



Fakulta životního prostředí

KATEDRA EKOLOGIE

Modelování cyklu živin při různých způsobech obhospodařování polopřirozených travních porostů

Disertační práce

Mgr. Pavla Mládková

školitel: prof. RNDr. Michal Hejcman, Ph.D. et Ph.D.

2017

Prohlašuji, že jsem vypracovala disertační práci samostatně, s využitím výsledků mé vlastní práce, výsledků spolupráce s mými kolegy a dalších publikovaných zdrojů, které jsou náležitě citovány.

V Praze, dne

.....

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat svému manželovi, Janu Mládkovi, za odborné konzultace, botanické poradenství a pomoc se sběrem dat,

Stanislavu Hejdukovi, Martinu Sochorcovi, Pavlíně Hejdukové a Davidu Opálkovi za pomoc při sběru dat a udržování managementových ploch,

Pavle Hejzmanové za pomoc při administraci projektu CIGA,

Stanislavu Pekárovi za možnost absolvování odborných statistických kurzů na PřF MU Brno a svému školiteli Michalu Hejzmanovi za pomoc a podporu během celého doktorského studia.

Tato práce vznikla díky podpoře projektů:

CIGA 42110/1313/3114 (Česká zemědělská univerzita v Praze)

RPV SP/2D3/179/07 (Ministerstvo životního prostředí)

MSM6215648905 (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy)

ÚVOD

V evropských podmínkách se v posledních desetiletích řeší problém ubývání biodiverzity na polopřirozených loukách a pastvinách, které je způsobeno dvěma protichůdnými vlivy – vysokou mírou intenzity využívání v kontrastu s rostoucím počtem opuštěných ploch.

Posledními ostrůvky vysoké biodiverzity zůstávají druhově bohaté travní porosty, nad kterými drží ochrannou ruku stát. Priorita ochrany druhové diverzity je pouze v nejpřísnějších zónách chráněných krajinných oblastí či národních parků, v ostatních, méně přísně střežených zónách, je nutné hledat kompromis mezi ochranou přírody a ekonomickou motivací zemědělce. Hlavním cílem již není maximalizace biodiverzity, ale zejména udržení bezlesí pomocí pastvy či sečení s co nejnižšími negativními dopady na druhovou rozmanitost fauny a flóry. Dodnes se hledá optimální způsob managementu, který by nejlépe pokryl potřeby zemědělců – produktivitu a kvalitu – a současně uspokojil potřeby ochrany přírody zachováním co nejvyšší biodiverzity.

Cílem této experimentální studie je analyzovat vlivy jednotlivých managementů (pastvy, sečení a ponechání ladem) na cykly základních živin (N, P, K, Ca, Mg), na změny v druhovém složení, na produktivitu společenstva i stravitelnost biomasy včetně zachycení sezónní dynamiky. Změny společenstva jsou posuzovány jak přímo posunem druhového složení, tak nepřímo pomocí funkčního přístupu. Stejně tak při analýze cyklů živin a hledání limitujícího prvku jsou použity 3 možné přístupy: přímá analýza koncentrací prvků v půdě a v biomase, dále metoda založená na vzájemných poměrech prvků v biomase a za třetí využití nutričních indexů. Spojení těchto přístupů umožňuje komplexní pochopení odčerpávání živin jednotlivými managementy. V závěrečné části práce jsou navrženy modely pro stanovení stravitelnosti píce a optimální doby sklizně, pro využití nejvyššího množství stravitelné hmoty.

Výsledky předložené studie provedené po sedmi letech trvání experimentu na dvou lokalitách v CHKO Bílé Karpaty mohou pomoci jak pracovníkům ochrany přírody při vytváření plánů péče na zemědělsky obhospodařovaných trvalých travních porostech, tak samotným zemědělcům při následné realizaci oboustranně výhodných opatření.

OBSAH

1. DOSAVADNÍ POZNATKY	7
1.1. Vliv aplikovaného managementu na cyklus prvků N-P-K-Ca-Mg v půdě a v biomase	7
1.1.1. Pastva	7
1.1.2. Sečení	12
1.1.3. Opuštěné travní porosty	14
1.1.4. Koncentrace živin v biomase versus dostupnost živin v půdě	15
1.2. Stanovení limitující živiny – různé přístupy	19
1.2.1. Efekt ředění během sezóny	20
1.2.2. Koncept nutričních indexů	20
1.2.3. Poměr koncentrací N:P:K v biomase	23
1.3. Funkční znaky rostlin v závislosti na aplikovaném managementu	25
1.3.1. Funkční znaky a úživnost stanoviště	26
1.3.2. Odlišné LDMC pro trávy a byliny	26
1.3.3. Vliv pastvy, sečení a ponechání ladem na funkční znaky	27
1.3.4. Management a doba kvetení porostu	28
1.4. Vliv managementu na druhové bohatství	28
1.4.1. Změny druhové diverzity v závislosti na změnách managementu	29
1.4.2. Druhová diverzita, úživnost stanoviště a produkce biomasy	31
1.4.3. Míry druhové diverzity	32
1.5. Stravitelnost biomasy	33
1.5.1. Pokles stravitelnosti během zrání porostu	33
1.5.2. Botanické složení porostu	34
1.5.3. Obsah sušiny v listech jako indikátor stravitelnosti	35
1.5.4. Půdní a klimatické podmínky	35
1.5.5. Vliv managementu na stravitelnost	36
1.5.6. Druhová diverzita a kvalita píce	37
1.5.7. Stravitelnost a výnos – hledání optimálního data sklizně	37
2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY	39
2. 1. Cíl práce	39
2. 2. Hypotézy	39
3. METODY A MATERIÁLY	40
3. 1. Charakteristika studovaných lokalit	40

3. 2. Design experimentu a sběr vzorků.....	40
3. 3. Chemické rozbory půdy	41
3. 4. Chemické rozbory biomasy	42
3. 5. Statistické zpracování dat	42
4. VÝSLEDKY	44
4. 1. Rozdíl v dostupnosti živin v půdě mezi pasenými, sečenými a opuštěnými plochami	44
4. 2. Porovnání koncentrací N-P-K v biomase mezi managementy během sezóny: křivky ředění ...	46
4.3. Porovnání koncentrací Ca a Mg mezi managementy	50
4.4. Poměry N:P:K v rámci managementů	51
4.5. Stanovení limitující živiny v rámci jednotlivých managementů.....	52
4. 6. Vyhodnocení vlivu managementů na travní porost pomocí funkčních znaků.....	54
4. 7. Vliv managementu na druhovou diverzitu a druhové složení	58
4. 8. Vliv managementu na množství sklizené biomasy.....	66
4. 9. Vliv managementu, chemického složení biomasy a funkčních znaků na stravitelnost	67
4. 10. Optimální doba sklizně: maximum stravitelné hmoty	72
5. DISKUSE	75
6. VYHODNOCENÍ TESTOVANÝCH HYPOTÉZ.....	84
7. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ.....	85
8. POUŽITÁ LITERATURA	87
9. PŘÍLOHY	99

1. DOSAVADNÍ POZNATKY

1.1. Vliv aplikovaného managementu na cyklus prvků N-P-K-Ca-Mg v půdě a v biomase

Aplikace managementu způsobuje změny dostupnosti živin

(i) **přímo**, a to odnosem živin sklizní či spasením (Øien & Moen 2001; Venterink *et al.* 2009), nebo naopak obohacením půdy fekáliemi býložravců (Hobbs 1996; Le Roux *et al.* 2003; Badía *et al.* 2008);

(ii) **nepřímo**, a to změnou druhového složení vedoucího například ke změně proporce leguminóz fixujících dusík (Parfitt *et al.* 2005) či rostlin se zásobními orgány (Köhler *et al.* 2005) a dále narušením půdního povrchu sešlapem herbivorů či pojezdy technikou, které mají za následek změny v hutnosti půdy a vliv na vsak vody (Abdel-Magid *et al.* 1987; Ludvíková *et al.* 2014).

Působení managementu je obvykle závislé na úživnosti stanoviště, klimatických podmínkách, nadmořské výšce či množství dodaných živin hnojením nebo atmosférickým spadem, ale také na historii obhospodařování před začátkem experimentu.

1.1.1. Pastva

V produktivních travních porostech pastva podporuje rostliny nízké a plazivé, jednoleté, časně kvetoucí, s vysokou specifickou listovou plochou a nízkým obsahem sušiny v listech (Díaz *et al.* 2007; McIntyre 2008). Tyto druhy orientované na „rychlý zisk“ (*resource acquisition strategy*) jsou pastvou zvýhodněny v živinami bohatých ekosystémech (Mikola *et al.* 2009), mají vysokou koncentraci živin v biomase a urychlují cyklus živin (Augustine *et al.* 2003; Semmartin *et al.* 2008), společně s působením půdní vlhkosti (Risch *et al.* 2007; Ewing *et al.* 2010).

Oproti tomu v suchých nízkoproduktivních pastevních ekosystémech, kde rostliny investují do efektivní obrany proti spasení, dobytek preferuje chutnější druhy, a tím nepřímo podporuje šíření pomalu rostoucích, hůře stravitelných druhů s vysokým obsahem sušiny v listech. Odumřelé části takových „konzervativních“ rostlin (*resource conservation strategy*) se

pomalou a špatně rozkládají a dále zpomalují cyklus živin (Hobbie 1992; Quétier *et al.* 2007). Nicméně jiní autoři (Badía *et al.* 2008) poukazují na to, že i v nízkoproduktivních ekosystémech může pastva zvýšit dostupnost živin, a tím podpořit rychle rostoucí, více produktivní druhy. Dochází k tomu zejména na místech, kde se dobytek napájí a odpočívá (*camping areas*). Pokud se nejedná o rotační pastvu nebo nelze měnit zdroj napájení, akumulace živin na jednom místě postupně vede k celkovým ztrátám živin na pastvině (Badía *et al.* 2008).

Redistribuce živin na pastvinách není způsobena pouze vznikem odpočinkových zón, ale i svažitostí terénu (Jewell *et al.* 2007; Schnyder *et al.* 2010). Na náhorních plošinách vznikají živinami bohaté zóny, podmíněné vyšší mírou vyměšování a menší mírou spásání. Oproti tomu příkřejší svahy se díky opačným trendům (méně vyměšování a více spásání) stávají živinami chudými zónami. Uvedený transfer živin má vliv zejména na horní vrstvu půdy do hloubky 30 cm (Schnyder *et al.* 2010).

Vliv pastvy na cyklus dusíku

Velcí herbivoři obohacují půdu exkrementy a močí, a tím přímo ovlivňují množství dostupného N v půdě (Badía *et al.* 2008; Whitehead 2008). Nepřímo pak působí vlivem defoliace na urychlení mineralizačních procesů v rhizosféře, čímž rostlinám usnadňují odběr N z půdy (Hamilton & Frank 2001).

Dlouhodobý experiment v Yellowstonském národním parku (Frank 2008) ukázal, že po zhruba 40 letech se na nepasených ohrazených plochách snížila koncentrace N v biomase oproti plochám paseným, ohrazení ovšem nemělo žádný vliv na množství dostupného N v půdě. Oproti tomu sedmiletá experimentální studie provedená v norských Alpách (Martinsen *et al.* 2012) doložila efekt pastvy s nízkou hustotou (25 ovcí/ha) na snížení obsahu dostupného dusíku v půdě a paradoxně nezjistila žádný efekt vysoké hustoty pastvy (75 ovcí / ha) oproti plochám nepaseným. Rovněž zde nebyl prokázán vliv pastvy na koncentraci N v biomase.

Při přechodu z intenzivně do extenzivně využívané pastvy (Loiseau *et al.* 2005) působí na množství dostupného dusíku dvě protichůdné tendence. V méně využívaných pastvinách dochází ke zvýšení množství N v půdě díky změnám v druhovém složení. Přímý vliv mírnějšího pastevního tlaku ale podporuje rozšíření méně chutných konzervativních druhů,

které zpomalují cyklus dusíku. Po 13 letech experimentu proto nebyl nalezen rozdíl v dostupnosti dusíku mezi intenzivně a extenzivně využívanými pastvinami.

Pokud pastva není plynulá během hlavní vegetační sezóny, ale probíhá pouze v určitých periodických cyklech, kdy je během krátké doby intenzivně vypasena, může docházet k velkým ztrátám dusíku, neboť potřeby rostlin a návrat živin ve formě exkrementů a moči nejsou zcela synchronizovány (McNaughton *et al.* 1988). Pastva také podporuje rozvoj leguminóz, a tím nepřímo působí na dostupnost dusíku (Pavlů *et al.* 2003).

Vliv pastvy na cyklus fosforu

Velká část živin (70–90 %), která je zkonzumovaná dobyt看em, se vrací zpět na pastvinu ve formě exkrementů a moči. Více než 95 % vyloučeného fosforu je obsaženo v exkrementech, zatímco moči vylučuje dobytek zbylých méně než 5 % přebytečného fosforu. Exkrementy obsahují 1,2 % P, moč pouze 0,19 % P. Na druhou stranu moč obsahuje více než trojnásobné množství N oproti exkrementům (Whitehead 2008). Tím dochází k separaci živin (Haynes & Williams 1993), kdy na pastvinách vznikají plochy s odlišným poměrem N:P v půdě.

Dobytěk nevrací fosfor na pastvinu rovnoměrným způsobem (Jewell *et al.* 2007), ale díky odpočinku či napájení vznikají místa, kde dochází k jeho větší akumulaci. Studie ze španělských Pyrenejí (Badía *et al.* 2008) doložila, že koncentrace P v půdě v centru odpočinkové zóny, kterou využíval dobytek po staletí, byla sedminásobně vyšší než na místech vzdálených 100 m od centra odpočinkové zóny.

Výzkumy na dlouhodobě pasené mongolské stepi ukázaly, že v ohrazených plochách, kde bylo zamezeno přístupu dobytka, se po 7 letech experimentu mírně zvýšilo množství dostupného P v půdě oproti paseným oblastem, zatímco u ostatních makroprvků (N, K, Ca, Mg) se neprojevil žádný rozdíl (Wesche *et al.* 2010). Vyšší koncentrace P v nadzemní biomase u 7 let ohrazených ploch (oproti paseným) doložila studie provedená na vlhké argentinské pampě (Chaneton *et al.* 1996). Nebyly zde ovšem zjištěny žádné změny v koncentraci P v půdě. Studie z Yellowstonekého národního parku ovšem pokles koncentrace P v půdě ani v nadzemní biomase na pasených plochách během 40letého experimentu nepotvrdila (Frank 2008).

Vliv redukce intenzity pastvy na cyklus živin řešila studie na třech různých lokalitách ve Skotsku po 5letém experimentu (Marriott *et al.* 2005). Změny v managementu neměly žádný

vliv na množství dostupných živin v půdě (N, P, K), ale koncentrace živin v biomase odpovídaly míře intenzity pastvy (intenzivní > extenzivní > lad). Obdobná studie po 16 letech experimentu (Marriott *et al.* 2010) zaznamenala pokles koncentrace P v půdě u extenzivně pasených ploch oproti intenzivně paseným i opuštěným plochám.

Vliv pastvy na cyklus draslíku

Pro výživu rostlin je stejně jako dusík a fosfor velmi důležité i množství dostupného draslíku. Při vysokých koncentracích K v půdě dochází k pasivnímu (tzv. luxusnímu) příjmu tohoto prvku rostlinami, který vede k omezení příjmu Mg a Ca (Kayser & Isselstein 2005). Optimální obsah draslíku v rostlinách je asi 2 % obsahu sušiny (Vaněk 2007). Trávy jsou schopny využívat draslík i z méně dostupných forem oproti jetelovinám, čímž jsou zvýhodněny při nedostatku draslíku, a mohou tak jeteloviny zcela potlačit. Draslík se do pastevního ekosystému vrací zejména v podobě moči dobytka, která obsahuje přibližně 7,5 % K (Whitehead 2008). Vzhledem k tomu, že se jedná o pohyblivý prvek, může docházet k jeho ztrátám vyplavováním nebo průsakem do spodních vod.

Experiment s aplikací moči na pastvinu na Novém Zélandu (Williams *et al.* 1989) doložil zvýšení množství dostupného K v půdním horizontu do hloubky 15 cm, které ovšem odpovídalo pouhým 42 % dodaného K v moči. Ke ztrátám K došlo jen několik hodin po aplikaci hnojiva zřejmě průsakem půdními póry do spodních vod. Celkový odběr rostlinami zhruba odpovídal poklesu dostupného K v půdě, tudíž k další výrazným ztrátám během sezóny již nedošlo. Potvrdila to i skleníková studie, kde pomocí simulace srážek (5–23 mm po dobu 6 dní) došlo k vyplavení přibližně 2 % dostupného K z půdy. Studie byla provedena na pastvinách s hlinitou půdou, kde se 86 % kořenové biomasy nachází v hloubce do 15 cm, zbylých 11 % pak do hloubky 30 cm.

Po 15 letech snížení intenzity pastvy (Marriott *et al.* 2010) došlo k nejvyššímu poklesu množství dostupného K v půdě na extenzivně pasených plochách oproti opuštěným a intenzivně paseným (intenzivní pastva > lad > extenzivní pastva), ale neprojevil se vliv managementu na koncentraci draslíku v biomase.

Vliv typu půdy (písčité, hlinité a jílovité) a managementu (sečení, pastva) na ztráty draslíku vyplavením řešil experiment (Alfaro *et al.* 2004) s aplikací draslíku v anorganické i organické formě. Největší ztráty dodaného K vyplavením byly v jílovitých půdách, dále písčitých půdách a nejmenší v hlinitých půdách. Ztráty ze sečených ploch byly o 61 % vyšší než

z pasených ploch, což mohlo být způsobeno aplikací chlévského hnoje na sečené plochy na začátku experimentu. Na druhou stranu na sečených plochách lze očekávat větší ztráty přijatelného K z půdy vzhledem k odnosu živin sečením a nízké návratnosti formou recyklace.

Výsledky studií, které se zabývaly vyplavením K na pasených a sečených plochách, jsou velmi variabilní (jejich přehled uvádí např. Kayser & Isselstein 2005) vzhledem k různým experimentálním podmínkám a zejména vlivu aplikovaného hnojiva. Roční ztráta draslíku na extenzivně pasených nehnojených pastvinách bývá obvykle nulová (Whitehead 2008), neboť čistý odběr K dobyt看em (investice do mléka a růstu) plus ztráty draslíku vyplavením (průsakem) odpovídají ročnímu atmosférickému spadu (4 kg K /ha za rok).

Vliv pastvy na cyklus vápníku a hořčíku

Vápník a hořčík se vyplavují z půdy méně snadno než draslík, ale na rozdíl od draslíku jsou tyto prvky vyplavovány více na pasených plochách než na sečených (Whitehead 2008). Vápník je obsažen zejména v exkrementech dobytka (1,65 %), v moči pouze 0,27 %, hořčík je obsažen v exkrementech i moči přibližně stejným dílem (0,55 a 0,51 %).

Na dlouhodobě pasených plochách oproti ohrazeným plochám bez pastvy (Wesche *et al.* 2010) nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi koncentrací Ca a Mg v půdě. Ani jiné studie porovnávající změny v půdě na základě různé intenzity pastvy nezaznamenaly změny v koncentraci Ca a Mg (Marriott *et al.* 2005, 2010)).

Na extenzivně pasených plochách ve Velké Británii dochází každoročně ke ztrátě asi 16 kg Ca/ha za rok a asi 1 kg Mg/ha za rok způsobené vyplavením prvků. Míra vyplavení může být ale mnohem menší v závislosti na klimatických a půdních podmínkách (Whitehead 2008).

Obsah Ca v biomase na pasených plochách se pohybuje v průměru od 0,60 do 0,86 % sušiny, obsah Mg pak od 0,13 do 0,24 % sušiny. Až třikrát více Ca je obsaženo v leguminózách než v trávách a koncentrace Mg je v leguminózách často až o 20 % větší oproti trávám (Whitehead 2008). Vzhledem k tomu, že pastva podporuje leguminózy (Pavlů *et al.* 2003; Tallowin *et al.* 2005) lze očekávat i nárůst koncentrace Ca a Mg v biomase pasených ploch.

1.1.2. Sečení

Odběr živin sečením je jednorázový, nedochází k průběžným disturbancím, ani návratu živin do systému. Na rozdíl od pasených ploch, kde se navrácené živiny kumulují na několika málo místech (výše zmíněné „camping areas“), je vliv zásahu rovnoměrný.

Přímý efekt sečení spojený s odstraňováním sena má za následek redukcii živin v půdě (Oloff *et al.* 1994; Venterink *et al.* 2002, 2009; Smits *et al.* 2008). Na druhou stranu sečení podporuje rostliny s vysokou relativní růstovou rychlostí, tedy i nízkým obsahem sušiny v listech, které se rychle a snadno rozkládají a zvyšují půdní mineralizaci (Robson *et al.* 2007; Orwin *et al.* 2010). Sečení podporuje rostliny, které musí v krátké době stihnout dokončit svůj vegetační cyklus a využít ekologické niky na začátku sezóny (Louault *et al.* 2005).

Vliv sečení na druhovou diverzitu je ambivalentní. V produktivních společenstvích sečení snižuje mezidruhovou kompetici o světlo a prostor a druhová bohatost roste. Na druhou stranu ve společenstvech s velmi nízkou produktivitou je kompetice o světlo a prostor méně významná a naopak ochuzení o živiny snižuje druhovou bohatost (Øien & Moen 2001).

Vliv sečení na cyklus dusíku

Každoroční odběr živin odstraňováním sena může způsobit na sečených plochách pokles dostupného N v půdě oproti plochám opuštěným. Na nízkoproduktivních sečených loukách západní Evropy je ovšem celková bilance dusíku vyrovnaná, neboť odnos dusíku senem (zhruba 50 kg N/ha za rok) pokryje poměrně vysoké množství N v atmosférickém spadu spolu s přeměněným (*turnover*) N v půdě (Venterink *et al.* 2002). Např. v Holandsku je průměrný roční atmosférický spad 43 kg N/ha, v České republice pouze 10–15 kg N/ha (<http://portal.chmi.cz>).

Na sečených plochách ve Švýcarsku (Köhler *et al.* 2001) byl zaznamenán jen mírný pokles dostupného N oproti plochám 22 let opuštěným. S tímto korespondují i závěry nizozemské studie (Oloff *et al.* 1994), kde se signifikantní snížení mineralizace N v půdě projevilo na sečených plochách, které byly 45 let nehnojeny, na ostatních sečených plochách, které byly nehnojeny 2, 6 a 19 let se mineralizace N v půdě nelišila. Přestože se každoročně sklízí odnášelo 72–106 kg N/ha, míra atmosférického spadu na studovaných lokalitách byla poměrně vysoká (60 kg/ha za rok), a tak stačila vyrovnávat bilanci dusíku a zpomalit vyčerpávání půdy.

V chladných oblastech severního Švédska se mineralizace N v půdě signifikantně snížila na sečených plochách oproti neudržovaným plochám již po tříletém experimentu (Sørensen *et al.* 2008). Oproti tomu studie z Francouzských Alp (Robson *et al.* 2010) nenašla vliv managementu (sečeno/nesečeno) na množství dostupného N v půdě ani v biomase.

Vliv sečení na cyklus fosforu

Pro nízkoproduktivní travní porosty je odběr P sečením 3,2 kg P/ha za rok, zatímco atmosférický spad činí pouze 0,15 kg P/ha za rok. Je ovšem obtížné stanovit množství přeměněného P v půdě a tedy i celkovou roční bilanci na méně úživných stanovištích (Venterink *et al.* 2002).

Očekávaný pokles dostupného P v půdě nepotvrdila norská studie (Øien & Moen 2001), kde při srovnání 20 let sečených ploch a 40 let nesečených ploch nedošlo ke změnám v koncentraci P v nadzemní ani podzemní biomase. Na některých lokalitách došlo dokonce k mírnému zvýšení koncentrace P v biomase sečených ploch. Autoři tento jev vysvětlují tím, že sečené plochy promrzají více do hloubky a při rozmrzání pak dochází k uvolňování P z hlubších vrstev půdy. Ani výše zmíněná studie provedená ve Švýcarsku (Köhler *et al.* 2001) nenašla v rámci dlouhodobého experimentu rozdíl v dostupnosti P na sečených a nesečených plochách.

Situace je ale odlišná pro produktivní travní porosty, kde se každoročně sečí odnáší podstatně větší množství P (19 kg/ha za rok) a tyto ztráty už není snadné kompenzovat atmosférickým spadem či uvolňováním fosforu z půdy, a může tak docházet k postupné ztrátě P (Venterink *et al.* 2002).

Vliv sečení na cyklus draslíku

Vliv sečení na bilanci draslíku je podle dosavadních studií mnohem jednoznačnější než vliv sečení na N a P. V poměrně krátkém časovém horizontu může dojít k vyčerpání zásob K a celkové limitaci draslíkem (Venterink *et al.* 2002, 2009; Kayser & Isselstein 2005). Je to způsobeno vysokým odnosem K v seně: přibližně 30 kg/ha za rok na nízkoproduktivních a 73 kg/ha za rok na vysoce produktivních travních porostech, nízkým atmosférickým spadem (2,2 kg K/ha za rok) a určitou ztrátou vyplavováním (Venterink *et al.* 2002).

Ztrátu draslíku ze sečených ploch potvrdila i norská studie (Øien & Moen 2001), kde po dvaceti letech sečení došlo k signifikantnímu snížení koncentrace K v nadzemní biomase oproti plochám nesečeným.

Výsledky pětileté experimentální studie z Nizozemí (Oomes *et al.* 1996) při porovnání sečených ploch (s odstraněním sena) a sečených ploch s mulčováním ukazují snížení koncentrace K v biomase na sečených plochách s odstraněným senem oproti mulčovaným plochám. Oproti tomu koncentrace P a N v biomase byly vyšší na sečených plochách než na mulčovaných. K obdobným závěrům došly i jiné studie (Parr & Way 1988).

Vliv sečení na cyklus vápníku a hořčíku

Vápník s hořčíkem zůstávají bohužel na okraji zájmu (ve stínu N-P-K) a jen málo studií se zabývá cykly těchto prvků v souvislosti s managementem travních porostů. Vliv odstranění posečené biomasy vyhrabáním oproti zanechání posečené biomasy na ploše na obsah Mg a Ca v biomase na travních porostech podél cest řeší např. Parr & Way (1988). U obou prvků došlo k mírnému poklesu během 17 let sečení, přičemž u vyhrabávaných ploch byla mírně nižší koncentrace Mg v biomase než u ploch, kde zůstala posečená biomasa ležet na místě.

1.1.3. Opuštěné travní porosty

Opuštěné travní porosty, kde chybí disturbance pastvou a sečením, jsou charakteristické pomalým cyklem živin a tvorbou podpůrných pletiv a stonků s obvykle nízkým obsahem uhlíku. Živiny se akumulují v podzemních orgánech a suché (mrtvé) nadzemní biomase (McNaughton *et al.* 1988). Půda na opuštěných travních porostech má vyšší pH než na sečených (Robson *et al.* 2007) či pasených (Marriott *et al.* 2010) plochách, přičemž pH se ukázalo napříč managementy vyšší začátkem sezóny (Marriott *et al.* 2010).

Na opuštěných travních porostech, kde nedochází k odnosu biomasy, a naopak se zde hromadí stařina, je omezený přísun světla, což vede k redukci druhové diverzity. Vzhledem k absenci disturbancí nedochází k pravidelnému odnosu živin a navíc, v opuštěných nízkoproduktivních travních porostech, které byly v minulosti dlouhodobě sečeny (paseny), se urychluje sukcese, která podporuje mineralizaci N (Köhler *et al.* 2001). Doložil to i dlouhodobý experiment srovnávající sečené, pasené a opuštěné travní porosty (Rizand *et al.* 1989), kde největší množství dostupného N bylo na plochách bez managementu.

Zanedbání managementu ovšem na druhou stranu podporuje rostliny se zásobními orgány (válečka prapořitá, *Brachypodium pinnatum*) a může postupně vést ke snížení dostupnosti živin v půdě (Pecháčková & Krahulec 1995; Köhler *et al.* 2005). S tím souhlasí i závěry francouzské studie (Robson *et al.* 2007), kde na opuštěných travních porostech došlo k redukci N mineralizace a posunu druhového složení k druhům s konzervativní strategií s dominancí trav. U opuštěných travních porostů bylo zaznamenáno po 17 letech zvýšení poměru C:N, vyšší obsah Mg a nižší množství K v půdě oproti různě intenzivně paseným plochám (Marriott *et al.* 2010).

1.1.4. Koncentrace živin v biomase versus dostupnost živin v půdě

Dusík

Na koncentraci N v biomase má vliv zejména (i) množství dostupného N v půdě, (ii) zastoupení trav a leguminóz a (iii) stupeň zralosti travního porostu (Whitehead 2008). Pro hnojené travní porosty je koncentrace N v biomase (s ohledem na obsah sušiny v biomase) adekvátním ukazatelem pro stanovení optimálních dávek hnojiva (Duru & Ducrocq 1997; Gastal & Lemaire 2002). Hnojení dusíkem má ovšem jen malý efekt na koncentraci N v leguminózách (Whitehead 2008). Leguminózy mají obvykle vyšší koncentraci N (2,5–5,5 %) než trávy (1 % u nehnojených porostů), pokud je srovnáváme ve stejném stavu zralosti.

Dusík se do půdy kromě statkových hnojiv a rostlinných zbytků dostává také pomocí fixace mikroorganismy a atmosférického spadu (15 kg N/ha pro ČR). Dostatek přijatelného dusíku podporuje i příjem dalších prvků (P, K, Ca, Mg) a mohutný růst vysokých trav (Duru & Ducrocq 1997; Vaněk 2007).

Vzhledem k problematickému měření dostupného N v půdě poukazují některé studie (Springob 2003; Loiseau *et al.* 2005; Parfitt *et al.* 2005) na silnou negativní korelaci mezi množstvím dostupného dusíku a poměrem uhlíku k celkovému dusíku ($C_{org}:N_{tot}$), jenž potom slouží jako alternativní (inverzní) ukazatel dostupného dusíku v půdě.

U nehnojených travních porostů může ovšem mít množství dostupného N v půdě (plus atmosférický spad) jen malý vliv na koncentraci N v biomase a mnohem důležitější jsou potom jiné faktory jako druhové složení, zralost porostu, teplota, vlhkost a intenzita světla.

Typický poměr koncentrace N v biomase ke koncentraci N v půdě pro travní porosty mírného pásma je 10:1 (Whitehead 2008).

K podobným závěrům došla i holandská studie (Schaffers 2002) porovnávající vztah živin v půdě a biomase při různých typech sečení. Na koncentraci N v rostlinné tkáni měla pozitivní signifikantní vliv frekvence sečení (dvakrát ročně vs. jednou ročně) a intenzita zastínění. Obě tyto proměnné se ukázaly jako významnější oproti mineralizaci dusíku v půdě. Při opačném postupu, pro odvození mineralizace N z charakteristik biomasy a prostředí se ukázaly na základě postupné mnohonásobné regrese (*stepwise regression*) jako nejlépe vysvětlující proměnné produkce nadzemní biomasy a půdní vlhkost, které společně vysvětlovaly 72 % variability rostlinám dostupného dusíku (Schaffers 2002). Produkce biomasy byla lepším prediktorem dostupnosti dusíku než celkový roční odběr dusíku. Korelace mezi koncentrací dusíku v biomase a N mineralizací byla jen slabá ($r=0,34$).

Jiná holandská studie (Venterink *et al.* 2002) našla silnou pozitivní korelaci mezi množstvím dostupného N v půdě a celkovým odběrem dusíku (kg N/ha) na dlouhodobě sečených nehnojených vlhkých loukách na vrcholu vegetační sezóny (v červenci) na gradientu produktivity stanovišť, kde hlavním zdrojem N byl poměrně velký atmosférický spad (43 kg N/ha za rok). K obdobným závěrům došla i studie na pastvinách Nového Zélandu (Parfitt *et al.* 2005), která našla silnou pozitivní korelaci ($r=0,95$) mezi mineralizací N a celkovým odběrem dusíku, stejně jako mineralizací N a velikostí výnosu ($r=0,87$).

Na dlouhodobě hnojeném experimentu v německém Rengenu se rovněž jako lepší ukazatel úživnosti stanoviště projevil celkový roční odběr dusíku (kg/ha) než koncentrace dusíku v biomase, která byla naopak díky silnému efektu ředění na dusíkem hnojených plochách nižší ve srovnání s nehnojenými plochami (Hejcman *et al.* 2010).

Fosfor

Jen malá část fosforu obsaženého v půdě je přijatelná pro rostliny. Primárním zdrojem fosforu jsou fosfátové minerály (fosforečnany vápenaté, apatity), které mohou za určitých podmínek uvolňovat fosfor do půdního roztoku. V kyselém prostředí ovšem vznikají sloučeniny hliníku (variscit) a železa (vivianit, strengit), které jsou pro většinu rostlin nepřijatelné; optimální pH pro příjem fosforu je 5,0–7,5 (Vaněk 2007).

Vzhledem k tomu, že fosfor je oproti dusíku málo pohyblivý, má na jeho příjem vliv také množství a hustota kořenových vláken, rychlost růstu kořenového systému a mykorhiza. Protože trávy mají poměrně hustý kořenový systém, získávají fosfor snadněji než leguminózy. Při nedostatku fosforu jsou proto trávy konkurenčně zvýhodněny oproti leguminózám (Whitehead 2008), a naopak dostatek fosforu podporuje spíše leguminózy, vzhledem k jejich schopnosti fixovat atmosférický dusík (Sinclair *et al.* 1996). Koncentrace fosforu v trávách a leguminózách je podobná, pouze jetel plazivý (*Trifolium repens*) vykazuje o něco větší koncentraci P než jiné leguminózy (Whitehead 2008).

Na koncentraci P v biomase má kromě množství dodaného P formou hnojiva vliv i struktura půdy a disturbance (pastva, sečení). Závislost koncentrace fosforu v biomase na dodaném fosforu je markantnější na sečených plochách než pasených. Příjem P je ovlivněn i dodaným množstvím dusíku a síry. Poměr koncentrace fosforu v biomase ke koncentraci fosforu v půdě je v podmínkách mírného pásma zhruba 2:1 (Whitehead 2008).

Přestože je fosfor v půdě málo pohyblivý, při hnojení proniká u trvalých travních porostů do hloubky až 40 cm, zatímco u orné půdy zůstává jen v povrchové vrstvě do 20 cm (Cooke & Williams 1970), což je zřejmě způsobeno činností kořenů.

Koncentrace P v biomase se ukázala (Schaffers 2002) být pozitivně ovlivněna nejen množstvím dostupného P v půdě, hodnotou pH s optimem 5,5 (pH-CaCl₂), ale i frekvencí sečení (dvakrát ročně), negativně pak půdní vlhkostí. Na druhou stranu ve stejné studii nebyl nalezen uspokojivý model (s $R^2 > 50\%$), který by pomocí charakteristik biomasy (produkce nadzemní biomasy, koncentrace N, P, K v biomase), a prostředí (vlhkost, zastínění, půdní pH) odvodil množství dostupného P v půdě.

Ve studii provedené na nehnojených vlhkých loukách (Venterink *et al.* 2002) také celkový odběr P pozitivně koreloval s množstvím dostupného P v půdě, ale závislost se neukázala na mokřadních stanovištích (bažinách). Experiment z Rengenu (Hejcman *et al.* 2010) potvrdil pozitivní vazbu mezi koncentrací P v biomase, celkovým odběrem P a množstvím dostupného P v půdě.

Draslík

Příjem draslíku závisí na jeho koncentraci v půdním roztoku, ale je i výrazně ovlivňován vlhkostí, teplotou a intenzitou slunečního záření. Draslík je rostlinami přijímán jak aktivně,

tak pasivně. Při nadměrném množství dostupného K v půdě převažuje pasivní příjem a může dojít k tzv. luxusnímu konzumu, kdy se draslík hromadí v pletivech rostlin a brání příjmu jiných kationtů, zejm. Mg^{2+} a Ca^{2+} .

Draslík je velmi pohyblivý prvek, a to nejen v půdě, ale i v rostlinách. Některé rostliny koncem vegetačního období vydávají draslík kořeny zpět do půdy. Draslík může být také snadno vymýván ze starších nadzemních orgánů, neboť není v rostlinách pevně vázán. Jeteloviny mají oproti travám menší schopnost přijímat draslík, zatímco trávy dovedou využít i méně dostupné formy K (Vaněk 2007).

Průměrná koncentrace K v biomase se pohybuje v rozmezí 1–3 % a poměr koncentrace K v biomase ke koncentraci K v půdě je 1,7:1. Draslík je jediným z prvků, který se při hnojení může aplikovat rutinně, neboť množství dodaného K se přímo projeví na koncentraci K v biomase, markantněji pak u jetelovin, přičemž koncentrace K v obou skupinách je na nehnojených travních porostech podobná. Aplikace draselných hnojiv (stejně jako fosforečných) zvyhodňuje leguminózy oproti travám (Whitehead 2008).

Pro koncentraci K v biomase se jako nejdůležitější vysvětlující proměnná ukázalo množství dostupného K v půdě a míra zastínění (pozitivně) s optimálním $pH=6,0$ ($pH-CaCl_2$). Pro odhad množství dostupného K v půdě byla nejlepším ukazatelem koncentrace K v biomase, spolu s produkcí nadzemní biomasy (pozitivně), koncentrací P v biomase (negativně) a půdní vlhkostí (negativně). Model vysvětloval 69 % variability, přičemž půdní vlhkost k vysvětlení variability přispěla jen 4 % (Schaffers 2002).

Experiment z Rengenu stejně jako u fosforu doložil pozitivní vazbu mezi koncentrací K v biomase, dostupným K v půdě a také celkovým ročním odběrem K (Hejzman *et al.* 2010), zatímco jiná studie (Venterink *et al.* 2002) signifikantní vztah mezi dostupným K v půdě a celkovým odběrem K na vlhkých loukách nepotvrdila.

Vápník a hořčík

Obsah vápníku v půdách je poměrně variabilní, od 0,15 % na kyselých písčitých půdách až po 10 % na vápenitých půdách. Dostatečné množství vápníku působí pozitivně na příjem ostatních iontů. Na příjem vápníku má vliv půdní vlhkost, přičemž při nižší vlhkosti je přijímáno více Ca a jak už bylo výše řečeno, negativně na příjem vápníku působí zvýšený

příjem K a tedy i vlhko a teplo. Koncentrace Ca v biomase se zvyšuje s rostoucím pH půdy a tedy i s vyšší koncentrací dostupného Ca v půdě (Vaněk 2007).

Rovněž obsah Mg v půdách se pohybuje na poměrně široké škále od 0,4 % na lehkých půdách až po 10 % na dolomitech. Uvolňování hořčíku z minerálů je obtížnější než u vápníku, a naopak vymývání z půdy je snazší. Jarní silné deště mohou způsobit na lehkých půdách splavení Mg mimo kořenovou zónu, což může mít za následek dočasný nedostatek Mg. Příjem Mg je značně omezen na kyselých půdách, kde lze jeho příjem zvýšit vápněním. Optimální pH pro příjem hořčíku je 5,5 až 6,5.

Transport Mg v rostlině je poměrně dobrý a rostlina ho může snadno přesunout ze starších částí do nových orgánů a na konci vegetace ho ukládá do semen, zatímco vápník má nízkou mobilitu a není možné ho zpětně využít ze starších částí rostliny. Příjem Mg je rovnoměrný během vegetace a vrcholí v době těsně před zráním semen (Vaněk 2007).

Obsah vápníku v rostlinách se pohybuje v rozmezí 0,1–2,6 %, obsah hořčíku je obvykle mezi 0,1–0,3 %. Větší koncentraci vápníku i hořčíku mají dvouděložné byliny, zejména pak leguminózy (Whitehead 2008).

Aplikace hořečnatých hnojiv je účinná pouze na kyselých půdách; na vápnatých půdách má jen malý efekt na koncentraci Mg v biomase. Na obsah Mg a Ca v biomase má vliv hnojení dusíkem, který zvyšuje příjem hořčíku a naopak může snížit koncentraci vápníku v biomase, ale vliv bývá poměrně variabilní v závislosti na formě aplikovaného hnojiva. Některé studie doložily vliv aplikovaného fosforu na zvýšení koncentrace Ca a Mg a obdobně aplikace Mg zvýšila příjem fosforu (Vaněk 2007; Whitehead 2008).

1.2. Stanovení limitující živiny – různé přístupy

Mnohé studie se zabývaly otázkou, zda lze limitaci produkce biomasy v různých typech travních porostů odvodit z koncentrací živin v nadzemní biomase (Schaffers & Sýkora 2002; Venterink *et al.* 2003; Jewell *et al.* 2005; Rozbrojová & Hájek 2008; Loeb *et al.* 2009). Přímé porovnání koncentrací N, P, K komplikuje jejich ředění během sezóny, a proto byl vyvinut koncept nutričních indexů (Duru & Ducrocq 1997; Duru & Thélier-Huché 1997). Problém limitace nejméně dostupnou živinou (Liebigův zákon minima) ošetřuje koncept založený na vzájemných poměrech prvků N, P, K (Venterink *et al.* 2003).

1.2.1. Efekt ředění během sezóny

Při porovnávání přímých koncentrací prvků v biomase je potřeba zohledňovat datum sklizně, resp. množství celkového výnosu, neboť při nárůstu biomasy dochází k ředění koncentrací dusíku, fosforu a draslíku. Dosavadní studie prokázaly ředící efekt pro N, P, K jak u hnojených travních porostů (Pritchard *et al.* 1964; Duru & Ducrocq 1997; Gastal & Lemaire 2002; Jouany *et al.* 2004; Hejzman *et al.* 2010), tak u polopřirozených travních porostů (Chaneton *et al.* 1996; Frank 2008; Whitehead 2008). Při poklesu koncentrace N během stárnutí travního porostu v nadzemní biomase dochází na druhou stranu k akumulaci N v podzemních orgánech jak u trav, tak u bylin (Chaneton *et al.* 1996). Koncentrace P klesá během vegetační sezóny typicky mírněji než koncentrace N (Whitehead 2008).

Změny v koncentraci jiných makroprvků (Mg, Ca) během vegetační sezóny ovšem nejsou tak jednoznačné, jak je tomu u dusíku, fosforu a draslíku. Například koncentrace Mg a Ca **ve stoncích** sveřepu a bojínku během sezóny poklesla, **v listech** obou trav koncentrace Ca vzrostla a koncentrace Mg zůstala konstantní (Pritchard *et al.* 1964). Pokles všech makroprvků vyjma Ca u jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum*) během zrání vegetace uvádí i Brink *et al.* (2006). Pro leguminózy je situace ještě složitější a nebyl nalezen konzistentní trend ve změně koncentrace pro Ca a Mg během zrání vegetace (Whitehead 2008).

1.2.2. Koncept nutričních indexů

Výzkum hnojení polních plodin (Lemaire & Gastal 1997) a kulturních travních porostů (Duru & Ducrocq 1997; Jouany *et al.* 2004) ukázal, že koncentrace živin v biomase trav (*Poaceae*) z velké části odpovídá dostupnosti prvků v půdě. Byly vyvinuty nutriční indexy NNI, PNI a KNI, které ukazují, jakou měrou je produkce biomasy limitována dostupností dusíku, fosforu a draslíku. Výhodou tohoto přístupu je, že bere v úvahu ředící efekt v biomase během vegetační sezóny (Greenwood *et al.* 1991; Schnyder *et al.* 2010). Nutriční indexy se v zemědělství využívají pro určení úživnosti stanoviště a stanovení dávek hnojiva (Farruggia *et al.* 2000).

Během nárůstu biomasy dochází k poklesu koncentrace dusíku podle vztahu:

$$N\% = \alpha DM^{-\beta}$$

kde koncentrace dusíku je vyjádřena v g N na 100 g biomasy (sušiny), **DM** (*Dry matter*) je sušina nadzemní biomasy v t/ha, **α** je koncentrace dusíku pro DM rovno 1 t/h, **β** je koeficient ředění N (Magda *et al.* 2003).

Pro optimální výživu dusíkem byly nalezeny parametry $\alpha=4,8$ a $\beta=-0,32$ (Duru & Théliér-Huché 1997), které určují rovnici optimální (kritické) křivky pro koncentraci N v závislosti na množství sušiny v nadzemní biomase (DM):

$$N_o = 4.8 DM^{-0.32}$$

Optimální (kritická) koncentrace dusíku je definována jako „minimální koncentrace N, která umožňuje maximální tempo růstu“ (Gastal & Lemaire 2002). Z rovnice, která má hyperbolický charakter, je zřejmé, že s rostoucím DM klesá optimální koncentrace N_o díky efektu ředění.

Nutriční index pro dusík je pak poměr naměřené koncentrace dusíku k optimální koncentraci, násobeno 100 (Duru & Ducrocq 1997):

$$NNI = 100 N_m / N_o$$

Nutriční index NNI je krátkodobý a závislý na podmínkách prostředí, reprezentuje rozsah limitace související s rostlinou a má za cíl zachytit potenciální růst, který dovolují lokální podmínky (Duru *et al.* 2010a).

Vztah mezi koncentrací N a koncentrací P v nadzemní biomase má lineární charakter a lze jej vyjádřit vztahem:

$$P_o = 0.15 + 0.065 N_m$$

kde P_o je optimální koncentrace fosforu v biomase vzhledem k naměřené koncentraci dusíku N_m (Duru & Théliér-Huché 1997).

Nutriční index pro fosfor lze pak vyjádřit jako poměr mezi naměřenou koncentrací fosforu a optimální koncentrací fosforu, násobeno 100 (Duru & Ducrocq 1997):

$$PNI = 100 P_m / P_o$$

Optimální koncentraci draslíku (K_o) v biomase vzhledem k naměřenému dusíku (N_m) lze vyjádřit rovněž lineárním vztahem:

$$K_o=1,6+0.525 N_m$$

Nutriční index pro draslík je pak poměr mezi naměřenou koncentrací draslíku (K_m) a optimální koncentrací draslíku (K_o), násobeno 100 (Duru & Théliér-Huché 1997):

$$KNI=100 K_m/K_o$$

Z definic indexů vyplývá, že hodnota rovná 100 značí optimální úživnost stanoviště daným prvkem (N, P, K). Hodnoty indexu větší než 100 pak znamenají luxusní úživnost stanoviště neboli nadbytek živiny, hodnoty od 80 do 100 značí vyhovující úživnost, hodnoty od 60 do 80 nevyhovující úživnost, od 40 do 60 velmi nevyhovující a je-li index menší než 40, jedná se o kritický nedostatek daného prvku (Farruggia *et al.* 2000; Jouany *et al.* 2011).

Na nehnojených druhově bohatých travních porostech, kde není prioritou dosažení maximální produkce, jsou hodnoty indexů mnohem menší než výše definované optimální hodnoty (Farruggia *et al.* 2000).

Nutriční indexy pro travní porosty s obsahem leguminóz

Metoda stanovení úživnosti půdy na základě nutričních indexů se ukázala jako velice vhodnou pro porosty čistě s trávami (lipnicovité, *Poaceae*), a naopak nevhodná, pokud jsou v porostu zastoupeny leguminózy (Duru & Théliér-Huché 1997). Vzhledem k tomu, že leguminózy díky schopnosti fixovat atmosférický dusík, obsahují více dusíku než jiné dvouděložné a trávy, je **NNI v porostu s obsahem leguminóz přeceňován (nadhodnocen)** a neodpovídá dostupnosti N v půdě. Cruz *et al.* (2006) navrhuje modifikaci nutričního indexu pro dusík (NNI), a to:

$$NNI_{leg}=NNI - 0,7 LEG$$

kde NNI_{leg} je modifikovaný nutriční index za přítomnosti leguminóz a LEG je množství leguminóz v porostu vyjádřeno v %.

Jouany *et al.* (2004) testovala vhodnost použití PNI indexu za přítomnosti jetele plazivého (*Trifolium repens*) ve smíšeném travním porostu. Bylo zjištěno, že jetel ve smíšeném porostu vykazoval menší schopnost osvojovat si fosfor než trávy, zejména při nízké dostupnosti fosforu. **Přítomnost jetele pak vykazovala nižší (podhodnocené) hodnoty PNI**, které zcela neodpovídaly úživnosti stanoviště a potvrdila tak nevhodnost použití stávajícího nutričního

indexu za přítomnosti leguminóz. Jouany *et al.* (2005) navrhuje modifikaci indexu pro fosfor při užití ve smíšeném travním porostu s obsahem leguminóz následujícím způsobem:

$$\text{PNI}_{\text{leg}} = \text{PNI} + 0.5 \text{ LEG}$$

kde PNI_{leg} je modifikovaný nutriční index pro fosfor a LEG je množství leguminóz v porostu vyjádřeno v %.

Ukázalo se, že za přítomnosti leguminóz je rovněž podhodnocen nutriční index pro draslík (KNI), který si vyžaduje stejnou modifikaci jako PNI (Jouany *et al.* 2005):

$$\text{KNI}_{\text{leg}} = \text{KNI} + 0.5 \text{ LEG}$$

kde KNI_{leg} je modifikovaný nutriční index pro draslík za přítomnosti leguminóz a LEG je množství leguminóz v porostu vyjádřeno v %.

1.2.3. Poměr koncentrací N:P:K v biomase

Podle Liebigova zákona minima nezávisí produkce biomasy na celkovém množství dostupných živin, ale na dostupnosti nejvzácnějšího zdroje, který je pro výnos limitujícím faktorem. Vzájemný vztah živin N-P-K, zásadních pro produkci biomasy (viz Park Grass experiment, Rengen Grassland experiment), vystihují jejich dílčí poměry N:P, N:K a K:P (Pegtel *et al.* 1996) nebo trojúhelníkový vztah N:P:K (Schaffers & Sýkora 2002; Venterink *et al.* 2003).

Na základě metaanalýzy publikovaných studií suchozemských rostlin stanovil Pegtel *et al.* (1996) průměrné poměry makroprvků v nadzemní biomase: **N:P~10, N:K~1,2 a K:P~8,6** jako normu pro určení limitující živiny napříč všemi typy porostů. Limitaci živinami na vlhkých stanovištích řeší studie založená na 44 evropských experimentech s hnojením (Venterink *et al.* 2003), která z trojúhelníkového vztahu koncentrací živin N-P-K a konkrétní produkce daných stanovišť vyvozuje kritické poměry: **N:P~14,5; N:K~2,1; K:P~3,4**.

Koncepce relativních koncentrací N-P-K (kde $N + 10 \times P + K = 100$ %) využívá ke stanovení limitující živiny optimální rozmezí poměrů **N:P~10-14; N:K~1-1,5** (Schaffers & Sýkora 2002), kde překročení dolní hranice značí limitaci N, překročení horní hranice pak limitaci P, resp. K.

Obecně je obtížné stanovit jasné hranice pro limitaci jednotlivým prvkem, neboť poměr N:P závisí na druhovém složení porostu, stáří porostu, analyzované části rostlin nebo rychlosti růstu. Poměr N:P je více ovlivněn fosforem než dusíkem a z jeho vysokých hodnot lze spíše vyčíst deficit fosforu než přebytek dusíku (Koerselman & Meuleman 1996).

Rostliny s vysokým N:P alokují méně biomasy do kořenů než rostliny s nízkým N:P a stejnou růstovou rychlostí. Při relativním nedostatku P (čili vysokém N:P) dochází k rychlejšímu usychání listů než při relativním nedostatku N (čili nízkém N:P). Růst není tedy ihned redukován nedostatkem P, ale rostliny nejprve mobilizují fosfor ze starých listů do mladých pletiv. Semena mají obecně vyšší koncentrace N a P než nadzemní část rostliny, ale nižší N:P, čili vyšší potřebu P. Z toho plyne, že nedostatek P (vzhledem k N) může způsobit spíše omezení reprodukce rostlin než jejich růst. Trávy mají většinou vyšší N:P než byliny a jsou schopny lépe zachovat rychlost růstu i při nižší koncentraci P (Güsewell 2004).

Druhy, které mají speciální schopnosti získávat živiny N a P oproti jiným druhům, dominují na stanovištích, kde je zrovna ta která živina limitující (Güsewell 2004). Například rostliny schopné fixovat vzdušný N₂ mají výhodu na stanovištích chudých na dusík. Projeví se to pak většinou ve vyšším poměru N:P pro fixátory dusíku, či nižším poměru N:P u rostlin schopných lépe získávat fosfor než ostatní, např. pomocí dlouhých tenkých kořenů nebo mykorrhizy (Frank 2008).

Posuzujeme-li limitaci celého druhově bohatého společenstva, je nutné brát v úvahu délku experimentu, která má zásadní vliv na změnu druhového složení, zejména pak dominantních druhů. Rostliny adaptované na živinami chudá stanoviště nemusí v krátkodobých pokusech reagovat na hnojení zvýšeným růstem, ale spíše akumulují dodanou živinu do svých tkání (Verhoeven *et al.* 1996). Oproti tomu rostliny adaptované na dostatek živin mají mnohem vyšší potenciál nárůstu biomasy.

Pro posuzování vlivu dodaných dávek živin na růst rostlin se ukázal jako mnohem významnější indikátor poměr dodaného N:P než konkrétní množství N a P, neboť různým druhům vyhovují různé poměry N:P (Fujita *et al.* 2010). Při vysokém poměru N:P jsou tak zvýhodňovány druhy, které lépe přežívají na stanovištích limitovaných fosforem. Naopak druhy zvyklé na nižší N:P začínají při zvyšování poměru N:P odumírat. Příčinou tak není nedostatek P, ale pouze vzájemná nevyváženost prvků N a P.

Analýza vztahu makroprvků N, P, K, Ca, Mg v listech vyšších rostlin posbíraných od dubna do listopadu na různých lokalitách USA ukázala na signifikantní korelaci mezi dusíkem a fosforem, vápníkem a hořčíkem a hořčíkem a draslíkem (Garten 1976). Regresní koeficient (β) vztahu P~N byl 0.108 (s.e.=0,01), což odpovídá **N:P~9,3** (resp. 8,5–10,2) , regresní koeficient vztahu Mg~Ca byl 0.143 (s.e.=0,051), tzn. **Ca:Mg~7** (resp. 5,2–10,9), regresní koeficient vztahu Mg~K nebyl ve studii uveden. Z výše uvedeného plyne, že rostlinná společenstva si během sezony a na různých lokalitách udržují poměrně konstantní poměr N:P a Ca:Mg.

1.3. Funkční znaky rostlin v závislosti na aplikovaném managementu

Funkční znaky jsou definovány jako morfologické, fyziologické a fenologické charakteristiky, které nepřímo ovlivňují prosperitu (fitness), a to vlivem na růst, reprodukci a přežití organismu (Violle *et al.* 2007). Funkční znaky se měří na úrovni jednotlivé rostliny (druhu), a to buď přímo, nebo na základě údajů z databáze pro jednotlivé druhy. Pro charakteristiku konkrétní studované plošky obvykle užíváme funkční znaky vážené pokryvností daných druhů (*community-weighted traits*). Funkční znaky tak umožňují přejít od popisu jednotlivých druhů k charakteristice celého společenstva.

Hlavní příčinou přeměny druhového složení travních porostů jsou změny v jejich obhospodařování, včetně úplného ponechání ladem. Tyto posuny v druhovém složení lze popsat buď přímo pomocí změny dominance jednotlivých druhů, nebo obecněji pomocí funkčních znaků, což jsou např. LDMC – obsah sušiny v listech, SLA – specifická listová plocha, *seed mass* – hmotnost semen, *canopy height* – výška rostliny, *flowering* – doba kvetení. Funkční znaky rostlin (vážené proporcí druhů) jsou ovlivněny dostupností živin v půdě a mohou tak přispět k porozumění cyklu živin v ekosystému. LDMC odhaduje hustotu listového pletiva a je považováno za dobrý indikátor stravitelnosti; rychle rostoucí rostliny mají nízkou hustotu pletiv (nízké LDMC) a naopak větší specifickou listovou plochu (SLA), pro lepší získávání světla. Výška rostliny je většinou korelována s rychlostí růstu a nejlépe indikuje konkurenceschopnost druhu a doba kvetení ukazuje na akumulaci biomasy a také stravitelnost (Ansquer *et al.* 2009a).

1.3.1. Funkční znaky a úživnost stanoviště

Při zvýšení dostupnosti živin hnojením se lépe prosadily rostliny s vyšším SLA, neboť tyto druhy rychle rostou a lépe se vypořádají s omezeným zdrojem světla způsobeným nárůstem biomasy (Quétier *et al.* 2007). Dále byly podpořeny rostliny s vyšší koncentrací N v listech a nižší hustotou listového pletiva (tzn. nízké LDMC). Například stres tolerantní trávy – třeslice prostřední (*Briza media*) a pěchava vápnomilná (*Sesleria caerulea*) – byly nahrazeny vyššími rychle rostoucími dvouděložnými – chrpou horskou (*Centaurea montana*), krablicí chlupatou (*Chaerophyllum hirsutum*) a kakostem lesním (*Geranium sylvaticum*).

Přestože výška rostliny (*canopy height*) je považována za nejlepší funkční parametr, který indikuje schopnost rostliny konkurovat ostatním (Duru *et al.* 2010a), při posuzování agronomických výstupů se jako lepší indikátor v rámci travních druhů ukázalo LDMC (Ansquer *et al.* 2009b). LDMC lépe vystihuje rozdíl mezi rostlinami orientovanými na zisk a rostlinami s konzervativní strategií.

LDMC vážené proporcí druhů závisí na úrodnosti stanoviště, managementu a průměrné teplotě na lokalitě (Duru *et al.* 2010a; Michaud *et al.* 2011). Databázové a polní (měřené) LDMC pak může ukazovat odlišné výsledky, vzhledem k velké vnitrodruhové plasticitě rostlin. Není ale známo, které LDMC lépe vyjadřuje odpověď společenstva na management. Pokud srovnáváme lokality s různou teplotou, je pro posouzení společenstva lepší databázové LDMC než měřené, neboť vyšší teplota snižovala měřené LDMC (Duru *et al.* 2010a).

1.3.2. Odlišné LDMC pro trávy a byliny

LDMC se ukázalo jako relevantní indikátor zhodnocení úživnosti stanoviště či míry defoliace, pokud bylo měřeno na travách (Al Haj Khaled *et al.* 2005, 2006; Duru *et al.* 2010a). Existuje negativní vztah mezi měřeným LDMC a výškou trav a stejně tak i mezi LDMC a nutričním indexem NNI v rámci sečených i pasených ploch (Duru *et al.* 2010a). S rostoucí konkurencí o světlo klesá LDMC a prosazují se trávy s nejnižším poměrem biomasa:výška.

K posuzování váženého průměru LDMC napříč rostlinným společenstvem, kde jsou zastoupeny jak trávy, tak byliny, je nutno přistupovat velmi opatrně (Duru *et al.* 2005). Přestože trávy a byliny s přízemní růžicí koexistují při stejných podmínkách úživnosti a

disturbance a mají podobný růstový pattern, LDMC trav je podstatně vyšší než LDMC bylin s přízemní růžicí i obecně dvouděložných (Al Haj Khaled *et al.* 2005; Duru *et al.* 2010a). Nižší LDMC (vážené proporcí všech druhů) potom vypovídá zejména o vyšším zastoupení bylin na studované ploše. Při posuzování LDMC v rámci rostlinného společenstva se proto doporučuje řešit odděleně 4 skupiny: 1. trávy plus ostřice a biky, 2. byliny s přízemní růžicí, 3. leguminózy a 4. ostatní byliny (Al Haj Khaled *et al.* 2005; Ansquer *et al.* 2009a).

1.3.3. Vliv pastvy, sečení a ponechání ladem na funkční znaky

Změna disturbance mění druhové složení, a to mění vážené hodnoty funkčních znaků, čili z funkčních znaků můžeme odvodit, jaké disturbance na travních porostech proběhly (Duru *et al.* 2010a).

Pastva obecně podporuje pomalu rostoucí druhy s nižším vzrůstem a ochrannými mechanismy proti býložravcům, tj. méně chutné druhy s tuhými hutnými listy, čili s vysokým LDMC (Quétier *et al.* 2007). Druhy na sečených plochách oproti tomu musí růst rychleji, aby přežily a stihly se reprodukovat před posečením. Jsou to tedy druhy s větší výškou, vysokým SLA a nízkým LDMC, čímž ovšem ztrácí výhodu při konzumaci herbivory (Duru *et al.* 2010a). Při přechodu od intenzivně využívaných hnojených luk, přes sečení a extenzivní pastvu až po lad, dochází k posunu společenstva ke konzervativní strategii, spojené s větší výškou rostlin, většími a těžšími semeny, ale také vyšší dostupností dusíku (podle indexu NNI), pomalejším rozkladem a vyšší akumulací opadu a stařiny (Moog & Poschlod 2002; Quétier *et al.* 2007).

Při rozhodování, který management je vhodné aplikovat, je potřeba brát v potaz i historický kontext obhospodařování. Zavedení pastvy nebo sečení na dříve oraných plochách podpořilo rostliny s menšími, lehčími semeny, které byly zřejmě přítomny na původních polích (Quétier *et al.* 2007). Po zavedení pastvy na dlouhodobě sečené louky v prostředí Francouzských Alp došlo k postupnému rozšiřování kostřavy latnaté (*Festuca panniculata*), která není pro zvířata chutná a její další dominance je tak pastvou nepřímo podporována. Snížila se míra rozkladu, ubylo množství malých druhů i vysokých dvouděložných.

Při zkoumání vlivu managementu na 11 lokalitách napříč Evropou (Garnier *et al.* 2007) se LDMC ukázalo jako klíčový znak pro popis snížení/zvýšení intenzity obhospodařování v travních porostech. Omezení hnojení nebo úplné zanechání porostu ladem vedlo v rámci

společenstva k dominanci rostlin s větší výškou, prosadily se rostliny s konzervativnější strategií, kleslo SLA, klesla koncentrace N a P, zvýšilo se LDMC a opozdila se fenologie (Garnier & Navas 2011b). Porosty s vyšším LDMC zaznamenaly větší akumulaci stařiny, kterou zapříčinila vysoká produkce, velká obměna listů a nízká míra rozkladu, způsobená pomalým rozkladem rostlin s vysokým obsahem sušiny v listech. Typickými dominantami zde byly v České republice trsnaté trávy bezkoleneček modrý (*Molinia caerulea*) a ve Francii válečka (*Brachypodium phoenicoides*).

1.3.4. Management a doba kvetení porostu

Druhy, které mají nízké LDMC, mají dřívější prodlužování stonku, dřívější kvetení a rychlejší rozklad listů (Duru *et al.* 2008). Dvouděložné byliny kvetou obvykle dříve než trávy, a to zejména v počáteční fázi kvetení. Při srovnání pasených a nepasených ploch se ukázalo, že pastva neovlivňuje čas kvetení, ale spíše počet kvetoucích rostlin. Aplikace fosforu urychlila kvetení a aplikace dusíku urychlila kvetení pouze u jednoletých rostlin, ale měla opačný vliv na vytrvalé byliny (Ansquer *et al.* 2009c). Při zavedení managementu, který podporuje rostliny s nízkým LDMC, lze očekávat i posunutí kvetení do dřívějšího období. Může to být způsobeno zvýšením dostupnosti živin, tak i vyšší intenzitou sklizně. Tyto managementy podporují rychle rostoucí druhy. Rozsah vrcholu kvetení závisí na úživnosti stanoviště, zvýšení úživnosti redukuje rozložení času kvetení v rámci společenstva.

1.4. Vliv managementu na druhové bohatství

Polopřirozené travní porosty vznikly odlesňováním a následným udržováním porostu pomocí tradičních zemědělských metod jako je pastva a sečení. Polopřirozené travní porosty, kde nejsou aplikovány hnojiva a herbicidy, si obvykle udržují vysokou biodiverzitu a jsou i útočištěm mnoha rostlinných i živočišných druhů, které se staly na tomto typu stanoviště existenčně závislými. Management na trvalých travních porostech je nezbytný z důvodu zachování bezlesí a odnos živin pastvou či sečením zároveň podporuje druhovou rozmanitost a přítomnost vzácných a ohrožených druhů.

Obecně nelze říci, který z managementů více podporuje biodiverzitu, zda pastva nebo sečení, neboť vliv obou managementů je závislý na geografické poloze, vlhkosti stanoviště, nadmořské výšce i historii obhospodařování. Na základě metaanalýzy srovnávacích studií

z Evropy, Ameriky a Asie, podporuje biodiverzitu pastva lépe než sečení ve střední a severní Evropě, naopak sečení podporuje biodiverzitu lépe v jižní Evropě a západní Asii. Sečení má větší pozitivní efekt na biodiverzitu na prériích, suchých trávnících, vřesovištích a slatinách, pastva pak na polosuchých i mokřých travních porostech a stepích (Tälle *et al.* 2016).

1.4.1. Změny druhové diverzity v závislosti na změnách managementu

Přímý efekt sečení na biodiverzitu je spojen s odstraňováním nadzemních orgánů rostlin, které vede k potlačení rostlin s nižší schopností regenerace a často k úplnému zamezení produkce semen. Na druhou stranu sečení spojené s odnosem sena otevírá prostor pro vyklíčení dalších druhů a současně snižuje množství živin v půdě. Odstranění biomasy sečením uvolní konkurenční tlak a působí tak pozitivně na udržování druhové diverzity. Sečení obvykle podporuje druhy s přizemní růžicí a ruderální druhy (Moog *et al.* 2005). Brzký termín první seče, spojený s častou frekvencí seče podporuje zastoupení trav a snižuje druhovou rozmanitost (Socher *et al.* 2012).

Pastva má méně homogenní vliv než sečení v čase i prostoru. Její vliv závisí na intenzitě a délce pastvy i druhu býložravce. Pastva může podpořit méně chutné či jedovaté druhy nebo druhy s mechanickou obranou proti spasení jako jsou ostny, trny, nebo trichomy (Vassilev *et al.* 2011; Tälle *et al.* 2016). Mezi druhy s obrannou strategií patří např. medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*), metlice trsnatá (*Deschampsia cespitosa*) nebo pryskyřník plazivý (*Ranunculus repens*), dále pak jedovaté a nejedlé druhy jako přeslička bahenní (*Equisetum palustre*), pcháč bahenní (*Cirsium palustre*) či sítina rozkladitá (*Juncus effusus*).

Čím déle je porost přes sezónu pasen, tím více jsou zvýhodněny dvouděložné byliny s vyloučením leguminóz (= *herbs*) a znevýhodněny mechy. Nejvíce pak podporuje bylinné druhy (*herbs*) a druhovou rozmanitost pastva ovcí oproti pastvě krav nebo koní, největší produktivitu mají ale naopak porosty pasené krávy nebo koňmi (Socher *et al.* 2012, 2013). Mírný stupeň disturbance, ať už se jedná o pastvu či sečení vede ke zvýšení druhové diverzity (Socher *et al.* 2013), zatímco žádný management nebo vysoce intenzivní management mají za následek významné snížení druhového bohatství (Vassilev *et al.* 2011; Wrage *et al.* 2011; Socher *et al.* 2012). Extenzivní pastva ovcí podle většiny studií zvyšuje druhovou diverzitu, zatímco vyšší pastevní zatížení dobyt看em narušuje půdní povrch a na suchých pastvinách vede ke snížení druhové diverzity (Bornkamm 2006; Socher *et al.* 2013). Sešlap porostu,

spojený s vysokým pastevním tlakem, snáší dobře lipnice roční (*Poa annua*), rdesno ptačí (*Polygonum aviculare*), jitrocel větší (*Plantago major*), jílek vytrvalý (*Lolium perenne*); zatímco proporce medyňku vlnatého (*Holcus lanatus*) při vyšším sešlapu klesá (Wrage *et al.* 2011). Nízký pastevní tlak může ale na druhou stranu podpořit expanzi méně chutných druhů (např. metlice trsnatá, *Deschampsia cespitosa*), což lze částečně ošetřit vzájemnou kombinací pastvy a sečení (Krahulec *et al.* 2001; Mládková *et al.* 2015).

Na plochách ponechaných ladem dochází velmi rychle ke snižování biodiverzity (Pavlů *et al.* 2012), a to zejména z důvodu minimálního průniku světla na půdu (téměř 0 %) oproti paseným plochám, kde k půdnímu povrchu proniká až 30 % světla, neboť porost opuštěných ploch je vyšší než porost sečených a ten je vyšší než porost pasených ploch (Jacquemyn *et al.* 2003). Snižená dostupnost světla způsobuje odumírání nízkých rostlin a semenáčků, zvýšení konkurence o světlo a rozšíření rychle rostoucích vysokých druhů. Oproti tomu mezery v porostu na pastvinách způsobené kopyty býložravců dávají prostor novým druhům.

Na opuštěných plochách dochází ke ztrátě nadzemní druhové rozmanitosti i semenné banky v půdě (Krahulec *et al.* 2001; Jacquemyn *et al.* 2011; Pavlů *et al.* 2012). Po 10 letech od ponechání pasených ploch ladem poklesl počet druhů o 60 % a při přechodu od pastvy k sečení poklesl za tuto dobu počet druhů o 20 %, zatímco pastva si udržela konstantní druhovou bohatost (Jacquemyn *et al.* 2011). Nejvíce pak poklesl počet dvouděložných bylin, a to jak bylin s přízemní růžicí (*rosettes*), tak bylin bez přízemní růžice.

Podobný klesající trend pastva>sečení>lad zaznamenala i hustota semen v semenné bance. Počet druhů se u pasených a sečených ploch v semenné bance nelišil, u opuštěných ploch poklesl. V semenné bance pasených ploch (na vápnomilných porostech v Belgii) měly největší hustotu semen: kopretina bílá (*Leucanthemum vulgare*), pryskyřník plazivý (*Ranunculus repens*), sedmikráska chudobka (*Bellis perennis*), mrkev obecná (*Daucus carota*), tollice dětelová (*Medicago lupulina*) a medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*); na sečených plochách: ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), psineček obecný (*Agrostis capillaris*), starček přímětník (*Senecio jacobaea*). Shoda mezi semennou bankou a nadzemní vegetací byla nejlepší na pasených plochách (Jacquemyn *et al.* 2011).

Ne vždy ale ponechání ladem vede k zásadnímu úbytku druhové biodiverzity. Na základě srovnávací studie 20 let opuštěných pastvin v Bulharsku s těmi stávajícími, došlo u

opuštěných pastvin jen k mírnému poklesu druhové diverzity, minimálnímu rozšíření dřevin a naopak ke zvýšení zastoupení ohrožených druhů rostlin (Vassilev *et al.* 2011).

1.4.2. Druhová diverzita, úživnost stanoviště a produkce biomasy

Hnojení podporuje vyšší nárůst biomasy a s ním spojenou konkurenci o světlo, což má za následek zánik druhů s nižším vzrůstem a rozšíření vysokých trav (Socher *et al.* 2012, 2013). Dlouhodobý Park Grass Experiment v Anglii ukázal na pokles druhového bohatství spojeného s nárůstem biomasy (při pH půdy > 5.8) a s hnojením NPK (Crawley *et al.* 2005). Na základě studie z několika německých regionů (tzv. *Biodiversity Exploratories*) byl rovněž stanoven průměrný efekt hnojení dusíkem na úbytek druhové diverzity -19 % při hnojení 35 kg N/ha za rok při porovnání stejně obhospodařovaných nehnojených ploch. Nicméně na humusových půdách došlo i při hnojení dusíkem k mírnému zvýšení biodiverzity (Socher *et al.* 2012). Při vyšších dávkách dusíku se jeví pastva jako nejvhodnější management, který je schopen nejlépe odolávat snižování druhové rozmanitosti (Jacquemyn *et al.* 2011), oproti tomu hnojení spojené s intenzivním sečením vede k prudkému snížení druhové diverzity (Socher *et al.* 2013).

Samotná vysoká produkce biomasy ovšem není hlavním měřítkem druhové diverzity, ale pouze jeden s indikátorů, který v různých klimatických a disturbančních podmínkách působí na druhovou rozmanitost různým způsobem (Adler *et al.* 2011). „Hump back“ model křivky ve tvaru hrbolu (Grime 2002) předpovídá vrchol rozmanitosti za optimálních úživných podmínek stanoviště, kde při velmi nízké nebo vysoké úživnosti dochází k poklesu druhové diverzity. Hnojení dusíkem vede k potlačení leguminóz (Kirkham *et al.* 1996), zatímco hnojení fosforem a draslíkem (při současném deficitu N v půdě) leguminózy zvýhodňuje (Pavlů *et al.* 2012). Deficit jedné ze základních živin N, P, K omezuje produkci, vytváří kompetici a může vést ke zvýšení floristické diverzity (Øien & Moen 2001). S vyšší druhovou diverzitou je podle některých studií asociována optimální dostupnost draslíku v rozmezí 200–300 mg/kg, spolu s omezenou dostupností fosforu a dusíku (Janssens *et al.* 1998; Badía *et al.* 2008).

1.4.3. Míry druhové diverzity

R. H. Whittaker (1920 – 1980) zavedl termín alfa, beta a gama diverzita na základě různého přístupu k chápání rozmanitosti rostlinného společenstva. Alfa diverzita popisuje druhovou rozmanitost na úrovni vzorku, beta diverzita zachycuje rozdíl mezi vzorky a gama diverzita ukazuje na druhovou rozmanitost na regionální škále.

Na druhovou diverzitu se lze dívat ze dvou stran – první přístup vyjadřuje počet druhů ve vzorku (*richness*), druhý přístup vyrovnanost zastoupení jednotlivých druhů ve vzorku (*evenness*). Pro spojení obou přístupů byly vyvinuty indexy α -diverzity, lišící se právě v důrazu na tu kterou složku diverzity. Mezi nejpoužívanější patří Shannonův a Simpsonův index (Keylock 2005):

Shanonův index $H' = - \sum p_i \times \ln(p_i)$, kde p_i je proporce pokryvnosti i -tého druhu, vyjadřuje nejistotu, s jakou jsme schopni předpovědět identitu (druh) náhodně vybraného jedince. Malý počet druhů a nárůst dominant (tzn. nevyrovnanost společenstva) snižuje míru nejistoty čili hodnotu indexu. Informaci o struktuře dominant v rámci komunity pak udává **Shannonova vyrovnanost** $J = H' / \ln S$, kde S je počet druhů na plošce.

Simpsonův index $D = \sum p_i^2$, kde p_i je proporce pokryvnosti i -tého druhu, ukazuje na pravděpodobnost, s jakou dva náhodně vybraní jedinci budou stejného druhu. Hodnota indexu roste se snižováním diverzity, proto se často používá doplňková hodnota indexu: $1-D$, která vyjadřuje pravděpodobnost, že dva vybraní jedinci budou odlišného druhu. **Simpsonova vyrovnanost má tvar** $E = (1/D)/S$, kde S je počet druhů na plošce.

Whittakerova definice beta diverzity je vyjádřena jako poměr gama diversity k alfa diverzitě, $\beta = (\gamma/\alpha)$, kde γ značí celkovou druhovou bohatost stanoviště (tj. celkový počet druhů v regionu) a α pak průměrnou druhovou bohatost ploch (vzorků). Pro stanovení beta diverzity se často používá Jaccardův či Sørensenův index porovnávající podobnost druhového složení dvou společenstev. **Jaccardův index** $I_J = (C / (A+B-C)) \times 100$ vyjadřuje poměr počtu druhů společných 2 stanovištím (C) k celkovému počet druhů na obou stanovištích A a B celé násobeno 100 (Jaccard 1912). Z Jaccardova indexu je odvozený **Sørensenův index**, který má tvar $I_S = (2 C / (A+B)) \times 100$ (Sørensen 1948).

1.5. Stravitelnost biomasy

Pro růst, reprodukci a produkci mléka potřebují velcí býložravci živiny (proteiny, energii, vitamíny a minerály), které získávají z píče. Její nutriční kvalita je nejvíce ovlivněna stářím porostu (fenofází), dále pak druhovým složením, půdními a klimatickými podmínkami, frekvencí a intenzitou pastvy, typem paseného dobytka a v neposlední řadě sekundárními metabolity sloužícími jako mechanická či chemická ochrana proti spasení.

1.5.1. Pokles stravitelnosti během zrání porostu

Rostlinné buňky jsou tvořeny lehce stravitelným buněčným obsahem – cytoplasmou a hůře stravitelnou buněčnou stěnou. Cytoplasma obsahuje převážně dusíkaté látky, cukry, škroby, tuky; stěna buňky se skládá zejména z vlákniny – hemicelulózy, celulózy, nestravitelného ligninu a dobře stravitelné složky – pektinu. Vzhledem k tomu, že zvířata postrádají enzymy potřebné k rozkladu celulózy a hemicelulózy, jsou odkázána na pomoc mikrobů, kteří tyto látky v procesu fermentace přemění do lépe stravitelné podoby.

Obecně jsou listy, květy a plody lépe stravitelné než stonky, protože obsahují méně ligninu a naopak větší množství dusíkatých látek (Minson 1990; Lyons *et al.* 1999). Rostlinné buňky jsou nejlépe stravitelné ve fázi růstu, neboť tehdy buněčná stěna tvoří jen malou část jejich objemu. S postupným zráním se buněčná stěna zvětšuje na úkor cytoplasmy, roste množství hůře stravitelné vlákniny, živiny se stahují z listů do kořenů nebo jsou vymývány deštěm.

Většina rostlin má vysokou nutriční hodnotu na začátku sezóny, nejrychlejší pokles obsahu nutričních látek nastává od fáze olistění do fáze kvetení, s výjimkou leguminóz, u kterých klesá nutriční hodnota pomaleji a plynuleji během sezóny (Oelberg 1956). Vysoký obsah proteinů v leguminózách i v době zrání je způsoben jejich vysokým zastoupením v semenech. Pokles nutričních látek, obvykle úzce korelovaný s poklesem koncentrace dusíku je patrný během růstu i u fosforu a draslíku, mírnější potom u hořčíku. Oproti tomu koncentrace vápníku během vegetační sezóny mírně roste nebo zůstává beze změny (Oelberg 1956; Johnston & Bezeau 1962; Minson 1990; Türk & Albayrak 2014).

1.5.2. Botanické složení porostu

Zatímco množství dusíkatých látek je závislé díky efektu ředění především na výnosu resp. zralosti porostu a zvoleném managementu, obsah nestravitelné vlákniny je kromě termínu sklizně ovlivněn zejména druhovým složením porostu (Bumb *et al.* 2016). Dostáváme se tak k botanickému složení, které má klíčový vliv na stravitelnost.

Byliny mají menší objem buněčných stěn a větší objem cytoplasmy než trávy a jsou tedy lépe stravitelné (Lyons *et al.* 1999). Při pokusu na pěti druhově bohatých pastvinách byla stravitelnost bylinné části společenstva ve všech případech a během celé sezóny vyšší než stravitelnost travní části společenstva (Duru 1997). Při porovnání jednotlivých částí rostlin se ukázalo, že stravitelnost listů je výrazně vyšší než stravitelnost stonků u trav i bylin. Zatímco stravitelnost listů bylin se během sezóny nemění, nebo v některých případech i mírně roste, na druhou stranu stravitelnost listů trav signifikantně klesá (Duru 1997).

Nejhůře stravitelné jsou vytrvalé trsnaté trávy, a naopak nejlepší stravitelnost mají dvouděložné byliny s přizemní růžicí (Bumb *et al.* 2016): krvavec menší (*Sanguisorba minor*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*) a stonkaté byliny: mochna jarní (*Potentilla neumanniana*), rozrazil rolní (*Veronica arvensis*), kakost měkký (*Geranium molle*). V rámci trav existuje rozdíl mezi teplomilnými a chladnomilnými druhy, neboť teplomilné rostliny si vyvinuly silnější ochranné buněčné stěny tvořené vlákninou, které je chrání před horkem a vysycháním a naopak zredukovaly buněčný obsah, což vede k jejich nižší stravitelnosti oproti rostlinám chladnomilným (Lyons *et al.* 1999).

Byliny mají oproti travám vyšší koncentrace fosforu, draslíku a dusíkatých látek (o desítky procent), ale zejména hořčíku a vápníku, jejichž koncentrace jsou u listů bylin 3–5 násobně vyšší než u listů trav (Cornelissen & Thompson 1997). Vápník a hořčík je vázán na pektiny, jejichž obsah v buněčných stěnách trav je nižší než u ostatních jednoděložných a dvouděložných rostlin. Větší koncentraci vápníku mají rostliny v listech oproti stonkům, zatímco koncentrace fosforu se v listech a stoncích výrazně neliší. Během zrání se koncentrace vápníku v listech zvyšuje, zatímco ve stoncích klesá a v době zralosti porostu je u dvouděložných bylin až 10krát vyšší v listech než ve stoncích (Minson 1990). Koncentrace vápníku a hořčíku má inverzní vztah ke koncentraci ligninu, a naopak pozitivní vztah k nasycenosti vodou (Makkonen *et al.* 2012). Koncentrace těchto minerálů v listech

dvouděložných i jednoděložných pozitivně koreluje s dekompozicí (Cornelissen & Thompson 1997). Nejvyšší koncentrace vápníku a hořčíku mají z dvouděložných obvykle leguminózy (Minson 1990).

1.5.3. Obsah sušiny v listech jako indikátor stravitelnosti

Při snaze najít co nejlepší indikátor stravitelnosti se mnohé studie zabývaly inverzním vztahem mezi hodnotami váženého LDMC (obsah sušiny v listech) a kvalitou píce. LDMC se ukázalo jako spolehlivý prediktor stravitelnosti, pokud je používáno samostatně pro čistě travní společenstvo (Al Haj Khaled *et al.* 2006; Duru *et al.* 2008, 2010b).

Travní druhy s nízkou relativní růstovou rychlostí, pro které je typické vysoké LDMC a nízké SLA (specifická listová plocha), obsahují mnohem více materiálu tvořícího buněčné stěny jako je lignin, hemicelulóza a celulóza než druhy s vysokou relativní růstovou rychlostí. Listy s dlouhou životností mají vysoký poměr vlákniny k dusíkatým látkám, vysokou koncentraci ligninu a nízkou koncentraci N a P a jsou tedy hůře stravitelné (Duru *et al.* 2005).

Samostatnou skupinou dvouděložných a vztahu jejich LDMC ke stravitelnosti se studie nezabývaly, čili na tomto poli nelze jednoznačně tvrdit, jak kvalitním prediktorem obsah sušiny v listech pro stravitelnost bylin může být. Trávy mají nižší stravitelnost než byliny a současně vyšší LDMC (vážené proporcí druhů se pohybuje v rozmezí 200–300 g/m²), což je průměrně o 100 g/m² více než pro byliny, kde se vážené LDMC pohybuje v rozmezí 100–200 g/m² (Ansquer *et al.* 2009a).

V poslední době mnohé studie používaly obsah sušiny v listech jako indikátor pro stanovení stravitelnosti ve smíšených porostech trav a bylin (Gardarin *et al.* 2014), kde nízká hodnota LDMC ukazuje na větší procentuální zastoupení bylin ve vzorku (a tedy i na lepší stravitelnost), ale samotná informace o přímém vlivu LDMC na stravitelnost nám při tomto přístupu zůstává skryta (Duru *et al.* 2010b).

1.5.4. Půdní a klimatické podmínky

Půdní podmínky modifikují druhové složení trvalých travních porostů a také přímo ovlivňují příjem živin a samotnou kvalitu píce, jak ukázaly mnohé pokusy s hnojením (Pontes *et al.* 2007; Türk *et al.* 2007; Bumb *et al.* 2016). Určité druhy si ovšem drží své specifické

koncentrace živin i při přemístění na živinami bohatší/chudší stanoviště (Oelberg 1956). Srážky zvyšují příjem dusíku a fosforu, ale mohou negativně ovlivňovat příjem vápníku (Whitehead 2008). Při vyšším množství srážek ale dochází k vymývání živin a tedy ke snížení stravitelnosti porostu. Teplota ovlivňuje hlavně fenologii, ale působí spolu se slunečním svitem i na fotosyntézu a zvyšuje příjem hořčíku, který je v rostlinách mimo jiné součástí chlorofylu (Minson 1990). Čím nižší je úživnost stanoviště hořčíkem, tím vyšší procento listového Mg je vázáno v chlorofylu – až 36 % (Marschner 2012).

1.5.5. Vliv managementu na stravitelnost

Botanické složení porostu a tedy i jeho stravitelnost na pasených plochách je ovlivněno druhem dobytka, frekvencí a intenzitou pastvy. Ovce a kozy jsou více vybíravé a často konzumují jen lépe stravitelné části rostlin na rozdíl od krav. Koně upřednostňují trávy před bylinami, neboť jim jejich trávicí systém umožňuje konzumovat více vlákniny. Ovce preferují byliny před trávami, zatímco kozy mají nejraději dřevnaté druhy. Přežvýkavci konzumují rostliny i bez ohledu na stravitelnost nebo nutriční hodnotu a mohou se řídit čistě chutností. Hovězí dobytek je schopen snadněji zkonzumovat i starší a tužší biomasu na rozdíl od ovcí (Oelberg 1956; Lyons *et al.* 1999). Různé preference velkých býložravců modifikují travní porost zejména podporou nejméně chutných a špatně stravitelných druhů, tzv. nedopasků. Vliv na pastevní porost má také období a intenzita přepasení, neboť na jaře jsou zkonzumovány i druhy, které jsou v pozdější fenofázi už pro zvířata nepoživatelné, a při mírném pastevním tlaku vzniká větší množství hůře stravitelných nedopasků (Oelberg 1956).

Stravitelnost porostu je přímo úměrná velikosti disturbance (odnosem biomasy), a to jak pastvou, tak sečením (Gardarin *et al.* 2014). Porost sečený 4krát ročně měl vyšší koncentrace dusíkatých látek a nižší koncentrace hrubé vlákniny, než porost sečený 3krát, respektive 2krát ročně (Čop *et al.* 2009). Při srovnání různých managementů klesala koncentrace dusíku od dubna do června nejmírněji u intenzivně pasených porostů oproti extenzivně paseným a sečeným porostům. Intenzivně pasený porost měl také během sezóny nejnižší procento buněčných stěn, proti sečeným a mírně paseným porostům (Bakker 1989).

1.5.6. Druhová diverzita a kvalita píce

Intenzifikace zemědělství spojená s tlakem na zvyšování produkce travních porostů měla za následek snížení jejich environmentální hodnoty. V současné době se řeší otázka tzv. ekologické intenzifikace, kdy je kladen důraz na udržení vysoké produkce porostu při zachování co největší druhové a funkční diverzity (Doré *et al.* 2011). Řada studií (Crawley *et al.* 2005; Hautier *et al.* 2009; Wrage *et al.* 2011; Socher *et al.* 2013) ukazuje na trade-off mezi produktivitou a diverzitou, neboť tyto dvě funkce často jdou protikladným směrem, zejména kvůli zásadnímu rozdílu v druhové diverzitě mezi vysoce produktivními vysetými porosty (s nízkým počtem druhů) a druhově bohatými polopřirozenými porosty. V rámci jednotlivých typů porostů má ovšem diverzita spíše pozitivní nebo neutrální efekt na produktivitu (Wrage *et al.* 2011).

Přestože vztah produktivity a diverzity není zcela jednoznačný, zvýšení druhové diverzity má mnoho výhod pro chov hospodářských zvířat. Přes větší stabilitu udržení produkce porostu i v letech s nepříznivým počasím, lepší zdravotní stav přežvýkavců, kvalitu finálně získaných produktů, jako je mléko, vlna a maso až po finální pozitivní vliv na lidské zdraví (Wrage *et al.* 2011).

1.5.7. Stravitelnost a výnos – hledání optimálního data sklizně

Nehnojené, druhově bohaté polopřirozené travní porosty mají obvykle o 20–80 % menší produkci než intenzivně obhospodařované hnojené travních porosty. Vyplývá to z pomalejší růstové rychlosti způsobené nižší dostupností živin. Polopřirozené travní porosty dosahují díky tomu maxima množství vyprodukované biomasy později než porosty hnojené a jsou mnohem citlivější na výkyvy počasí (srážek), což se projevuje ve vysoké meziroční variabilitě vyprodukované sušiny. V rámci stejné lokality se stravitelnost polopřirozených travních porostů ukázala nižší než stravitelnost intenzivně zemědělsky obhospodařovaných, a to o 5–10 % (Tallowin & Jefferson 1999).

Pouhé přihnojování dusíkem – možná překvapivě – nemá na stravitelnost jednoznačný pozitivní vliv, u některých druhů dokonce stravitelnost po zvýšení dostupnosti N mírně klesá a obecně dochází k redukci proporce listové části porostu. Nicméně je prokázán jednoznačný vliv hnojení N na zvýšení výnosu (Minson 1990).

Management podporující vysokou produktivitu společenstva nevede nutně k vyšší kvalitě píče, jak dokládá studie na velkém gradientu prostředí (Loucougaray *et al.* 2015). Stravitelnost píče se ukázala jako zcela nezávislá na inverzním vztahu produktivita – diverzita. Při posuzování kvality píče mezi setými, trvalými, intenzivními, extenzivními, sečenými či pasenými porosty nebyl prokázán signifikantní rozdíl ve stravitelnosti, přičemž na polopřirozených porostech se pro stravitelnost ukázalo jako zásadní zvolení optimálního data sklizně (Loucougaray *et al.* 2015).

Vzhledem k tomu, že během sezóny stravitelnost klesá a výnos roste, je na místě najít optimální dobu sklizně, kdy je celkové množství stravitelné hmoty (čili procento stravitelnosti násobeno výnosem sušiny) na jednotku plochy maximální. Obdobný přístup je používán ve studiích zabývajících se pastevním chováním býložravců (ovcí, jelenů), kteří během sezóny řeší kompromis mezi kvantitou a kvalitou píče, aby jejich denní příjem potravy, pokryl potřebnou dávku energie, tedy i stravitelné hmoty (Garcia *et al.* 2003; Hebblewhite *et al.* 2008).

2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY

2. 1. Cíl práce

Hlavní cíl studie je porovnání vlivu tří různých managementů – pastvy, sečení a ponechání ladem v druhově bohatých travních porostech na:

- 1) cyklus prvků N, P, K, Ca, Mg v půdě a v biomase
- 2) změny druhového složení a druhové diverzity
- 3) množství sklizené biomasy
- 4) stravitelnost biomasy

2. 2. Hypotézy

- 1) Sečení ochuzuje půdu o draslík, pastva ochuzuje půdu zejména o fosfor a na krátkodobě opuštěných porostech se zvyšuje mineralizace dusíku v půdě.
- 2) Sečení podporuje rychle rostoucí druhy s nízkým LDMC; pastva a opuštěné plochy podporují naopak konzervativnější druhy s vyšším LDMC.
- 3) Pastva zvyšuje druhovou rozmanitost více než sečení; na opuštěných plochách druhová diverzita klesá.
- 4) Na pasených a sečených plochách dochází ke snížení výnosu oproti plochám opuštěným.
- 5) Nejlépe stravitelná biomasa je na sečených plochách, dále pasených a nejhorší stravitelnost mají plochy ponechané ladem.

3. METODY A MATERIÁLY

3. 1. Charakteristika studovaných lokalit

Pro posouzení vlivu managementu (pastvy, sečení, ponechání ladem) byly vybrány 2 lokality v CHKO Bílé Karpaty (Brumov, Lopeník) s odlišnou vegetací, kde od roku 2004 probíhá experiment. Na obou lokalitách je podobné druhové bohatství (průměrně 30 druhů na m²) a roční atmosférický spad činí přibližně 10–15 kg N/ha (Ostatnická & Matoušková 2012).

Lokalita Brumov s dominancí válečky prapořité (*Brachypodium pinnatum*) leží v nadmořské výšce 370 m (49°05'58" N, 18°01'59" E). V minulosti byla pastvinou a 13 let před začátkem experimentu ležela ladem. Roční úhrn srážek zde činí 760 mm, průměrná teplota 7,9 °C. Obsah jílovitých částí na lokalitě je 28 %, prachových 66 % a písčitých 6 %. Půda patří mezi středně těžké půdy s nízkým obsahem fosforu, dobrým až vysokým obsahem draslíku a vysokým obsahem hořčíku a vápníku (podle Sáňka & Materna 2004). V odborných publikacích (viz příloha) je lokalita Brumov označovaná jako „*Brachypodium site*“.

Lokalita Lopeník s dominancí kostřavy červené (*Festuca rubra*) leží v nadmořské výšce 720 m (48°56'20" N, 17°48'00" E). Po dobu více než 25 let před začátkem experimentu zde probíhala rotační pastva od brzkého jara. Roční úhrn srážek je zde 850 mm, průměrná teplota 6 °C. Jílovité části tvoří 10 % obsahu půdy, prachové 69 % a písčité 23 %. Půda se řadí mezi lehké půdy s vyhovujícím obsahem fosforu, vyhovujícím obsahem draslíku, dobrým obsahem hořčíku a nízkým obsahem vápníku (podle Sáňka & Materna 2004). V odborných publikacích (viz příloha) je lokalita Lopeník označována jako „*Festuca site*“.

3. 2. Design experimentu a sběr vzorků

Experiment zahrnuje 3 ošetření: (1) sečení v polovině července, (2) extenzivní pastva od začátku června, (3) ponechání ladem pouze s odstraňováním vysokých keřů a stromů. Při sečení je odstraněna biomasa ve výšce 5 cm nad povrchem a ihned vyhrabána a odnesena. Pastva probíhá ve dvou cyklech, první začátkem června a druhý v srpnu. Lokalita Brumov je přepásána plemenem ovce Romney, lokalita Lopeník dobyt看em plemene Hereford. Sečené plochy a plochy ponechané ladem jsou ohrazeny, aby bylo zamezeno spasení.

Na obou lokalitách bylo v roce 2004 založeno 15 trvalých experimentálních ploch, každá o výměře 5×5 m uspořádaných do 5 bloků, každý blok zahrnuje po jednom všechny tři ošetření: pastvu, sečení a lad (schéma viz příloha 9.1.). Během let 2011 a 2012 bylo odebráno 180 vzorků biomasy a příslušné půdy. Vzorky byly odebrány z obou lokalit 3krát během roku (19.–21. května, 13.–18. června, 11.–15. července). V každé plošce byl náhodně vybrán 1 m^2 , pro odběr půdy a biomasy během 3 termínů. Šlo vždy o odběr prvního nárůstu biomasy během sezóny, vybrané metrové podplochy byly ohrazeny proti spasení a nebyly sečeny před datem odběru.

Proporce druhů v biomase byly stanoveny kalibrovaným odhadem (Tadmor *et al.* 1975). Po určení proporce druhů došlo k odebrání živé biomasy 5 cm nad zemí a vzorku půdy. V každé 1 m^2 podploše jsme odebrali 3 vzorky půdy Kopeckého válečkem o průměru 5 cm z hloubky 0–20 cm. Tyto tři vzorky byly vždy smíchány do jednoho a připraveny k laboratorní analýze. Kromě toho pro každou výzkumnou plochu 5×5 m byl navíc stejným způsobem odebrán vzorek půdy v listopadu 2012.

K měření výšky jsme používali talířové měřidlo (Correll *et al.* 2003), s talířem o průměru 30 cm a hmotnosti 200 g, který se spouští do vegetace. Výslednou výšku vegetace dostaneme změřením vzdálenosti talíře od povrchu země poté, co je zadržen vegetací.

Na každé plošce jsme určili fenofázi všech druhů. Rozlišovali jsme 5 fenologických stádií (podle Martínková, Šmilauer & Mihulka 2002): sterilní rostliny (1), rostliny s poupaty (2), kvetoucí rostliny (3), rostliny s nezralými plody (4) a rostliny v plné zralosti (5). Fenofáze druhu byla stanovena podle nejvyšší fenofáze, kterou zaujímá alespoň 30 % jedinců příslušného druhu.

K dispozici máme odhady pokryvností všech druhů v biomase z obou studovaných lokalit z roku 2004, před zahájením managementových ošetření.

3. 3. Chemické rozbory půdy

Z každého půdního vzorku byly odstraněny kořeny a zbytky rostlin, vzorky byly protřepány, homogenizovány, vysušeny a prosety do velikosti 2 mm. Všechny analýzy byly dělány v akreditované laboratoři VÚRV v Chomutově: pH bylo stanoveno ve výluhu 0,01 M CaCl_2 , dostupné P, K, Mg, Ca pro rostliny bylo určeno pomocí metody Mehlich 3 (Mehlich 1984),

koncentrace organického uhlíku C_{org} byla určena oxidací v dichromanu draselném (Black 1965) a koncentrace celkového dusíku N_{tot} Kjeldahlovou metodou (AOAC 1984).

3. 4. Chemické rozborý biomasy

Biomasa byla vysušena při teplotě 55° C pro určení obsahu sušiny v každé podploše. Koncentrace N byla určena Kjeldahlovou metodou (AOAC 1984). K určení koncentrace P byly vzorky mineralizovány mokrou cestou pomocí molybdenáto-vanadového činidla a analyzovány ve spektrometru při vlnové délce 430 nm (71/393/EHS). Pro určení koncentrace K byl vzorek zpopelněn, rozpuštěn v kyselině chlorovodíkové a analyzován plamennou fotometrií za přítomnosti chloridu cesného a dusičnanu hlinitého (71/250/EHS). Pro stanovení koncentrace Ca a Mg byl vzorek zpopelněn, rozpuštěn ve zředěné kyselině chlorovodíkové a analyzován pomocí atomové absorbní spektrofotometrie při vlnové délce 422,7 (ISO 6869:2000) a 285,72 nm (73/46/EHS). Stravitelnost byla určena *in-vitro* za použití dvou technik: fermentací bachorovou šťávou (Tilley & Terry 1963) a trávením pepsin-celulázovou enzymatickou procedurou (Aufrère *et al.* 2007). První zmíněná metoda je vhodnější pro biomasu obsahující vysoké procento dvouděložných, vzhledem k vyšší citlivosti na sekundární metabolity.

3. 5. Statistické zpracování dat

Data byla zpracována pomocí klasických lineárních modelů i modelů se smíšenými efekty za použití metody REML (*Restricted maximum-likelihood method*). Modely byly porovnávány pomocí Akaikeho informačního kritéria (AIC) a koeficientu determinace R^2 . Ve smíšených modelech bylo AIC počítáno z modelů vytvořených metodou ML (*Maximum-likelihood*). Pro jednoduché regresní modely byl determinační koeficient R^2 počítán podle vztahu $R^2=1- S_e/S_t$, kde S_e je reziduální součet čtverců modelu a S_t je celkový součet čtverců. Pro smíšené modely užíváme stejný vzorec, kde S_e je reziduální součet čtverců finálního modelu se smíšenými efekty a S_t je reziduální součet čtverců nulového modelu, který neobsahuje ani fixní ani náhodné efekty (Edwards *et al.* 2008). R^2 potom udává celkové procento variability vysvětlené modelem, včetně náhodných efektů.

Jednotlivé hladiny faktorů, tzn. typy managementů (lad, pastva, sečení), případně datum sběru (květen, červen, červenec) byly mezi sebou porovnávány pomocí *treatment* kontrastů (Pekár & Brabec 2009).

Při analýzách byla vždy posuzována normalita a homoskedasticita reziduí pomocí diagnostických grafů a Shapiro-Wilkova testu. V případě potřeby byla provedena logaritmická či odmocninová transformace. Pro nalezení parametrů ředících křivek pro prvky N, P, K ve tvaru $y = ax^b$ byla použita log-log transformace: $\ln(y) = a + b(\ln(x))$. Množství stravitelné hmoty (*Digestible dry matter, DDM*) na jednotku plochy bylo vypočteno jako součin stravitelnosti (*Digestibility*) a výnosu v sušině na m² (*DM*): $DDM = Digestibility \times DM$. Křivky tvaru „hrbolu“ popisující množství stravitelné hmoty během sezóny byly modelovány pomocí polynomické regrese 2. a 3. stupně, maxima křivek byla vypočtena z 1. derivace příslušné funkce.

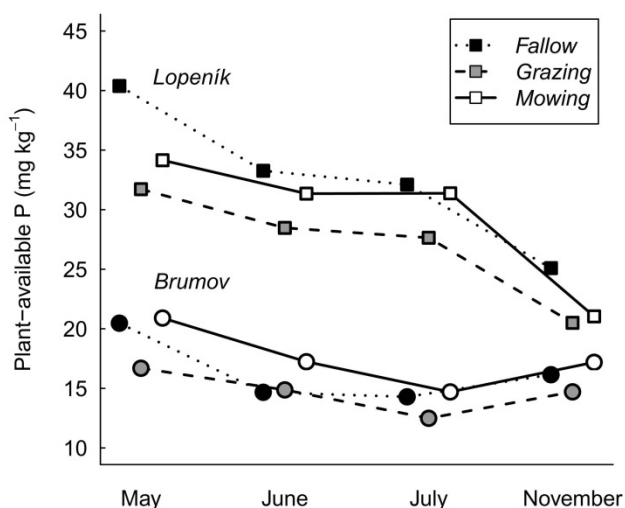
Funkční znaky jako obsah sušiny v listech (*LDMC*), specifická listová plocha (*SLA*), velikost semen (*Seed-mass*), výška (*Canopy height*), C-strategie, R-strategie, S-strategie, proporce druhů s přízemní růžicí (*Rosettes*) a s přezimujícími listy (*Leaf-persistence*) byly vypočteny váženým průměrem proporcí druhů v biomase a jejich hodnoty pro jednotlivé druhy extrahovány z databáze BioFlor (Klotz *et al.* 2002) nebo LEDA (Kleyer *et al.* 2008).

Analýzy byly vytvořeny ve statistickém softwaru R verze 2.15.0 (www.r-projekt.org), s použitím balíku „nlme“ (Pinheiro *et al.* 2012), „akima“ (Akima 2015), „MASS“ (Venables & Ripley 2002) a pomocí programu CANOCO for Windows 4.56 (Ter Braak & Smilauer 2002).

4. VÝSLEDKY

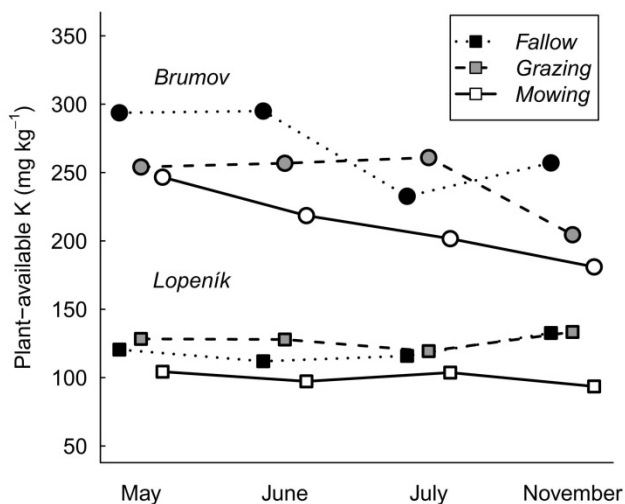
4. 1. Rozdíl v dostupnosti živin v půdě mezi pasenými, sečenými a opuštěnými plochami

Pomocí modelů se smíšenými efekty byly analyzovány rozdíly v dostupnosti půdního P, K, Ca a Mg mezi jednotlivými managementy. Pro výpočet dostupného dusíku jsme použili poměr organického uhlíku k celkovému dusíku (viz kap. 1.1.4.). Management ovlivnil pouze množství dostupného fosforu ($P=0,0017$; $F=6,6$; $DF=201$) a draslíku ($P<0,0001$; $F=10,5$; $DF=204$). Obě vysvětlované proměnné byly logaritmicky transformovány, lokalita a rok byly v obou případech považovány za faktory s náhodným efektem, zatímco datum a management za faktory s pevným efektem. V případě fosforu došlo k signifikantnímu poklesu dostupnosti během sezóny ($P<0,0001$), u draslíku nemělo datum signifikantní vliv ($P=0,28$) a z modelu jsme ho vyloučili. Na základě porovnání managementů pomocí *treatment* kontrastů se mezi sebou v koncentraci dostupného půdního fosforu signifikantně lišily pastva a sečení ($P=0,005$) a pastva a lad ($P=0,0001$), přičemž pasené plochy měly nejméně dostupného fosforu v půdě.



Obr. 1: Obsah půdního fosforu byl nejnižší u pasených ploch. Graf znázorňuje sezónní dynamiku dostupného P zvláště pro obě lokality.

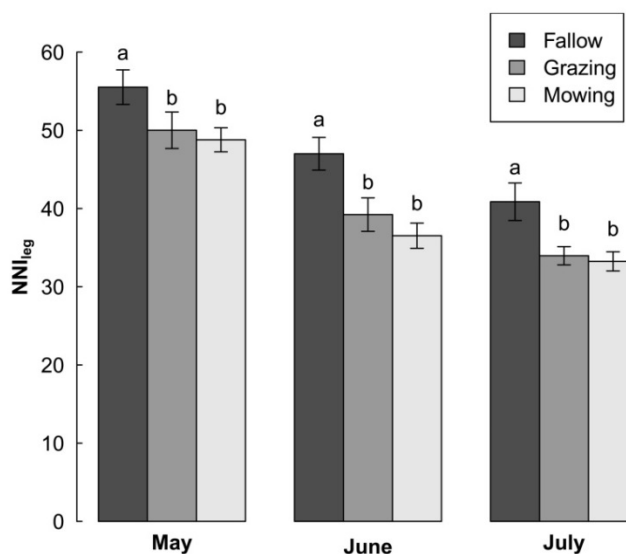
V případě draslíku byla situace opačná. Nejmenší množství dostupného půdního K bylo na sečených plochách, které se významně lišily od pasených ($P=0,0004$) a ponechaných ladem ($P<0,0001$).



Obr. 2: Obsah půdního draslíku byl nejnižší u sečených ploch. Graf znázorňuje sezónní dynamiku dostupného K zvláště pro obě lokality.

Množství dostupného N, P, K v půdě lze rovněž odvodit z nutričních indexů NNI, PNI, KNI, které byly korigovány proporcí leguminóz (podrobnosti kap. 1.2.2). K analýze jsme použili modely se smíšenými efekty, které zahrnují faktory s náhodnými efekty: lokalitu a rok a faktory s pevnými efekty: datum a management.

Management i datum ovlivnily velikost indexu NNI_{leg} (pro oba faktory $P<0,0001$), přičemž na plochách ponechaných ladem bylo významně nejvyšší množství dostupného N ($P<0,0001$). Pasené a sečené plochy se v dostupnosti N nelišily ($P=0,17$).



Obr. 3: Nejvyšší úživnost dusíkem podle indexu NNI_{leg} měly plochy ponechané ladem. V grafu jsou zobrazeny průměry pro jednotlivé managementy a střední chyby průměrů. Odlišná písmena znamenají signifikantní rozdíl mezi managementy.

Výsledky analýzy indexů PNI_{leg} korespondovaly s výsledky půdních analýz, ale ukázal se jen slabě signifikantní rozdíl mezi managementy ($P=0,08$) v prvních dvou datech. Na pasených plochách se potvrdila nižší dostupnost fosforu oproti sečeným ($P=0,07$), pasené a opuštěné plochy se nelišily ($P=0,79$).

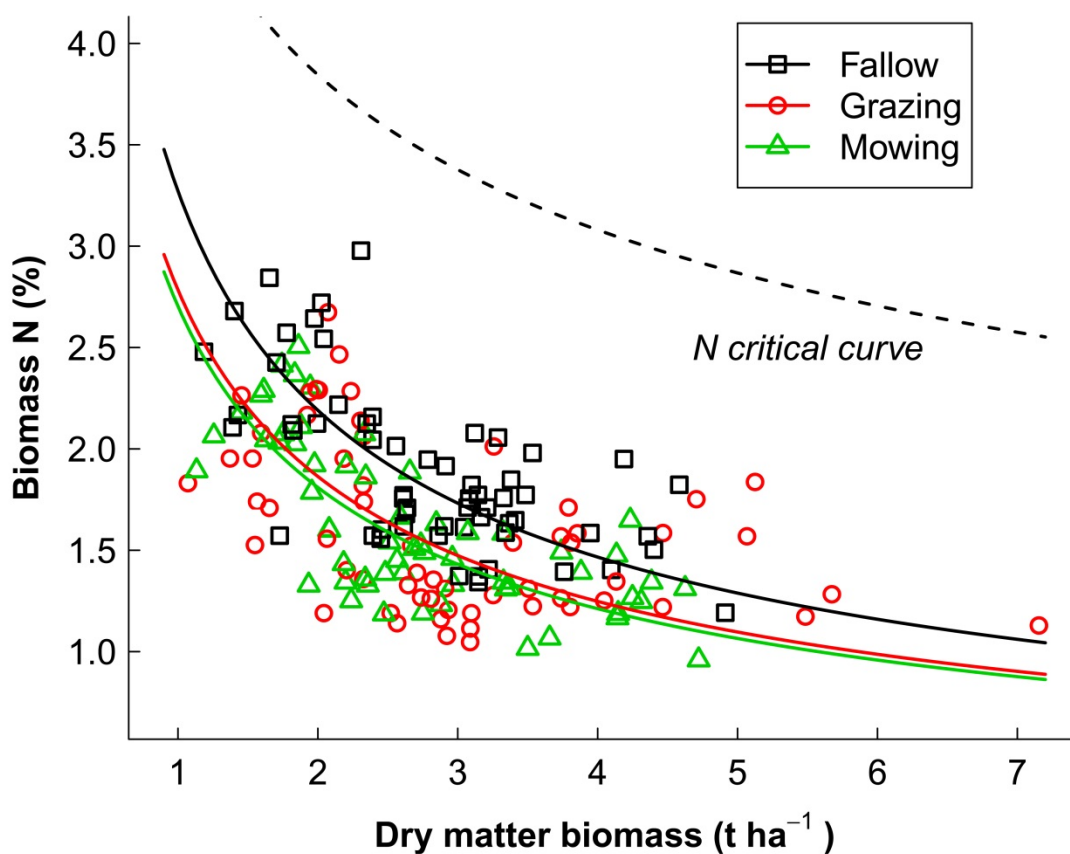
Na hodnoty KNI_{leg} měl management vliv opět pouze v prvních dvou datech ($P=0,014$), nejnižší dostupnost K se ale oproti půdním měřením ukázala u ploch ležících ladem, které se lišily od pasených ($P=0,006$) i sečených ($P=0,023$) ploch. Index KNI_{leg} se pro pasené a sečené plochy nelišil ($P=0,64$).

4. 2. Porovnání koncentrací N-P-K v biomase mezi managementy během sezóny: křivky ředění

Během sezóny dochází ke značnému ředění prvků N-P-K v biomase, a proto je nutné, pokud chceme přímo srovnávat koncentrace z různých termínů sběrů či lokalit, znát i příslušné množství suché biomasy (*Dry matter*, DM), případně jinou charakteristiku stáří porostu (fenofázi, datum sběru), která nám umožňuje tyto koncentrace vzájemně porovnávat bez rizika mylné interpretace. Výsledky srovnání křivek ředění pro jednotlivé managementy

v závislosti na množství suché biomasy odpovídají srovnání pomocí nutričních indexů, ale v tomto případě nezohledňujeme množství leguminóz.

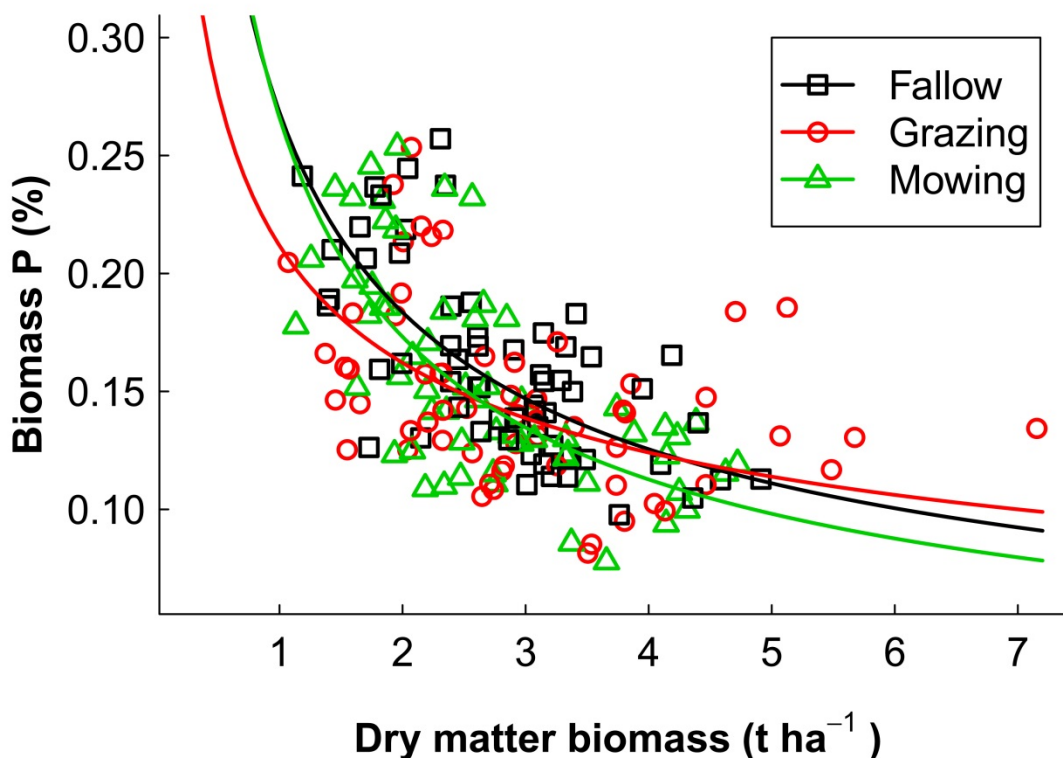
V modelu se smíšenými efekty byla použita log-log transformace, na koncentraci N měl signifikantní vliv management i množství biomasy (DM) s $P < 0,0001$; interakce management : DM signifikantní nebyla, křivky se lišily pouze v interceptu. Nejvyšší koncentrace dusíku měla biomasa ploch ponechaných ladem oproti paseným a sečeným ($P < 0,0001$ v obou případech).



Obr. 4: Rovnice ředící křivky pro plochy ponechané ladem: $N_{LAD} = 3,27 DM^{0,38}$, pro pasené plochy: $N_{PAS} = 2,78 DM^{0,38}$ a pro sečené plochy $N_{SEČ} = 2,7 DM^{0,38}$, kritická křivka dusíku má pro srovnání rovnici $N = 4,8 DM^{0,32}$ a značí optimální úživnost stanovitě dusíkem.

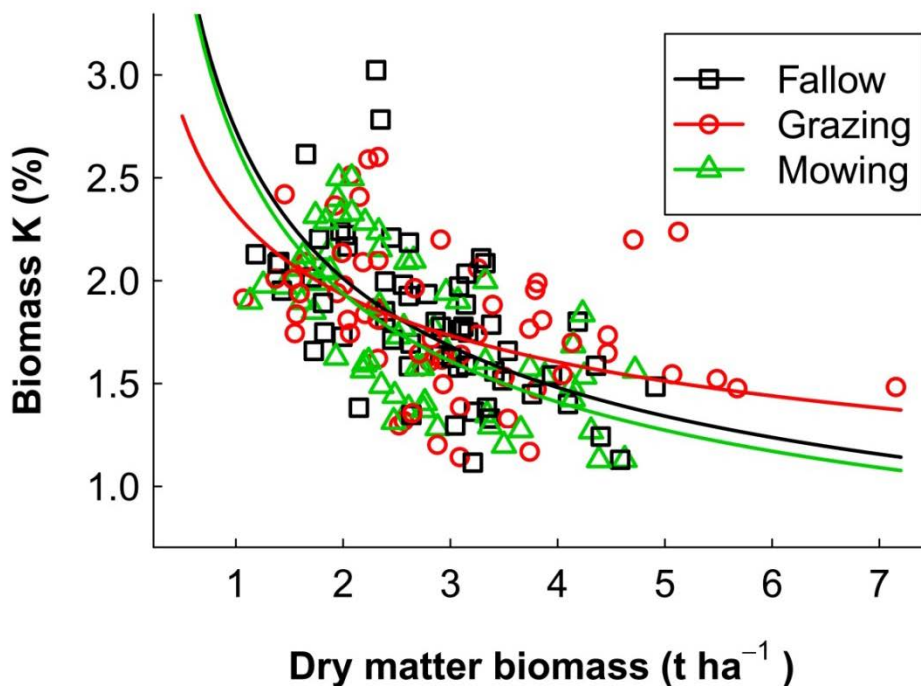
V modelu ředících křivek pro P, byla signifikantní – kromě obsahu sušiny ($P < 0,0001$) a managementu ($P = 0,036$) – i interakce management : DM ($P = 0,028$). Pasené plochy měly

nejnižší intercept, který se lišil od ladu ($P=0,0183$) i sečení ($P=0,0154$) a současně nejmírnější sklon vzhledem k sečení ($P=0,0099$) i k ladu ($P=0,086$). Z toho vyplývá, že na pasených plochách docházelo k nejmírnějšímu poklesu koncentrace P s nárůstem biomasy.



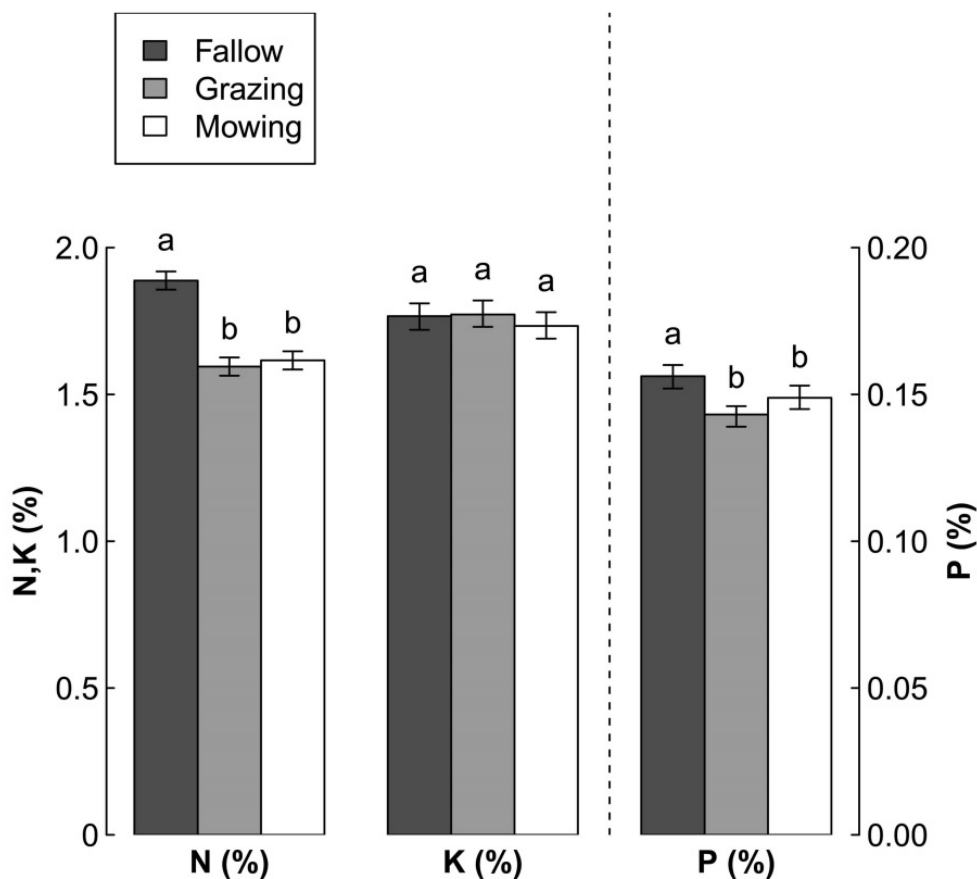
Obr. 5: Rovnice křivky ředění fosforu pro plochy ponechané ladem: $P_{LAD} = 0,27 DM^{-0,55}$, pro pasené plochy: $P_{PAS} = 0,21 DM^{-0,39}$ a pro sečené plochy $P_{SEČ} = 0,27 DM^{-0,62}$. Na pasených plochách byla průměrně nejnižší koncentrace fosforu, ale na druhou stranu si zdejší biomasa zachovala jeho relativně vysoké koncentrace ještě v červenci oproti ostatním managementům.

Křivky popisující koncentraci draslíku v závislosti na množství biomasy se mezi managementy nelišily v interceptu ($P=0,2$), ale měly odlišný sklon ($P=0,039$). U pasených ploch docházelo během sezóny, stejně jako u fosforu, k nejmírnějšímu ředění koncentrace draslíku oproti sečeným plochám ($P=0,022$) a plochám ponechaných ladem ($P=0,046$).



Obr. 6: Rovnice křivek ředění draslíku pro opuštěné plochy: $K_{LAD} = 2,7 DM^{-0,44}$, pro pasené plochy: $K_{PAS} = 2,3 DM^{-0,27}$ a pro sečené plochy $K_{SEČ} = 2,7 DM^{-0,46}$.

Dalším možným přístupem pro přímé porovnání koncentrací N, P, K mezi managementy je chápání data (spolu s lokalitou a rokem) jako faktoru s náhodným efektem. Signifikantní rozdíl mezi managementy byl v tomto případě pouze u dusíku ($P < 0,0001$) a fosforu ($P = 0,0021$). Nejvyšší koncentraci N měla biomasa ploch ležících ladem oproti paseným a sečeným ($P < 0,0001$ pro oba managementy). U opuštěných ploch byla také nejvyšší koncentrace P v biomase ($P = 0,0005$ oproti paseným a $P = 0,05$ oproti sečeným plochám). Koncentrace P a K byla v modelech logaritmičsky transformována.



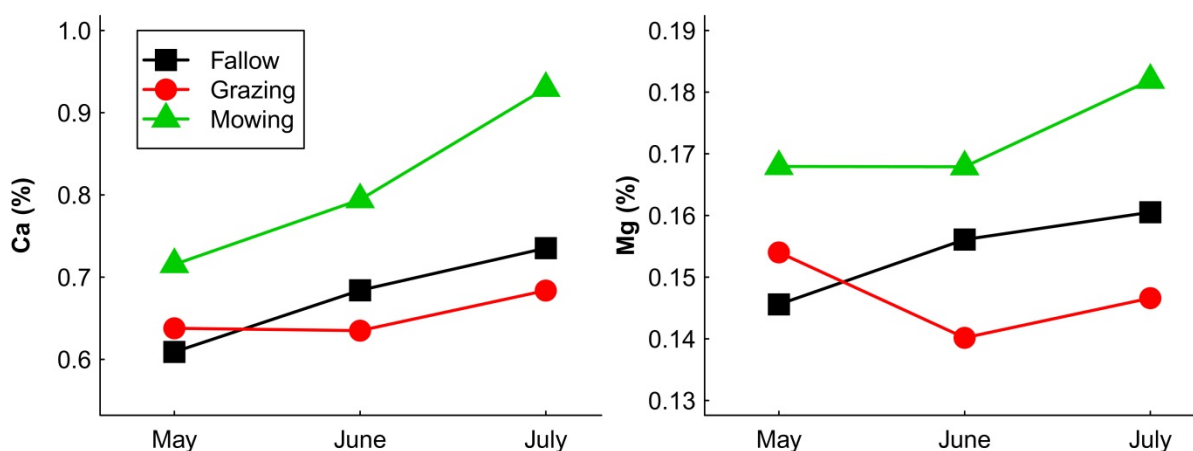
Obr. 7: Biomasa na opuštěných plochách měla nejvyšší koncentrace dusíku a fosforu oproti biomase ploch pasených a sečených. Graf znázorňuje modelové průměry koncentrací převedené na normální škálu a střední chyby rozdílů mezi ošetřeními. Pokud se úsečky nepřekrývají, značí to odlišnost mezi managementy na hladině $\alpha=0,05$.

4.3. Porovnání koncentrací Ca a Mg mezi managementy

Pro porovnání koncentrací Ca a Mg v biomase mezi managementy jsme opět použili modely se smíšenými efekty, kde lokalita a rok byly pokládány za faktory s náhodným efektem a management a datum za faktory s pevným efektem. V případě koncentrace Ca byl silně signifikantní ($P<0,0001$) vliv managementu i data. Nejvyšší koncentrace vápníku měla biomasa sečených ploch, která se lišila ($P<0,0001$) od pasených a opuštěných. Opuštěné a pasené plochy se v koncentraci Ca mezi sebou nelišily ($P=0,44$). Během sezóny docházelo k nárůstu koncentrace Ca v biomase, který byl nejvíce patrný u sečených ploch.

Pro hořčík jsme použili obdobný model. Signifikantní vliv měl pouze management ($P<0,0001$), během data se koncentrace hořčíku neměnily ($P=0,12$). Nejvyšší koncentraci Mg

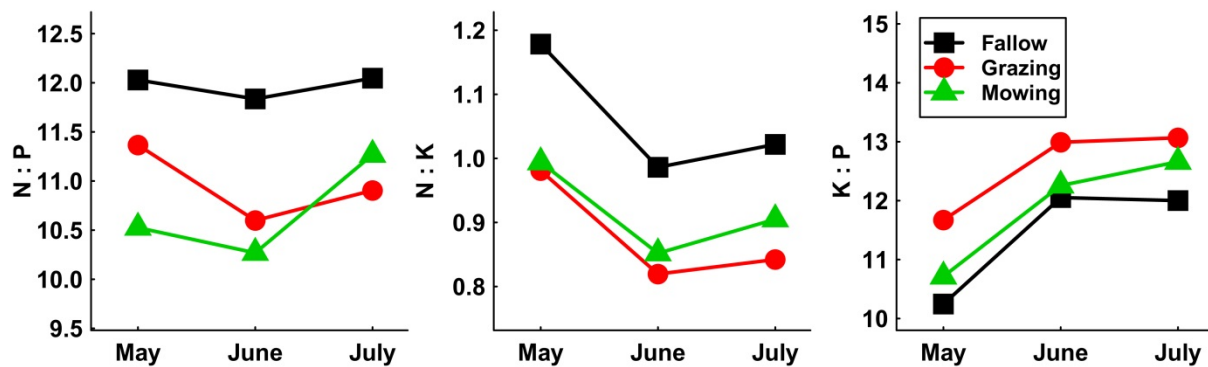
měla biomasa sečených porostů, která se lišila ($P < 0,0001$) od pasených i ponechaných ladem. Pasené a opuštěné porosty se od sebe v koncentraci Mg nelišily ($P = 0,11$).



Obr. 8: Na sečených plochách byly signifikantně nejvyšší koncentrace Ca a Mg v biomase, oproti plochám paseným a opuštěným. Koncentrace vápníku v biomase během sezóny od května do července rostla. V grafu jsou vyneseny průměry pro jednotlivá data a managementy.

4.4. Poměry N:P:K v rámci managementů

Na všechny tři poměry N:P, N:K i K:P měl vliv management ($P < 0,0001$), poměry N:K a K:P se lišili i v rámci data ($P < 0,0001$). Podle očekávání měly nejvyšší poměr N:P i N:K v biomase plochy ležící ladem oproti paseným i sečeným (vše $P < 0,0001$), pasené a sečené se v těchto poměrech nelišily ($P = 0,35$, $P = 0,13$). Poměr N:K se měnil během sezóny, během 2. a 3. data výrazně poklesl oproti 1. datu ($P < 0,0001$). Nejvyšší poměr K:P byl na pasených plochách, oproti sečeným ($P = 0,017$) a opuštěným ($P < 0,0001$). Sečené a opuštěné plochy se mezi sebou v poměru K:P nelišily ($P = 0,13$), ve 2. a 3. datu byl poměr K:P vyšší ($P < 0,0001$) oproti 1. datu.



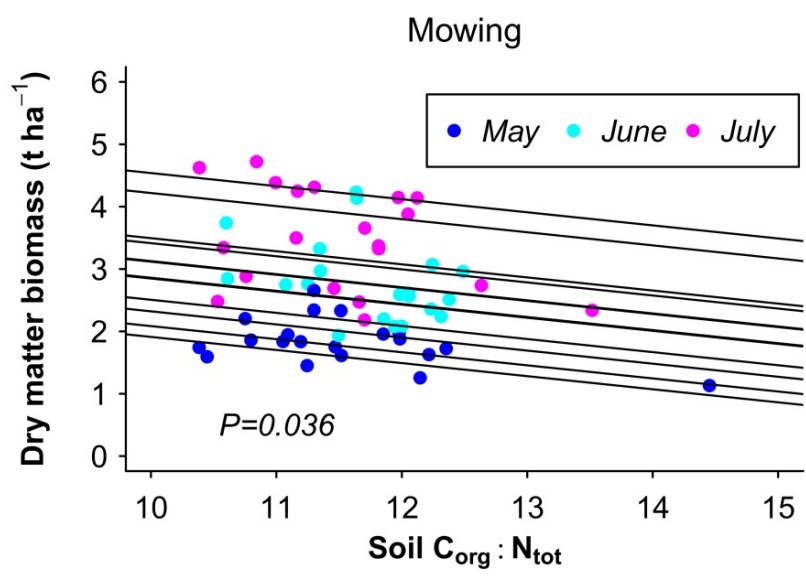
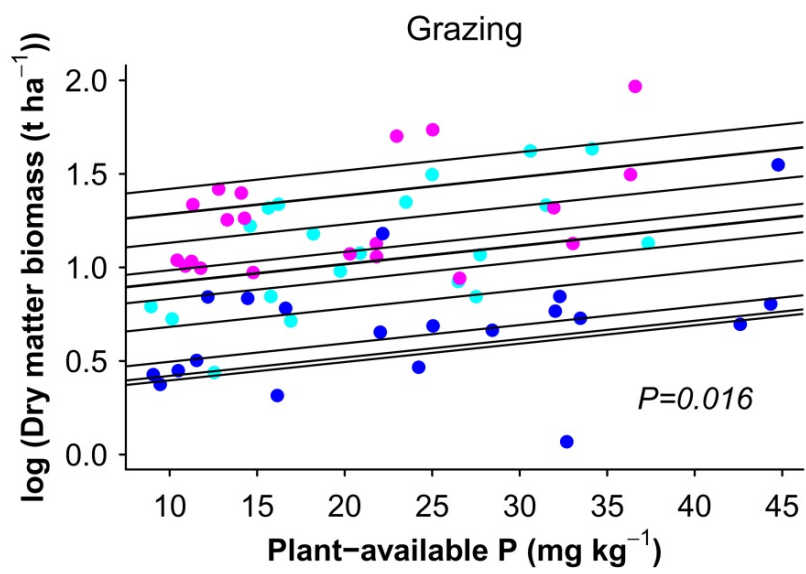
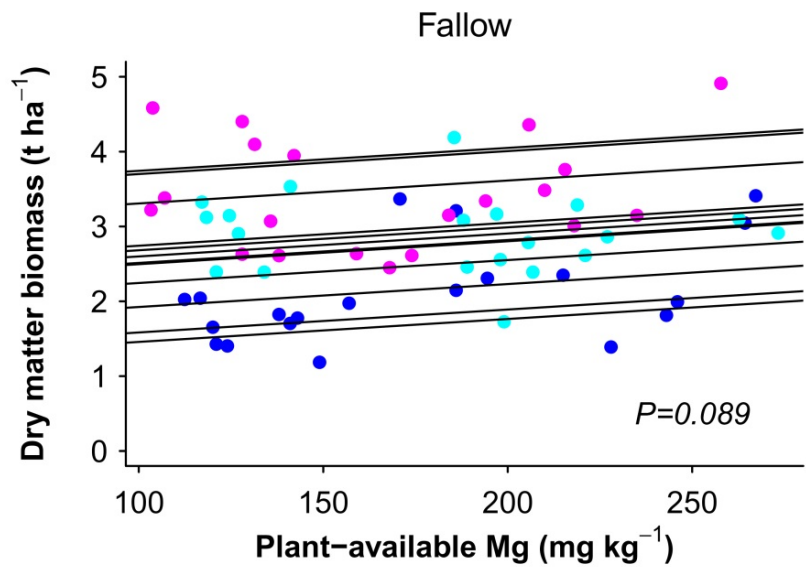
Obr. 9: Nejvyšší poměr N:P a N:K byl v biomase opuštěných ploch, nejvyšší poměr K:P byl na pasených plochách, poměr N:K během sezóny klesal, K:P naopak rostl.

4.5. Stanovení limitující živiny v rámci jednotlivých managementů

Výše uvedené poměry ukazují (podle Schaffers & Sýkora 2002) na limitaci dusíkem ($N:K < 1$) u pasených a sečených ploch a na limitaci fosforem ($K:P > 8.6$) u všech tří managementů (podle Pegtel *et al.* 1996). Neoptimálnější poměr N:P:K vykazovaly plochy ležící ladem, kde nedochází k pravidelnému odnosu živin jako na pasených a sečených plochách.

K přímému nalezení limitující živiny jsme použili model závislosti výnosu plošky (1 m^2) na množství dostupných živin v půdě. Pomocí faktorů s náhodným efektem byl odstraněn vliv lokality, roku a data. Každý management jsme analyzovali samostatně. Nejlepší prediktor jsme vybírali v oboustranné postupné regresi (*step-wise regression*) z faktorů charakterizujících úživnost stanoviště: poměr půdního $C_{\text{org}}:N_{\text{tot}}$ a množství dostupného P, K, Ca, Mg. Nejlepší model byl vybrán podle nejnižší hodnoty AIC kritéria. Pro účely porovnání podle AIC kritéria byly modely s náhodnými efekty vytvořeny metodou maximum likelihood „ML“.

Na pasených plochách výnos (DM) nejlépe vysvětloval množství dostupného fosforu v půdě ($P=0,016$). Na sečených plochách výnos negativně koreloval s půdním $C_{\text{org}}:N_{\text{tot}}$ ($P=0,036$), čili pozitivně s množstvím dostupného dusíku (Mládková *et al.* 2015, viz příloha 9.1.). Nejnižší AIC na opuštěných plochách měl model závislosti výnosu na množství dostupného Mg ($P=0,089$). U všech tří managementů měl nejnižší AIC vždy model jen s jedním výše uvedeným prediktorem.



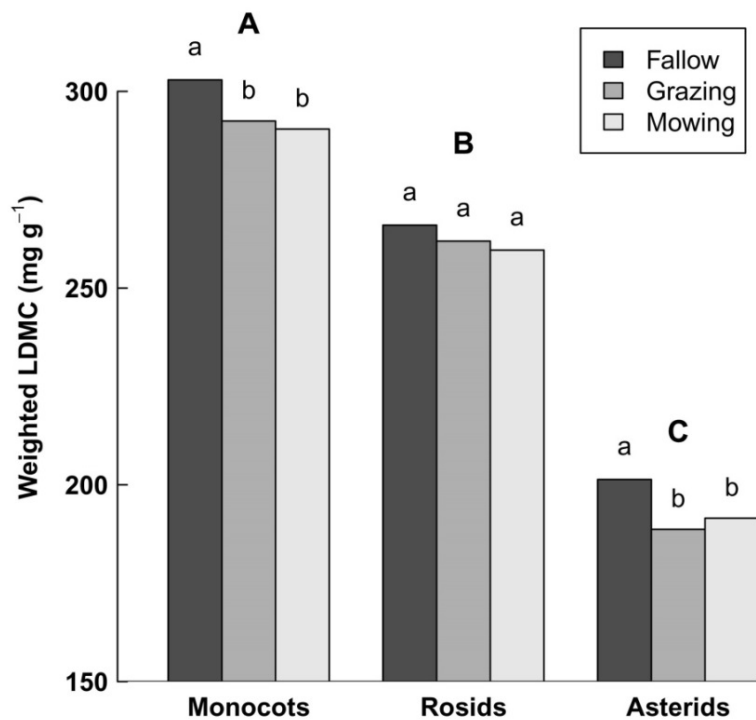
Obr. 10

Regresní přímky vygenerované modely se smíšenými efekty reprezentují závislost výnosu plošky na příslušné limitující živině v půdě. Každá přímka je specifická pro jednotlivou lokalitu, rok a datum sběru. Půdní $C_{org} : N_{tot}$ má inverzní vztah k dostupnému dusíku v půdě (Mládková *et al.* 2015). Opuštěné plochy ukázaly na limitaci hořčíkem, pasené plochy na limitaci fosforem a sečené plochy na limitaci dusíkem.

4. 6. Vyhodnocení vlivu managementů na travní porost pomocí funkčních znaků

Pomocí párových t-testů jsme zjistili, že existují silně signifikantní rozdíly (pro všechny dvojice $P < 0,0001$) v obsahu sušiny v listech (LDMC) mezi základními skupinami vývojových větví rostlin, označovaných jako Monocots, Asterids, Rosids (podle APG IV 2016). Ve skupině **monocotů** jsou na našich experimentálních plochách trávy (*Poaceae*), ostřice (*Carex*) a biky (*Luzula*), dále ocún jesenní (*Colchicum autumnale*) a česnek planý (*Allium oleraceum*). Mezi **asteridy** mají hlavní zastoupení rostliny z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), miříkovitých (*Apiaceae*), zvonkovitých (*Campanulaceae*), jitrocelovitých (*Plantaginaceae*), mořenovitých (*Rubiaceae*), rdesnovitých (*Polygonaceae*), štětkovitých (*Dipsacaceae*), hvozdíkovitých (*Caryophyllaceae*). Skupina **rosidů** je tvořena zejm. rostlina z čeledi bobovitých (*Fabaceae*), růžovitých (*Rosaceae*), pryšcovitých (*Euphorbiaceae*), třezalkovitých (*Hypericaceae*), violkovitých (*Violaceae*), kakostovitých (*Geraniaceae*) a vítodovitých (*Polygalaceae*).

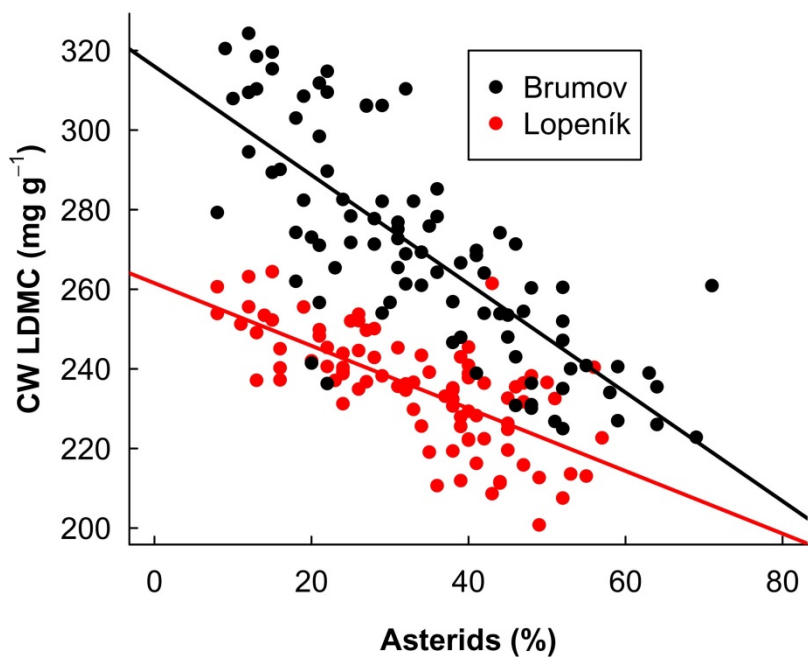
LDMC jsme počítali samostatně pro výše uvedené skupiny a vážili proporcí druhů na ploše. Management signifikantně ovlivnil LDMC monocotů i asteridů ($P < 0,0001$), přičemž nejvyšší LDMC bylo pro všechny skupiny na opuštěných plochách. LDMC monocotů i asteridů se na opuštěných plochách signifikantně lišilo od ploch pasených ($P = 0,0021$; $P = 0,0003$) a sečených ($P = 0,0003$; $P = 0,0054$). Na LDMC rosidů měl management jen slabě signifikantní vliv ($P = 0,1$).



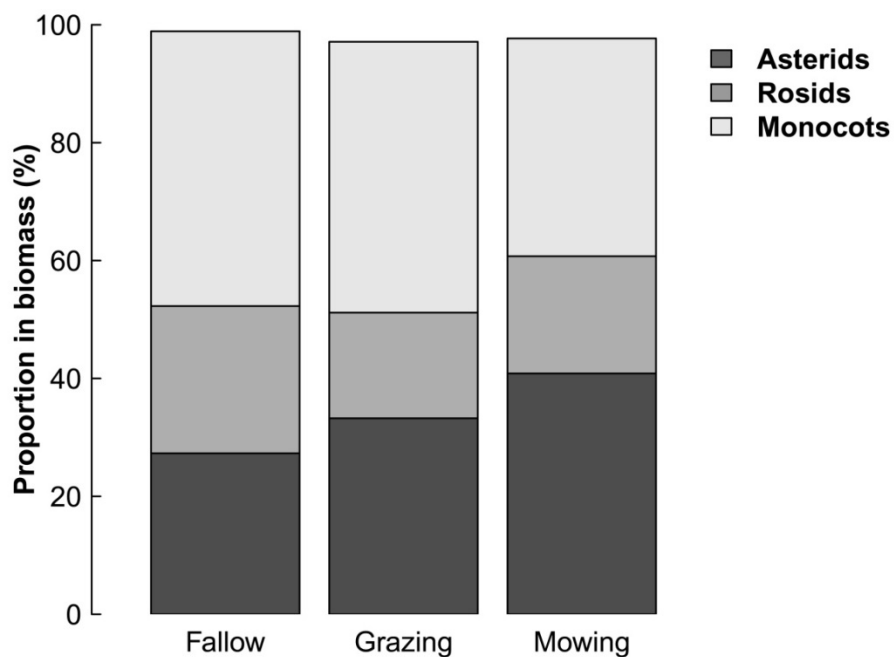
Obr. 11: Management silně ovlivnil LDMC monocotů a asteridů, opuštěné plochy podporovaly druhy s vysokým LDMC, čili méně „šťavnaté“ druhy s konzervativní růstovou strategií. Malá písmena značí signifikantní odlišnost mezi managementy v rámci dané fenologické skupiny. Velká písmena značí signifikantní odlišnost v LDMC mezi skupinami monocotů, asteridů a rosidů.

Z výše uvedeného je zřejmé že proporční zastoupení jednotlivých skupin musí mít vliv na hodnotu LDMC, váženého proporci všech druhů napříč skupinami (*Community weighted, CW*). K testu nulové hypotézy jsme použili lineární model závislosti CW LDMC na proporci asteridů a jako kovariátu jsme zvolili lokalitu, neboť druhové složení obou zkoumaných lokalit je velmi odlišné (viz Mládková *et al.* 2015, příloha 9.1.).

Model ($F=166,2$; $DF=3/176$, $P<0,0001$) potvrdil signifikantní vliv proporce asteridů ($P<0,0001$), lokality ($P<0,0001$) i vzájemné interakce ($P=0,0003$) na velikost LDMC váženého proporci všech druhů na plošce a vysvětloval 74 % variability CW LDMC.



Obr. 12: LDMC vážené proporcí všech druhů se ukázalo jako lineární funkcí proporce asteridů, neboť asteridi mají nízké LDMC oproti rosidům a monocotům.

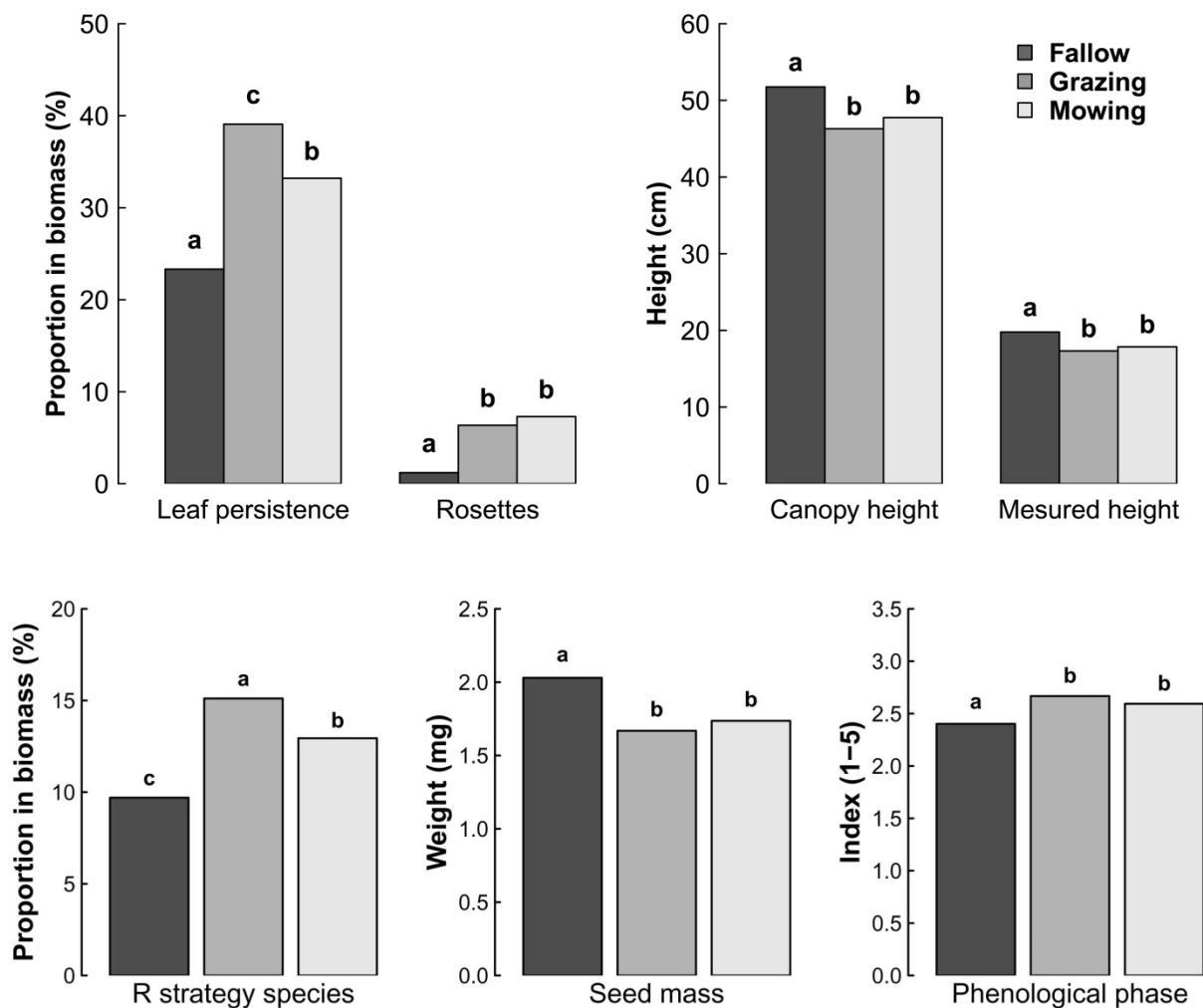


Obr. 13: Proporce asteridů, rosidů a monocotů na opuštěných, pasených a sečených plochách.

Při porovnání vlivu managementů na funkční znaky porostů se nejvýrazněji projevila odlišnost opuštěných ploch od ploch pasených a sečených. Pasené a sečné plochy se mezi sebou lišily z naměřených znaků pouze v podpoře druhů, jejichž listy jsou schopny přezimovat (*Leaf persistence*) a množství druhů s R-strategií. Pasené plochy měly oproti sečeným ($P=0,0028$) i opuštěným plochám ($P<0,0001$) nejvíce druhů s přezimujícími listy. Nejméně druhů s přezimujícími listy bylo na opuštěných plochách (oproti sečeným $P<0,0001$). Na pasených plochách rostlo nejvíce R-stratégů oproti sečeným ($P=0,0137$) a opuštěným plochám ($P<0,0001$), nejméně R-stratégů bylo na opuštěných plochách ($P=0,0003$ oproti paseným).

Management ovlivnil tabulkovou (*Canopy height*) i ručně měřenou výšku (*Mesured height*) porostu ($P<0,0001$), nejvyšší porost byl v obou případech na opuštěných plochách oproti pastvě ($P=0,0002$; $P=0,0002$) a sečení ($P=0,0061$; $P=0,0038$). Opuštěné plochy měly nejméně druhů s přízemní růžicí a nejtěžší semena oproti pastvě a sečení (vše $P<0,0001$). Porost na pasených a sečených plochách měl rychlejší fenologický vývoj ($P<0,0001$) oproti plochám ponechaných ladem. Na specifickou listovou plochu (SLA), C-strategii a S-strategii neměl management signifikantní vliv.

Sečení na obou lokalitách podpořilo dvouděložné byliny: v Brumově, bylo na sečených plochách 64 % bylin, na pasených 59 % bylin a na opuštěných 46 % bylin. Na Lopeníku bylo na sečených plochách 65 % bylin, na opuštěných 63 % bylin a na pasených nejméně, a to 51 % bylin. Při analýze obou lokalit dohromady (lokalita, rok a datum položeny jako faktory s náhodným efektem) bylo procento bylin na sečených plochách signifikantně vyšší oproti paseným a opuštěným plochám ($P=0,0005$; $P=0,0001$). Při analýze jednotlivých skupin zvlášť, jsme zjistili, že sečení podpořilo pouze byliny ze skupiny Asteridů (sečení>pastva>lad), naopak Rosidů bylo nejvíce na opuštěných plochách oproti sečení a pastvě. Na samotnou proporci leguminóz (bobovité, *Fabaceae*) neměl management žádný vliv.



Obr. 14: V modelech se smíšenými efekty, kde lokalita, rok a datum byly pokládány za faktory s náhodnými efekty, jsme analyzovali vliv managementu na funkční znaky vážené proporcí druhů. Odlišná písmena označují signifikantní rozdíl mezi managementy.

4. 7. Vliv managementu na druhovou diverzitu a druhové složení

Na obou lokalitách jsme v letech 2011–2012 zaznamenali celkem 128 druhů, z toho 99 (A) na lokalitě Brumov a 77 (B) druhů na lokalitě Lopeník. Obě lokality mají 48 (C) společných druhů. Jaccardův index pro porovnání druhové odlišnosti v Brumově a na Lopeníku má potom hodnotu $I_j = 100 C / (A+B-C) = 100 \times 48 / (99+77-48) = 37,8$ a Sørensenův index, který má tvar $I_s = (2 C / (A+B)) \times 100$ má hodnotu 54,5. Přičemž pro oba indexy hodnoty blízké 100 znamenají druhově totožná stanoviště a hodnoty blízké 0 druhově naprosto odlišná stanoviště.

Tabulka 1: Tabulka ukazuje počty druhů v rámci jednotlivých managementů a počet druhů společných vždy dvěma managementům.

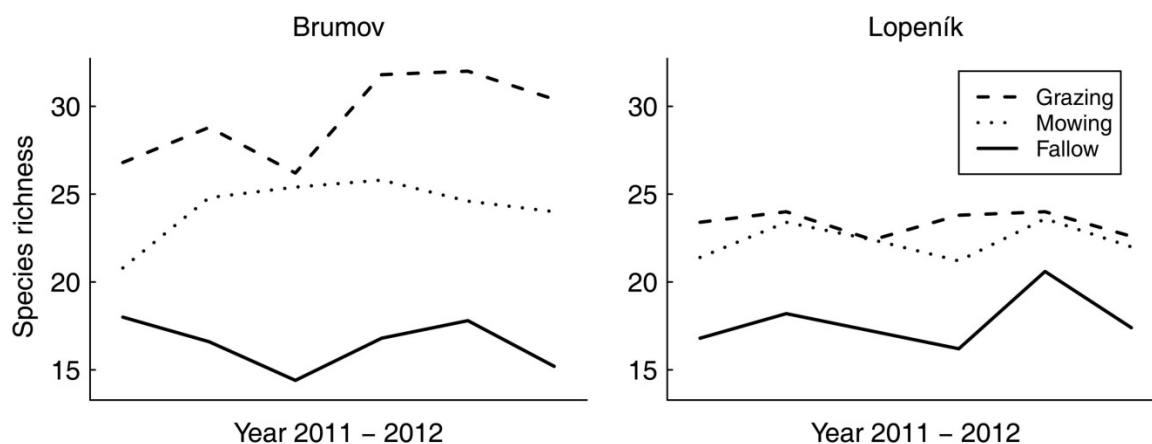
	lad	pastva	sečení	lad \cap pastva	lad \cap sečení	pastva \cap sečení	celkem druhů
Brumov	56	81	72	46	45	64	99
Lopeník	56	63	61	47	47	52	77

Tabulka 2: Pomocí Jaccardova a Sørensenova indexu jsme porovnali druhovou odlišnost dvojic managementů v rámci každé lokality. Nižší hodnoty indexu znamenají větší druhovou odlišnost managementových ploch.

	Brumov		Lopeník	
index	Jaccard	Sørensen	Jaccard	Sørensen
lad-pastva	50.5	67.1	65.2	79.0
lad-sečení	54.2	70.3	67.1	80.3
pastva-sečení	71.9	83.7	72.2	83.9

Druhově nejodlišnější na obou lokalitách byly pasené a opuštěné plochy, naopak nejpodobnější druhové složení v obou případech měly pasené a sečené plochy.

Druhová bohatost se lišila mezi managementy ($P < 0,0001$), při použití lokality, roku a data jako náhodného efektu. Nejvyšší druhovou bohatost měly pasené plochy (26,35 druhů/m²), dále sečené plochy (23,28 druhů/m²) a nejmenší pak plochy ponechané ladem (17,1 druhů/m²).

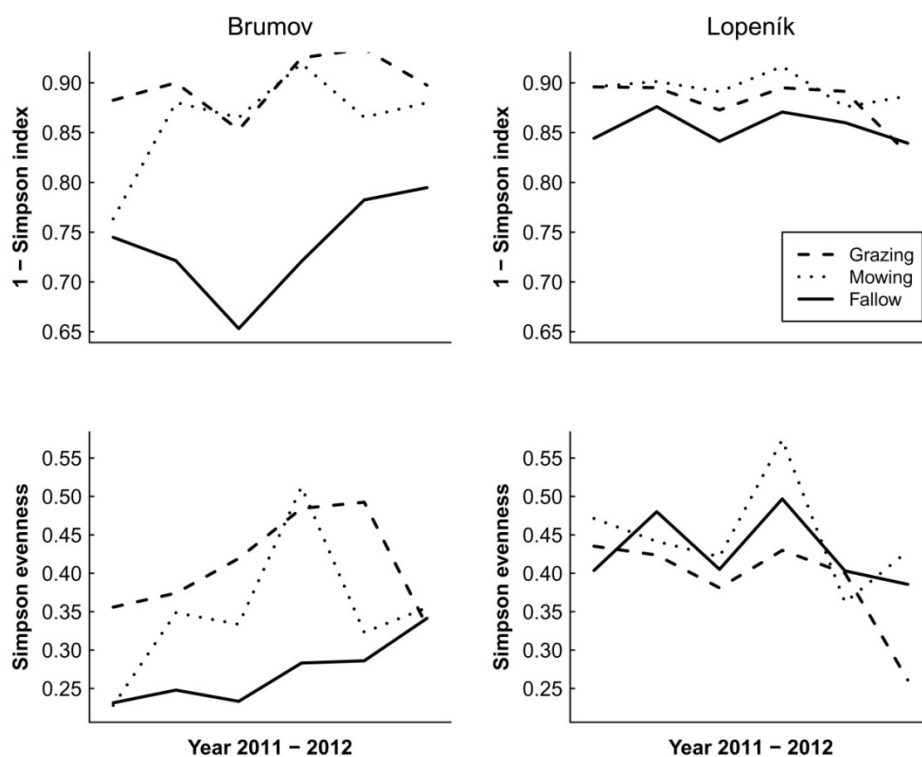


Obr. 15: Rozdíl v druhové bohatosti mezi managementy během let 2011–2012, odběry byly prováděny v květnu, červnu a červenci.

Vzhledem k vysoké druhové bohatosti všech vzorků jsme pro další porovnání α -diverzity zvolili Simpsonův index, který dává větší důraz na dominanci druhů oproti Shannonovu indexu a je lépe interpretovatelný. Analýzy byly dělány zvláště pro každou lokalitu, jako faktory s náhodnými efekty jsme ponechali rok a datum. Pro analýzu i grafické zobrazení jsme použili komplementární formu indexu ve tvaru $D' = 1 - D$, která vyjadřuje pravděpodobnost, že dva vybraní jedinci budou odlišného druhu.

Na lokalitě Brumov měly nejvyšší hodnoty pasené plochy ($D' = 0,9$), dále sečené plochy ($D' = 0,86$) a nejmenší hodnoty doplňkového indexu měly opuštěné plochy ($D' = 0,74$). Pasené a sečené plochy se lišily jen slabě s $P = 0,063$, zatímco pasené i sečené od ploch opuštěných se lišily výrazně s $P < 0,0001$. Management měl vliv rovněž na Simpsonovu vyrovnanost $E = (1/D)/S$ (kde S je počet druhů na plošce). Nejrovnoměrněji zastoupené druhy v Brumově byly na pasených plochách, dále sečených plochách a nejmenší vyrovnanost měly opuštěné plochy. Pasené a sečené se mezi sebou lišily s $P = 0,04$; opuštěné se od pasených i sečených lišily s $P < 0,0001$ a $P = 0,006$.

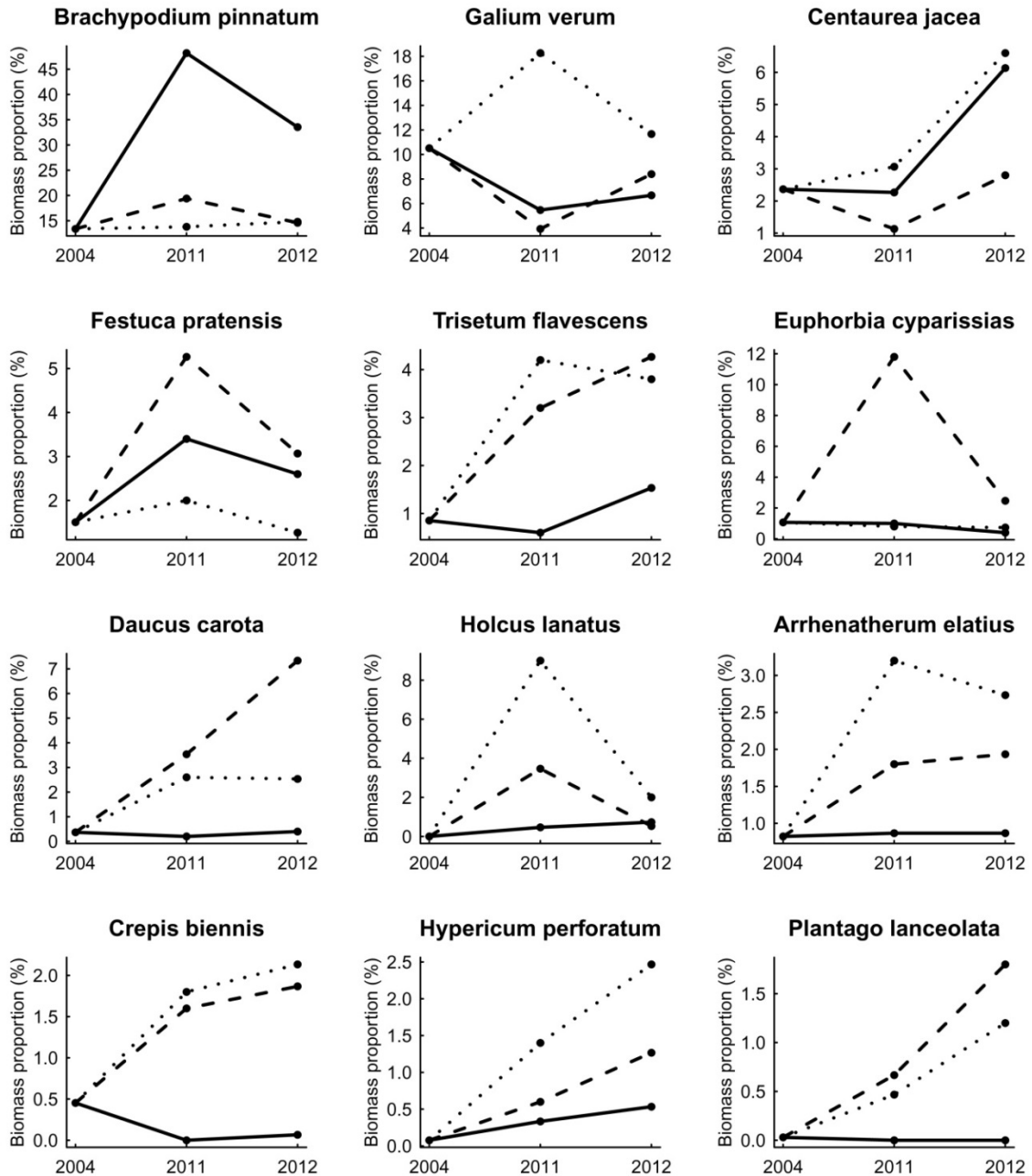
Na lokalitě Lopeník měly nejvyšší hodnotu Simpsonova doplňkového indexu sečené plochy ($D' = 0,89$), které se ovšem signifikantně nelišily od pasených ($D' = 0,88$). Plochy ponechané ladem měly nejnižší index ($D' = 0,86$), odlišný od pastvy ($P = 0,008$) i sečení ($P < 0,0001$). Na lokalitě Lopeník měl management jen mírný vliv na vyrovnanost druhů ($P = 0,044$). Nejvyšší vyrovnanost měly sečené plochy, dále opuštěné a nejmenší vyrovnanost byla na pasených plochách. Signifikantně se mezi sebou lišily pouze sečené a pasené plochy ($P = 0,014$).



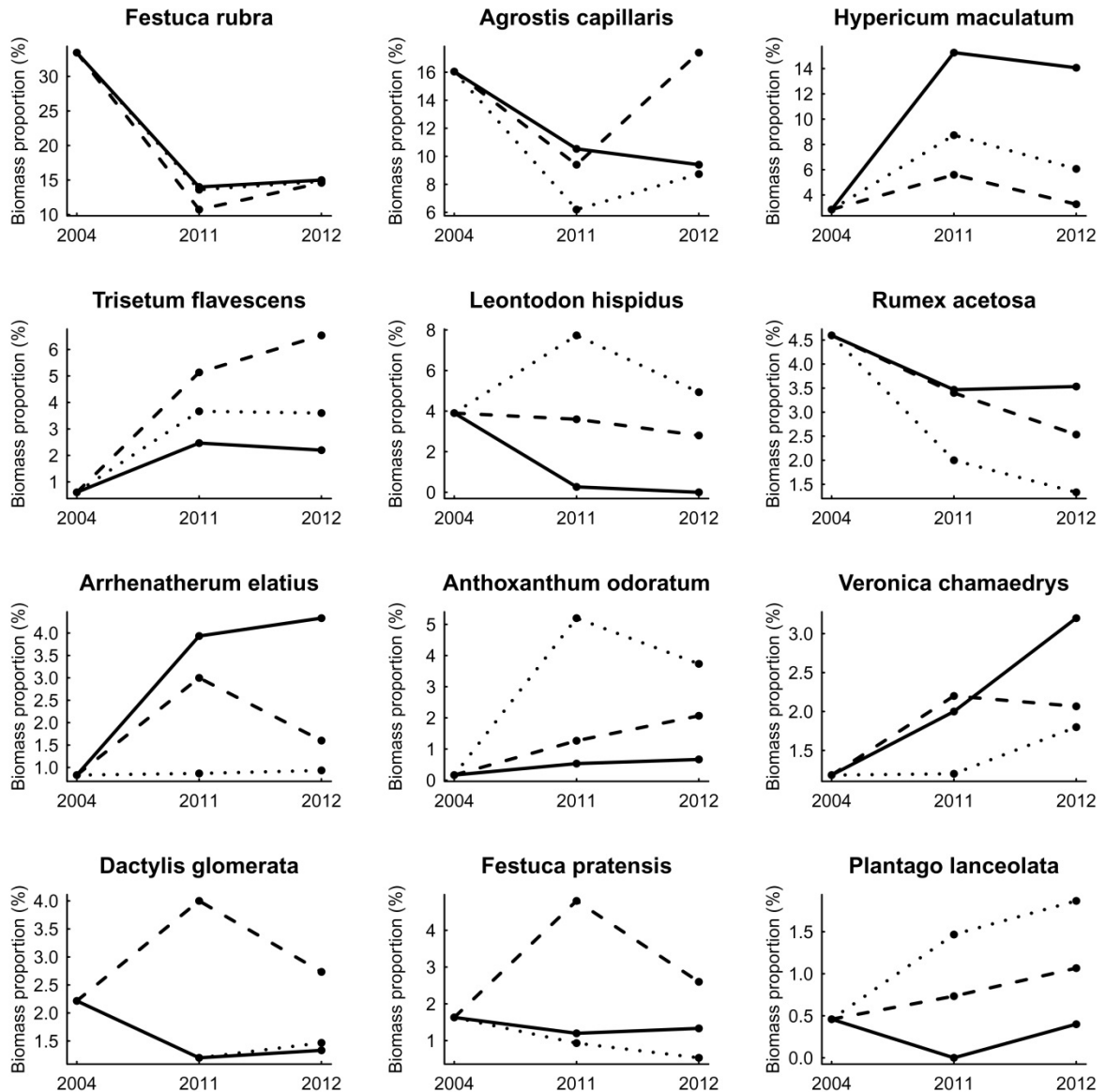
Obr. 16: Vliv managementu na α -diverzitu měřenou Simpsonovým indexem a Simpsonovou vyrovnaností (*evenness*).

Vliv managementu na proporcii druhů v biomase jsme srovnávali pomocí modelů se smíšenými efekty pro každou lokalitu zvlášť (management byl položen jako faktor s pevným efektem, rok a datum jako faktory s náhodnými efekty). Jednotlivá ošetření byla mezi sebou porovnána pomocí *treatment* kontrastů. Výsledky analýzy jsou detailně popsány v práci Mládková *et al.* (2015), viz příloha 9.1.

Pro grafickou prezentaci jsme použili i hodnoty proporcí druhů na lokalitách z roku 2004, které byly stanoveny před začátkem experimentu.

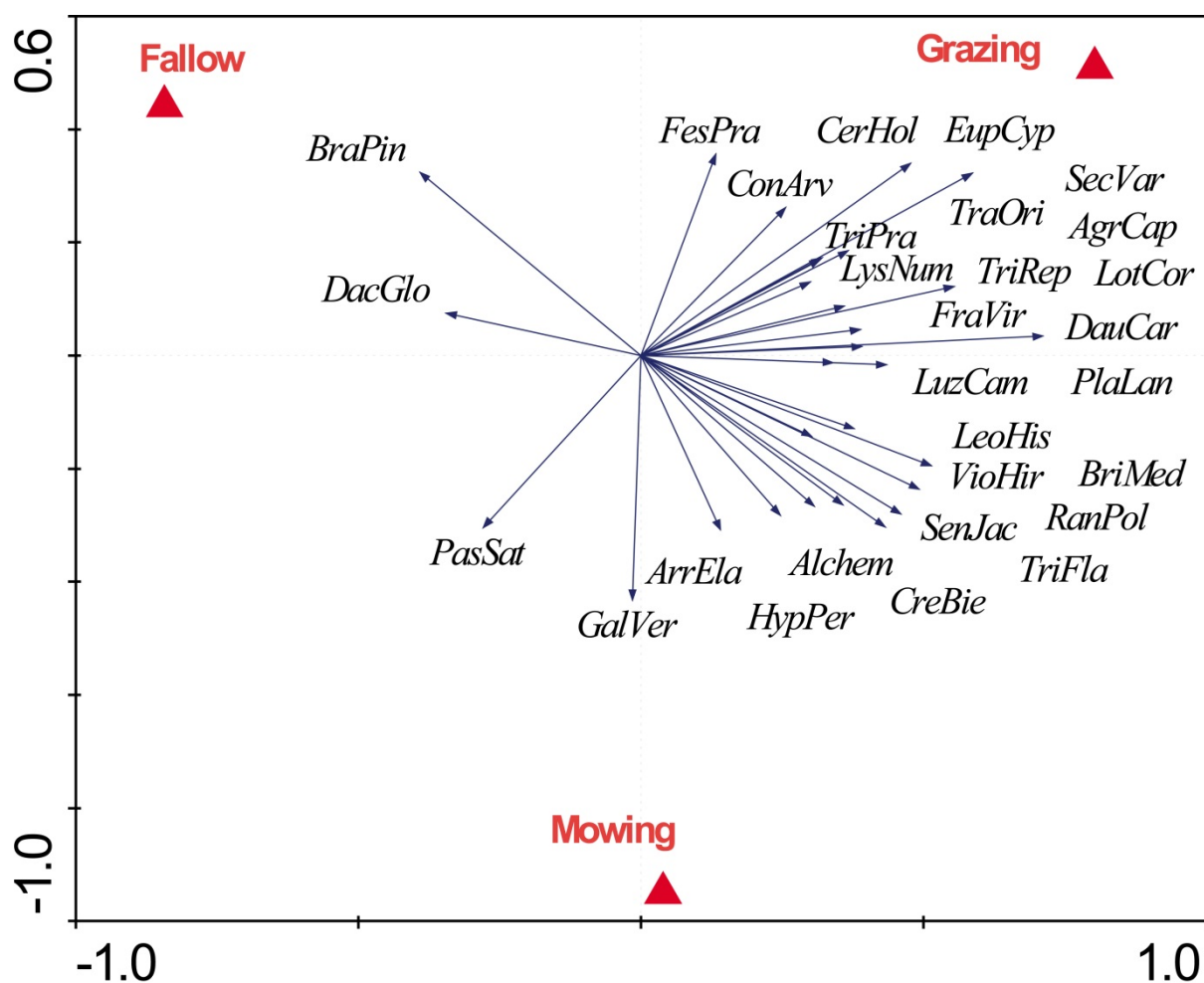


Obr. 17: Lokalita Brumov: vliv managementu na proporci vybraných druhů v biomase v letech 2011–2012, odhad z r. 2004 je založen na pokryvnosti druhů na ploše. Opuštěné plochy (—), pastva (- - -), sečení (····).



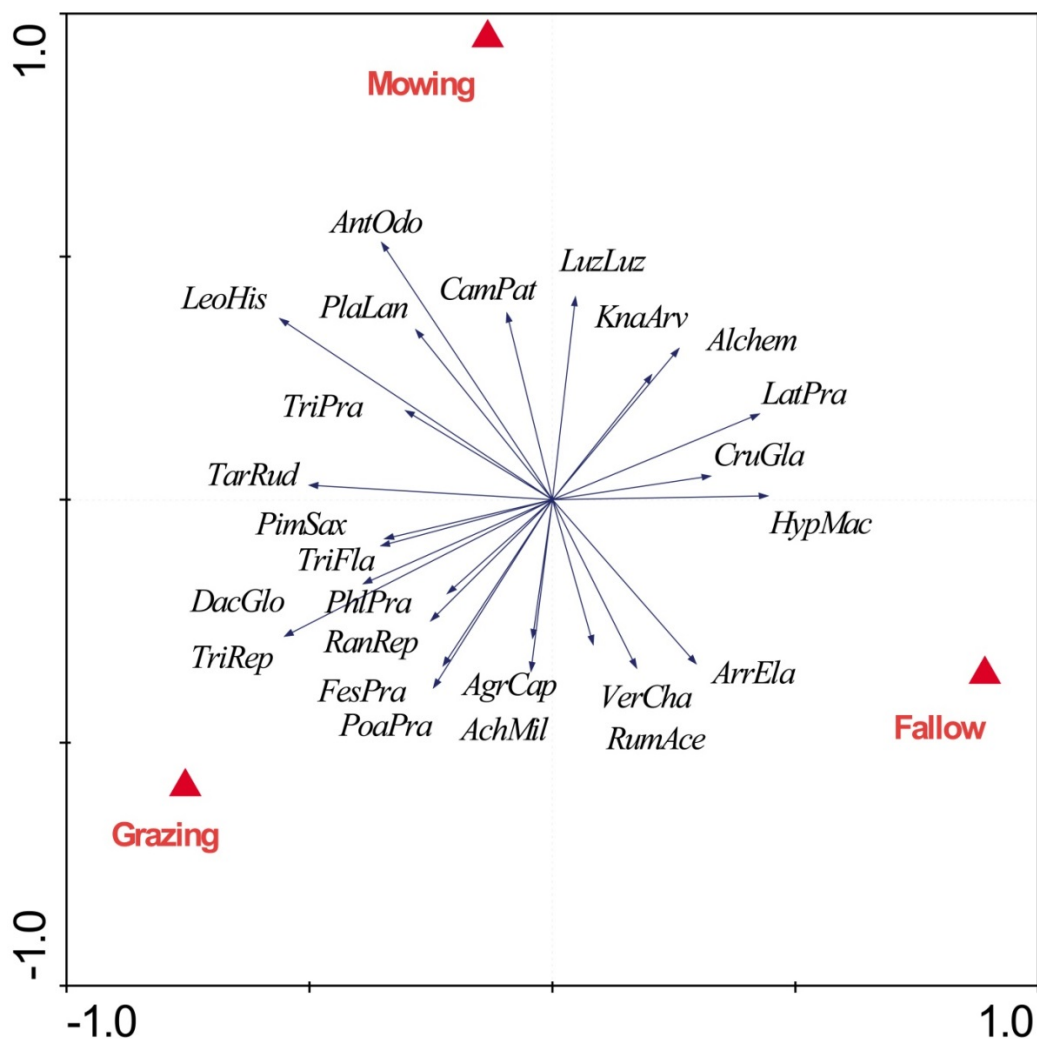
Obr. 18: Lokalita Lopeník: vliv managementu na proporci vybraných druhů v biomase v letech 2011–2012, odhad z r. 2004 je založen na pokryvnosti druhů na ploše. Opuštěné plochy (—), pastva (- - -), sečení (····).

Vliv managementu na druhové složení jsme dále analyzovali mnohorozměrnými metodami za použití přímé lineární ordinační metody (RDA), kde jednotlivá ošetření (lad, pastva, sečení) byla vysvětlujícími proměnnými. Druhová data byla logaritmičsky transformována a vycentrována. Zobrazeny jsou pouze druhy fitující model (*Species Fit Range*) v rozsahu 8 (10) – 100 % pro Lopeník, resp. Brumov.



Obr. 19: RDA analýza vlivu managementu na druhové složení na lokalitě Brumov, Monte Carlo test všech kanonických os: 999 permutací, $F=7,281$; $P=0,001$.

V Brumově **opuštěné plochy** podporují zejm. válečku prapořitou (*Brachypodium pinnatum*) a srhu laločnatou (*Dactylis glomerata*). **Sečení** je nejvhodnějším managementem pro svízel syřišťový (*Galium verum*), ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius*), pastinák setý (*Pastinaca sativa*), třezalku tečkovanou (*Hypericum perforatum*), kontryhel (*Alchemilla*), škardu dvouletou (*Crepis biennis*). Pro **pasené plochy** jsou typické pryšec chvojka (*Euphorbia cyparissias*), rožec obecný (*Cerastium holosteoides*), jetel luční (*Trifolium pratense*), kozí brada východní (*Tragoporon orientalis*), čičorka pestrá (*Securigera varia*), svlačec rolní (*Convolvulus arvensis*), psineček luční (*Agrostis capilaris*), vrbina penížková (*Lysimachia nummularia*), štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), kostřava luční (*Festuca pratensis*), jahodník trávnicí (*Fragaria viridis*), mrkev obecná (*Daucus carota*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*) a bika ladní (*Luzula campestris*).



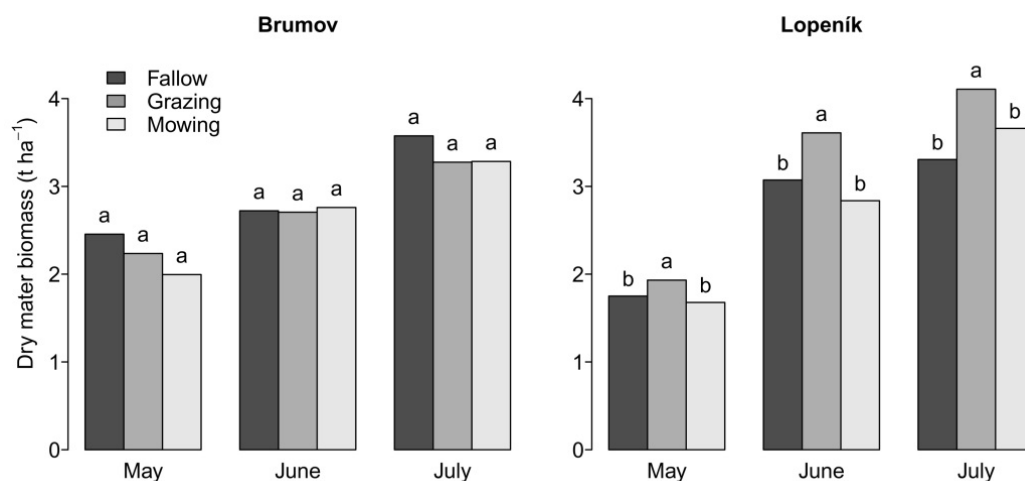
Obr. 20: RDA analýza vlivu managementu na druhové složení na lokalitě Lopeník, Monte Carlo test všech kanonických os: 999 permutací, $F=6,027$; $P=0,001$.

Na Lopeníku **ponechání ladem** je vhodné zejm. pro ovsík vyvýšený (*Arrhenantherum elatius*), třezalku skvrnitou (*Hypericum maculatum*), rozrazil rezekvítek (*Veronica chamaedrys*), šťovík obecný (*Rumex acetosa*), svízelku lysou (*Cruciata glabra*). **Sečení** podporuje zvonek rozkladitý (*Campanula patula*), tomku vonnou (*Anthoxanthum odoratum*), biku bělavou (*Luzula luzuloides*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), máchelku srstnatou (*Leontodon hispidus*), jetel luční (*Trifolium pratense*). **Pastva** podporuje pryskyřník plazivý (*Ranunculus repens*), bojínek luční (*Phleum pratense*), kostřavu luční (*Festuca pratensis*), lipnici luční (*Poa pratensis*), jetel plazivý (*Trifolium repens*), srhu laločnatou (*Dactylis*

glomerata), trojštět žlutavý (*Trisetum flavescens*), bedrník obecný (*Pimpinella saxifraga*), pampelišku (*Taraxacum sect. Ruderalia*).

4. 8. Vliv managementu na množství sklizené biomasy

Při porovnání vlivu managementu na množství biomasy v sušině (*Dry matter biomass, DM*) jsme analyzovali zvláště obě lokality pomocí modelů se smíšenými efekty, kde rok a datum byly zvoleny jako faktory s náhodnými efekty a management jako faktor s pevnými efekty. Proměnná DM byla logaritmicke transformována. Na lokalitě Brumov neměl management na výnos signifikantní vliv ($F=2,34$; $DF=2/82$; $P=0,102$), na lokalitě Lopeník měl management signifikantní vliv ($F=8,97$; $DF=2/82$; $P<0,0001$). Na Lopeníku měly nejvyšší výnos pasené plochy, dále opuštěné a sečené plochy, které se mezi sebou signifikantně nelišily. Pastva se naopak lišila jak od opuštěných ploch ($P=0,0006$), tak od sečených ploch ($P=0,0003$).

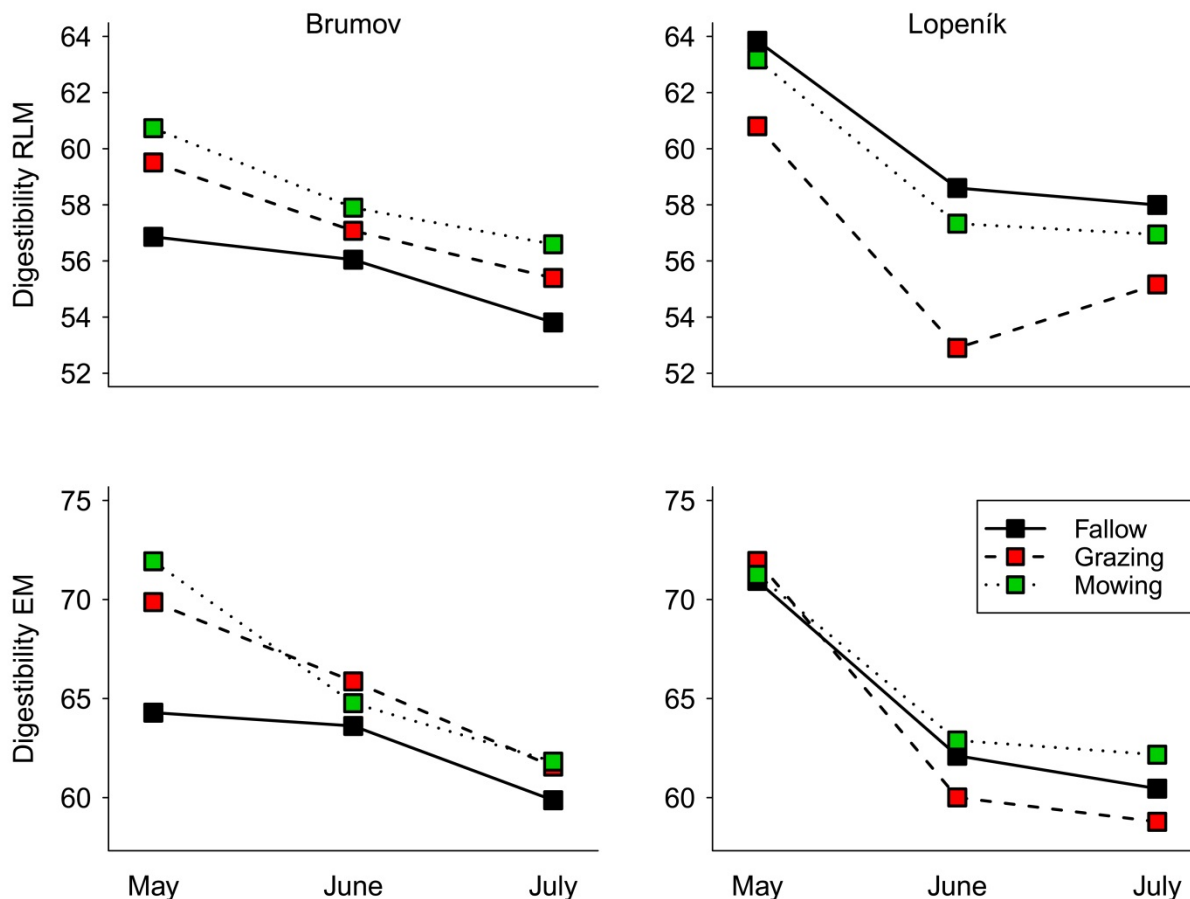


Obr. 21: Sloupcový graf znázorňuje průměrný výnos v sušině pro jednotlivé managementy z let 2011 a 2012. Managementy se signifikantně lišily pouze na lokalitě Lopeník, kde měly nejvyšší výnos pasené plochy.

4. 9. Vliv managementu, chemického složení biomasy a funkčních znaků na stravitelnost

Management měl vliv na stravitelnost biomasy, a to jak stravitelnost stanovenou pomocí pepsin-celulázové metody (*Enzymatic method*, EM), tak na stravitelnost stanovenou pomocí bachorové šťávy (*Rumen licquor method*, RLM). Při porovnání obou lokalit samostatně (DF=2/82) se v Brumově ukázaly jako nejhůře stravitelné opuštěné plochy, které se signifikantně lišily od pasených i sečených ploch ($P < 0,001$) pro oba managementy i pro obě stravitelnosti). Pasené a sečené plochy se signifikantně nelišily. Na Lopeníku byla nejhorší stravitelnost EM na pasených plochách, sečené a opuštěné se mezi sebou nelišily. Pasené plochy se lišily pouze od sečených ($P = 0,003$) ploch. Stravitelnost RLM na Lopeníku byla rovněž nejhorší u pasených ploch, které se lišily od opuštěných i sečených ($P < 0,0001$), nejlepší pak u opuštěných ploch ($P = 0,041$ vzhledem k sečeným).

Vzhledem k tomu, že plochy ponechané ladem jsou na obou lokalitách značně odlišné, porovnali jsme v dalším modelu rozdíl ve stravitelnosti pouze mezi pastvou a sečením pro obě lokality dohromady. Lokalitu jsme uvažovali jako náhodný efekt. Management měl signifikantní vliv v modelu se stravitelností EM (DF=1/107; $F = 6,9702$; $P = 0,0095$) i se stravitelností RLM (DF=1/107; $F = 21,393$; $P < 0,0001$). Přičemž v obou případech byly lépe stravitelné sečené plochy než pasené plochy ($P = 0,0095$; $P < 0,0001$).

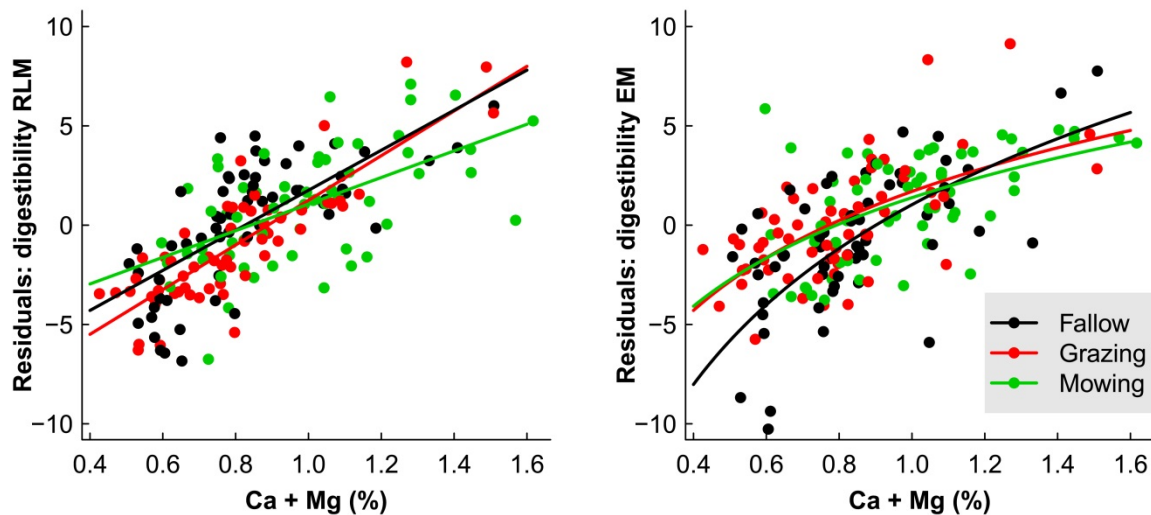


Obr. 22: Porovnání stravitelnosti RLM (bachorová šťáva) a EM (pepsin-celulázová metoda) v Brumově a na Lopeníku ve třech termínech sběru. Na obou lokalitách měla lepší stravitelnost biomasa sečených ploch oproti paseným.

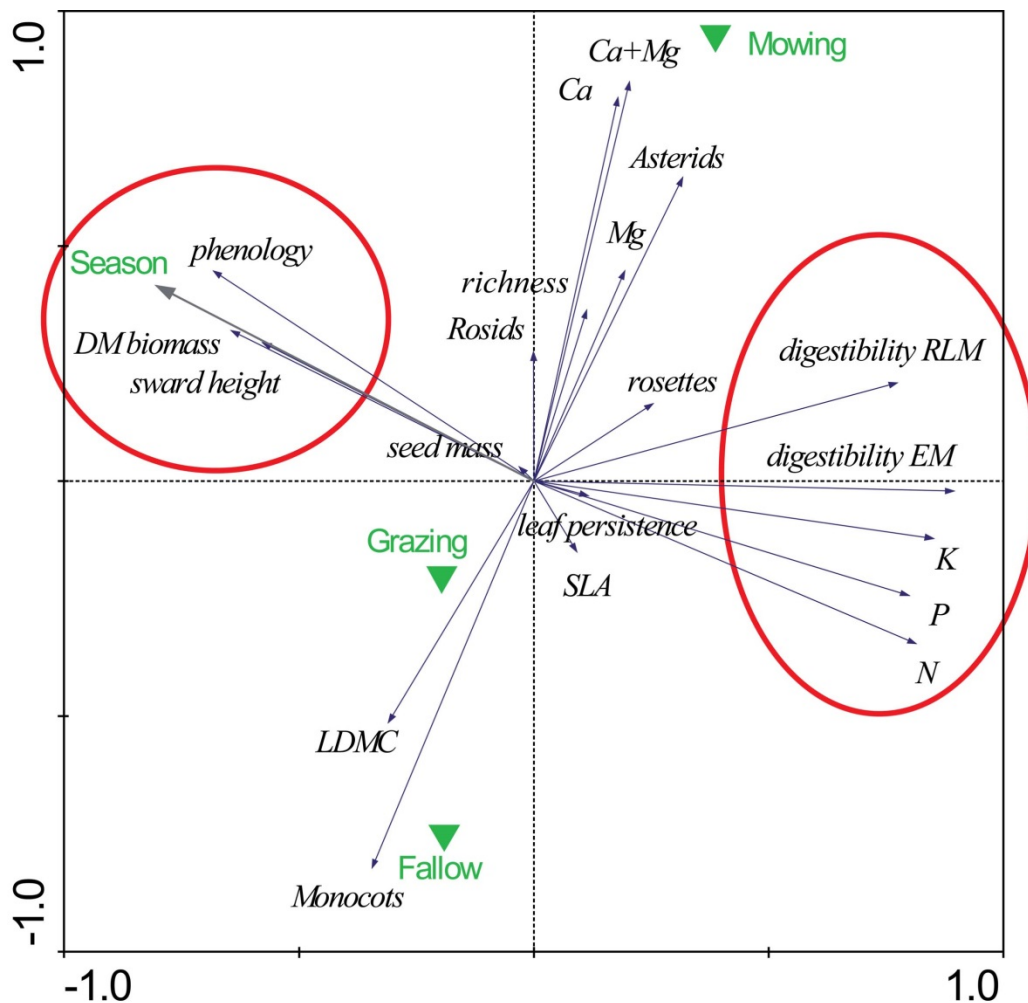
Vzhledem k tomu, že během sezóny hodnota stravitelnosti klesá, hledali jsme nejlepší prediktory stravitelnosti EM i RLM po odečtení efektu data a lokality. K analýze jsme místo příslušných stravitelností použili reziduály modelů se smíšenými efekty, kde za faktory s náhodným efektem byla položena lokalita a datum. Lokalita vysvětlovala méně než 0,001 % variability, zatímco datum 41 % variability (stravitelnost RLM) a dokonce 64 % variability u stravitelnosti EM.

Jako nejlepší prediktor pro obě stravitelnosti i všechny managementy se ukázal součet koncentrací vápníku a hořčíku (Ca + Mg). Suma koncentrací Ca + Mg korelovala také s proporcí dvouděložných bylin, ukazovala na větší listnatost porostu a nízké LDMC jednoděložných rostlin (detaily viz příloha 9.2.).

Součet Ca + Mg spolu s managementem vysvětlil 55 % variability reziduí modelu se stravitelností RLM a 42 % variability reziduí modelu se stravitelností EM. V druhém modelu byla provedena logaritmická transformace součtu Ca + Mg.



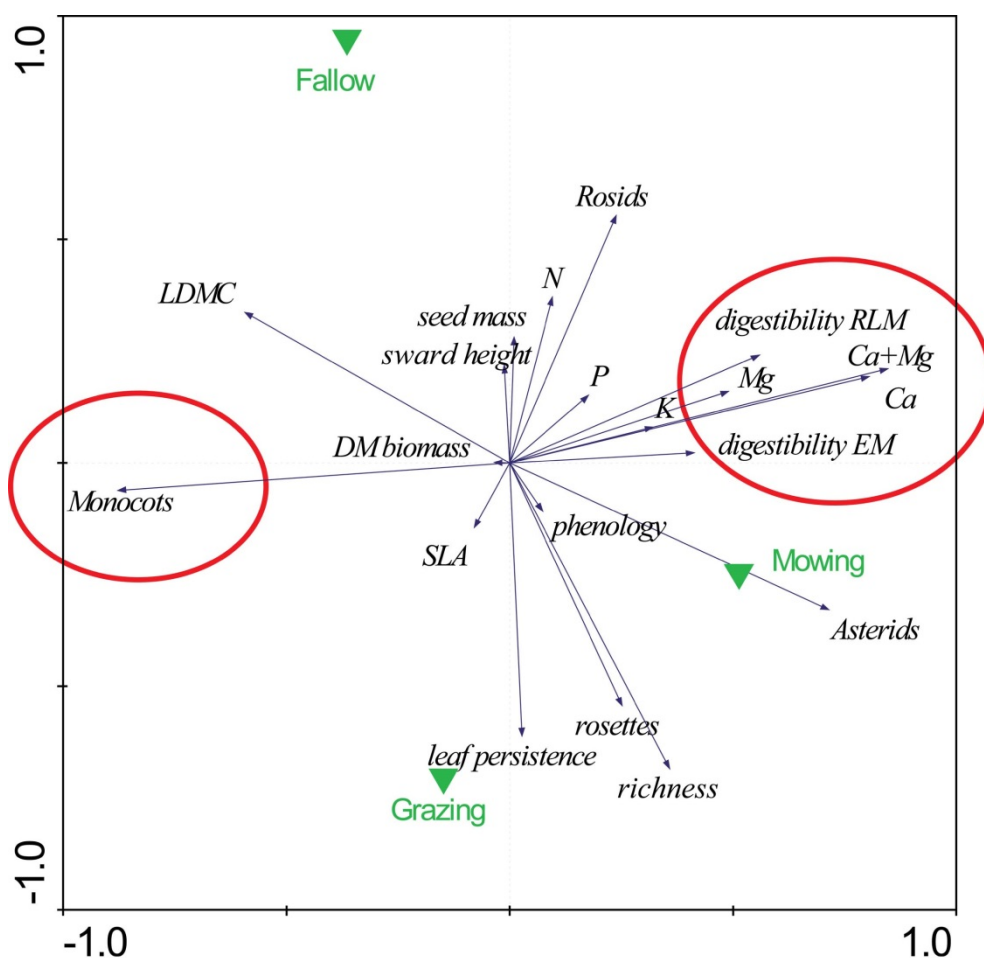
Obr. 23: Vysvětlení stravitelnosti RLM (bachorová šťáva) a EM (pepsin-celulázová metoda) po odečtení efektu data pomocí součtu koncentrací vápníku a hořčíku pro jednotlivé managementy.



Obr. 24: PCA analýza chemického složení biomasy, funkčních znaků a stravitelnosti. Lokalita a rok byly použity jako kovariáty, management a sezóna jako dodatečné proměnné prostředí. Data byla standardizována a vycentrována, 1. osa vysvětluje 30,6 % variability, druhá osa 22,7 % variability. Kovariáty vysvětlují 15,8 % variability.

Při použití nepřímé ordinace PCA (obr. 24) byla první osa variability pozitivně spojená se stravitelností a koncentrací N, P, K v biomase; negativně pak s výškou porostu, výnosem a fenologickým stádiem. Při promítnutí dodatečných proměnných prostředí se ukázalo, že 1. osa nejlépe negativně koreluje se sezónním vývojem ($r=-0,8$). Druhá a třetí (zde nezobrazená) osa pak ukazuje rozdíl mezi jednotlivými úrovněmi managementu.

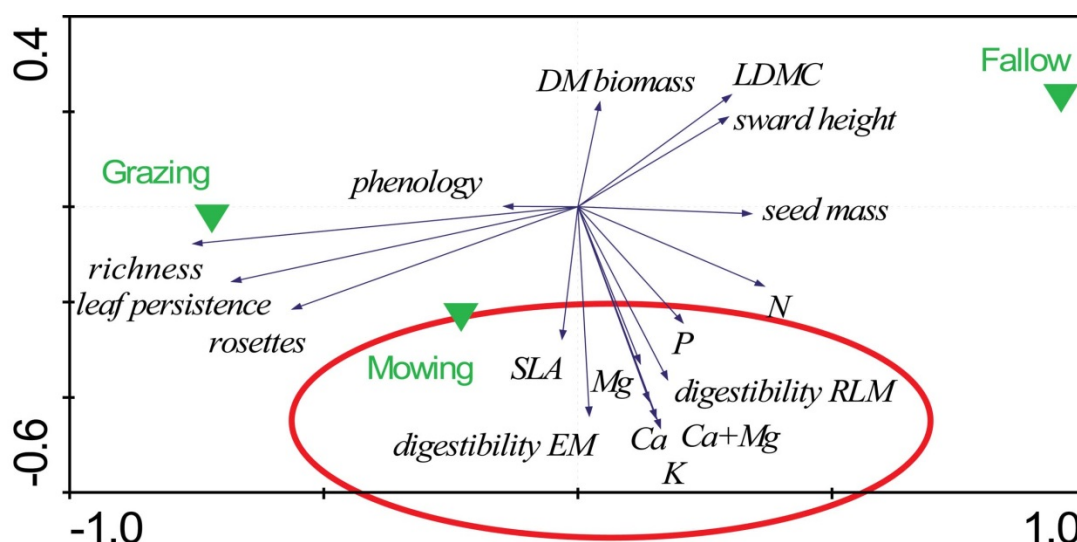
Vzhledem k tomu, že koncentrace N, P, K se během sezóny ředí a stravitelnost klesá, provedli jsme následně PCA analýzu s použitím sezóny jako další kovariáty, abychom vliv data sběru odfiltrovali.



Obr. 25: PCA analýza chemického složení biomasy, funkčních znaků a stravitelnosti. Lokalita, rok a datum byly použity jako kovariáty, management jako dodatečná proměnná prostředí. Data byla standardizována a vycentrována, 1. osa vysvětluje 32,2 % variability, druhá osa 16,2 % variability. Kovariáty vysvětlují 35,9 % variability.

Při odstranění vlivu sezóny byl hlavní gradient spojen se stravitelností EM a RLM, společně s koncentrací vápníku a hořčíku, negativně pak s proporcí jednoděložných v biomase (*Monocots*). Druhý gradient rozdílů chemických a funkčních vlastností biomasy byl formován zejména typem managementu. Hlavní rozdíl se ukázal mezi opuštěnými a pasenými plochami, které korelují s druhou osou variability (lad pozitivně ($r=0.71$) a pastva negativně ($r=-0.52$).

Poslední PCA ukazuje vztahy mezi jednotlivými vlastnostmi biomasy a stravitelností, po odečtení další kovariáty, kterou je proporce jednoděložných (*Monocots*). I v tomto případě jsou obě stravitelnosti spojeny s koncentrací vápníku (Ca) a hořčíku (Mg) v biomase, dále pak s koncentrací draslíku (K), specifickou listovou plochou (SLA) a koncentrací fosforu (P).



Obr. 26: PCA analýza chemického složení biomasy, funkčních znaků a stravitelnosti. Lokalita, rok, datum a proporce jednoděložných (*Monocots*) byly použity jako kovariáty, management jako dodatečná proměnná prostředí. Data byla standardizována a vycentrována, 1. osa vysvětluje 27 % variability, druhá osa 15,8 % variability. Kovariáty vysvětlují 50 % variability.

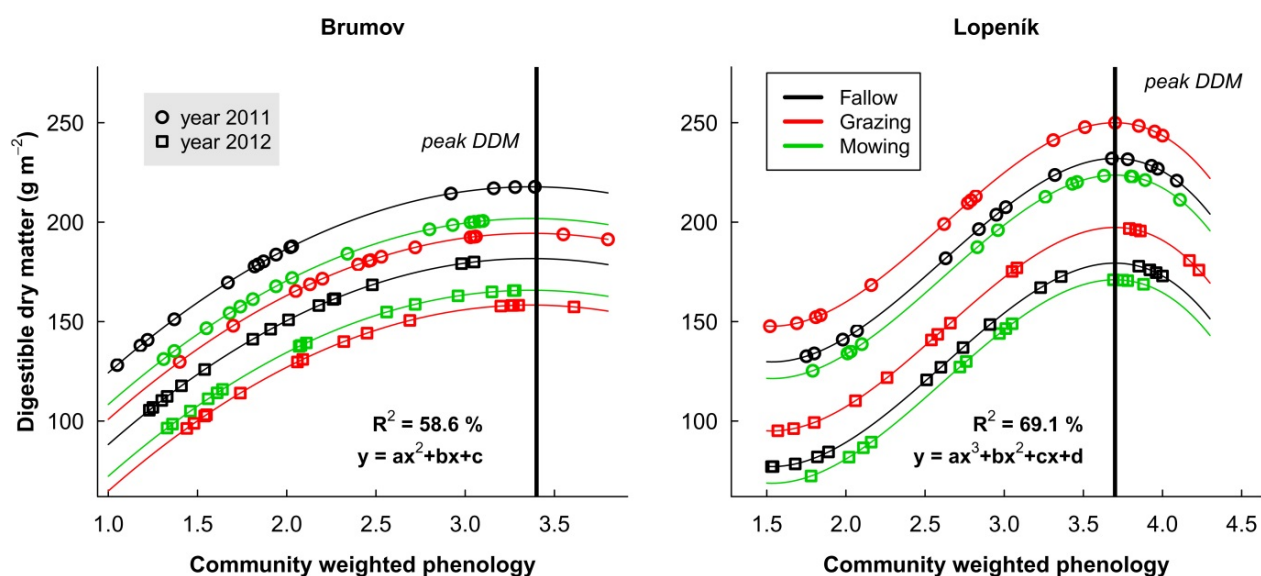
4. 10. Optimální doba sklizně: maximum stravitelné hmoty

Množství stravitelné hmoty (*Digestible dry matter*, DDM) jsme počítali jako součin výnosu v sušině a procenta stravitelné hmoty měřené pomocí bachorové šťávy (viz kap. 3.5). S využitím AIC kritéria jsme hledali takový model, který pro každý management nejlépe popíše závislost množství stravitelné hmoty (DDM) na fenologické fázi porostu. Lokality jsme analyzovali zvlášť a vliv roku odfiltrovali jako faktor s náhodným efektem. Jako nejvhodnější se (na příslušném fenologickém intervalu od 1 do 5) ukázala polynomiální regrese 2. stupně pro Brumov a 3. stupně pro Lopeník. Interakce mezi managementem a fenologií porostu (ani její druhé či třetí mocniny) nebyly průkazné, a tak byly z modelu odstraněny.

Na lokalitě Brumov bylo množství stravitelné hmoty dosaženo u všech managementů ve stejné fenofázi (3,4), nejvyšší množství stravitelné hmoty vyprodukovaly opuštěné plochy, které se signifikantně lišily od sečených ($P=0,0316$) a pasených ($P=0,0025$).

Na lokalitě Lopeník dosáhly rovněž managementy maxima stravitelné hmoty ve stejné fenofázi (3,7), nejvyšší množství stravitelné hmoty bylo na pasených plochách, nejmenší na sečených plochách, signifikantně se lišily pasené plochy od opuštěných ($P=0,046$) a od sečených ($P=0,0039$).

Na obou lokalitách se ukázala jako nejvhodnější doba sklizně pro dosažení maximální stravitelné hmoty na 1 m^2 v období, kdy většina druhů odkvétá a tvoří se první plody, čemuž odpovídá hodnota fenofáze porostu uprostřed mezi čísly 3 a 4.



Obr. 27: Modely závislosti stravitelné hmoty (DDM) na fenofázi porostu. V grafech jsou vyneseny predikované hodnoty pro jednotlivá fenologická měření a modelové křivky pro managementy ve dvou letech (2011, 2012).

Tabulka 3: ANOVA tabulka pro Brumov

	DF	F test	P
Intercept	1/84	71.759	<0.0001
fenologie	1/84	55.142	<0.0001
(fenologie) ²	1/84	5.3637	0.023
management	2/84	5.0754	0.0083

Tabulka 4: ANOVA tabulka pro Lopeník:

	DF	F test	P
Intercept	1/83	38.311	<0.0001
fenologie	1/83	103.68	<0.0001
(fenologie) ²	1/83	1.0836	0.3009
(fenologie) ³	1/83	6.6261	0.0118
management	2/83	4.6208	0.0125

5. DISKUSE

Vliv managementu na cyklus živin

Naše studie nenašla po 7 letech experimentu signifikantní rozdíl v množství dostupného dusíku (podle poměru $C_{org}:N_{tot}$) v půdě mezi pasenými, sečenými a opuštěnými plochami, přestože průměrný roční odnos N ze sečených ploch v červenci je 44 kg N/ha a z pasených lze odhadnout na 5–10 kg N/ha (Pavlu *et al.* 2006). Deficit dusíku se ale projevil v biomase sečených a pasených ploch, která vykazovala nižší koncentrace N oproti plochám opuštěným. Opuštěné plochy měly rovněž nejvyšší nutriční index NNI_{leg} .

V souladu s literaturou (Köhler *et al.* 2001; Robson *et al.* 2007) dochází u opuštěných ploch první roky během sukcese ke zvyšování mineralizace N, která ale postupně klesá s přeměnou druhového složení směrem ke konzervativní strategii. Ukázalo se to na rozdílu mezi opuštěnými plochami v Brumově, které leží ladem již 20 let (13 let před začátkem experimentu a 7 let po dobu experimentu) a 7 let opuštěnými plochami na Lopeníku. Sedm let opuštěné plochy měly vyšší koncentrace N ($P=0.005$) i vyšší NNI_{leg} ($P<0.0001$) oproti 20 let opuštěným, zatímco koncentrace dusíku ani hodnota nutričního indexu se nelišila mezi lokalitami u pasených ani sečených ploch.

Dusík se ukázal jako hlavní limitující prvek pro sečené plochy při přímé analýze vztahu výnosu a půdního $C_{org}:N_{tot}$. Limitaci dusíkem u sečených ploch potvrdily i poměry N:P, N:K.

Přestože i u pasených ploch dochází k určitému odnosu dusíku (5–10 kg N/ha) a draslíku (0.3–0.5 kg K/ha), pastva měla vliv především na cyklus fosforu, jehož odnos pastvou je relativně vysoký (1.5–2 kg P/ha). Část zkonsumovaného fosforu zabudují zvířata do svých těl, přebytečný fosfor pak vylučují v exkrementech. Extenzivní pastva způsobuje akumulaci fosforu na několika málo místech a celkové ochuzení půdy o fosfor (Jewell *et al.* 2007; Badía *et al.* 2008), což potvrdila i naše studie. Půda na pasených plochách na obou lokalitách měla nižší množství dostupného fosforu oproti opuštěným i sečeným plochám, u pasených ploch byly nejnižší koncentrace fosforu v biomase, také index PNI_{leg} ukázal na nižší dostupnost fosforu pro pasené plochy. Analýza přímého vztahu mezi produktivitou a dostupností půdního P potvrdila limitaci fosforem pro výnos na pasených plochách.

Při sečení došlo na experimentálních plochách každoročně k odnosu asi 50 kg K/ha za rok, což se po 7 letech projevilo v souladu s literaturou (Kayser & Isselstein 2005; Venterink *et al.*

2009) v nejnižším množství dostupného draslíku v půdě sečených ploch na obou lokalitách oproti plochám paseným a opuštěným. Přesto na rozdíl od jiných studií (Øien & Moen 2001) u sečených ploch nedošlo ke snížení koncentrace draslíku v biomase a jejich výnos nebyl limitován množstvím dostupného draslíku v půdě. Limitace draslíkem se u sečených ploch neprojevila ani v indexu KNI_{leg} ani na ni neukazovaly poměry N:K či K:P v biomase. Zřejmě po 7 letech sečení nedošlo ještě k tak výrazným ztrátám v půdě, aby je rostliny nebyly schopny kompenzovat např. získáváním draslíku z hlubších vrstev půdy.

Pastva díky vysoké návratnosti draslíku v moči umožňuje zpřístupnění tohoto prvku rostlinám, zejm. travám, které mají kořeny na povrchu půdy, a může tímto způsobem podporovat trávy na úkor bylin. Množství dostupného draslíku na pasených plochách se nelišilo od množství draslíku na plochách ponechaných ladem, čili pastevní management je schopen kompenzovat ztráty draslíku způsobené odnosem živin. Rozšíření trav na pasených plochách dokládá např. Krahulec *et al.* (2001).

U všech managementů docházelo ke snížení (ředění) koncentrací prvků N, P, K během sezóny, přičemž koncentrace všech tří prvků poklesly průměrně o polovinu. Nejprudší pokles probíhal mezi květnovým a červnovým datem sběru biomasy, pokles mezi červnovým a červencovým datem byl už jen mírný. Charakter ředění N, P, K v závislosti na množství výnosu nejlépe vystihovaly křivky ve tvaru hyperboly, které měly podobný sklon jako optimální křivka ředění N (Gastal & Lemaire 2002). Na pasených plochách docházelo k nejmírnějšímu ředění P a K, a i při vysokém množství suché biomasy (5–7 t/ha) zůstávaly koncentrace P a K oproti ostatním managementům poměrně vysoké (viz obr. 5 a obr. 6).

Poměr N:P se napříč managementy neměnil během sezóny, pouze na sečených plochách na konci sezóny vzrostl. Oproti tomu N:K systematicky klesal pro všechny managementy a K:P v sezóně pro všechny tři managementy rostl, z čehož plyne, že draslík se oproti dusíku a fosforu ředí mírněji, naopak dusík a fosfor zachovávají poměrně konstantní poměr, díky úzké vzájemné korelaci. Na signifikantní korelaci mezi N a P a jejich stabilní poměr během sezóny upozornil již Garten (1976).

Vápník se na rozdíl od N, P, K v biomase v závislosti na výnosu neředí a jeho koncentrace je mnohem více ovlivněna druhovým složením a také kvalitou (zejm. listnatostí) porostu. Rostliny nejsou schopny vápník ve svém těle transportovat, a tak zůstává i ve starších listech (Vaněk 2007). Pro nově přirůstající listy musí rostlina získat z půdy nový vápník. Koncentrace Ca je potom vyšší u porostů s vysokým poměrem listů ke stonkům (*leaf:stem*

ratio), neboť stonky obsahují jen minimální množství vápníku a jejich buněčné stěny jsou tvořeny převážně ligninem. Nevětší koncentrace vápníku měly proto sečené plochy, které jsou nejvíce bohaté na dvouděložné byliny s vysokým poměrem listů ke stonkům. Na sečených plochách také došlo k nejprudšímu nárůstu koncentrace vápníku během sezóny oproti plochám paseným a opuštěným.

Na souvislost množství listů dvouděložných bylin a kvality porostu upozornila již studie Duru (1997), která poukazuje na to, že stravitelnost listů bylin se během sezóny nemění, zatímco stravitelnost stonků a listů trav prudce klesá. Vzhledem k tomu, že listy dvouděložných bylin obsahují mnohonásobně více vápníku než stonky bylin či obecně trávy, je Ca jeden z možných indikátorů listnatosti porostu, a tedy i jeho stravitelnosti. Vzhledem ke stárnutí porostu během sezóny je ovšem nutné vždy používat tento indikátor pouze v rámci stejné fenofáze (data sběru) a ne napříč sezónou.

Koncentrace hořčíku v rostlinách je úzce korelovaná s koncentrací vápníku (Garten 1976), což potvrdily i naše data (viz příloha 9.2.). Poměr Ca:Mg v biomase nehnojených travních porostů ovšem není tak jednoznačný jako N:P a mezi lokalitami se značně odlišoval (v Brumově 7,6:1; na Lopeníku 5:1). Datum nemělo signifikantní vliv na koncentraci Mg, pouze na pasených plochách jsme zaznamenali mírný nárůst koncentrace Mg. Nejvyšší koncentrace Mg měla biomasa sečených ploch, vzhledem k nejvyššímu zastoupení dvouděložných bylin, které mají oproti travám vyšší koncentrace Mg (Whitehead 2008). Hořčík je součástí cytoplasmy a jeho vyšší koncentrace může být spojena s vyšším poměrem cytoplasmy vůči buněčným stěnám, čili se šťavnatostí rostlin. Tento předpoklad jsme potvrdili doložením negativního lineárního vztahu mezi koncentrací Mg jednotlivých druhů jednoděložných rostlin (*Monocots*) a příslušného obsahu sušiny v listech (LDMC) pro každý druh (viz příloha 9.2.). Negativní korelační vztah koncentrace Mg a LDMC se ukázal jako signifikantní i pro vážené průměry (*Community weighted means*) Mg a LDMC v rámci celého společenstva jednoděložných rostlin. Vyšší koncentrace hořčíku ve smíšeném společenstvu ukazuje na větší zastoupení bylin, v rámci jednoděložných navíc indikuje i šťavnatost porostu.

Na plochách ponechaných ladem byly poměry N:P:K nejbližší optimu (podle Pegtel *et al.* 1996; Schaffers & Sýkora 2002) a analýzy závislosti výnosu na opuštěných plochách neukázaly souvislost s dostupností N, P, K v půdě (půdní N byl odhadnut pomocí $C_{org}:N_{tot}$). Ukázala se ale mírná závislost ($P=0.089$) výnosu opuštěných ploch (ve smíšeném modelu společném pro obě lokality) na množství dostupného Mg v půdě. Na opuštěných plochách je

velký výnos svázán s přítomností vysokých bylin, v Brumově je to svízel bílý (*Galium album*), řepík lékařský (*Agrimonia eupatoria*) a řebříček obecný (*Achillea millefolium*). Na Lopeníku pak třezalka skvrnitá (*Hypericum maculatum*), chrpa parukářka (*Centaurea phrygia*) a chrpa luční (*Centaurea jacea*). Dvouděložné byliny mají vyšší koncentrace Mg a jejich potenciální růst na opuštěných plochách může být limitovaný dostupností hořčíku v půdě. V Brumově přítomnost vysokých bylin silně korelovala s dostupností hořčíku v půdě ($P=0.019$).

Na Lopeníku na plochách s vyšším obsahem hořčíku rostla pouze chrpa parukářka (*Centaurea phrygia*), jejíž výskyt slabě koreloval ($P=0.09$) s množstvím Mg v půdě. Hlavní dominanta třezalka skvrnitá (*Hypericum maculatum*) naopak zaujímala plochy s nižším obsahem Mg v půdě a její proporční zastoupení na opuštěných plochách mělo signifikantně negativní vztah k množství dostupného Mg ($P=0.04$). Tento jev může být způsobený vysokým odběrem Mg z půdy a jeho dočasným vyčerpáním.

Funkční a druhové změny porostu

Sečení, stejně jako pastva, podpořilo menší rostliny s lehčími semeny, rostliny s přizemní růžicí a dřívější fenofází, což odpovídá výsledkům mnoha jiných studií (Huhta *et al.* 2001; Hejcman *et al.* 2005; Vassilev *et al.* 2011). Hlavní rozdíl v sečení oproti pastvě byl nárůst dvouděložných bylin, což se projevilo na vyšší koncentraci vápníku a hořčíku v biomase, která je u bylin vyšší než u trav (Whitehead 2008). Sečené plochy se oproti paseným lišily podporou svízele syřišťového (*Galium verum*), třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*) a máchelky srstnaté (*Leontodon hispidus*), z trav potom měly na sečených plochách oproti paseným větší zastoupení ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius*), medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*) a tomka vonná (*Anthoxanthum odoratum*).

Pasené plochy měly více R strategií a více rostlin s přezimujícími listy než sečené plochy. Oproti sečení pastva nejvíce podpořila pryšec chvojku (*Euphorbia cyparissias*), mrkev obecnou (*Daucus carota*), z trav potom zejména kostřavu luční (*Festuca pratensis*) a srhu laločnatou (*Dactylis glomerata*). Na rozdíl od jiných studií (McIntyre *et al.* 1995; Tallowin *et al.* 2005) se nepotvrdilo obecně rozšíření leguminóz na pasených plochách. Pastva sice podpořila jetel plazivý (*Trifolium repens*), avšak na pasených i sečených plochách se rozšířil jetel luční (*Trifolium pratense*); jetel prostřený (*Trifolium medium*) měl největší zastoupení na

plochách ponechaných ladem. Celkově se procentuální zastoupení leguminóz v biomase mezi managementy nelišilo.

Posun ke konzervativní růstové strategii se projevil pouze na opuštěných plochách, které zaznamenaly nevyšší hodnoty obsahu sušiny v listech (LDMC) u jednoděložných rostlin (*Monocots*) a u skupiny Asteridů. Na opuštěných plochách bylo také nejmenší procento rostlin s R strategií, nejpomalejší fenologický vývoj a klesla zde druhová bohatost, což koresponduje s dosavadními poznatky (Köhler *et al.* 2005; Garnier & Navas 2011b). V Brumově došlo k rozšíření původní dominanty válečky prapořité (*Brachypodium pinnatum*), na Lopeníku k podpoře nové dominanty třezalky skvrnité (*Hypericum maculatum*), které se na opuštěných pastvinách může poměrně rychle rozšířit (Hejcman *et al.* 2005).

Oproti předpokladům se po 7 letech pasení neukázal jednoznačný posun ke konzervativnější strategii vzhledem k sečeným plochám. Pastva stejně jako sečení podpořila rostliny s přízemní růžicí, menší druhy a dříve kvetoucí druhy a trávy s nižším LDMC. Na obou lokalitách pastva podpořila druhovou bohatost. Může to souviset jak s heterogenním vlivem extenzivní pastvy, tak s odčerpáváním fosforu z půdy, jehož nízká dostupnost je rovněž spojována s druhovou diverzitou (Klaus *et al.* 2011).

Větší druhovou bohatost i Simpsonovu α -diverzitu měly pasené plochy na lokalitě Brumov, kde pastva byla zavedena na dříve opuštěných plochách. Oproti tomu na Lopeníku, kde se páslo již 25 let před začátkem experimentu, nebyl rozdíl v diverzitě mezi pasenými a sečenými plochami výrazný. Způsobilo to pravděpodobně zavedení sečení jako nového managementu na dříve pasené plochy a podpora nových druhů během sukcese (Socher *et al.* 2012).

LDMC – fylogenetická odlišnost

Na základě předchozího výzkumu (viz příloha 9.4.) jsme hledali příčinu, proč obsah sušiny v listech (LDMC) vážený proporcí druhů je silně ovlivněn managementem, aniž by ukazoval na produkci biomasy a vysoké koncentrace N, P, K, jak uvádí některé studie (Garnier *et al.* 2004; Gaucherand & Lavorel 2007). Vzhledem k tomu, že managementy značně ovlivnily druhové složení, hledali jsme příčinu odlišného LDMC mezi managementy na úrovni fylogenetických skupin a našli signifikantní rozdíly mezi větvemi Asteridů, Rosidů a Monocotů, kde vážené LDMC pro Asteridy bylo až o 100 mg/g nižší než vážené LDMC pro

Monocoty. Proporce Asteridů se pak stává přímou lineární funkcí velikosti LDMC (Obr. 12), tzn. čím větší procento Asteridů je na ploše, tím nižší je LDMC (vážené proporcí druhů) na ploše.

Na rozdíly v LDMC mezi funkčními skupinami rostlin upozornily již studie (Ansquer *et al.* 2009a; Duru *et al.* 2010a; Garnier & Navas 2011a), které našly rozdíl zejména mezi trávami a bylinami s přízemní růžicí a nedoporučovaly počítat vážené LDMC napříč společenstvem, ale pouze pro trávy, což má smysl pouze ve vzorcích s vysokým zastoupením trav, příp. jednoděložných rostlin.

Biomasa a stravitelnost

I přesto, že z našich výsledků plyne výrazný vliv managementu na dostupnost živin v půdě, na limitaci živinami a na funkční a druhovou diverzitu porostu, po 7 letech se neprojevalo signifikantní snížení produkce biomasy na pasených a sečených plochách vzhledem k plochám opuštěným, kde nedochází k žádnému odnosu živin. Na lokalitě Lopeník dokonce nejvyšší produkci biomasy zaznamenaly pasené plochy. Schopnost druhově bohatého porostu vyrovnat se s ochuzováním živinami managementovými zásahy, řeší detailně Mládková *et al.* (2015), viz příloha 9.1.

Při porovnání stravitelnosti se v Brumově projevilo mnoholeté ponechání ladem před začátkem experimentu. Opuštěné plochy v Brumově (20 let) oproti Lopeníku (7 let) měly velmi nízkou stravitelnost již od začátku sezóny, což přičítáme rozvoji konzervativních trav (válečka prapořitá – *Brachypodium pinnatum*, srha laločnatá – *Dactylis glomerata*) a nízké sukcesí. Na obou lokalitách se jako lépe stravitelná ukázala biomasa sečených ploch oproti paseným, neboť sečení preferuje byliny, které mají obecně lepší stravitelnost oproti travám (Minson 1990; Lyons *et al.* 1999).

Napříč všemi managementy dochází k prudkému poklesu stravitelnosti během sezóny, a to zejména v období od května do června. Průměrně stravitelnost klesla o 5–10 %, na Lopeníku pak stravitelnost během sezóny klesla až o 15 %. Pokles stravitelnosti je spojen s nárůstem biomasy, čili i fenologickou zralostí a průměrnou výškou porostu. Tyto faktory zároveň (negativně) korelují s koncentrací prvků N, P, K v biomase, které se během sezóny řadí (Pritchard *et al.* 1964; Duru & Ducrocq 1997). Na polopřirozených nehnojených porostech pak vyšší koncentrace N, P, K souvisí s lepší stravitelností, ale zejména z toho důvodu, že ukazují na mladší pletiva, resp. biomasu odebranou na začátku sezóny (obr. 24).

Při odfiltrování efektu sezóny, se jako mnohem významnější prediktory stravitelnosti ukázaly vápník s hořčíkem, potažmo jejich součet Ca+Mg (podrobnosti viz příloha 9.2.). Vyšší koncentrace Ca a Mg je spojena s vyšším zastoupením dvouděložných bylin, které nejlépe podporuje management sečení. I při stanovení proporce jednoděložných jako kovariáty, byl vápník a hořčík (i jejich součet) korelován s enzymatickou i bachorovou stravitelností (obr. 26). Vápník je spojen zejména s listnatostí bylin, neboť listy dvouděložných si drží vysoké koncentrace Ca během celé sezóny (Minson 1990), hořčík je součástí cytoplasmy a jeho vyšší proporce v biomase může znamenat lepší šťavnatost rostlin.

Další potenciální prediktory stravitelnosti jako dusík, LDMC nebo SLA se ukázaly jako slabšími oproti součtu Ca+Mg. Draslík signifikantně vysvětloval pouze enzymatickou stravitelnost. Dosavadní vědecké práce zatím neřešili souvislost dvojmocných kationtů se stravitelností, ale predikční schopnosti Ca a Mg pro rozložitelnost biologického odpadu uvádí několik studií (Cornelissen & Thompson 1997; Reich *et al.* 2005; Makkonen *et al.* 2012).

Stravitelnost měřená pomocí enzymatické metody ukazovala průměrně o 10 % vyšší hodnoty než stravitelnost měřená bachorovou šťávou. Plošky s vyšším zastoupením dominantních trav, jako je válečka prapořitá (*Brachypodium pinnatum*), srha laločnatá (*Dactylis glomerata*), sveřep vzpřímený (*Bromus erectus*), trojštět žlutavý (*Trisetum flavescens*) a medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*) vyhodnotila bachorová stravitelnost jako horší než plošky s malým až nulovým zastoupením těchto trav. Součet proporcí výše zmíněných trav vysvětlil 16.5 % variability bachorové stravitelnosti (RLM), ale pouze 2 % variability stravitelnosti měřené pomocí enzymatické metody (EM). Souvislost stravitelnosti měřené enzymatickou metodou s koncentrací draslíku, můžeme vysvětlit větší tolerancí této metody k jedovatým bylinám relativně bohatých na draslík (*Ranunculaceae*, *Polygonaceae*, *Colchicaceae*), které je ovšem bachorová stravitelnost schopna vyhodnotit jako toxické a špatně stravitelné.

Maximum stravitelné hmoty

Při hledání maxima stravitelné hmoty během sezóny se ukázalo, že vliv managementu je mnohem méně významný oproti jiným faktorům. V Brumově, kde jsou plochy ponechané ladem již 20 let, nedošlo k závažné degradaci porostu. Nižší stravitelnost byla kompenzována vyšším nárůstem biomasy a celkové množství stravitelné hmoty bylo na plochách ponechaných ladem dokonce vyšší než na plochách sečených a pasených. Vzhledem k tomu, že červencové odběry biomasy v Brumově probíhaly ještě v době před zráním porostu, model

pro Brumov nebyl schopen zachytit prudký pokles stravitelnosti při pozdějším datu sklizně. Nicméně křivka již postihla maximum stravitelné hmoty při fenofázi 3.4, čili v době kvetení a částečném odkvětu porostu.

Studie zabývající se pastevní preferencí býložravců ukazují, že zvířata se řídí maximalizací zisku stravitelné hmoty (Garcia *et al.* 2003; Hebblewhite *et al.* 2008). Obdobné výběrové chování ukázala i naše předchozí studie (Mládek *et al.* 2013, viz příloha 9.3.), kdy se na sušších lokalitách ovce řídily výškou porostu, čili objem hmoty upřednostňovaly před její kvalitou. Tato observační studie selektivity ovcí probíhala mimo jiné i na lokalitě Brumov, na 15 let opuštěných plochách. Ovce preferovaly vysoké trávy, které mají brzký fenologický vývoj, ale nízkou krmnou hodnotu a nízkou specifickou listovou plochu (více Mládek *et al.* 2013, viz příloha 9.3.). Z toho vyplývá, že v brzké fenofázi jsou ovce schopny spást i méně kvalitní porost, který byl dříve mnoho let ponechán ladem a upřednostňují tak kvantitu na úkor kvality.

Na lokalitě Lopeník měly největší množství stravitelné hmoty pasené plochy. Modelové křivky dosáhly pro všechny managementy maxima při fenofázi 3.7, čili v době, kdy většina porostu odkvétá. Pro lokalitu Lopeník náš model již pěkně zachytil prudký pokles celkového množství stravitelné hmoty při vstupu do fenofáze 4, čili při tvorbě nezralých plodů. Z modelů je vidět, že správné načasování data sklizně podle fenofáze porostu má na kvalitu sena zásadní vliv. Rovněž je patrný vliv roku, neboť na obou lokalitách pokleslo celkové množství stravitelné hmoty v roce 2012, v Brumově o 35 g/m², na Lopeníku o 52 g/m². Tento meziroční pokles v množství stravitelné hmoty byl výraznější než samotné rozdíly mezi jednotlivými managementy a je způsoben pravděpodobně srážkovými vlivy.

Rok 2011 byl podle údajů ČHMÚ ve Zlínském kraji (stanice Holešov, <http://portal.chmi.cz/historicka-data>) od března do června mírně nad teplotními průměry a současně v tomtéž období vysoce nad průměrným množstvím srážek vzhledem k posledním 50 letům měření. Oproti tomu rok 2012 byl během jarních měsíců (únor až květen) více teplotně nadprůměrný, ale zejména silně srážkově podprůměrný. Velmi suché jaro v roce 2012 způsobilo průměrné snížení výnosu na obou lokalitách o 100 g/m² (tj. 1 t/ha).

Rok ovlivnil i stravitelnost, ale na každé lokalitě jiným směrem. V Brumově byla v roce 2012 průměrná sezónní stravitelnost (resp. oba typy) o jednotky procent vyšší než v roce 2011 a na Lopeníku naopak. Tento jev zřejmě způsobilo odlišné množství srážek v letech 2011 a 2012 nepřímo, a to podporou jiných rostlinných druhů. V Brumově velmi suché jaro v roce 2012

snížilo proporci méně chutných druhů jako je válečka prapořitá (*Brachypodium pinnatum*), svízel syřišťový (*Galium verum*), pryšec chvojka (*Euphorbia cyparissias*) a medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*) oproti roku 2011. Na Lopeníku naopak rozvoj některých méně chutných travních druhů (*Agrostis capillaris* – psineček obecný) v roce 2012 mohl přispět k mírnému snížení stravitelnosti.

6. VYHODNOCENÍ TESTOVANÝCH HYPOTÉZ

Podářilo se nám splnit všechny čtyři hlavní cíle práce a vyhodnotit vliv managementů pastvy, sečení a ponechání ladem na cyklus prvků N, P, K, Ca a Mg v půdě a biomase. V naší studii jsme posoudili vliv managementů na změny druhového složení a druhové diverzity porostu, na množství sklizené biomasy i stravitelnost.

- 1) Sečení ochuzuje půdu o draslík, pastva ochuzuje půdu o fosfor, na opuštěných porostech dochází k akumulaci dusíku v biomase.
- 2) Sečené i pasené plochy podporují rychle rostoucí druhy rostlin, opuštěné plochy konzervativnější druhy rostlin. Obsah sušiny v listech (LDMC) jako měřítko rychlosti růstu lze používat pouze zvlášt' pro skupinu monocotů, asteridů a rosidů, jinak LDMC vážené proporcí všech druhů ukazuje pouze na fylogenetické odlišnosti porostu. Ukázalo se, že monocoti a asteridi na opuštěných plochách mají větší LDMC než monocoti a asteridi na pasených a sečených plochách.
- 3) Pastva zvyšuje druhovou rozmanitost více než sečení, na opuštěných plochách druhová diverzita klesá.
- 4) Na pasených a sečených plochách nedošlo ke snížení výnosu oproti plochám opuštěným.
- 5) Stravitelnost sečených ploch je lepší než stravitelnost pasených ploch, stravitelnost opuštěných ploch je spíše svázaná s lokalitou a historií obhospodařování.

Naše studie nevyvrátila hypotézu 1) a 3), na druhou stranu vyvrátila hypotézu 2), 4) a 5). Přehled hypotéz uvádí kap. 2.2.

7. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

Z výsledků naší práce vyplynulo, že každý z managementů přináší z pohledu hospodáře i ochránáře svá pozitiva i negativa. Již ve středověku naši předkové zavedli dvojpolní (později trojpolní) systém hospodaření, aby nevyčerpali půdu, a nechávali část pozemku ležet ladem nebo sem vypustili dobytek na přepasení. Zřejmě intuitivně chápali, že stejný pěstební systém, který se opakuje po léta na jednom místě, postupně degraduje půdu a snižuje výnos, zatímco střídání managementů udržuje cyklus živin a zemědělský ekosystém v rovnováze. Obdobný princip zřejmě platí i pro management travních porostů.

Náš experiment probíhal na druhově bohatých loukách v Bílých Karpatech, které díky této bohatosti prokazují obrovskou pružnost v reakci na změny v managementu a schopnost vyrovnávat se relativně dlouhou dobu s odčerpáním některé ze základních živin, jakým jsou dusík, fosfor a draslík.

Pastva se ukázala jako nejvhodnější management pro podporu biodiverzity. Po zavedení pastvy na dlouhodobě opuštěnou lokalitu přibylo během sedmi let 35 nových druhů (Brumov) a také dlouholetá pastva na Lopeníku (32 let) si držela nejvyšší druhovou bohatost oproti ostatním managementům. Pastva může přispět k urychlení cyklu draslíku a jeho zpřístupnění z hlubších vrstev půdy díky „recyklaci“ prostřednictvím moči dobytka. Pastva ale na druhou stranu poměrně rychle odčerpává z půdy fosfor. Na sušších a fosforem chudších stanovištích pak může dojít ke snížení produkce biomasy a rozšíření méně chutných druhů bylin i trav.

Sečení podporuje nárůst dvouděložných bylin a na dříve opuštěných plochách také druhovou diverzitu. Při zavedení sečení na dlouhodobě opuštěné plochy v Brumově vzrostla po sedmi letech druhová bohatost o 27 nových druhů. Biomasa na sečených plochách byla nejlépe stravitelná. Na sečených plochách ale dochází k odčerpávání draslíku, s čímž se ovšem druhově bohaté společenstvo je schopno po určitou dobu vyrovnávat pomocí posunu dominance fylogenetických skupin. Jako větší problém se ukázala limitace sečených ploch dusíkem, která může postupně vést ke snížení produkce.

Na opuštěných plochách dochází ke snížení druhové rozmanitosti: sedm let opuštěná bývalá pastvina měla o 7 druhů méně než stávající pasené plochy na Lopeníku. Jak ale ukázala situace z Brumova, po opětovném zavedení pastvy se druhová bohatost velice rychle obnovila. Ponechání ladem také vede k urychlení mineralizace dusíku, jak díky rychlé

sukcesi, tak díky lepšímu zachycení atmosférického spadu N ve stařině. Biomasa opuštěných ploch měla také nejvyšší koncentrace fosforu.

Z výše uvedeného plyne, že střídání pastvy a sečení je schopno udržet vysokou druhovou bohatost a vzájemně kompenzovat odčerpávání fosforu a draslíku, které se v půdě projevilo již po 7 letech od zavedení managementu. Aby nedocházelo ke snížení produktivity, které se na sečených plochách ukázalo v nejnižším množství stravitelné hmoty, doporučujeme střídat managementy (pastvu, sečení) v intervalech kratších než 7 let, v závislosti na charakteru lokality a možnostech zemědělce. Pro zvýšení mineralizace dusíku a zabránění snižování produktivity v důsledku limitace dusíkem, zejm. na sečených plochách, může být vhodné po několikaletém sečení nechat porost jednu sezónu ležet ladem. Pro efektivní využití sklizené biomasy je potom nutné načasovat dobu sklizně na období těsně po odkvětu většiny porostu, jinak dochází k prudkému poklesu celkového množství stravitelné hmoty.

Pro další výzkum doporučujeme dlouhodobý experiment, kde se bude po 2–3 letech střídat pastva a sečení, s tím, že na závěr cyklu (po 4–6 letech) bude porost ležet ladem. Experiment by tak mohl ověřit hypotézu o udržitelném cyklu živin N-P-K při střídání managementů na několika druhově a klimaticky odlišných stanovištích.

Dále se nabízí mnoho otázek spojených s vlivem koncentrace vápníku a hořčíku na stravitelnost biomasy trvalých travních porostů. Následující výzkum může ověřit spojení koncentrace vápníku s listnatostí bylin (*leaf:stem ratio*) a koncentraci hořčíku s lépe stravitelnými trávami. Pro lepší pochopení rolí Ca a Mg bude potřeba analyzovat stravitelnost zvláště pro skupinu trav (příp. jednoděložných rostlin) a bylin (příp. dvouděložných rostlin).

Naše studie upozornila na silnou korelační vazbu koncentrací Ca a Mg v biomase, ovšem odlišný poměr (Ca:Mg) pro obě lokality. Vzájemný vztah těchto prvků a jejich případné nahrazení jeden druhým, dále vliv Ca a Mg na druhové složení a funkce travního porostu bude užitečné dále zkoumat na větším množství lokalit a tedy i větším gradientu půdního Ca a Mg.

8. POUŽITÁ LITERATURA

1. Abdel-Magid, A.H., Schuman, G.E. & Hart, R.H. (1987). Soil bulk density and water infiltration as affected by grazing systems. *J. Range Manag.*, 40, 307–309
2. Adler, P.B., Seabloom, E.W., Borer, E.T., Hillebrand, H., Hautier, Y., Hector, A., *et al.* (2011). Productivity Is a Poor Predictor of Plant Species Richness. *Science*, 333, 1750–1753
3. Akima, H. (2015). Package “akima”. Interpolation of irregularly spaced data.
4. Alfaro, M.A., Jarvis, S.C. & Gregory, P.J. (2004). Factors affecting potassium leaching in different soils. *Soil Use Manag.*, 20, 182–189
5. Ansquer, P., Duru, M., Theau, J.P. & Cruz, P. (2009a). Convergence in plant traits between species within grassland communities simplifies their monitoring. *Ecol. Indic.*, 9, 1020–1029
6. Ansquer, P., Duru, M., Theau, J.P. & Cruz, P. (2009b). Functional traits as indicators of fodder provision over a short time scale in species-rich grasslands. *Ann. Bot.*, 103, 117–26
7. Ansquer, P., Al Haj Khaled, R., Cruz, P., Theau, J.P., Therond, O. & Duru, M. (2009c). Characterizing and predicting plant phenology in species-rich grasslands. *Grass Forage Sci.*, 64, 57–70
8. AOAC. (1984). *Official method of analysis*. 14 th edn. Washington, DC, USA
9. Aufrère, J., Baumont, R., Delaby, L., Peccatte, J.R., Andrieu, J.P. & Dulphy, J.P. (2007). Prédiction de la digestibilité des fourrages par la méthode pepsine-cellulase. Le point sur les équations proposées. *Prod. Anim.*, 20, 129–136
10. Augustine, D.J., McNaughton, S.J. & Frank, D.A. (2003). Feedbacks between soil nutrients and large herbivores in a managed savanna ecosystem. *Ecol. Appl.*, 13, 1325–1337
11. Badía, D., Martí, C., Sánchez, J.R., Fillat, F., Aguirre, J. & Gómez, D. (2008). Influence of livestock soil eutrophication on floral composition in the Pyrenees mountains. *J. Mt. Sci.*, 5, 63–72
12. Bakker, J.P. (1989). *Nature management by grazing and cutting: on the ecological significance of grazing and cutting regimes applied to restore species-rich grassland*. Kluwer Academic Publisher
13. Black, C.L. (1965). *Method of soil analysis. Part I and II*. Am. Soc. Agron. Inc Publisher, Madison, WI, USA
14. Bornkamm, R. (2006). Fifty years vegetation development of a xerothermic calcareous grassland in Central Europe after heavy disturbance. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants*, 201, 249–267
15. Ter Braak, C.J.F. & Smilauer, P. (2002). *CANOCO for Windows Version 4.5*. Center for

16. Brink, G.E., Sistani, K.R., Oldham, J.L. & Pederson, G.A. (2006). Maturity effects on mineral concentration and uptake in annual ryegrass. *J. Plant Nutr.*, 29, 1143–1155
17. Bumb, I., Garnier, E., Bastianelli, D., Richarte, J., Bonnal, L. & Kazakou, E. (2016). Influence of management regime and harvest date on the forage quality of rangelands plants: the importance of dry matter content. *AoB Plants*, 8, 1–15
18. Cooke, G. & Williams, R. (1970). Losses of nitrogen and phosphorus from agricultural land. *Water Treat. Exam.*, 19, 253–276
19. Cornelissen, J.H.C. & Thompson, K. (1997). Functional leaf attributes predict litter decomposition rate in herbaceous plants. *New Phytol.*, 135, 109–114
20. Correll, O., Isselstein, J. & Pavlů, V. (2003). Studying spatial and temporal dynamics of sward structure at low stocking densities: the use of an extended rising-plate-meter method. *Grass Forage Sci.*, 58, 450–454
21. Crawley, M.J., Johnston, A.E., Silvertown, J., Dodd, M., Mazancourt, C. de, Heard, M.S., *et al.* (2005). Determinants of Species Richness in the Park Grass Experiment. *Am. Nat.*, 165, 179–192
22. Cruz, P., Jouany, C., Theau, J.P., Petibon, P., Lecloux, E. & Duru, M. (2006). L' utilisation de l' indice de nutrition azotée en prairies naturelles avec présence de légumineuses. *Fourrages*, 187, 369–376
23. Čop, J., Vidrih, M. & Hacin, J. (2009). Influence of cutting regime and fertilizer application on the botanical composition, yield and nutritive value of herbage of wet grasslands in Central Europe. *Grass Forage Sci.*, 64, 454–465
24. Díaz, S., Lavorel, S., McIntyre, S., Falczuk, V., Casanoves, F., Milchunas, D.G., *et al.* (2007). Plant trait responses to grazing - a global synthesis. *Glob. Chang. Biol.*, 13, 313–341
25. Doré, T., Makowski, D., Malézieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchian, M. & Tittone, P. (2011). Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: Revisiting methods, concepts and knowledge. *Eur. J. Agron.*, 34, 197–210
26. Duru, M. (1997). Leaf and stem in vitro digestibility for grasses and dicotyledons of meadow plant communities in spring. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 175–185
27. Duru, M., Ansquer, P., Jouany, C., Theau, J.P. & Cruz, P. (2010a). Comparison of methods for assessing the impact of different disturbances and nutrient conditions upon functional characteristics of grassland communities. *Ann. Bot.*, 106, 823–31
28. Duru, M., Cruz, P., Al Haj Khaled, R., Ducourtieux, C. & Theau, J.P. (2008). Relevance of plant functional types based on leaf dry matter content for assessing digestibility of native grass species and species-rich grassland communities in spring. *Agron. J.*, 100, 1622–1630
29. Duru, M., Cruz, P. & Theau, J.P. (2010b). A simplified method for characterising

agronomic services provided by species-rich grasslands. *Crop Pasture Sci.*

30. Duru, M. & Ducrocq, H. (1997). A nitrogen and phosphorus herbage nutrient index as a tool for assessing the effect of N and P supply on the dry matter yield of permanent pastures. *Nutr. Cycl. Agroecosystems*, 47, 59–69
31. Duru, M., Tallowin, J.R.B. & Cruz, P. (2005). Functional diversity in low-input grassland farming systems: characterisation, effect and management. *Agron. Res.*, 3, 125–138
32. Duru, M. & Thélier-Huché, L. (1997). N and P-K status of herbage: use for diagnosis of grasslands. In: *Les Colloques INRA*. Poitiers, France, pp. 125–138
33. Edwards, L.J., Muller, K.E., Wolfinger, R.D., Qaqish, B.F. & Schabenberger, O. (2008). An R² statistic for fixed effects in the linear mixed model. *Stat. Med.*, 27, 6137–57
34. Ewing, H.A., Groffman, P.M. & Frank, D.A. (2010). Grazers and soil moisture determine the fate of added 15NH₄⁺ in Yellowstone grasslands. *Plant Soil*, 328, 337–351
35. Farruggia, A., Thélier-Huché, L., Violleau, S., Lebrun, J.M. & Besnard, A. (2000). L¹⁵N analyse d¹⁵N herbe pour piloter la fertilisation phosphatée et potassique des prairies . Exemples d' application de la méthode. *Fourrages*, 164, 447–459
36. Frank, D.A. (2008). Ungulate and topographic control of nitrogen: phosphorus stoichiometry in a temperate grassland; soils, plants and mineralization rates. *Oikos*, 117, 591–601
37. Fujita, Y., Rüter, P. de, Wassen, M.J. & Heil, G. (2010). Time-dependent, species-specific effects of N: P stoichiometry on grassland plant growth. *Plant Soil*, 334, 99–112
38. Garcia, F., Carrère, P., Soussana, J.-F. & Baumont, R. (2003). The ability of sheep at different stocking rates to maintain the quality and quantity of their diet during the grazing season. *J. Agric. Sci.*, 140, 113–124
39. Gardarin, A., Garnier, E., Carrère, P., Cruz, P., Andueza, D., Bonis, A., *et al.* (2014). Plant trait-digestibility relationships across management and climate gradients in permanent grasslands. *J. Appl. Ecol.*, 51, 1207–1217
40. Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., *et al.* (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85, 2630–2637
41. Garnier, E., Lavorel, S., Ansquer, P., Castro, H., Cruz, P., Dolezal, J., *et al.* (2007). Assessing the effects of land-use change on plant traits, communities and ecosystem functioning in grasslands: a standardized methodology and lessons from an application to 11 European sites. *Ann. Bot.*, 99, 967–85
42. Garnier, E. & Navas, M.-L. (2011a). *A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review.* *Agron. Sustain. Dev.*

43. Garnier, E. & Navas, M.-L. (2011b). Assessing the functional role of plant diversity in grasslands: a trait-based approach. In: *Grassland productivity and ecosystem services* (eds. Lemaire, G., Hodgson, J. & Chabbi, A.). pp. 138–147
44. Garten, C.T.J. (1976). Correlations between concentrations of elements in plants. *Nature*, 261, 686–688
45. Gastal, F. & Lemaire, G. (2002). N uptake and distribution in crops : an agronomical and ecophysiological perspective. *J. Exp. Bot.*, 53, 789–799
46. Gaucherand, S. & Lavorel, S. (2007). New method for rapid assessment of the functional composition of herbaceous plant communities. *Austral Ecol.*, 32, 927–936
47. Greenwood, D.J., Gastal, F., Lemaire, G., Draycott, A., Millard, P. & Neeteson, J.J. (1991). Growth Rate and % N of Field Grown Crops: Theory and Experiments. *Ann. Bot.*, 67, 181–190
48. Grime, J.P. (2002). *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. 2nd edn. John Wiley & Sons, Chichester UK
49. Güsewell, S. (2004). N : P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytol.*, 164, 243–266
50. Al Haj Khaled, R., Duru, M., Decruyenaere, V., Jouany, C. & Cruz, P. (2006). Using leaf traits to rank native grasses according to their nutritive value. *Rangel. Ecol. Manag.*, 59, 648–654
51. Al Haj Khaled, R., Duru, M., Theau, J.P., Plantureux, S. & Cruz, P. (2005). Variation in leaf traits through seasons and N-availability levels and its consequences for ranking grassland species. *J. Veg. Sci.*, 16, 391
52. Hamilton, E.W. & Frank, D.A. (2001). Can plants stimulate soil microbes and their own nutrient supply? Evidence from a grazing tolerant grass. *Ecology*, 82, 2397–2402
53. Hautier, Y., Niklaus, P.A. & Hector, A. (2009). Competition for light causes plant biodiversity loss after eutrophication. *Science*, 324, 636–638
54. Haynes, R.J. & Williams, P.H. (1993). Nutrient Cycling and Soil Fertility in the Grazed Pasture Ecosystem. *Adv. Agron.*, 49, 119–199
55. Hebblewhite, M., Merrill, E. & McDermid, G. (2008). A multi-scale test of the forage maturation hypothesis in a partially migratory ungulate population. *Ecol. Monogr.*, 78, 141–166
56. Hejcman, M., Auf, D. & Gaisler, J. (2005). Year-round cattle grazing as an alternative management of hay meadows in the Giant Mts (Krkonoše, Karkonosze), the Czech Republic). *Ekologia(Bratislava)/Ecology(Bratislava)*, 419–429
57. Hejcman, M., Szaková, J., Schellberg, J. & Tlustoš, P. (2010). The Rengen Grassland Experiment: relationship between soil and biomass chemical properties, amount of elements

applied, and their uptake. *Plant Soil*, 333, 163–179

58.Hobbie, S.E. (1992). Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends Ecol. Evol.*, 7, 336–339

59.Hobbs, N.T. (1996). Modification of ecosystems by ungulates. *J. Wildl. Manage.*, 60, 695–713

60.Huhta, A.-P., Rautio, P., Tuomi, J. & Laine, K. (2001). Restorative mowing on an abandoned semi-natural meadow: short-term and predicted long-term effects. *J. Veg. Sci.*, 12, 677–686

61.Chaneton, E.J., Lemcoff, J.H. & Lavado, R.S. (1996). Nitrogen and phosphorus cycling in grazed and ungrazed plots in a temperate subhumid grassland in Argentina. *J. Appl. Ecol.*, 33, 291–302

62.Jaccard, P. (1912). The distribution of the flora in the alpine zone. *New Phytol.*, 11, 37–50

63.Jacquemyn, H., Brys, R. & Hermy, M. (2003). Short-term effects of different management regimes on the response of calcareous grassland vegetation to increased nitrogen. *Biol. Conserv.*

64.Jacquemyn, H., Mechelen, C. Van, Brys, R. & Honnay, O. (2011). Management effects on the vegetation and soil seed bank of calcareous grasslands: An 11-year experiment. *Biol. Conserv.*, 144, 416–422

65.Janssens, F., Peeters, A. & Tallowin, J.R.B. (1998). Relationship between soil chemical factors and grassland diversity. *Plant Soil*, 202, 69–78

66.Jewell, P.L., Güsewell, S., Berry, N.R., Käuferle, D., Kreuzer, M. & Edwards, P.J. (2005). Vegetation patterns maintained by cattle grazing on a degraded mountain pasture. *Bot. Helv.*, 115, 109–124

67.Jewell, P.L., Käuferle, D., Güsewell, S., Berry, N.R., Kreuzer, M. & Edwards, P.J. (2007). Redistribution of phosphorus by cattle on a traditional mountain pasture in the Alps. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 122, 377–386

68.Johnston, A. & Bezeau, L.M. (1962). Chemical composition of range forage plants of the *Festuca scabrella* association. *Can. J. Plant Sci.*, 42, 105–115

69.Jouany, C., Cruz, P., Daufresne, T. & Duru, M. (2011). Biological Phosphorus Cycling in Grassland: Interaction with Nitrogen. In: *Phosphorus in Action, Soil Biology* (eds. Bünemann, E., Oberson, A. & Frossard, E.). Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 275–294

70.Jouany, C., Cruz, P., Petibon, P. & Duru, M. (2004). Diagnosing phosphorus status of natural grassland in the presence of white clover. *Eur. J. Agron.*, 21, 273–285

71.Jouany, C., Cruz, P., Theau, J.P., Petibon, P., Foucras, J. & Duru, M. (2005). Diagnostic du statut de nutrition phosphatée et potassique des prairies naturelles en présence de

légumineuses. *Fourrages*, 184, 547–555

72.Kayser, M. & Isselstein, J. (2005). Potassium cycling and losses in grassland systems: a review. *Grass Forage Sci.*, 60, 213–224

73.Keylock, C.J. (2005). Simpson diversity and the Shannon Wiener index as special cases of a generalized entropy /. *Oikos*, 1, 203–208

74.Kirkham, F.W., Mountford, J.O. & Wilkins, R.J. (1996). The Effects of Nitrogen, Potassium and Phosphorus Addition on the Vegetation of a Somerset Peat Moor Under Cutting Management. *J. Appl. Ecol.*, 33, 1013–1029

75.Klaus, V.H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., Blüthgen, N., Boch, S., Müller, J., *et al.* (2011). Nutrient concentrations and fibre contents of plant community biomass reflect species richness patterns along a broad range of land-use intensities among agricultural grasslands. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, 13, 287–295

76.Kleyer, M., Bekker, R.M., Knevel, I.C., Bakker, J.P., Thompson, K., Sonnenschein, M., *et al.* (2008). The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora. *J. Ecol.*, 96, 1266–1274

77.Klotz, S., Kühn, I. & Durka, W. (2002). *BIOLFLOR - Eine Datenbank mit biologisch-ökologischen Merkmalen zur Flora von Deutschland, Schriftenreihe für Vegetationskunde 38.* Bundesamt. Bonn, Germany

78.Koerselman, W. & Meuleman, A.F.M. (1996). The vegetation N: P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *J. Appl. Ecol.*, 33, 1441–1450

79.Köhler, B., Gigon, A., Edwards, P.J., Krüsi, B., Langenauer, R., Lüscher, A., *et al.* (2005). Changes in the species composition and conservation value of limestone grasslands in Northern Switzerland after 22 years of contrasting managements. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, 7, 51–67

80.Köhler, B., Ryser, P., Güsewell, S. & Gigon, A. (2001). Nutrient availability and limitation in traditionally mown and in abandoned limestone grasslands: a bioassay experiment. *Plant Soil*, 230, 323–332

81.Krahulec, F., Skálová, H., Herben, T., Hadincová, V., Wildová, R. & Pecháčková, S. (2001). Vegetation changes following sheep grazing in abandoned mountain meadows. *Appl. Veg. Sci.*, 4, 97–102

82.Lemaire, G. & Gastal, F. (1997). N Uptake and Distribution in Plant Canopies. In: *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 3–43

83.Loeb, R., Kuijpers, L., Peters, R.C.J.H., Lamers, L.P.M. & Roelofs, J.G.M. (2009). Nutrient limitation along eutrophic rivers? Roles of N , P and K input in a species-rich floodplain hay meadow. *Appl. Veg. Sci.*, 12, 362–375

84.Loiseau, P., Louault, F., Le Roux, X. & Bardy, M. (2005). Does extensification of rich

grasslands alter the C and N cycles, directly or via species composition? *Basic Appl. Ecol.*, 6, 275–287

85.Louault, F., Pillar, V.D., Aufrère, J., Garnier, E. & Soussana, J.-F. (2005). Plant traits and functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *J. Veg. Sci.*, 16, 151–160

86.Loucougaray, G., Dobremez, L., Gos, P., Pauthenet, Y., Nettièr, B. & Lavorel, S. (2015). Assessing the effects of grassland management on forage production and environmental quality to identify paths to ecological intensification in mountain grasslands. *Environ. Manage.*, 56, 1039–1052

87.Ludvíková, V., Pavlů, V. V., Gaisler, J., Hejčman, M. & Pavlů, L. (2014). Long term defoliation by cattle grazing with and without trampling differently affects soil penetration resistance and plant species composition in *Agrostis capillaris* grassland. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 197, 204–211

88.Lyons, R.K., Machen, R. & Forbes, T.D.A. (1999). Why range forage quality changes. *Texas Agric. Ext. Serv.*, B-6036, 1–8

89.Magda, D., Theau, J.P., Duru, M. & Coleno, F. (2003). Hay-meadows production and weed dynamics as influenced by management. *J. Range Manag.*, 56, 127–132

90.Makkonen, M., Berg, M.P., Handa, I.T., Hättenschwiler, S., van Ruijven, J., van Bodegom, P.M., *et al.* (2012). Highly consistent effects of plant litter identity and functional traits on decomposition across a latitudinal gradient. *Ecol. Lett.*, 15, 1033–1041

91.Marriott, C.A., Bolton, G.R., Fisher, J.M. & Hood, K. (2005). Short-term changes in soil nutrients and vegetation biomass and nutrient content following the introduction of extensive management in upland sown swards in Scotland, UK. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 106, 331–344

92.Marriott, C.A., Fisher, J.M., Hood, K. & Pakeman, R.J. (2010). Impacts of extensive grazing and abandonment on grassland soils and productivity. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 139, 476–482

93.Marschner, P. (2012). *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press

94.Martínková, J., Šmilauer, P. & Mihulka, S. (2002). Phenological pattern of grassland species: relation to the ecological and morphological traits. *Flora*, 197, 290–302

95.Martinsen, V., Mulder, J., Austrheim, G., Hessen, D.O. & Mysterud, A. (2012). Effects of sheep grazing on availability and leaching of soil nitrogen in Low-Alpine grasslands. *Arctic, Antarct. Alp. Res.*, 44, 67–82

96.McIntyre, S. (2008). The role of plant leaf attributes in linking land use to ecosystem function in temperate grassy vegetation. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 128, 251–258

97.McIntyre, S., Lavorel, S. & Tremont, R.M. (1995). Plant Life-History Attributes: Their Relationship to Disturbance Response in Herbaceous Vegetation. *J. Ecol.*, 83, 31–44

98. McNaughton, S.J., Ruess, R.W. & Seagle, S.W. (1988). Large mammals and process dynamics in African ecosystems. *Bioscience*, 38, 794–800
99. Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 15, 1409–1416
100. Michaud, A., Plantureux, S. & Baumont, R. (2011). How to classify permanent grasslands? Conclusions from a French national network. *Grassl. Farming L. Manag. Syst. Mt. Reg.*, 619–621
101. Mikola, J., Setälä, H., Virkajärvi, P., Saarijärvi, K., Ilmarinen, K., Voigt, W., *et al.* (2009). Defoliation and patchy nutrient return drive grazing effects on plant and soil properties in a dairy cow pasture. *Ecol. Monogr.*, 79, 221–244
102. Minson, D.J. (1990). *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press
103. Mládek, J., Mládková, P., Hejčmanová, P., Dvorský, M., Pavlu, V., De Bello, F., *et al.* (2013). Plant Trait Assembly Affects Superiority of Grazer's Foraging Strategies in Species-Rich Grasslands. *PLoS One*, 8, 1–8
104. Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejčman, M., Cruz, P., Jouany, C., *et al.* (2015). High-nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced by mowing and livestock grazing. *J. Appl. Ecol.*, 52, 1073–1081
105. Moog, D., Kahmen, S. & Poschlod, P. (2005). Application of CSR- and LHS-strategies for the distinction of differently managed grasslands. *Basic Appl. Ecol.*, 6, 133–143
106. Moog, D. & Poschlod, P. (2002). Comparison of species composition between different grassland management treatments after 25 years. *Appl. Veg. Sci.*, 99–106
107. Oelberg, K. (1956). Factors affecting the nutritive value of range forage. *Recent Adv. Anim. Nutr.*, 9, 220–225
108. Øien, D.I. & Moen, A. (2001). Nutrient limitation in boreal plant communities and species influenced by scything. *Appl. Veg. Sci.*, 4, 197–206
109. Olf, H., Berendse, F. & Visser, W. De. (1994). Changes in Nitrogen Mineralization, Tissue Nutrient Concentrations and Biomass Compartmentation after Cessation of Fertilizer Application to Mown Grassland. *J. Ecol.*, 82, 611–620
110. Oomes, M.J.M., Olf, H. & Altena, H.J. (1996). Effects of vegetation management and raising the water table on nutrient dynamics and vegetation change in a wet grassland. *J. Appl. Ecol.*, 33, 576–588
111. Orwin, K.H., Buckland, S.M., Johnson, D., Turner, B.L., Smart, S., Oakley, S., *et al.* (2010). Linkages of plant traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. *J. Ecol.*, 98, 1074–1083
112. Ostatnická, J. & Matoušková, L. (2012). *Air pollution and atmospheric deposition in the Czech Republic in 2011*. Czech Hydrometeorological Institute, Prague, Czech Republic

- 113.Parfitt, R.L., Yeates, G.W., Ross, D.J., Mackay, A.D. & Budding, P.J. (2005). Relationships between soil biota, nitrogen and phosphorus availability, and pasture growth under organic and conventional management. *Appl. Soil Ecol.*, 28, 1–13
- 114.Parr, T.W. & Way, J.M. (1988). Management of roadside vegetation: The long-term effects of cutting. *J. Appl. Ecol.*, 25, 1073–1087
- 115.Pavlů, V. V., Gaisler, J., Pavlů, L., Hejcman, M. & Ludvíková, V. (2012). Effect of fertiliser application and abandonment on plant species composition of *Festuca rubra* grassland. *Acta Oecologica*, 45, 42–49
- 116.Pavlů, V. V., Hejcman, M., Pavlů, L. & Gaisler, J. (2003). Effect of rotational and continuous grazing on vegetation of an upland grassland in the Jizerské Hory Mts., Czech Republic. *Folia Geobot.*, 38, 21–34
- 117.Pavlů, V. V., Hejcman, M., Pavlů, L., Gaisler, J. & Nežerková, P. (2006). Effect of continuous grazing on forage quality, quantity and animal performance. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 113, 349–355
- 118.Pegtel, D.M., Bakker, J.P., Verweij, G.L. & Fresco, L.F.M. (1996). N, K and P deficiency in chronosequential cut summer-dry grasslands on gley podzol after the cessation of fertilizer application. *Plant Soil*, 178, 121–131
- 119.Pecháčková, S. & Krahulec, F. (1995). Efficient nitrogen economy: key to the success of *polygonum bistorta* in an abandoned mountain meadow. *Folia Geobot. Phytotaxon.*, 30, 211–222
- 120.Pekár, S. & Brabec, M. (2009). *Moderní analýza biologický dat: Zobecněné lineární modely v prostředí R*. Scientia, Praha
- 121.Pinheiro, J., Bates, D. & DebRoy, S. (2012). *Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1 - 103. R Packag. version 3.1 - 103*
- 122.Pontes, L.S., Carrère, P., Andueza, D., Louault, F. & Soussana, J.-F. (2007). Seasonal productivity and nutritive value of temperate grasses found in semi-natural pastures in Europe: responses to cutting frequency and N supply. *Grass Forage Sci.*, 62, 485–496
- 123.Pritchard, G.I., Pigden, W.J. & Folkins, L.P. (1964). Distribution of potassium, calcium, magnesium, and sodium in grasses at progressive stages of maturity. *Can. J. Plant Sci.*, 44, 318–324
- 124.Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007). Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecol. Monogr.*, 77, 33–52
- 125.Reich, P.B., Oleksyn, J., Modrzyński, J., Mrozinski, P., Hobbie, S.E., Eissenstat, D.M., *et al.* (2005). Linking litter calcium, earthworms and soil properties: a common garden test with 14 tree species. *Ecol. Lett.*, 8, 811–818
- 126.Risch, A.C., Jurgensen, M.F. & Frank, D.A. (2007). Effects of grazing and soil micro-

climate on decomposition rates in a spatio-temporally heterogeneous grassland. *Plant Soil*, 298, 191–201

127.Rizand, A., Marrs, R.H., Gough, M.W. & Wells, T.C.E. (1989). Long-term effects of various conservation management treatments on selected soil properties of chalk grassland. *Biol. Conserv.*, 49, 105–112

128.Robson, M.T., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010). Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *J. Ecol.*, 98, 62–73

129.Robson, M.T., Lavorel, S., Clément, J.-C. & Le Roux, X. (2007). Neglect of mowing and manuring leads to slower nitrogen cycling in subalpine grasslands. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 930–941

130.Le Roux, X., Bardy, M., Loiseau, P. & Louault, F. (2003). Stimulation of soil nitrification and denitrification by grazing in grasslands: do changes in plant species composition matter? *Oecologia*, 137, 417–25

131.Rozbrojová, Z. & Hájek, M. (2008). Changes in nutrient limitation of spring fen vegetation along environmental gradients in the West Carpathians. *J. Veg. Sci.*, 19, 613–620

132.Sáňka, M. & Materna, J. (2004). Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR. *Planeta*, 11, 84

133.Semmartin, M., Garibaldi, L.A. & Chaneton, E.J. (2008). Grazing history effects on above- and below-ground litter decomposition and nutrient cycling in two co-occurring grasses. *Plant Soil*, 303, 177–189

134.Schaffers, A.P. (2002). Soil, biomass, and management of semi-natural vegetation – Part I. Interrelationships. *Plant Ecol.*, 158, 229–246

135.Schaffers, A.P. & Sýkora, K. V. (2002). Synecology of species-rich plant communities on roadside verges in the Netherlands. *Phytocoenologia*, 32, 29–83

136.Schnyder, H., Locher, F. & Auerswald, K. (2010). Nutrient redistribution by grazing cattle drives patterns of topsoil N and P stocks in a low-input pasture ecosystem. *Nutr. Cycl. Agroecosystems*, 88, 183–195

137.Sinclair, A.G., Smith, L.C., Morrison, J.D. & Dodds, K.G. (1996). Effects and interactions of phosphorus and sulphur on a mown white clover/ryegrass sward. *New Zeal. J. Agric. Res.*, 39, 421–433

138.Smits, N.A.C., Willems, J.H. & Bobbink, R. (2008). Long-term after-effects of fertilisation on the restoration of calcareous grasslands. *Appl. Veg. Sci.*, 11, 279–286

139.Socher, S.A., Prati, D., Boch, S., Müller, J., Baumbach, H., Gockel, S., *et al.* (2013). Interacting effects of fertilization, mowing and grazing on plant species diversity of 1500 grasslands in Germany differ between regions. *Basic Appl. Ecol.*, 14, 126–136

140. Socher, S.A., Prati, D., Boch, S., Müller, J., Klaus, V.H., Hölzel, N., *et al.* (2012). Direct and productivity-mediated indirect effects of fertilization, mowing and grazing on grassland species richness. *J. Ecol.*, 100, 1391–1399
141. Sørensen, L.I., Kytöviita, M.-M., Olofsson, J. & Mikola, J. (2008). Soil feedback on plant growth in a sub-arctic grassland as a result of repeated defoliation. *Soil Biol. Biochem.*, 40, 2891–2897
142. Sørensen, T. (1948). A Method of Establishing Groups of Equal Amplitude in Plant Sociology Based on Similarity of Species Content. *Biol. Skr.*, 5, 1–34
143. Springob, G. (2003). Bulk soil C to N ratio as a simple measure of net N mineralization from stabilized soil organic matter in sandy arable soils. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 629–632
144. Tadmor, N.H., Brieghet, A. & Noy-Meir, I. (1975). An evaluation of the calibrated weight-estimate method for measuring production in annual vegetation. *J. Range Manag.*, 28, 65–69
145. Tälle, M., Deák, B., Poschlod, P., Valkó, O., Westerberg, L. & Milchunas, D.G. (2016). Grazing vs. mowing: A meta-analysis of biodiversity benefits for grassland management. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 222, 200–212
146. Tallowin, J.R.B. & Jefferson, R. (1999). Hay production from lowland semi-natural grasslands: a review of implications for ruminant livestock systems. *Grass Forage Sci.*, 54, 99–115
147. Tallowin, J.R.B., Rook, A.J. & Rutter, S.M. (2005). Impact of grazing management on biodiversity of grasslands. *Anim. Sci.*, 81, 193–198
148. Tilley, J.M.A. & Terry, R.A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.*, 18, 104–111
149. Türk, M. & Albayrak, S. (2014). Seasonal trends in chemical composition of different artificial pastures. *Turkish J. F.*, 19, 53–58
150. Türk, M., Albayrak, S. & Yüksel, O. (2007). Effects of phosphorus fertilisation and harvesting stages on forage yield and quality of narbon vetch. *New Zeal. J. Agric. Res.*, 50, 457–462
151. Vaněk, V. (2007). *Výživa polních a zahradních plodin*. Profi Press
152. Vassilev, K., Pedashenko, H., Nikolov, S.C., Apostolova, I. & Dengler, J. (2011). Effect of land abandonment on the vegetation of upland semi-natural grasslands in the Western Balkan Mts., Bulgaria. *Plant Biosyst. - An Int. J. Deal. with all Asp. Plant Biol.*, 145, 654–665
153. Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edi. Springer, New York
154. Venterink, H.O., Kardel, I., Kotowski, W., Peeters, W. & Wassen, M.J. (2009). Long-term effects of drainage and hay-removal on nutrient dynamics and limitation in the Biebrza

mires, Poland. *Biogeochemistry*, 93, 235–252

155.Venterink, H.O., Pieterse, N.M., Belgers, J.D.M., Wassen, M.J. & De Ruiter, P.C. (2002). N, P, and K budgets along nutrient availability and productivity gradients in wetlands. *Ecol. Appl.*, 12, 1010–1026

156.Venterink, H.O., Wassen, M.J., Verkroost, A.W.M. & De Ruiter, P.C. (2003). Species richness–productivity patterns differ between N-, P-, and K-limited wetlands. *Ecology*, 84, 2191–2199

157.Verhoeven, J.T.A., Koerselman, W. & Meuleman, A.F.M. (1996). Nitrogen- or phosphorus-limited growth in herbaceous, wet vegetation: relations with atmospheric inputs and management regimes. *Trends Ecol. Evol.*, 11, 494–497

158.Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., *et al.* (2007). Nordic Society Oikos Let the Concept of Trait Be Functional ! Published by : Wiley on behalf of Nordic Society Oikos Linked references are available on JSTOR for this article : Let the concept of trait be functional ! *Oikos*, 116, 882–892

159.Wesche, K., Ronnenberg, K., Retzer, V. & Miede, G. (2010). Effects of large herbivore exclusion on southern Mongolian desert steppes. *Acta Oecologica*, 36, 234–241

160.Whitehead, D.C. (2008). *Nutrient elements in grassland*. Cabi Publishing, Wallingford

161.Williams, P.H., Hedley, M.J. & Gregg, P.E.H. (1989). Uptake of potassium and nitrogen by pasture from urine-affected soil. *New Zeal. J. ...*, 32, 415–421

162.Wrage, N., Strodthoff, J., Cuchillo, H.M., Isselstein, J. & Kayser, M. (2011). Phytodiversity of temperate permanent grasslands: ecosystem services for agriculture and livestock management for diversity conservation. *Biodivers. Conserv.*, 20, 3317–3339

9. PŘÍLOHY

9. 1.

High-nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced by mowing and livestock grazing

Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejzman, M., Cruz, P., Jouany, C. & Pakeman, R.J. *Journal of Applied Ecology*, **52**, 1073–1081 (2015)

9. 2.

Calcium plus magnesium indicates digestibility: the significance of the second major axis of plant variation for ecological processes

Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejzman, M., Pakeman, R.J.
(Submitted in *Ecology Letters*)

9. 3.

Plant trait assembly affects superiority of grazer's foraging strategies in species-rich grasslands

Mládek, J., Mládková, P., Hejzmanová, P., Dvorský, M., Pavlu, V., De Bello, F., Duchoslav, M., Hejzman, M. & Pakeman, R.J.
PLoS ONE, **8**, 1–8. (2013)

9. 4.

Grassland response to long-term management and levels of nutrients in standing biomass

Mládek, J., Mládková, P., Hejzman, M., Hejduk, S., Pavlu, V., Duchoslav, M.
54th Symposium of the IAVS, 2011 Lyon

9. 5.

K čemu jsou v loukách dobré byliny

Mládek, J., Mládková, P.
Bílé - Biele Karpaty, 22-23, 1/2017

9. 6.

High-nature-value grasslands can be maintained by alternating between mowing and grazing

European Commission – Science for Environment Policy, Issue 425, 2015

High-nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced by mowing and livestock grazing

Pavla Mládková¹, Jan Mládek^{2*}, Stanislav Hejduk³, Michal Hejčman¹, Pablo Cruz⁴, Claire Jouany^{4,5} and Robin J. Pakeman⁶

¹Department of Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 1176, Prague 6–Suchbátka 165 21, Czech Republic; ²Department of Ecology & Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 241/27, Olomouc 783 71, Czech Republic; ³Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1, Brno 613 00, Czech Republic; ⁴INRA, UMR1248 AGIR, Agroécologie, Innovation et Territoire, Castanet–Tolosan 31320, France; ⁵Université Toulouse, INPT, UMR AGIR, Toulouse 31029, France; and ⁶The James Hutton Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, UK

Summary

1. Management of high-nature-value (HNV) grasslands follows agri-environmental schemes across large areas of Europe. Long-term agreements and restrictions of fertilizers cause soil nutrient impoverishment, but remarkably this quite often does not reduce biomass production. Therefore, we tested how species-rich vegetation copes with nutrient impoverishment under the most frequently used treatments, that is summer mowing and livestock grazing.

2. During 2011–2012 we studied, simultaneously, plant species composition, soil and biomass chemical properties in two equally designed experiments where mowing, grazing or leaving fallow have been applied since 2004. We asked whether soil-based ($C_{org} : N_{tot}$, plant-available P and K) and plant-based measures (N : P, N : K, K : P ratios and N-, P-, K-nutrition indices) indicate the same pattern of nutrient limitation as the observed productivity gradient.

3. Seven years of management application resulted in the lowest plant-available P under grazing and the lowest plant-available K under mowing, but neither grazed nor mown plots produced less biomass than fallow ones. Grazing supported dominance of grasses while mowing that of non-leguminous forbs.

4. Projection of nutrition indices to a common framework with nutrient ratios suggests that critical thresholds for diagnosis of nutrient limitation are a function of N deficiency. At biomass production of 2 t ha^{-1} a N-nutrition index of 50 yielded threshold N : P = 14.0; hence, all our treatments with N : P of 9.9–12.5 should be N limited.

5. Inspecting the productivity gradient separately for each management, we found only soil $C_{org} : N_{tot}$ negatively related to biomass production in mown plots indicating N limitation. However in grazed plots, positive association of biomass production with plant-available P and negative with biomass N : P and N : K suggested PK co-limitation.

6. *Synthesis and applications.* Mowing and grazing induced different patterns of soil nutrient impoverishment and nutrient limitation, but they did not reduce biomass production of high-nature-value grasslands. Non-leguminous forbs prevailing under mowing precluded shortage of P, while grasses dominating under grazing efficiently captured N. We recommend designing agri-environmental measures that will encourage alternating mowing and grazing. This should promote coexistence of multiple forbs and grasses, balance nutrient limitation and ensure stable biomass production under future low-input scenarios.

Key-words: biomass production, critical thresholds, fallow, grasses, management experiments, nitrogen deficiency, non-leguminous forbs, nutrient limitation, productivity gradient

*Correspondence author. E-mail: jan.mladek@upol.cz

Introduction

Plant species richness and functional diversity have been acknowledged as important drivers of vegetation productivity (Weigelt *et al.* 2009; Tilman, Reich & Isbell 2012). The positive effect of diversity has been reported to be as important for grassland productivity as the availability of nutrients in synthetic plant communities (Tilman, Reich & Isbell 2012). But, this has rarely been confirmed in seminatural grasslands (Rose & Leuschner 2012), and the benefit of diversity for productivity has been questioned. However, in unfertilized seminatural grasslands, some studies documented no decrease in biomass production after long-lasting nutrient removal with mowing (12–37 years). Oelmann *et al.* (2009) and Bernhardt-Römermann *et al.* (2011) did not record reduction in biomass production of mown plots over many years (comparison in time), and Neuenkamp *et al.* (2013) found similar biomass production in mown plots and plots left fallow (comparison in space). Such compensation of soil nutrient impoverishment is attributed mainly to changes in plant functional composition, the presence of specific functional groups with lower nutrient demands or with more efficient nutrient acquisition strategies. In this respect, compensation seems to be connected with large species pools, which are typical for high-nature-value (HNV) grasslands (Jongepierová 2008; Keenleyside & Opperman 2009).

However, it remains poorly understood which soil-derived macronutrients are more easily depleted/mobilized in unfertilized HNV grasslands (Pavlů *et al.* 2013; Li *et al.* 2014), and whether nutrient limiting biomass production is specific for different types of grassland management (Jewell *et al.* 2005; Venterink *et al.* 2009). Solving these issues is currently of particular importance in Europe, because large areas of HNV grasslands are maintained on the basis of long-term management agreements (Kleijn & Sutherland 2003). To increase farmers' motivation to adopt low-input scenarios for their fields (Keenleyside & Opperman 2009), we need more knowledge about nutrient mobilization capacities of species-rich communities (Karanika *et al.* 2007; Weigelt *et al.* 2009; Li *et al.* 2014).

Nature conservation authorities most frequently recommend two management types for the maintenance of HNV grasslands, either late summer mowing or livestock grazing (Keenleyside & Opperman 2009). Nevertheless, long-lasting application of these regimes can lead to differential depletion of essential nutrients. Mowing with hay removal takes away both living and dead above-ground biomass uniformly from the whole site. It quickly decreases K availability (Øien & Moen 2001; Venterink *et al.* 2009; Pavlů *et al.* 2013), substantially reduces organic matter mineralization and N availability (Venterink *et al.* 2009), but does not lower P availability or only very slowly (Smits, Willems & Bobbink 2008). In contrast, spatial heterogeneity of livestock grazing and excretion creates zones of nutrient depletion and accumulation (Schnyder, Locher & Auerswald 2010), and most

apparently leads to exhaustion of P in depletion zones (Jewell *et al.* 2005). This fundamental difference in management effect on soil nutrient pools could be connected to the export of plant tissues with mowing and animal tissues with grazing. Typical animal : plant concentration ratios ($x : 1$) for livestock grazing pastures in temperate regions are $N \sim 3.2$, $P \sim 6.7$ and $K \sim 0.27$ (Whitehead 2000). Thus, P is the most preferentially retained in animal tissues, while K rather eliminated. In summary, distinct stoichiometry of plant and animal tissues (hereafter 'plant/animal tissue removal hypothesis') and uniform vs. selective grassland disturbance can induce different types of nutrient limitation. For its diagnosis, several methods based on analyses of soil (Parfitt *et al.* 2005; Gilbert, Gowing & Wallace 2009, hereafter 'soil-based measures') or biomass (hereafter 'plant-based measures') were developed.

The main advantage of plant-based measures consists in the fact that they integrate fluxes of nutrients to plants over a period of time from the soil pool as well as from plant storage organs, and thus, they more accurately reflect the overall nutrient status of perennial plant communities (Güsewell 2004). However, different plant-based measures of nutrient limitation have been established in the fields of agronomy and plant ecology. Agronomists (Duru & Thélier-Huché 1997) derived the N-, P- and K-nutrition indices (NNI, PNI and KNI) from the concept of nutrient dilution during the accumulation of above-ground biomass. The lower the respective nutrition index (<100), the more deficient the nutrient is, and the nutrient with the lowest index value can be denoted as the primary limiting nutrient. However, the critical dilution curves were originally constructed for grass species and studies addressing the nutrient limitation of multispecies mixtures corrected the calculations of the indices for the abundance of legumes (Garnier *et al.* 2007) or simply recommended the evaluation of community nutrient limitation only from the grass fraction (Liebisch *et al.* 2013).

In contrast, ecologists set up the detection of the primary limiting nutrient on the ratios of N, P and K concentrations in total above-ground biomass, that is without respect to accumulated biomass and to the proportional contribution of grasses, legumes or non-leguminous forbs. The most debated were thresholds of nutrient ratios in wetlands (Venterink *et al.* 2003), where the boundaries between N-, P- and K-limited communities were established using a literature review of short-term fertilization experiments. However, studies based on fertilization in dry and mesic habitats (Mamolos, Vasilikos & Veresoglou 2005; Niinemets & Kull 2005) as well as average biomass nutrient ratios over many habitats (Pegtel *et al.* 1996; Schaffers & Sýkora 2002) have identified different critical thresholds.

To shed light on the effects of grassland management on nutrient limitation of biomass production, we took advantage of two identically designed management experiments and asked: how do HNV grasslands in the White

Carpathian Mountains (one of the most species-rich in Europe, Jongepierová 2008) cope with the export of plant tissues (summer mowing) or the export of animal tissues (rotational livestock grazing) and maintain biomass production at the level of fallow treatment?

Materials and methods

STUDY SITES

The study was carried out in the White Carpathian Mountains situated in the borderland between the Czech Republic and Slovakia where the ecosystems are only little affected by atmospheric nutrient deposition ($10\text{--}15\text{ kg N ha}^{-1}\text{ year}^{-1}$, Ostatnická & Matoušková 2012). Two unfertilized grasslands with comparable species richness (on average 30 species per 1 m^2) were studied: (i) lowland *Brachypodium pinnatum* grassland situated at 370 m a.s.l. ($49^{\circ}05'58''\text{N}$, $18^{\circ}01'59''\text{E}$) and (ii) upland *Festuca rubra* grassland located at 720 m a.s.l. ($48^{\circ}56'20''\text{N}$, $17^{\circ}48'00''\text{E}$). The soils at both sites are haplic cambisols, developed on tertiary flysch sediments which consist of alternating sandstone and rock clay layers of variable thickness (Jongepierová 2008). Description of climatic conditions, management history and soil properties of both sites prior to establishment of management experiments are given in Mládek *et al.* (2011). At each site, identically designed long-term management experiments were established in 2004. The experimental design (Fig. S1 in Supporting Information) included three treatments: (i) mowing in mid-July (mowing), (ii) extensive livestock grazing starting in June (grazing) and (iii) leaving abandoned without any management (fallow). Mowing consisted of harvesting of the above-ground biomass at 5 cm height above the soil surface followed by immediate raking and biomass removal. Grazing treatments included two grazing cycles per year, the first in June and the second in August; during both cycles, Romney sheep (*Brachypodium* site) and Hereford beef cattle (*Festuca* site) were moved to a separate paddock within each site when c. 70% of the standing biomass had been grazed. There were five blocks at each site, and each included one replication of all three management treatments. One replication comprised of a $5 \times 5\text{ m}$ experimental plot (photo documentation in Fig. S2). Multivariate analyses of species cover data from permanent plots (Fig. S1) detected no baseline differences in 2004 and showed clear differentiation of species composition after management application at both sites (Fig. S3a,b).

SAMPLING DESIGN

During 2011 and 2012, we took 180 coupled samples of plant biomass and underlying soil. Sampling was carried out three times a year at c. 3 week intervals: for the first date 19–21 May, for the second 13–18 June and for the third 11–15 July. Three sampling dates corresponded roughly with three key phenological stages of the grass *Dactylis glomerata* L., a species which was relatively abundant in all plots at both investigated sites (Table S5). For the first date, *D. glomerata* was at the start of stem elongation, for the second in full flower and for the third date *D. glomerata* seeds had ripened. Each time biomass and soil were sampled from one randomly allocated subplot (1 m^2) within each $5 \times 5\text{ m}$ experimental plot (Fig. S1). These subplots had been protected from grazing and had not been cut since the start of the vegetation season, and thus, they always provided first

growth biomass in all sampling dates. 'First growth biomass' is defined as biomass grown from the beginning of vegetation season without any interruption (e.g. grazing), and only its samples enable comparison of vegetation productivity between different long-term management treatments in various sampling dates.

Species biomass in a sample was estimated using the calibrated weight-estimate method (Tadmor *et al.* 1975). After estimations of species proportions, only living plant biomass from each subplot was harvested 5 cm above ground. The final step in the field sampling at each 1 m^2 subplot consisted of taking three separate soil samples collected by a 5-cm-diameter probe from the 0–20 cm layer, these separate samples were further mixed into one which was prepared for laboratory analyses. Additionally, one mixed soil sample from three randomly selected points in each $5 \times 5\text{ m}$ experimental plot was acquired in November 2012.

SOIL CHEMICAL PROPERTIES

After removing plant residues, soil samples were air-dried, ground in a mortar and sieved to 2 mm. All analyses were performed in an accredited national laboratory – soil reaction (pH in 0.01 M CaCl_2), plant-available P, Ca, K and Mg were extracted by the Mehlich 3 reagent (Mehlich 1984). Concentration of organic carbon (C_{org}) was determined by oxidation with potassium dichromate (Black 1965) and concentration of total nitrogen (N_{tot}) by Kjeldahl method (AOAC 1984).

BIOMASS CHEMICAL PROPERTIES

Dry matter (DM) content of harvested biomass was determined by drying at $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ to constant weight to calculate DM standing biomass at each subplot. The Kjeldahl method was used to determine N concentration (AOAC 1984). To determine P concentration, a biomass sample was mineralized by acid digestion, treated with molybdovanadate reagent and analysed in a spectrophotometer (ICP OES analyzer, GBC, Australia) at 430 nm (71/393/EEC). To determine K concentration, biomass samples were ashed, dissolved in hydrochloric acid and analysed by flame photometry in a spectrophotometer in the presence of caesium chloride and aluminium nitrate (71/250/EEC). To determine Ca and Mg concentrations, biomass samples were ashed, dissolved in dilute hydrochloric acid and analysed by atomic absorption spectrophotometry at 422.7 (ISO 6869:2000) and 285.72 nm (73/46/EEC), respectively.

DM standing biomass and laboratory-analysed nutrient concentrations were used to calculate the total amounts of N, P and K in a sample (i.e. on an area basis g m^{-2}) as well as to calculate nutrition indices (for methodological details and equations to compute NNI_{leg} , PNI_{leg} and KNI_{leg} with correction for the proportion of legumes in a biomass sample, see Appendix S1). A value of NNI_{leg} , PNI_{leg} and KNI_{leg} of 100 indicates optimal N, P or K nutrition, respectively, whereas values below 60 indicate severe N, P and K deficiency that limit biomass production.

DATA ANALYSIS

The design of the experiments encompassed factors with fixed and random effects. Therefore, most analyses were performed with linear mixed effect models using restricted maximum-likelihood methods (REML), in which soil and biomass properties (or management) were treated as fixed effects while site, year and

date as random effects. Normality and homoscedasticity of residuals were always checked, and when necessary, square-root or logarithmic transformations were applied. The final models (Table S2–S4) were selected according to the lowest value of the Akaike information criterion (AIC). The coefficient of determination in mixed effect models (i.e. R^2 in Figures) was calculated as follows: variability explained by the model with both fixed and random effects was subtracted from variability explained by the null model, and this difference was divided by variability explained by the null model (Edwards *et al.* 2008). All analyses were carried out with R 2.15.0 software (www.r-project.org) using the 'nlme' package (Pinheiro, Bates & DebRoy 2012).

Further, we performed simple linear regression using the means of five individual measurements for each management at each date, to demonstrate the relationship between soil- and plant-based measures over the large fertility gradient (i.e. across sites, years and sampling dates). Only May and June values of NNI_{leg} , PNI_{leg} and KNI_{leg} were used, because nutrition indices *sensu* Duru & Thélier-Huché (1997) provide a diagnostic method of grassland nutritional status only before leaf senescence.

Results

EFFECT OF GRASSLAND MANAGEMENT ON SOIL AND BIOMASS PROPERTIES

Analyses of soil properties (Table S1) showed that management affected only the plant-available P (d.f. = 201, management $P = 0.002$, date $P < 0.001$) and plant-available K (d.f. = 204, management $P < 0.001$). Consistently at both the *Brachypodium* and *Festuca* sites, plant-available P decreased from May to July (Fig. 1a), which was largely a result of increasing seasonal uptake of P by vegetation (analyses not shown). Treatment contrasts (Table S1) showed significantly lower plant-available P under grazing than under mowing ($P = 0.005$) and fallow ($P < 0.001$). On the other hand, the lowest levels of plant-available K at both sites (Fig. 1b) were found for mowing management; it was significantly lower than for both grazing ($P < 0.001$) and fallow ($P < 0.001$).

Analyses of biomass properties after 7 years of management (Table S1) revealed that DM biomass production was not influenced by grassland management. Regarding nutrients, analyses detected the highest N concentration for the fallow treatment, higher P for fallow than for grazing and the highest Ca and Mg for mowing. Nutrient ratios N : P and N : K were much higher for fallow than

for other treatments, while K : P was the highest for grazing. The highest amount of N was harvested in fallow plots, while the highest of Ca in mown plots. More K was harvested in the samples of grazed plots than mown plots.

Nutrition indices were analysed only in the first two sampling dates (see restrictions in Methods). Management effect was significant in May (Fig. 2a) for NNI_{leg} (d.f. = 54, $P = 0.001$), marginally for PNI_{leg} ($P = 0.063$) and for KNI_{leg} ($P = 0.005$) while in June (Fig. 2b) only for NNI_{leg} ($P < 0.001$). Taking into account both dates, fallow plots were according to NNI_{leg} the best supplied with N (although values below 60 indicate severe deficiency), whereas plots under grazing and especially mowing were much more N depleted. Furthermore, a lower deficiency of P and K in accumulated biomass was found in mown than in fallow plots.

EFFECT OF GRASSLAND MANAGEMENT ON PLANT GUILDS AND N : P : K STOICHIOMETRY

Analysing biomass proportions of the most abundant plants species, we found substantial differences between management treatments (Table S5 with accompanying summary of the significant differences). A triaxial diagram (Fig. 3a) displaying proportions of plant guilds (i.e. grasses, legumes and non-leguminous forbs) showed that all management treatments at the *Brachypodium* site had approx. a two times higher contribution of legumes (c. 10%) than treatments at the *Festuca* site (c. 5%). However, grassland management did not substantially differentiate the contribution of legumes at any site (d.f. = 166, $P = 0.53$). On the other hand, proportions of grasses and non-leguminous forbs were strongly modified by management consistently at both sites (both d.f. = 166, $P < 0.001$). Grazing management supported the higher contribution of grasses and a lower one of non-leguminous forbs than mowing. The fallow treatment affected plant guilds differently at each site; that is, grasses contributed the major biomass component at the *Brachypodium* site, while non-leguminous forbs did at the *Festuca* site.

With regard to N : P : K stoichiometry (Fig. 3b), relative N in biomass was highest in the fallow plots (d.f. = 166, $P < 0.001$), but these plots had the lowest relative K consistently at both sites (d.f. = 166, $P < 0.001$). Noteworthy, mowing supported the highest relative P from all management treatments consistently at

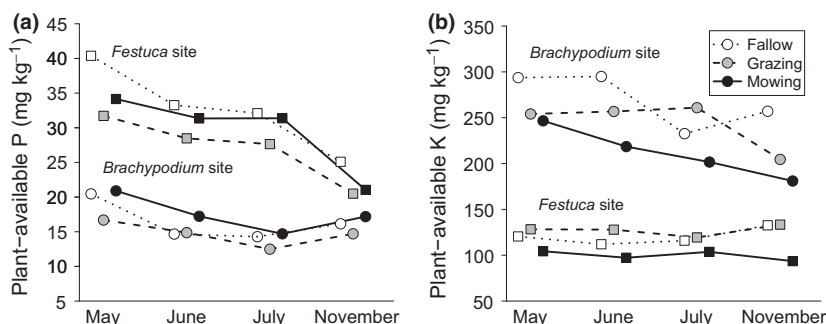
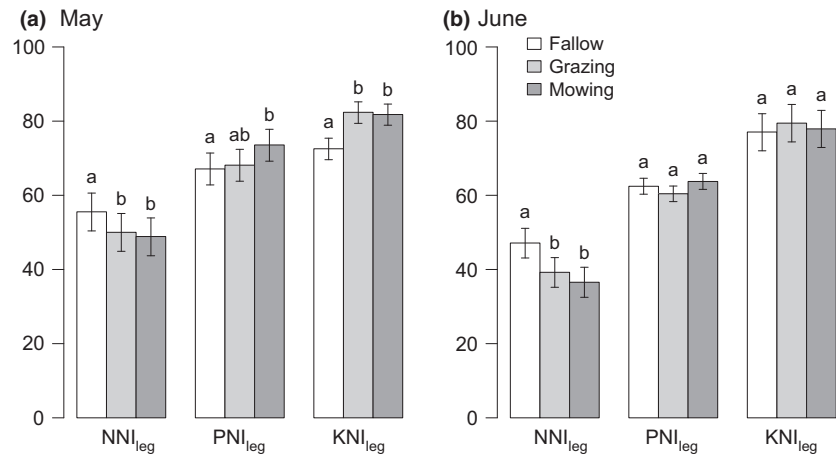


Fig. 1. Concentrations of plant-available phosphorus (a) and potassium (b) in soil. Linear mixed effect models (performed with data from both sites together) revealed significant differences between grazing and mowing treatments for both elements.

Fig. 2. Nitrogen (NNI), phosphorus (PNI) and potassium (KNI) nutrition indices as affected by long-term application of grassland management in the first two sampling dates (May and June measurements averaged over both 2 years and both sites). Error lines represent standard errors of the mean. Different letters above bars indicate significant differences between management treatments which were obtained from separate REML analyses of a given nutrition index in May or June.



both sites, but this did not substantially differ either from grazing at *Festuca* site or from fallow at *Brachypodium* site.

RELATIONSHIP BETWEEN SOIL- AND PLANT-BASED NUTRIENT MEASURES

Taking soil and biomass samples simultaneously from each 1 m² subplot enabled us to analyse relationships between soil- and plant-based measures. Soil C_{org} : N_{tot} was proved to be negatively related to NNI_{leg} (Fig. S4a, $P = 0.004$) and also negatively, but marginally, to N : K (Fig. S5b, $P = 0.051$), whereas no relationship was found with N : P (Fig. S5a, $P = 0.38$). High plant-available P was associated with high PNI_{leg} (Fig. S4b, $P = 0.007$), also with low N : P (Fig. S5c, $P = 0.012$) and low K : P (Fig. S5d, $P < 0.001$). For plant-available K, we found a positive relationship with KNI_{leg} (Fig. S4c, $P < 0.001$), negative with N : K (Fig. S5e, $P = 0.023$) and positive with K : P (Fig. S5f, $P < 0.001$).

When relationships between the two groups of plant-based measures (i.e. nutrition indices and nutrient ratios)

were analysed (Fig. S6), high NNI_{leg} was associated with high N : P (although marginally, Fig. S6a, $P = 0.072$) and significantly with high N : K (Fig. S6b, $P < 0.001$). Further, PNI_{leg} was negatively related to both N : P (Fig. S6c, $P = 0.018$) and K : P (Fig. S6d, $P < 0.001$), whereas high KNI_{leg} was almost significantly connected with low N : K (Fig. S6e, $P = 0.085$) and firmly with high K : P (Fig. S6f, $P = 0.006$).

EXPLAINING BIOMASS PRODUCTION UNDER MANAGEMENT TREATMENTS

Inspecting biomass production separately for each management (d.f. = 47), we found just soil C_{org} : N_{tot} negatively related to biomass production in mown plots (Fig. 4a, $P = 0.018$). In grazed plots, biomass production was positively associated with plant-available P (Fig. 4b, $P = 0.0073$) whereas negatively with biomass N : P (Fig. 4c, $P = 0.012$) and also biomass N : K (Fig. 4d, $P = 0.007$). The pattern of biomass production in fallow plots was not explained by any plant- or soil-based measure.

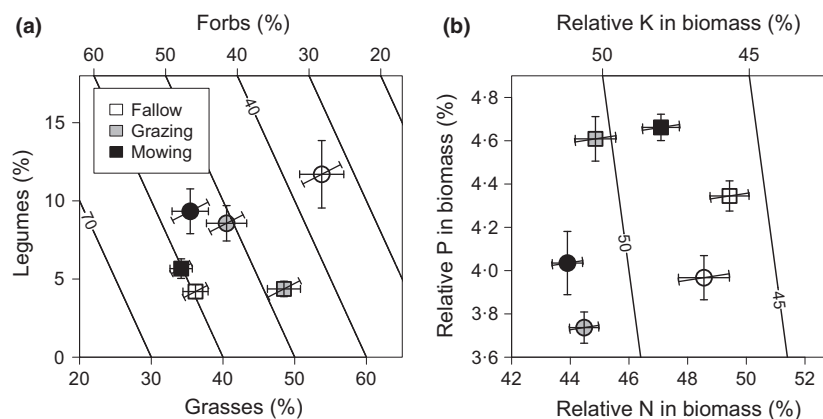


Fig. 3. Triaxial diagrams showing average relative contributions of (a) plant guilds and (b) nitrogen, phosphorus and potassium in above-ground biomass (sum of contributions of all groups is 100% at each site). Means come from three sampling dates (May–June–July) in both years of measurement (2011–2012). Circles denote the means from plots under different management treatments at the *Brachypodium* site, while squares the management means at the *Festuca* site. Error lines represent standard errors of the mean. REML analyses performed with data from both sites together detected significantly higher contribution of grasses and a lower one of non-leguminous forbs under grazing than under mowing. Mowing supported the highest relative P from all management treatments.

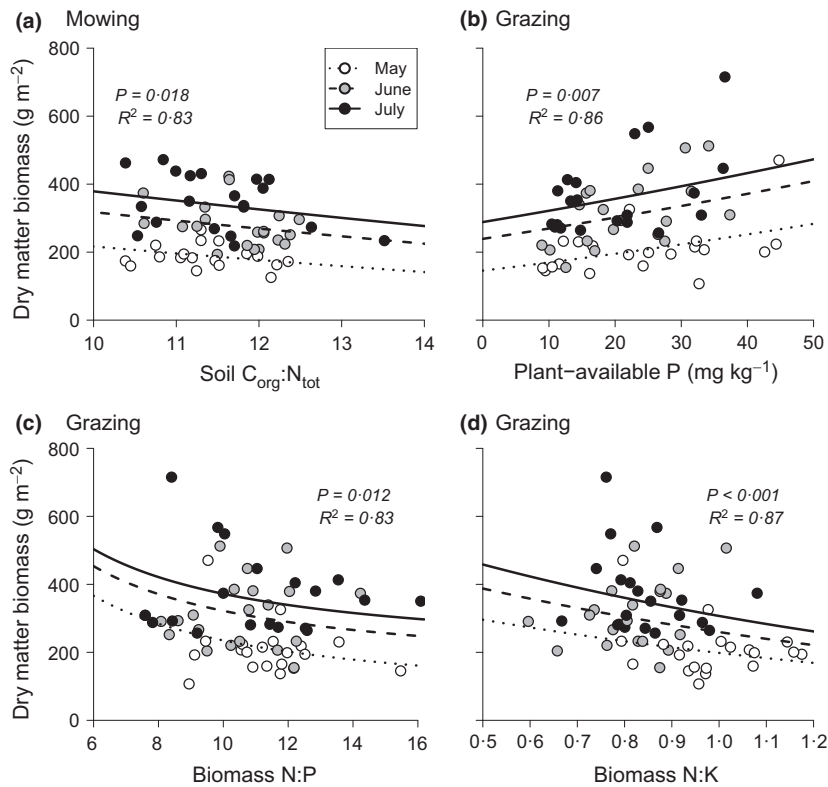


Fig. 4. Production of dry matter biomass in long-term mown (a) and grazed plots (b, c, d) as explained by soil and biomass variables. The three lines on each graph represent month-specific responses of dry matter biomass, which were constructed as averages of four regression lines obtained from REML procedure considering both years of measurements at both sites.

Discussion

Our data demonstrated that grassland management (livestock grazing or mowing) did not reduce vegetation productivity in comparison with fallow even after 7 years without input of fertilizers. Although mowing and grazing induced different patterns of nutrient limitation of biomass production, probably the size of species pool at each locality enabled the quick adaptation of plant species composition (see Figures S3a,b) that was able to cope with impoverishment of soil nutrient pools under both management treatments. There were 99 vascular plant species from 27 plant families recorded at the *Brachypodium* site and 77 species from 21 families at the *Festuca* site, both counted within the experimental area of 500 m². In our view, species richness does not guarantee high vegetation productivity (see also Rose & Leuschner 2012), but can rather sustain productivity of grasslands managed with low or nil inputs of fertilizers (Weigelt *et al.* 2009).

Coupled sampling of soil and biomass as well as utilization of different methodological approaches provided us the chance to discuss thoroughly the type of nutrient limitation of biomass production and identify the most meaningful management effects.

Using a large soil fertility gradient, we found sound relationships between most plant- and soil-based measures (Fig. S4–S6). A low N deficiency (NNI_{leg} ~ 70% of optimum) was associated with high biomass N : P (*c.* 14), high N : K (*c.* 1.2) and low soil C_{org} : N_{tot} that suggests consistency in predictions of plant- and soil-based mea-

asures. Low soil C_{org} : N_{tot} ratio has been verified to be a good indicator of soil mineralization and N availability (Parfitt *et al.* 2005), and the higher N : P and N : K ratios indicate no N limitation of biomass production (Tessier & Raynal 2003; Venterink *et al.* 2003). Considering phosphorus, high PNI_{leg} was related to low biomass N : P, K : P and high plant-available P, which is in line with other studies (Hejman *et al.* 2010; Liebisch *et al.* 2013). Thus, P extracted with the Mehlich 3 method (Mehlich 1984) correlated well with P availability for plants as was earlier shown in seminatural grasslands for Olsen and Bray extractions (Gilbert, Gowing & Wallace 2009). Similarly, high KNI_{leg} was well matched to low biomass N : K, high biomass K : P and high plant-available K.

After 7 years of regular mid-July mowing and nutrient removal with biomass (*c.* 41 N, 4 P and 55 K kg ha⁻¹ annually), we would expect mown plots to show lower biomass production as well as lower amounts of harvested nutrients than under other treatments. We did not measure export of nutrients with animals. However, we estimate on the basis of live-weight gains in similar grazing experiments in *Festuca rubra*-dominated grasslands (Pavlů *et al.* 2006) and average nutrient concentrations in ruminants (Whitehead 2000) that annual nutrient export with grazing at both our sites could be 5–10 N, 1.5–2.0 P and 0.3–0.5 K kg ha⁻¹, hence being much lower especially for K and N than export with mowing. As our grassland sites were not fertilized, the only significant nutrient input was atmospheric N deposition (10–15 kg N ha⁻¹ year⁻¹), which could cover the annual export of N with grazing

but not with mowing. Thus, probably the adaptation of plant species composition (Bernhardt-Römermann *et al.* 2011) could be responsible for maintenance of productivity under both mowing and grazing in similar level to vegetation left fallow.

Grazed plots displayed significantly lower plant-available P in the soil than mown plots (Fig. 1a). On the other hand, summer mowing led to the lowest levels of plant-available K (Fig. 1b). Such findings accord with the results of separate studies of mowing (Venterink *et al.* 2009) and grazing (Jewell *et al.* 2005) and corroborate our newly proposed 'plant/animal tissue removal hypothesis'. Grazing connected with removal of animal tissues reduces substantially P pools, whereas mowing associated with removal of plant tissues impoverishes especially K pools. Although grazing and mowing had distinct impact on soil properties, they did not affect differently nutrient ratios in biomass (with the exception of K : P being higher for grazing than mowing, Table S1) and nutrition indices (Fig. 2). Hence, it is difficult to judge management's effect on nutrient limitation from these quickly measurable tools within the context of this study.

Grasslands host a specific species pool of plants that are adapted not only to environmental conditions but also to a given management. Composition of the species pool also depends upon the ability of species to survive the disturbance regime and competition from neighbours (Bernhardt-Römermann *et al.* 2011). Therefore, in the quest for nutrient limiting biomass production, we cannot rely only on threshold nutrient ratios (Pegtel *et al.* 1996; Venterink *et al.* 2003) or short-term factorial fertilization experiments. Instead, analyses of productivity gradients under specific management could unravel the nutrient limiting biomass production (Oelmann *et al.* 2009). We found that the gradient of biomass production in mown plots could be explained only with soil $C_{org} : N_{tot}$ which indicates N limitation (Fig. 4a). By contrast, high biomass production in grazed plots was connected to high plant-available P, low biomass N : P and low N : K suggesting PK co-limitation (Fig. 4b–d). Greater shortage of N under mowing while of P under grazing would be expected from the different nutrient acquisition strategies of vegetation. Non-leguminous forbs that dominated mown plots (Fig. 3a) have in general deep root systems and good ability to mobilize P (Fig. 1a and Fig. 3b this study; Karanika *et al.* 2007; Li *et al.* 2014). On the other hand, grasses prevailing in grazed plots are typified by shallow adventitious roots that are well adapted for N acquisition from mineralization of organic matter on the soil surface (Gibson 2009).

CRITICAL THRESHOLDS IN NUTRIENT RATIOS: DEVELOPMENT OF THE THEORY

Several studies reviewing the topic of nutrient limitation (Tessier & Raynal 2003; Güsewell 2004) concluded that there are no single thresholds in nutrient ratios for all vegetation types (habitats) to distinguish N limitation and

P limitation. In general, higher critical N : P ratios were reported from wetlands (Venterink *et al.* 2003) than from dry habitats (Mamolos, Vasilikos & Veresoglou 2005; Ninemets & Kull 2005). Nevertheless, up to now, mechanistic biological understanding of variability in critical nutrient ratios has not been found.

Noteworthy, the puzzle of suitable thresholds in nutrient ratios could be resolved using the knowledge of agronomists (Duru & Thélér-Huché 1997). We constructed ratios (N : P, N : K and K : P) from critical nutrient concentrations (see equations for their calculation in Appendix S1). Projecting these 'new' threshold values to one picture with those suggested by ecologists (Fig. 5) showed that the thresholds for N limitation and P limitation should change not only with biomass accumulation but could be a function of N deficiency in habitats. All nutrients are equally limiting biomass production when the nutrition indices (NNI, PNI and KNI) reach the same value. For example, optimal N- and P-nutrition (NNI = 100, PNI = 100) at biomass production level

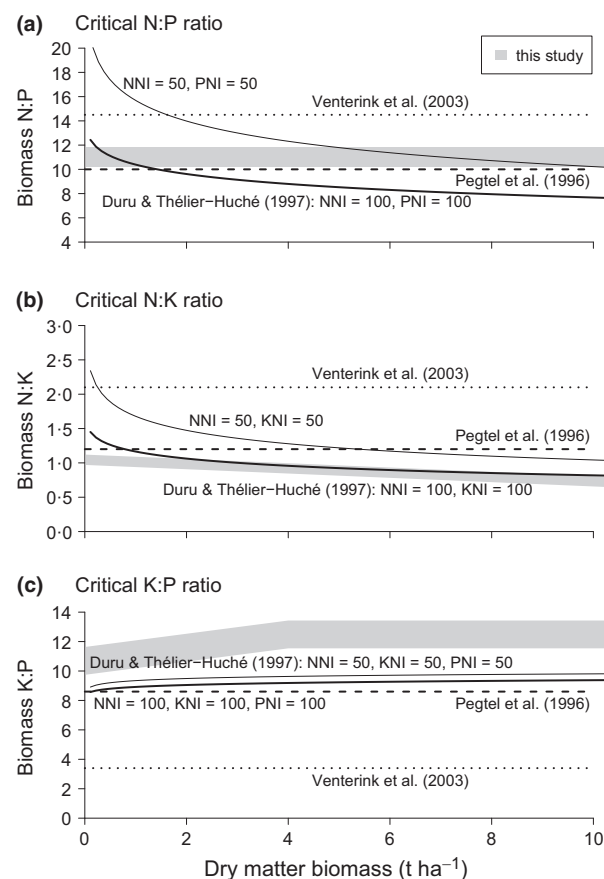


Fig. 5. Critical (a) N : P, (b) N : K and (c) K : P ratios suggested for indication of nutrient limitation by Pegtel *et al.* (1996) in all habitats (dashed line) and by Venterink *et al.* (2003) in wetlands (dotted line). Solid curves (the thin one for 50% nutrient deficiency) were constructed on the basis of critical nutrient concentrations by Duru & Thélér-Huché (1997), and only their approach assumes different dilution of N, P and K during biomass accumulation. Grey belt represents 95% confidence interval of the mean values measured in this study.

2 t ha⁻¹ gives threshold N : P = 9.6, while equally severe deficiency of both N and P (NNI = 50, PNI = 50) at the same production level produces threshold N : P = 14.0. Hence, the higher deficiency of N to support maximum growth, the higher the critical N : P ratio. Such a conceptual development in our view fully accords with literature evidence: (i) the vegetation N : P ratio has been shown to negatively correlate with Ellenberg indicator values for nutrients in several data sets (Güsewell 2004); (ii) N deficiency inhibits production of phosphatases because N is essential for this enzyme synthesis (Olander & Vitousek 2000); thus, plants dominant in N-poor environments (e.g. calcareous grasslands, heathlands) are adapted to very low P and characteristically have high biomass N : P (Schaffers & Sýkora 2002); (iii) biomass production in N-poor habitats is primarily limited by N even at relatively high vegetation N : P (15–20) because slow-growing plants (stress tolerators *sensu* Grime 2001) prevailing in these habitats are typified by low photosynthetic N-use efficiency (Poorter, Remkes & Lambers 1990), whereas they have high P retranslocation (Güsewell 2004); and (iv) slow-growing plants in N-poor habitats with lower metabolic rates are disproportionately more P poor than fast-growing plants as they need less P-rich rRNA than is required for rapid metabolism and growth (Reich *et al.* 2010). However, the term 'N-poor habitat' in our sense denotes a site where N is deficient in plant tissues to support maximum growth. Nitrogen availability in the soil or biomass N concentration itself without knowledge of biomass production level does not bring information about N deficiency. Hence, our data set with NNI around 50 (Fig. 2) comprised of N-limited habitats because the grey belt showing 95% confidence interval of the mean nutrient ratios (Fig. 5) is below critical N : P and N : K for NNI = 50 (Fig. 5).

CONCLUSIONS AND APPLICATIONS

This study shows the capacity of HNV grasslands to compensate for long-lasting nutrient removal of plant tissues by mowing and animal tissues by grazing. We found distinct patterns of nutrient limitation under mowing and grazing by analyses of productivity gradients, which were in concordance with different stoichiometry of plant and animal tissues (except for K). However, this dissimilarity between management treatments was neither captured by nutrient ratios nor by nutrition indices thus highlighting the need for cautious utilization of these quickly measurable tools (Oelmann *et al.* 2009).

We found evidence that non-leguminous forbs mobilizing P and grasses effectively capturing N represent valuable components of HNV grasslands for the maintenance of productivity. Thus, grassland management supporting coexistence of both groups should be encouraged. As mowing favour forbs while grazing grasses, we recommend designing agri-environmental measures that will promote alternating these management treatments. Combined management of grasslands has

been traditionally applied in the study region (Kunz 2005) as well as in other parts of the Carpathians (Babai, Molnár & Molnár 2014). It has been believed that meadows were grazed to increase grass tillering and achieve more dense sward, while pastures were mown to eradicate unpalatable plants. However, these activities could also help to balance grassland nutritional status and keep site productivity.

Acknowledgements

The research was funded by the projects RPV SP/2D3/179/07, MSM6215648905 and CIGA 42110/1313/3114. We thank Pavlína Hejduková, Martin Sochorec, David Opálka, Vilém Pavlů and Pavla Hejmanová for help with field measurements and for assistance with sample analyses. We are grateful to Jos Barlow, Jin-Tian Li, Petr Pavlík, Jana Tkáčiková and two anonymous reviewers for useful comments which substantially improved the structure and clarity of the paper.

Data accessibility

Data are available from the Dryad Digital Repository <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.j43p6> (Mládková *et al.* 2015).

References

- AOAC (1984) *Official Methods of Analysis*, 14th edn. AOAC, Washington, DC, USA.
- Babai, D., Molnár, Á. & Molnár, Z. (2014) *Traditional Ecological Knowledge and Land Use in Gyimes (Eastern Carpathians)*. MTA, Budapest, Hungary.
- Bernhardt-Römermann, B., Römermann, C., Sperlich, S. & Schmidt, W. (2011) Explaining grassland biomass – the contribution of climate, species and functional diversity depends on fertilization and mowing frequency. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 1088–1097.
- Black, C.L. (1965) *Methods of Soil Analysis, Part I and II*. American Society of Agronomy, Inc Publisher, Madison, WI, USA.
- Duru, M. & Thélier-Huché, L. (1997) N and P-K status of herbage: use for diagnosis of grasslands. *Diagnostic Procedures for Crop N Management* (eds G. Lemaire & I.G. Burns), pp. 125–138. Les Colloques INRA, Poitiers, France.
- Edwards, L.J., Muller, K.E., Wolfinger, R.D., Qaqish, B.F. & Schabenberger, O. (2008) An R² statistic for fixed effects in the linear mixed model. *Statistics in Medicine*, **27**, 6137–6157.
- Garnier, E., Lavorel, S., Ansquer, P., Castro, H., Cruz, P., Doležal, J. *et al.* (2007) Assessing the effects of land-use change on plant traits, communities and ecosystem functioning in grasslands: a standardized methodology and lessons from an application to 11 European sites. *Annals of Botany*, **99**, 967–985.
- Gibson, D.J. (2009) *Grasses & Grassland Ecology*. Oxford University Press, Oxford, USA.
- Gilbert, J., Gowing, D. & Wallace, H. (2009) Available soil phosphorus in semi-natural grasslands: assessment methods and community tolerances. *Biological Conservation*, **142**, 1074–1083.
- Grime, J.P. (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes and Ecosystem Properties*. Wiley, Chichester, UK.
- Güsewell, S. (2004) N : P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist*, **164**, 243–266.
- Hejman, M., Száková, J., Schellberg, J. & Tlustoš, P. (2010) The Rengen Grassland Experiment: relationship between soil and biomass chemical properties, the amount of applied elements and their uptake. *Plant and Soil*, **333**, 163–179.
- Jewell, P.L., Güsewell, S., Berry, N.R., Käufeler, D., Kreuzer, M. & Edwards, P.J. (2005) Vegetation patterns maintained by cattle grazing on a degraded mountain pasture. *Botanica Helvetica*, **115**, 109–124.
- Jongepierová, I. (2008) *Grasslands of the White Carpathian Mountains*. ZO ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou, Czech Republic.
- Karanika, E.D., Alifragis, D.A., Mamos, A.P. & Veresoglou, D.S. (2007) Differentiation between responses of primary productivity and

- phosphorus exploitation to species richness. *Plant and Soil*, **297**, 69–81.
- Keenleyside, C. & Opperman, R. (2009) A farmer-centred outlook to managing and to maintaining high nature value grasslands in Europe. *Grasslands in Europe of High Nature Value* (eds P. Veen, R. Jefferson, J. de Smidt & J. van der Straaten), pp. 293–303. KNNV Publishing, Zeist, The Netherlands.
- Kleijn, D. & Sutherland, W.J. (2003) How effective are European agri-environment schemes in conserving and promoting biodiversity? *Journal of Applied Ecology*, **40**, 947–969.
- Kunz, L. (2005) *Peasant Agriculture in Eastern Moravia Since Baroque to 2nd World War (Volume 2: Peasant Breeding of Sheep and Goats)*. Valašské muzeum v přírodě, Rožnov pod Radhoštěm, Czech Republic.
- Li, L., Tilman, D., Lambers, H. & Zhang, F.-S. (2014) Plant diversity and overyielding: insights from belowground facilitation of intercropping in agriculture. *New Phytologist*, **203**, 63–69.
- Liebisch, F., Bünemann, E.K., Huguenin-Elie, O., Jeangros, B., Frossard, E. & Oberson, A. (2013) Plant phosphorus nutrition indicators evaluated in agricultural grasslands managed at different intensities. *European Journal of Agronomy*, **44**, 67–77.
- Mamolos, A.P., Vasilikos, C.V. & Veresoglou, D.S. (2005) Vegetation in contrasting soil water sites of upland herbaceous grasslands. *Plant and Soil*, **270**, 355–369.
- 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.
- Mládek, J., Hejčman, M., Hejduk, S., Duchoslav, M. & Pavlů, V. (2011) Community seasonal development enables late defoliation without loss of forage quality in semi-natural grasslands. *Folia Geobotanica*, **46**, 17–34.
- Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejčman, M., Cruz, P., Jouany, J. & Pakeman, R.J. (2015) Data from: High-nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced by mowing and livestock grazing. *Dryad Digital Repository*, <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.j43p6>.
- Neuenkamp, L., Metsoja, J.-A., Zobel, M. & Hölzel, N. (2013) Impact of management on biodiversity-biomass relations in Estonian flooded meadows. *Plant Ecology*, **214**, 845–856.
- Niinemets, U. & Kull, K. (2005) Co-limitation of plant primary productivity by nitrogen and phosphorus in a species-rich wooded meadow on calcareous soils. *Acta Oecologica*, **28**, 345–356.
- Oelmann, Y., Broll, G., Hölzel, N., Kleinebecker, T., Vogel, A. & Schwartz, P. (2009) Nutrient impoverishment and limitation of productivity after 20 years of conservation management in wet grasslands of north-western Germany. *Biological Conservation*, **142**, 2941–2948.
- Øien, D.-I. & Moen, A. (2001) Nutrient limitation in boreal plant communities and species influenced by scything. *Applied Vegetation Science*, **4**, 197–206.
- Olander, L.P. & Vitousek, P.M. (2000) Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, **49**, 175–190.
- Ostatnická, J. & Matoušková, L. (2012) *Air pollution and atmospheric deposition in the Czech Republic in 2011*. Czech Hydrometeorological Institute, Prague, Czech Republic.
- Parfitt, R.L., Yeates, G.W., Ross, D.J., Mackay, A.D. & Budding, P.J. (2005) Relationships between soil biota, nitrogen and phosphorus availability, and pasture growth under organic and conventional management. *Applied Soil Ecology*, **28**, 1–13.
- Pavlů, V., Hejčman, M., Pavlů, L., Gaisler, J. & Nežerková, P. (2006) Effect of continuous grazing on forage quality, quantity and animal performance. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **113**, 349–355.
- Pavlů, L., Pavlů, V., Gaisler, J. & Hejčman, M. (2013) Relationship between soil and biomass chemical properties, herbage yield and sward height in cut and unmanaged mountain hay meadow (*Polygonum – Trisetion*). *Flora*, **208**, 599–608.
- Pegtel, D.M., Bakker, J.P., Verweij, G.L. & Fresco, L.F.M. (1996) N, K and P deficiency in chronosequential cut summer-dry grasslands on gley podzol after the cessation of fertilizer application. *Plant and Soil*, **178**, 121–131.
- Pinheiro, J., Bates, D. & DebRoy, S. (2012) *Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-103. <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Poorter, H., Remkes, C. & Lambers, H. (1990) Carbon and nitrogen economy of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant Physiology*, **94**, 621–627.
- Reich, P.B., Oleksyn, J., Wright, I.J., Niklas, K.J., Hedin, L. & Elser, J.J. (2010) Evidence of a general 2/3-power law of scaling leaf nitrogen to phosphorus among major plant groups and biomes. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **277**, 877–883.
- Rose, L. & Leuschner, C. (2012) The diversity–productivity relationship in a permanent temperate grassland: negative diversity effect, dominant influence of management regime. *Plant Ecology & Diversity*, **5**, 265–274.
- Schaffers, A.P. & Sýkora, K.V. (2002) Synecology of species-rich plant communities on roadside verges in the Netherlands. *Phytocoenologia*, **32**, 29–83.
- Schnyder, H., Locher, F. & Auerswald, K. (2010) Nutrient redistribution by grazing cattle drives patterns of topsoil N and P stocks in a low-input pasture ecosystem. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **88**, 83–195.
- Smits, N.A.C., Willems, J.H. & Bobbink, R. (2008) Long-term after-effects of fertilisation on the restoration of calcareous grasslands. *Applied Vegetation Science*, **11**, 279–286.
- Tadmor, N.H., Brieghet, A., Noy-Meir, I., Benjamin, R.W. & Eyal, E. (1975) An evaluation of the calibrated weight-estimate method for measuring production in annual vegetation. *Journal of Range Management*, **28**, 65–69.
- Tessier, J.T. & Raynal, D.J. (2003) Use of nitrogen to phosphorus ratios in plant tissue as an indicator of nutrient limitation and nitrogen saturation. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 523–534.
- Tilman, D., Reich, P.B. & Isbell, F. (2012) Biodiversity impacts ecosystem productivity as much as resources, disturbance, or herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 10394–10397.
- Venterink, H.O., Wassen, M.J., Verkroost, A.W.M. & De Ruiter, P.C. (2003) Species richness–productivity patterns differ between N-, P-, and K-limited wetlands. *Ecology*, **84**, 2191–2199.
- Venterink, H.O., Kardel, I., Kotowski, W., Peeters, W. & Wassen, M.J. (2009) Long-term effects of drainage and hay-removal on nutrient dynamics and limitation in the Biebrza mires, Poland. *Biogeochemistry*, **93**, 235–252.
- Weigelt, A., Weisser, W.W., Buchmann, N. & Scherer-Lorenzen, M. (2009) Biodiversity for multifunctional grasslands: equal productivity in high-diversity low-input and low-diversity high-input systems. *Biogeochemistry*, **6**, 1695–1706.
- Whitehead, D.C. (2000) *Nutrient Elements in Grassland: Soil-Plant-Animal Relationships*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Received 15 December 2014; accepted 8 May 2015

Handling Editor: Jin-tian Li

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Fig. S1–S2. Experimental design of long-term management experiments and photo documentation.

Fig. S3. Vegetation development under management treatments (2004–2013).

Fig. S4–S6. Relationships between respective soil- and plant-based measures of nutrient limitation.

Table S1. Characteristics of sites: soil and biomass parameters.

Table S2–S4. List of final models.

Table S5. Percentage contributions of the most abundant plant species.

Appendix S1. Calculation of nutrition indices (NNI, PNI and KNI).

Figure S1. Experimental design of long-term management experiments at both *Brachypodium* and *Festuca* sites (see <http://grasslandecology.euweb.cz/> – section Experimental fields where *Brachypodium* site corresponds to Brumov and *Festuca* site to Lopeník, i.e. villages situated nearby). There was a 2 ha paddock grazed by animals at each site in which an enclosure was built in 2004. The plots left fallow and mown plots were located within the enclosure while the grazed plots were situated outside. Such experimental design allowed animals to manifest natural grazing behaviour. Five blocks were situated at the contour lines in order management plots would have no initial difference in soil depth, fertility, inclination etc. Open squares (1, 2, 3) show the sampling design during one year of our study and closed squares represent permanent plots used for regular vegetation monitoring that started since 2004 (i.e. prior the beginning of the experimental manipulation).

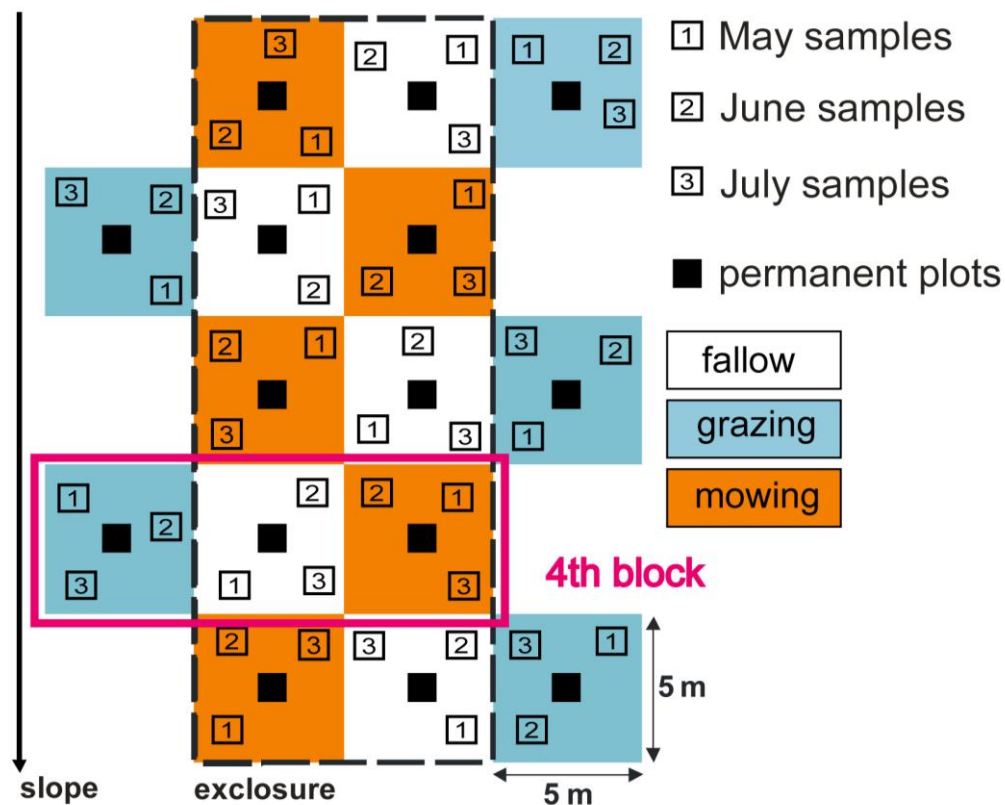


Table S1. Characteristics of sites: soil and plant biomass parameters averaged over three sampling dates (May–June–July) in both years (2011–2012). Different lower-case letters (‘a’ point to the lower values) show the significant differences at $P < 0.05$ between Fallow (F), Grazing (G) and Mowing (M) treatments obtained from REML analyses (n.s. – non-significant).

	units	<i>Brachypodium</i> site			<i>Festuca</i> site			<i>REML</i>		
		Fallow	Grazing	Mowing	Fallow	Grazing	Mowing	F	G	M
<i>Soil</i>										
pH (CaCl ₂)		5.4	5.3	5.3	4.3	4.2	4.3	n.s.		
C _{org}	g kg ⁻¹	42.6	45.2	41.4	31.0	30.6	32.0	n.s.		
N _{tot}	g kg ⁻¹	3.5	3.8	3.5	2.8	2.7	2.8	n.s.		
C _{org} :N _{tot}		12.0	12.0	11.9	11.1	11.2	11.3	n.s.		
available P	mg kg ⁻¹	16.5	14.7	17.6	35.3	29.3	32.3	b	a	b
available K	mg kg ⁻¹	274	257	222	116	125	102	b	b	a
available Ca	mg kg ⁻¹	3484	3601	3254	934	759	1059	n.s.		
available Mg	mg kg ⁻¹	212	211	204	139	120	139	n.s.		
<i>Plant biomass</i>										
N	g kg ⁻¹	17.4	15.7	15.9	20.3	16.2	16.4	b	a	a
P	g kg ⁻¹	1.4	1.3	1.5	1.8	1.6	1.6	b	a	ab
K	g kg ⁻¹	17.1	18.2	18.9	18.9	18.0	16.5	n.s.		
Ca	g kg ⁻¹	7.0	7.9	8.8	6.6	5.1	7.4	a	a	b
Mg	g kg ⁻¹	1.1	1.2	1.4	2.0	1.7	2.1	a	a	b
N:P		12.5	12.1	11.2	11.5	9.9	10.2	b	a	a
N:K		1.0	0.9	0.9	1.1	0.9	1.0	b	a	a
K:P		12.2	14.0	13.3	10.7	11.1	10.4	a	b	a
Harvested N	g m ⁻²	4.9	4.2	4.1	5.2	4.9	4.1	b	a	a
Harvested P	g m ⁻²	0.41	0.35	0.38	0.46	0.49	0.41	n.s.		
Harvested K	g m ⁻²	4.9	4.9	4.9	4.9	5.6	4.3	ab	b	a
Harvested Ca	g m ⁻²	2.0	2.1	2.4	1.8	1.7	2.1	a	a	b
Harvested Mg	g m ⁻²	0.33	0.33	0.36	0.53	0.54	0.59	n.s.		
DM biomass	g m ⁻²	292	274	268	271	322	273	n.s.		

Table S5. Percentage contributions of the most abundant plant species in the samples of aboveground biomass. Values represent means from all three sampling dates (May–June–July) in both years of observation (2011–2012). Different upper-case letters within each site indicate significant differences in contribution of species to community biomass (mixed effect models with management as fixed effect while date and year as random effects, DF = 82).

	<i>Brachypodium</i> site			<i>Festuca</i> site		
	fallow	grazing	mowing	fallow	grazing	mowing
Grasses	53.9	38.7	35.0	34.4	44.6	32.9
<i>Agrostis capillaris</i>	0.2 ^a	3.0 ^b	1.0 ^a	10.0 ^{ab}	13.4 ^b	7.5 ^a
<i>Anthoxanthum odoratum</i>				0.6 ^a	1.7 ^a	4.5 ^b
<i>Arrhenatherum elatius</i>	0.9 ^a	1.9 ^{ab}	3.0 ^b	4.1 ^c	2.3 ^b	0.9 ^a
<i>Brachypodium pinnatum</i>	40.9 ^b	17.0 ^a	14.3 ^a			
<i>Briza media</i>	0.2 ^a	1.6 ^b	1.3 ^b			
<i>Dactylis glomerata</i>	4.1 ^b	1.2 ^a	1.7 ^a	1.3 ^a	3.4 ^b	1.3 ^a
<i>Festuca pratensis</i>	3.0 ^b	4.2 ^b	1.6 ^a	1.3 ^a	3.7 ^b	0.7 ^a
<i>Festuca rubra</i>	2.4 ^a	3.1 ^a	2.1 ^a	14.5 ^a	12.7 ^a	14.2 ^a
<i>Holcus lanatus</i>	0.6 ^a	2.0 ^{ab}	5.5 ^b			
<i>Phleum pratense</i>				0.3 ^a	1.6 ^b	0.2 ^a
<i>Poa pratensis</i>	0.5 ^a	1.0 ^b	0.5 ^a			
<i>Trisetum flavescens</i>	1.1 ^a	3.7 ^b	4.0 ^b	2.3 ^a	5.8 ^b	3.6 ^a
Legumes	11.0	5.7	7.8	2.9	0.9	2.3
<i>Lathyrus pratensis</i>				2.9 ^b	0.9 ^a	2.3 ^b
<i>Securigera varia</i>	0.0 ^a	1.1 ^b	0.1 ^a			
<i>Trifolium medium</i>	11.0 ^b	4.6 ^a	7.7 ^{ab}			
Non-legume forbs	25.7	37.6	43.3	53.0	40.3	53.4
<i>Agrimonia eupatoria</i>	2.8 ^b	2.1 ^{ab}	1.3 ^a			
<i>Achillea millefolium</i>	2.0 ^a	3.0 ^a	3.1 ^a	1.7 ^b	1.7 ^b	0.6 ^a
<i>Alchemilla</i> spp.				10.9 ^b	3.8 ^a	9.0 ^b
<i>Anthriscus sylvestris</i>	2.9 ^a	0.7 ^a	2.1 ^a	2.0 ^a	1.2 ^a	0.4 ^a
<i>Centaurea jacea</i>	4.2 ^{ab}	2.0 ^a	4.8 ^b			
<i>Centaurea stenolepis</i>				9.4 ^a	12.5 ^a	12.6 ^a
<i>Convolvulus arvensis</i>	0.4 ^a	1.0 ^b	0.3 ^a			
<i>Crepis biennis</i>	0.0 ^a	1.7 ^b	2.0 ^b			
<i>Cruciata glabra</i>				2.1 ^b	0.7 ^a	1.2 ^{ab}
<i>Daucus carota</i>	0.3 ^a	5.4 ^c	2.6 ^b			
<i>Euphorbia cyparissias</i>	0.7 ^a	7.1 ^b	0.8 ^a			
<i>Fragaria viridis</i>	0.2 ^a	1.0 ^b	0.5 ^a			
<i>Galium verum</i>	6.1 ^a	6.2 ^a	15.0 ^b			
<i>Heracleum sphondylium</i>				1.0 ^a	1.3 ^a	2.0 ^a
<i>Hypericum maculatum</i>				14.7 ^b	4.4 ^a	7.4 ^a
<i>Hypericum perforatum</i>	0.4 ^a	0.9 ^{ab}	1.9 ^b			
<i>Knautia arvensis</i>				2.5 ^b	0.4 ^a	2.7 ^b
<i>Leontodon hispidus</i>				0.1 ^a	3.2 ^b	6.3 ^c
<i>Luzula luzuloides</i>				0.8 ^a	0.2 ^a	2.3 ^b
<i>Pastinaca sativa</i>	3.7 ^b	1.1 ^a	4.1 ^b			
<i>Plantago lanceolata</i>	0.0 ^a	1.2 ^b	0.8 ^b	0.2 ^a	0.9 ^b	1.7 ^c
<i>Ranunculus acris</i>				1.2 ^a	1.8 ^b	1.9 ^b
<i>Ranunculus polyanthemos</i>	0.9 ^a	2.7 ^b	2.7 ^b			
<i>Rumex acetosa</i>				3.5 ^b	3.0 ^b	1.7 ^a
<i>Taraxacum</i> sect. <i>Ruderalia</i>				0.3 ^a	3.1 ^b	2.1 ^b
<i>Veronica chamaedrys</i>	1.1 ^a	1.5 ^a	1.3 ^a	2.6 ^b	2.1 ^{ab}	1.5 ^a


 ECOLOGY LETTERS

Calcium plus magnesium indicates digestibility: the significance of the second major axis of plant variation for ecological processes

Journal:	<i>Ecology Letters</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Letters
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Mladkova, Pavla; Czech University of Life Sciences, Department of Ecology Mladek, Jan; Univerzita Palackeho Prirodovedecka Fakulta, Department of Ecology & Environmental Sciences Hejduk, Stanislav; Mendelova univerzita v Brne Agronomicka fakulta, Department of Animal Nutrition and Forage Production Hejcman, Michal; Czech University of Life Sciences, Department of Ecology Pakeman, Robin; The James Hutton Institute, Ecological Science
Key Words:	asterids, biomass, dicots, leaf dry matter content, leaf economics spectrum, monocots, nitrogen, phosphorus, rosids, rumen liquor

1
2
3 **1 Calcium plus magnesium indicates digestibility: the significance of**
4
5
6 **2 the second major axis of plant variation for ecological processes**
7
8
9
10
11

12 **4 Pavla Mládková¹, Jan Mládek^{2*}, Stanislav Hejduk³, Michal Hejzman¹ and Robin J.**
13 **5 Pakeman⁴**
14
15
16
17

18 *1 Department of Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life*
19 *2 Sciences, Kamýcká 1176, Prague 6–Suchdol, 165 21, Czech Republic*
20
21

22 *3 Department of Ecology & Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacký University,*
23 *4 Šlechtitelů 241/27, Olomouc, 783 71, Czech Republic*
24
25

26 *5 Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel*
27 *6 University, Zemědělská 1, Brno, 613 00, Czech Republic*
28
29

30 *7 The James Hutton Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom*
31
32

33 *8 *corresponding author: jan.mladek@upol.cz*
34
35
36
37

38 **16 AUTHORSHIP**
39

40 PM and JM conceived the hypothesis; JM, SH and MH designed the study; SH, JM, PM and
41 RJP collected data; PM conducted statistical analyses; JM and PM wrote the first draft of the
42 manuscript and all authors contributed substantially to revisions.
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abstract

Plant variation in nutrient concentrations encompasses two major axes. The first is connected to nitrogen (N) and phosphorus (P), reflects growth rate and has been designated as the leaf economics spectrum (LES) while the second follows the gradient in calcium (Ca) and magnesium (Mg), captures structural differences and mirrors phylogeny. Here, we tested whether the sum Ca+Mg concentrations is a better indicator of digestibility than recommended LES constituents. The two original LES constituents N and P explained 5.3 and 6.5% of the digestibility variation within date, respectively, while community leaf dry matter content three times more. However, all recommended LES constituents were greatly outperformed by Ca+Mg, which explained 43.3%. Thus, plant variation in partially substitutable divalent cations seems to play a significant role in biomass digestion by ruminants. This finding contests, together with recent litter decomposition studies, the prominent role of the LES for understanding both fundamental ecological processes.

Keywords

Asterids, biomass, dicots, leaf dry matter content, leaf economics spectrum, monocots, nitrogen, phosphorus, rosids, rumen liquor.

INTRODUCTION

The variation of plants in both structural and chemical attributes (Grime *et al.* 1997; Ågren & Weih 2012) and the links from these attributes to ecological processes such as litter decomposition and biomass digestion make up an enduring topic in functional ecology. Partitioning plant chemical variation into principal components has revealed the importance of two major axes. The first major axis reflects growth rate and is connected with nitrogen (N) and phosphorus (P) concentrations, i.e. elements that are needed in the metabolism of nucleic

1
2
3 45 acids and proteins. This axis characterizing differences between resource acquisitive and
4
5 46 conservative plants has been designated as the ‘leaf economics spectrum’ (LES) in a seminal
6
7 47 paper by Wright *et al.* (2004) and has been further sometimes called the ‘slow – fast
8
9 48 continuum’ (e.g. Garnier *et al.* 2016). The second major axis was several times independently
10
11 49 identified to be related to phylogeny (the deep evolutionary distinction between
12
13 50 monocotyledons vs. dicotyledons) and the best described by a gradient in Ca and Mg
14
15 51 concentrations (Garten 1978; Grime *et al.* 1997; Ågren & Weih 2012; Zhang *et al.* 2012). The
16
17 52 significance of the second axis for ecosystem functioning remains largely unrevealed,
18
19 53 probably due to the long emphasized need to filter out phylogeny when studying ecological
20
21 54 gradients (see de Bello *et al.* 2015).

22
23
24
25 55 However, several studies have identified Ca (Reich *et al.* 2005), Mg (Makkonen *et al.*
26
27 56 2012) or total base content (i.e. Ca+Mg+K; Cornelissen & Thompson 1997) as the best
28
29 57 predictors of litter decomposability. Similarly, biomass digestibility by ruminants has been
30
31 58 proved to be strongly correlated with foliar pH (Cornelissen *et al.* 2006), for which Ca and
32
33 59 Mg concentrations are important determinants (Pérez-Harguindeguy *et al.* 2016). Thus, for
34
35 60 both decomposability and digestibility, which have been shown to be related ecological
36
37 61 phenomena (Cornelissen *et al.* 2004), the second major axis of plant variation seems to be
38
39 62 very influential. However, extensive meta-analysis of litter decomposability (Cornwell *et al.*
40
41 63 2008), as well as studies of digestibility (Gardarin *et al.* 2014; Gos *et al.* 2016), have omitted
42
43 64 the importance of Ca and Mg (but see García-Palacios *et al.* 2016). Current ecological theory
44
45 65 (Garnier *et al.* 2016) still focusses on the significance of the LES for both decomposition and
46
47 66 digestion and recommends its structural (leaf dry matter content, LDMC) and chemical
48
49 67 constituents (N and P concentration) as the best predictors of these ecological processes (e.g.
50
51 68 Lavorel & Grigulis 2012). In other words, plant biomass with high N, P and low LDMC
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 69 should be the most decomposable and digestible. Is there a support for this paradigm in the
4
5 70 case of digestibility?
6

7 71 Plant tissue digestibility largely mirrors the proportion of cytoplasm and cell walls in
8
9 72 the material; thus the proportion of metabolic (leaves) to structural plant parts (stems) is
10
11 73 usually a good digestibility predictor at the plant level (Duru 1997; Bump *et al.* 2016). At the
12
13 74 community level (biomass sample is a mixture of different plant species), digestibility has
14
15 75 been shown to be connected with another measure of plant metabolic activity – community
16
17 76 weighted LDMC (Gardarin *et al.* 2014). Samples with high community LDMC contain
18
19 77 mainly biomass of species possessing a high proportion of cell walls (low proportion of
20
21 78 cytoplasm). Such species are typified by low water content (small vacuoles), low
22
23 79 concentration of metabolic elements (N, P and K) and thus slow relative growth rate. In
24
25 80 summary, low community LDMC and high biomass N, P and K concentrations are useful
26
27 81 indicators of the most easily digestible part of plant tissue (cytoplasm). The proportion of
28
29 82 cytoplasm captures just one dimension of plant digestibility; the second dimension concerns
30
31 83 the composition of cell walls. There are numerous polymeric cell-wall compounds that
32
33 84 substantially decrease digestibility – especially lignin (Cornelissen *et al.* 2004), but this is not
34
35 85 easy to measure.
36
37
38
39

40 86 In this paper, we test whether digestibility can be predicted better using simple
41
42 87 biomass concentrations of Ca and Mg. Calcium concentration could indicate a potential for
43
44 88 cell-wall disintegration, because a large proportion of Ca (up to 50%, Hawkesford *et al.* 2012)
45
46 89 is present as a part of pectin. In cell walls of dicotyledonous plants, this polymer replaces the
47
48 90 structural role of lignin, but contrary to lignin it is easily water soluble and digestible (Ben-
49
50 91 Ghedalia *et al.* 1989; Van Soest 1994). Magnesium in plant cells is especially required in
51
52 92 chlorophyll units (Conn & Gilliam 2010); its concentration has been shown to be connected
53
54 93 with larger epidermal cells and low leaf tensile strength (Grime *et al.* 1997). Thus, high Mg
55
56
57
58
59
60

1
2
3 94 could coincide with high metabolic activity and suggest easily digestible plant material. We
4
5 95 hypothesised that the sum of Ca and Mg concentrations would provide a robust predictor of
6
7 96 digestibility. There exists abundant evidence from distinct scientific disciplines (Fig. 1),
8
9 97 which justifies considering Ca+Mg to assess plant digestibility. Among these evidence for
10
11 98 partial mutual Ca and Mg substitutability in structuring plant tissues of the same species (e.g.
12
13 99 Alonso & Herrera 2001; Brady *et al.* 2005) is the most compelling.
14
15
16 100

17 18 101 **METHODS**

19 20 102 **Study sites and experimental design**

21
22 103 The study was carried out in the White Carpathian Mountains situated in the borderland
23
24 104 between the Czech Republic and Slovakia using the experimental design described in detail in
25
26 105 Mládková *et al.* (2015). Briefly, altogether 180 biomass and soil samples as well as
27
28 106 simultaneous vegetation records were collected from two long-term management experiments
29
30 107 during three sampling dates (May, June and July) in two years (2011 – 2012). At both sites
31
32 108 sampling of first growth biomass at all three sampling dates was undertaken from
33
34 109 experimental plots managed since 2004 (i.e. 7 years) either by mowing, grazing or left
35
36 110 abandoned. Three sampling dates corresponded roughly with three key phenological stages of
37
38 111 the grass *Dactylis glomerata* L. For the first date, *D. glomerata* was at the start of stem
39
40 112 elongation, for the second in full flower and for the third date *D. glomerata* seeds had ripened.
41
42
43
44
45 113

46 47 114 **Biomass chemical properties**

48
49 115 Dry matter (DM) content of harvested biomass was determined by drying at 55 °C to constant
50
51 116 weight in order to calculate DM standing biomass at each subplot. The Kjeldahl method was
52
53 117 used to determine N concentration in DM biomass (AOAC 1984). To determine P
54
55 118 concentration, a biomass sample was mineralized by acid digestion, treated with
56
57
58
59
60

1
2
3 119 molybdovanadate reagent and analyzed in a spectrophotometer (ICP OES analyzer, GBC,
4
5 120 Australia) at 430 nm (71/393/EEC). To determine K concentration, biomass samples were
6
7 121 ashed, dissolved in hydrochloric acid and analyzed by flame photometry in a
8
9 122 spectrophotometer in the presence of caesium chloride and aluminium nitrate (71/250/EEC).
10
11 123 To determine Ca and Mg concentrations, biomass samples were ashed, dissolved in dilute
12
13 124 hydrochloric acid and analyzed by atomic absorption spectrophotometry at 422.7 (ISO
14
15 125 6869:2000) and 285.72 nm (73/46/EEC), respectively. Digestibility was determined *in vitro*
16
17 126 using two techniques: rumen liquor fermentation (Tilley & Terry 1963) and the pepsin-
18
19 127 cellulase enzymatic procedure (Aufrère *et al.* 2007). The former is better suited for forages
20
21 128 containing a high proportion of dicotyledonous species due to its more realistic sensitivity to
22
23 129 plant secondary metabolites.
24
25
26
27
28

29 131 **Community weighted plant traits**

30
31 132 Prior to cutting of each forage sample, the proportion of biomass of all plant species present
32
33 133 was determined (see methodological details in Mládková *et al.* 2015). Hence, from species
34
35 134 sample proportions and species specific values of LDMC stored in the LEDA database
36
37 135 (Kleyer *et al.* 2008) we calculated community weighted LDMC. Out of 128 plant species
38
39 136 recorded we extracted LDMC values for 112. The sum of species biomass proportions with
40
41 137 known LDMC always exceeded 80% of dry matter biomass (Pérez-Harguindeguy *et al.*
42
43 138 2016). In addition, species were assigned into four major informal phylogenetic groups (basal
44
45 139 eudicots, asterids, rosids and monocots) according to the most recent classification (APG IV
46
47 140 2016), in order to calculate group-specific weighted means of LDMC and compare them at
48
49 141 the plot level (alpha trait diversity *sensu* Ackerly & Cornwell 2007).
50
51
52

53
54 142 Further, we made a literature survey to find measurements of Ca and Mg
55
56 143 concentrations (shoot or foliar) for all our 128 recorded plant species (see Appendix S1 in
57
58
59
60

1
2
3 144 Supporting information) excluding data from serpentine (ultramafic) bedrock, where plants
4
5 145 contain unusually high Mg at the expense of Ca (Brady *et al.* 2005). Concentrations were
6
7 146 found for 79 species. Due to high phylogenetic conservatism of both Ca and Mg (Thompson
8
9 147 *et al.* 1997) we used literature data of their closest relatives for the other 49 species. Both Ca
10
11 148 and Mg concentrations were used to calculate their community weighted means, in order to
12
13 149 find out whether actual Ca and Mg biomass concentrations could be predicted from species
14
15 150 specific literature measurements.
16
17
18
19

151

152 **Data analysis**

153 Digestibility strongly depends on season (phenology), thus in most cases we modelled
154 digestibility as residuals after filtering out the effect of sampling date but keeping the large
155 gradient between sites, years and management treatments. Further, we produced a conceptual
156 scheme that compares digestibility modelling in two distinct situations ‘within date’ (filtering
157 out sampling date) and ‘during the growing season’ (mixing all samples together). Normality
158 and homoscedasticity of residuals were always checked, and when necessary square-root or
159 logarithmic transformations were applied. Final models were selected according to the lowest
160 value of the Akaike Information Criterion (AIC). A summary of all models is presented in
161 supplementary information (Appendix S2). Finally, we produced a model using two variables
162 (one from ‘during season’ situation and one from ‘within date’ situation) with the help of a
163 contour plot, for which data were prepared in package *akima* (Akima 2015). Additionally, we
164 analyzed digestibility with mixed effect models (REML method) using package *nlme*
165 (Pinheiro *et al.* 2012), in which site, year and date were treated as random effects (Appendix
166 S3). This analysis was undertaken to demonstrate that sum Ca+Mg is a superior indicator of
167 digestibility also for the shortest ecological gradient, i.e. variation in biomass samples taken
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180

1
2
3 168 from one site in one particular date. All analyses were carried out with R 2.15.0 software
4
5 169 (www.r-project.org).
6

7 170

9 171 **RESULTS**

10 172 Measurements of digestibility by both techniques (rumen liquor vs. enzymatic) were strongly
11
12 173 correlated (Appendix S4), thus when speaking about digestibility we further report the results
13
14 174 of the former technique as it is better suited for forage including dicots. Digestibility
15
16 175 measurements were in the range 48.7–67.4% and its values declined during the season (May
17
18 176 average: 60.8; June: 56.6 and July: 56.0%) as a function of biomass accumulation (Appendix
19
20 177 S4). Therefore, we demonstrated the power of constituents of the first major axis (biomass N
21
22 178 and P concentration, community LDMC) for explanation of digestibility in two distinct model
23
24 179 situations: ‘within date’ and ‘during season’ and compared it with the power of constituents of
25
26 180 the second major axis (biomass Ca and Mg, Ca+Mg).
27
28
29
30

31
32 181 In the case of ‘within date’ analysis, biomass N concentration explained some
33
34 182 variation in digestibility (Table 1), but its importance according to model AIC was rather
35
36 183 weak. Subsequent analyses revealed that N is a reliable indicator of digestibility only in early
37
38 184 spring – for May samples (Fig. 2a). A similar picture also appeared for P and K (Table 1,
39
40 185 Appendix S2 – Table S2); that is for all three metabolic nutrients undergoing severe dilution
41
42 186 during seasonal biomass accumulation (Appendix S5). When assessing digestibility ‘within
43
44 187 date’ biomass N, P and K concentrations captured only 5, 7 and 7% of variation, but ‘during
45
46 188 season’ they explained 39, 37 and 31%, respectively (Fig. 3). Nevertheless, the best
47
48 189 digestibility indicator ‘during season’ was dry matter biomass with $R^2 = 40\%$ (Fig. 3), which
49
50 190 overshadowed the effects of N, P and K.
51

52
53
54 191 In parallel, ‘within date’ community LDMC described 18% of the digestibility
55
56 192 variation, more than N, P and K concentrations, but biomass proportion of dicotyledonous
57
58
59
60

1
2
3 193 plant species largely exceeded its importance with $R^2 = 38\%$ (Fig. 3; Appendix S2 – Table
4
5 194 S2). Further, community LDMC was shown to be a dependent upon the proportion of asterids
6
7 195 in the sample (Fig. 4a), because proportion weighted LDMC of monocots, rosids and asterids
8
9 196 coexisting in sampled plots clearly differentiated (Fig. 4b). Thus, it was not unexpected to
10
11 197 find that overall proportion of dicots (asterids + rosids + basal eudicots) explained 39% of the
12
13 198 variation in community LDMC (Fig. 3). Both these results helped to elucidate the low
14
15 199 potential of community LDMC in digestibility analyses. For LDMC, plant trait proved to be
16
17 200 useful for characterising acquisitive vs conservative life strategies in grasses, we newly
18
19 201 demonstrated its correlation with biomass Mg concentration extracted from the literature at
20
21 202 the species level ($R^2 = 46\%$, Fig. 4c) as well as at the community level ($R^2 = 71\%$, Appendix
22
23 203 S6). However, this relationship was valid only for monocots (here represented by 19 grass
24
25 204 species and three other monocots).

26
27
28
29 205 Evaluating digestibility ‘within date’, the constituents of the first major axis (leaf
30
31 206 economics spectrum) were significantly outperformed by constituents of the second major
32
33 207 axis (Table 1). Moreover, the sum Ca+Mg greatly surpassed the effect of the single Ca as well
34
35 208 as Mg biomass concentrations (Table 1) and explained 43% of digestibility variation ‘within
36
37 209 date’, even more than biomass proportion of dicots (39%) (Fig. 3). Multiple stepwise
38
39 210 regression (Appendix S7) nicely documented that positive effect of dicots on digestibility was
40
41 211 largely covered by the sum Ca+Mg, because dicots as the second most suitable indicator were
42
43 212 not included in the final most parsimonious model. Moreover, Ca+Mg concentration
44
45 213 performed better than N as a suitable digestibility indicator in the separate analyses of three
46
47 214 sampling dates (Fig. 2b). Further, extraction of Ca and Mg species specific values from
48
49 215 literature enabled a calculation of community weighted mean of their sum (abbrev.
50
51 216 Ca+Mg_{COM.W.} in Table 1). Although this literature-based variable was closely correlated with
52
53 217 measured biomass Ca+Mg concentrations (Appendix S6), it was a much poorer digestibility
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 218 indicator with $R^2 = 17.9\%$ (Table 1). Thus, explanation power of community Ca+Mg was
4
5 219 comparable with community LDMC ($R^2 = 17.5\%$), which was also not measured *in situ* but
6
7 220 taken from the LEDA traitbase.
8

9
10 221 In summary, analyses of both digestibility components ('within date' and 'during
11
12 222 season') detected that sum of Ca and Mg biomass concentrations and accumulated dry matter
13
14 223 biomass are the most important indicators (Fig. 3). Hence, the final model incorporating these
15
16 224 two parameters (Fig. 5; Appendix S2 – Table S6) was produced using following equation:
17

18
19 225
20
21 226
$$\text{Digestibility} = \beta_0 + \beta_1 \log(\text{dry matter biomass}) + \beta_2 (\text{biomass Ca+Mg concentration}) + \varepsilon$$

22

23 227
24
25 228 where $\beta_0 = 91.2$, $\beta_1 = -7.1$ and $\beta_2 = 0.74$. This model ($F = 135.3$; $P < 0.001$; $R^2 = 60\%$)
26
27 229 explained the digestibility of forages from species-rich grasslands without the need to know
28
29 230 the sample's origin (site, grassland management, sampling year and seasonal period).
30

31 231

32 232 **DISCUSSION**

33
34 233 This study convincingly shows that the second major axis of plant variation created by a
35
36 234 gradient in divalent cations appeared superior to the first axis in its explanation of
37
38 235 digestibility. Specifically, biomass Ca and Mg concentrations (and especially their sum) were
39
40 236 much better indicators of digestibility (Table 1, Fig. 2) than N and P concentrations, i.e.
41
42 237 constituents of the first axis that form the leaf economics spectrum (LES) (Wright *et al.*
43
44 238 2004). Such results oppose current ecological theory (Garnier *et al.* 2016), but they are not
45
46 239 surprising and unexpected. For instance, a synthetic paper by Cornwell *et al.* (2008) looking
47
48 240 at the association of different plant groups with decomposability (correlate of digestibility)
49
50 241 clearly demonstrated faster decomposition in forbs than in graminoids (the former having
51
52 242 much higher Ca and Mg concentration, e.g. Han *et al.* 2011). According to hypothesized
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 243 prominent role of the first axis, one might anticipate N fixers (with high N concentrations)
4
5 244 would have faster decomposition than non-fixers, but this was not the case (Cornwell *et al.*
6
7 245 2008).

8
9 246 For both digestibility and decomposability many recent studies identified community
10
11 247 LDMC as the single best indicator (Pakeman *et al.* 2011; Freschet *et al.* 2012; Gardarin *et al.*
12
13 248 2014; Bump *et al.* 2016). Community LDMC explained digestibility (better than N
14
15 249 concentration) also in our study. Some authors consider LDMC having a key role in the slow-
16
17 250 fast continuum (Laughlin *et al.* 2010; Hodgson *et al.* 2011, Lavorel & Grigulis 2012), thus it
18
19 251 could seem that LES controls rates of decomposition and digestion. However, our analyses
20
21 252 comparing LDMC of distant phylogenetic lineages co-occurring within plots (Fig. 4b) and
22
23 253 previous evidence by Ansquer *et al.* (2009) suggest that in species-rich systems gradients in
24
25 254 community LDMC mainly capture the phylogenetic differences. Asterids had on average
26
27 255 about 63 mg g⁻¹ lower LDMC than co-occurring rosids and about 100 mg g⁻¹ lower than
28
29 256 neighbouring monocots. Therefore, community LDMC was dependent upon the proportion of
30
31 257 asterids (Fig. 4a), which explained 74% of community LDMC variation. To our knowledge
32
33 258 LDMC was verified to be a good predictor of acquisitive *vs* conservative strategy only within
34
35 259 grasses (Pontes *et al.* 2007; Duru *et al.* 2010), but no study showed a LDMC connection with
36
37 260 the slow-fast continuum in dicotyledonous forbs. Given this evidence, it is questionable
38
39 261 whether community LDMC can be used as a constituent of LES (first major axis of plant
40
41 262 variation). Instead, we propose LDMC being a structural trait coupled with phylogeny and
42
43 263 with the second major axis of plant variation (i.e. variation in Ca and Mg). Indeed, even the
44
45 264 study by Laughlin *et al.* (2010), which wanted to justify LDMC as the constituent of LES,
46
47 265 unconsciously showed that only the major axis connected with LDMC significantly
48
49 266 discriminated between scores of monocots (graminoids) and dicots (forbs). Thus, it evidenced
50
51 267 that LDMC is not independent of phylogeny and therefore probably was not included in the
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 268 standard set of traits originally defining LES (Wright *et al.* 2004) despite the strong literature
4
5 269 support of this trait preceding LES definition (e.g. Wilson *et al.* 1999).
6

7 270 The significance of Ca and Mg concentrations have already been shown for litter
8
9 271 decomposability (García-Palacios *et al.* 2016), but this may be because biomass samples
10
11 272 always come from the same plant phenological stage (senesced leaves). For the assessment of
12
13 273 forage digestibility, it is crucial to know sampling date (phenological stage; see Gardarin *et al.*
14
15 274 2014). In this study, we adjusted sampling dates on sites according to phenology of *Dactylis*
16
17 275 *glomerata* (see Methods) and analyzed digestibility for two situations ‘during season’ and
18
19 276 ‘within date’. The conceptual scheme (Fig. 3) reveals that N and P explained digestibility
20
21 277 reasonably only ‘during season’, i.e. when samples from May, June and July were mixed and
22
23 278 phenological differences were not taken into account. However, this effect can be ascribed to
24
25 279 nutrient dilution during biomass accumulation (Duru & Ducrocq 1997; Appendix S5 in this
26
27 280 study), and therefore it is no surprise that accumulated dry matter biomass was an even better
28
29 281 indicator of digestibility than N.
30
31
32
33

34 282 When looking for the indicators of digestibility ‘within date’ (filtering out effect of
35
36 283 phenology, i.e. sampling date) we verified some explanatory power of community LDMC, but
37
38 284 it was greatly outperformed by sample proportion of dicotyledonous species (Fig. 3). This
39
40 285 accords with the literature, because dicot digestibility has been shown to be systematically
41
42 286 higher than co-occurring grasses (Hebblewhite *et al.* 2008; Duru *et al.* 2010). Nevertheless, a
43
44 287 leaf trait of some kind must underlie the better digestibility of dicots.
45
46

47 288 Our samples from studied species-rich grasslands contained on average 50% dicot’s
48
49 289 biomass (Mládková *et al.* 2015). Sample proportion of dicots explained 52% of variation of
50
51 290 the sum Ca+Mg concentrations – the best digestibility indicator (Fig. 3) which indirectly
52
53 291 suggests that higher Ca and Mg concentrations in dicots (Broadley *et al.* 2004; Han *et al.*
54
55 292 2011) are at least partly responsible for higher sum of divalent cations and better digestibility.
56
57
58
59
60

1
2
3 293 Concentrations of divalent cations are deeply phylogenetically conserved (see Thompson *et*
4
5 294 *al.* 1997; Zhao *et al.* 2016) so that the measured Ca+Mg in biomass samples was well
6
7 295 predicted by published Ca and Mg concentrations of individual plant species, i.e. by
8
9 296 community weighted Ca+Mg (Appendix S6). The high percentage of explained variability (R^2
10
11 297 = 48%) in our dataset and small variation of both Ca and Mg in response to fertilizers (White
12
13 298 *et al.* 2012) give a potential to include leaf Ca and leaf Mg in the standard set of plant
14
15 299 functional traits and describe its utility in the new edition of the trait handbook (Pérez-
16
17 300 Harguindeguy *et al.* 2016).

20 301 Summarizing current evidence, we know that dicot's pectin-rich cell walls are, in
21
22 302 contrast to lignin-rich walls of grasses, easily digested (Van Soest 1994). The proportion of
23
24 303 pectin in a dicot's cell walls is correlated to biomass Ca concentration, since Ca ensures the
25
26 304 rigidity of pectin matrix (Maathuis 2009). Magnesium contribution to better digestibility is
27
28 305 apparent from greater explanatory power of the sum Ca+Mg than of single Ca concentration
29
30 306 (Table 1). Despite frequently reported correlation of Ca and Mg in plant biomass (e.g. White
31
32 307 *et al.* 2015), Mg importance for biomass digestibility is probably partly independent from Ca.
33
34 308 The extraordinary broad plant trait study by Grime *et al.* (1997) showed Mg connection with
35
36 309 larger cells and low leaf tensile strength and here we newly uncovered (using literature data)
37
38 310 that high Mg concentration is connected with resource acquisitive species in monocots
39
40 311 (having low LDMC). This relationship emerged at both species and community level (Fig. 4c,
41
42 312 Appendix S6). Association of Mg with high metabolic rates (i.e. a high proportion of
43
44 313 cytoplasm) is corroborated by its need for photosynthesis as well as for energy transfer and
45
46 314 release from adenosine triphosphate (Maathuis 2009). Moreover, many plant species uptake
47
48 315 more Mg from soil solution when it is available in higher quantities at the expense of Ca
49
50 316 (Ericsson & Kähr 1995; Alonso & Herrera 2001, 2003), in order to ensure high growth rates
51
52 317 (Ågren & Weih 2012). Indeed, in our experiments Mg was preferred by plants over Ca where
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 318 its soil bio-availability was relatively higher (Table S1 in Mládková *et al.* 2015). At the
4
5 319 *Brachypodium* site Ca availability in soil was on average 16-times higher than Mg which
6
7 320 projected into plant biomass Ca:Mg ~ 7.6 whereas at the *Festuca* site Ca availability being
8
9 321 only 6-times higher than Mg resulted in biomass Ca:Mg ~ 5.0 (Appendix S8, this study).
10
11 322 General plant preference for Mg is firmly anchored in root cell physiology; there exist active
12
13 323 Mg transporters but only non-selective cation channels for uptake of Ca (Maathuis 2009).

14
15 324 Calcium and magnesium are coupled with high digestibility, not only due to their link
16
17 325 with easily dis-integrated cell walls (Ca) and high cytoplasm proportion (Mg), but also on
18
19 326 account of the ability of these divalent base cations to keep a neutral pH during digestion and
20
21 327 prevent rumen acidosis (Crawford *et al.* 2008). A pectin (and hence Ca) rich diet or feeding
22
23 328 ground dolomite (calcium magnesium carbonate) has been shown to create favourable
24
25 329 conditions for enzymatic digestion of cellulose, the main component of plant biomass (Ben-
26
27 330 Ghedalia *et al.* 1989; Crawford *et al.* 2008).

28
29 331 In conclusion, fundamental ecological processes such as biomass digestion by
30
31 332 ruminants and litter decomposition appear to be associated mainly with plant variation in Ca
32
33 333 and Mg concentrations (second major axis). Although community LDMC seems to be good
34
35 334 indicator of digestibility (Gardarin *et al.* 2014) as well as the related large herbivore
36
37 335 productivity (Pakeman 2014) and litter decomposability (Freschet *et al.* 2012), this should not
38
39 336 be considered as a support for the importance of the LES (first major axis), because gradient
40
41 337 in community LDMC in species-rich systems appears bound with phylogeny and hence with
42
43 338 the second major axis. In a view of this new evidence we advocate to change the ecological
44
45 339 paradigm and re-evaluate the prominent role of LES for control of these processes in future
46
47 340 studies.

48
49 341

50
51 342 **ACKNOWLEDGEMENTS**

1
2
3 343 The research was funded by the projects RPV SP/2D3/179/07, MSM6215648905 and CIGA
4
5 344 42110/1313/3114. We thank P. Hejduková, M. Sochorec and D. Opálka for help with field
6
7 345 measurements and Pablo Cruz (INRA Toulouse) for fruitful discussion about digestibility
8
9 346 determinants. RJP was supported by the Strategic Research Programme of the Scottish
10
11 347 Government's Rural and Environment Science and Analytical Services Division.
12
13 348

16 349 **DATA ACCESSIBILITY**

17
18 350 Should the manuscript be accepted, all data supporting the results will be archived in Dryad
19
20 351 Digital Repository and the data DOI will be included at the end of the paper.
21
22 352

25 353 **REFERENCES**

- 26
27 354 Ackerly, D.D. & Cornwell, W.K. (2007). A trait-based approach to community assembly:
28
29 355 partitioning of species trait values into within- and among-community components. *Ecol.*
30
31 356 *Lett.*, 10, 135–145.
- 32
33 357 Ågren, G.I. & Weih, M. (2012). Plant stoichiometry at different scales: element concentration
34
35 358 patterns reflect environment more than genotype. *New Phytol.*, 194, 944–952.
- 36
37 359 Akima, H. (2015). Package 'akima'. Interpolation of irregularly spaced data. [http://cran.r-](http://cran.r-project.org/web/packages/akima/akima.pdf)
38
39 360 [project.org/web/packages/akima/akima.pdf](http://cran.r-project.org/web/packages/akima/akima.pdf)
- 40
41 361 Alonso, C. & Herrera, C.M. (2001). Patterns made of patterns: variation and covariation of
42
43 362 leaf nutrient concentrations within and between populations of *Prunus mahaleb*. *New*
44
45 363 *Phytol.*, 150, 629–640.
- 46
47 364 Alonso, C. & Herrera, C.M. (2003). Developmental and spatial covariation of nutrients in
48
49 365 growing leaves of *Daphne laureola* and their relationships with herbivory. *New Phytol.*,
50
51 366 159, 645–656.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 367 Ansquer, P., Duru, M., Theau, J.-P. & Cruz, P. (2009). Convergence in plant traits between
4
5 368 species within grassland communities simplifies their monitoring. *Ecol. Indic.*, 9, 1020–
6
7 369 1029.
8
9
10 370 Aufrère, J., Baumont, R., Delaby, L., Peccatte, J.-R., Andrieu, J., Andrieu, J.-P. *et al.* (2007).
11
12 371 Préviation de la digestibilité des fourrages par la méthode pepsine-cellulase. Le point sur
13
14 372 les équations proposes. *INRA Prod. Anim.*, 20, 129–136.
15
16 373 AOAC (1984). *Official Methods of Analysis*. 14th edition. Association of Analytical Chemists,
17
18 374 Washington.
19
20 375 APG IV (2016). An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders
21
22 376 and families of flowering plants: APG IV. *Bot. J. Linnean Soc.*, 181, 1–20.
23
24 377 de Bello, F., Berg, M.P., Dias, A.T.C., Diniz-Filho, J.A.F., Götzenberger, L., Hortal, J. *et al.*
25
26 378 (2015). On the need for phylogenetic ‘corrections’ in functional trait-based approaches.
27
28 379 *Folia Geobot.*, 50, 349–357.
29
30 380 Ben-Ghedalia, D., Yosef, E., Miron, J. & Est, Y. (1989). The effects of starch- and pectin-rich
31
32 381 diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 24, 289–298.
33
34 382 Brady, K.U., Kruckeberg, A.R. & Bradshaw, H.D. (2005). Evolutionary ecology of plant
35
36 383 adaptation to serpentine soils. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 36, 243–266.
37
38 384 Broadley, M.R., Bowen, H.C., Cotterill, H.L., Hammond, J.P., Meacham, M.C., Mead, A. *et*
39
40 385 *al.* (2004). Phylogenetic variation in the shoot mineral concentration of angiosperms. *J.*
41
42 386 *Exp. Bot.*, 55, 321–336.
43
44 387 Bumb, I., Garnier, E., Bastianelli, D., Richarte, J., Bonnal, L. & Kazakou, E. (2016).
45
46 388 Influence of management regime and harvest date on the forage quality of rangelands
47
48 389 plants: the importance of dry matter content. *AoB Plants*, 8, plw045.
49
50 390 Conn, S. & Gilliam, M. (2010). Comparative physiology of elemental distributions in plants.
51
52 391 *Ann. Bot.*, 105, 1081–1102.
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 392 Cornelissen, J.H.C. & Thompson, K. (1997). Functional leaf attributes predict litter
393 decomposition rate in herbaceous plants. *New Phytol.*, 135, 109–114.
- 394 Cornelissen, J.H.C., Queded, H.M., Gwynn-Jones, D., Van Logtestijn, R.S.P., De Beus,
395 M.A.H., Kondratchuk, A. *et al.* (2004). Leaf digestibility and litter decomposability are
396 related in a wide range of subarctic plant species and types. *Funct. Ecol.*, 18, 779–786.
- 397 Cornelissen, J.H.C., Queded, H.M., van Logtestijn, R.S.P., Perez-Harguindeguy, N., Gwynn-
398 Jones, D., Díaz, S. *et al.* (2006). Foliar pH as a new plant trait: can it explain variation in
399 foliar chemistry and carbon cycling processes among subarctic plant species and types?
400 *Oecologia*, 147, 315–326.
- 401 Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O.
402 *et al.* (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates
403 within biomes worldwide. *Ecol. Lett.*, 11, 1065–1071.
- 404 Crawford, C.I., Keeler, C.D., Wagner, J.J., Krehbiel, C.R., Erickson, G.E., Crombie, M.B. *et*
405 *al.* (2008). Effects of calcium magnesium carbonate and roughage level on feedlot
406 performance, ruminal metabolism, and site and extent of digestion in steers fed high-grain
407 diets. *J. Anim. Sci.*, 86, 2998–3013.
- 408 Duru, M. (1997). Leaf and stem *in vitro* digestibility for grasses and dicotyledons of meadow
409 plant communities in spring. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 175–185.
- 410 Duru, M. & Ducrocq, H. (1997). A nitrogen and phosphorus herbage nutrient index as a tool
411 for assessing the effect of N and P supply on the dry matter yield of permanent pastures.
412 *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 47, 59–69.
- 413 Duru, M., Cruz, P. & Theau, J.P. (2010). A simplified method for characterising agronomic
414 services provided by species-rich grasslands. *Crop Pasture Sci.*, 61, 420–433.
- 415 Ericsson, T. & Kähr, M. (1995). Growth and nutrition of birch seedlings at varied relative
416 addition rates of magnesium. *Tree Physiol.*, 15, 85–93.

- 1
2
3 417 Freschet, G.T., Aerts, R. & Cornelissen, J.H.C. (2012). A plant economics spectrum of litter
4
5 418 decomposability. *Funct. Ecol.*, 26, 56–65.
6
7 419 García-Palacios, P., McKie, B.G., Handa, I.T., Frainer, A. & Hättenschwiler, S. (2016). The
8
9 420 importance of litter traits and decomposers for litter decomposition: a comparison of
10
11 421 aquatic and terrestrial ecosystems within and across biomes. *Funct. Ecol.*, 30, 819–829.
12
13 422 Gardarin, A., Garnier, E., Carrère, P., Cruz, P., Andueza, D., Bonis, A. *et al.* (2014). Plant
14
15 423 trait–digestibility relationships across management and climate gradients in permanent
16
17 424 grasslands. *J. Appl. Ecol.*, 51, 1207–1217.
18
19 425 Garnier, E., Navas, M.-L. & Grigulis, K. (2016). *Plant Functional Diversity. Organism traits,*
20
21 426 *community structure, and ecosystems properties.* Oxford University Press, Oxford, pp.
22
23 427 231.
24
25 428 Garten, C.T. (1978). Multivariate perspectives on the ecology of plant mineral element
26
27 429 composition. *Am. Nat.*, 112, 533–544.
28
29 430 Gos, P., Loucougaray, G., Colace, M.-P., Arnoldi, C., Gaucherand, S., Dumazel, D. *et al.*
30
31 431 (2016). Relative contribution of soil, management and traits to co-variations of multiple
32
33 432 ecosystem properties in grasslands. *Oecologia*, 180, 1001–1013.
34
35 433 Grime, J.P., Thompson, K., Hunt, R., Hodgson, J.G., Cornelissen, J.H.C., Rorison, I.H. *et al.*
36
37 434 (1997). Integrated screening validates primary axes of specialisation in plants. *Oikos*, 79,
38
39 435 259–281.
40
41 436 Han, W.X., Fang, J.Y., Reich, P.B., Woodward, F.I. & Wang, Z.H. (2011). Biogeography
42
43 437 and variability of eleven mineral elements in plant leaves across gradients of climate, soil
44
45 438 and plant functional type in China. *Ecol. Lett.*, 14, 788–796.
46
47 439 Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I.S. *et al.*
48
49 440 (2012). Functions of macronutrients. In: *Mineral nutrition of higher plants*, 3rd edition
50
51 441 [ed.] [Marschner, P.]. Academic Press, London, pp. 651.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 442 Hebblewhite, M., Merrill, E. & McDermid, G. (2008). A multi-scale test of the forage
4
5 443 maturation hypothesis in a partially migratory ungulate population. *Ecol. Monogr.*, 78,
6
7 444 141–166.
- 8
9 445 Hodgson, J.G., Montserrat-Martí, G., Charles, M., Jones, G., Wilson, P., Shipley, B. *et al.*
10
11 446 (2011). Is leaf dry matter content a better predictor of soil fertility than specific leaf area?
12
13 447 *Ann. Bot.*, 108, 1337–1345.
- 14
15
16 448 Kleyer, M., Bekker, R.M., Knevel, I.C., Bakker, J.P., Thompson, K., Sonnenschein, M. *et al.*
17
18 449 (2008). The LEDA traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European
19
20 450 flora. *J. Ecol.*, 96, 1266–1274.
- 21
22
23 451 Laughlin, D.C., Leppert, J.J., Moore, M.M. & Sieg, C.H. (2010). A multi-trait test of the leaf-
24
25 452 height-seed plant strategy scheme with 133 species from a pine forest flora. *Funct. Ecol.*,
26
27 453 24, 493–501.
- 28
29 454 Lavorel, S. & Grigulis, K. (2012). How fundamental plant functional trait relationships scale-
30
31 455 up to trade-offs and synergies in ecosystem services. *J. Ecol.*, 100, 128–140.
- 32
33
34 456 Maathuis, F.J.M. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr. Opin.*
35
36 457 *Plant Biol.*, 12, 250–258.
- 37
38 458 Makkonen, M., Berg, M.P., Handa, I.T., Hättenschwiler, S., van Ruijven, J., van Bodegom,
39
40 459 P.M. *et al.* (2012). Highly consistent effects of plant litter identity and functional traits on
41
42 460 decomposition across a latitudinal gradient. *Ecol. Lett.*, 15, 1033–1041.
- 43
44
45 461 Minson, D.J. (1990). *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press, Madison, pp. 483.
- 46
47 462 Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejcman, M., Cruz, P., Jouany, C. *et al.* (2015). High-
48
49 463 nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced
50
51 464 by mowing and livestock grazing. *J. Appl. Ecol.*, 52, 1073–1081.
- 52
53
54 465 Pakeman, R.J., Eastwood, A. & Scobie, A. (2011). Leaf dry matter content as a predictor of
55
56 466 grassland litter decomposition: a test of the ‘mass ratio hypothesis’. *Plant Soil*, 342, 9–57.
- 57
58
59
60

- 1
2
3 467 Pakeman, R.J. (2014). Leaf dry matter content predicts herbivore productivity, but its
4
5 468 functional diversity is positively related to resilience in grasslands. *PLoS One*, 9, e101876.
6
7 469 Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P. *et al.*
8
9 470 (2016). New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide.
10
11 471 *Aust. J. Bot.*, 64, 715–716.
12
13 472 Pinheiro, J., Bates, D. & DebRoy, S. (2012). Linear and nonlinear mixed effects models. R
14
15 473 package version 3.1-103. <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
16
17 474 Pontes, L.S., Soussana, J.-F., Louault, F., Andueza, D. & Carrère, P. (2007). Leaf traits affect
18
19 475 the above-ground productivity and quality of pasture grasses. *Funct. Ecol.*, 21, 844–853.
20
21 476 Reich, P.B., Oleksyn, J., Modrzynski, J., Mrozinski, P., Hobbie, S.E., Eissenstat, D.M. *et al.*
22
23 477 (2005). Linking litter calcium, earthworms and soil properties: a common garden test with
24
25 478 14 tree species. *Ecol. Lett.*, 8, 811–818.
26
27 479 Thompson, K., Parkinson, J.A., Band, S.R. & Spencer, R.E. (1997). A comparative study of
28
29 480 leaf nutrient concentrations in a regional herbaceous flora. *New Phytol.*, 136, 679–689.
30
31 481 Tilley, J.M.A. & Terry, R.A. (1963). A two-stage technique for the *in vitro* digestion of
32
33 482 forage crops. *Grass Forage Sci.*, 18, 104–111.
34
35 483 Van Soest, J.P. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd edition. Cornell University
36
37 484 Press, Ithaca, pp. 476.
38
39 485 White, P.J., Broadley, M.R., Thompson, J.A., McNicol, J.W., Crawley, M.J. *et al.* (2012).
40
41 486 Testing the distinctness of shoot ionomes of angiosperm families using the Rothamsted
42
43 487 Park Grass Continuous Hay Experiment. *New Phytol.*, 196, 101–109.
44
45 488 White, P.J., Bowen, H.C., Farley, E., Shaw, E.K., Thompson, J.A., Wright, G. *et al.* (2015).
46
47 489 Phylogenetic effects on shoot magnesium concentration. *Crop Pasture Sci.*, 66, 1241–
48
49 490 1248.
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 491 Wilson, P.J., Thompson, K. & Hodgson, J.G. (1999). Specific leaf area and leaf dry matter
4
5 492 content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytol.*, 143, 155–162.
6
7 493 Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D., Baruch, Z., Bongers, F. *et al.* (2004). The
8
9 494 worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428, 821–827.
10
11 495 Zhang, S.-B., Zhang, J.-L., Slik, J.W.F. & Cao, K. F. (2012). Leaf element concentrations of
12
13 496 terrestrial plants across China are influenced by taxonomy and the environment. *Global*
14
15
16 497 *Ecol. Biogeogr.*, 21, 809–818.
17
18 498 Zhao, N., Yu, G., He, N., Wang, Q., Guo, D., Zhang, X. *et al.* (2016). Coordinated pattern of
19
20 499 multi-element variability in leaves and roots across Chinese forest biomes. *Global Ecol.*
21
22 500 *Biogeogr.*, 25, 359–367.
23
24
25
26

27 SUPPORTING INFORMATION

28
29 503 Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.
30
31
32 504

33
34 505 **Appendix S1.** Average Ca and Mg biomass concentrations from published measurements for
35
36 506 all 128 recorded plant species

37
38 507 **Appendix S2.** Summary of models displayed on figures (Tables S1 – S6)

39
40 508 **Appendix S3.** Summary of mixed effect models (Table S7)

41
42 509 **Appendix S4.** Analyses: Fig. S1a – relationship between digestibility measurements by two
43
44 510 techniques; Fig. S1b – decline of digestibility as a function of biomass accumulation

45
46 511 **Appendix S5.** Decline in concentrations of metabolic nutrients during season as a function of
47
48 512 biomass accumulation: Fig. S2a – N dilution; Fig. S2b – P dilution; Fig. S2c – K dilution.

49
50 513 **Appendix S6.** Analyses: Fig. S3a – relationship between monocot-weighted Mg
51
52 514 concentration and monocot-weighted LDMC; Fig. S3b – relationship between measured
53
54 515 biomass Ca+Mg concentration and community weighted Ca+Mg concentration
55
56
57
58
59
60

1
2
3 516 **Appendix S7.** Multiple stepwise regression of digestibility 'within date'.
4

5 517 **Appendix S8.** Analyses: Fig. S4 – relationship between measured Ca and Mg biomass
6

7 518 concentrations at the experimental sites.
8

9 519
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Review Only

1
2
3 520 **Table 1.** Analyses of digestibility ‘within date’ (after filtering out the effect of sampling
4
5 521 period) using the set of plant traits connected with the first (N%, P% *sensu* Wright *et al.* 2004;
6
7 522 and LDMC *sensu* Hodgson *et al.* 2011) or second major axis of plant variation (Ca%, Mg%
8
9 523 and Ca+Mg%). The most parsimonious model is presented in bold; degrees of freedom =
10
11 524 1/178; BIOMASS (%) = measured biomass concentrations; COM. W. = community weighted mean.

Variable	Interc. (SE)	Slope (SE)	P	R ²	F	AIC
<i>Constituents of the first major axis (leaf economics spectrum)</i>						
N _{BIOMASS} (%)	-3.05 (0.99)	1.79 (0.57)	0.002	5.3	10.0	933.6
P _{BIOMASS} (%)	-3.19 (0.93)	20.7 (5.85)	<0.001	6.5	12.5	931.3
LDMC _{COM. W.} (g kg ⁻¹)	12.6 (2.07)	-0.05 (0.01)	<0.001	17.5	37.8	908.8
<i>Constituents of the second major axis</i>						
Ca _{BIOMASS} (%)	-6.07 (0.66)	8.5 (0.88)	<0.001	35.4	93.3	867.6
Mg _{BIOMASS} (%)	-6.80 (0.74)	43.1 (4.50)	<0.001	34.0	91.8	868.6
Ca+Mg_{BIOMASS} (%)	-7.81 (0.69)	8.96 (0.77)	<0.001	43.3	136.1	841.3
Ca+Mg _{COM. W.} (%)	-8.48 (1.41)	7.61 (1.25)	<0.001	17.9	37.31	909.2

525

526

527

528

529

530

531

532

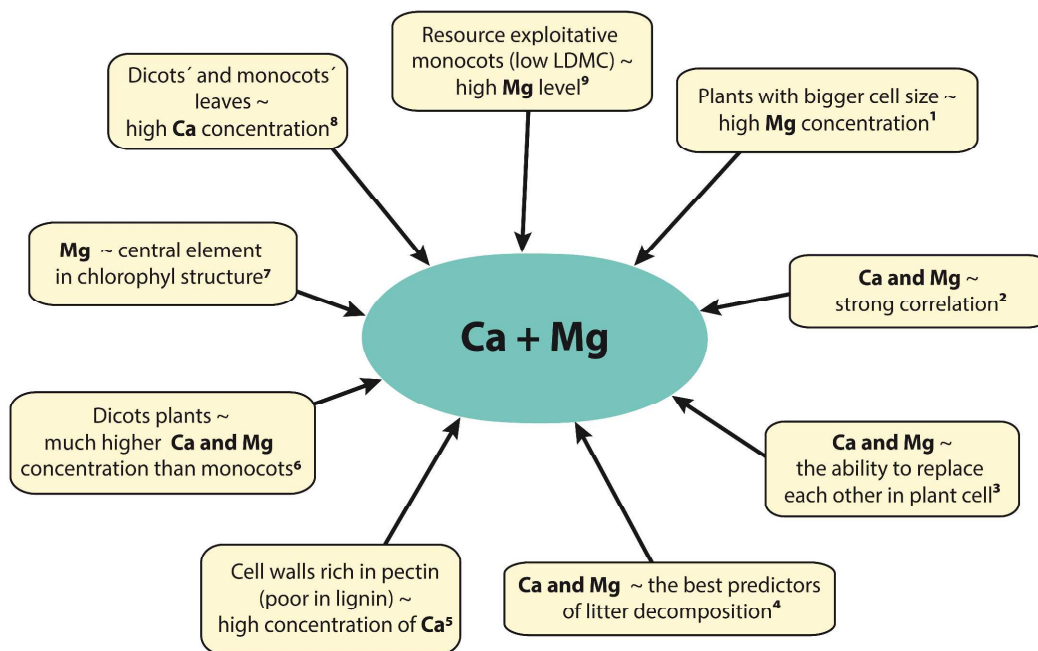
533

534

535

536

Why consider the sum of Ca + Mg ?



¹ Grime *et al.* 1997; ² Garten 1978; ³ White *et al.* 2015; ⁴ Alonso & Herrera 2001; ⁵ Brady *et al.* 2005; ^{6,7} Hawkesword *et al.* 2012; ⁸ Makkonen *et al.* 2012; ⁹ García-Palacios *et al.* 2016; ⁶ Broadley *et al.* 2004; ⁷ Conn & Gilliam 2010; ⁸ Minson 1990; ⁹ This study (Fig. 4 b)

537

538 **Fig. 1.** Overview of scientific evidence which supports the idea to consider sum of biomass
 539 Ca and Mg concentrations for the explanation of digestibility.

540

541

542

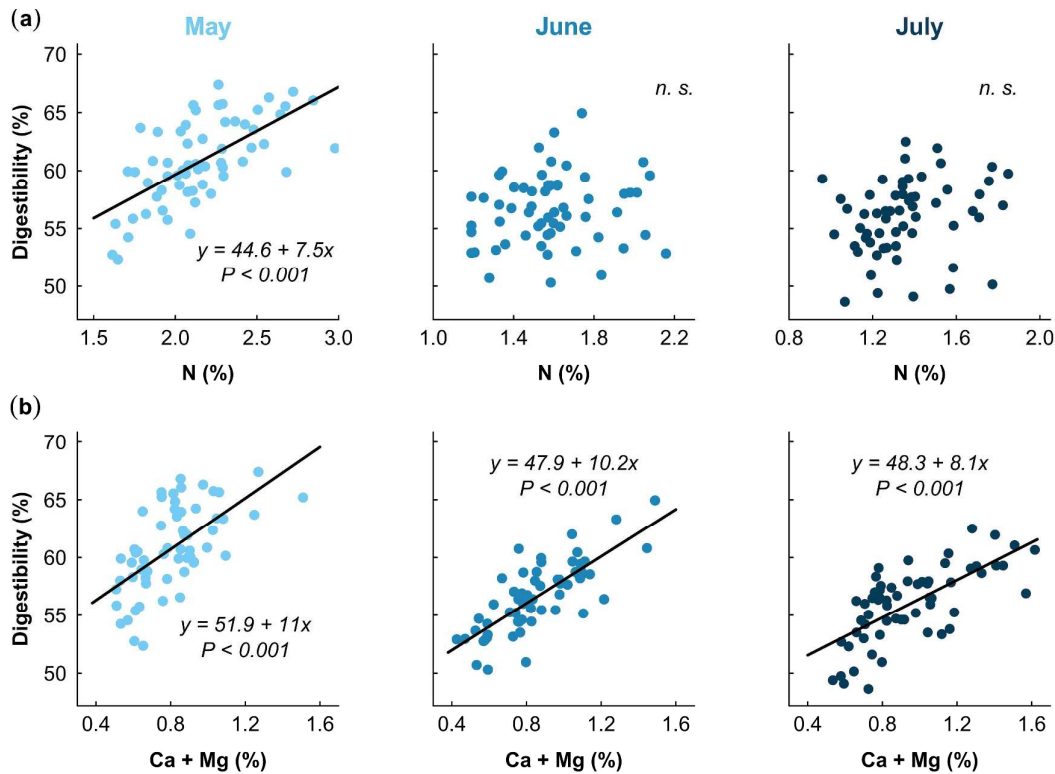
543

544

545

546

547



548

549 **Fig. 2.** Linear regression of digestibility on: (a) measured biomass nitrogen concentrations;

550 (b) sum of measured biomass calcium and magnesium concentrations; done separately for

551 three sampling dates (summary of models in Appendix S2 – Table S1).

552

553

554

555

556

557

558

559

560

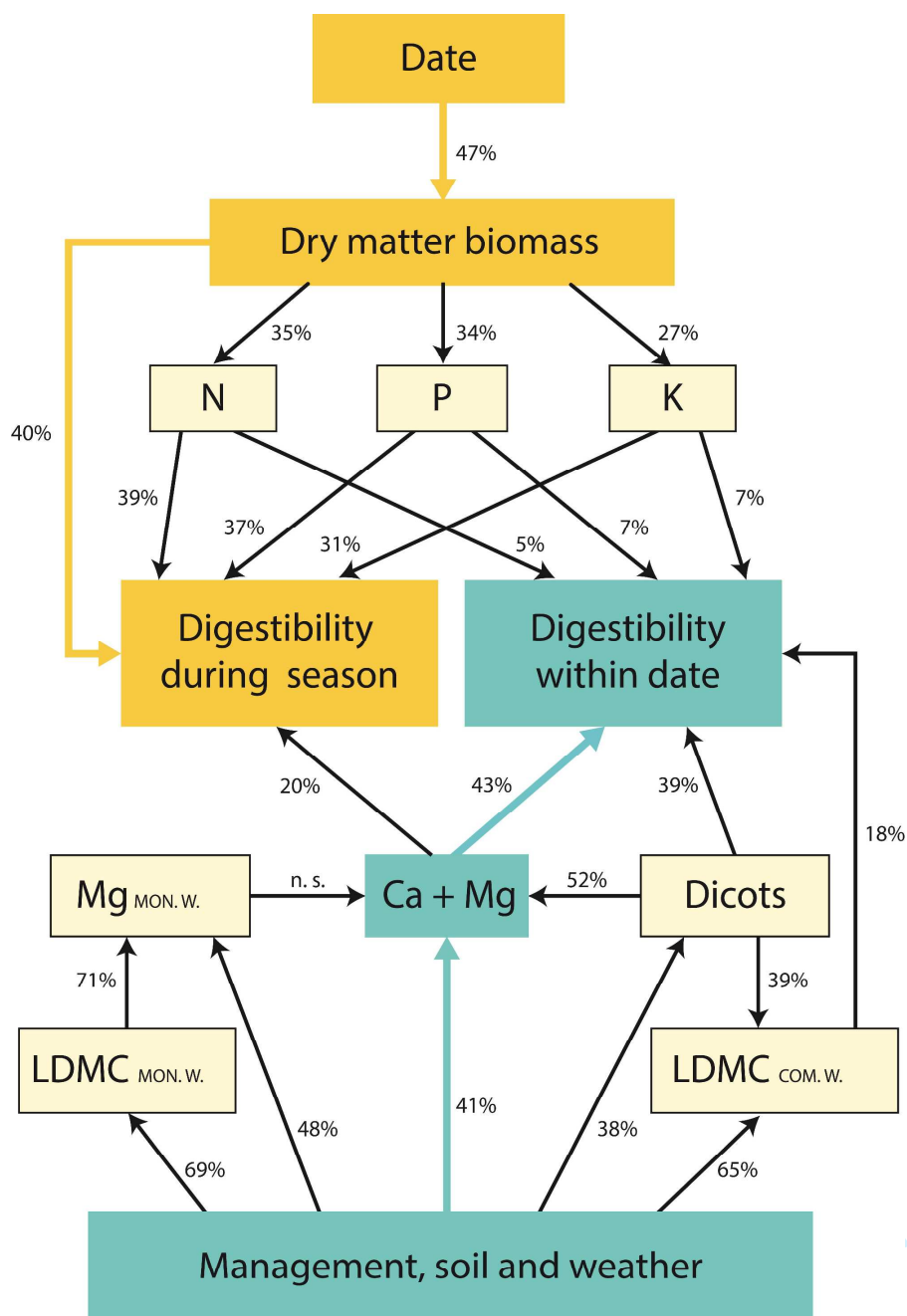
561

562

563

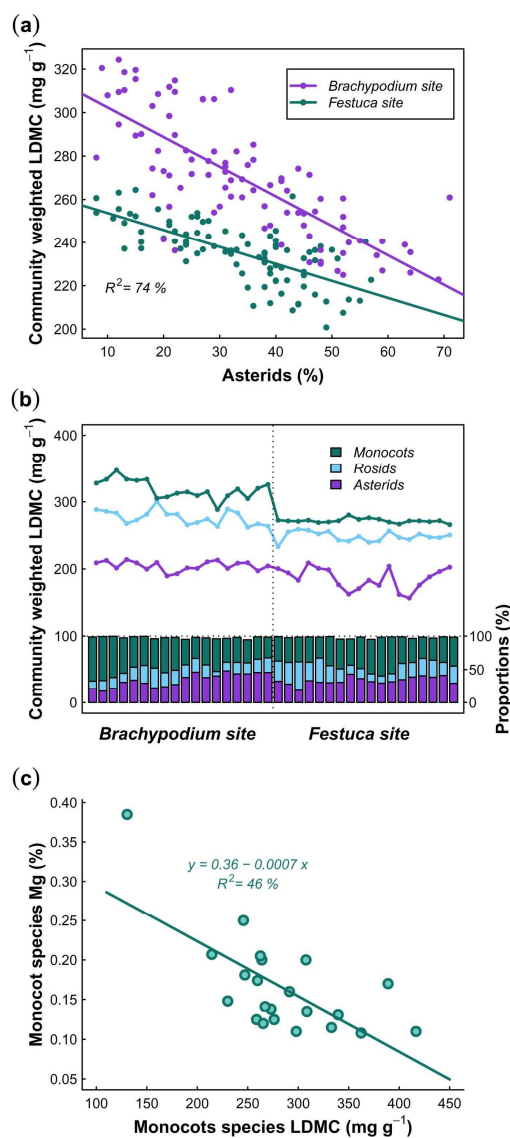
564

565



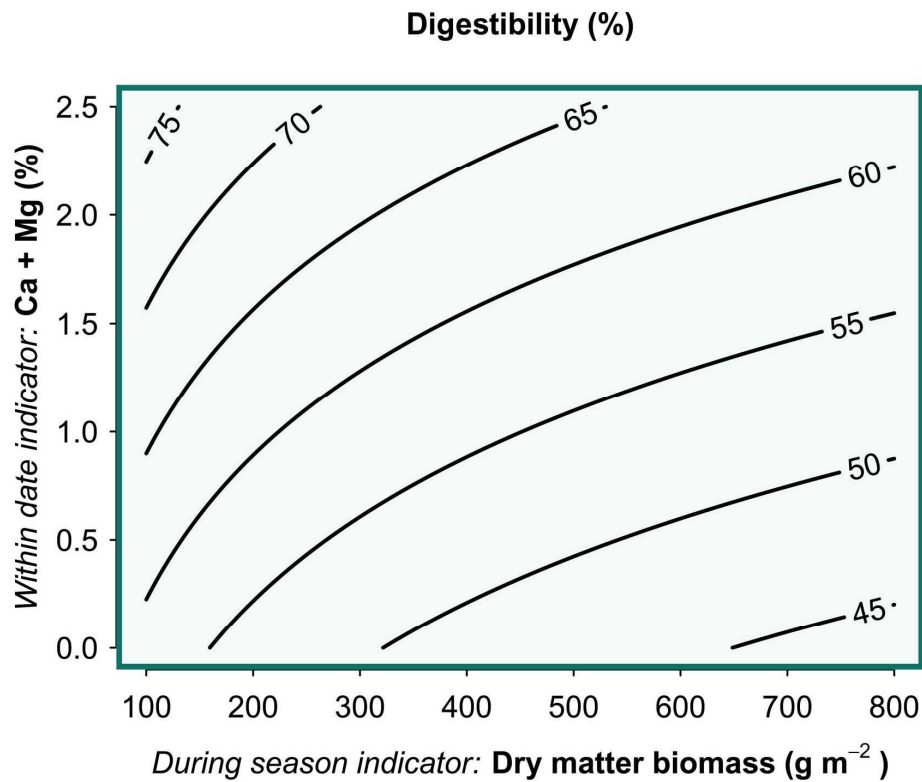
560

561 **Fig. 3.** Conceptual scheme showing the relationships between digestibility and its indicators
 562 in two distinct situations: ‘during season’ and ‘within date’ (list of models in Appendix S2 –
 563 Tables S2 – S3). The most important relations ‘during season’ and ‘within date’ are displayed
 564 in yellow and blue, respectively; COM. W. = community weighted mean; MON. W. = monocot
 565 weighted mean.



566

567 **Fig. 4.** (a) community leaf dry matter content (LDMC) as a function of the proportion of
 568 asterids in the sample at both study sites; (b) proportion weighted LDMC means for major
 569 phylogenetic groups (asterids, rosids, monocots) co-occurring in the experimental plots (one
 570 bar represents the average of five biomass samples collected in the same date at one site from
 571 independent replications of the same management treatment); (c) relationship between Mg
 572 concentration and LDMC for monocot species occurring at the experimental sites (species
 573 specific LDMC values were extracted from LEDA traitbase while foliar/shoot Mg
 574 concentrations were taken from published measurements – see Appendix S1).



31
32

575

33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

576 **Fig. 5.** Final model for the indication of digestibility from species rich grasslands without the
577 need to know sample's origin (site, grassland management, sampling year and date);
578 digestibility values are displayed as contours (model summary in Appendix S2 – Table S6).

Plant Trait Assembly Affects Superiority of Grazer's Foraging Strategies in Species-Rich Grasslands

Jan Mládek^{1*}, Pavla Mládková², Pavla Hejčmanová³, Miroslav Dvorský¹, Vilém Pavlu^{2,4}, Francesco De Bello⁵, Martin Duchoslav¹, Michal Hejčman^{2,4}, Robin J. Pakeman⁶

1 Department of Botany, Palacký University, Olomouc, Czech Republic, **2** Department of Ecology, Czech University of Life Sciences, Prague, Czech Republic, **3** Department of Animal Science and Food Processing in Tropics and Subtropics, Czech University of Life Sciences, Prague, Czech Republic, **4** Crop Research Institute, Prague, Czech Republic, **5** Department of Functional Ecology, Czech Academy of Sciences, Tøeboø, Czech Republic, **6** The James Hutton Institute, Aberdeen, United Kingdom

Abstract

Background: Current plant – herbivore interaction models and experiments with mammalian herbivores grazing plant monocultures show the superiority of a maximizing forage quality strategy (MFQ) over a maximizing intake strategy (MI). However, there is a lack of evidence whether grazers comply with the model predictions under field conditions.

Methodology/Findings: We assessed diet selection of sheep (*Ovis aries*) using plant functional traits in productive mesic vs. low-productivity dry species-rich grasslands dominated by resource-exploitative vs. resource-conservative species respectively. Each grassland type was studied in two replicates for two years. We investigated the first grazing cycle in a set of 288 plots with a diameter of 30 cm, i.e. the size of sheep feeding station. In mesic grasslands, high plot defoliation was associated with community weighted means of leaf traits referring to high forage quality, i.e. low leaf dry matter content (LDMC) and high specific leaf area (SLA), with a high proportion of legumes and the most with high community weighted mean of forage indicator value. In contrast in dry grasslands, high community weighted mean of canopy height, an estimate of forage quantity, was the best predictor of plot defoliation. Similar differences in selection on forage quality vs. quantity were detected within plots. Sheep selected plants with higher forage indicator values than the plot specific community weighted mean of forage indicator value in mesic grasslands whereas taller plants were selected in dry grasslands. However, at this scale sheep avoided legumes and plants with higher SLA, preferred plants with higher LDMC while grazing plants with higher forage indicator values in mesic grasslands.

Conclusions: Our findings indicate that MFQ appears superior over MI only in habitats with a predominance of resource-exploitative species. Furthermore, plant functional traits (LDMC, SLA, nitrogen fixer) seem to be helpful correlates of forage quality only at the community level.

Citation: Mládek J, Mládková P, Hejčmanová P, Dvorský M, Pavlu V, et al. (2013) Plant Trait Assembly Affects Superiority of Grazer's Foraging Strategies in Species-Rich Grasslands. PLoS ONE 8(7): e69800. doi:10.1371/journal.pone.0069800

Editor: Regina Lindborg, Stockholm University, Sweden

Received: February 1, 2013; **Accepted:** June 12, 2013; **Published:** July 26, 2013

Copyright: © 2013 Mládek et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by the projects VaV 620/11/03 and SP/2D3/179/07 funded from the Ministry of the Environment of the Czech Republic. Final completion of the paper was supported by Stapledon Memorial Trust (No. 219430) and CIGA 42110/1313/3114. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: jan.mladek@upol.cz

Introduction

The processes influencing patterns of diet selection have been brought together in optimal foraging theory which states that diet selection of a herbivore is influenced by the trade-off between the benefit of consuming a preferred diet, and the cost of handling and searching for it [1]. The diet composition selected by herbivores, therefore, usually substantially differs from the theoretically preferred diet, i.e. forage that the animals select when given a minimum of physical constraints. In heterogeneous grasslands, a herbivore's selection of the best quality components is impeded by their low abundance [2] and/or complex spatial distribution [3,4]. Especially in species-rich grasslands herbivores must solve two opposing problems: obtaining maximum quality and sufficient quantity (see review by Hejčmanová & Mládek [5]). This implies a trade-off in decision making which operates hierarchically at several spatial and temporal scales [6,7]. Two contrasting foraging

strategies, maximizing intake (MI) or maximizing forage quality (MFQ), may be adopted by herbivores under different environmental conditions [8–10]. The effectiveness of these strategies has been tested in models of plant – herbivore interactions [11,12] that each predicted the superiority of a MFQ over a MI strategy. Experiments with mammalian herbivores grazing plant monocultures [7,13,14] have also shown the superiority of a MFQ strategy.

Within a diverse grassland productive plant species or vegetation patches (favoring higher intake of biomass by herbivores) typically have high concentrations of fiber and low concentrations of nutrients, thus cause slower passage and digestion rates. Conversely, highly digestible plants/patches are often less productive (due to their short-living tissues) and allow only low intake rates [15]. It has been suggested that diet selection can be explained by the energy gain maximization hypothesis at all spatial scales [16]. However, the finer the scale the smaller the associated costs and benefits of selection, and the harder it is to

assess them by the animal [17]. Therefore, differential defoliation of feeding stations (defined as the area available to a herbivore without moving its front feet [6]) within a paddock might be ruled by the marginal forage value which needs to be determined first by sampling [10]. On the other hand, selection of plants within a feeding station seems to be ruled by the momentary maximization hypothesis [6], which assumes that herbivores instantaneously select relatively better forage from an array of plants that it can reach without moving. When the best remaining item at the feeding station is below a certain threshold, or when the rate of forage acquisition at that station falls below that threshold, the animal moves forward, establishing a new feeding station at which diet selection proceeds again [1]. As resources are gradually depleted, herbivores must return to sampling and generate a new threshold value [18]. Therefore a herbivore's short-term selection pattern may substantially differ from the long-term pattern and, for instance, general recommendations for pasture management based on outcomes of diet selection studies performed over only a few days may be misleading.

In species-rich grasslands, the MFQ – MI dilemma has been addressed only in a few controlled experimental [9,19] or observational [8] studies assessing diet selection in single vegetation units. Diet selection strategies have rarely been compared between communities (but see [20]), probably as a result of difficulties in assessing both quantity and quality in fine-grained, heterogeneous environments. Standing biomass and compressed sward height [21] are mainly used as indicators of forage availability (quantity). Organic matter digestibility has been highly recommended as an indication of forage quality [15,22], but this is not easily measurable and also does not usually exactly reflect the plant's palatability for herbivores [14]. Under field conditions palatability is affected by many plant mechanical structures (e.g. thorns, hairiness, rosette leaves) which are not assessed by laboratory measurements of forage quality. An alternative method for direct comparison of diet selection across distinct vegetation units has become available recently due to the development of plant functional classifications [23] and freely accessible databases of functional trait values for common European species [24,25]. At the species level forage quantity has been recognized as correlated with canopy height [26]. Organic matter digestibility, at least for grass species, negatively correlates with leaf dry matter content (LDMC) and positively with specific leaf area (SLA) [27]. A herbivore's selectivity for these leaf traits, which are considered the best indicators of resource exploitative *vs.* conservative strategies, remains largely untested (but see [12,28,29]). Forage quality is also modified by the maturity of species [14], and hence the diet selection pattern of certain herbivores is principally ruled by flowering period [15,30]. Another informative measure of forage quality would be the forage indicator value [31], which is freely accessible for most Central-European grassland species in BioFlor database [24] and is currently widely used in field studies [32,33] and models of plant – animal interactions [34]. This expert-based ordinal classification of grassland species originally developed by Klapp [35] is based on information of protein and mineral biomass concentrations, leaf/stem ratio, palatability, accessibility and seasonal duration of the plant's forage value for livestock.

The principal aim of our research was to compare patterns of diet selection in two different grassland types, mesic *Arrhenatherion* and dry broad-leaved *Bromion* grasslands, using plant functional traits. The selected grassland types provide distinct levels of both forage quantity (annual biomass production 4–6 t/ha in *Arrhenatherion* and 1–3 t/ha in *Bromion* grasslands [36]) and forage quality (during May and June ~70% organic matter digestibility in *Arrhenatherion* and ~60% in *Bromion* [37,38]). This distinction is

connected with dominance by resource exploitative (e.g. *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*) *vs.* resource conservative (e.g. *Brachypodium pinnatum*, *Bromus erectus*) species [39]. Both types are widespread in Central and Western Europe and very often serve as extensive sheep pastures [38]. As sheep (*Ovis aries*) are able to select better quality components at several spatio-temporal scales [7,13], we suppose that sheep adopt different foraging strategies in order to exploit differently allocated energy resources most efficiently. We addressed the following hypothesis: as mesic grasslands provide a sufficient amount of available biomass of high quality, sheep here selectively feed on high quality plots/plant species (adopting the MFQ strategy), in contrast, sheep grazing dry grasslands with generally low forage quantity and low quality select plots/plant species of greater biomass in order to fill their intestinal capacity and fulfill their basic metabolic requirements (adopting the MI strategy).

Materials and Methods

Study sites

Two distinct grassland types, mesic and dry grasslands, were selected to study grazing selectivity by sheep in the White Carpathians Mountains which are situated in the borderland between the Czech Republic and Slovakia. Within each grassland type, two independent sites were selected (Table 1). Mesic grasslands of the *Arrhenatherion elatioris* Luquet 1926 alliance included grassland 'Mesic1' (Brumov – Nad tunelem, 49°05'28"N, 18°01'40"E) and grassland 'Mesic2' (Petrůvka, 49°06'00"N, 17°49'00"E) with lower mean annual temperatures and higher mean annual precipitation than selected dry grasslands [40]. Dry grasslands of the *Bromion erecti* Koch 1926 alliance were represented by grassland 'Dry1' (Brumov – Klobucká, 49°05'57"N, 18°01'55"E) and grassland 'Dry2' (Suchovské Mlýny, 48°53'19"N, 17°33'50"E). All four sites had been unmanaged for ~15 years prior to the start of the study, therefore tall vegetation has established in all grasslands. Extensive rotational grazing with two grazing cycles per year was applied at all study sites. Approximately 80 cross-breed sheep of Walachenschaf, Merinolandschaf, Romney and Suffolk breeds grazed a 2-ha paddock for one month at each study site. All grasslands possess haplic cambisol soils developed on tertiary flysch sediments, consisting of

Table 1. Characteristics of sites within both grassland types, biotic parameters averaged over both years of observation.

	Mesic1	Mesic2	Dry1	Dry2
Altitude (m a.s.l.)	370	450	370	390
Aspect	NW	E	SW	SSW
Inclination (°)	19.0	15.3	17.9	18.8
MAT (°C)	6.9	6.8	7.9	7.7
MAP (mm)	800	780	760	730
Herb layer cover (%)	85.1	86.6	78.8	83.5
Moss layer cover (%)	5.7	13.1	34.1	30.9
Species richness (per site/0.07 m ²)	66/10	62/12	66/9	65/11
CSH before grazing (cm)	8.7±2.9	6.6±2.2	10.4±2.7	8.9±2.0
CSH after grazing (cm)	10.3±4.2	6.3±2.7	11.6±3.9	8.1±2.3

Note: MAT – mean annual temperature, MAP – mean annual precipitation [40], CSH – compressed sward height measured with rising-plate meter [21]; figure behind '±' standard deviation.

doi:10.1371/journal.pone.0069800.t001

alternating sandstone and rock clay layers of variable thickness [38].

Ethics statement

In all four sites our experiments were approved by private landowners, farmers and by the Administration of the White Carpathian Landscape Protected Area. All experiments were conducted in cooperation with farmers, who owned the grazing animals and supplied them regularly drinking water and mineral supplements. Sheep grazing was carried out in strict accordance with animal welfare and the recommendations stated in ‘The principles of good agricultural practice’ (Government Regulation No. 241/2004). The approval of the Animal Care and Use Committee of the Czech Ministry of the Environment was not necessary, because according to Czech law No. 246/1992 (§15: Protection of experimental animals, point 3f) permission is not needed when the acts do not cause the animal pain, suffering, distress or lasting harm.

Experimental design and species data collection

Four 34-meter parallel transects were marked out in each grassland. Transects followed the slope upwards and were placed two meters from one another. 18 permanent circle plots situated two meters apart were established on each transect and marked with an iron nail in the soil. The circle plots were 30 cm in diameter in order to approximate the plot to the sheep’s feeding station. In this rectangular grid of 72 monitoring plots we recorded the cover of the herb layer and moss layer. Further, species biomass proportions in each plot were estimated using a calibrated weight-estimate method [41]. At first, visual estimates of the absolute biomass of a species were calibrated by clipping and weighing in several training plots. When consistent estimates were attained, direct estimations of species proportions in the biomass of the studied plots were undertaken. Data collection prior to grazing was undertaken from 7 to 11 May at all sites in both years. We studied the effect of the first grazing cycle for two years (2005 and 2006) in one paddock at each site. Therefore, the rate of species defoliation was estimated using a grazed-class method [42] after one month of extensive sheep grazing for each species within each plot from 8 to 15 June. In order to avoid incorrect judgments we decided to select three broad classes of species defoliation: intact ~0% (0–1%; because of possible insect or snail defoliation), touched ~20% (1–40%), and eaten ~75% (40–100%; percentage mean moved to 75% due to slightly higher frequency of severely defoliated plants) of aboveground plant biomass grazed. The scale of species defoliation was determined visually by comparison with undefoliated plants in the neighboring paddocks grazed immediately after the experimental ones. The 21 most abundant species which were common in both sites of mesic type and 21 most abundant species common in both sites of dry type are given in Appendix S1 (see Supporting Information).

Furthermore, the compressed sward height (CSH) was measured with a rising-plate meter (plate diameter 30 cm, weight 0.2 kg [21]) in each plot before and after the first grazing cycle. Comparison of CSH measured before and after grazing allowed for an estimation of the overall grazing intensity.

Functional classification of species

The following traits (Table 2 contains their abbreviations used further in the Figures) were extracted from BiolFlor database [24] for all 139 herbaceous plant species occurring in all grasslands and years: guild (its detailed classification was converted to three broader classes – grasses: *Poaceae* family, legumes: *Fabaceae* family, forbs: all other herbaceous species), forage indicator value (ordinal

Table 2. Plot defoliation, biomass proportions of plant taxonomic groups and plot community weighted means of traits (including their abbreviations) averaged over both sites and years within grassland type, standard deviation in parentheses.

	Unit/ range	Grassland type			
		Mesic		Dry	
Plot defoliation	%	54 (18)	47 (19)		
Grasses	%	45 (21)	52 (21)		
Legumes	%	9 (10)	10 (11)		
Forbs	%	46 (20)	38 (19)		
Canopy height (Canopy)	m	0.42 (0.08)	0.41 (0.08)		
Forage indicator value (Forage)	1–9	5.3 (1.1)	4.4 (0.8)		
Onset of flowering (Flower)	1–12	5.5 (0.3)	5.5 (0.3)		
Leaf dry matter content (LDMC)	mg g ⁻¹	258 (28)	293 (28)		
Specific leaf area (SLA)	mm ² mg ⁻¹	21.7 (2.1)	20.4 (1.8)		

doi:10.1371/journal.pone.0069800.t002

scale from 1 indicating the lowest forage value to 9 indicating the highest value), onset of flowering (ordinal scale, in months); from the LEDA traitbase [25]: specific leaf area, leaf dry matter content and canopy height (distance between the highest photosynthetic tissue and the base of the plant).

Assessment of selection of plots within grassland type

In order to analyze sheep diet selection at the scale of a paddock (between plots), plot defoliation PD_j was calculated as follows:

$$PD_j = \sum_{i=1}^n (p_i \times g_i) \tag{1}$$

where p_i was the proportion of species i in plot j and g_i was the rate of defoliation of species i in plot j (three classes converted into percentages– 0, 20, 75), n was the number of species in plot j . Thus, plot defoliation could range between 0 and 75%. Further, we investigated the importance of plant functional traits for plot defoliation. Many studies have made evident that functional trait values of species may be scaled up to community weighted functional properties by weighting according to relative species abundances [23]. Therefore, community weighted means A_j of the above traits were calculated for each plot j as follows:

$$A_j = \sum_{i=1}^n (p_i \times t_i) \tag{2}$$

where p_i was the proportion of species i in plot j , t_i was the trait value of species i , n corresponded to the number of species in plot j .

Assessment of selection of taxonomic/functional groups of species within plots

Sheep selectivity within plots was evaluated using two different approaches: analyzing the selection of taxonomic group of species (grasses, legumes, forbs) and analyzing the selection of sum of species possessing higher trait values than the plot specific community weighted trait mean. Adopting the first approach,

we looked at exclusive selection of taxonomic groups of species. This was done accordingly: biomass proportions of species in the plot as well as the proportions of species in the diet were aggregated into the following pairs: grass : non-grass, legume : non-legume, forb : non-forb. Selectivity was assessed using Jacobs' selectivity index D_i [43] which ranges from -1 (absolute avoidance) to $+1$ (absolute preference).

$$D_i = (r_i - p_i) / (r_i + p_i - 2 \times r_i \times p_i) \quad (3)$$

where p_i was the biomass proportion of grasses (or legumes or forbs) in the plot and r_i was the proportion of the same group in the sheep diet in the respective plot. Before D_i computation the r_i was calculated separately for each plant species i using individual estimates of species defoliation rate g_i as follows:

$$r_i = (p_i \times g_i) / \sum_{i=1}^n (p_i \times g_i) \quad (4)$$

where n was the number of species in the plot.

The second approach was based upon the concept of momentary maximization at a feeding station [6]. This concept stimulated us to analyze which plant traits correlate to the sheep's perception of their feeding station (circle plot 30 cm in diameter) and hence are likely to drive its selection. According to the momentary maximization hypothesis a herbivore instantaneously selects relatively better forage from an array of plants that it can reach without moving, thus we computed community weighted trait mean at each plot (plot specific) and compared the trait values of all plant species present in the plot with this plot specific community weighted trait mean. For example, all plant species taller than the community weighted mean of canopy height in plot number 1 were put into one group and Jacob's selectivity for this group was calculated (this procedure was applied also in plot number 2, 3 ... 288). In general, selectivity was calculated for the group of species possessing higher trait values t_i than the plot specific community weighted mean A_j . First, proportions p_i of k species in plot j with higher trait values than plot specific community weighted mean A_j were summed:

$$P_j = \sum_{i=1}^k p_i | t_i > A_j \quad (5)$$

Further, diet proportions r_i of k species in plot j were summed as follows:

$$R_j = \sum_{i=1}^k r_i | t_i > A_j \quad (6)$$

Jacobs' selectivity from proportions P and R in plot j was calculated using equation 3.

Statistical analysis

As our dataset involved random effects, statistical analyzes were done with linear mixed effects models [44] where normality and homoscedasticity of residuals were always checked. First, we analyzed plot defoliation across both grassland types and subsequently performed the same analysis of plot defoliation for mesic and dry grassland types separately. Plot defoliation was the dependent variable, community weighted means of quantitative traits and the biomass proportions of taxonomic groups were considered as separate fixed effects while site code in a given year of observation as the only one random effect, because there was no spatial or temporal autocorrelation of plot defoliation at any site.

Analyzing diet selection within plots, sheep selectivity for plant traits was compared for mesic and dry grasslands using linear mixed effect models where Jacobs' D was the dependent variable, grassland type (mesic and dry) was treated as a fixed effect, while site code in a given year of observation was used as a random effect. Jacobs' selectivity for a particular trait was considered significantly positive/negative if the confidence interval did not involve a zero value [20]. Quantitative comparison of Jacobs' D values from different samples was appropriate as only two food types (e.g. grass *vs.* non-grass; group of species with higher LDMC than plot specific community weighted mean *vs.* group of species with lower LDMC than plot specific community weighted mean) were considered [45]. Linear mixed effects models were performed with R 2.10.1 software (www.r-project.org) using the 'nlme package' [46].

Results

Functional characteristics of grassland types and comparison of grazing intensity

The investigated grasslands showed similar abiotic characteristics (Table 1), but both dry grassland sites had higher mean annual temperatures, lower precipitation rates and a south-western aspect. Moreover, in the dry grasslands we recorded a lower cover for the herb layer, a higher cover of moss, lower community weighted means of forage indicator value and SLA, and a higher community weighted mean of LDMC (Table 2).

Comparison of compressed sward height before and after grazing (Table 1) showed that within each grassland type there was one site with greater grazing intensity (decreased average CSH after grazing in Mesic2 and Dry2) and one site with more extensive grazing (increased CSH in Mesic1 and Dry1). Therefore, patterns of diet selection in grassland types cannot be a product of grazing intensity.

Diet selection between plots

At first, plot defoliation was compared across both grassland types using a mixed effect model where grassland type, community weighted means of quantitative traits, biomass proportions of grasses and legumes and their first order interactions with grassland type were used as fixed effects (AIC = 4890.03). Simplification of the model using the Maximum Likelihood method [44] led to the final model (AIC = 4852.90) where grassland type, canopy height, forage indicator value, onset of flowering, LDMC, the proportion of grasses and only two interactions with grassland type remained (type : canopy height, $P < 0.001$; type : forage indicator value, $P = 0.003$). Significant interactions of both canopy height and forage indicator value with the grassland type were evidence that sheep employed different quantity/quality strategies when grazing mesic and dry grasslands. The considerable effect of grassland type on diet selection is clear from the different slopes of the regression lines (Fig. 1). Canopy height was not important for plot defoliation in mesic but increased plot defoliation in the dry grassland type. Forage indicator value enhanced plot defoliation in mesic, but was not important in dry grasslands.

Inspecting plot defoliation with separate mixed effect models (Table 3) we revealed that different community weighted means of traits affected the pattern of sheep diet selection in mesic and dry grasslands. In the mesic type, the most pronounced was the positive effect of forage indicator value, followed by the negative effect of LDMC and positive effects of SLA and the proportion of legumes. In the dry type, plot defoliation was promoted the most by greater canopy height, then by the proportion of grasses and

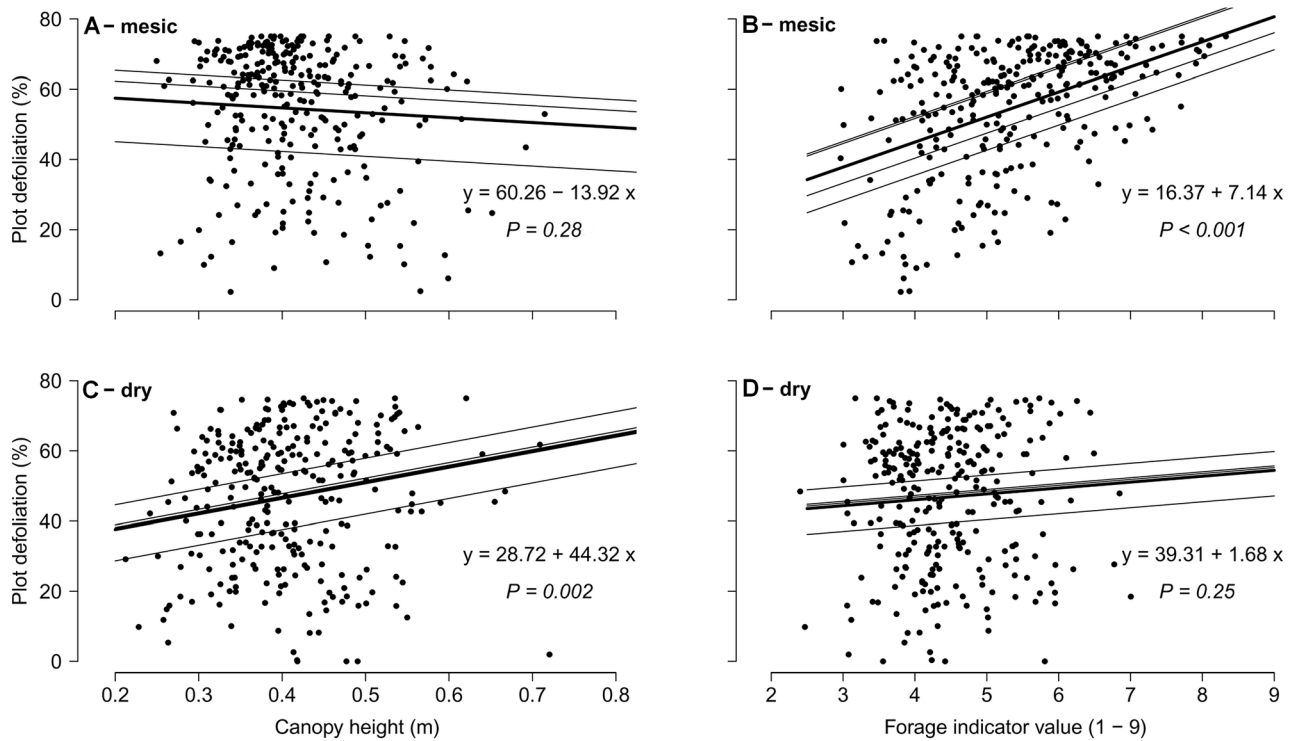


Figure 1. Relationship between plot defoliation and community weighted means of traits in mesic (A–B) and dry (C–D) grasslands. The four thin regression lines on each graph represent models for both sites in both years of observation (all levels of random effect), thick line (overlapping some thin lines) and its formula belongs to final mixed effect model. doi:10.1371/journal.pone.0069800.g001

later onset of flowering whereas a high proportion of forbs reduced sheep grazing on a plot.

Diet selection within plots

Evaluating the selection of the taxonomic groups of species (Fig. 2A) we detected positive selection of grasses while avoidance

of legumes (more pronounced in mesic grasslands) and forbs (more pronounced in dry grasslands).

Furthermore, consistently with diet selection between plots the within plot analyzes of functional traits showed a clear trade-off in selection on quantity in dry *vs.* quality in mesic grasslands (Fig. 2B). In the dry grasslands, with regard to the plot specific community weighted mean, sheep selected plant species with greater canopy height but not with higher forage indicator value (confidence interval involved zero). In the mesic grasslands, sheep exhibited a stronger positive selection of species with higher forage indicator value compared to dry grasslands (marginally significant $P=0.069$), and also selected species with greater canopy height but substantially less strongly than in the dry grasslands. Further, correspondingly to the pattern between plots, sheep selected plant species with a later onset of flowering only in the dry grasslands. Contrary to the selection between plots we found unexpectedly positive selection of species with higher LDMC and rather negative selection of species with higher SLA within plots in both mesic and dry grasslands.

Table 3. Linear mixed effect models where plot defoliation was dependent variable and every biomass proportion of taxonomic group or community weighted mean of quantitative trait was treated in the separate model and considered as fixed effect, while site code in a given year as random effect (degrees of freedom 1, 283).

	Mesic grasslands			Dry grasslands		
	Effect	F	P-value	Effect	F	P-value
<i>Biomass proportions of taxonomic groups</i>						
Grasses		0.01	0.94	+	7.07	0.0083
Legumes	+	10.44	0.0014		0.30	0.59
Forbs		2.44	0.12	–	8.25	0.0044
<i>Community weighted means of quantitative traits</i>						
Canopy		1.15	0.28	+	9.69	0.002
Forage	+	75.77	<0.001		1.30	0.25
Flower		1.19	0.28	+	4.34	0.038
LDMC	–	16.49	<0.001		0.01	0.94
SLA	+	15.43	<0.001		0.02	0.90

doi:10.1371/journal.pone.0069800.t003

Discussion

Our results indicate how foraging strategies of herbivores change according to the plant trait assembly, i.e. community weighted means of plant traits which are known to correlate with the quantity and quality of available resources. As we had assumed, the selected mesic grasslands were differentiated by higher community weighted means of forage indicator value and SLA, and a lower community weighted mean of LDMC (Table 2) – i.e. indicators of higher forage quality [27,47]. The supposed higher forage quantity (availability) in mesic grasslands was not due to vegetation height, as the community weighted mean of

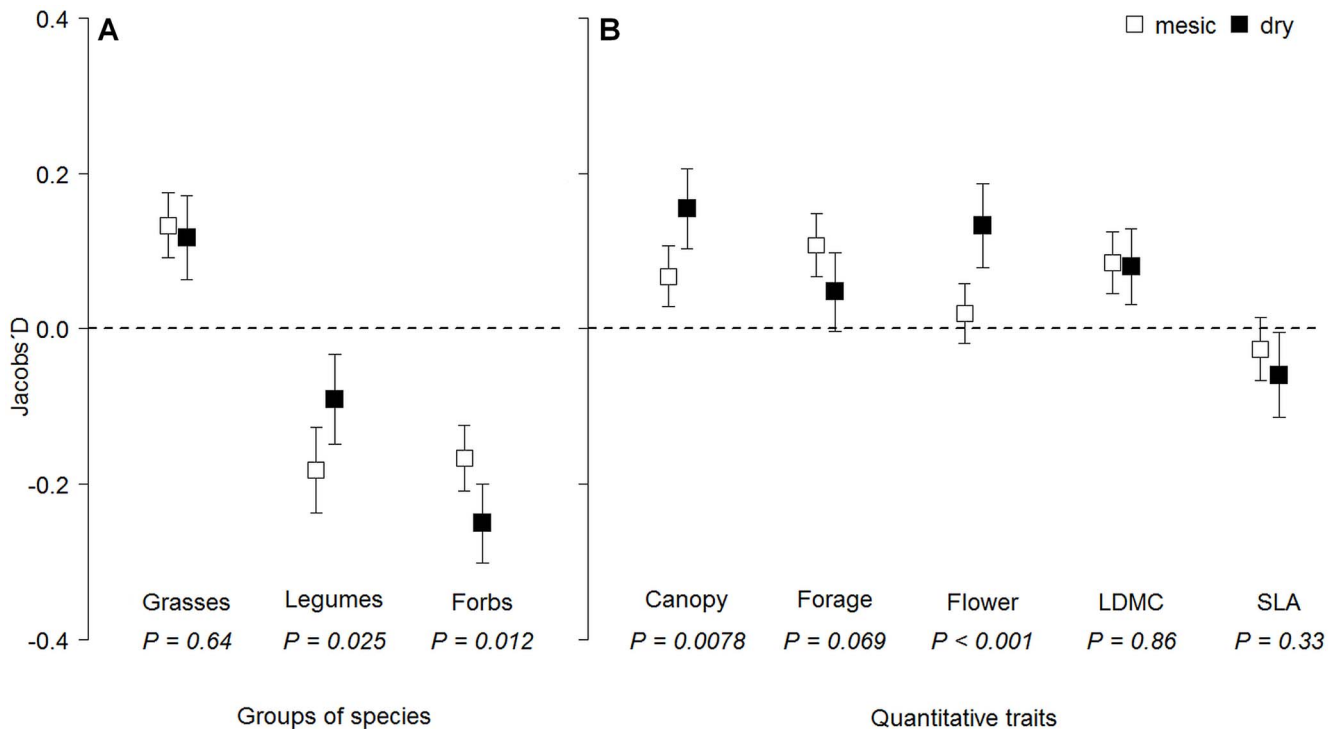


Figure 2. Sheep selectivity (Jacobs' D) within plots in mesic and dry grasslands. Selectivity for (A) taxonomic groups of species; (B) sum of species possessing higher trait values than plot specific community weighted trait mean. Selectivity was evaluated with Jacobs' D selectivity index ranging from -1 to 0 (avoidance) and from 0 to $+1$ (preference). Squares show means with 95% confidence interval (CI). Selectivity for a particular group/trait was considered significantly positive/negative if CI did not involve a zero value. doi:10.1371/journal.pone.0069800.g002

canopy height was in a similar range in both grassland types, probably because all sites had been unmanaged for a long time and tall species were favored. The higher quantity of forage in mesic grasslands was therefore due to higher vegetation density. We had assumed that different biomass would be well reflected by measurements of compressed sward height [21], but this was not the case because more rigid stems in dry grasslands probably magnified the measurements. Hence, the higher availability of forage for sheep in mesic grasslands was indicated by a higher cover of the herb layer. Moreover in dry grasslands, we recorded an average cover of the moss layer of almost three times higher than that in the mesic grasslands (Table 1), and high bryophyte biomass has been shown to be a good indicator of low herb layer density [48]. Our assumptions were met; sheep appeared to use the MFQ strategy in the mesic grasslands whilst they used the MI strategy in dry grasslands consistently across different spatial scales. This finding corresponds to the conclusion that smaller-bodied 'large herbivores' such as sheep are able to perceive and exhibit selectivity at multiple scales simultaneously [7]. Sheep exhibited a consistent pattern of selection at the community level (selection between plots) and at the plant level (selection within plots, i.e. feeding stations). Our findings might seem contradictory to the study by Thomas et al. [14], who reported higher sheep preference for highly nutritious plants when the vegetation was of low quality. However, their conclusions are based on an experiment in which sheep had free access to plant monocultures of equal size, so that the sheep grazing pattern was not constrained by low quantity and/or dispersed distribution of preferred plant species. Therefore these different conclusions are the consequence of preference and selection concepts, and direct comparison of their outputs deserves

further attention (up to now done only for invertebrate herbivores [12]).

Diet selection between plots – community level

As mesic grasslands provided forage of relatively high quantity sheep should benefit from a larger selection on quality. Indeed, sheep selected plots with higher forage indicator value, higher SLA, lower LDMC and lower canopy height (Table 3) which is in line with results of a study from fertile Argentinean steppe [28] that related community weighted means of traits and sheep selectivity. This foraging strategy corresponds to predictions from the dynamic model by Hutchings and Gordon [11] and empirical results by Garcia et al. [13], who both concluded that the MFQ strategy is the most efficient strategy for grazing throughout the season whatever the stocking rate. In dry grasslands, however, it seems that the cost paid by sheep for searching and/or handling of higher quality plots was not compensated by respective energy gain. This was probably because of the low forage quality (as shown by the low forage indicator value). In addition, low levels of plant biomass made it rather more efficient for sheep to maximize energy gain by selecting plots of higher quantity – i.e. plots with greater canopy height (cf. [2,9,49]). Sheep diet selection was associated with high proportion of grasses but also with later onset of flowering in dry grasslands (Table 3) which may indicate that beside a prime focus on forage quantity, sheep tended to maintain the quality of their diet as the later flowering species often exhibit better nutritional value in spring than early flowering species [50].

Diet selection within plots – plant level

Selection in a heterogeneous environment, where each species occurs with different abundance, should be evaluated with a

suitable selectivity index. We chose Jacobs' selectivity index rather than other indices for its low sensitivity to variations in relative species abundances [10,45]. Grasses were selected within plots instead of dicotyledons (both legumes and forbs) in both grassland types (Fig. 2A), which might be attributed to the period of grazing as several studies of sheep diet selection recorded that the initial spring preference for grasses shifted to dicotyledons in summer [8,51]. Probably, during our first grazing cycle (7–11 May until 8–15 June), the grass biomass had sufficient digestibility and sheep were not yet forced to choose dicotyledons, which maintain their nutritive value longer in the season [52], but may cause digestive problems due to secondary metabolites [22].

Many studies have shown a preference of sheep for legumes when grown with grasses [2]. Although sheep preferred plots with a high proportion of legumes (in mesic type), this group of plants was avoided within plots. Such a discrepancy can be explained by legume's ability to enrich soil with nitrogen and thus support growth and leaf nitrogen concentration of neighboring species [53]. Thus, sheep selectivity of plots with a high proportion of legumes might be rather caused by this indirect effect than by forage quality of diverse legumes in semi-natural grasslands which is on average much lower than that of *Trifolium repens*, commonly used as the legume in diet selection studies.

Assessment of product of maximizations within plot – significance of functional traits

The momentary maximization hypothesis [6] assumes that a grazing animal selects a diet from a sensorially defined array of plants that it can reach without moving (i.e. within the feeding station). Although we did not observe the instantaneous decisions of animals within the feeding station, we were interested in the final effect of several momentary decisions made by different animals during the first grazing cycle in our permanent plots (30 cm in diameter). We supposed that sheep are able to perceive an 'average forage value' and select relatively within a plot. In order to assess a product of all within-plot momentary maximizations, we performed an analysis of selection for the sum of species possessing a higher trait value than the plot specific community weighted mean (see Methods). The results revealed the importance of plant traits for relative within-plot selection over a one month period. Even in this aspect of selection, sheep applied the MFQ strategy (indicated by forage indicator value) in mesic grasslands and the MI strategy (canopy height) in dry grasslands (Fig. 2B). Moreover, within plots sheep also favored later flowering species in dry grasslands, and thus confirmed that early phenological stages of plants are preferably grazed by herbivores as these should have higher nutritional quality in terms of available energy and protein [30].

As for grasses digestibility negatively correlates with LDMC and positively with SLA [27], positive selection of plant species with higher SLA or lower LDMC might be expected [29]. However, reverse patterns of selection were found within plots (Fig. 2B). Such a result could be attributed to the high proportion of the grassland biomass created by dicotyledons (55 and 47% of the total in mesic and dry grasslands, respectively). Moreover, by analyzing species pools at each site we found no relationships between species forage indicator value and SLA or LDMC. Consistent with our results, Cingolani et al. [28] reported that SLA is not a good predictor of forage quality at the plant level as sheep surprisingly selected plants with tougher leaves. This is in line with positive

selection of plants with higher LDMC within plots in both our grassland types, and corresponded to positive selection of grasses instead of dicotyledons (Fig. 2A) as grasses occurring within the grassland patch generally possess higher LDMC than their surrounding dicotyledonous neighbors [54].

Conclusions

We have shown here, for the first time to our knowledge, that foraging strategies of selective mammalian grazers such as sheep might be modulated by plant trait assembly. Although studied species-rich grasslands (on average 65 species per site) shared many plant species (Appendix S1), the predominance of resource-exploitative or resource-conservative plants led sheep to adopt different foraging strategies. When forage is abundant and offers a choice of highly nutritious species, the MFQ strategy appears to be the most favorable. On the other hand, if the sward consists mainly of species of low forage indicator value the MI strategy seems to be more efficient in maximizing energy gain. Such contrast in herbivore exploitation of abiotically divergent habitats may be likened to differences between the MFQ strategy adopted in spring and the MI strategy being valid in autumn and winter [8,10]. These temporal alterations of foraging strategies are related to high food availability and high quality in spring in contrast to low availability and low quality late in the season. Such temporal differences are analogical to the differences in forage characteristics between mesic *vs.* dry grasslands which are induced by divergent environmental conditions. The point where the shift between MFQ and MI strategies occurs will likely vary depending on the size of the herbivore: smaller herbivores will be capable of continuing longer with the MFQ strategy as overall forage quality declines (cf. [7]). We advocate performing more studies of diet selection in semi-natural grasslands differing in plant trait assembly, this could provide better understanding of various grazer effects under different environmental conditions, which has puzzled ecologists for a long time [28,50,55,56] and remains to be fully resolved.

Supporting Information

Appendix S1 Frequency and biomass proportion of the most abundant plant species. Note: Original dataset is not deposited in publicly available resources as this is not required in the field of ecology, but we are willing to provide it to any scientist who will be interested in.
(DOC)

Acknowledgments

Many thanks belong to farmers who allowed us to use their sheep and pastures for our experiments. The authors are grateful to Zuzana Münzbergová for help with planning the design of the study, and also to Jakub Tišitel, Regina Lindborg and a reviewer for all comments on previous versions of the manuscript, which resulted in a substantial improvement in clarity.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JM M. Dvorsky. Performed the experiments: JM M. Dvorsky. Analyzed the data: JM PM RJP. Contributed reagents/materials/analysis tools: JM MD VP MH M. Dvorsky. Wrote the paper: JM PM PH M. Dvorsky VP FDB M. Duchoslav MH RJP.

References

- Charnov EL (1976) Optimal foraging: the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology* 9: 129–136.
- Arnold G (1987) Influence of the biomass, botanical composition and sward height of annual pastures on foraging behaviour by sheep. *Journal of Applied Ecology* 24: 759–772.
- Courant S, Fortin D (2010) Foraging decisions of bison for rapid energy gains can explain the relative risk to neighboring plants in complex swards. *Ecology* 91: 1841–1849.
- Wang L, Wang D, Bai Y, Jiang G, Liu J, et al. (2010) Spatial distributions of multiple plant species affect herbivore foraging selectivity. *Oikos* 119: 401–408.
- Hejmanová P, Mládek J (2012) Diet selection of herbivores on species rich pastures. In: Hendriks BP, editor. *Agricultural Research Updates - Volume 2*. New York: Nova Science Publishers. pp. 167–206.
- Senft RL, Coughenour MB, Bailey DW, Sala OE, Swift DM (1987) Large herbivore foraging and ecological hierarchies. *BioScience* 37: 789–799.
- Laca EA, Sokolow S, Galli JR, Cangiano CA (2010) Allometry and spatial scales of foraging in mammalian herbivores. *Ecology Letters* 13: 311–320.
- Schwartz C, Ellis J (1981) Feeding ecology and niche separation in some native and domestic ungulates on the shortgrass prairie. *Journal of Applied Ecology* 18: 343–353.
- Van der Wal R, Madan N, Van Lieshout S, Dormann C, Langvatn R, et al. (2000) Trading forage quality for quantity? Plant phenology and patch choice by Svalbard reindeer. *Oecologia* 123: 108–115.
- Dumont B, Renaud P-C, Morellet N, Mallet C, Anglard F, et al. (2005) Seasonal variations of Red Deer selectivity on a mixed forest edge. *Animal Research* 54: 369–381.
- Hutchings N, Gordon IJ (2001) A dynamic model of herbivore–plant interactions on grasslands. *Ecological Modelling* 136: 209–222.
- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Vendramini F, Cornelissen JHC, Gurvich DE, et al. (2003) Leaf traits and herbivore selection in the field and in cafeteria experiments. *Austral Ecology* 28: 642–650.
- García F, Carrère P, Soussana J-F, Baumont R (2003) The ability of sheep at different stocking rates to maintain the quality and quantity of their diet during the grazing season. *Journal of Agricultural Science* 140: 113–124.
- Thomas DT, Milton JTB, Revell CK, Ewing MA, Dynes RA, et al. (2010) Preference of sheep among annual legumes is more closely related to plant nutritive characteristics as plants mature. *Animal Production Science* 50: 114.
- Drescher M, Heitkonig IMA, Van Den Brink PJ, Prins HHT (2006) Effects of sward structure on herbivore foraging behaviour in a South African savanna: An investigation of the forage maturation hypothesis. *Austral Ecology* 31: 76–87.
- Pyke G, Pulliam H, Charnov EL (1977) Optimal foraging: a selective review of theory and tests. *Quarterly Review of Biology* 52: 137–154.
- Roguet C, Dumont B, Prache S (1998) Selection and use of feeding sites and feeding stations by herbivores: a review. *Annales de Zootechnie* 47: 225–244.
- Hewitson L, Dumont B, Gordon IJ (2005) Response of foraging sheep to variability in the spatial distribution of resources. *Animal Behaviour* 69: 1069–1076.
- Hejmanová P, Stejskalová M, Pavlů V, Hejman M (2009) Behavioural patterns of heifers under intensive and extensive continuous grazing on species-rich pasture in the Czech Republic. *Applied Animal Behaviour Science* 117: 137–143.
- Dumont B, Rook AJ, Coran C, Röver K-U (2007) Effects of livestock breed and grazing intensity on biodiversity and production in grazing systems. 2. Diet selection. *Grass and Forage Science* 62: 159–171.
- Correll O, Isselstein J, Pavlů V (2003) Studying spatial and temporal dynamics of sward structure at low stocking densities: the use of an extended rising-plate-meter method. *Grass and Forage Science* 58: 450–454.
- Bruinenberg MH, Valk H, Korevaar H, Struik PC (2002) Factors affecting digestibility of temperate forages from seminatural grasslands: a review. *Grass and Forage Science* 57: 292–301.
- Garnier E, Navas M-L (2012) A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 365–399.
- Klotz S, Kühn I, Durka W (2002) BIOLFLOR - Eine Datenbank mit biologisch-ökologischen Merkmalen zur Flora von Deutschland, Schriftenreihe für Vegetationskunde 38. Bundesamt. Bonn, Germany.
- Kleyer M, Bekker RM, Knevel IC, Bakker JP, Thompson K, et al. (2008) The LEDA traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora. *Journal of Ecology* 96: 1266–1274.
- Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, Diaz S, Buchmann N, et al. (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51: 335–380.
- Pontes L da S, Soussana J-F, Louault F, Andueza D, Carrère P (2007) Leaf traits affect the above-ground productivity and quality of pasture grasses. *Functional Ecology* 21: 844–853.
- Cingolani AM, Posse G, Collantes MB (2005) Plant functional traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonian steppe grasslands. *Journal of Applied Ecology* 42: 50–59.
- Lloyd KM (2010) Leaf trait-palatability relationships differ between ungulate species: Evidence from cafeteria experiments using naive tussock grasses. *New Zealand Journal of Ecology* 34: 227–232.
- Hebblewhite M, Merrill E, McDermid G (2008) A multi-scale test of the forage maturation hypothesis in a partially migratory ungulate population. *Ecological Monographs* 78: 141–166.
- Briemle G, Nitsche S, Nitsche L (2002) Nutzungswertzahlen für Gefäßpflanzen des Grünlandes. In: Klotz S KI and DW, editor. *BIOLFLOR – eine Datenbank mit biologisch-ökologischen Merkmalen zur Flora von Deutschland (BIOLFLOR – a database of biological-ecological traits for the flora of Germany)*. Bonn: Bundesamt für Naturschutz. pp. 203–225.
- Putfarken D, Dengler J, Lehmann S, Härdle W (2008) Site use of grazing cattle and sheep in a large-scale pasture landscape: A GPS/GIS assessment. *Applied Animal Behaviour Science* 111: 54–67.
- Kesting S, Wrage N, Isselstein J (2009) Herbage mass and nutritive value of herbage of extensively managed temperate grasslands along a gradient of shrub encroachment. *Grass and Forage Science* 64: 246–254.
- D'hondt B, D'hondt S, Bonte D, Brys R, Hoffmann M (2012) A data-driven simulation of endozoochory by ungulates illustrates directed dispersal. *Ecological Modelling* 230: 114–122.
- Klapp E (1971) *Wiesen und Weiden*. 4. Auflage. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey.
- Schaffers AP, Sýkora K V. (2002) Synecology of species-rich plant communities on roadside verges in the Netherlands. *Phytocoenologia* 32: 29–83.
- Bokdam J, De Vries Wallis MF (1992) Forage quality as a limiting factor for cattle grazing in isolated Dutch nature reserves. *Conservation Biology* 6: 399–408.
- Mládek J, Hejman M, Hejduk S, Duchoslav M, Pavlů V (2011) Community seasonal development enables late defoliation without loss of forage quality in semi-natural grasslands. *Folia Geobotanica* 46: 17–34.
- Duru M, Al Haj Khaled R, Ducourtieux C, Theau JP, Quadros FLF, et al. (2009) Do plant functional types based on leaf dry matter content allow characterizing native grass species and grasslands for herbage growth pattern? *Plant Ecology* 201: 421–433.
- Tolasz R, editor(2007) *Climate Atlas of the Czech Republic*. Olomouc: ČHMÚ & UP.
- Tadmor NH, Brieghet A, Noy-Meir I (1975) An evaluation of the calibrated weight-estimate method for measuring production in annual vegetation. *Journal of Range Management* 28: 65–69.
- Schmutz E, Holt G, Michaels C (1963) Grazed-class method of estimating forage utilization. *Journal of Range Management* 16: 54–60.
- Jacobs J (1974) Quantitative measurement of food selection. *Oecologia* 14: 413–417.
- Zuur A, Ieno E, Walker N, Saveliev A, Smith G (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York: Springer.
- Lechowicz MJ (1982) The sampling characteristics of electivity indices. *Oecologia* 52: 22–30.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S (2012) *Linear and nonlinear mixed effects models*. R package version 3.1 - 103.
- Al Haj Khaled R, Duru M, Decruyenaere V, Jouany C, Cruz P (2006) Using leaf traits to rank native grasses according to their nutritive value. *Rangeland Ecology & Management* 59: 648–654.
- Hejman M, Száková J, Schellberg J, Šrpek P, Thustoš P, et al. (2010) The Rengen Grassland Experiment: bryophytes biomass and element concentrations after 65 years of fertilizer application. *Environmental Monitoring and Assessment* 166: 653–662.
- Hassan SN, Rusch GM, Hyttborn H, Skarpe C, Kikula I (2007) Effects of fire on sward structure and grazing in western Serengeti, Tanzania. *African Journal of Ecology* 46: 174–185.
- Evju M, Austrheim G, Halvorsen R, Mysterud A (2009) Grazing responses in herbs in relation to herbivore selectivity and plant traits in an alpine ecosystem. *Oecologia* 161: 77–85.
- Smith J, Julander O (1953) Deer and sheep competition in Utah. *The Journal of Wildlife Management* 17: 101–112.
- Long R, Apori S, Castro F, Ørskov E (1999) Feed value of native forages of the Tibetan Plateau of China. *Animal Feed Science and Technology* 80: 101–113.
- Spehn EM, Scherer-Lorenzen M, Schmid B, Hector A, Caldeira MC, et al. (2002) The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos* 98: 205–218.
- Ansqer P, Duru M, Theau JP, Cruz P (2009) Convergence in plant traits between species within grassland communities simplifies their monitoring. *Ecological Indicators* 9: 1020–1029.
- Rusch GM, Skarpe C, Halley DJ (2009) Plant traits link hypothesis about resource-use and response to herbivory. *Basic and Applied Ecology* 10: 466–474.
- Peco B, Carmona CP, de Pablos I, Azcárate FM (2012) Effects of grazing abandonment on functional and taxonomic diversity of Mediterranean grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 152: 27–32.

54th Symposium of the International Association for Vegetation Science

Vegetation in and around water:
patterns, processes and threats

ABSTRACTS



June 20 – 24, 2011
Lyon, France



Session 'Ecosystem functioning' / POSTER 1

GRASSLAND RESPONSE TO LONG-TERM MANAGEMENT AND LEVELS OF NUTRIENTS IN STANDING BIOMASSJan Mládek¹, Pavla Mládková², Michal Hejcman^{2,3}, Stanislav Hejduk⁴, Vilém Pavlů^{2,3}, Martin Duchoslav¹¹ Palacký University, Department of Botany, Olomouc, Czech Republic; ² Czech University of Life Sciences, Department of Ecology, Prague, Czech Republic; ³ Crop Research Institute, Prague, Czech Republic; ⁴ Mendel University, Department of Animal Nutrition and Forage Production, Czech Republic (corresponding author: jan.mladek@upol.cz)

Keywords: Grazing, Fallow, Leaf dry matter content, Mowing, Standing biomass.

On a large scale, it is recognized that community-weighted leaf dry matter content (community LDMC) is negatively related to grassland productivity and N, P and K concentrations in biomass. Hence, higher total levels of nutrients in above-ground standing biomass should be linked to lower community LDMC. However, current research has provided evidence that community LDMC is substantially modified by a defoliation regime. We asked whether management supporting vegetation with the lowest community LDMC also provides the highest amount of standing biomass and highest total levels of N, P and K. We used three long-term management experiments (sites) with four management treatments (grazing with spring burning, grazing, mowing in mid-July and fallow), which were set up in *Bromion erecti*, *Cynosurion cristati* and *Violion caninae* in the grasslands of the White Carpathian Mountains (Czech Republic) in 2004. At each site, twenty management plots (each five m × five m in size) were arranged in five blocks. During 2010, the first growth biomass was sampled at the end of May, in mid-June and in mid-July, each time from one randomly allocated one m² subplot within each plot. The total levels of N, P and K in a sample were calculated from dry matter standing biomass and laboratory analyses of nutrient concentrations. Community LDMC was calculated from the sample proportions of species biomass and LEDA database values. All analyses were performed with linear mixed models (REML method), where management was treated as a fixed effect, while site and date were treated as random effects. Variation in community LDMC was in 80% explained by the site; by contrast, variations in standing biomass and the total levels of N, P and K were explained by the site only up to twenty five %. Filtering out the random effects, all characteristics were significantly affected by management. We found, consistent with current studies, that community LDMC was significantly the lowest under mowing, but, unexpectedly, the total levels of N, P and K were also significantly the lowest under mowing. In summary, higher total levels of N, P and K in standing biomass may not be expected for vegetation with lower LDMC when analyzing grasslands under different management regimes.

Session 'Ecosystem functioning' / POSTER 2

EFFECTS OF ELEVATION ON THE NUTRIENT LIMITATIONS OF SOME TREE SPECIES TO PLANT GROWTH ON MT. FUJIYuki Goto¹, Takashi Nakano², Taisuke Yasuda², Yasuo Yamamura¹¹ Ibaraki University, Mito, Ibaraki, Japan; ² Yamanashi Institute of Environmental Sciences, Fuji-Yoshida, Yamanashi, (Takashi Nakano: nakano@yies.pref.yamanashi.jp)

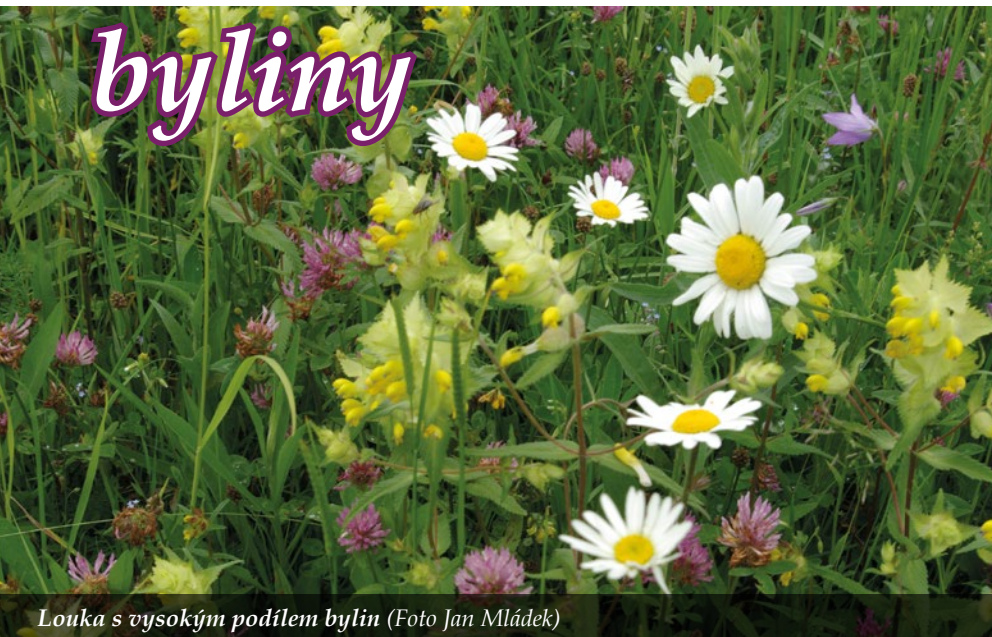
Keywords: Nitrogen, Phosphorous, Volcanic soil, Nutrient resorption efficiency, M:P ratio

Nitrogen (N) and phosphorus (P) frequently limit plant growth in early-succession soils. The vegetation on Mt. Fuji, a young volcano in central Japan, may be affected by deficiencies of N and/or P. The limitation of soil nutrients may be more severe at higher altitudes. The aim of this study was to clarify the role of N-P limitation on the growth of tree species along an altitude gradient on the north-facing slope of Mt. Fuji. At the three sites that are characterized by different altitudes, the soil nutrient conditions were examined, and the N and P concentrations in living and dead leaves of several dominant tree species (three broadleaf trees and three conifers) were measured. The nutrient resorption efficiency (NRE, %) during leaf senescence and the N:P ratio in foliage were used as indices of nutrient limitation.

The concentration of available soil N and P tended to decrease with elevation. The NRE in deciduous trees indicated that nutrient limitation changed from N-limitation to P-limitation with elevation. On the other hand, the NRE of conifers did not indicate any change in nutrient limitation. The N:P ratio exhibited no trend along the elevation gradient regardless of the species or based on the criteria proposed by Koerseleman and Meukelman (1996) for wetland vegetation. Further studies are needed for applying the N:P ratio to forest ecosystems.

K čemu jsou v loukách dobré

byliny



Louka s vysokým podílem bylin (Foto Jan Mládek)

Volně rostoucí byliny, v představách běžného člověka kytky dávající potravu včelám a hrstce nadšenců surovinu na čaj proti různým neduhům, se dostaly na okraj zájmu současné ekonomicky smýšlející společnosti. Pro většinu dnešních zemědělců jsou to plevele, které berou na loukách prostor travám i jetelovinám a znehodnocují kvalitu sena. Ale jaký je jejich opravdový význam na loukách, v seně pro dobytek?

Zemědělci, agronomové i firmy produkující osevní směsi se tváří, že moc dobře vědí, jak má vypadat správné druhové složení luk a pastvin pro dobytek. To, že je něco s produkčními porosty špatně, člověk pochopí až při pohledu na pytle jemně mletého vápnitého dolomitu s popisem „krmná surovina“. Ano, je to tak! Kravám chybí minerály a významnou složkou krmných směsí je namletá hornina s vysokým obsahem vápníku (Ca^{2+}) a hořčíku (Mg^{2+}).

Vápník a hořčík

Z jaké potravy hospodářská zvířata dvoumocné minerály dříve získávala, když nedostávala minerální doplňky? Pravděpodobně

nebyly potřeba, protože louky a pastviny s pestrou paletou bylin tyto minerály skotu poskytovaly.

Vápník s hořčíkem musí být v krmné dávce v určitém množství nejen proto, že je krávy potřebují pro stavbu kostry (vápník) a správné fungování svalů i nervů (hořčík). Tyto dva prvky také zajišťují v bacheru (prvním žaludku) přežvýkavců neutrální pH (6,5–7,0), při kterém dobře funguje rozklad celulózy – hlavní složky rostlinné hmoty. Naopak při jejich nedostatku brzy vzniká v bacheru kyselé prostředí

($\text{pH} < 5,5$) – tzv. acidóza, kterou například v Holandsku trpí zvířata na 30% farem se stájovým výkrmem skotu.

Jinými slovy, řada indicií nasvědčuje tomu, že vápník s hořčíkem jsou velmi důležité pro trávení u všech přežvýkavců (tj. u nás skotu, ovcí, koz nebo jelenů). Znamená to pak, že biomasa v lučních porostech bohatých na byliny, tedy i vápník a hořčík, má vysokou stravitelnost? Na bělokarpatských loukách i pastvinách byliny běžně tvoří 50% biomasy.

Výzkum

S využitím našich dlouhodobých pokusů v Bílých Karpatech jsme se proto rozhodli otestovat, zda jsou vápník a hořčík lepšími ukazateli stravitelnosti rostlinné hmoty než jiné více oceňované živiny. Například dusíkem a fosforem se běžně hnojí a jejich vysoké koncentrace v píci byly spolu s nízkým obsahem sušiny v listech vždy přijímány jako nejlepší ukazatele dobře stravitelné hmoty.

V letech 2011–2012 jsme na dvou lokalitách (Brumov-Bylnice, Lopeník) ve třech typech porostů (kosená louka, pastvina, ladem ponechaný porost – viz obrázek dole) a ve třech termínech (květen, červen, červenec) odebírali vzorky. Vždy na nové ploše velikosti 1 m^2 (s prvním jarním nárůstem biomasy) jsme nejdříve zaznamenali všechny přítomné rostliny a pak ostříhali nadzemní rostlinnou hmotu ve výšce 5 cm jako při seči. V laboratoři byly u všech 180 sebraných a vysušených vzorků stanoveny koncentrace dusíku, fosforu, draslíku, vápníku i hořčíku a také

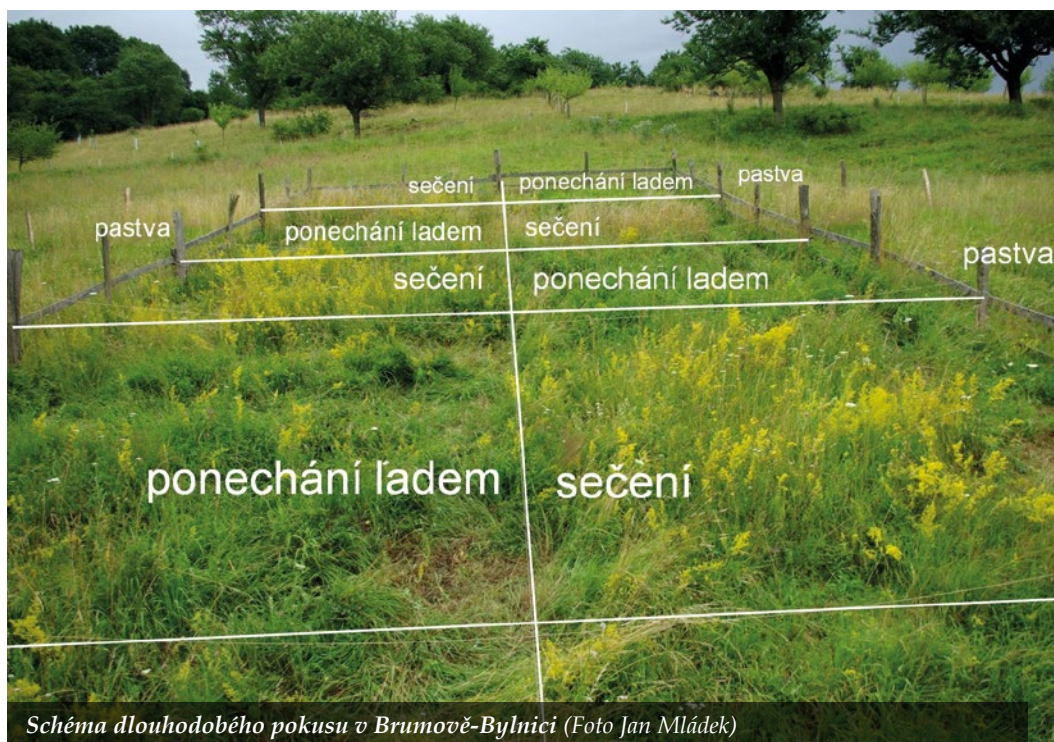


Schéma dlouhodobého pokusu v Brumově-Bylnici (Foto Jan Mládek)

změřena stravitelnost ve zkumavkách: jed- na pomocí bachorové šťávy a druhá enzy- my (pepsinem a celulázou).

Výsledky

Ze statistického hodnocení vyply- nulo, že vysoká koncentrace dusíku je ukazatelem dobré stravitelnosti pouze brzy na jaře (květnové odběry), ale již ne v dalších termínech během sezóny. Lépe než dusík nebo šfavnatost poukazo- val na dobrou stravitelnost vysoký podíl bylin. Avšak jako výrazně nejlepší ukazatel stra- vitelnosti se osvědčil součet koncentrací vápníku a hořčičku. Čím byl součet vyšší, tím lepší byla stravitelnost vzorku v rámci daného termínu odběru. Vysoké koncen-

trance vápníku a hořčičku mají dvouděložné byliny (v případě vápníku přibližně trojná- sobné a u hořčičku asi dvojnásobné kon- centrace oproti travám), protože jejich bu- něčné stěny tvoří dobře stravitelné pektiny bohaté na vápník.

Shrnutí

Byliny potřebujeme v lučních nebo pastevních porostech nejen pro potěchu oka, pastvu včel i jiného hmyzu, ale také pro zajištění dobré stravitelnosti píce. By- liny pravděpodobně zvyšují i stravitelnost biomasy trav ve smíšených krmných dáv- kách udržením neutrálního pH v bachoru. Měly by proto mít v produkčních loukách a pastvinách větší zastoupení. V ekono-

micky vyspělejších zemích na to již před pár lety přišli a do produkčních osevních směsí na zemědělské pozemky začínají přidávat kromě jetelovin, které vážou du- sík, také třeba čekanku nebo jitrocel.

Jan Mládek a Pavla Mládková
Návojná

*Mgr. Jan Mládek, Ph.D. (*1978) je rostlinný ekolog na katedře ekologie a životního prostředí Univerzity Palac- kého v Olomouci. Mgr. Pavla Mládková (*1977) se věnuje statistické analýze dat a je studentkou doktorského progra- mu na katedře ekologie České zemědě- lské univerzity v Praze.*

TAJEMSTVÍ PŘÍRODY

Ptáci našich luk

V Bílých Karpatech a jejich pod- hůří se vyskytuje přibližně 200 druhů ptáků. Z tohoto počtu zhruba polovi- na zde i hnízdí a vyvádí svá mláďata. Území je však do značné míry ornitolo- gicky neprobádané. K potvrzení výsky- tu nových ptačích druhů tak dochází i v současné době.

I když Bílé Karpaty nejsou top-orni- tologickou lokalitou naší republiky, stávají se často místem zájmu ornitologů, kteří se snaží nalézt druhy, které by se zde teore- ticky mohly vyskytovat, ale dosud je nikdo nepotvrdil.

Bělokarpatské louky se vyvíjely po staletí a s nimi se vyvíjelo nejen rost- linné, ale i živočišné společenstvo, včetně ptáků. Někteří vymizeli, jiní se objevili. Za-

příčinil to jednak člověk, jednak klimatické změny.

Ostatně nejsou louky jenom poros- ty travin a bylin, ale vyskytují se na nich i křovinné lemy, solitérní stromy apod., které mají pro společenstvo ptáků velký význam.

Ptáci hnízdící na zemi

Mezi ptáky, kteří hnízdí v lučním por- ostu na zemi, můžeme řadit zejména ev- ropsky významný druh, kterým je **chřástal polní** (*chrapkáč polný*). Je ukazatelem kvalitních, bohatých a dobře obhospo- dařovaných luk, a proto každý zemědělský hospodář je rád, když se jeho charakte- ristické vrzavé noční volání ozývá právě z jeho pozemků.

Všeobecně známým druhem, který využívá krytu lučních porostů, je **křepelka polní** (*prepelica polná*), jejíž typické volá- ní, které se dá připodobnit výrazu „pět pe- něž“, se učí i děti ve škole. Bohužel kdysi zcela běžná křepelka je dnes u nás velmi vzácným druhem. Je to kvůli současnému zemědělskému hospodaření i nadměrné- mu lovu na jejich tahových cestách.

Luční pěvci

Typickými představiteli lučních ptáků jsou bramborníci. Rozsáhlé komplexy travních porostů na jihu jsou typičtější pro **brambornička černohlavého** (*přhlaviar černohlavý*), kdežto louky ve vyšších polohách obývá spíše **bramborníček hnědý** (*přhlaviar červenkastý*). Oba dru- hy se na mnohých místech překrývají. Po-



zorovatele zaujmou svým pestrébarevným vzhledem, když vysedávají na osamoce- ných bodlácích či sloupcích ohrad.

Fenoménem a top-druhem bělokar- patských luk je **strnad luční** (*strnádka luční*). Typický je jeho výskyt v jihozá- padní části pohoří, právě na rozlehlých loukách přírodních rezervací (Čertoryje, Zahrady pod Hájem, Machová, Jazevčí Porážky). Bílé Karpaty jsou jednou z nej- významnějších lokalit jeho výskytu v Če- ské republice. Je možné ho pozorovat při



Science for Environment Policy

High-nature-value grasslands can be maintained by alternating between mowing and grazing

Scientists recommend policies that alternate between mowing and grazing to manage Europe's high-nature-value grasslands. This comes after a new seven-year study found that a high plant-species diversity helps grasslands to maintain productivity and to resist depletion of phosphorus caused by livestock grazing and depletion of potassium caused by mowing.

Grasslands with high levels of [biodiversity](#) are important for Europe as they support healthy soils and large amounts of wildlife. Extremely valuable and diverse areas are termed high-nature-value grasslands and become part of EU agricultural policy, often being maintained under [long-term management agreements](#). To prevent degradation of high-nature-value grasslands, common practices include mowing the land or grazing with livestock. Land managers are also usually restricted from applying fertilisers.

However, there is scarce evidence on how these different practices affect the nutrient levels of the plants and [soils](#), and therefore the grassland productivity. To address this knowledge gap, in 2004 researchers established long-term experiments at two sites in the White Carpathian Mountains, between the Czech Republic and Slovakia. At each site they divided the grassland into plots, and applied different management treatments: mowing in mid-July, livestock grazing in June and August, or being left fallow (untouched). Seven years later, the scientists assessed the amount of biomass, amount of plant diversity, and the nutrient levels in both the plants and the soils.

The scientists found that plots grazed by livestock showed the lowest amount of phosphorus available for plants in the soil, and plots that were mown had the lowest available potassium. Yet there was no difference in levels of above-ground biomass between grazed, mown and fallow plots.

However, the management treatments did change the biodiversity, as different plants were better adapted to growing in different nutrient conditions. Over time, species composition between the management plots diversified. Grazing was found to facilitate more grasses (plants with shallow but dense root system), while mowing allowed more forbs (plants rooting usually very deep in the soil) to grow.

The scientists suggest that a high level of plant biodiversity in grasslands can help to sustain their productivity over time when little or no fertilisers are used. For example, grasses and forbs provide grasslands with different yet equally important benefits. Forbs can help to prevent shortage of phosphorus by mobilising its reserves from deep soil layers and grasses aid in efficient capture of nitrogen from mineralisation of plant litter on the soil surface or from atmospheric deposition. These nutrients are both important for maintaining the productivity of the grasslands.

Consequently, the scientists concluded that grassland management practices should attempt to facilitate the growth of both grasses and forbs, since they are valuable components of grassland productivity. They recommend a mix of grazing and mowing could be used to encourage co-existence of both forbs and grasses, and to maintain optimal nutrient levels in grassland soil.

As world reserves of superphosphates are quickly decreasing and mineral fertilisers negatively impact ecosystems, the researchers say that agri-environmental measures that encourage higher plant biodiversity could help to sustain stable grassland biomass under low or nil inputs of fertiliser.



3 September 2015
Issue 425

[Subscribe](#) to free
weekly News Alert

Source: Mládková, P., Mládek, J., Hejduk, S., Hejzman, M., Cruz, P., Jouany, C., & Pakeman, R. J. (2015). High-nature-value grasslands have the capacity to cope with nutrient impoverishment induced by mowing and livestock grazing. *Journal of Applied Ecology* 52(4): 1073–1081. DOI: 10.1111/1365-2664.12464

Contact:
jan.mladek@upol.cz

Read more about:
[Agriculture](#),
[Biodiversity](#), [Land use](#), [Soil](#)

The contents and views included in Science for Environment Policy are based on independent, peer-reviewed research and do not necessarily reflect the position of the European Commission.

To cite this article/service: "[Science for Environment Policy](#)": European Commission DG Environment News Alert Service, edited by SCU, The University of the West of England, Bristol.