

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra ekologie a životního prostředí



**Vliv inokulace semen rhizobakteriemi na uchycení jetelovin
v travním porostu s dominancí třtiny křovištní**

Tomáš Ritzka

Bakalářská práce předložená

na Katedře ekologie a životního prostředí

Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Jako součást požadavků

na získání titulu Bc. v oboru

Ochrana a tvorba životního prostředí

Vedoucí práce: Mgr. Jan Mládek Ph.D.

Olomouc 2014

Abstrakt

V rámci čeledi lipnicovitých patří třtina křovištní (*Calamagrostis epigejos*) mezi rostliny nejvýznamněji degradující diverzitu lučních společenstev. Tato klonální tráva s účinnou resorpcí živin vytváří silnou vrstvu pomalu se rozkládající nadzemní stařiny, která brání osídlení a růstu ostatních druhů rostlin. Doporučením ochrany přírody je pravidelná seč a podzimní hnojení těchto obvykle živinami chudých porostů, které je však velmi pracné a finančně nákladné.

Jednou z možností, jak posílit druhovou diverzitu porostů se třtinou, by mohlo být zvýšení dostupnosti živin v půdě biologickou cestou. Čeleď bobovitých patří svými vlastnostmi jako fixace vzdušného dusíku, vysoká tvorba fosfatáz a obohacování půdy o humus k jednomu z nejvíce půdu zúrodnujících rostlin. Pro experimentální otestování této hypotézy byla vybrána rozsáhlá monocenóza třtiny křovištní v sádrovcovém lomu u obce Kobeřice. Celý pokus zahrnoval osm bloků o velikosti 8 m × 5 m. V každém bloku bylo umístěno šest experimentálních ploch o velikosti 2 m × 2 m s následujícími typy zásahů: výsev semen jetele lučního (*Trifolium pratense*), tolíce vojtěšky (*Medicago sativa*) s inokulátem (rhizobakterie) a bez něj, aplikace samotného inokulátu a kontrola. Monitoring biomasy přítomných druhů proběhl v říjnu 2013 po první vegetační sezóně. Sebraná data byla vyhodnocena lineárními modely se smíšenými efekty.

Použití inokulátu nemělo vliv na množství nadzemní biomasy vysetého jetele (vojtěška se vůbec neuchytila) avšak podpořilo celkovou biomasu vysetých a spontánně se vyskytujících bobovitých. Dodané rhizobakterie zatím neměly vliv na dostupnost živin v půdě, ani nezvýšily produkci třtiny. Druhová diverzita byla po jedné sezóně pokusu zaznamenána nejnižší na plochách s vysetým jetelem.

Ačkoli výsev bobovitých nezlepšil dostupnost živin v půdě ani druhovou diverzitu, pozitivní vliv rhizobakterií na bobovité naznačuje, že výskyt některých druhů rostlin v porostech třtiny je limitován půdními poměry. Další výzkum by měl posoudit vliv bobovitých z dlouhodobé perspektivy.

Klíčová slova: biomasa, diverzita, dostupnost živin, půda, sádrovcový lom, výsev

Abstract

Within the plant family *Poaceae* Wood Small-reed (*Calamagrostis epigejos*) belongs among the species with the most decreasing diversity of grassland communities. This clonal grass with efficient nutrient resorption produces a thick layer of slowly decomposing litter, which prevents establishment and growth of other species. Nature conservation authorities recommend regular mowing accompanied by autumn fertilizer application in these nutrient impoverished habitats, which is however laborious and costly one.

One alternative to increase the plant diversity of *Calamagrostis* dominated communities could be an enhancement of soil nutrient availability with biological pathway. Family *Fabaceae* is known for species increasing the most soil fertility due to their ability to fix nitrogen, produce high levels of phosphatases and enrich soil with humus. This hypothesis was experimentally tested in the monostand of *Calamagrostis* in the gypsum quarry near Kobeřice village. Experimental design included eight blocks of 8 m × 5 m in size. Six plots having size of 2 m × 2 m with different treatments were situated at each block: sowing seeds of red clover (*Trifolium pratense*), alfalfa (*Medicago sativa*) either with *Rhizobium* inoculate or without, application of *Rhizobium* inoculate alone and control one. Monitoring of plant species biomass took place in October 2013 after the first vegetation season. Collected data were analysed with linear mixed effect models.

Use of *Rhizobium* inoculate did not affect aboveground biomass of sown *Trifolium* (*Medicago* did not establish at all), but supported overall biomass of sown and spontaneously occurring *Fabaceae*. *Rhizobium* inoculate did neither support soil nutrient availability nor increase *Calamagrostis* biomass. Plant diversity was after one season of experiment the lowest in plots with *Trifolium* sowing.

Although introduction of *Fabaceae* did not improve soil nutrient availability and plant diversity, positive effect of *Rhizobium* inoculate on *Fabaceae* indicates that occurrence of some plant species in the monostand of *Calamagrostis* is limited by soil conditions. Further research should aim on long-term effect of *Fabaceae*.

Keywords: biomass, diversity, gypsum quarry, inoculation, nutrient availability, soil, sowing

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vytvořil samostatně pod vedením
Mgr. Jana Mládka Ph.D. a jen s použitím citovaných pramenů.

V Olomouci 21. dubna 2014

.....

Obsah

Seznam tabulek	viii
Seznam obrázků	ix
Poděkování	x
1. Úvod.....	1
1.1. Problematika.....	1
1.2. Cíle práce.....	3
2. Teorie	4
2.1. Bobovité (<i>Fabaceae</i>).....	4
2.1.1. Morfologie a fyziologie.....	4
2.1.2. Strategie přežití	5
2.1.3. Význam hlízkových bakterií pro fitness	5
2.1.4. Vliv na dostupnost živin	7
2.2. Třtina křovištní (<i>Calamagrostis epigejos</i>)	7
2.2.1. Morfologie a fyziologie.....	7
2.2.2. Strategie přežití	8
2.2.3. Vliv expanze na rostlinná společenstva	9
3. Metodika	11
3.1. Lokalita.....	11
3.1.1. Geografie, geomorfologie a klima oblasti.....	11
3.1.2. Pedologie.....	12
3.1.3. Flóra a vegetace.....	12
3.2. Experiment	14
3.2.1. Design	14

3.2.1.1.	Druhy a množství osiv a rhizobakterií.....	14
3.2.1.2.	Velikost ploch a rozdělení výsevů.....	15
3.2.2.	Provedené typy zásahů.....	15
3.2.2.1.	Příprava ploch.....	15
3.2.2.2.	Výsev.....	16
3.2.2.3.	Seč a fotodokumentace.....	16
3.2.2.4.	II. Seč a sklizeň travní hmoty.....	17
3.2.2.5.	Odběr půdních vzorků a rozbor.....	18
3.3.	Statistická analýza dat.....	18
4.	Výsledky.....	19
4.1.	Zastoupení bobovitých.....	19
4.2.	Obsah živin v půdě.....	21
4.3.	Druhová skladba.....	22
4.4.	Vliv výsevu na třtinu křovištní.....	23
5.	Diskuze.....	24
5.1.	Zastoupení bobovitých.....	24
5.2.	Druhová skladba.....	26
5.3.	Vliv výsevu na třtinu křovištní.....	27
6.	Závěr.....	28
7.	Souhrn.....	29
8.	Citace.....	30-44

Seznam tabulek

Tab. 1 Množství fixovaného dusíku za rok na hektar u jednotlivých druhů bobovitých dle Procházky a Macháčkové (1998).	5
Tab. 2 Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (SD) půdních charakteristik na plochách s různými typy zásahů	21

Seznam obrázků

Obr. 1 Porost vysetého jetele lučního (<i>Trifolium pratense</i>) ve třtině.....	3
Obr. 2 Tvorba hlízky u sóji (Procházka a Macháčková 1998).....	6
Obr. 3 Porost třtiny na lokalitě sádrovcového lomu.	10
Obr. 4 Pohled na zrekultivovanou výsypku lomu.	13
Obr. 5 Rozdělení typů zásahů v blocích (A-H).....	15
Obr. 6 Pokusné plochy (blok A).	16
Obr. 7 Sklizeň a hodnocení.	17
Obr. 8 Vliv aplikace inokulátu na produkci nadzemní biomasy jetele lučního na inokulovaných a neinokulovaných plochách..	19
Obr. 9 Vliv aplikace inokulátu na produkci vytvořené biomasy všech bobovitých na inokulovaných a neinokulovaných plochách..	20
Obr. 10 Vliv aplikace inokulátu demonstruje, že nebyl zjištěn rozdíl v poměru půdního organického uhlíku k celkovému dusíku ($C_{org}:N_{tot}$) v plochách inokulovaných a neinokulovaných.	21
Obr. 11 Vliv aplikace inokulátu na druhovou rozmanitost rostlin v jednotlivých zásazích.	22
Obr. 12 Vliv aplikace inokulátu na množství nadzemní biomasy třtiny křovištní.....	23
Obr. 13 Aplikace inokulantu podpořila růst spontánně se vyskytujícího štírovníku růžkatého (<i>Lotus corniculatus</i>).	25

Poděkování

Mé obrovské díky patří mému školiteli Mgr. Janu Mládkovi, Ph.D. za pomoc při praktické a teoretické části této práce a cenné rady. Další velké díky patří vedení společnosti Gypstrend s.r.o. a především Mgr. Jance Peterkové, Ph.D. za povolení provádění pokusů v lomu. Děkuji své rodině za nemalou finanční podporu při mých studiích. Děkuji také za financování z grantů GAČR (P505/12/1390, 14-26779P).

V Olomouci 21. dubna 2014

1. Úvod

1.1. Problematika

V rámci čeledi lipnicovitých patří třtina mezi rostliny nejvýznamněji degradující diverzitu lučních společenstev. Tento jev byl pozorován v suchých trávnících (Holub et al. 2012), na lesních holosečích (Fiala 1989), či lužních loukách (Sedláková a Fiala 2001). Tato klonální tráva vytváří velké množství pomalu se rozkládající nadzemní biomasy, která brání osídlení a růstu ostatních druhů rostlin (Fiala et. al. 2004). Třtina obsazuje především volné plochy neobdělávané půdy, lesní mýtiny i neobhospodařované louky, ve kterých vytváří monocenózy. Velká ekologická amplituda dovoluje této rostlině přežít na stanovištích s různými klimatickými, světelnými a půdními poměry. Jedním z nejobávanějších faktorů je disperze lehkých semen větrem do vzdáleného okolí. Dalším faktorem je klonální šíření, kdy dokáže třtina pokrýt velká území, a to i v zapojeném porostu. Takto vytvořená síť rostlin si vzájemně pomáhá a tvoří prakticky jeden organismus na velké ploše s výrazně omezenou druhovou skladbou rostlin (Rebele a Lehmann 2001).

Dosavadní metodou ochrany přírody pro redukci porostů třtiny byla seč, a to až třikrát ročně v horizontu více jak čtyř let. Tyto pracné a finančně nákladné zásahy omezují růst třtiny, avšak také omezují reprodukci případných dalších druhů trav či bylin. Navíc příliš častá a dlouholetá seč vede k odčerpávání živin a ke zvýšení diverzity často nevede. Doporučením ochrany přírody je tedy pravidelná seč a podzimní hnojení, na které čerstvě posečené druhy neumí dostatečně rychle reagovat a ustupují (Háková et al. 2004). Dodáváním statkových či minerálních hnojiv však podstupujeme riziko možných splachů a s tím související kontaminace vod či změny půdních poměrů mimo zájmovou plochu s porostem třtiny. Takovýto přístup se mívá účinkem a vede ke ztrátám financí.

Čeď bobovitých (*Fabaceae*) patří se svými vlastnostmi jako fixace vzdušného dusíku (Hodson a Bryant 2012), tvorba fosfatáz (Venterink 2011) a obohacování půdy o humus (Tiejun et al. 2009) k jednomu z nejvíce půdu zúrodňujícím rostlinám. Toho bylo využíváno v zemědělství již od zavedení osevních postupů v 18. století. Dnes patří jeteloviny mezi základní složky osevního postupu. Fixace dusíku symbiotickými bakteriemi napomáhá bobovitým vytvářet velké množství bílkovin nutných pro růst a

zabudovaných také jako zdroj energie v semenech (Šarapatka 2010). Nitrifikační bakterie žijící v kořenových hlízkách jsou předmětem mnoha dlouhodobých studií zabývajících se uplatňováním bobovitých rostlin v zemědělství. Pro většinu druhů bobovitých jsou již dnes volně prodejné speciální bakteriální kmeny rodu *Rhizobium*. Uplatňují se při zvyšování obsahu dusíku v půdě a následném zvyšování produkce píce či semen (Zahir et al. 2003, Zafar et al. 2012).

Limitace živinami se jeví jako jeden z důležitých faktorů pro uchycení nových druhů rostlin v porostech třtiny křovištní. Jednou z možností, jak posílit druhovou diverzitu těchto porostů, je zvýšení kvality humusu a tím zvýšení dostupnosti živin rostlinám. Kvalita humusu se vyjadřuje poměrem oxidovatelného organického uhlíku k celkovému půdnímu dusíku (C:N). Hodnoty C:N < 10 jsou považovány za ukazatele dobré kvality humusu (Sánka a Materna 2004, Badía et al. 2008). Pokud je tento poměr výrazně vyšší (např. časté hodnoty jsou 13-20) pak je mineralizační schopnost půdy slabá a živiny jsou pro rostliny velmi špatně dostupné. Jelikož třtina vytváří velké množství špatně se rozkládajících rostlinných zbytků, je v těchto půdách nutné snížit podíl C:N dodáním dusíku, což by mohla zajistit introdukce rostlin (např. bobovitých) žijících v symbióze s bakteriemi fixujícími dusík. Mezi další omezení pro uchycení nových druhů rostlin v porostech třtiny křovištní patří nedostatek fosforu. Bobovité však dokážou zpřístupnit jinak nedostupný fosfor ostatním rostlinám, což nalézá využití v extenzivním zemědělství (Pei-Pei et al. 2012) ale mohlo by také nalézt využití v navozování druhově bohatých lučních společenstvech.

Další alternativou pro omezení růstu třtiny by mohlo být zastínění, jak již bylo dříve studováno *in vitro* (Gloser a Glöser 1996). Kombinace rhizobakterií a bobovitých by mohla být dobrou cestou jak vytvořit hustý vegetační kryt a tím omezit růst třtiny. Dle dosavadních poznatků se inokulace semen rhizobakteriemi jeví jako levný a účinný způsob podpory růstu bobovitých i na méně vhodných stanovištích (Tiejun et al. 2009, Pei-Pei et al. 2012).



Obr. 1 Porost vyšetého jetele lučního (*Trifolium pratense*) ve třtině.

1.2. Cíle práce

- Má aplikace rhizobakterií vliv na uchycení bobovitých v porostu třtiny křovištní?
- Mění aplikace rhizobakterií dostupnost živin v půdě?
- Jaký má vliv aplikace rhizobakterií a výsevu bobovitých na druhovou rozmanitost?
- Podporuje aplikace rhizobakterií třtinu křovištní?
- Která kombinace rhizobakterií a bobovitých má šanci stát se uplatnitelnou v navozování druhové pestrosti degradovaných porostů třtiny křovištní?

2. Teorie

2.1. Bobovité (*Fabaceae*)

2.1.1. Morfologie a fyziologie

Čeď bobovité (*Fabaceae*) je po čeledi vstavačovitých (*Orchidaceae*) a hvězdicovitých (*Asteraceae*) nejvíce zastoupenou rostlinnou čeledí na Zemi. Tato čeď čítá asi 480 – 500 rodů s 12 000 druhy, rozšířenými téměř po celém světě, ale s nulovým výskytem ve vodním prostředí. U nás se můžeme setkat ze 40 rodů se 160 druhy. (Slavík 1995). Dřevinné typy najdeme především v teplých pásech, bylinné a vývojově odvozenější dřevinné zejména v meridionálním a temperátním pásu. Listy bobovitých jsou střídavé, nejčastěji složené (jednoduše zpeřené nebo dlanitě složené), vzácněji jednoduché, palistnaté, výjimečně palisty chybějí. Květenství jsou hroznovitá, řidčeji mohou být květy jednotlivé. Korunní lístky se označují jako pavéza (*vexillum*), dvě křídla (*allae*) a člunek (*carina*) vzniklý srůstem dvou lístků. Zástupci čeledi mají oboupohlavné květy, tyčinky volné nebo srostlé, a to po deseti. V jednom kruhu buď všemi nitkami srostlé (jednobratré), nebo devět srostlých a jedna volná pod pavézou (dvoubatré). Plod bobovitých (lusk) puká dvěma chlopněmi, nebo se otvírá víčkem, případně je nepukavý, analogie nažky, nebo poltivý, analogie struku (Novák a Skalický 2009; Slavík 1995).

2.1.2. Strategie přežití

Okolo 80 % druhů bobovitých tvoří symbiózu s nitrifikační bakterií rodu *Rhizobium*. Bakterie může pokrýt rostlině až 80 % nároků dusíku. Jednotlivé druhy rhizobií jsou specializovány na určité rody bobovitých rostlin.

Tab. 1 Množství fixovaného dusíku za rok na hektar u jednotlivých druhů bobovitých dle Procházky a Macháčkové (1998).

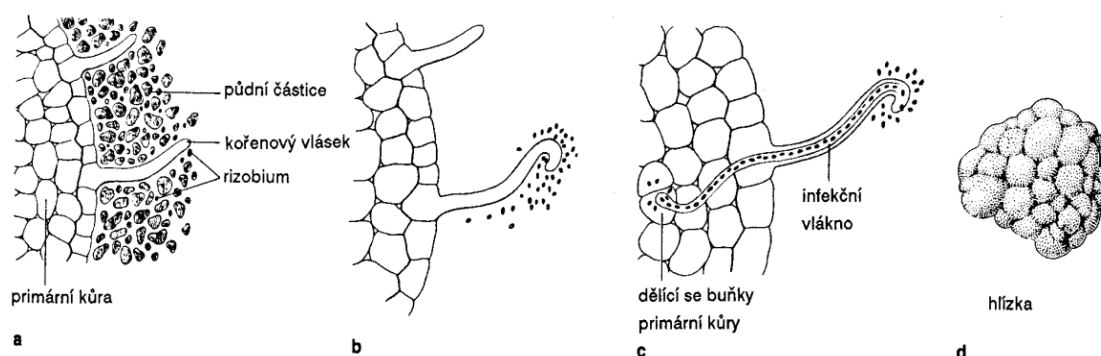
Rostliny	Druhy rodu <i>Rhizobium</i>	Množství fixovaného N ₂ kg ha ⁻¹ rok ⁻¹
Jetel (<i>Trifolium</i>)	<i>R. triforii</i>	45–340
Fazol (<i>Phaseolus</i>)	<i>R. phaseoli</i>	63–340
Čočka (<i>Lens</i>)	<i>R. leguminosarum</i>	88–114
Hrách (<i>Pisum</i>)	<i>R. leguminosarum</i>	52–77
Lupina (<i>Lupinus</i>)	<i>R. lupini</i>	142–203
Tolice (<i>Medicago</i>)	<i>R. meliloti</i>	90–340

Nejvíce druhů bobovitých tvoří symbiotický vztah s bakteriemi žijícími v hlízkách na kořenech rostlin. Tyto bakterie poskytují dusík v upotřebitelné formě pro rostliny a naopak rostliny poskytují bakteriím velké množství uhlíkatých sloučenin. Tato symbióza je velkou výhodou v půdách chudých na dusík a významně napomáhá bobovitým v kompetici s ostatními rostlinami. Bobovité však nevyužívají veškerý amonný dusík nafixovaný hlízkovými bakteriemi, ale část se uvolňuje do půdního roztoku, kde je přístupný pro ostatní rostliny a zvyšuje tak jejich produkci biomasy (Procházka a Macháčková 1998, Hodson a Bryant 2012).

2.1.3. Význam hlízkových bakterií pro fitness

Z mikroorganismů dokáže vzdušný dusík (v atmosféře tvoří 78 % objemu) využít asi jen 50 druhů bakterií a sinic. Tyto mikroorganismy využívají enzymu nitrogenázy (komplex dvou bílkovin, z nichž jedna obsahuje železo a druhá molybden se železem jako aktivátor), jenž katalyzuje redukci molekulárního dusíku na amonné ionty (NH₄⁺). Na redukci N₂ je potřeba 15 molekul ATP, a proto mikroorganismy musí mít dostatek

volné energie. Tyto bakterie žijí volně v půdě (např. *Azotobacter*) nebo v symbióze s rostlinami (např. *Rhizobium*, *Sinorhizobium*). Symbiotické bakterie rostlin čeledi *Fabaceae* jsou také přirozenými obyvateli půdy, avšak bez symbiózy s rostlinami dusík nefixují. Z půdy do kořene pronikají hlízkové bakterie kořenovým vlášením (Obr. 1a). Rostliny především bakterie přitahují enzymem tryptofanem, který je obsažen v kořenových exudátech. Působením rhizobií se tryptofan, přeměňuje na kyselinu indolyl-3-octovou, který vyvolává v rostlinách zvýšenou tvorbu pektinolytického enzymu polygalakturonázy. Tento enzym působí na kořenové vlásky, které se stávají propustnější pro hlízkové bakterie (Obr. 2b). Po infekci kořenových vlásků se bakterie rychle množí, vytvářejí tzv. infekční vlákno (slizovitou hmotu obsahující hlízkové bakterie), které proniká do buněk primární kůry (Obr. 2c). Buňky se posléze rychle množí a tvoří na kořenech hlízkou (Obr. 2d).



Obr. 2 Tvorba hlízky u sóji (Procházka a Macháčková 1998).

Do této chvíle bakterie na rostlinách pouze parazitují a čerpají z ní živiny i energii pro svůj růst. V buňkách hlízek se posléze bakterie mění na bakterioidy, které se již nemnoží. Současně se vznikem bakterioidů se syntetizuje růžový pigment leghemoglobin. Po vytvoření hlízek se mezi rostlinou a bakterií ustavuje symbióza. Rostlina poskytuje bakterii ve formě uhlíkatých asimilátů energii a naopak bakterie poskytuje rostlině dusík fixovaný ze vzduchu (Procházka a Macháčková 1998).

Symbióza bakterií má pro bobovité rostliny obrovský význam, neboť napomáhá vytvářet dostatečné množství potřebného dusíku. Tento dusík je dále rostlinou využíván k produkci bílkovin zabudovaných v jejich tělech nebo semenech. Tímto se staly bobovité významnou plodinou pro člověka (Graham a Vance 2000, Zahir et al. 2003).

Kromě fixace vzdušného dusíku rhizobakterie vytvářejí rostlinné růstové hormony (Zafar et al. 2012). Kombinací těchto složek dokážou bobovité rostliny vytvářet husté porosty, které se stávají konkurenčně silnými, zejména v prostředí, kde je produkce biomasy primárně limitována dusíkem.

2.1.4. Vliv na dostupnost živin

Některé druhy bobovitých jako například jetel luční (*Trifolium pratense*) či tolice dětelová (*Medicago lupulina*) vykazují v porovnání s ostatními druhy bylin a trav vyšší tvorbu enzymu fosfatázy v kořenech (Gardner and Boundy 1983, Venterink 2011). Tvorba fosfatázy je omezena dostupností dusíku, neboť fosfatáza je tvořena z 8–32 % právě dusíkem. Tento enzym napomáhá k lepší dostupnosti rostlinou přijatelného fosforu, čehož využívají jak samotné bobovité, tak i ostatní rostliny ve společenstvu s nimi. Výše zmíněné druhy se tedy můžou významně podílet na celkovém zúrodnění půd a to především bez dodatkového anorganického N a P.

2.2. Třtina křovištní (*Calamagrostis epigejos*)

2.2.1. Morfologie a fyziologie

Třtina křovištní je vysokou, klonální trávou tvořící tři morfotypy s různým stupněm ploidie (Krahulcová 2003). Tato tráva je stejně morfologicky variabilní jako variabilita prostředí, ve kterém žije, a to jak svou barvou, tak i výškou. S větším množstvím živin souvisí zvětšení velikosti rostliny a ztmavnutí zelené barvy listů. Výška rostliny se pohybuje od 60 do 200 cm, obvykle se 2 až 4 kolénky na stonku. Kořeny sahají až do hloubky 200 cm. Při tom největší kořenový systém je v hloubce 0–40 cm (Rebele a Lehmann 2001). Listy jsou 4 až 20 mm široké, ploché nebo svinuté, na okrajích drsné až 105 cm dlouhé. Listový jazýček je až 9 mm dlouhý a na vrcholu uťatý. Měkká lata je 15–30 cm dlouhá stříbrně zelené až hnědě fialové barvy. Větve latic jsou drsné, klásky jsou jednokvěté, 5–7 mm dlouhé při bázi pluch s věnečkem chlupů. Z hřbetu pluchy vyrůstá osina, která dosahuje téměř až ke špičce plev. Plevy jsou zhruba 5 mm dlouhé, osinkatě zašpičatělé (Sell a Murrell 1996; Hubbard 1984). Třtina má svůj původ v Eurasii a ve střední Evropě je pravděpodobně zdomácnělá (Smodi et al. 2008). Jediným přírodním místem výskytu jsou pravděpodobně písčné duny Baltského moře (Rebele a Lehmann 2001).

2.2.2. Strategie přežití

Třtina se rozmnožuje vegetativně klonálním růstem oddenků (rhizomů), které obvykle v pravidelných intervalech tvoří nadzemní výhonky (ramety). Nová rameta vzniká zhruba 5 až 15 cm od mateřské rostliny. Takto se dokáže rozšířit až o 150 cm v jednom směru za rok (Rebele a Lehmann 2001). Velká ekologická amplituda této trávy poukazuje na relativní nezávislost na speciálních typech biotopů. Roste výškově v rozmezí 0 m n. m. (pobřeží Baltského moře) až po 3800 m n. m. (Tibet). S tímto je spojená rozrůzněnost klimatických podmínek. Dále třtina obsazuje mnoho ekologických nik: písčité duny, slatiniště, zaplavovaná území, stepi, subalpínské louky, suché louky, louky po lesních holosečích a mnoho dalších. (Rebele 1996a). Třtina má také velkou toleranci k obsahu vody a živin v půdě. Avšak ve vlhčích a na dusík bohatých půdách produkuje větší množství nadzemní biomasy a semen (Holub et al. 2012).

Třtina patří mezi rostliny, které obsazují první sukcesní stadia ekosystémů. Tato tráva také žije v místech silně zamořených těžkými kovy, hnojivy, polutanty, kde vytváří monokultury (Lehmann a Rebele 2004). Vysoké depozice vzdušného dusíku, ukončení hospodaření na velkých rozlohách travních porostů a industriální areály se skrývkami hlušiny umožnily dnešní rozmach této nenáročné trávy s pomalým fenologickým vývojem (Holub et al. 2012). Rozdílné je množství vyprodukované nadzemní biomasy, které může činit v monocenózách na půdách živinami chudých 231 g m⁻² a v půdách živinami bohatých 2760 g m⁻². Hustota porostu je také závislá na místě růstu, kdy v zapojeném lese je spíše nízká a v otevřených živinami bohatých prostorech je hustota ramet vysoká (Rebele 1996b, Gloser a Gloser 1996).

Tento geofyt či hemikryptofyt (podle různých autorů) vytváří dlouhou linii internodií, které spojují jednotlivé ramety mezi sebou formou klonálního růstu tzv. guerilla strategie. Upřednostnění využití vegetativního nebo generativního rozmnožování je dáno stanovištními podmínkami. Je pravděpodobné, že třtina využívá generativní rozmnožování zejména v místech neobsazených jinými druhy rostlin a na plochách bohatých na živiny. Naopak v místech zapojeného porostu a na málo úživných půdách využívá k šíření zejména klonálního růstu (Lehmann a Rebele 1994). Jednotlivé klony jsou dlouhověké, data však nejsou zatím dostupná.

Růst kořenů se v největších hloubkách nezastavuje ani v zimních měsících a může činit až 1 mm za týden. Největšího růstu kořenů je dosaženo v období konce kvetení a to až 20 cm za týden (Janczyk-Weglarska 1997). Experimentálně bylo zjištěno, že tři klony mohou kolonizovat plochu až 10 m² za dva roky s absolutní délkou kořenů 84 m (Klebingat 1968). Hustota klonů se opět liší dle prostředí. Například smrkový les měl v Brandenburgu hustotu 142 ramet m⁻² (Müller et al. 1998) nebo úrodná půda v Berlíně 1000 ramet m⁻² (Rebelle 1996b). Největší růst listů je v květnu a červnu. Během suchých letních období listy usychají, avšak rostliny znovu za příhodných podmínek obráží a zůstávají alespoň z části zelené až do zimy. Kvetení probíhá od května do srpna a laty zůstávají na stoncích až do zimy (Janczyk–Weglarska 1997). Takto dokáže porost třtiny vytvořit až několik set tisíc semen na metr čtvereční. Semena o váze 0,1 mg jsou roznášena především větrem, ovšem zoochorie či hydrochorie není vyloučena. Dormance u těchto semen neprobíhá a semena klíčí po celý rok. I při takto velké denzitě diaspor se rozšiřování rostlin generativním rozmnožováním považuje jako okrajové a rostliny expandují do dalších biotopů spíše vegetativně (Lehmann a Rebele 1994).

2.2.3. Vliv expanze na rostlinná společenstva

Třtina se obvykle objevuje ve společenstvu se zlatobýlem kanadským (*Solidago canadensis*) nebo vratičem obecným (*Tanacetum vulgare*) (Rebele 2000). Obhospodařování prostorů vypalováním či užitím herbicidů třtinu omezuje jen v krátkém časovém úseku. Bylo prokázáno, že vápnění půd je také faktorem, kdy půdní dusík je následně lépe přístupný třtině a zásadně pomáhá k růstu. Orba je jedním z faktorů, který podporuje disperzi oddenků této trávy na velkou plochu (Rebele a Lehmann 2001).

K omezení růstu třtiny je nutná prevence a zajištění vegetačního krytu na plochách s malou semennou bankou. Zavedení mulčování čerstvou travní hmotou či výsevem jetelotravní směsi je jednou z metod omezení vzniku třtiny na tyto plochy bez vegetace (Baasch et al. 2012). Další z uplatnitelných poznatků je omezení ozáření, kdy např. v zapojených lesích je růst značně omezen (Gloser a Glöser 1996). Tvorbě monocenózy třtiny lze předejít odstraňováním půdních bloků (Rebele a Lehmann 2001). Jedním ze způsobů eliminace třtiny je také užití herbicidů a pravidelné odstraňování

nadzemní biomasy (Smodi et al. 2008). Vypásání porostů je problematické, protože třtina je pro zvířata velmi neatraktivní píce. Mezi živočichy, které třtinu požírají, patří králíci (Williams et al. 1974), jeleni sika (*Cervus nippon*) (Takatsuki 1977), koně (De Bonte et al. 1999), plemeno skotu Galloway, nenáročné na kvalitu píce (Williams et al. 1974) a prase divoké (*Sus scrofa*) požírající podzemní oddenky (Briedermann 1976). Z fytofágního hmyzu byli pozorováni na třtině různí rovnokřídlí, stejnokřídlí, brouci a housenky motýlů. (Rebele a Lehmann 2001)

Značnou výhodou třtiny je schopnost velmi efektivně zpětně resorbovat živiny z odumírající nadzemní biomasy a akumulovat je v oddencích a kořenech. Velké množství stařiny se pomalu rozkládá (a to až 5 let). Tedy, akumulace živin v zásobních orgánech a imobilizace ve stařině třtiny znemožňuje přístup k živinám ostatním rostlinám. Velký nadzemní pokryv zastíňuje ostatní rostliny a zabraňuje růstu semenáčků (Fiala et al. 2004, Holub et al. 2012). Rostlina využívá také mykorrhizy a v půdách zamořených těžkými kovy třtině symbióza s houbami napomáhá k přežití (Lehmann a Rebele 2004). Velký propojený klonální porost napomáhá třtině k vyrovnání se s nedostatkem živin či vody. Tímto způsobem dokáže fungovat jako jeden velký organismus (Holub et al. 2012).



Obr. 3 Porost třtiny na lokalitě sádrovcového lomu.

3. Metodika

3.1. Lokalita

3.1.1. Geografie, geomorfologie a klima oblasti

Pro experiment byla vybrána rozsáhlá monocenóza třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos*) v sádrovcovém lomu, který leží 1,5 km severozápadně od obce Kobeřice, okres Opava (238 m. n. m 49°59'50.65"S a 18° 2'28.27"V). Tento lom je pod správou firmy Gypstrend s.r.o. Jeho velikost je nyní cca 140 ha z čehož aktuálně těžený povrch tvoří 60 ha. Samotné experimentální plochy jsou umístěny na zrekultivované výsypce. Prvotní rekultivace (do roku 2003) spočívala ve srovnání terénu materiálem ze skrývek jiných částí lomu. V prozatímních plánech budoucí rekultivace (v roce 2016) je tato experimentální plocha označena jako písečná pláž zatopeného lomu.

Lokalita se nachází v provincii Středoevropská nížina, subprovincii Středopolská nížina, oblasti Slezská nížina, celku Opavská pahorkatina a podcelku Hlučínská pahorkatina, okrsku Kobeřická pahorkatina. V Hlučínské pahorkatině bylo prokázáno dvojí zalednění – krakovské a středopolské. Okolní reliéf vznikl na málo odolných sedimentech kontinentálního zalednění. Základním glaciálním tvarem reliéfu, vzniklým přímým působením ledovce, jsou morénové valy. Vlastním podložím jsou krystalické horniny Českého masivu a jejich paleozoický, mezozoický a paleogenní pokryv. Miocénní sedimentace začíná transgresními klastickými sedimenty, pokračuje pestrými jíly a vápnitými jíly, nad nimiž je vyvinut evaporací bývalého moře sádrovcový horizont, který se skládá ze tří poloh různé kvality. Miocénní sedimentaci ukončují písčité a vápnité jíly, na nich leží čtvrtohorní glacigenní sedimenty. Na vzniku dnešního reliéfu se podílel kontinentální ledovec, který sem pronikl od severu během pleistocénu v halštrovském a sálském glaciálu a zanechal zde mocné polohy různých typu glacigenních sedimentů (písky, štěrkopísky, štěrky, souvkové hlíny). Po jeho ústupu se vytvořil dnešní mladopleistocénní periglaciální reliéf (Žídková a Bencůrová 2011).

Území náleží do klimatické oblasti mírně teplé s průměrnou roční teplotou 7,5–8,5 °C. Roční srážkový úhrn představuje 600–700 mm. Léto je charakterizováno jako mírně suché a teplé, zima jako velmi suchá a mírně teplá. Teploty v dubnu a říjnu dosahují průměru 7–8 °C. Dlouhodobý průměrný úhrn srážek je 659 mm, s maximem v červenci (97 mm) a minimem v únoru (23 mm). Území je odvodňováno drobnými vodními toky druhého a třetího řádu. Největším vodním tokem je Oldřišovský potok

(Bílá voda), pokračující dále na území Polska, kde se vlévá do Odry (Žídková a Bencůrová 2011).

3.1.2. Pedologie

V okolí sádrovcového lomu se nachází kvartérní sedimenty (hlíny, spraše, písky a štěrky). Půdní typy jsou zde glejosoly a luvisoly, hnědozemě modální, kambizemě modální a kambizemě luvické, všechny včetně slabě oglejených forem na svahových (polygenetických) hlínách, středně těžké s těžkou spodinou, až středně skeletovité, vodozdrzné, ve spodině s místním převlhčením. Dále se v oblasti vyskytují v menší míře luvizemě modální, hnědozemě luvické včetně slabě oglejených na sprašových hlínách (prachovicích) nebo svahových (polygenetických) hlínách s výraznou eolickou příměsí, středně těžké s těžkou spodinou, s příznivými vláhovými poměry. Území patří k oblastem s nejhodnotnějšími půdami v rámci ČR s malou erozní ohrožeností. Území je zařazeno do zemědělské výrobní oblasti R 1 - řepařské - velmi dobré (Žídková a Bencůrová 2011, Mapy-prohlížení 2012 [online]).

3.1.3. Flóra a vegetace

Po prvotní rekultivaci v roce 2003 bylo dokončeno zalesnění přiléhajících svahů výsypky borovicí lesní (*Pinus sylvestris*) a dubem letním (*Quercus robur*). Zbytek plochy byl ponechán přirozené sukcesi. Dnes zde mají zastoupení různé druhy náletových dřevin jako vrba jíva (*Salix caprea*), bříza bělokorá (*Betula pendula*) a topol osika (*Populus tremula*). Bylinné patro je tvořeno zejména třtinou křovištní (*Calamagrostis epigejos*), v menších populacích zde ale také najdeme pcháč rolní (*Cirsium arvense*), vratič obecný (*Tanacetum vulgare*), mochnu husí (*Potentilla anserina*), řebříček obecný (*Achillea millefolium*) a štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*). Mechové patro není výrazněji vyvinuto. Dle fytogeografického členění ČR spadá území do Českomoravského Mezofytika. Potencionální přirozenou vegetací je 37 Lipová dubohabřina (*Tilio-Carpinetum*) a 11 Bezkolencová doubrava (*Molinio arundinaceae-Quercetum*) (Neuhäuslová 1998).

V okolním území převažují druhotné převážně smrkové nebo smíšené lesy s dominantní borovicí lesní (*Pinus sylvestris*) a ostrůvkovitým podrostem břízy bělokoré (*Betula pendula*). Křovinné patro tvoří vrba jíva (*Salix caprea*) a krušina olšová (*Frangula alnus*). Místně se objevují společenstva třtiny křovištní (*Calamagrostis*

epigejos), které preferují písčiny a suché lesy. Na lesních světlinách roste ostružiník maliník (*Rubus idaeus*), také porosty hasivky orličí (*Pteridium aquilinum*). Na vlhkých místech se nachází sítina klubkatá (*Juncus conglomeratus*) a sítina sivá (*J. inflexus*). Na okraji lesů najdeme konopici pýřitou (*Galeopsis pubescens*), heřmánkovec nevonný (*Tripleurospermum innodorum*) a starček lepkavý (*Senecio viscosus*). V okolních pozůstatcích lesních porostů v dotčeném území najdeme kromě dominantních, vysazených dřevin (smrk) i vtroušeniny dubu letního, třešně ptačí, případně lípy a klenu, v podrostu pak kalinu, trnku, ostružiník, bez, hloh. Bylinné patro je dnes druhově chudé. V blízkosti hnojených pozemků a rumišť se projevuje nežádoucím způsobem eutrofizace. Na březích drobných vodních toků se vyskytují kopřiva dvoudomá, bršlice kozí noha, hluchavka skvrnitá, zlatobýl kanadský, pcháč oset, šťovík tupolistý, vratič obecný (Geo portal 2013, Žídková a Bencúrová 2011).

Potenciální luční vegetací jsou: T1.1 Mezofilní ovsíkové louky - *Mesic Arrhenatherum* meadows, T1.3 Poháňkové louky – *Cynosurus* pastures, T1.4 Aluviální psárkové louky - Alluvial *Alocepurus* meadows, T1.5 Vlhké pcháčové louky - Wet *Cirsium* meadows (Chytrý et al. 2010).



Obr. 4 Pohled na zrekultivovanou výsypku lomu.

3.2. Experiment

3.2.1. Design

3.2.1.1. Druhy a množství osiv a rhizobakterií

Pro experiment byly zvoleny dva druhy osiv.

Jetel luční (*Trifolium pratense*) odrůda Start je obchodním produktem firmy Oseva uni a.s.. Jedná se o ranou diploidní odrůdu, která je 2-3 sečná s dvouletou užitkovostí. Odrůda dává vysoký výnos zelené hmoty a semene, vhodná do jetelotravních směsí, do lučních a pastevních porostů nebo čistosevů ve všech výrobních oblastech (Nabídka osiv 2003 [online]).

Tolice vojtěška (*Medicago sativa*) odrůda Oslava je obchodním produktem firmy Agrogen spol. s r.o. Jedná se o ranou až středně ranou syntetickou odrůdu s vyšší symbiotickou fixací vzdušného dusíku. Vyniká odolností proti patogenům cévního vadnutí a hád'átku zhoubnému, je vyšší a dává vysoké výnosy zelené i suché hmoty. Plastická odrůda vhodná do ochranných pásem zdrojů pitné vody (menší potřeba anorganického dusíku) a do úsporných systémů hospodaření (Nabídka osiv 2003 [online]).

Jetel luční byl vyset v množství 6 345 semen m^{-2} . Vojtěška setá byla vyseta v množství 6 188 semen m^{-2} . Celkem tedy v každé pokusné ploše 4 m^{-2} bylo vyseto 25 380 semen (tj. 50 g) jetele a 24 752 semen (tj. 50 g) vojtěšky.

Pro inokulaci byly vybrány rhizobakterie firmy Rhizobium pod obchodním názvem Rizobin (Rizobin 2008 [online]). Jedná se o směs rhizobakterií na rašelinném nosiči (Bashan 1998), který se aplikuje na určité druhy bobovitých před výsevem. Aplikace by měla dle údajů výrobce zvyšovat hektarové výnosy z očkovaných plodin o 7–20 %.

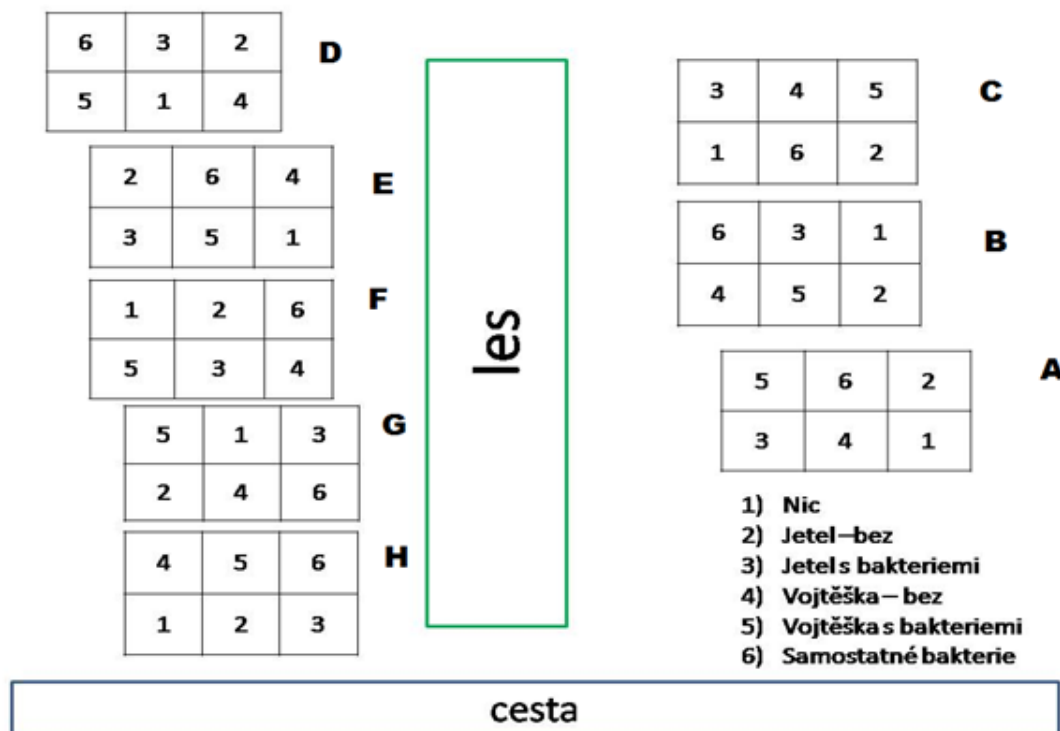
Semena obou druhů byla těsně před výsevem ošetřena zmíněným inokulátem. A to sice tak, že 50 g semen bylo vloženo do čisté skleněné nádoby, kde se osivo smíchalo s jednou polévkovou lžící rhizobakterií čistým dřevěným kolíčkem. Po smíchání byla semena zcela pokryta inokulátem.

3.2.1.2. Velikost ploch a rozdělení výsevů

Celý pokus zahrnoval osm bloků (označeny písmeny) o velikosti 8 m × 5 m. V každém bloku bylo umístěno šest experimentálních ploch o velikosti 2 m × 2 m s různými typy zásahů. Mezi jednotlivými plochami byla vždy ponechána mezera o velikosti 1 m.

Typy zásahů:

1. Bez výsevu
2. Jetel bez rhizobakterií
3. Jetel s rhizobakteriemi
4. Vojtěška bez rhizobakterií
5. Vojtěška s thiobakteriemi
6. Pouze rhizobakterie



Obr. 5 Rozdělení typů zásahů v blocích (A-H).

3.2.2. Provedené typy zásahů

3.2.2.1. Příprava ploch

K založení experimentu byla vybrána jedna z ploch zrekultivované výsypky v jižní části sádrovcového lomu firmy Gypstrend. Zde 24. 4. 2013 byly vyměřeny jednotlivé bloky

v pokud možno nejvíce homogenním porostu třtiny křovištní, se stejnou orientací východ - západ. Následovalo vysečení všech ploch kosou co nejbliže u půdního povrchu, posléze byla posečená hmota shrabána a odklizená. Také byly odstraněny roztroušené náletové dřeviny vykopáním a srovnáním povrchu.



Obr. 6 Pokusné plochy (blok A).

3.2.2.2. Výsev

Dne 25. 4. 2013 byly bloky s jednotlivými zásahy označeny ocelovými hřeby s podložkami, pro možné následné dohledání ploch detektorem kovů. Poté proběhlo důkladné vyhrabání stařiny a následoval výsev bobovitých dle předem zvoleného designu. Výsev byl proveden ručně, kdy osivo s rhizobakteriemi, bez nich či samotné rhizobakterie byly rovnoměrně vysety a následně zapraveny hráběmi.

3.2.2.3. Seč a fotodokumentace

Dne 14. 5. 2013 byly plochy vykolíčkovány pro snadnější monitoring a fotodokumentaci.

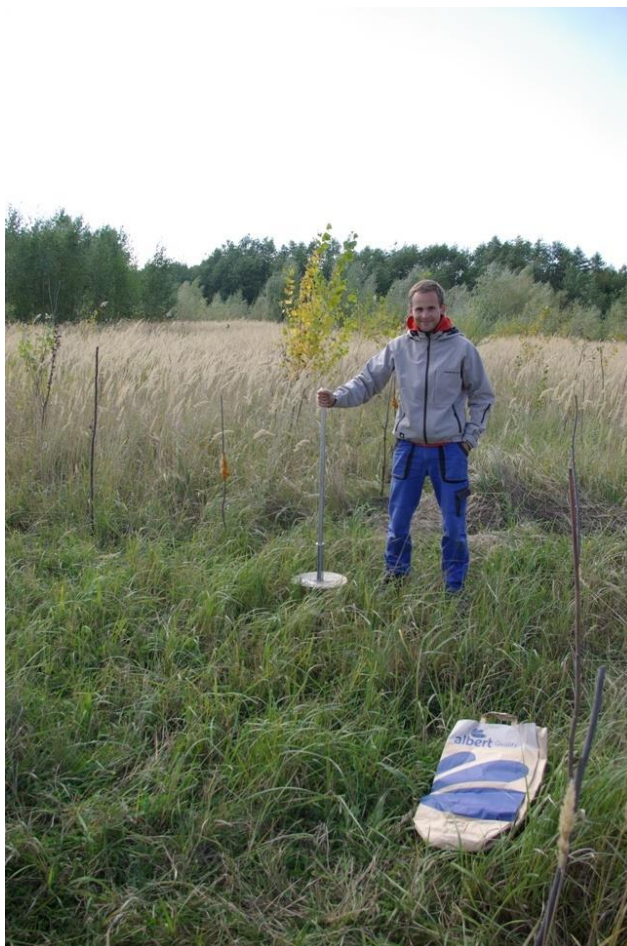
Dne 8. 6. 2013 byly bloky ohraničeny pachovými ohradníky proti divoké zvěři.

Dne 15. 7. 2013 byla kosou posečena a následně odstraněna všechna nadzemní biomasa ve výšce 10 cm nad zemí ze všech experimentálních ploch. Dle Jenifer et al. (2012),

může symbióza mezi rhizobakteriemi a bobovitou rostlinou přerůst v parazitizmus pokud bobovité trpí nedostatkem slunečního záření.

3.2.2.4. II. Seč a sklizeň travní hmoty

Ve dnech 4. a 5. 10. 2013 proběhl monitoring vegetace v jednotlivých typech zásahů. V prvním kroku byla zjišťována celková pokryvnost všech rostlin dle metodiky fytoocenologického snímkování a výška porostu. V druhém kroku následovalo zdokumentování zastoupení jednotlivých druhů a sklizení nadzemní biomasy ručními nůžkami na plot ve výšce 5 cm nad povrchem půdy. Ve třetím kroku byla biomasa z jednotlivých zásahů zvážena v čerstvém stavu a následně převezena do sušárny kde byla sušena po dobu 12 hodin. Poté byla suchá biomasa zvážena a opět zaznamenána.



Obr. 7 Sklizeň a hodnocení.

3.2.2.5. Odběr půdních vzorků a rozbor

Dne 26. 10. 2013 byly Edelmanovým vrtákem odebrány půdní vzorky a to vždy po dvou vzorcích z každého typu zásahu. Následovalo rozložení a vysušení půdních vzorků volně rozložením na papír v suché místnosti. Po usušení byly odděleny větší částice jak 2 mm přes síto a jednotlivé vzorky hmotnosti 200 g byly odeslány na půdní rozbor do laboratoře Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Chomutově. Zde byla stanovena dostupnost základních prvků (P, K, Ca, Mg) rostlinám dle metodiky Mehlich 3 (Mehlich 1984), dále pak pH (CaCl_2), obsah organického uhlíku oxidací dichromanem draselným (Black 1965) a celkového dusíku metodou dle Kjeldahla (AOAC 1984).

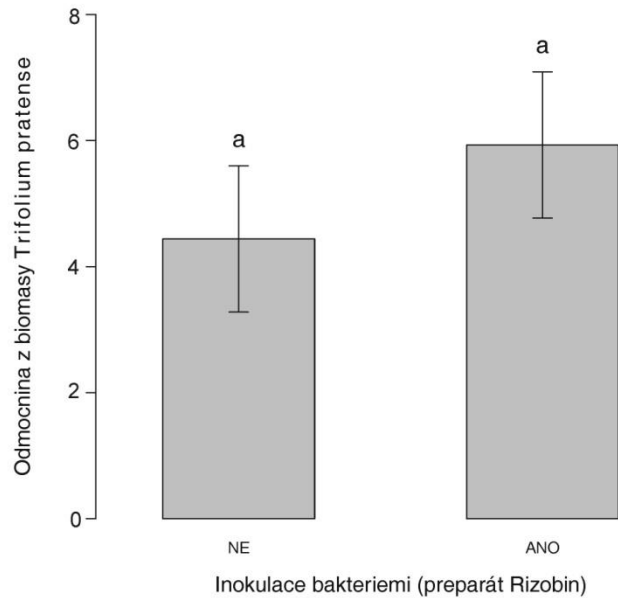
3.3. Statistická analýza dat

Mezi nezávislé proměnné patřil typ zásahu tj. výsev jetele, vojtěšky a to buď s rhizobakteriemi či bez nich a také výsev bakterií samotných, nebo binárně kódovaná aplikace inokulátu (0: typ zásahu 1, 2, 4; 1: 3, 5, 6 dle schématu na Obr. 5). Jako závislé proměnné byly použity množství biomasy bobovitých, počet druhů rostlin, půdní charakteristiky (C:N) a množství biomasy třtiny.

Data byla analyzována lineárními modely se smíšenými efekty (Pekár a Brabec 2008), kde blok byl modelován jako faktor s náhodným efektem a inokulace bakteriemi resp. typ zásahu jako faktory s pevnými efekty. Všechny analýzy byly provedeny v programu R 2.15.0 (www.r-project.org) s využitím balíku „nlme“ (Pinheiro et al. 2012).

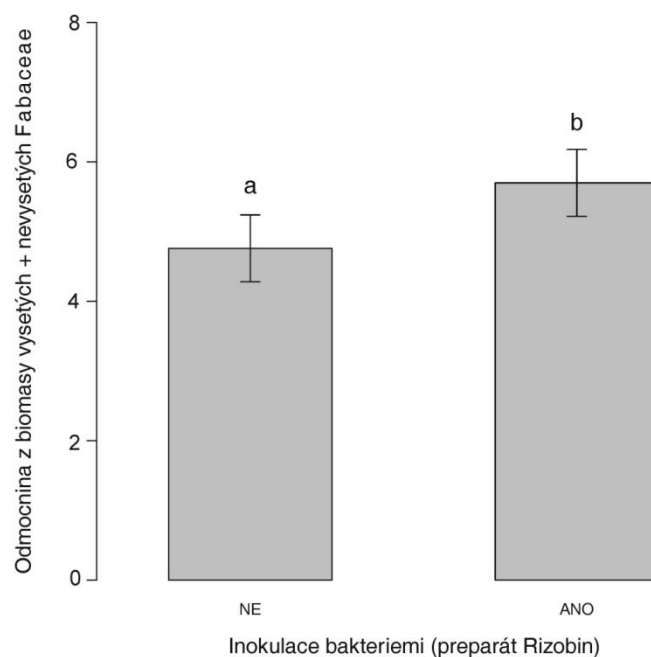
4. Výsledky

4.1. Zastoupení bobovitých



Obr. 8 Vliv aplikace inokulátu na produkci nadzemní biomasy jetele lučního na inokulovaných a neinokulovaných plochách. Data v grafu jsou transformována - neukazují tedy absolutní množství biomasy. Chybové úsečky jsou střední chyby průměru (SE).

V žádné z ploch nebylo nalezeno významné množství vojtěšky (*Medicago sativa*). Obr. 8 ukazuje, že nebyl rozdíl mezi množstvím vytvořené biomasy vyšetěho jetele lučního při použití rhizobakterií a bez nich (16 ploch, $DF = 1/7$, $F = 1.66$, $P = 0.24$).



Obr. 9 Vliv aplikace inokulátu na produkci vytvořené biomasy všech bobovitých na inokulovaných a neinokulovaných plochách. Data v grafu jsou transformována - neukazují tedy absolutní množství biomasy. Chybové úsečky jsou střední chyby průměru (SE).

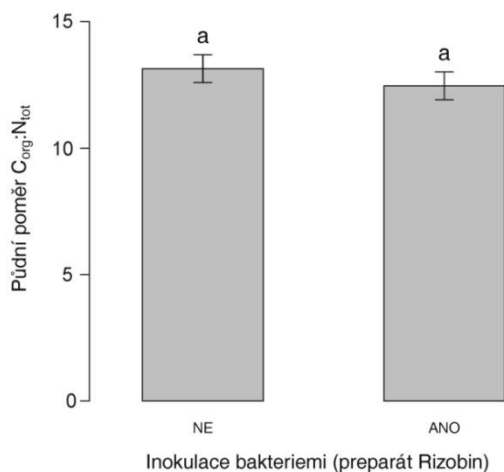
V pokusných plochách s aplikací inokulátu bylo zaznamenáno vyšší množství biomasy vyšetých i nevyšetých bobovitých oproti plochám bez aplikace (Obr. 9, odmocninová transformace, 48 ploch, $DF = 1/39$, $F = 3.83$, $P = 0.05$).

4.2. Obsah živin v půdě

Tabulka 2 prezentuje půdní charakteristiky na experimentálních plochách, které po jedné sezóně dosud nevykazovaly významné rozdíly. Přestože se průměrné hodnoty u některých prvků značně lišily, tak směrodatné odchylky indikovaly velkou variabilitu mezi bloky.

Tab. 2 Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (SD) půdních charakteristik na plochách s různými typy zásahů

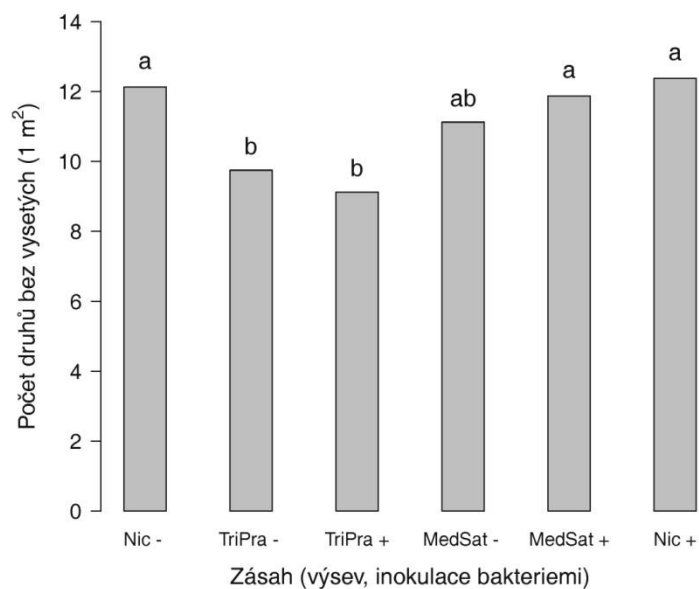
zásah	pH	Obsah přijatelných živin mg kg ⁻¹ půdy v sušině				
		P	K	Ca	Mg	C:N
1	6.65 (0.23)	4.1 (2.3)	120 (39)	10745 (3705)	126 (66)	12.83 (3,17)
2	6.66 (0.15)	5.2 (2.9)	128 (31)	9976 (3277)	127.3 (35.5)	13.58 (3,13)
3	6.68 (0.15)	5 (4.1)	119 (30)	10314 (3641)	135.2 (38.2)	12.22 (3,09)
4	6.68 (0.15)	8.6 (6.2)	96 (36)	6528 (3059)	98.4 (47.4)	18.56 (3,07)
5	6.59 (0.28)	7.5 (8.2)	108 (28)	10340 (2795)	127.8 (59.8)	12.69 (3,04)
6	6.81 (0.17)	4.7 (2.6)	111 (21)	6904 (3312)	129.2 (21)	13.19 (3,01)



Obr. 10 Vliv aplikace inokulátu demonstruje, že nebyl zjištěn rozdíl v poměru půdního organického uhlíku k celkovému dusíku (C_{org}:N_{tot}) v plochách inokulovaných a neinokulovaných. Data v grafu jsou transformována - neukazují tedy absolutní množství biomasy. Chybové úsečky jsou střední chyby průměru (SE).

Není rozdíl v poměrech půdního uhlíku k dusíku v plochách, ve kterých byly / nebyly použity rhizobakterie (48 ploch, $DF = 1/39$, $F = 1.54$, $P = 0.22$).

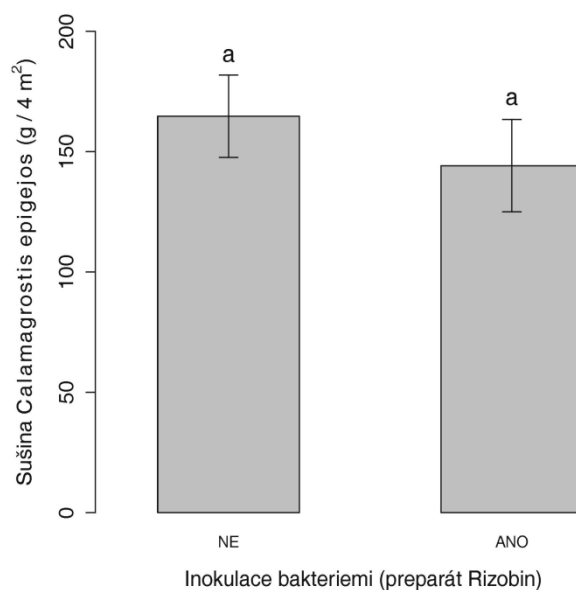
4.3. Druhov \acute{a} skladba



Obr. 11 Vliv aplikace inokulátu na druhovou rozmanitost rostlin v jednotlivých zásazích. Data v grafu jsou transformována - neukazují tedy absolutní množství biomasy.

Na Obr. 11 je patrné, že plochy s vřsevem inokulovaného i neinokulovaného jetele lučního dosahovaly nižší druhové rozmanitosti než ostatní plochy (48 ploch, $DF = 5/35$, $F = 2.89$, $P = 0.03$).

4.4. Vliv výsevu na třtinu křovištní



Obr. 12 Vliv aplikace inokulátu na množství nadzemní biomasy třtiny křovištní. Data v grafu jsou transformována - neukazují tedy absolutní množství biomasy. Chybové úsečky jsou střední chyby průměru (SE).

Z Obr. 12 je zřejmé, že aplikace rhizobakterií neměla vliv na množství vytvořené nadzemní biomasy třtiny. (48 ploch, DF = 1/39, F = 1.14, P = 0.29)

5. Diskuze

Tento výzkum byl zaměřen na otestování podpůrné funkce komerčních preparátů s rhizobakteriemi pro růst bobovitých rostlin, jejichž větší uplatnění v porostech s dominancí třtiny křovištní by mělo vyvolat změny v půdních poměrech a zvýšení dostupnosti živin. Na experimentálních plochách s šesti typy zásahů byl také sledován počet druhů cévnatých rostlin a analyzován případný vliv aplikace rhizobakterií na třtinu. Experiment trval šest měsíců od dubna 2013 (vytyčení ploch, vysečení, vyhrabání stařiny a aplikace jednotlivých zásahů) do začátku října 2013 (monitoring druhového složení, odběr biomasy a vzorků půdy). Analýzy ukázaly, že je možné zvýšit množství biomasy vyprodukované vysetými i spontánně se vyskytujícími bobovitými za pomoci inokulace půdy rhizobakteriemi. Dále jsem zaznamenal mírné zlepšení dostupnosti živin při použití rhizobakterií, což však nebylo prozatím statisticky významné. Počet druhů byl na plochách s inokulantem nižší a inokulace neměla vliv na množství vytvořené biomasy třtiny.

5.1. Zastoupení bobovitých

Ačkoli se na všech plochách po výsevu objevily první děložní lístky tisíců semenáčků vojtěšky, do podzimního monitoringu přežilo pouze jedno procento, a to v bloku E (zásah č. 4) a H (zásah č. 5). Vysoká mortalita semenáčků nastala z důvodů půdních podmínek (Rotrekl a Babinec 2006). A sice to mohla být pravděpodobně vysoká hladina spodní vody a vysoká utuženost půdy. Tento první výsledek dává najevo nevhodnost použití vojtěšky v porostech třtiny v zamokřených habitatech.

Analýzou biomasy jetele (obr. 8) bylo zjištěno, že není rozdíl v růstu jetele na plochách s inokulovaným osivem a na plochách bez inokulátu. Absence vlivu inokulátu na růst jetele by mohla souviset s faktem, že použitý preparát se sice vyrábí z českých bakteriálních kmenů, ale výroba byla přemístěna do podstatně odlišných podmínek ve Velké Británii (Rizobin 2008 [online]). Z tohoto důvodu bakterie mohou posléze fungovat jinak u nás než v Británii. Na snížení účinku preparátu se také mohlo podílet počasí, které je v dané lokalitě poslední léta stále extrémnější. Především v době výsevu byla zvětšena ozónová díra, která má za důsledek zvýšené množství dopadajícího UV záření, což rhizobakterie poškozuje (Bashan 1998). Ačkoliv byly použity pachové

ohradníky, jistý vliv dle pozorovaného okusu rostlin, měla také divoká zvěř (srnci, zajíci, králíci).

Na obr. 9 lze pozorovat vyšší biomasu všech bobovitých (vysetých i spontánně se vyskytujících) při použití preparátu. Mezi nejčastější druhy bobovitých vzešlých z půdní semenné banky ploch patřil štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*, Obr. 13), komonice bílá (*Melilotus alba*), jetel pochybný (*Trifolium dubium*), j. zvrhlý (*T. hybridum*), j. prostřední (*T. medium*), j. ladní (*T. campestre*), j. luční (*T. pratense*), j. plazivý (*T. repens*) a vikev čtyřsemenná (*Vicia tetrasperma*). Tato informace může nalézt uplatnění v příštích studiích zaměřených na výběr správné kombinace druhu bobovité rostliny a rhizobakteriálního inokulátu.



Obr. 13 Aplikace inokulantu podpořila růst spontánně se vyskytujícího štírovníku růžkatého (*Lotus corniculatus*).

Půda na pokusných plochách, není typická pro danou oblast, neboť se jedná o půdu ze skrývek (z jiných částí lomu). Tento nedávno uměle vytvořený půdní substrát (rekultivace v roce 2003) se vyznačoval velkou diverzitou skeletovitosti, utuženosti a barvy. Toto mohlo být zapříčiněno smísením půdních horizontů při skrývkách a následné rekultivaci.

Dle Tab. 2 se jednalo o střední půdu s neutrální půdní reakcí (pH průměrně 6,65). Dále se půda vyznačovala nízkým obsahem fosforu, vyhovujícím obsahem draslíku a hořčíku a vysokým obsahem vápníku dle indikátorů kvality půd pro travní porosty sestavené Sáňkou a Maternou (2004) pro účely Ministerstva Životního prostředí ČR. Nízká dostupnost fosforu byla v mém experimentu pravděpodobně limitující pro růst bobovitých i symbiózu s rhizobakteriemi. V mé studované lokalitě byla velmi vysoká hladina vápníku v půdě, což mělo za následek vyvázání fosforu do vodou-nerozpustného apatitu (Lambers et al. 2012). V těchto půdách chudých na fosfor se dle mého pozorování (Obr. 13) dařilo především štírovníku růžkatému, což odpovídá studii Scotta a Charltona (1983) o nenáročnosti této bobovité rostliny na fosfor, a ukazuje na možnost jeho dalšího uplatnění v půdách chudých na tento prvek.

Srovnáním poměrů C:N (Obr. 10) v plochách s použitými rhizobakteriemi a bez nich ukázalo, že aplikace inokulantu (průkazně podporující růst všech bobovitých) dosud neměla zásadní vliv na mineralizační poměry v půdě. To by mohlo být dáno krátkým časovým obdobím, ve kterém bobovité s rhizobakteriemi mohly půdní poměry výrazně ovlivnit. Nicméně, mírné snížení poměru C:N vlivem použití inokulantu splňuje předpoklady a větší (signifikantní) rozdíly mezi plochami lze očekávat v dalších letech. Dosavadní hodnoty C:N (průměrně 12–13) ukazují na nízkou dostupnost anorganického dusíku pro rostliny. Ve studiích půd mírného pásu Evropy se běžně uvádí dobrá dostupnost dusíku při C:N < 10 (Sáňka a Materna 2004, Badía et al. 1998)

5.2. Druhov^á skladba

Rekultivace výsypky, na které probíhal výzkum, spočívala pouze ve srovnání terénu a použití dřevin na zpevnění svahů. Vývoj vegetace na rovných plochách byl ponechán přirozené sukcesi. Na mnou studované ploše 192 m² se nacházelo celkem 58 druhů rostlin. Jednalo se především o ruderalní druhy, z nichž vysoké zastoupení měly zejména nežádoucí neofyty jako např. turanka kanadská (*Conyza canadensis*), turan roční (*Erigeron annuus*), zlatobýl kanadský (*Solidago canadensis*), vrbovka žláznatá (*Epilobium ciliatum*).

Předpokládané zvýšení druhové diverzity při použití jetelovin a rhizobakterií se neprojevílo, což mohlo být dáno zvýšením druhové rozmanitosti všech ploch jako následek posečení a odstranění stařiny dvakrát v sezóně. Po tomto prosvětlení původní

monocenózy třtiny vyklíčilo ze semenné banky poměrně velké množství ruderálních druhů, které však z hlediska ochrany přírody nejsou zajímavé. Naopak bylo zjištěno (Obr. 11), že druhová diverzita byla snížena na úkor vysetého jetele (s rhizobakteriemi i bez nich). Tento trend by však měl být, dle mých poznatků, z dlouhodobého hlediska opačný. Jeteloviny obecně vydrží na stanovišti jen určitý počet let a v dlouhodobém časovém horizontu je nahrazují jiné druhy jedno a dvouděložných rostlin (Campbel 1927, Rezervy ve výnosech [online]). Řada studií ukázala, že s růstem dostupnosti živin (především dusíku a fosforu) se mění druhová skladba lučních společenstev. Je nutné tedy znát náročnost zájmových rostlin na živiny a podle nich uvažovat o vhodném managementu daného biotopu (Klír et al. 2007, Hálková et al. 2004).

5.3. Vliv výsevu na třtinu křovištní

Hypoteticky se bylo možno obávat také zvýšení produkce nadzemní biomasy třtiny při aplikaci rhizobakterií. Jeteloviny za pomoci rhizobakteriálních fixátorů dokážou dusík poskytnout dalším rostlinám a právě třtina dokáže velmi účinně využívat dusík v půdě, jak ukázaly studie řešící vliv atmosférických depozic na růst třtiny (např. Holub et al. 2012). Třtina však vyprodukovala méně biomasy na plochách s aplikací inokulantu i když ne významně odlišně od ostatních ploch. Mírně nižší produkce třtiny na plochách s bakteriemi lze vysvětlit vyšší konkurencí o živiny a světlo s bobovitými, které byly inokulantem podpořeny.

6. Závěr

Studium používání rhizobakteriálních kmenů bobovitých je dnes velmi populární a jde ruku v ruce s vývojem zemědělství. Dobré výsledky při aplikaci bakterií v podobě zvýšené produkce semen bobovitých či píce pro dobytek jsou dobře známé a hojně využívané. Je dobré mít na paměti, v jaké lokalitě budeme bobovité uplatňovat. Důležitým zjištěným faktem je využívání především druhů, které již v lokalitě rostou. V mém případě to byl především jetel zvrhlý, štírovník růžkatý či komonice bílá. Osivo těchto bobovitých rostlin je relativně dobře k sehnání a může zastat podobnou funkci biologického způsobu zúrodnění půdy jako jetel či vojtěška, které byly použity na mých pokusných plochách. Důležitá však bude další spolupráce s výrobcí inokulačních přípravků pro tyto druhy rostlin, neboť většina druhů bobovitých má své specifické rhizobakteriální kmeny. Jak již bylo v úvodu zmíněno, očekáváním introdukce bobovitých bylo zvýšení celkové druhové diverzity rostlin na úkor expanzivních trav, tj. třtiny křovištní. To se sice po jedné sezóně nepotvrdilo, naopak aplikace inokulantu měla negativní vliv na druhovou rozmanitost. Tento výsledek by však neměl být chápán negativně, neboť inokulantem podpořené bobovité rostliny zabránily většímu rozvoji neofytních druhů.

Úspěšnost využití tohoto managementu tedy závisí na správné determinaci bobovitých, které již na lokalitě rostou a následně s nimi, za použití rhizobaterií, dále pracovat. Předpokládám, že pokud by bylo využito správné kombinace bobovitých rostlin a dobrého načasování přisevu do třtiny, může být tímto způsobem z dlouhodobé perspektivy vytvořeno druhově bohaté společenstvo. Očekávám, že toto společenstvo se bude pro svou atraktivitu z hlediska kvality píce regulovat pastvou volně žijících býložravců. Takto stanovený management je finančně náročnější v iniciálním stádiu, avšak dlouhodobé náklady na potlačování třtiny oproti doporučené několikanásobné každoroční seči by měly být výrazně nižší.

Výsledky mého výzkumu jsou prvním pionýrským krokem pro další studium uplatňování bobovitých s jejich symbiotickými bakteriemi pro obnovu druhově bohatých společenstev biologickou cestou. Následujícím krokem bude v diplomové práci otestovat, zdali kombinace bobovitých s poloparazitickými druhy rostlin rodu kokrhel (*Rhinanthus* spp.) dokáže potlačit třtinu křovištní lépe než bobovité samotné.

7. Souhrn

Tento výzkum byl založen pro otestování vlivu komerčně prodávaných preparátů s rhizobakteriemi na uchycení a produkci nadzemní biomasy jetelovin v travních porostech. Tato práce je součástí širšího výzkumu řešícího, zda je možné v extrémně druhově chudých porostech expanzivní trav (jako je např. třtina křovištní) rozproudit koloběh živin výsevem bobovitých rostlin a nastartovat tímto „paradoxním“ způsobem obnovu druhově bohaté louky.

V terénním experimentu založeném v dubnu 2013 v sádrovcovém lomu firmy Gypstrend Kobeřice (okres Opava) byl v říjnu 2013 proveden monitoring druhového složení vegetace a změřena produkce nadzemní biomasy jetelovin, třtiny a ostatních druhů.

- Pokusem bylo zjištěno, že aplikace rhizobakterií nepodpořila produkci biomasy vysetého jetele lučního.
- Výsev vojtěšky nebyl hodnocen z důvodu velmi malého zastoupení v plochách při říjnovém monitoringu.
- Aplikace bakterií měla vliv na produkci biomasy všech bobovitých rostlin (vysetých + spontánně se vyskytujících).
- Aplikace bakterií zatím nezvýšila dostupnost živin v půdě.
- Aplikace bakterií snížila druhovou diverzitu na úkor vysetého jetele.
- Aplikace bakterií nezvýšila produkci nadzemní biomasy třtiny křovištní.

8. Citace

- AOAC (1984) Official Methods of Analysis 14 th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC
- Baasch A., Kirmer A., Tischew S. (2012): Nine years of vegetation development in a postmining site: effects of spontaneous and assisted site recovery. – *Journal of Applied Ecology*. 49:251–260.
- Badía D., Marti C., Sánchez Ch.R., Fillat F., Aguirre J., Gómez D. (2008) Influence of livestock soil eutrophication on floral composition in the Pyrenees mountains. – *Journal of Mountain Science*. 5:63–72.
- Bashan Y. (1998): Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. – *Biotechnology Advances*. 16:729–770.
- Black C.L. (1965) Methods of Soil Analysis, Part I and II. American Society of Agronomy, Inc Publisher, Medison, Wisconsin
- Campbell E. (1927): Wild legumes and soil fertility – *Ecology* 8 (4):480–483
- Chytrý M., Kučera T., Kočí M., Grulich V. Lustyk P. (2010): Katalog biotopů České republiky (druhé vydání). Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, s. 165, 170, 174.
- De Bonte A.J., Van Der Hagen H.G.J.M., Sýkora K.V. (1999): Vegetation development influenced by grazing in the coastal dunes near The Hague, The Netherlands. – *Coastal Conservation* 5:59–68.
- Fiala K. (1989): Underground biomass of three typical grass stands growing on areas deforested by air pollution. – *Ekológia* 8(2):105–116
- Fiala K., Záhora J., Tůma I., Holub P. (2004): Importance of plant matter accumulation nitrogen uptake and utilization on expansit of tall grasses (*Calamagrostis epigejos* and *Arrhenatherum elatius*) into an acidophilus dry grassland. – *Ekológia*. 23/3:225–240.
- Gloser V., Gloser J. (1996): Acclimation of *Calamagrostis epigejos* and *C. arundinacea* to ganges in radiation environment. – *Phytosynthetica*. 32(2):203–212.
- Gardner, W.K., Boundy, K.A., 1983. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. IV. The effect of interplanting wheat and white lupin on the growth and mineral composition of the two species. *Plant Soil* 70, 391–402.

- Graham P. H., Vance C. P. (2000): Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. – *Field Crops Research*. 65:93–106.
- Háková A., Klauďisová A., Sádlo J. (eds.) (2004): Zásady péče o nelesní biotopy v rámci soustavy Natura 2000. PLANETA XII, 3/2004 – druhá část. Praha: Ministerstvo životního prostředí.
- Hodson J., Bryant J. (2012): *Functional Biology of Plants*. Wiley-Blackwell. s. 139–142.
- Holub P., Tůma I., Záhora J., Fiala K. (2012): Different nutrient use strategies of expansive grasses *Calamagrostis epigejos* and *Arrhenatherum elatius*. – *Biologia*. 67/4: 673–680.
- Hubbart C.E. (1984): *Grasses. A Guide to Their Structure, Identification, Uses, and Distribution in the British Isles*. Harmondsworth: Penguin Books. s.476.
- Janczyk-Weglarska, J. (1997): An ex situ ecological experiment on the morphological and developmental variation of *Calamagrostis epigejos* (Poaceae). *Fragmenta Floristica et Geobotanica*. 42:239–247.
- Jenifer A.L., Ewan J.B., Lowell E.G., Paul A.G., Elizabeth A.M., Whitney M.O., Jilliam W., Ryan T.Y. (2012): Direct and interactive effects of light and nutrients on the legume-rhizobia mutualism. – *Acta Oecologica*. 39:80–86
- Krahulcová A. (2003): Chromosome numbers in selected monocotyledons (Czech Republic, Hungary, and Slovakia). – *Preslia*. 77:339–354.
- Klír J., Kunzová E., Čermák P. (2007): *Rámcová metodika výživa rostlin a hnojení*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., v ÚZEI, (2. aktualizované vydání), 52 s.
- Lambers H., Bishop J.J., Hopper S.D., Laliberté E., Zúniga F. (2012) Phosphorus-mobilization ecosystem engineering: the roles of cluster roots and carboxylate exudation in young P-limited ecosystems. – *Annals of Botany*. 110:329–348.
- Lehmann C., Rebele F. (1994): Zum Potential sexueller Fortpflanzung bei *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth – *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*. 23: 445–450.
- Lehmann C., Rebele F. (2004) Evaluation of heavy metal tolerance in *Calamagrostis epigejos* and *Elymus repens* revealed copper tolerance in a copper smelter

population of *C. epigejos*. – Environmental and Experimental Botany. 51:199–213

Mapy-prohlížení. *GeoPortal*. [online]. ©2012–2013 [cit. 2014–01–14]. Dostupné z: <http://geoportal.gov.cz/web/guest/map/>

Mehlich A. (1984) Mehlich no 3 soil test extractant - a modification of Mehlich no 2. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 15:1409–1416

Müller J., Bolte A., Beck W., Anders S. (1998) Bodenvegetation und Wasserhaushalt von Kiefernforstökosystemen (*Pinus sylvestris* L.). – *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*. 28:407–414

Novák J., Skalický M. (2009): *Botanika, Cytologie, histologie, organologie a systematika*. Praha: Powerprint. s. 243–247.

Nabídka osiv. *Oseva uni a.s. Choceň*. [online]. © 2003–2013 [cit. 2014–01–14]. Dostupné z: <http://www.osevauni.cz/osiva/>

Neuhäuslová Z. (1998): *Mapa potenciální přirozené Vegetace České republiky*. Praha: Academia. s. 341.

Pei-Pei M., Lin-Guo G., Ping W., Jian-Cheng H., Hui-Ying L., Peter Ch., Long L. (2012): Maize/faba bean intercropping with rhizobia inoculation enhances productivity and recovery of fertilizer P in a reclaimed desert soil. – *Field Crops Research*. 130:19–27

Pinheiro J., Bates D., DebRoy S. (2012): *Linear and nonlinear mixed effects models*. R package version 3.1 - 103.

Procházka S., Macháčková I. (1998): *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia. s. 217–219

Rebele F. (1996a): *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth auf antropogenen Standorten – ein Überblick. – *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*. 26:753–763

Rebele F. (1996b): *Konkurrenz und Koexistenz bei ausdauernden Ruderalpflanzen*. Hamburg: Dr. Kovac. s. 191

Rebele F. (2000): Competition and coexistence of rhizomatous perennial plants along a nutrient gradient. – *Plant Ecology*. 147:77–94.

Rebele F., Lehmann C. (2001): *Biological Flora of Central Europe: Calamagrostis epigejos* (L.) Roth. – *Flora*. 196: 325–344.

Rezervy ve výnosech. *Úroda* [online]. Profi-Press s.r.o., 20013 [cit. 2014-04-11]. Dostupné z: <http://uroda.cz/rezervy-ve-vynosech/>

- Rizobin. *Rizobin* [online]. 2008 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.rizobin.cz/>
- Rotrekl J., Babinec J. (2006): Je obtížné pěstovat vojtěšku? – *Agro* 7:55–57
- Sáňka M., Materna J. (2004): Indikátory kvality zemědělských a lesnických půd ČR. *Planeta* 2004: Ministerstvo životního prostředí. 12/11
- Scott D., Charlton J.F.L. (1983): Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) as a potential dryland he Herbage legume in New Zeland. – *Proceedings of the New Zeland Grassland asociaton.* 44:98–105.
- Sedláková, I., Fiala, K., 2001: Ecological problems of degradation of alluvial meadows due to expanding *Calamagrostis epigejos*. *Ekológia.* 20 (3):226-233.
- Sell P. a Murrell G. (1996): *Flora of Great Britain and Ireland.* Cambridge: Cambridge University Press. Volume 5, Butomaceae – Orchidaceae. s. 440.
- Slavík B. (1995): *Květena ČR 4.díl.* Praha: Academia. s. 326–516 .
- Smodi I., Virágh K., Podani J. (2008): The effect of the expansion of the clonal grass *Calamagrostis epigejos* on the species turnover of a semi-arid grassland. – *Applied Vegetation Science.* 11: 187–192.
- Šarapatka B. (2010): *Agroekologie, Východiska pro udržitelné zemědělské hospodářství.* Olomouc: Bioinstitut, o.p.s.. s.292–304.
- Takatsuki S. (1977): Ecologica studies about the effect of Sika deer (*Cervus nippon*) on vegetation. 1. Evaluation of grazing intensity of Sika deer on the vegetation in Kinkazan Island, Japan. – *Ecological Review.* 18: 233–250.
- Tiejun Z., Yunwen W., Xianguo W., Quanzhen W., Jianguo H. (2009): Organic carbon and nitrogen stocks in reed meadow soils converted to alfalfa fields. – *Soil and Tillage Research.* 105:143–148.
- Venterink H.O. (2011): Legumes have a higher root phosphatase aktivty than other forbs, particularly under low inorganic P and N supply. – *Plant Soil.* 347:137–146.
- Williams O.B., Wells T.C.E., Wells D.A. (1974): Grazing management of Wodwalton Fen: Seasonal ganges in the diet of cattle and rabbits. – *Journal of Applied Ecology.* 11:499–516.
- Zafar M., Abbasi M.K., Khan M.A., Khaliq A., Sultan T., Aslam M. (2012): Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on growth, nodulation and nutrient accumulation of lentil under controlled conditions. – *Pedosphere.* 22:848–859.

Zahir A.Z., Arshad M., Frankenberger W.T. (2003): Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. – *Advances in Agronomy*. 81:97–168.

Žídková P., Bencúrová H.K. (2011): Vyhodnocení vlivů územního plánu obce Kobeřice na trvale udržitelný rozvoj. obec Kobeřice. s. 65.