectus* se svým robustnějším kořenovým systémem naopak mykorrhizu spíše nevyužívá, bylo zjištěno, že při jejím potlačení se jeho zastoupení ve společenstvu zvyšuje (Dostalek et al., 2013).

Vlivy PSF na intenzitu kompetice (vyjádřenou RCI) byly opět rozdílné u obou studovaných druhů, přičemž oba byly v kompetici znevýhodněny při růstu v půdě ovlivněné vlastním druhem. Zajímavým výsledkem je, že vliv PSF na kompetici se lišil od vlivu na biomasu, což podporuje názor, že PSF a kompetici nelze zkoumat odděleně (Casper & Castelli, 2007).

Vzhledem k mezidruhovým rozdílům ve vztazích k půdnímu prostředí lze očekávat rozdílné vlivy PSF při srovnání vnitrodruhové a mezidruhové kompetice. U semenáčků se RCI v několika případech lišil mezi vnitrodruhovou a mezidruhovou kompeticí. Ve vysoké hustotě měla přítomnost semenáčků *B. erectus* pozitivní vliv na počet uchycených semenáčků *I. salicina* v půdě ovlivněné vlastním druhem, zatímco vliv vnitrodruhové kompetice byl naopak nejvíce negativní ze všech druhů půdy. Mohlo dojít k projevu mechanismů omezujících klíčení v případě vysoké koncentrace semen jednoho druhu (Renne et al., 2014; Houseman & Mahoney, 2015). Fakt, že k tomuto došlo pouze v půdě ovlivněné vlastním druhem naznačuje, že by fytochemikálie pocházející z dospělých rostlin mohly ovlivňovat klíčení. Výsledky tohoto experimentu také naznačují, že přítomnost semen jiného druhu může klíčení indukovat (Dyer et al., 2000). Bylo by vhodné dále ověřit, zda PSF ovlivněná půda hraje roli v mechanismech řídicích klíčení semen.

Ve fázi růstu byly oba druhy v kompetici znevýhodněny při růstu v půdě ovlivněné vlastním druhem, což vedlo k rozdílům ve vlivech na vnitrodruhovou a mezidruhovou kompetici – např. když celkově slabší kompetitor v tomto experimentu, *I. salicina*, dokázal nejlépe soupeřit s *B. erectus* v jeho vlastní půdě. Tyto výsledky tedy do určité míry podporují domněnku, že negativní vnitrodruhové PSF mohou působit proti dominanci kompetičně silných druhů ve společenstvech (Bever, 2003; Van Der Putten et al., 2013).

Změny abiotických podmínek ovlivňují u rostlin rychlost růstu a schopnost kompetice, takže mezidruhové interakce v rozdílných prostředích probíhají s různými výsledky (Rebele, 2000; Chen et al., 2013). V této studii vodní stres neměl vliv na sílu PSF. Kompetice byla stresem ovlivněna odlišně u každého druhu, pravděpodobně kvůli rozdílnosti jejich tolerancí. Růst *I. salicina* byl v suchém prostředí signifikantně zhoršen, zatímco růst *B. erectus* nebyl ovlivněn. To dále ovlivnilo mezidruhovou kompetici, *B. erectus* tím získal proti *I. salicina* výhodu v suchém prostředí. Reakce na stres se zároveň navzájem ovlivňovala s druhem a hustotou sousedících rostlin při kompetici. U *I. salicina* se v suchém prostředí rozdíl mezi účinkem kompetice dvou hustot sousedících rostlin zvyšoval, u *B. erectus* se naopak snižoval.

Výsledky této studie ukázaly vliv PSF na biomasu dospělých rostlin, zatímco přímý vliv na úspěšnost uchycení semenáčků zjištěn nebyl. Absence ovlivnění semenáčků byla neočekávaná, je v rozporu s výsledky předchozích experimentů na zahradě i v terénu (Hemrova et al., 2016). Výsledky této studie mohly být ovlivněny designem experimentu. Vrstva 1 cm ovlivněné půdy mohla být nedostatečná pro ovlivnění semenáčků – vzhledem k tomu, že vliv PSF byl ve fázi růstu významný. Je ale nutno podotknout, že, alespoň co se týče kolonizace mykorrhizními houbami a půdními patogeny, v experimentech se sterilizací půdy se k inokulaci úspěšně používají ještě menší dávky půdy (např. Pankova et al., 2014). Také je možné, že podmínky ve skleníku byly pro semenáčky natolik příznivé (plné světlo, dostatek vody, vysoká teplota), že mohly omezit projevy negativních vlivů (Renne et al., 2014), v tomto případě např. akumulace půdních patogenů. Účinky PSF také mohly zůstat neodhaleny kvůli poměrně krátkému trvání experimentální fáze klíčení. Sběr dat byl omezen nutností použít živé semenáčky v následující fázi, takže nemohly být hodnoceny např. případné účinky na biomasu. Velikostní variabilita mezi semenáčky byla viditelná (a signifikantní ve fázi růstu), ale měření nebylo proveditelné vzhledem k počtu více než 14 000 vyklíčených jedinců. Počet a hustota semenáčků také neumožňovaly přesné měření jejich úmrtnosti, ta ale byla obecně velmi nízká. Design experimentu s použitím většího množství ovlivněné půdy (jako Hemrova et al., 2016), případně vysetí semen do méně příznivých (přírodě bližších) podmínek by mohly lépe zachytit vlivy PSF na klíčení.

Tato studie zjistila, že zpětná vazba mezi rostlinami a půdou může ovlivňovat výsledky vnitrodruhové i mezidruhové kompetice, přičemž působí komplexně spolu

s dalšími faktory, jako jsou mechanismy ovlivňující klíčení nebo kompetiční schopnost daných druhů. Všechny tyto faktory mohou působit najednou, relativní síly jejich vlivů se v různých podmínkách liší, a výsledky jejich interakce se zdají být složitě předvídatelné. Pro porozumění vlivům PSF na kompetici mezi rostlinami a pro zapojení PSF do ekologické teorie na úrovni společenstev je tedy nutný další výzkum. Následný výzkum modelového společenstva této studie by se mohl zaměřit např. na zjištění, zda (a případně jakým způsobem) mohou být interakce mezi dominantními a podřízenými druhy ovlivněny PSF.

## 4. Literární zdroje

- Bever J. D., 2003: Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist*, 157: 465-473.
- Bever J. D., Westover K. M. & Antonovics J., 1997: Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology*, 85: 561-573.
- Brooker R. W., Maestre F. T., Callaway R. M., Lortie C. L., Cavieres L. A., Kunstler G., Liancourt P., Tielborger K., Travis J. M. J., Anthelme F., Armas C., Coll L., Corcket E., Delzon S., Forey E., Kikvidze Z., Olofsson J., Pugnaire F. I., Quiroz C. L., Saccone P., Schifffers K., Seifan M., Touzard B. & Michalet R., 2008: Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology*, 96: 18-34.
- Casper B. B. & Castelli J. P., 2007: Evaluating plant-soil feedback together with competition in a serpentine grassland. *Ecology Letters*, 10: 394-400.
- Chen L. P., Zhao N. X., Zhang L. H. & Gao Y. B., 2013: Responses of two dominant plant species to drought stress and defoliation in the Inner Mongolia Steppe of China. *Plant Ecology*, 214: 221-229.
- Craine J. M. & Dybzinski R., 2013: Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology*, 27: 833-840.
- de Kroon H., Hendriks M., van Ruijven J., Ravenek J., Padilla F. M., Jongejans E., Visser E. J. W. & Mommer L., 2012: Root responses to nutrients and soil biota: drivers of species coexistence and ecosystem productivity. *Journal of Ecology*, 100: 6-15.
- Dostál, J., 1989: *Nová květena ČSSR*, 2. díl. Praha, Academia.
- Dostalek T., Munzbergova Z., Kladivova A. & Macel M., 2016: Plant-soil feedback in native vs. invasive populations of a range expanding plant. *Plant and Soil*, 399: 209-220.



- Dostalek T., Pankova H., Munzbergova Z. & Rydlova J., 2013: The Effect of AMF Suppression on Plant Species Composition in a Nutrient-Poor Dry Grassland. *Plos One*, 8(11).
- Dyer A. R., Fenech A. & Rice K. J., 2000: Accelerated seedling emergence in interspecific competitive neighbourhoods. *Ecology Letters*, 3: 523-529.
- Ehrenfeld J. G., Ravit B. & Elgersm, K., 2005: Feedback in the plant-soil system. *Annual Review of Environment and Resources*, 30: 75-115.
- Gibson D. J., Connolly J., Hartnett D. C. & Weidenhamer J. D., 1999: Designs for greenhouse studies of interactions between plants. *Journal of Ecology*, 87: 1-16.
- Hemrova L., Knappova J. & Munzbergova Z., 2016: Assessment of Habitat Suitability Is Affected by Plant-Soil Feedback: Comparison of Field and Garden Experiment. *Plos One*, 11(6).
- Houseman G. R. & Mahoney A. K., 2015: Intraspecific seed interactions alter seedling emergence of *Lespedeza cuneata* under field conditions. *Population Ecology*, 57: 539-544.
- Chytrý, M., Kučera, T. & Kočí N. (eds), 2001: Katalog biotopů České republiky. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha.
- Inderjit, Wardle D. A., Karban R. & Callaway R. M., 2011: The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology & Evolution*, 26: 655-662.
- Janzen D. H., 1970: Herbivores and the Number of Tree Species in Tropical Forests. *American Naturalist*, 104: 501-528.
- Kardol P., Cornips N. J., van Kempen M. M. L., Bakx-Schotman J. M. T. & van der Putten W. H., 2007: Microbe-mediated plant-soil feedback causes historical contingency effects in plant community assembly. *Ecological Monographs*, 77: 147-162.
- Keane R. M. & Crawley M. J., 2002: Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 17: 164-170.

- Klironomos J. N., 2002: Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature*, 417: 67-70.
- Knappova J., Knapp M. & Munzbergova Z., 2013: Spatio-Temporal Variation in Contrasting Effects of Resident Vegetation on Establishment, Growth and Reproduction of Dry Grassland Plants: Implications for Seed Addition Experiments. *Plos One*, 8(6).
- Knappova J. & Munzbergova Z., 2015: Low seed pressure and competition from resident vegetation restricts dry grassland specialists to edges of abandoned fields. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 200: 200-207.
- Knappova J., Pankova H. & Munzbergova Z., 2016: Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Soil Abiotic Conditions in the Establishment of a Dry Grassland Community. *Plos One*, 11(7).
- Kulmatiski A., Beard K. H., Stevens J. R. & Cobbold S. M., 2008: Plant-soil feedbacks: a meta-analytical review. *Ecology Letters*, 11: 980-992.
- Lamb E. G. & Cahill J. F., 2006: Consequences of differing competitive abilities between juvenile and adult plants. *Oikos*, 112: 502-512.
- Larson J. L. & Siemann E., 1998: Legumes may be symbiont-limited during old-field succession. *American Midland Naturalist*, 140: 90-95.
- Lau J. A., Puliafico K. P., Kopshever J. A., Steltzer H., Jarvis E. P., Schwarzlander M., Strauss S. Y. & Hufbauer R. A., 2008: Inference of allelopathy is complicated by effects of activated carbon on plant growth. *New Phytologist*, 178: 412-423.
- Orrock J. L. & Christopher C. C., 2010: Density of intraspecific competitors determines the occurrence and benefits of accelerated germination. *American Journal of Botany*, 97: 694-699.
- Padilla F. M., Mattingly W. B., Swedo B. L., Clay K. & Reynolds H. L., 2012: Negative plant-soil feedbacks dominate seedling competitive interactions of North American successional grassland species. *Journal of Vegetation Science*, 23: 667-676.

- Pankova H., Munzbergova Z., Rydlova J. & Vosatka M., 2014: Co-Adaptation of Plants and Communities of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Their Soil Conditions. *Folia Geobotanica*, 49: 521-540.
- Petermann J. S., Fergus A. J. F., Turnbull L. A. & Schmid B., 2008: Janzen-Connell effects are widespread and strong enough to maintain diversity in grasslands. *Ecology*, 89: 2399-2406.
- Rebele F., 2000: Competition and coexistence of rhizomatous perennial plants along a nutrient gradient. *Plant Ecology*, 147: 77-94.
- Reinhart K. O. & Callaway R. M., 2006: Soil biota and invasive plants. *New Phytologist*, 170: 445-457.
- Rejmanek M. & Richardson D. M., 1996: What attributes make some plant species more invasive? *Ecology*, 77: 1655-1661.
- Renne I. J., Sinn B. T., Shook G. W., Sedlacko D. M., Dull J. R., Villarreal D. & Hierro J. L., 2014: Eavesdropping in plants: delayed germination via biochemical recognition. *Journal of Ecology*, 102: 86-94.
- Slavík B., & Štěpánková J., 2004: Květena České republiky, 7. díl. Praha, Academia.
- Tielborger K. & Prasse R., 2009: Do seeds sense each other? Testing for density-dependent germination in desert perennial plants. *Oikos*, 118: 792-800.
- van der Heijden M. G. A., Bardgett R. D. & van Straalen N. M., 2008: The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11: 296-310.
- van der Putten W. H., Bardgett R. D., Bever J. D., Bezemer T. M., Casper B. B., Fukami T., Kardol P., Klironomos J. N., Kulmatiski A., Schweitzer J. A., Suding K. N., Van de Voorde T. F. J. & Wardle D. A., 2013: Plant-soil feedbacks: the past, the present and future challenges. *Journal of Ecology*, 101: 265-276.
- Vanderputten W. H., Vandijk C. & Peters B. A. M., 1993: Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature*, 362: 53-56.

Vanderputten W. H., Vandijk C. & Troelstra S. R., 1988: Biotic soil factors affecting the growth and development of *Ammophila arenaria*. *Oecologia*, 76: 313-320.

Wedin, D. & Tilman, D., 1993: Competition among grasses along a nitrogen gradient: initial conditions and mechanisms of competition. *Ecological Monographs*, 63: 199-229.