

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



**Fakulta životního
prostředí**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Dynamika společenstev mykorhizních hub na kořenech vybraných
dřevin v průběhu primární sukcese na hnědouhelné výsypce**

*Community dynamics of mycorrhizal fungi associated with roots of selected tree
species during primary succession of post-mining heaps*

Vedoucí práce: Ing. Karel Boublík, Ph.D.

ve spolupráci s odborným konzultantem RNDr. Ing. Liborem Mrnkou, Ph.D. z

Oddělení mykorhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR

Bakalant: Zuzana Zrnová

2015

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ekologie

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zuzana Zrnová

Aplikovaná ekologie

Název práce

Dynamika společenstev mykorhizních hub na kořenech vybraných dřevin v průběhu primární sukcese na hnědouhelné výsypce

Název anglicky

Community dynamics of mycorrhizal fungi associated with roots of selected tree species during primary succession of post-mining heaps

Cíle práce

Cílem bakalářské práce je popsat dynamiku mykorhizních hub na kořenech vybraných dřevin v průběhu primární sukcese na hnědouhelných výsypkách na Sokolovsku. Dostupná chronosekvence zahrnuje cca 50-leté období spontánní sukcese výsypek. V práci bude položen důraz na ektomykorhizní houby, ale hodnocena bude i frekvence výskytu arbuskulárně mykorhizních a endofytických hub.

Metodika

Pro popis společenstev mykorhizních hub budou použity dva přístupy. Pomocí přímého mikroskopu budou analyzovány barvené preparáty kořenů vybraných dřevin (vrba jíva, bříza bělokorá) odebraných na plochách různého sukcesního stáří. Plochy odpovídají průběhu spontánní sukcese výsypek o celkovém rozpětí odebírané chronosekvence cca 50 let. Tento přístup umožní posouzení míry kolonizace kořenů jednotlivými skupinami mykorhizních a endofytických hub. Druhý přístup zahrnuje stereomikroskopickou analýzu ektomykorhizních hub vyskytujících se na kořenech zmíněných dřevin na základě morfologických kritérií. Pro tento účel budou použity kořeny dřevin vysazených do květináčů s půdním substrátem z různě starých sukcesních stadií výsypek. Tento přístup umožní rozlišení a kvantifikaci jednotlivých morfofypů ektomykorhizních hub v průběhu chronosekvence.

Doporučený rozsah práce

asi 20 stran + přílohy

Klíčová slova

bříza bělokorá, mykorrhiza, sukcese, vrba jíva, výsypky

Doporučené zdroje informací

- Blaalid R, Carlsen TOR, Kumar S, Halvorsen R, Ugland KI, Fontana G & Kauserud H (2012) Changes in the root-associated fungal communities along a primary succession gradient analysed by 454 pyrosequencing. *Molecular Ecology* 21: 1897-1908.
- Cazares E, Trappe JM & Jumpponen A (2005) Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15: 405-416.
- Fleming LV (1985) Experimental study of sequences of ectomycorrhizal fungi on birch (*Betula* SP.) seedling root systems. *Soil Biology and Biochemistry* 17: 591-600.
- Frouz J, Keplin B, Pizl V, et al. (2001) Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences. *Ecological Engineering* 17: 275-284.
- Frouz J, Prach K, Pizl V, et al. (2008) Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology* 44: 109-121.
- Gebhardt S, Neubert K, Wöllecke J, Münzenberger B & Hüttl RF (2007) Ectomycorrhiza communities of red oak (*Quercus rubra* L.) of different age in the Lusatian lignite mining district, East Germany. *Mycorrhiza* 17: 279-290.
- Ishida TA, Nara K, Tanaka M, Kinoshita A & Hogetsu T (2008) Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to their ecological traits during primary succession. *New Phytologist* 180: 491-500.
- Nara K, Nakaya H, Wu B, Zhou Z & Hogetsu T (2003) Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. *New Phytologist* 159: 743-756.
- Smith SE & Read DJ (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd edition 1-605.
- Snajdr J, Dobiasova P, Urbanova M, Petrankova M, Cajthaml T, Frouz J & Baldrian P (2013) Dominant trees affect microbial community composition and activity in post-mining afforested soils. *Soil Biology & Biochemistry* 56: 105-115.
- Sourkova M, Frouz J, Fettweis U, Bens O, Hüttl RF & Santruckova H (2005) Soil development and properties of microbial biomass succession in reclaimed post mining sites near Sokolov (Czech Republic) and near Cottbus (Germany). *Geoderma* 129: 73-80.
- van der Heijden EW (2001) Differential benefits of arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal infection of *Salix repens*. *Mycorrhiza* 10: 185-193.
-

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Ing. Karel Boublík, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 1. 4. 2014

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 1. 4. 2014

prof. Ing. Petr Sklenička, CSc.

Děkan

V Praze dne 18. 03. 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením Ing. Karla Boublíka, Ph.D ve spolupráci s odborným konzultantem RNDr. Ing. Liborem Mrnkou, Ph.D. z Oddělení mykorhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR. Uvedla jsem všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Praze dne

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především RNDr. Ing. Liborovi Mrnkovi, Ph.D, Ing. Karlovi Boublíkovi, Ph.D, RNDr. Tomášovi Frantíkovi, CSc. a RNDr. Janě Rydlové, Dr. a Mgr. Josefovi Brechlerovi za to, že mi věnovali svůj čas, ochotu a trpělivost při zhotovení mé práce.

Abstrakt

Cílem mnou předkládané bakalářské práce je přispět k objasnění komplexních procesů, ke kterým dochází během primární sukcese vegetace na hnědouhlené výsypce. Konkrétně jsem se zaměřila na studium vlivu sukcesního stáří na symbiotické houby na kořenech dvou pionýrských dřevin osidlujících tento typ stanoviště během spontánní sukcese. O dynamice symbiotických hub je zatím známo poměrně málo, ačkoli pravděpodobně hraje významnou roli jak při etablování rostlinného společenstva, tak při pedogenezi. Z experimentálních ploch na Velké podkrušnohorské výsypce byly odebrány vzorky kořenů jívy *Salix caprea* a břízy *Betula pendula*. Dostupná chronosekvence zahrnuje 12, 20, 30 a 50 leté plochy. Vzorky kořenů byly po obarvení analyzovány mikroskopicky. Kořeny břízy byly celkově více kolonizované symbiotickými houbami než kořeny jívy. Míra kolonizace ektomykorhizních (EcM) hub se lišila v závislosti na věku sukcesních ploch. U obou dřevin byla nejvyšší kolonizace EcM pozorována u raných stadií sukcese a k poklesu došlo kolem 30 roku chronosekvence, což koreluje s výraznou změnou půdních poměrů v tomto období vývoje výsypky (tvorba A horizontu, změna humusové formy z mor na mull, změna poměru biomasy bakterie:houby aj.). Kolonizace endofytními DSE houbami byla pozorována až u starších stadií sukcese (30 a 50-leté plochy) a byla signifikantně vyšší u břízy ve srovnání s jívou. V přítomnosti třtiny *Calamagrostis epigejos* byly kořeny jívy kolonizovány arbuskulárními (AM) houbami výrazně více než v její nepřítomnosti což ukazuje na „nurse“ efekt třtiny. Překvapivá je signifikantně vyšší kolonizace jívy EcM houbami v přítomnosti třtiny a to zejména s ohledem na v literatuře uváděný převážně negativní vztah mezi AM a EcM.

Klíčová slova

Betula pendula, *Salix caprea*, arbuskulární mykorhiza, ektomykorhiza, narušené půdy po těžbě, chronosekvence, interakce mezi mykorhizními hostiteli.

Abstrakt

The goal of my Bachelor thesis is to contribute to the knowledge of the processes that occur during primary vegetation succession on post-mining heaps. I studied dynamics of symbiotic fungi colonizing fine roots of the two pioneer tree species propagating in this type of habitat, goat willow *Salix caprea* and silver birch *Betula*

pendula. Unlike vegetation succession, the bellowground processes including changes in communities of symbiotic fungi are still relatively unknown. Yet symbiotic fungi not only influence plants establishment and diversity but contribute also to the soil formation. Experimental plots are on the Great heap in Sokolov area. From this area willow and birch roots were sampled. The sampled plots were 12, 20, 30 a 50 years old. The root samples were stained and analysed by light microscopy. The results show that birch is colonized by symbiotic fungi to larger extent than willow. I also observed significant effect of chronosequence. The highest colonization by ectomycorrhizal (EcM) fungi occurred in the early successional stages and there was drop of colonization in 30 y old stage. This finding correlates with the profound changes in soil parameters observed between 20-30y of chronosequence (formation of organic soil horizon, shift from mor to mull humus form, increase of bacterial:fungal mass ratio etc.). DSE colonization was present only since 30 y old stage and was more frequently observed in birch compared to willow. Closer inspection of co-occurrence of arbuscular mycorrhizal (AM) host *Calamagrostis epigejos* with willow revealed that the imminent grass presence increased colonization of willow roots by AM. Surprisingly next to the increased AM colonization, EcM colonization of the willow roots was augmented as well contradictory to generally accepted negative relationship between AM and EcM fungi.

Keywords

Betula pendula, *Salix caprea*, arbuscular mycorrhiza, ectomykorrhiza, soil after mining, chronosequence.

Obsah

1	Úvod.....	11
2	Cíle práce	12
3	Literární rešerše.....	13
3.1	Hnědouhelné výsypky jako modelové území primární sukcese vegetace... 13	
3.2	Procesy, k nimž dochází během primární sukcese vegetace na hnědouhelných výsypkách	14
3.3	Význam symbiotických hub pro strukturu rostlinného společenstva.....	16
3.4	Stručná charakterizace hlavních typů symbióz hub s kořeny rostlin	18
3.4.1	Mykorhizní symbiózy (s důrazem na ektomykorhizu a arbuskulární mykorhizu)	18
3.4.2	Endofytické symbiózy (se zaměřením na DSE).....	20
3.5	Ekofyziologická role symbiotických hub	20
3.6	Dynamika společenstev symbiotických hub	22
4	Metodika	23
4.1	Odběr a zpracování vzorků.....	23
4.1.1	První experiment: vliv stáří sukcese na mykorhizní kolonizaci.....	23
4.1.2	Druhý experiment: transekt jíva-třtina	23
4.2	Statistické analýzy	24
4.2.1	První experiment	24
4.2.2	Druhý experiment.....	25
5	Charakteristika studijního území.....	26
5.1	Lokalizace	26
5.2	Půdní poměry	27
5.3	Organismy a rostlinný pokryv	28
5.3.1	Vegetace.....	28

5.3.2	Živočichové.....	28
6	Výsledky	29
6.1	První experiment	29
6.2	Lineární model	30
6.2.1	Tukey HSD test.....	31
6.3	Kruskal-Wallisův test.....	31
6.3.1	Druhý experiment.....	32
6.3.2	Lineární regrese.....	32
6.3.3	Kruskal-Wallisův test.....	33
7	Diskuze.....	33
8	Závěr	35
9	Přehled literatury a použitých zdrojů	36
10	Přílohy.....	39
10.1	První experiment.....	39
10.1.1	Druhý experiment.....	42

1 Úvod

Mykorhiza je jednou z významných složek půdní bioty. Ovlivňuje nejen růst jednotlivých rostlin, které vstupují do symbiózy s mykorhizními houbami, ale také skladbu rostlinného společenstva a procesy měnící obsah látek v půdě. Mimo jiné hraje významnou úlohu při rostlinné sukcesi. Její studium může pomoci objasnit komplexní proces, ke kterému dochází během primární sukcese vegetace na stanovištích narušených člověkem. V podmínkách ČR je jedním z nejvýznamnějších zásahů člověka do krajiny povrchová těžba uhlí a následná depozice povrchových skrývek v podobě rozsáhlých výsypek skrývkového materiálu. Ačkoli je primární sukcese rostlin na tomto typu stanovišť poměrně dobře popsána, neplatí to o mykorhizách, které sukcesi rostlin pravděpodobně významně ovlivňují. Studium dynamiky různých typů mykorhiz v tomto narušeném ekosystému může pomoci objasnit některé děje, ke kterým v průběhu sukcese dochází, a také poskytnout představu, jak může člověk tyto děje ovlivnit a přispět k obnově krajiny.

Ráda bych svou práci k poznání těchto dosud skrytých dějů přispěla a také inspirovala okolí k zájmu o složitý přirozený proces, který probíhá po takto výrazném zásahu člověka do krajiny. V neposlední řadě proto, že někdy mohou touto cestou vznikat cenné nové ekosystémy. Člověk totiž není jen tím, kdo působí disturbance, ale také tím, kdo ustavuje nové rovnováhy. Otázkou je, jaká je čistá bilance lidských zásahů a zda je lepší ponechat disturbovaná stanoviště spontánnímu vývoji nebo provádět jejich rekultivace. Má práce se však zabývá pouze procesy spontánními, nerovnává oba přístupy.

Zabývat se průběhem sukcese na výsypkách je důležité i z toho důvodu, že výsypky zabírají nezanedbatelnou část našeho území. Je třeba zkoumat, jaký typ managementu by z nich mohl udělat cenný biotop.

Ve své práci jsem se zaměřila na arbuskulárně mykorhizní, ektomykorhizní a endofytické houby. Mým cílem bylo porovnat vývoj mykorhizní symbiózy v různě starých stádiích spontánní sukcese na hnědouhelné sokolovské výsypce. Na základě mnou analyzovaných dat se budu snažit porovnat zjištěné poznatky s poznatky již známými a pokusím se najít nové spojitosti.

2 Cíle práce

Stanoveným cílem práce je popsat dynamiku mykorhizních hub na kořenech vybraných dřevin v průběhu primární sukcese na hnědouhelných výsypkách na Sokolovsku. Dostupná chronosekvence zahrnuje zhruba 50leté období spontánní sukcese výsypek. V práci bude položen důraz na ektomykorhizní houby, ale hodnocena bude i frekvence výskytu arbuskulárně mykorhizních a endofytických hub. Dále bude zkoumána interakce vlivu výhradně arbuskulárního hostitele na kolonizaci kořenů duálního (arbuskulárně mykorhizního a ektomykorhizního) hostitele.

3 Literární řešerše

3.1 Hnědouhelné výsypky jako modelové území primární sukcese vegetace

Hnědé uhlí se v povrchových dolech na Sokolovsku těží již od padesátých let dvacátého století a těžba probíhá až do současnosti (Frouz et al. 2007). Z počtu území s ukončenou těžbou na území ČR jsou hnědouhelné výsypky nejrozšířenějším typem. Jde o plochu velikostí srovnatelnou s rozlohou všech národních přírodních rezervací v České republice, jež činí 279 km² (Vojar et al. 2012).

Výsypky vznikají z vytěženého nadloží uhelných slojí. Hnědé uhlí se místy nachází více než 100 m pod povrchem, k těžbě je tedy nutné přemístit a uložit na výsypku značné množství nadložního materiálu. Následkem těžební činnosti jsou původní ekosystémy překryty vrstvami hlušiny nebo odtěženy. Složení hlušiny tvoří převážně miocénní jíly cyprisové formace (Rojík 2004).

Výsypky vzniklé po těžbě jsou odvodněné a bez vegetace, sluneční energie se zde mění převážně na teplo, protože se nemůže vázat na vodní páry při výparu vody. Půda je tu vystavena vysokým teplotám a velkému kolísání půdní vlhkosti-procesům vedoucím k mineralizaci a ztrátě důležitých živin (Broumová et al. 2009).

V substrátech pocházejících z nadloží hnědouhelných slojí nejsou přítomny žádné formy života, tyto substráty jsou sterilní. Dochází u nich k postupné kolonizaci mikroorganismy i makroorganismy a k pedogenezi de novo. Jde tedy o unikátní příklad primární sukcese. Průběh sukcese je velmi pomalý a má na něj vliv velké množství faktorů: především fyzikální a chemické vlastnosti substrátu (struktura, pH, toxicita a dostupnost živin), dále klima dané oblasti (množství srážek a teplota) a také zdroje diaspor a možnosti jejich přenosu (Prach 2003).

Jednou ze základních podmínek pro obnovu funkčních ekosystémů na výsypkách je obnova půdy. Celý proces začíná na sterilním substrátu třetihorního původu. Vývoj půdy je ovlivněn hromaděním organického opadu, jeho následným rozkladem a rozmístěním v půdním profilu. Klíčovou roli má rozvoj vegetace, jež ovlivňuje tvorbu humusu a podmínek pro půdní organismy (Frouz et al. 2008).

Výsypky jsou již záhy po opuštění lidské techniky spontánně osidlovány organismy z okolní krajiny (Vojar 2012). Společenstva organismů jsou zprvu velmi jednoduchá, jedná se především o druhy specializující se na nově vzniklá prostředí. Se stárnutím výsypky a

rozvojem vegetačního krytu se zvyšuje počet druhů, mizí však ty, které se specializují na prvotní stanoviště pouštního či lesostepního charakteru (Bejček et al 2001). Tím, jak se postupně uchycují druhy svojí ekologií dobře odpovídající ekologickým podmínkám daného místa, vede spontánní sukcese k obnově cenných ekosystémů. Je to především proto, že po těžbě většinou vznikají živinami chudá stanoviště, na která je u nás vázána řada vzácných a ohrožených druhů (Řehounek et al. 2010).

Dle Řehounka (2010) a stejně tak Vojara (2012) jsou výsypky dobrým modelovým územím pro sledování primární sukcese. Jsou vhodné i proto, že téměř vždy můžeme určit jejich přesné stáří a výsypkový substrát je často homogenní (Prach 2003). Samotné výsypky mají poměrně značný potenciál se spontánně obnovovat, což je patrné z nerekulitovaných ploch. Mohou sloužit jako stanoviště umožňující přežití celé řadě rostlinných a živočišných druhů vytlačených člověkem z obhospodařované krajiny (Broumová 2009).

3.2 Procesy, k nimž dochází během primární sukcese vegetace na hnědouhelných výsypkách

V okamžiku nasypání výsypkový substrát neobsahuje diaspory rostlin, ani jiné živé organismy. Čerstvě po nasypání se pH substrátu pohybuje kolem 8 a 9, průběhem sukcese klesá až k hodnotám 5-6 (Frouz 2008). Substrát je na výsypku sypán v podobě karbonátem (Ca CO₃) stmelovaných jílových hrud, ty zvětrávají na stále menší a menší lamelovité fragmenty, které se obvykle za 20-30 let od nasypání rozpadnou na amorfní jíl (Frouz et al. 2001). Než se v substrátu vytvoří půdní struktury, amorfní jíl adhesivně váže značné množství vody, což pro rostliny nepříznivě ovlivňuje vodní režim substrátu (Jongepierová et al. 2012).

Substrát je sice čerstvě po nasypání poměrně dobře zásoben fosforem (okolo 1200 mg.kg⁻¹), ten je ale kvůli vysokému pH rostlinám špatně dostupný, v průběhu sukcese se jeho dostupnost zvyšuje (Frouz 2008). Zásoba celkového dusíku je v čerstvě nasypaném substrátu nízká, později roste až na 1000–2500 mg.kg⁻¹(Frouz 2008). Obsah fosforu, draslíku, dusíku a uhlíku je minimální na plochách do 12 let stáří, dosahuje maxima kolem 21 let probíhající sukcese a snižuje se na nejstarších plochách (po 40 roku sukcese), (Baldrian 2008). Naopak dle (Frouze et al. 2008) celkový obsah těchto prvků (ve formách dobře dostupných pro organismy) roste se zvyšujícím se věkem výsypek.

Průběh sukcese závisí také na způsobu sypání výsypek. Pokud jsou sypány v pásech, vzniká systém elevací a depresí (Řehounek et al. 2010), jejichž vliv Frouz et al. (2008) klasifikuje, jako velmi příznivý. Vytvořené prohlubně slouží jako jímky pro vodu a materiál

transformovaný z elevací, což umožňuje rychlejší kolonizaci půdní faunou a formování půdní struktury. Naopak tvorba výsypek se zarovnanějším povrchem vede většinou k expanzi třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos*), jejíž porost může vést až k blokování další sukcese. Způsob sypání zarovnávaním povrchu se klasifikuje z hlediska geodiverzity a biodiverzity přímo jako nežádoucí a kriticky značně snižující potenciál přirozené obnovy (Řehounek et al. 2010).

Formace půdní mikrostruktury úzce souvisí s hustotou a činností půdní fauny (Frouz et al. 2007a). Klíčovým faktorem pro posouzení, zda je půda k mání mikrobům a rostlinám je činnost hydrolytických enzymů v půdě. Půdní enzymy hrají nezbytnou roli v koloběhu uhlíku obsaženém v mrtvé organické hmotě a také při uvolňování živin z organických zdrojů. Baldrian et al. (2008) prokázal, že aktivita hydrolytických enzymů se zvyšuje s věkem sukcese.

Prvními organismy přítomnými v časných stádiích sukcese jsou želvušky (*Tardigrada*), hlístice (*Nematoda*), mikrosaprofágní larvy dvoukřídlicích (*Diptera*), bakteriofágové a fungivoři (Frouz et al. 2008).

Při obnově ekosystémů má největší váhu vytvoření vegetačního pokryvu, respektive vstup rostlinné biomasy do procesu obnovy. Nejdříve je vytvořen kryt bylinný (Frouz et al. 2008). Krátce po nasypání na výsypce dominují ruderalní druhy rostlin jako lipnice smáčknutá (*Poa compressa*), vratič obecný (*Tanacetum vulgare*) a podběl lékařský (*Tussilago farfara*). V případě Sokolovských výsypek, jakožto vlhčích a chladnějších oblastí se na začátku sukcese téměř neuplatňují jednoleté druhy, zato se mnohem lépe a ve vysokém podílu uchycují dřeviny a vytrvalé rostliny. Poměrně rychle se uchycují semenáčky stromů, zejména vrba jíva (*Salix caprea*), jejíž pokryv je dominantní mezi 15-20 rokem, bříza bělokorá (*Betula pendula*) a topol osika (*Populus tremula*), (Frouz et al. 2008, Baldrian et al. 2008).

Po 15 letech od vzniku výsypek dochází k téměř stoprocentní pokryvnosti rostlin, kdy začínají převažovat vytrvalé druhy, někdy i expanzivní (např. třtina křovištní, ovsík vyvýšený), (Baldrian et al. 2008). V době, kdy dominuje se *Salix*, se z jejího opadu tvoří silná fermentační vrstva tzv. Oe horizont na povrchu substrátu (Frouz et al. 2008).

K zásadní přestavbě společenstva dochází zhruba kolem 25. roku od nasypání výsypek. Ruderalní druhy ustupují a začínají se více uplatňovat druhy luční a lesní, a to včetně druhů z čeledí vstavačovitých a hruštičkovitých, (Řehounek et al. 2010). Souvisí to se změnou půdních poměrů. Mezi 20. a 30. rokem sukcese jsou výsypky kolonizovány žížalami. Změny,

kteřé způsobují v půdním profilu, podporují uchycení druhů z lesních a lučních společenstev, (Frouz et al. 2008).

Předevešm díky činnosti žížal a kořenů rostlin se fermentační vrstva ztenčuje a postupně se vytváří humusová vrstva A. Žížaly a některé další skupiny bezobratlých vytvářejí strukturovanější a hlubší organické horizonty. Žížaly promíchávají na povrchu ležící opad rostlin s minerálním substrátem a obohacují ho tak o organickou hmotu. Konzumací značného množství půdy tvoří stabilní půdní struktury, což pozitivně ovlivňuje vodní režim substrátu a výživu rostlin (Frouz et al. 2008).

Na výsypkách se během 28 let se vytvoří vrstva organominerálního A horizontu v průměru 27 mm silná (Frouz et al. 2009), což pozmění a obohatí složení společenstva půdní fauny. Kolem 25. roku se půda přetvoří na typ humusu mul. Analýza mikrostruktury prokázala, že aktivita žížal a podobné půdní makrofauny hraje hlavní roli ve formování humusového horizontu A (Frouz et al. 2008, Frouz et al. 2007a).

Po 30 letech jsou vytvořena poměrně stabilní společenstva trávníků s roztroušenými stromy. Zhruba za 40 let vede sukcese k rozvolněnému lesu s břízou a osikou a poměrně druhově bohatým podrostem (až 49 druhu na 25 m²). V podrostu převažují luční druhy, jako je ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius*), kostřava červená (*Festuca rubra*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*) a štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), (Frouz et al. 2008).

V podrostu pionýrských dřevin se uchycují celkem úspěšně smrk, borovice a dub letní, kteří ale často trpí okusem, (Frouz et al. 2009).

Na Sokolovských výsypkách bylo zatím zjištěno více než 450 druhů vyšších hub (makromycetů), (Řehounek et al. 2010). Baldrian et al. (2008) experimentálně ověřil, že biomasa hub (změřena ve formě PLFA) je v substrátu ve větším množství přítomna až na plochách starých 12-21 let.

3.3 Význam symbiotických hub pro strukturu rostlinného společenstva

V celém výše popsaném procesu mají svou roli, kromě jiných půdních organismů i mykorhizní houby. Přispívají předevešm k transformaci organických látek a také ke stabilizaci půdní struktury, přitom však rostlinný pokřyv sám o sobě svými kořeny a tvorbou rostlinné biomasy také mění půdní vlastnosti. Mycelium mykorhizních hub zasahuje i do podpovrchových horizontů a může ovlivňovat samotný proces zvětrávání (Gryndler 2004).

Podle široce přijímané hypotézy se mykorhiza vyvinula spolu s přechodem rostlin na souš a rostliny se vždy v přírodě vyskytovaly ve společenství složeném z různých druhů. Normou jsou tedy velmi různorodé populace mykorhizních hub a jejich funkce ve struktuře rostlin může být proto velmi různá na rozdílných stanovištích či v rozdílných společenstvech (Smith a Read 1997).

Hyfy hub mohou propojovat hostitelské rostliny různých druhů, velikostí a vývojových stádií - ve výběru rostlinného partnera jsou selektivní poměrně málo. Skrz propojení různých druhů rostlin myceliem (především u ektomykorhizních hub, dále jen EcM) se může zvýšit vnitrodruhová kompetice o převáděný uhlík (Kernaghan 2005). Naopak dle Gryndlera (2004) se naopak v přítomnosti mykorhizních hub kompetice rostlin o zdroje díky vzájemnému propojení myceliem snižuje.

Je známo, že přes mykorhizní síť (mající až několik m²), jsou sdíleny zdroje látek. Efekt, který vzniká, je však zatím nejasný (Nara 2006). Booth (2004) zmiňuje, že vliv mykorhizní sítě zmírňuje negativní dopad kompetice (především o světlo a potřebné látky) vzrostlých stromů na semenáčky rostoucí pod nimi. Sdílená mykorhizní síť umožňuje tok uhlíku, dusíku a jiných potřebných živin od rostlin těmito živinami bohatých k rostlinám, kterým chybí. Mykorhizní síť by tedy mohla mít vliv na vývoj struktury lesních společenstev tím, že může podpořit soužití některých druhů stromů a zároveň omezit úspěšnost jiných druhů.

Smith a Read (1997) popisují, že v dlouhodobém procesu sukcese jsou druhy EcM hub, které by se daly označit za r-stratégy, vystřídány s-stratégy, spolu se změnou struktury společenstva mykorhizních hub se tedy pravděpodobně vyvíjí i struktura společenstva rostlinného.

Na některých stanovištích, jakými jsou například čela ledovce, se při primární sukcesi uplatňují nejprve nemykorhizní druhy, které jsou posléze vytlačeny druhy mykorhizními (Cazares et al. 2005). Právě zlepšení abiotických podmínek na stanovišti prostřednictvím nemykorhizních druhů, je pro mykorhizní rostliny v této fázi vývoje důležitější než příjem živin vyplývající z mykorhizní symbiózy (Smith a Read 1997).

Ektomykorhizní houby mohou ovlivnit strukturu rostlinných společenstev tím, že produkují řadu látek, které mohou ovlivňovat organismy v okolním prostředí, například rostlinné hormony (Gryndler 2004).

3.4 Stručná charakterizace hlavních typů symbióz hub s kořeny rostlin

3.4.1 Mykorhizní symbiózy (s důrazem na ektomykorhizu a arbuskulární mykorhizu)

Jako mykorhiza se označuje mutualistický vztah mezi rostlinami a vybranými skupinami půdních hub, avšak stejným pojmem se označují i symbiotické struktury, které na jemných kořenech tyto partnery tvoří. Houba proniká mezi buňky rhizodermis a do kořenové kůry a vytváří tam specializované struktury buď uvnitř rostlinných buněk, nebo mezi nimi. Do středního kořenového válce ani jiných pletiv neproniká. Houby tvořící mykorhizní symbiózu patří mezi stopkovýtrusé (*Basidiomycetes*), vřeckovýtrusé (*Ascomycetes*) a spájkivé (*Zygomycetes*), (Gryndler 2004).

Rozlišujeme arbuskulární mykorhizu (dále jen AM), ektomykorhizu (dále jen EcM), erikoidní a orchideoidní, jakožto hlavní podoby mykorhizy. Je běžné, že i jeden druh rostliny vytváří více typů mykorhiz. Nejběžnější je kombinace AM a EcM, tuto tzv. duální kolonizaci najdeme nejčastěji u rostlin z čeledi *Rosaceae* a *Salicaceae* (Gryndler 2004).

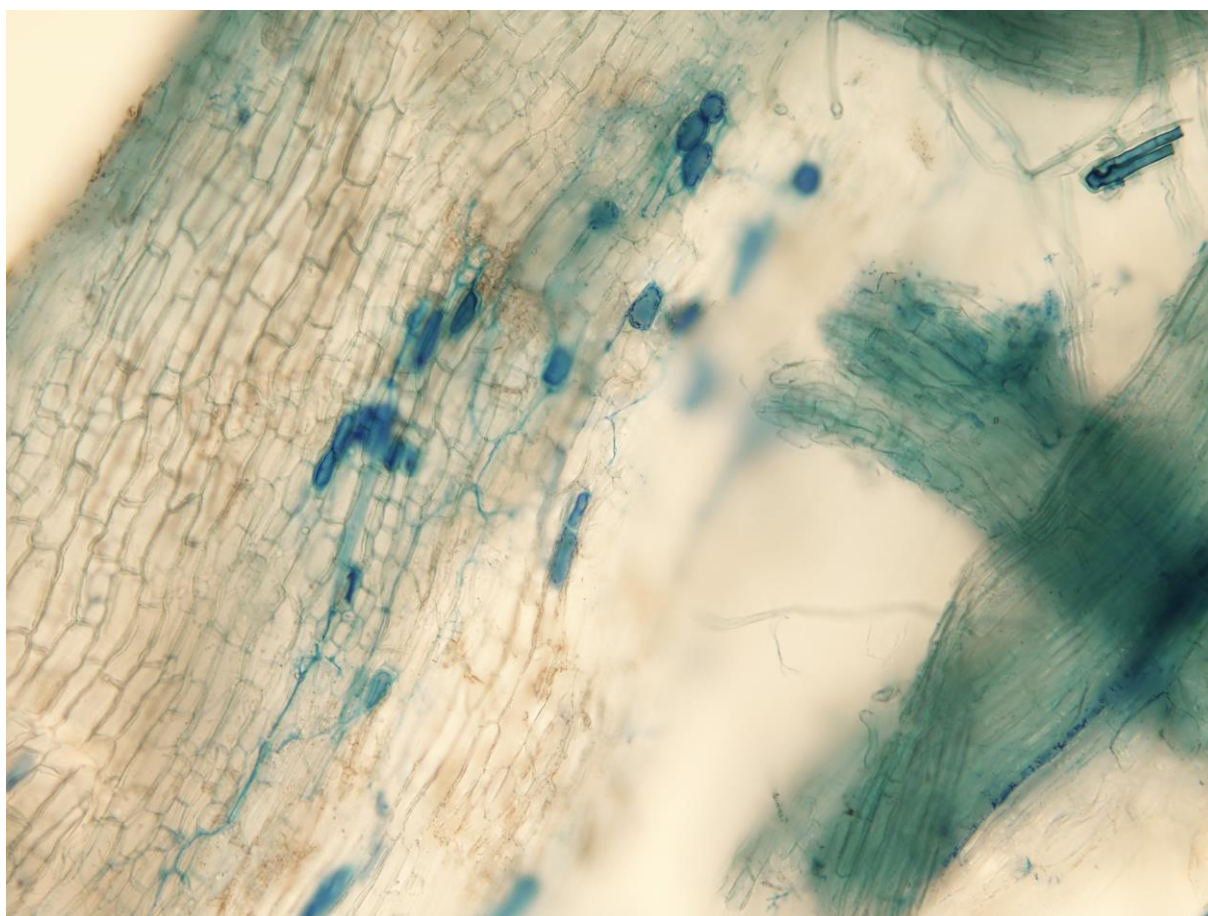
Arbuskulární mykorhiza

Tento typ spolu se symbiózou erikoidní a orchideoidní spadá do kategorie endomykorhizních symbióz, houba v tomto případě proniká do vnitřního prostoru buněk hostitele. Houba tvoří v buňkách charakteristické struktury, jimiž jsou arbuskuly, kde probíhá intenzivní výměna látek a informací mezi hostitelem a houbou, vezikuly (znázorněny na obr.1), u nichž se předpokládá, že slouží jako zásobní struktury (Gryndler). Arbuskulární mykorhiza má tři důležité funkční součásti: samotný kořen, výše popsané houbové struktury uvnitř buněk kořene a extraradikální mycelium nacházející se v půdě (Smith a Read 1997).

Arbuskulární symbióza je nejrozšířenější a považuje se za evolučně nejstarší (Gryndler 2004), Smith a Read (1997) se domnívají, že se vyvinula spolu s přechodem cévnatých rostlin na souš (při němž pravděpodobně hrála důležitou roli) a její stáří odhaduje na zhruba 400 milionů let. Pravděpodobně se vyskytuje u téměř 95% cévnatých rostlin na zemi (Gryndler 2004). Jejimi hostiteli jsou byliny, křoviny a stromy mírných a tropických oblastí. (Smith a Read 1997).

Zástupce této skupiny tvoří několik rodů hub z řádu Glomales (*Zygomycetes*), u kterých se zdá, že se nerozmnožují pohlavně (Smith a Read 1997, Gryndler 2004). Jejich mycelium je většinou nepřehrádkované a tvoří syncytium s velkým množstvím jader. Diversita arbuskulárních hub je překvapivě malá a dosud bylo popsáno pouze cca 200 druhů AM hub, v rámci nichž však patrně existuje značná funkční diversita (Opik et al. 2006).

AM je typická spíše pro typ humusu mul (Gryndler 2004).



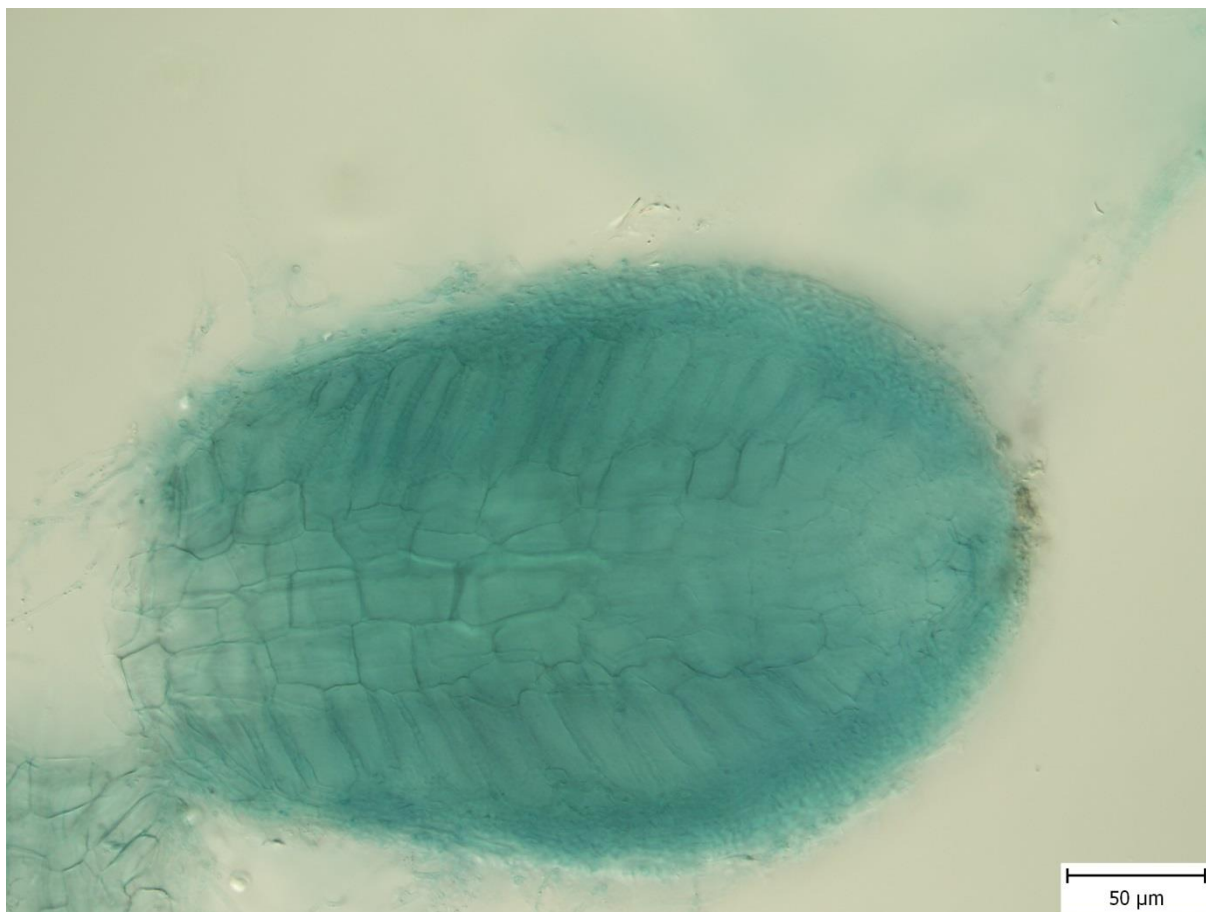
Obr. 1: Vesikuly při pozorování pod mikroskopem, zvětšeno 300x.

Ektomykorhiza

U ektomykorhizy pronikají hyfy hub pouze do mezibuněčných prostor kořenové kůry (látr rozmoš czechmyko). Ektomykorhizu tvoří hyfový plášť obepínající kořen rostliny (nejčastěji kořenovou špičku), spleť hyf rostoucí mezi epidermálními a kortikálními buňkami (Hartigova síť-viz obr.2) a vnější systém hyf, který tvoří nezbytné propojení s půdou a zároveň plodnicemi hub (Smith a Read 1997).

Ektomykorhiza je známa výlučně u dřevin (Gryndler 2004) a tvoří ji zhruba 2000 rostlinných druhů. Většinou se jedná o stromy a keře počínaje lesy mírného pásma přes boreální ekosystémy a tropickými lesy konče. Diversita EcM hub je vyšší než diversita jejich hostitelů a odhaduje se na zhruba 5000-6000 druhů *Basidiomycetes* a *Ascomycetes* (Látr et al. nepublikováno).

Biomasa ektomykorhiz je větší spíše v kyslejších půdním prostředí. EcM je typická spíše pro typ humusu moder a mor (Gryndler 2004).



Obr. 2: V mezibuněčných prostorech kořenové špičky se nachází Hartigova síť.

3.4.2 Endofytické symbiózy (se zaměřením na DSE)

Mycelium endofytických hub se nachází v buňkách, ale i v mezibuněčných prostorech různých částí rostliny.

Podkategorií těchto hub jsou DSE (dark septate endophytes). Jsou charakteristické melanizovanými tlustostěnnými přehrádkovanými hyfami, které obvykle tvoří mikrosklerocia uvnitř buněk kořene či pouze penetrující hyfy (Cazares et al. 2005). Spadají především do oddělení *Ascomycota* (Mandyam a Jumpponen 2005).

3.5 Ekofyziologická role symbiotických hub

Mykorhizní symbióza je mutualistické spojení rostlin a vybraných skupin hub, v němž jsou produkty fotosyntézy vyměňovány za zvýšený tok vody a minerálních živin. Další výhodou pro rostlinu je růst rezistence k chorobám, suchu a extrémním teplotám a také symbiotické houby mají díky mykorhize zvýšenou kompetiční schopnost a odolnost vůči stresu (Kernaghan 2005).

Gryndler (2004) uvádí, že velký povrch mycelia dosáhne do prostor v půdě, které kořenům rostliny nejsou přímo přístupné. Mykorhizní houby jsou schopny efektivní výměny látek s hostitelskou rostlinou i s půdním prostředím. Hyfy hub též umožňují přenos látek cytoplazmou na větší vzdálenosti. Pokud jde o dusík, nejlépe dokáží rostlinám zprostředkovat dusík vázaný v organických molekulách, hůře amonný iont a nejhůře dusičnan. Při nedostatku vody ji pravděpodobně dokáží pasivně přemísťovat ve směru vodního potenciálu.

Mykorhizní houby získávají od rostlin organický uhlík, jenž je produktem fotosyntézy a používají jej jako palivo pro vytvoření bohaté mykorhizní sítě. Ve většině případů je mycelium právě díky přísunu organického uhlíku kompletně závislé na rostlině (Johnson et al. 2005).

V hyfovém plášti ektomykorhizních hub je ukládán fosfor ve formě polyfosfátu, takže houba tvoří jakýsi zásobník fosforu (Gryndler 2004). AM houby rostlinám poskytují fosfor hlavně na vápenitých půdách, protože fosforečnan vápenatý je pro rostliny málo dostupný (Johnson et al. 2005). Mimo fosfor umí získávat i vápník díky zvětrávání apatitu. Gryndler (2004) uvádí, že eutrofizací půdy (při vysoké koncentraci dostupného fosforu a dusíku), klesá přítomnost AM i EcM hub.

Předpokládá se, že vliv na zlepšení výživy a fitness rostliny mají i endofytické houby. Likar a Regvar (2013) popisují, že DSE houby, umí rostliny ochránit před biotickými a abiotickými stresy, zahrnující zejména přítomnost těžkých kovů v půdách.

DSE kolonizují například vrby rostoucí na stanovištích s vysokou salinitou a obsahem těžkých kovů v půdách, zdá se, že mají zvýšenou toleranci k těžkým kovům. Výsledkem jednoho experimentu bylo, že kolonizace DSE *Salix caprea* byla pozitivně korelována se zvýšeným obsahem těžkých kovů v půdách. DSE mohou mít důležitou funkci na extrémních stanovištích (Likar a Regvar 2013). Ačkoli existuje řada dokladů o pozitivním efektu DSE hub na hostitele (podpora růstu a schopnost rostliny přežít). Je zřejmé, že velkou rolí ve výsledku hraje identita hostitelských rostlin, např. efekt endofytů na hostitele z čeledi Pinaceae nebo obecně na stromy bývá častěji negativní než na jednoděložné hostitele či byliny. O těchto houbách a jejich funkci se ví stále relativně málo (Likar a Regvar 2013).

DSE pravděpodobně umí eliminovat patogeny působící na rostlinu tím, že minimalizují přítomnost uhlíku v rhizosféře. Obsahují vysoké hladiny melaninu a mají potenciál produkovat sekundární metabolity (toxické nebo inhibující herbivory), což by mohlo mít vliv na dynamiku rostlinných společenstev (Mandyam a Jumpponen 2005).

3.6 Dynamika společenstev symbiotických hub

V niválním stupni vegetace v Alpách a v arktických oblastech na místech s přerušným sněhovým pokryvem rostou druhy, které jsou z velké části nekolonizované houbami. Zjistilo se, že žádný z přítomných druhů *Ranunculus* spp. nebyl kolonizován AM houbami, ačkoli pod nivální zónou je tento druh AM běžně kolonizován. Dusík a fosfor přijímaly pryskyřníky z vody pocházející z tajícího ledu. Zhruba 300 m pod nivální zónou na zmíněných oblastech již byla prokázána slabá kolonizace AM (Smith a Read 1997).

Za povšimnutí stojí, že byl pozorován rozsáhlý výskyt DSE hub v kořenech arkticko-alpínských druhů rostlin (konkrétně u 87% druhů oproti 9% z nealpínských oblastí. DSE houby v alpínských oblastech byly dominantní součástí půdních mikroorganismů (Smith a Read 1997).

Při sledování sukcese na čele ledovce se zjistilo, že EcM houby se objevují až na 30 let odhalených substrátech (Jumponnen in Gryndler 2004). Stejně tak Trowbridge a Jumponnen (2004) tvrdí, že při podobném sledování EcM kolonizace rostla se zvyšující se vzdáleností od ledovce. Na kořenech vrb (*Salix* spp.), které jsou obvykle kolonizovány EcM, AM i DSE, byla hodnocena míra kolonizace v rámci chronosekvence na čele ustupujícího ledovce. Celková kolonizace AM zde byla ve velmi nízkém zastoupení (méně než 1%), kolonizace DSE houbami byla nad 25% (vzdálenost od čela ledovce zde neměla žádný vliv). Nejčetnější bylo zastoupení EcM kolonizace a to okolo 40%, kolonizace EcM stoupala se zvyšující se vzdáleností od ledovce.

Cazares et al. (2005) také sledoval rostlinná společenstva a jejich kolonizaci mykorhizními houbami na čele ledovce. Po expozici půdy se začal objevovat rostlinný kryt, ve kterém se vyskytovaly nemykorhizní, příležitostně mykorhizní a druhy obligátně mykorhizní na AM a EcM kolonizaci. 15letá plocha neměla vytvořený téměř žádný rostlinný pokryv. V mladších sukcesních stádiích (plochy staré 25 let) převládaly nemykorhizní rostliny a kolonizace zde byla sporá, pouze se zde vyskytovala DSE kolonizace (15%), zbytek kořenů rostlin byl nekolonizován. Se stářím rostlinné komunity, rostlo množství mykorhizních hostitelů. AM houby byly přítomny pouze ve velmi malém počtu, až na 35 letých plochách dosahovaly 28%. Kořeny *Salix* sp. byly napříč sukcesní chronosekvencí kolonizovány vždy AM, EcM i DSE. DSE kolonizace byla hojná (až 50%) na všech plochách s vyvinutým vegetačním pokryvem EcM se vyskytovala až na 35 letých plochách, s věkem rostla a maxima dosahovala 23%.

4 Metodika

4.1 Odběr a zpracování vzorků

Pro experiment byly zvoleny plochy sokolovské výsypky o různém stáří od navršení ponechané spontánnímu vývoji. Konkrétně se jedná o čtyři věkové kategorie (plochy), tedy 12, 20, 30 a 50 let. V rámci každého sukcesního věku byly zvoleny 3 odběrové pod-plochy vzdálené od sebe několik set metrů (celkem se stanovilo 12 různých experimentálních pod-ploch).

4.1.1 První experiment: vliv stáří sukcese na mykorhizní kolonizaci

Z každé pod-plochy bylo odebráno 6 vzorků kořenů *Betula pendula* a 6 vzorků kořenů *Salix caprea*. Vzájemná vzdálenost vzorkovaných stromů byla vždy alespoň tři metry. Vzorky kořenů se odebíraly polní lopatkou ve vzdálenosti 20-100 cm od paty stromu v hloubce 0-15 cm. Odběr probíhal na podzim roku 2013.

Kořeny byly v laboratoři promyty pod tekoucí vodou od zbytků substrátu, posléze prosvětleny v alkalickém roztoku peroxidu vodíku (Janoc 1984) a obarveny trypanovou modří (Koske a Gemma, 1989). Z obarvených kořenů byly vytvořeny mikroskopické preparáty zalité roztokem polyvinylactoglycerolu. Kořeny se barvily kvůli očekávané kolonizaci arbuskulárními houbami u jívky, která je duálním hostitelem. Samotné ektomykorhizy není nutné barvit. V případě břízy byl zachován stejný pracovní postup.

Následně byly preparáty v průběhu roku 2014 vyhodnoceny na mikroskopu Olympus BX60 (zvětšení 300x). Počet hodnocených zorných polí se pohyboval mezi 120-160 na vzorek. Byla hodnocena přítomnost ektomykorhizních hub, přičemž principiálním kritériem EcM byla přítomnost Hartigovy sítě. Dále byla sledována přítomnost arbuskulárních hub (arbuskulární hyfy, vezikuly/arbuskuly) a endofytických hub (zde byla rozlišována kolonizace intracelulární a intercelulární včetně zvláštní kategorie, v podobě DSE houby vyznačujících se tmavými přehrádkovanými hyfami a eventuálně i mikrosklerócií).

4.1.2 Druhý experiment: transekt jíva-třtina

Studie tohoto mikrogradientu probíhala na ploše, kde primární sukcese probíhá 20 let, jedná se o již výše popsanou plochu. Odběr vzorků byl proveden výše popsaným způsobem (probíhal tedy na třech experimentálních pod-plochách) v červnu roku 2014 a vzorky byly zpracovány stejným postupem. Z každé plochy bylo odebráno 5 vzorků kořenů vrby jívy (*S. caprea*) z míst pod korunou (resp. míst, kde nerostly žádné rostliny hostící AM houby) a 10

vzorků kořenů z míst, kde rostla jíva zároveň s třtinou *Calamagrostis epigejos*. Odběry byly vždy do vzdálenosti 100 cm od paty jívy. Vzorkované stromy byly alespoň 3 m od sebe. Paralelně byly odebírány kořeny třtiny, jejichž zpracování však nebylo předmětem této práce. Výsledné preparáty byly bezprostředně po jejich vyhotovení hodnoceny na mikroskopu, za stejných podmínek jak je uvedeno výše.

4.2 Statistické analýzy

4.2.1 První experiment

Za vysvětlovanou proměnou byla zvolena míra kolonizace jednotlivými typy houbových symbióz. Vysvětlující proměnou byl věk plochy a druh dřeviny. Každá z ploch byla rozdělena na 3 pod-plochy a ty byly použity jako kontrolní proměnná ve formě náhodného faktoru. Nulová hypotéza byla stanovena takto: Věk plochy ani druh dřeviny nemá vliv na kolonizaci dřevin různými typy houbových symbióz.

Data byla analyzována několika níže popsanými modely vytvořenými v prostředí programu R. Nejprve bylo vypočteno procentuální zastoupení jednotlivých typů kolonizace kořenů houbami pro každý z vyhodnocovaných vzorků (tedy podíl počtu polí kořene kolonizovaných daným typem hub na celkovém počtu polí). Poté byla na data aplikována arcsin transformace.

Odhadla jsem sestavu deseti modelů s interakcemi pomocí jednoduché lineární regrese a pomocí lineární regrese s náhodným efektem. Pro každý model jsem porovnála Akaikeho informační kritérium (AIC) z obou metod. Pro většinu modelů byl rozdíl malý, a proto jsem pro ně zvolila jednoduchý lineární model. Pro modely s velkým rozdílem AIC byly posuzovány výsledky odhadů s náhodným efektem. Konkrétně sedm z deseti modelů bylo analyzováno pomocí jednoduché lineární regrese a zbylé tři pomocí regrese s náhodným (random) efektem.

Data jsem analyzovala také Tukey HSD testem, který slouží ke vzájemnému porovnání párů hodnot proměnné nabývající většího počtu hodnot. Tato metoda může odhalit rozdělení s odlišnou střední hodnotu.

Na závěr jsem použila Kruskal-Wallisův test, který odhaduje vliv jedné vysvětlující proměnné na vysvětlovanou proměnnou u dat, pro něž nelze použít parametrické testy. Shrnutí statistické analýzy znázorňuje tab. 1.

Tab. 1: Shrnutí statistické analýzy pro první experiment.

Vysvětlované proměné					
	<u>ECMpct</u>	<u>IntraEpct</u>	<u>InterEpct</u>	<u>DSEpct</u>	<u>NCpct</u>
Stř. hodnota	32.40	0.33	6.05	1.51	59.71
Medián	18.75	0	1.52	0	65.16
Modus	0	0	0	0	94.90
Směr. odchylka	30.71	2.05	10.68	8.51	32.16
Minimum	0	0	0	0	0
Maximum	100.00	17.84	71.58	73.47	100.00
Počet	145	145	145	145	145
Vysvětlující proměné					
		Počet pozorování			
<u>Druh</u>	Bříza	72			
	Jíva	72			
<u>Věk (plocha)</u>	12	36			
	15	36			
	20	36			
	50	36			
Kontrolní proměnná					
<u>Podlocha</u>	(tři pod-plochy v rámci každé plochy, rovnoměrný počet poz.)				

4.2.2 Druhý experiment

Vysvětlující proměnnou byla v tomto případě zvolena přítomnost trávy *Calamagrostis epigejos*, vysvětlovanou proměnnou byla kolonizace jednotlivými typy symbióz (resp. AM, EcM, NC a intracelulární a intercelulární endofytní kolonizace). Byl testován i vliv pod-plochy, jakožto vysvětlující proměnné. Nulová hypotéza byla stanovena takto: Přítomnost *Calamagrostis epigejos* nemá vliv na míru kolonizace *Salix caprea* jednotlivými typy symbióz. Doplňující hypotéza byla formulována takto: Pod-plochy se mezi sebou významně neliší.

Na data byla aplikována arcsin transformace. Poté bylo odhadnuto pět lineárních modelů. Každý model pro jeden typ kolonizace mykorhizní symbiózou. V tomto případě zde přibyla kolonizace AM houbami, která se v předchozích datech nebyla zahrnuta. Data byla analyzována i Kruskal-Wallisovým testem.

Tab. 2: Shrnutí statistické analýzy pro druhý experiment.

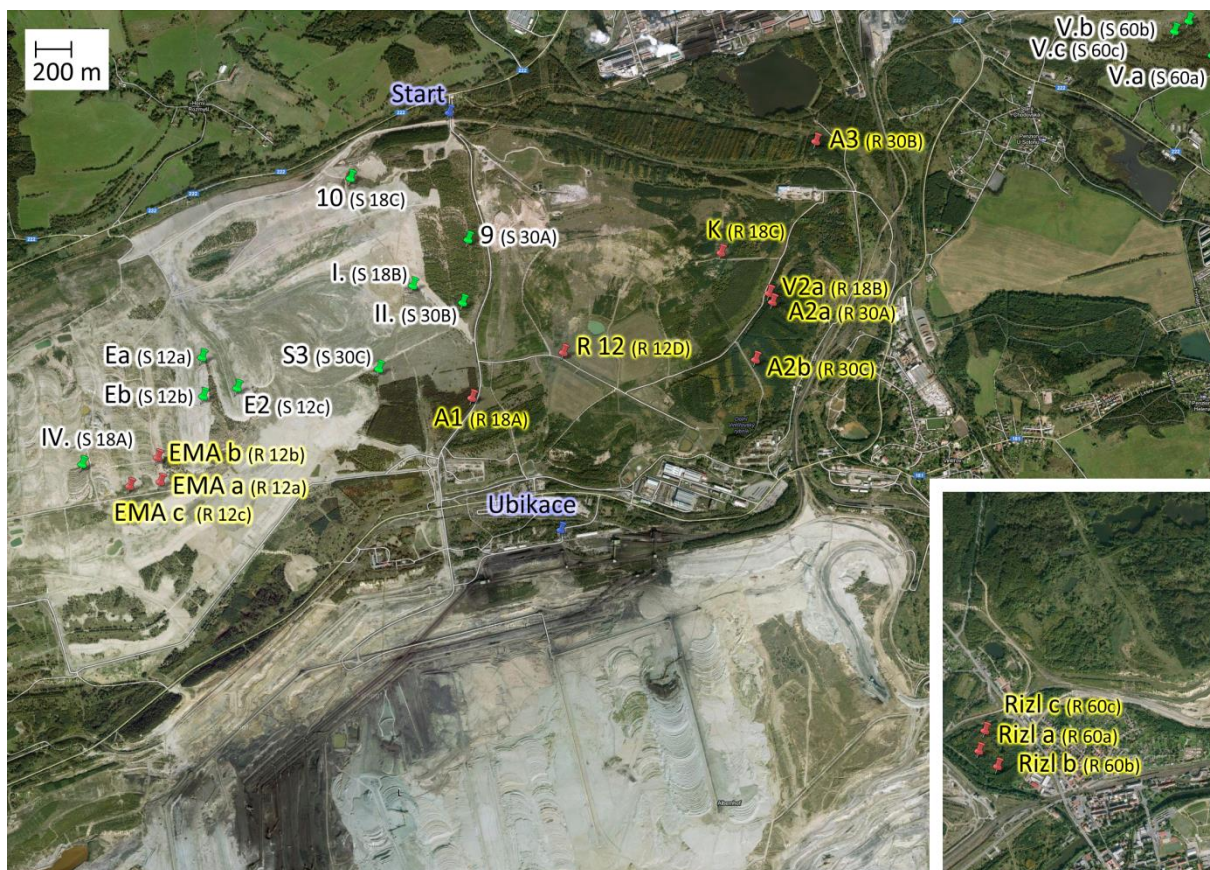
Vysvětlované proměné					
	<u>EcMpct</u>	<u>AMFpct</u>	<u>intraEpct</u>	<u>interEpct</u>	<u>NCpct</u>
Stř. hodnota	42.00	3.92	1.60	9.48	42.96
Medián	42.07	1.27	0	7.83	40.00
Modus	74.03	0	0	1.89	
Směr. odchylka	24.19	7.04	4.65	7.63	24.77
Minimum	4.94	0	0	0	3.82
Maximum	81.66	31.73	21.88	36.84	89.51
Počet	45	45	45	45	45
Vysvětlující proměné					
		Počet pozorování			
<u>Calamagrostis</u>	SAL	15			
	SAL + CAL	30			
Kontrolní proměnná					
<u>Podlocha</u>	(celkem tři podplochy, rovnoměrný počet poz.)				

5 Charakteristika studijního území

5.1 Lokalizace

Experimentální plochy jsou součástí Velké podkrušnohorské výsypky, která je situována severně od města Sokolov mezi obcemi Vintířov, Vřesová, Lomnice, Dolní Nivy, Horní Rozmyšl a Stará Chodovská. Jedná se o rozsáhlou výsypku (zhruba 90 km²) tvořenou dílčím systémem výsypek. Plochy, na kterých probíhaly odběry vzorků, jsou značeny na obr. 3 bílým písmem.

- souřadnice lokality: 50°14'44''N, 12°41'4''E
- nadmořská výška 450-520 m
- průměrné roční srážky: 650 mm
- průměrná roční teplota: 6,8°C (Frouz et al. 2009).



Obr. 3: Letecký pohled na Velkou podkrušnohorskou výsypku se znázorněnými odběrovými plochami. Bíle jsou značeny plochy, na kterých probíhá spontánní sukcese, žlutě plochy rekultivované (jich se má práce netýkala).

5.2 Půdní poměry

Nadloží a průvodní horniny uhelných slojí, ze kterých jsou sypány výsypky, je převážně tvořeno miocénními sedimenty. Pro sokolovské výsypky jsou charakteristické jíly tzv. cyprisové série nazvané podle přítomnosti fosilií korýše *Cyprisangusta* z období miocénu.(calla) Po uložení substrátu na výsypku se s ním již nemanipulovalo a byl ponechán spontánní sukcesi.

Půdy vyskytující se na plochách nejsou ještě zcela dovyvinuty. Popis jejich vývoje je podrobněji popsán v kapitole 3.2. Na 20letých plochách se nachází pouze tlustá fermentační vrstva (horizont Oe). 30 letá a 60 letá plocha má již zformovanou humusovou vrstvu (A). Primární sukcese probíhá přímo na hlušíně z alkalických terciárních jílu (zejména kaolinitu, montmorillonitu a illitu), v okamžiku navršení na výsypku má hlušina pH 8,5), (Frouz et al. 2008). Složení substrátu v jednotlivých stádiích sukcese znázorňuje tab. 1.

Tab. 1: Výsledky půdní analýzy ploch, na kterých probíhal odběr vzorků.

Stáří plochy	pH	P [mg/kg]	C [mg/g]	N [mg/g]	Ca [mg/kg]	Mg [mg/kg]	K [mg/kg]
12 let	7.0	839	67	4	9363	1252	301
20 let	7.7	1000	45	4	8839	1481	316
30 let	7.6	856	64	5	5269	1589	359
50 let	6.2	872	79	4	2847	1043	403

5.3 Organismy a rostlinný pokryv

5.3.1 Vegetace

- 12 leté plochy: zejména bylinný a travinný pokryv s dominující *Calamagrostis epigejos*
- 20 leté plochy: rozptýlený pokryv stromů, hlavně *Betula* spp., *Populus tremuloides* a křovinný pokryv *Salix caprea*
- 30 leté: zastínění, hustý pokryv převážně *Salix caprea* zastiňuje povrch půdy, traviny a byliny se vyskytují pouze sporadicky
- 50 leté: vývoj lesního pokryvu (převážně *Betula* a *Populus*), znovu se zesílil výskyt bylinného a travinného pokryvu (Jana Rydlová in litt 2015)

5.3.2 Živočichové

Na celé ploše výsypky se vyskytují vzácné a ohrožené druhy, jakými jsou například: ropucha krátkonohá (*Bufo calamita*), ta zde vytváří největší stabilní populaci v ČR. Dále ropucha zelená (*Bufo viridis*), blatnice skvrnitá (*Pelobates fuscus*), čolek velký (*Triturus cristatus*), č. obecný (*T. vulgaris*), č. horský (*T. alpestris*), skokan krátkonohý (*Rana lessonae*), s. skřehotavý (*R. ridibunda*) a rosnička zelená (*Hyla arborea*). Nalézají se tu také vzácní a ohrožení ptáci, například chřástal vodní (*Rallus aquaticus*), slavík modráček (*Luscinia svecica*), bělořit šedý (*Oenanthe oenanthe*) a moudivláček lužní (*Remiz pendulinus*).

Významnými bezobratlými jsou žížaly, především druhy *Aporrectodea caliginosa*, *A. rosea*, *Dendrobaena octaedra*, *Dendrodrilus rubidus*, *Lumbricus rubellus* and *Octolasion lacteum*, (Jongepierová et al. 2012).

6 Výsledky

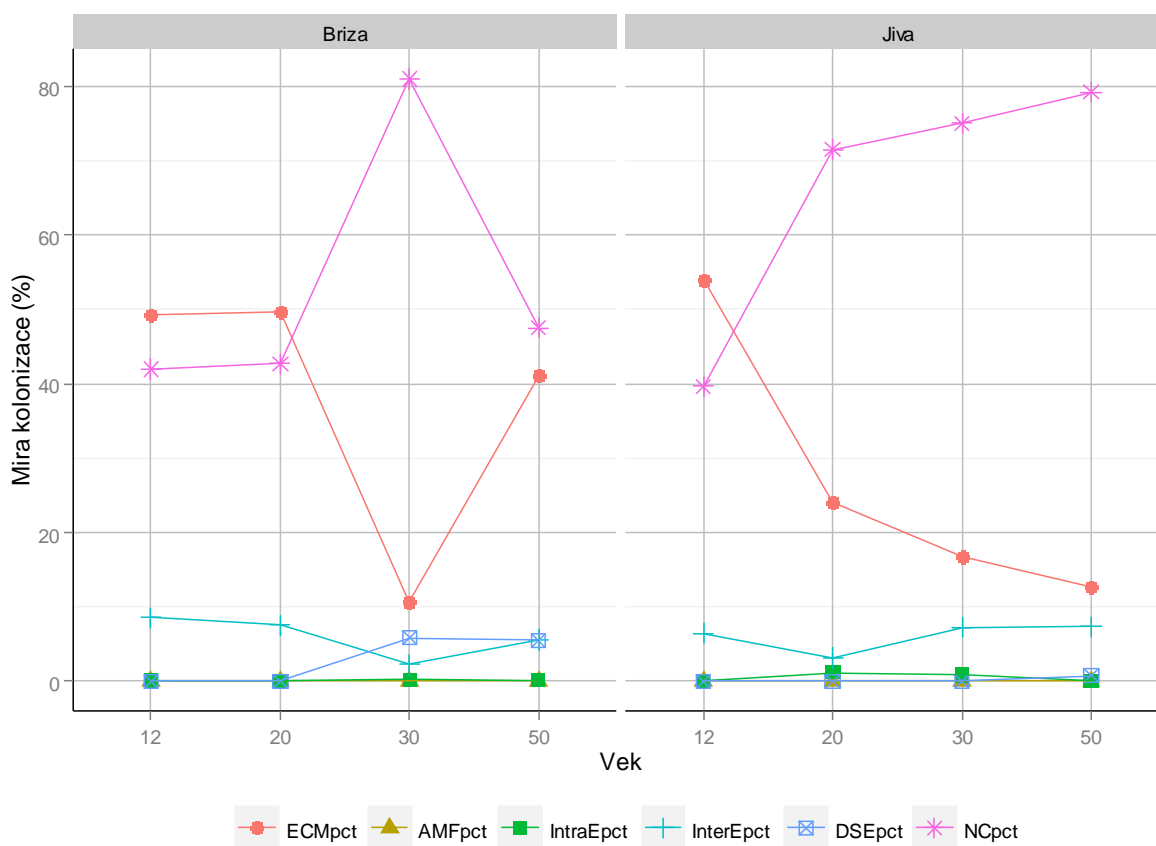
6.1 První experiment

Ze všech typů kolonizací houbami byla nejvíce zastoupena kolonizace EcM. Nejčetněji se vyskytovala na 12letých plochách a to u obou dřevin (53,9 % pro jívu a 49,2% pro břízu). Na 20letých plochách byla kolonizace EcM pro břízu totožná jako na 12letých (49,7%), pro jívu se počet snížil téměř na polovinu (24,7%) a na starších plochách již jen klesal, jak je patrné i z grafu na obr. 4. EcM kolonizace břízy se na 30leté ploše výrazně snížila na 10,6%, ale na 50 leté dosáhla hodnoty kolem 41,2%.

DSE hyfy byly přítomny pouze u břízy a to jen na 30letých (v míře 5,9%) a 50letých (v míře 5.5%).

Intercelulární kolonizace (mezi, které v některých případech patřily i hyfy EcM hub, které nevytvořily dostatečnou Hartigovu síť) byly přítomny v podobném množství (kolem 4-8%) na všech plochách.

Intracelulární kolonizace (vyjma DSE) se ve vzorcích vyskytovaly jen sporadicky (kolem 1%) a především v kořenech jívy. Žádný ze vzorků nebyl kolonizován AM (vyskytly se pouze dva vzorky s mírou kolonizace 0,02%, a AM kolonizace tudíž nebyla dále v tomto experimentu analyzována).



Obr. 4: Graf zahrnující celkový přehled míry kolonizace jednotlivými symbiózami zvlášť pro jivu (vpravo) a zvlášť pro břizu (vlevo). EcMpct znázorňuje míru kolonizace ektomykorhizními houbami, AMFpct kolonizaci arbuskulárně-mykorhizními. NCpct značí procento zastoupení nekolonizovaných kořenů, DSEpct značí zastoupení tmavých přehrádkovaných hyf. IntraEpct a InterEpct zastupuje procento intracelulární a intercelulární kolonizace endofytními houbami.

6.2 Lineární model

Z odhadů lineárních modelů vyplývá:

Pro EcM:

- Pokud byl zadán věk jako spojitá proměnná, je zde signifikantní negativní vliv věku na míru kolonizace kořenů EcM houbami. Není zde však prokázán vliv druhu.
- Při zadání věku jako nespojitě proměnné se plocha 30letá lišila od ostatních ploch.

Pro DSE kolonizaci bylo signifikantně prokázáno:

- Se zvyšujícím věkem se zvyšuje kolonizace DSE houbami.

- Při zadání věku nespojitě se plocha 30letá lišila od plochy 50leté.

Pro NC (tedy zastoupení čistých, nekolonizovaných kořenů) byly signifikantně prokázány jen výsledky na hladině významnosti 10%, které tedy proto neuvádím. Tato proměnná byla však jedinou proměnou, kde se objevily i interakce a to pro proměnnou druh.

Pro zastoupení kolonizace intracelulárními a intercelulárními útvary nebyl prokázán žádný signifikantní vliv věku.

Výsledky nenaznačují signifikanci proměnné pod-plochy, a jednotlivé vzorky v rámci každé plochy tak tvoří homogenní skupinu.

Veškeré uvedené signifikantní výsledky jsou prokázány na hladině významnosti 5%.

6.2.1 Tukey HSD test

Tukeyho HSD test prokázal signifikantní vliv věku ploch na kolonizaci EcM a na počet nekolonizovaných kořenů. Pro tyto dvě zmíněné vysvětlované proměnné se signifikantně lišily plochy 30 leté od 12 a 20 letých. U obou těchto proměnných zde byl prokázán signifikantní vliv v rámci druhu. A to vše na hladině významnosti 5%.

U vlivu věku ploch na kolonizaci kořenů intracelulárními, intercelulárními a DSE útvary, nebyl prokázán žádný významně signifikantní vliv.

6.2.2 Kruskal-Wallisův test

Byl prokázán signifikantní vliv věku ploch na EcM kolonizaci a NC, konkrétně v odlišnosti plochy 12 leté od 30 a 50 leté a 30 leté od 20 leté. Tento test neprokázal vliv druhu na kolonizaci kořenů EcM houbami. V případě NC zde signifikantní vliv v rámci druhu byl, proto jsem ještě otestovala data pro břízu a jívu zvlášť.

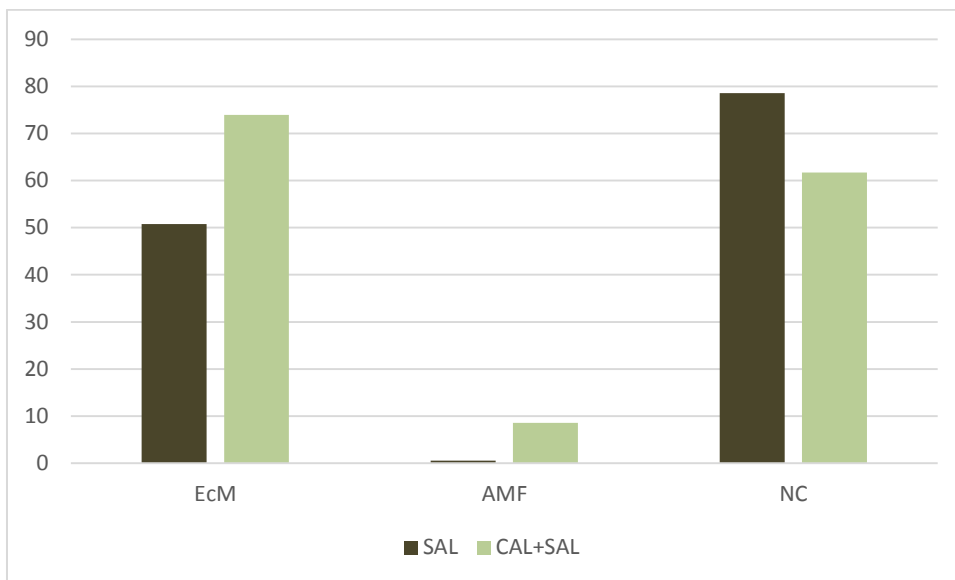
Pro břízu se v případě NC a stejně tak EcM lišila plocha 30letá od všech ostatních. Pro jívu se lišila plocha 12letá od 30ti a 50ti leté.

Pro zastoupení kolonizace intracelulárními a intercelulárními útvary znovu nebyl prokázán žádný signifikantní vliv věku ani druhu. Bylo tomu tak i pro kolonizaci kořenů DSE houbami.

6.3 Druhý experiment

Celkové zastoupení EcM kolonizace činilo 42%. Jak tomu bylo v rámci vlivu přítomnosti *Calamagrostis* ukazuje obr. 5. Intercelulární endofytní kolonizace byla přítomna v 9,5 % pozorování (do této kategorie byly zařazeny i segmenty kořene kolonizované intercelulárně tmavými přehrádkovanými hyfami hub, u kterých nebyla přítomna Hartigova síť, případně s náznaky hyfového pláště; nelze vyloučit, že v některých případech šlo o dosud nedostatečně vytvořenou ektomykorhizní symbiózu, protože v rámci nalezených ektomykorhiz byla i populace s tmavým mycéliem).

Intracelulární endofytní kolonizace se vyskytovala jen v 1,6 % pozorování. V tomto datovém setu nebyl žádný vzorek kolonizován DSE hyfami.



Obr. 5: Shrnutí míry kolonizace pro situaci s přítomností *Calamagrostis* (světlý sloupec) a bez přítomnosti *Calamagrostis* (tmavý sloupec).

6.3.1 Lineární regrese

Nulová hypotéza byla zamítnuta. Byl prokázán signifikantně pozitivní vliv *Calamagrostis epigejos* na přítomnost AM kolonizace.

Z odhadu lineární regrese vyplývá:

- signifikantně pozitivní vliv přítomnosti *Calamagrostis* na kolonizaci kořenů *Salix caprea* AM hostitelem,
- signifikantně pozitivní vliv přítomnosti *Calamagrostis* na kolonizaci kořenů *Salix caprea* EcM hostitelem,

- významně negativní vliv *Calamagrostis* na přítomnost endofytní intercelulární kolonizace.

Model neprokázal žádný vliv *Calamagrostis* na počet nekolonizovaných kořenů ani na přítomnost intracelulárních endofytních kolonizací.

Lineárním modelem byla testována také odlišnost pod-ploch. V případě AM nebyl prokázán významný vliv pod-ploch na kolonizaci. U EcM kolonizace zde byl významný rozdíl mezi plochami 1 a 2.

6.3.2 Kruskal-Wallisův test

Tento test potvrdil významný rozdíl ve vlivu *Calamagrostis* na kolonizaci kořenů *Salix* AM. Odlišnost byla prokázána také v intercelulární endofytní kolonizaci. V případě EcM zde odlišnost prokázána nebyla.

7 Diskuze

Co se týče výskytu kolonizace EcM na výsypkách oproti trendu, který vykazují na ledovcích, jsou zde patrné odlišnosti. Publikované studie zabývající se úspěšnou chronosekvencí na ledovcích se shodují, že EcM kolonizace se objevuje až na plochách starších 30ti let (Trowbridge a Jumponnen 2004, Cazares et al. 2005). Má pozorování ukazují, že kolonizace EcM je přítomna již na nejmladší studované ploše (12leté) a u obou dřevin zde dosahuje maxima a pak již spíše klesá.

Porovnala jsem přímo hodnoty míry kolonizace EcM vycházející z mého pozorování s hodnotami, které vycházejí ve výše zmíněných studiích, a zjistila jsem, že bříza je na 50letých plochách kolonizována ve stejné míře (40%) jako uvádí Trowbridge a Jumponnen (2004). Cazares et al. (2005) uvádí, že dosahuje největšího množství kolonizace v míře 23% na 60letých plochách, což je téměř poloviční hodnota oproti té, co vychází pro 50leté plochy z mého pozorování.

Je pravděpodobné, že půdy na výsypkách procházejí rychlejším vývojem než půdy po odhalení ledovcem. Náhlý pokles EcM kolonizace kolem 30 roku by mohl být pouze reakcí na změnu typu půdního humusu z moderu na mul.

Vypadá to, že změny nastávající kolem 25-30 roku (jak uvádí Frouz 2007) se týkají i mykorhizní symbiózy. Téměř všechny statistické analýzy nasvědčovaly o odlišnosti plochy 30 od ostatních ploch. Ektomykorhizní houby na tento skok reagovaly tak, že se míra kolonizace

kořenů jívy i břízy výrazně snížila. Data z 30leté plochy mají největší počet nekolonizovaných kořenů ze všech ploch.

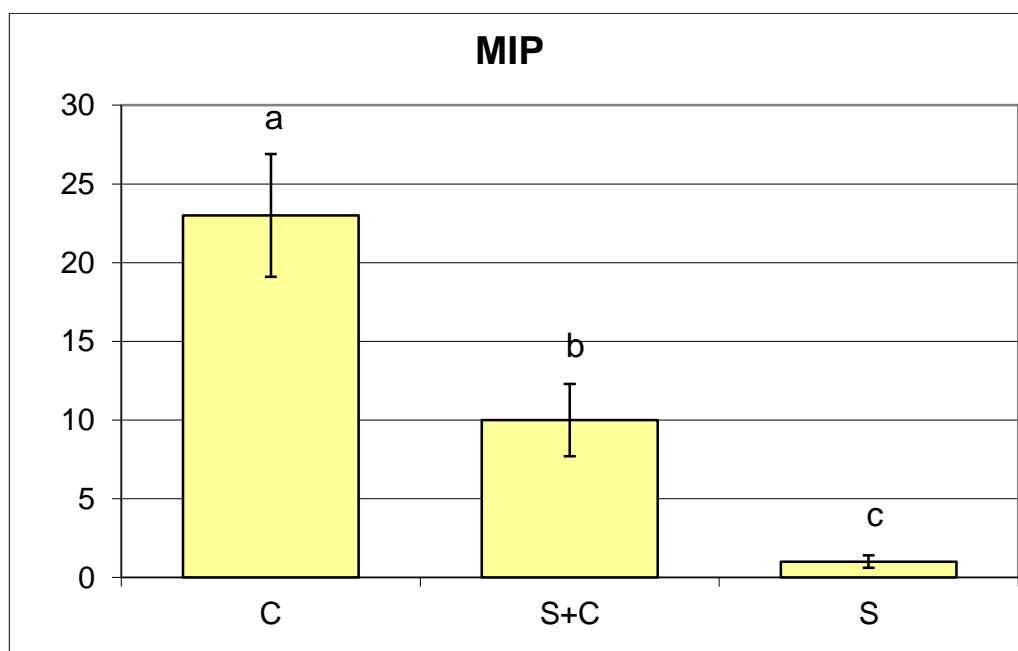
Z mých pozorování plyne, že DSE kolonizace se vyskytovala jen sporadicky oproti výsledkům, jež prokázaly studie probíhající na čele ledovců. Tyto studie uvádějí, že DSE houby jsou při sukcesi po ústupu ledovce prvními houbami, které kořeny kolonizují, zejména Cazares et al. (2005).

Pozorování vlivu přítomnosti *Calamagrostis epigejos* na míru kolonizace kořenů *Salix caprea* AM houbami ukázalo, že v *Salix caprea* je v přítomnosti *Calamagrostis epigejos* kolonizována AM houbami více než v její nepřítomnosti a to o více než polovinu. Tento fakt vyplývá i z paralelně pozorovaných a vyhodnocených vzorků kořenů třtiny, které nebyly součástí mé práce. Podrobněji je to zobrazeno na přiloženém grafu (obr. 6). Z porovnání mých pozorování s tímto grafem vyplývá, že interakce těchto dvou hostitelů jsou vzájemně-přítomnost *Salix* má negativní vliv na kolonizaci kořenů *Calamagrostis* AM houbami.

Ačkoli oba experimenty probíhaly na 20ti leté ploše, ve vzorcích odebraných na podzim nebyla přítomna AM kolonizace a ve vzorcích odebraných v červnu byla přítomna v průměrném zastoupení 4%. Dalo by se předpokládat, že v přítomnosti AM kolonizace na kořenech jívy, hraje roli vliv sezóny.

Půdní analýza prokázala, že s rostoucím stářím výsypek klesá pH, stejně tak uvádí i (Frouz et al 2008). Rozdíl pH mezi nejmladší a nejstarší plochou činí 0,8. Z půdní analýzy dále vyplývá, že zastoupení dusíku se během sukcese neměnilo a pohybovalo se kolem 4000 mg/kg, což je mnohem více než hodnoty, které uvádí (Frouz et al. 2007), tedy 1200mg/kg. Obsah vápníku se v průběhu sukcese postupně snižoval z počátečních 9636 mg/kg na 2847 mg/kg.

Jak je patrné z obr. 6, kolem 20. roku se výrazně snížil (dosáhl svého minima, tedy 45000mg/kg) obsah uhlíku a výrazně zvýšil obsah fosforu (dosáhl svého maxima, tedy 1000mg/kg). K tomuto jevu jsem nenašla žádnou souvislost s výsledky mnou zkoumaných studií a je třeba jej ještě podrobit dalšími zkoumáním.



Obr. 6: Výsledný graf sesterského experimentu. Je zde patrné, že pokud byla přítomna v bezprostřední blízkosti *Calamagrostis* i *Salix*, kolonizace *Calamagrostis* se výrazně snížila (o více jak polovinu) kolonizace kořenů *Calamagrostis* AM.

C - *Calamagrostis* alone

S + C - *Salix* and *Calamagrostis* together

S - *Salix* alone

8 Závěr

V práci jsem zaměřila především na dynamiku ektomykorhizních symbióz, protože jejich zastoupení v mnou zkoumaných kořenech dřevin převažovalo. Dynamika EcM hub v kořenech rostlin v průběhu sukcese na výsypkách procházela určitými změnami. Nejvýraznější změna se projevila kolem 30. roku sukcese, což pravděpodobně souvisí se změnami v půdě.

Statistická analýza prokázala, že dynamika ektomykorhizních hub se v průběhu sukcese na jednotlivých plochách lišila. Mezi břízou a jívou byl zvolenou statistickou analýzou prokázán rozdíl v podílu zastoupení čistých, nekolonizovaných kořenů. Kořeny jívy byly celkově méně kolonizované jednotlivými mykorhizní typy symbiózy na rozdíl od kořenů břízy.

Stáří plochy a druh dřeviny má vliv na kolonizaci dřevin ektomykorhizou. U břízy bylo zastoupení EcM na 30leté ploše výrazně nižší než na všech ostatních plochách. Se zvyšujícím se věkem klesalo zastoupení EcM v kořenech jívy.

Přítomnost *Calamagrostis epigejos* má vliv na míru AM kolonizace kořenů *Salix caprea*. V přítomnosti *Calamagrostis* jsou kořeny *Salix* kolonizovány AM ve větší míře než v její nepřítomnosti.

Práce mi přinesla mnoho nových zkušeností a rozšířila obzor mých znalostí. S pokorou doufám, že pozorování učiněná během mé práce budou alespoň malým přispěním pro Oddělení mykorhizních symbióz při zkoumání role mykorhizních hub v sukcesi na hnědouhelných výsypkách.

9 Přehled literatury a použitých zdrojů

BALDRIAN P., TROGL J., FROUZ J., ŠNAJDR J., VALÁŠKOVÁ V., MERHAUTOVÁ V., CAJTHAML T., HERINKOVÁ J. 2008: Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 2107–2115.

BOOTH G. M. 2004: Mycorrhizal networks mediate overstorey-understorey competition in a temperate forest. *Ecology Letters* 7: 538–546.

BEJČEK V., SKLENIČKA P., ŠTASTNÝ K. 2001: Lze využít přirozenou sukcesi při reklutivaci výsypek? Online: http://www.centrumprokrajinu.cz/doc/PDF_10.pdf, cit. 10.3. 2015.

BROUMOVÁ H., NOVOTNÁ K., ŠÍMOVÁ I. 2009: Výsypka po těžbě hnědého uhlí – unikátní krajinný novotvar. *Laboratoř aplikované ekologie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích*, online: http://investor.kr-ustecky.cz/reregions-mezinarodni_konference_most/C2E01TCZ.PDF, cit. 10.3. 2015.

CAZARES E., TRAPPE JM & JUMPPONEN A. 2005: Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15: 405-416.

FROUZ J. 2008: The effect of litter type and macrofauna community on litter decomposition and organic matter accumulation in post-mining sites. *Biologia* 63: 249–253.

FROUZ J., CIENCIALA E., PIŽL V., KALCÍK J. 2009: Carbon storage in post-mining forest soil, the role of tree biomass and soil bioturbation. *Biogeochemistry* 94: 111–121.

FROUZ J., POPPERL J., PRIKRYL I. & ŠTRUDL J. 2007: New landscape design in the region of Sokolov. *Sokolovská uhelná, právní nástupce a.s., Sokolov*.

FROUZ J., PIŽL V., TAJOVSKY K. 2007a: The effect of earthworms and other saprophagous macrofauna on soil microstructure in reclaimed and un-reclaimed post-mining sites in Central Europe. *European Journal of Soil Biology* 43: 184-189.

FROUZ J., PRACH K., PIŽL V. 2008: Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology* 44: 109-121.

FROUZ J., KEPLIN B., PIŽL V., TAJOVSKÝ K., STARÝ J., LUKEŠOVÁ A., NOVAKOVÁ A., BALÍK V., HÁNEL L., MATERNA J., DUKER C., CHALUPSKÝ J., RUSEK J. & HEINKELE T. 2001: Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences. *Ecological Engineering* 17: 275–284.

GRYNDLER, M. 2004: Mykorhizní symbióza, o soužití hub s kořeny rostlin. *Academia, Praha*.

JOHNSON D., MARLEEN J., GENNEY D., ANDERSON I., ALEXANDER J. 2005: How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of experimental botany* 56: 1751–1760.

JONGEPIEROVÁ I., PEŠOUT P., WILLEM JONGEPIER J., PRACH K. (eds.) 2012: Ekologická obnova v České republice. *AOPK ČR, Praha*.

JANOS D.P. 1984: Methods for vesicular-arbuscular mycorrhizal research in the lowland wet tropics. In: Medina E., Mooney H.A., Varquez-Yanes C. (eds.): *Physiological Ecology of Plants of the Wet Tropics*. *Junk, The Hague*, pp. 173-187.

KERNAGHAN G. 2005: Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia* 49: 511-520.

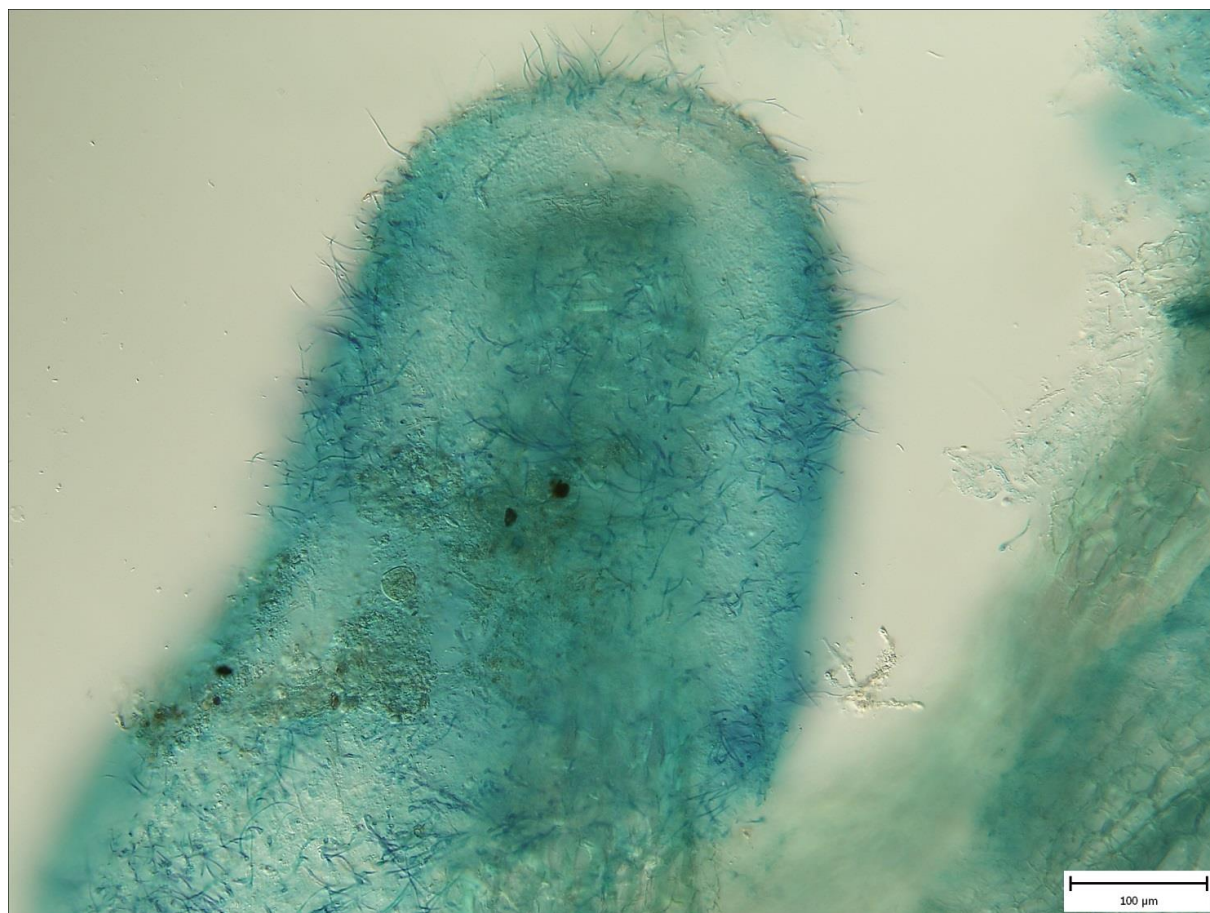
KOSKE R.E., GEMMA J.N. 1989: A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol Res* 92:486-505.

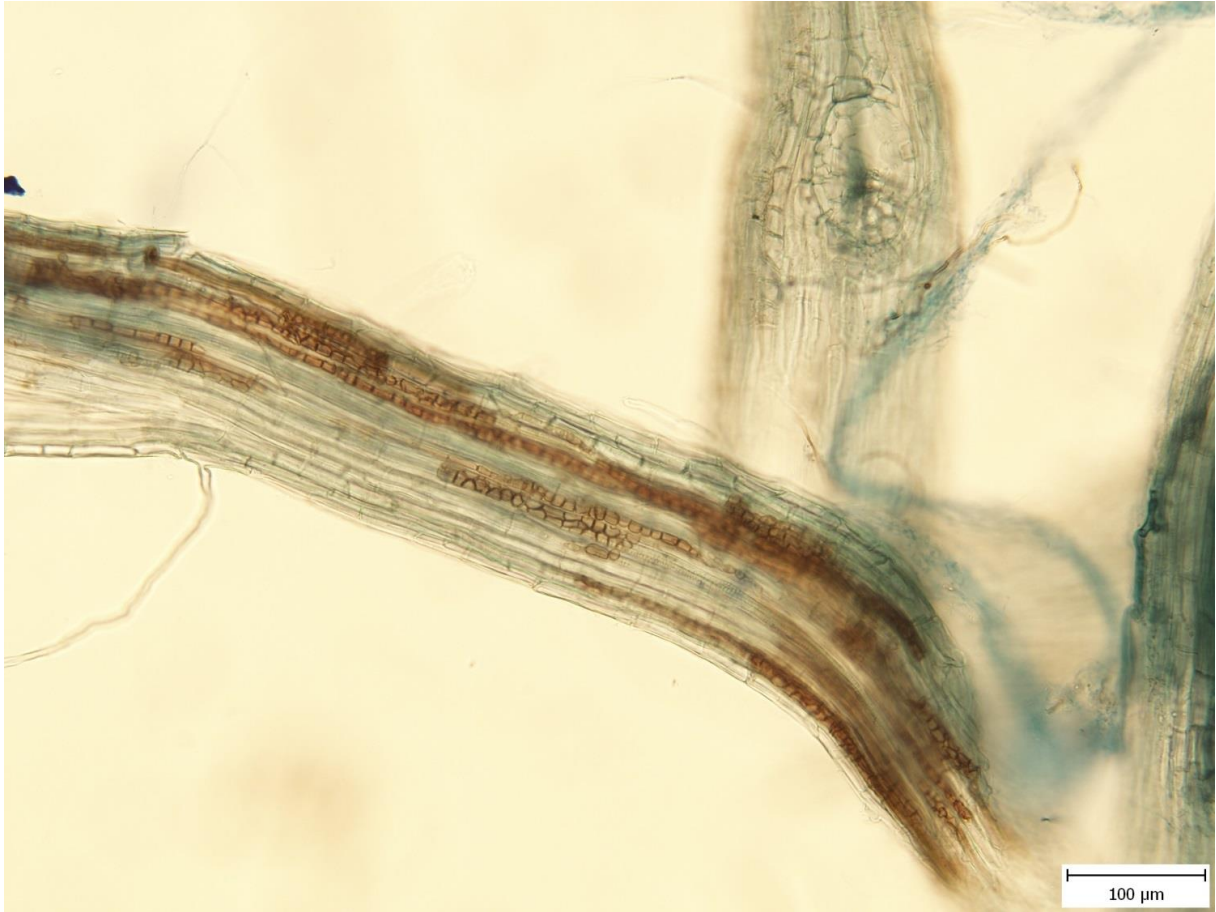
LÁTR A., ROZMOŠ M., VOSÁTKA M. nepublikováno: Využití hub z oddělení Glomeromycota, Ascomycota a Basidiomycota při pěstování rostlin. Online: http://www.czechmycology.org/ml/mykologicke-listy_abstracts_125.pdf, cit. 20.3. 2015.

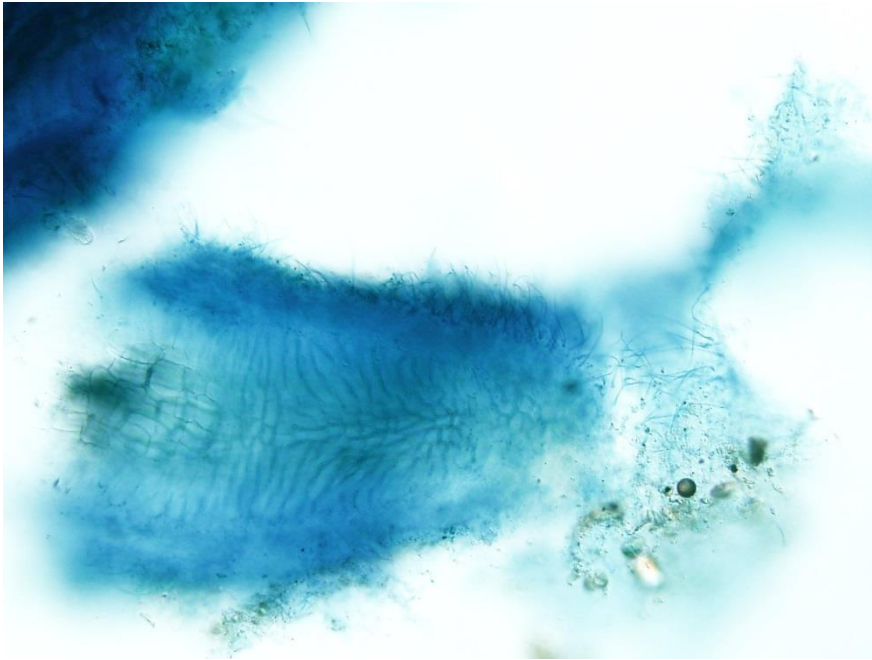
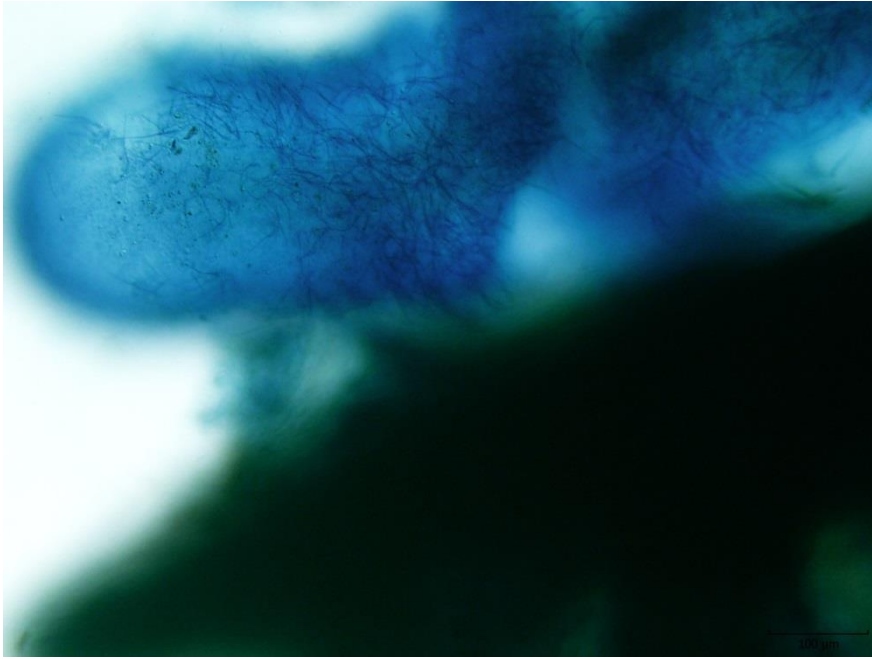
- LIKAR M., REGVAR M. 2013: Isolates of dark septate endophytes reduce metal uptake and improve physiology of *Salix caprea* L. *Plant soil* 370: 593–604.
- MANDYAM K., JUMPPONEN A. 2005: Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* 53: 173-189.
- NARA K. 2006: Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol* 169: 169-178.
- ÖPIK M., MOORA M., LIIRA J., ZOBEL M. 2006: Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology* 4: 778–790.
- PRACH K. 2003: Spontaneous sucesion for restoration of human disturbed habitats: What information can be used in restoration practice? *Appl. Veg. Sci.* 6: 125-129.
- ROJÍK P. (2004): New stratigraphic subdivision of the Tertiary in Sokolov Basin in Northwestern Bohemia. *Journal of the Czech Geological Society* 49: 173–186.
- ŘEHOUNEK J., ŘEHOUNKOVÁ K. & PRACH K. (eds) 2010: Ekologická obnova území narušených těžbou nerostných surovin a průmyslovými deponiemi. *Calla, České Budějovice*.
- SMITH S.E., READ D.J. 1997: Mycorrhizal Symbiosis. 2nd edition 1-605.
- TROWBRIDGE J., JUMPPONEN A. 2004: Fungal colonization of shrub willow roots at the forefront of a receding glacier. *Mycorrhiza* 14: 283-293.
- VOJAR J., DOLEŽALOVÁ J., SOLSKÝ M. 2012: Hnědouhelné výsypky – nová příležitost (nejen) pro obojživelníky. *Ochrana přírody* 3: 8-11.

10 Přílohy

10.1 První experiment







10.2 Druhý experiment

