

**Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Environmentální vědy



**Mgr. Jaroslav Kukla**

**Biochemické markery funkce půdního mikrobiálního společenstva a vliv antropogenního stresu**

Biochemical markers of soil microbial community and functioning  
and anthropogenic stress

Disertační práce

Vedoucí práce/Školitel: Prof. Mgr. Ing. Jan Frouz, CSc.

Praha, 2020



**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 7. 2020

---

Jaroslav Kukla

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval svému školiteli Janu Frouzovi za pomoc a podporu během mého studia a za umožnění celé řady příležitostí podívat se za hranici běžných obzorů. Dík patří rovněž kolegům Olze Vinduškové, Honzovi Hanzelkovi, Katce Jandové, Hance Veselé, Petru Heděncovi, Danu Vondrákovi, Kubovi Vicenovi a dalším za podporu a šíření veselé nálady a dobrých mezilidských vztahů na pracovišti. Michalu Holcovi a Josefu Tröglovi děkuji za pomoc v realizaci výzkumu půd pískovcových jeskyní. Grantové agentuře UK děkuji za finanční podporu našeho výzkumu na Papui-Nové Guinei grantem GA UK No 227362–243. Za logistickou podporu a děkuji Binatag Research Center a asistentům z vesničky Wanang na Papui-Nové Guinei, bez jejich pomoci by nemohla podstatná část této práce vzniknout.

V neposlední řadě děkuji své ženě Bety a celé mé rodině za mnohaletou všestrannou podporu a trpělivost.

# Obsah

Seznam publikací a rukopisů přiložených k disertační práci a podíl uchazeče na jejich vzniku.....	6
1 Úvod.....	9
1.1 Půdní mikroorganismy .....	9
1.1.1 Bakterie a archea.....	10
1.1.2 Houby.....	10
1.1.3 Ostatní půdní mikroorganismy .....	11
1.2 Analýza půdních mikroorganismů .....	11
1.2.1 Kategorizace indikátorů .....	11
1.2.2 Mikrobiální biomasa .....	12
1.2.3 Složení mikrobiálního společenstva .....	12
1.2.4 Aktivita mikrobiálního společenstva .....	15
1.2.5 Metabolomika .....	16
1.3 Role půdních mikroorganismů v ekosystémových procesech .....	16
1.3.1 Tok energie a dekompozice .....	17
1.3.2 Úloha mikroorganismů v cyklech biogenních prvků.....	17
1.4 Vliv antropogenního stresu na půdní mikroorganismy .....	19
1.4.1 Faktory prostředí a adaptace na ně .....	20
1.4.2 Příčiny antropogenního stresu .....	20
1.5 Závěr .....	24
2 Seznam citované literatury.....	25
3 Hlavní cíle a výstupy práce.....	37
3.1 Hlavní cíle .....	37
3.2 Hlavní výstupy .....	37
3.2.1 Publikace 1:.....	37
3.2.2 Publikace 2:.....	38
3.2.3 Publikace 3:.....	39
3.2.4 Publikace 4:.....	39
4 Hlavní závěry .....	41
5 Přílohy disertační práce .....	43

## Seznam publikací a rukopisů přiložených k disertační práci a podíl uchazeče na jejich vzniku

Rukopis I (publikováno)

**Kukla, J.**, Whitfeld, T., Cajthaml, T., Baldrian, P., Veselá-Šimáčková, H., Novotný, V., Frouz, J., 2019. **The effect of traditional slash-and-burn agriculture on soil organic matter, nutrient content, and microbiota in tropical ecosystems of Papua New Guinea.** Land Degrad. Dev. 30, 166–177. DOI: 10.1002/ldr.3203

Podíl J. Kukly: výběr lokalit, odběr vzorků v terénu, extrakce markerů (PLFA), vyhodnocení dat a psaní textu.

Rukopis II (připraveno k publikování)

**Kukla, J.**, Heděnc, P., Baldrián, P., Cajthaml, T., Novotný, V., Moradi J., Whitfeld, T.J.S., Frouz, J. **The plant invasion of *Piper aduncum* altered soil microbiota and nutrient content in shifting areas of neotropical lowland forests in Papua-New Guinea**

Podíl J. Kukly: výběr lokalit, odběr vzorků v terénu, extrakce markerů (PLFA), vyhodnocení dat a psaní textu.

Rukopis III (publikováno)

Knoblochová, T., Kohout, P., Püschel, D., Doubková, P., Frouz, J., Cajthaml, T., **Kukla, J.**, Vosátka, M., Rydlová, J., 2017. **Asymmetric response of root-associated fungal communities of an arbuscular mycorrhizal grass and an ectomycorrhizal tree to their coexistence in primary succession.** Mycorrhiza 27, 775–789. DOI: 10.1007/s00572-017-0792-x

Podíl J. Kukly: příprava experimentu, odběr části vzorků, extrakce markerů (NLFA, ergosterol).

Rukopis IV (publikováno)

**Kukla, J.**, Holec, M., Trögl, J., Holcová, D., Hofmanová, D., Kuráň, P., Popelka, J., Pacina, J., Kříženecká, S., Ust'ak, S., Honzík, R., 2018. **Tourist Traffic Significantly Affects Microbial Communities of Sandstone Cave Sediments in the Protected Landscape Area “Labské Pískovce” (Czech Republic): Implications for Regulatory Measures.** Sustainability 10, 396. DOI: 10.3390/su10020396

Podíl J. Kukly: iniciace výzkumu, výběr lokalit, odběr vzorků v terénu, extrakce markerů (PLFA).

Podpis školitele disertační práce:

---

Prof. Mgr. Ing. Jan Frouz, CSc.

## Abstrakt

Půdní mikrobiální společenstvo zásadním způsobem ovlivňuje ekosystémové procesy v globálním měřítku. Antropogenní stres má na složení, biomasu i aktivitu mikrobiálního společenstva podstatný vliv. Tento vliv je navíc závislý nejen na povaze antropogenního působení, ale i na environmentálních podmínkách. Při sledování změn v mikrobiálním společenstvu lze s výhodou použít moderních analytických a molekulárních metod, mezi něž patří použití biochemických markerů. Tyto metody nesledují společenstvo přímo, ale pomocí detekce látek, které jsou jimi vylučované, přeměňované a v neposlední řadě i těch, jež jsou jejich součástí. Množství těchto biochemických markerů odráží biomasu, kondici a taxonomické složení konkrétního mikrobiálního společenstva. V předkládané práci byly tyto markery použity pro sledování reakce mikroorganismů v různých ekosystémech ovlivněných přímo či nepřímo činností člověka. Výsledky disertační práce jsou prezentovány ve čtyřech článcích, z nichž tři byly publikovány v mezinárodních časopisech s IF, a jeden je připraven ve formě rukopisu k publikování.

První publikace prezentuje výsledky výzkumu vlivu tradičního zemědělství na Papui-Nové Guinei na mikrobiální společenstvo půdy, půdní organickou hmotu a půdní živiny. S výjimkou dostupného P nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi plochami různě ovlivněnými zemědělstvím, což poukazuje na šetrnost tradičních a ověřených kultivačních postupů. Druhá publikace, která je přiložena ve formě rukopisu, ukazuje signifikantní vliv nepůvodní invazivní rostliny *Piper aduncum* na půdní mikrobiální společenstvo a na živiny v půdě, rovněž na Papui-Nové Guinei. Třetí publikace se zabývá výskytem arbuskulárně mykorhizních (AM) a ektomykorhizních hub (EcM) na výsypkách po těžbě hnědého uhlí na Sokolovsku; předmětem studia byl gradient bylinné a dřevinné raně sukcesní vegetace. Zde bylo pomocí biomarkerů zjištěno, že koexistence *Calamagrostis epigejos* a *Salix caprea* zvýhodňuje EcM na úkor AM. Ve čtvrtém článku je pomocí markerů potvrzen signifikantní vliv návštěvnosti na složení mikrobiálního společenstva jeskynních půd.

Tato práce přináší širší pohled na aplikaci biochemických markerů v půdách ovlivněných přímou či nepřímou činností člověka. Podává nové informace, které mohou být využity i v praxi jako podklady při rozhodování a plánování.

## **Abstract**

The soil microbial community has a major impact on ecosystem processes on a global scale. Anthropogenic stress has a significant effect on the composition, biomass and activity of the microbial community. In addition, this effect depends not only on the anthropogenic activity, but also on the environmental conditions. Modern analytical and molecular methods, including the use of biochemical markers, can be well used to monitor changes in the microbial community. These methods do not monitor the community directly, but detect the substances that are secreted and transformed by microbes and, last but not least, those that are part of them. The amount of these biochemical markers reflects the biomass, condition and taxonomic composition of a particular microbial community. In the presented work, these markers were used to monitor the response of microorganisms in various ecosystems which are affected directly or indirectly by human activity. The results of the dissertation are presented in four articles. Three of them have been published in international journals with IF and one is prepared in the form of a manuscript for publication.

The first publication presents the results of research exploring the impact of traditional agriculture in Papua New Guinea on the soil microbial communities, soil organic matter and soil nutrients. With the exception of the available P, no significant differences were found between the areas variously affected by agriculture. This indicates the sustainability of traditional and proven cultivation practices. The second publication, which is attached as a manuscript, shows the significant effect of the non-native invasive plant *Piper aduncum* on the soil microbial community and on the nutrients in the soil, also in Papua New Guinea. The third publication deals with the occurrence of arbuscular mycorrhizal (AM) and ectomycorrhizal fungi (EcM) on spoil heaps after brown coal mining in the Sokolov region; the subject of the study was a gradient of early successional herbaceous and woody vegetation. Here it was found that the coexistence of *Calamagrostis epigejos* and *Salix caprea* favor EcM at the expense of AM. In the fourth article, the significant influence of tourism on the composition of the microbial community of cave soils is confirmed by means of markers.

This work provides a broader view of the application of biochemical markers in soils affected by direct or indirect human activity. It provides new information that can be used in practice as a basis for decision-making and planning.



# 1 Úvod

Půda tvoří významnou a přitom doposud poměrně málo probádanou složkou životního prostředí. Její význam je umocněn tím, že na její vitalitě závisí obživa lidstva. Podle některých prognóz bude třeba, pro potřeby lidské populace roku 2050, nutno zvýšit zemědělskou produkci až o 60 % a to pokud možno při zachování nynější rozlohy, aby se minimalizovala ztráta biodiverzity (Le Mouél a Forslund 2017). To potvrzuje vysoké nároky na ekosystémové služby, které půda poskytuje a s tím související potřeba poznání procesů v půdě probíhajících a faktorů, které na ně mají vliv.

Nejhojnější živou složkou půdy, jak početností tak i biomasou, jsou mikroorganismy (de Vrieze 2015). Velká diverzita a všudypřítomnost umožňuje mikroorganismům podílet se na řadě důležitých procesů. Jsou schopny adaptovat se na široké spektrum podmínek prostředí a na řadě extrémních stanovišť, jsou prvními kolonizátory. Mají zásadní úlohu v mnoha ekosystémových funkcích a službách, zejména v dekompozici organické hmoty a fixaci dusíku, díky čemuž ovlivňují globální cykly živin (Fierer 2017; Nilsson et al. 2019; Bardgett a van der Putten 2014). Podílejí se na sekvestraci uhlíku a zlepšují půdní vlastnosti (Trivedi et al. 2013). Proto je důležité pochopit, jaký vliv mají na půdní mikroorganismy zásahy člověka, ať už jsou jednorázové či dlouhotrvající nebo přímé či nepřímé.

## 1.1 Půdní mikroorganismy

Mikroorganismy jsou nejpočetnější složkou půdních organismů. V jednom gramu půdy jich může existovat až 10 miliard a několik desítek tisíc druhů (Rosselló-Mora 2001; de Vrieze 2015). Velká biologická rozmanitost mikroorganismů zahrnuje široké spektrum biologických procesů. Mikroorganismy se dokáží adaptovat na okolní prostředí včetně extrémních podmínek a díky bohaté enzymatické výbavě jsou schopny rozložit téměř jakoukoliv organickou látku. Mikroorganismy se řadí do dvou hlavních skupin. Prokaryota jsou jednoduché organismy bez definovaného jádra zahrnující bakterie a archea. Jedná se o vývojově nejstarší organismy na Zemi. Druhou skupinou jsou eukaryota, mezi které patří řasy a houby. V půdě jsou mikroorganismy vázány na půdní částice, zejména na jíl a organickou hmotu. Vyskytují se jak samostatně, tak v podobě biofilmů. Jejich interakce s jinými organismy závisí na podmínkách konkrétního mikrohabitatu (Pepper et al. 2011).

### 1.1.1 Bakterie a archea

Bakterie a archea bývají nejpočetnější skupinou půdních organismů. Jejich buňky mívají různý tvar, reagující na podmínky prostředí. Výskyt v půdě je obvykle vázán na vodou naplněné póry, které jim poskytují ochranu před predátory, zejména prvoky. K půdním částicím jsou vázány iontovými můstky, což jim do značné míry umožňuje odolávat přemísťování vlivem toku vody. Nevykytují se samostatně, ale formují malé kolonie. Růst bakterií je v půdě poměrně pomalý, protože většinu času přežívají v inaktivních stádiích a množí se za předpokladu, že mají dostatek substrátu a podmínky okolního prostředí jsou vhodné pro jejich růst. Podle povahy buněčné stěny se bakterie dělí na Gram pozitivní a Gram negativní. Gram pozitivní bakterie mají odolnější buněčnou stěnu a díky tomu jsou schopné odolávat nepříznivým vlivům prostředí lépe než Gram negativní bakterie. Dále se dělí podle fyziologických a funkčních vlastností. Bakterie, stejně jako archea, využívají k získávání energie celou škálu metabolických cest, což určuje jejich obrovskou funkční diverzitu. Řada procesů, jako fixace dusíku, nitrifikace nebo metanotrofie, je zajišťována pouze bakteriemi nebo archei. Velmi účinně také rozkládají organické látky, kdy se na štěpení složitějších molekul specializuje pouze menší část bakterií, zatímco jednoduché organické molekuly, je schopno rozkládat široké spektrum bakterií (Gupta et al. 2008; Eldor 2015).

Skupina archea byla dlouhou dobu nedoceněna, protože pomocí běžných kultivačních postupů je téměř nemožné je izolovat z přirozeného prostředí. Proto se jejich význam objasnil až s nástupem moderních analytických a molekulárních metod. Archea, díky velkému spektru metabolických pochodů, mají významný vliv na transformaci živin v půdě a tím i na koloběh živin na Zemi. Nalezneme je prakticky v každé půdě a řadu z nich lze považovat za extrémofilní organismy, které jsou schopny odolávat vysoké teplotě a pH, salinitě nebo anaerobickému prostředí (Eldor 2015).

### 1.1.2 Houby

Půdní houby mají ve srovnání s bakteriemi složitější morfologii i životní cykly. S výjimkou kvasinek jsou houby aerobní organismy. Většina hub má rozvětvená vlákna (hyfy) tvořící síť (mycelium). Díky tomu jsou schopny, oproti bakteriím, obsadit vzdálenější místa v půdě. Houbová vlákna rovněž stabilizují půdní agregáty. Houby jsou heterotrofové a dokáží metabolizovat komplexní polymery jako je celulóza a lignin. Proto jsou významnými

dekompozitory půdní organické hmoty. Oproti bakteriím mají větší toleranci k nízkému pH (Maier a Pepper 2009). Mykorhizní houby jsou symbionty rostlin, výměnou za fotosyntetizované uhlíkaté látky zvyšují příjem minerálních živin, ale i vody, a tak mají zásadní vliv na primární produkci ekosystému (Gupta et al. 2008; Eldor 2015). Arbuskulárně mykorhizní houby prorůstají do buněk hostitele a jsou schopny z půdy účinně získávat špatně mobilní esenciální anorganické živiny jako je fosfor nebo zinek. Zatímco Ektomykorhizní houby do buněk hostitele neprorůstají a díky své enzymatické výbavě dokáží účinně štěpit organickou hmotu a získávat z ní živiny (Abuzinadah a Read 1986; Read a Perez-Moreno 2003).

### 1.1.3 Ostatní půdní mikroorganismy

Mezi ostatní půdní mikroorganismy řadíme řasy, protozoa a viry. Řasy jsou eukaryotické, fototrofní organismy, které žijí na povrchu půdy. Jsou průkopnickými kolonizátory půd v raných fázích tvorby půdy. Protozoa jsou jednobuněčné eukaryotické organismy, které v půdě fungují jako predátoři bakterií a kvasinek, čímž regulují jejich populace a recyklují živiny. Viry jsou parazity půdního edafonu a v klidovém stádiu mohou v půdě přetrvávat velmi dlouhou dobu (Gupta et al. 2008).

## 1.2 Analýza půdních mikroorganismů

V minulosti hojně rozšířené kutivační metody přinášely pouze omezenou informaci o rozmanitosti mikrobiálního společenstva, protože kultivovat lze jen malé množství mikroorganismů. Díky pokročilým analytickým a molekulárně biologickým metodám jsme schopni hlouběji nahlédnout do světa těchto organismů. Biochemické markery, které analyzujeme, nám poskytují cenné informace o jejich existenci, biomase, aktivitě i diverzitě (Harris a Steer 2003; Bloem et al. 2006).

### 1.2.1 Kategorizace indikátorů

Harris a Steer 2003 uvádějí tři hlavní koncepční kategorie popisující mikrobiální společenstvo: **rozměr** (celková hmota životaschopné mikrobiální komunity), **složení** (početnost jedinců určitého druhu nebo funkčních skupin) a **aktivita** (metabolická přeměna biomasy od vnitřního metabolismu po přeměnu zásob živin).

Jednotlivé indikátory těchto kategorií lze měřit pomocí přímých nebo nepřímých metod. Přímé metody výzkumu půdních mikroorganismů vycházejí z kultivace mikroorganismů na

agarovém médiu. S postupem času však bylo zjištěno, že naprostou většinu mikroorganismů, běžnými metodami kultivovat nelze. Pro hlubší poznání mikrobiálního společenstva je nutné použít moderní analytické a molekulárně biologické metody (Torsvik et al. 1996; Zhou et al. 2010; Nkongolo a Narendrula-Kotha 2020).

V následujících kapitolách jsou podrobněji zmíněny nejběžnější metody a ty, které byly využity při řešení disertační práce.

### **1.2.2 Mikrobiální biomasa**

Mikrobiální biomasa je měřítkem kvantity mikroorganismů. Lze ji definovat jako živou část půdní organické hmoty. Vyjadřuje se jako koncentrace určité komponenty, nejčastěji mikrobiálního uhlíku ( $C_{mic}$ ), ale i dusíku ( $N_{mic}$ ) a dalších komponent na hmotnost sušiny (Harris a Steer 2003). Poskytuje informaci o odpovědi mikrobiálního společenstva na změny prostředí a disturbance stanovišť, protože odráží schopnost mikroorganismů budovat buněčné komponenty. Na změny podmínek reaguje rychleji než půdní organická hmota (Brookes et al. 2008; Vinhal-Freitas et al. 2017). Kvantitativní markery mikrobiální biomasy by se měly nacházet pouze v živých buňkách a po jejich odumření a uvolnění do půdy by mělo docházet k jejich rychlé degradaci. Množství těchto markerů v buňkách by mělo být pokud možno konstantní a dobře extrahovatelné (Joergensen 1995).

Pro stanovení mikrobiální biomasy lze použít metody přímé, založené na počítání buněk mikroorganismů předem označených specifickými barvivy či próbami, nebo metody nepřímé založené na analýze uhlíku, komponent buněčných membrán a nukleových kyselin nebo molekulárních markerů (Bloem et al. 2006). Velmi rozšířená je fumigačně-extrakční a fumigačně-inkubační metoda. Fumigační metody jsou založeny na expozici půdy parami chloroformu po dobu 24 hodin, kdy dochází k částečné sterilizaci půdy a uvolnění buněčného lyzátu postižených mikroorganismů, který se dále stanovuje nebo se sleduje míra jeho mineralizace (Joergensen 1995).

### **1.2.3 Složení mikrobiálního společenstva**

#### ***1.2.3.1 Molekulární metody***

Pro analýzu mikrobiálního společenstva ve vyšším rozlišení se používají metagenomické nástroje. Nejpokročilejší metodou je sekvenování ribozomálních genů pomocí sekvenování nové generace (NextGen Sequencing). Výhoda této metody spočívá v tom, že geny jsou

snadno amplifikovatelné pomocí PCR a jsou složeny z vysoce konzervativních oblastí i z oblastí se značnou variabilitou sekvence. Používá se 16S ribozomálních genů kódovaných v DNA u prokaryot a 5S nebo 18S rRNA u eukaryot. Bakterie a archea přejímají geny i od nepříbuzných organismů, proto je z genetické informace obtížné detailní taxonomické řazení. Z toho důvodu se podobné sekvence slučují do tzv. operačních taxonomických jednotek (OTU). OTUs sdružující sekvence 16S rDNA, pokud dochází ke shodě alespoň z 97 %, bývají považovány za ekvivalent druhů (Thompson et al. 2017). Jedná se o rychle se vyvíjející odvětví, kde dochází k významným a dynamickým změnám na poli vývoje nových a efektivnějších technologií a především k progresivním přístupům v analýze získaných dat. Proto např. do nedávna široce rozšířená platforma 454 (Roche) je již v dnešní době téměř zcela nahrazena platformou MiSeq (Illumina) a dalšími (Nkongolo a Narendrula-Kotha 2020). Sekvenování nové generace je v současnosti nejpřesnější technikou pro odhad biologické rozmanitosti v environmentálních vzorcích (Wolińska 2019).

### ***1.2.3.2 Metody založené na analýze membránových markerů***

Pomocí analýzy fosfolipidových mastných kyselin (PLFA) lze získat informaci jak o rozměru, tak i o složení mikrobiálního společenstva. Fosfolipidy se nacházejí v buněčných membránách mikroorganismů, kde představují hlavní lipidovou složku a díky jejich rozmanitosti je lze použít pro stanovení složení mikrobiálního společenstva (Zelles et al. 1995). Z prokaryotických a eukaryotických organismů bylo charakterizováno více než 200 různých mastných kyselin, které se mezi organismy výrazně liší, díky čemuž se uplatňují jako biologické markery v taxonomických studiích (Bloem et al. 2006; Nkongolo a Narendrula-Kotha 2020). Jako indikátorů se používá skupiny podobných mastných kyselin, které jsou typické pro určité mikroorganismy. Výhodou je, že analýza PLFA poskytuje rovněž informaci o kvantitě mikroorganismů a lze jí použít jako indikátor odezvy půdy na způsob jejího využití a environmentální stres (Frostegard a Baath 1996; Kaur et al. 2005). Fosfolipidy se po odumření buněk rychle rozkládají, takže analýza PLFA odráží živou mikrobiální biomasu (Bloem et al. 2006). Touto metodou lze mikrobiální společenstvo rozlišit na Gram pozitivní bakterie, Gram negativní bakterie, aktinomycety, houby a ostatní (Bloem et al. 2006). Pro houby se jeví jako nejlepší marker kyselina 18:2 $\omega$ 6,9, která v přirozeném ekosystému koreluje s ergosterolem (Högberg 2006). Mastné kyseliny, které jsou typické pro konkrétní skupinu mikroorganismů, se však mohou v jistých koncentracích vyskytovat i u jiných skupin organismů (Frostegard a Baath 1996). Při rozlišení

mykorhizních hub nastává problém se specifitou konkrétních mastných kyselin, protože se v omezené míře vyskytují i v rostlinách (18:1 $\omega$ 9c, 18:2 $\omega$ 6,9c) nebo u bakterií (16:1 $\omega$ 5). Proto se při stanovení arbuskulárně mykorhizních hub analyzují neutrální lipidové mastné kyseliny (NLFA), které se extrahují podobně jako PLFA i se stejnou analytickou koncovkou (Olsson et al. 1995; Willers et al. 2015). Pro kvantifikaci biomasy ektomykorhizních hub lze použít ergosterol za předpokladu, že se eliminují saprofytické houby (Hart a Reader 2002; Ghani et al. 2003).

Poměr obsahu určitých mastných kyselin může dát výzkumníkům informaci o environmentálním stresu. To se projevuje například nárůstem markerů Gram negativních bakterií a poklesem markerů Gram pozitivních bakterií (Kaur et al. 2005). Houby jsou charakteristické polynenasycenými mastnými kyselinami. Poměr houbových a bakteriálních markerů je používán jako index relativní abundance těchto hlavních mikrobiálních dekompozitorů (Frostegard a Baath 1996). Během disturbance půdy může docházet k redukcí tohoto poměru (Pennanen 2001). Jiným indikátorem stresu je poměr trans a cis isomerů nebo nasyčených a nenasycených mastných kyselin (Kaur et al. 2005). Ačkoli analýza PLFA neumožňuje pohled na úroveň druhů, poskytuje informaci o struktuře mikrobiální komunity a o jejích případných změnách.

Dalším používaným membránovým markerem je ergosterol, který představuje důležitou složku houbových membrán. Ovlivňuje jejich propustnost, viskozitu a aktivitu membránově vázaných enzymů (Peacock a Goosey 1989), proto ho lze použít jako selektivního markeru pro kvantifikaci houbové biomasy. Ergosterol se ve volné půdě poměrně rychle rozpadá, takže indikuje živou houbovou biomasu (Djajakirana et al. 1996). Bývá až na některé výjimky dominantním sterolem, avšak jeho obsah se může u jednotlivých druhů lišit (Weete et al. 2010). Poprvé bylo metody analýzy ergosterolu použito jako indikátoru kvality uskladněných obilnin, k jeho využití v půdní biologii došlo až později (Seitz 1979; Djajakirana et al. 1996). Výhodou je relativně rychlá robustní extrakce a možnost přesného měření pomocí kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí. Některé studie však naznačují, že pro disturbované půdy je vhodnější použít jako biomarkeru PLFA 18:2 $\omega$ 6,9, protože koncentrace ergosterolu nemusí objektivně reflektovat skutečnou situaci v mikrobiálním společenstvu (Högberg 2006).

#### **1.2.4 Aktivita mikrobiálního společenstva**

Aktivita půdního mikrobiálního společenstva vhodně doplňuje údaje o kvantitě a lze s ní dobře sledovat průběh dekompozice organické hmoty. Aktivita mikroorganismů je velice citlivá na změny podmínek prostředí. Půdní respirace a enzymatická aktivita jsou vhodnými nástroji k jejímu měření (Davidson et al. 2002; Bloem et al. 2006).

##### ***1.2.4.1 Půdní respirace***

Půdní respirace je definována jako proces výměny plynů mezi organismy a prostředím a jde o hlavní tok uhlíku z půdy do atmosféry (Davidson et al. 2002). Skládá se z respirace kořenů rostlin a půdní fauny včetně mikroorganismů. Podíl jednotlivých složek respirace se mění s podmínkami prostředí stejně tak jako s biotickými faktory a může značně kolísat (Luo a Zhou 2006). Bazální respirace půdy je definována jako respirace pocházející z mineralizace organické hmoty (Bloem et al. 2006). Půdní respirace se osvědčila jako citlivý ukazatel indikující antropogenní vlivy na půdu (Wolińska 2019). Lze ji měřit buď přímo na místě a v reálném čase, obvykle pomocí přístrojů s detektorem na principu absorpce infračerveného záření, nebo v laboratorním prostředí v uzavřených mikrokosmech. Měření respirace in situ je výhodné z hlediska minimalizace zásahu do půdního prostředí. Získává se tak informace o skutečné půdní respiraci na daném místě. Respirace v mikrokosmech se provádí inkubací daného množství půdy po určitý časový úsek, přičemž se měří buď spotřeba kyslíku nebo množství uvolněného CO<sub>2</sub> (Bloem et al. 2006).

##### ***1.2.4.2 Aktivita enzymů***

Půdní enzymy mají klíčovou biochemickou funkci v přeměně organické hmoty a v biochemických cyklech živin a jsou nezbytné pro katalýzu reakcí důležitých pro životní procesy půdních mikroorganismů (Bakshi a Varma 2010). Zpřístupňují živiny, mohou působit jako inhibitory fitopatogenů a degradovat polutanty. Enzymy jsou úzce spojené fyzikálně-chemickými a biologickými vlastnostmi půdy a jsou snadno ovlivnitelné antropogenními zásahy do půdního prostředí (Bakshi a Varma 2010, Karaca et al. 2010). Aktivita půdních enzymů se používá jako indikátoru mikrobiálního růstu, aktivity a metabolických preferencí mikrobiálního společenstva (Harris a Steer 2003; Bloem et al. 2006).

Enzymy je možné rozdělit na intracelulární, povrchové a extracelulární. Intracelulární enzymy reflektují lépe antropogenní zásahy do mikrobiálního společenstva, protože jsou součástí buněk mikroorganismů, kdežto extracelulární enzymy jsou v půdním prostředí volné nebo vázané (stabilizované) na jílové nebo organické částice a s jejich původcem nemají kontakt. Takto stabilizované enzymy kumulují informaci o aktivitě mikrobiálního společenstva a nereprezentují aktuální stav společenstva. Aktivita extracelulárních enzymů může poskytnout lepší informaci o dlouhodobém antropogenním vlivu na půdu (Karaca et al. 2010). Stanovuje se obvykle spektrofotometricky inkubací vzorku se substrátem.

### **1.2.5 Metabolomika**

Půdní metabolomika je relativně nová rozvíjející se disciplína, která umožňuje analýzu látek s nízkou molekulovou hmotností (<1000Da). Lze analyzovat relativní četnost stovek až tisíců metabolitů včetně biochemických meziproduktů. Metabolomika představuje velký potenciál k popsání složitých metabolických drah v půdní mikrobiální komunitě a zprostředkovává nový přístup k hodnocení půdy (Withers et al. 2020; Hernandez-Soriano a Jimenez-Lopez 2014).

#### ***1.2.5.1 Analýza rozpustné organické hmoty***

Složení půdní organické hmoty (SOM) má vliv na aktivitu, abundanci a složení mikroorganismů. SOM je hlavním zásobníkem uhlíku v půdě. Část SOM, kterou označujeme jako aktivní organickou hmotu, obsahuje živou biomasu mikroorganismů a dobře rozložitelné organické látky a díky tomu je považována za indikátor stavu půdy (Trumbore 2000). Rozpuštěná organická hmota (DOM) je frakce organické hmoty přefiltrovaná přes filtr o průměru 0,45 μm (Swenson et al. 2015), která obsahuje širokou škálu nízkomolekulárních látek (Swenson et al. 2015). Významná část metabolitů v DOM pochází z mikroorganismů (Gregorich et al. 2000; Kalbitz et al. 2000). Podrobná metabolomická analýza této frakce je proveditelná také pomocí nukleární magnetické rezonance (NMR) nebo různých chromatografických metod (Swenson et al. 2015).

## **1.3 Role půdních mikroorganismů v ekosystémových procesech**

Za hlavní ekosystémové služby a funkce mikroorganismů lze označit rozklad organických látek, zvyšování dostupnosti živin, fixaci vzdušného dusíku, oxidační a redukční procesy a



tvorbu asociací s rostlinami a živočichy (Torsvik a Øvreås 2002; Read a Perez-Moreno 2003; McNeill a Unkovich 2007). Mikroorganismy ovlivňují chemismus a fyzikální vlastnosti půdy, což má rovněž příznivý vliv na odolnost vůči erozi a schopnost zadržování vody v půdě (Chotte 2005). Obrovská rozmanitost půdní bioty vedla k úvaze, že její velká část je funkčně nadbytečná, protože druhy se často mohou ve svých funkcích zastupovat. To vedlo k závěru, že více než na druhové diverzitě záleží na funkční diverzitě (Bengtsson 1998). Ve velkém ekologickém gradientu má však pokles biodiverzity půdy negativní vliv na poskytování ekosystémových služeb (de Vries et al. 2013; Frouz 2020).

### **1.3.1 Tok energie a dekompozice**

Půdní organismy jsou převážně heterotrofní, energii získávají rozkladem organických látek. V půdách dochází k dekompozici většiny organických látek vyprodukovaných fotosyntézou terestrických ekosystémů. Proto jednou z nejvýznamnějších rolí půdních mikroorganismů je dekompozice a transformace organické hmoty a zpřístupňování biogenních prvků (Brookes et al. 2008). Množství mikrobiální biomasy v půdě rostlina během svého života ovlivňuje zejména prostřednictvím listového opadu, odumřelých kořenů a kořenových exudátů (Eldor 2015). Tyto uhlíkaté sloučeniny jsou degradovány soustavou redoxních reakcí, které katabolyzují půdní mikroorganismy. Během dlouhé evoluční historie mikroorganismů, došlo k vývoji nástrojů použitelných k recyklaci téměř všech v přírodě se vyskytujících molekul na stavební jednotky nezbytné pro výživu vyšších organismů (Eldor 2015). Získanou energii využívají pro metabolismus, syntézu biomasy a reprodukci.

Hlavními dekompozitory organické hmoty jsou houby a bakterie, které mají rozdílné životní strategie a nároky, díky čemuž jsou schopny se zastupovat v různých podmínkách prostředí. Například houby mají nižší nároky na dusík než bakterie a jsou více acidotolerantní, naopak bakterie snášejí lépe mechanické disturbance (Maier a Pepper 2009; Strickland a Rousk 2010).

### **1.3.2 Úloha mikroorganismů v cyklech biogenních prvků**

#### **1.3.2.1 Uhlík**

Půda je jedním z největších zásobníků uhlíku na planetě. Je v ní uloženo 1500 – 2400 Gt uhlíku, což je 2 až 3 krát více než se nachází ve formě CO<sub>2</sub> v atmosféře a 2 až 5 krát více než je uloženo v živé biomase celé planety (Intergovernmental Panel on Climate Change 2000).

Proto i malé změny v zásobě půdního organického uhlíku mohou významně ovlivňovat celkovou koncentraci uhlíku v atmosféře (Schmidt et al. 2011).

Toky uhlíku v globálním cyklu terestrických ekosystémů jsou ovlivněny jednak mírou fotosyntézy (fixace uhlíku) a zároveň autotrofní a heterotrofní respirací důsledkem dekompozice a dalších mikrobiálních procesů (uvolňování uhlíku). Až 20 % uhlíku získaného rostlinou pomocí fotosyntézy je distribuováno do rhizosféry (Averill et al. 2014, Jansson a Hofmockel 2020). Většina primární produkce biosféry je dekomponována mikroorganismy. Modely předpokládají, že mikroorganismy 45–55 % asimilovaného uhlíku přemění na CO<sub>2</sub> (Eldor 2015), díky tomu jsou schopny vyprodukovat zhruba šestkrát větší emise CO<sub>2</sub> než antropogenní aktivity (Trivedi et al. 2013). Množství CO<sub>2</sub> uvolněného mikroorganismy na jednotku získané energie se však liší podle efektivity využití uhlíku organismem, na což mají vliv podmínky okolního prostředí včetně antropogenního stresu (Six et al. 2006).

Dostupnost živin, kvalita substrátu, teplota nebo predace jsou hlavními faktory, které ovlivňují schopnost mikroorganismů využívat uhlík (del Giorgio a Cole 1998; Frey et al. 2001). Houby a bakterie využívají půdní uhlík k produkci polymerů, jenž pomáhají vytvářet půdní agregáty. Houby přispívají více než bakterie k tvorbě organické hmoty v půdě, její stabilizaci a akumulaci půdního organického uhlíku. Je to díky tomu, že uhlík zabudovávají do svých tkání v podobě chitinu a melaninu, což jsou obtížně rozložitelné organické látky (Six et al. 2006). Půdy s vyšší biodiverzitou jsou schopny sekvestrovat větší množství uhlíku (Lal 2004).

### ***1.3.2.2 Fixace dusíku a dusíkový cyklus***

Cyklus dusíku je jedním z nejdůležitějších biochemických cyklů na Zemi. Spolu s fosforem a draslíkem je hlavní složkou limitující primární produkci. Toky v dusíkovém cyklu jsou řízeny primárně procesy fixace dusíku, mineralizace a ztrátami denitrifikací a vytěkáním amoniaku do ovzduší. Prakticky všechny klíčové kroky v dusíkovém cyklu jsou řízeny mikroorganismy (McNeill a Unkovich 2007). Fixace dusíku může probíhat symbioticky i nesymbioticky, ale jelikož jde o energeticky velmi náročný proces, je většina fixace dusíku prováděna v symbióze s rostlinou, která mikroorganismům žijícím na jejich kořenech poskytuje energeticky bohaté látky (Gopalakrishnan et al. 2017). Uvádí se, že mikroorganismy žijící na kořenech bobovitých rostlin, jsou schopny fixovat 120 Mt dusíku

ročně a tím ho zpřístupnit biosféře (Smil 2001). Dusík ve formách, které jsou dostupné pro rostliny, je v půdě zpřístupňován také dekompozicí organických látek. Rostliny jsou schopny kromě dusíku ve formě anorganických látek přijímat rovněž dusík ve formě organických monomerů (Schimel a Bennett 2004). Klíčovým procesem je zde depolymerace složitějších organických látek, která probíhá pomocí extracelulárních enzymů. Nicméně pokud dojde v půdě k limitaci dusíkem, v kompetici s rostlinami vyhrávají mikroorganismy, na což rostliny reagují snížením hrubé primární produkce a změnami v kvalitě opadu (van der Heijden et al. 2008). Amoniak se dále biologicky oxiduje nitrifikačními bakteriemi, v procesu nitrifikace, až na  $\text{NO}_3^-$ , ten je dobře mobilní a dobře přijímán rostlinami i mikroorganismy. Denitrifikační bakterie a houby využívají nitráty jako akceptor elektronů a redukují je v procesu denitrifikace přes  $\text{N}_2\text{O}$  až na  $\text{N}_2$ . Je třeba si uvědomit, že díky velké heterogenitě půdního prostředí a tím i mikrobiálního společenstva mohou všechny přeměny v půdě probíhat současně (McNeill a Unkovich 2007).

### **1.3.2.3 Dostupnost fosforu**

Ve srovnání s dusíkem je fosfor v půdě méně mobilní a jeho velká část může být fixována v anorganických i organických formách (Stutter et al. 2012). Mikroorganismy dokáží efektivně zpřístupňovat fosfor buď změnou pH nebo rozkladem organické hmoty pomocí extracelulárních enzymů - fosfátáz (Clark a Zeto 2000). Nejefektivnější jsou v získávání fosforu arbuskulárně mykorhizní houby. Díky hyfám jsou navíc v heterotrofním prostředí půdy schopny dosáhnout k vzdálenějším zdrojům. Houby rostlinám poskytují dostupný fosfor v anorganické formě (orthofosforečnanové ionty), avšak poslední výzkumy naznačují, že mohou poskytovat i organické formy fosforu (Plassard et al. 2019). Potřeba fosforu, jako limitní živiny a konkurence o něj, je tak velká, že přestože rostliny v symbiotickém vztahu produkují navíc uhlík pro růst hub, dosahují ve výsledku větších přírůstků biomasy než rostliny bez mykorhizy (Lambers a Teste 2013; Verlinden et al. 2018).

## **1.4 Vliv antropogenního stresu na půdní mikroorganismy**

Stres spojený s činnostmi člověka může vést k degradaci půdy buď přímo (např. nevhodné zemědělské technologie, disturbance atd.) nebo nepřímo (šíření polutantů, invazivních druhů atd.). Degradace půdy může mít lokální, regionální nebo globální charakter. Může být chemická, fyzikální nebo biologická. V celosvětovém měřítku jsou nejvíce rozšířené tyto typy degradace půdy: eroze (vodní i větrná), ztráta půdní organické hmoty, ztráta živin,

zasolení půdy, ztráta biodiverzity, kontaminace, utužení a podmáčení půdy (Karlen a Rice 2015).

#### **1.4.1 Faktory prostředí a adaptace na ně**

Degradaci půdy dochází ke změně chemických, fyzikálních či biologických vlastností. Složení mikrobiálního společenstva v lokálním měřítku ovlivňuje zejména druh vegetace, dostupnost živin a uhlíku, střídání plodin, salinita, kontaminace (Helmy et al. 2015; Creamer et al. 2016; Holland et al. 2016; Ishaq et al. 2017), v kontinentálním měřítku pak především pH (Fierer a Jackson 2006; Philippot et al. 2012). Kyselost půdy řídí diverzitu bakterií, protože intracelulární pH většiny mikroorganismů je v rámci jednotkové odchylky od neutrálního pH. Bakterie jsou na kolísání pH citlivější než houby, na které má zase významnější vliv složení vegetace (Holland et al. 2016). Roli hraje i redoxní potenciál, který koreluje s bakteriálním růstem. Houby preferují mírně redoxní prostředí, zatímco bakterie mají větší abundanci ve více redoxním prostředí (Seo a DeLaune 2010). Zásoba organického uhlíku zase souvisí s diverzitou mikroorganismů. Vyšší diverzita mikroorganismů zvyšuje obsah organického uhlíku a jeho obrát a tím zlepšuje úrodnost půdy (Hatfield a Walthall 2015). Na složení a funkci mikrobiálního společenstva může mít větší vliv krátkodobá (pulzní) disturbance než dlouhodobá (Shade et al. 2012). Citlivost mikroorganismů na změny související s využitím půdy je rovněž závislá na typu půdy, zejména na obsahu jílu. Půdy s větším obsahem jílových částic poskytují mikroorganismům větší ochranu a ty jsou tak vůči změnám méně citlivé a jsou stabilnější než půdy písčité (Crowther et al. 2014).

Půdní mikroorganismy vyvinuly celou řadu strategií, jak se s měnícím životním prostředím vypořádat. Reagují na stres různými způsoby v závislosti na jejich genetické výbavě a fyziologickém stavu (Schimel et al. 2007). Schopnost adaptace mikroorganismů na změny je závislá na stupni narušení a na čase, který je nutný pro regulaci genové transkripce, případně ke vzniku mutací nebo získání nových genů skrze horizontální přenos genetické informace (Jansson a Hofmockel 2020).

#### **1.4.2 Příčiny antropogenního stresu**

##### **1.4.2.1 Skleníkový efekt**

Zvyšující se koncentrace CO<sub>2</sub> nejspíš ovlivní půdní biotu pouze nepřímo, skrze změny ve složení rostlinné biomasy a tím i potravy (Frouz 2020). Významnější zřejmě budou další

účinky, jakými jsou nestabilita klimatu, změna teploty a vlhkosti. Předpokládá se, že zvýšením teploty dojde ke zvýšení rychlosti mikrobiální dekompozice a tím k většímu toku CO<sub>2</sub> do atmosféry (Lu et al. 2013). Tento efekt bude nejméně výraznější zejména v arktických ekosystémech, kde je v permafrostu fixováno značné množství organické hmoty (Eldor 2015).

Mikroorganismy mají vliv i na další skleníkové plyny, jejichž produkce může být klimatickou změnou ovlivněna. Některé skupiny mikroorganismů jsou schopny místo kyslíku využívat jako akceptory elektronů sírany nebo dusičnany. Anaerobním rozkladem dochází k produkci CH<sub>4</sub> a N<sub>2</sub>O, což jsou plyny s ještě silnějším příspěvkem ke skleníkovému efektu než CO<sub>2</sub>. K tomuto procesu dochází v anoxickém prostředí bažin, rašelinišť, rýžovišť, v zaživacím traktu některých živočichů nebo v anoxickém prostředí půdních mikrostanovišť (Le Mer a Roger 2001).

#### ***1.4.2.2 Agrochemikálie***

Nadměrné používání hnojiv může vést ke snižování pH a tím k negativnímu ovlivnění mikroorganismů (Geisseler a Scow 2014). Bylo zjištěno, že antropogenní přísun dusíku do ekosystému zvyšuje půdní respiraci, snižuje mikrobiální biomasu a mění aktivitu enzymů, z čehož vyplývá, že má významný dopad na funkce půdních mikroorganismů (Ramirez et al. 2012). S hnojivy se do půdy také dostávají nežádoucí látky jako např. těžké kovy, na které jsou mikroorganismy velmi citlivé. Tyto látky se v půdě mohou kumulovat, takže další a další hnojení pouze zvyšuje jejich koncentraci a tím i toxicitu (Bünemann et al. 2006).

Negativně ovlivňuje půdní mikroorganismy nadměrná aplikace pesticidů, která snižuje půdní respiraci a diverzitu bakterií (Thiele-Bruhn et al. 2012; Wolińska 2019). Pesticidy se mohou vázat v půdě na organickou hmotu nebo jílové minerály a postupně být uvolňovány a degradovány mikroorganismy (Jacobsen a Hjelmsø 2014; Frouz 2020).

#### ***1.4.2.3 Půdní kultivace a disturbance stanovišť***

Půdní organická hmota je důležitou složkou půdy a lze jí definovat jako směsici zbytků pocházející z rostlin, živočichů a mikroorganismů v různém stupni rozkladu. Ve zjednodušeném pojetí půdní organická hmota zahrnuje opad, mikrobiální biomasu, lehkou frakci, ve vodě rozpustné organické látky a složitější organické látky (Stevenson 1994).

Kromě toho, že je jednou z největších zásobáren uhlíku na Zemi (Schmidt et al. 2011), má vliv na celou řadu půdních vlastností.

Vlivem kultivačních postupů, může docházet ke ztrátě půdní organické hmoty, abundance a diverzity půdní fauny (Hendrix et al. 1986). Disturbance půdy, zejména intenzivní orbou, vede k rozrušení její struktury a úbytku látek jako jsou glykoprotein a glomalin, které konsolidují půdní agregáty (Wright et al. 1999) a provzdušnění, což má negativní vliv na anaerobní bakterie (Kibblewhite et al. 2008; Wolińska 2019). Orba rovněž negativně ovlivňuje mikroorganismy podílející se na fixaci atmosférického dusíku, které jsou symbionty zejména bobovitých rostlin a snižují tak jejich schopnost obohacovat půdu o dusík (Coventry a Hirth 1992). Stejně negativně ovlivňuje půdní biotu utužení půdy vlivem nevhodného použití těžké mechanizace (Hamza a Anderson 2005). Ztráta půdní organické hmoty může snížit úrodnost půdy (Tiessen et al. 1994).

Vysoká citlivost půdní organické hmoty na změny ve využití půdy se projevuje zejména v tropických oblastech, kde dochází vlivem klimatických podmínek k rychlejší dekompozici organické hmoty a půdy jsou zde zvětralé a chudé na živiny (Ogle et al. 2005; Ross 1993). Nevhodně používané zemědělské postupy zde mohou mít velmi negativní vliv na stav půdy (Dominy a Haynes 2002; Häring et al. 2013). Na druhou stranu tradiční rotační systém zemědělství, který se uplatňuje v řadě tropických oblastí, vychází z dlouhodobých zkušeností (např. na Papue Nové Guinei se takto hospodaří již 7000 let (Denham 2011)). Jak ukazuje **publikace 1**, jeví se jako udržitelný a k půdní organické hmotě i k mikrobiálnímu společenstvu relativně šetrný způsob antropogenního zásahu do půdy.

#### ***1.4.2.4 Změny ve vstupu organické hmoty***

Půdní mikroorganismy jsou z větší části závislé na vstupu organické hmoty do půdy. V přírodních ekosystémech vstupuje do půdy většina biomasy primárních producentů. Avšak s tím jak člověk zvyšuje nároky na využití primární produkce pro své vlastní účely, dochází k postupnému snižování těchto vstupů (Haberl et al. 2007). To má za následek snižování biomasy a aktivity mikroorganismů (Li et al. 2004).

Dalším faktorem ovlivňujícím mikroorganismy je kvalita opadu a druhové složení vegetace. Rostliny jsou schopny růstu v různých kvalitních půdách, jejichž podmínky samy postupně mění, což má vliv na půdní biotu (Frouz 2020). Interakce mezi rostlinami a půdou jsou tak životně důležité pro správné fungování ekosystémových procesů (García de León

et al. 2016). Například na sukcesních plochách po těžbě uhlí byl pozorován negativní vliv koexistence *S. caprea* a *C. epigejos* na arbuskulárně mykorhizní houby v kořenech *C. epigejos* (**Publikace 3**). V průběhu sukcese tak dochází k postupnému nahrazení bylin a trav, které jsou hostitelky arbuskulárněmykorhizních hub dřevinami, které naopak hostí ektomykorhizní houby (Johnson et al. 1991). To může být zapříčiněno kumulací organické hmoty v půdě, kdy roste poměr organických živin (Frouz et al. 2008), což kompetičně zvýhodňuje především ektomykorhizní houby, které jsou schopny tyto živiny efektivně získávat.

Půdní organická hmota není jen hlavním zdrojem energie, ale také stanovištěm celé řady organismů. Disturbancí půdy dochází k narušení organické hmoty, což má za následek poškození těchto stanovišť (Frouz 2020). Na druhou stranu distribuce půdní organické hmoty do unikátních izolovaných ekosystémů může být nežádoucí. Prostředím, kde lze tento aspekt dobře pozorovat jsou jeskyně. Ze své podstaty představují poměrně izolované ekosystémy se stabilními klimatickými podmínkami (Lee et al. 2012). Každý umělý transport živin může představovat značný zásah do tohoto oligotrofního prostředí. Významným faktorem ovlivňujícím mikroorganismy jeskynních stanovišť jsou návštěvníci, kteří mohou mikrobiální společenstvo ovlivnit jak mechanickou disturbancí, tak právě transportem organické hmoty (**publikace č. 4**). To může být problematické vzhledem k tomu, že izolované jeskynní prostředí často představuje unikátní rezervoár mikroorganismů, které mohou být důležité např. pro výzkum a vývoj antibiotik (Pawlowski et al. 2016; Avguštin et al. 2019).

#### ***1.4.2.5 Biologické invaze***

Biologická invaze přispívá k poklesu biodiversity na celém světě (McGeoch et al. 2010). Invazivní druhy mění ekosystémové procesy, snižují abundanci a rozmanitost původních druhů díky kompetici, predaci, hybridizaci, ale i nepřímými efekty (Blackburn 2004; Gaertner et al. 2009). Invaze nepůvodních druhů rostlin podstatně mění společenství jak půdní mikrobioty, tak i půdní fauny (Belnap et al. 2005). Účinek však může být různě variabilní v závislosti na specifikách druhu invazivní rostliny a ovlivnění opadu a rhizosféry. Například Zhang et al. (2019) uvádí pozitivní účinek opadu invazivní rostliny na biomasu bakterií, kdežto negativní účinek na rhizosféru. V souladu s tímto tvrzením je i výsledek **Publikace 2**, kde byl pozorován signifikantně negativní efekt na společenstvo mikroorganismů v hlubší vrstvě půdy (5–10 cm).

Jelikož jsou invazivní druhy rostlin ve svém novém prostředí konkurenčně velice úspěšné, předpokládá se, že toho dosahují mimo jiné díky alelopatii, tedy způsobu ovlivňování okolního prostředí pomocí specifických metabolitů (Thiébaud et al. 2019; Callaway 2000). Než alelopatické látky doputují k příslušné konkurenční rostlině, kterou mají za cíl poškodit, dostávají se do kontaktu s půdními mikroorganismy. Ty jsou schopny tyto látky postupně rozkládat a tím zmírňovat alelopatický efekt (Li et al. 2015). Avšak některé alelopatické látky jsou schopné poškodit nebo pozměnit mikroorganismy, např. arbuskulárně mykorhizní houby, a tím potlačit druhy, jejichž prosperita na mykorhize závisí (Batten et al. 2006; Mummey a Rillig 2006). Stejně tak mutualistické mikroorganismy, mezi které můžeme řadit některé rhizosférické bakterie, mohou být ovlivněny alelopatickými látkami (Cipollini et al. 2012). Rovněž výsledky prezentované v **publikaci 2** naznačují možný vliv alelopatických látek invazivního druhu na původní mikrobiální společenstvo půdy.

Účinnost alelopatického efektu je tak závislá také na tom, jakou vzdálenost musejí alelopatické látky v půdě ke konkurenční rostlině překonat (Zhu et al. 2011). Schopnost mikroorganismů rozkládat alelopatické látky bývá vyšší na místech, která jsou vystavena invazivním rostlinám déle, než tam kam se dostaly rostliny čerstvě. To je dáno postupnou adaptací mikrobiálního společenstva na nastalé podmínky (Li et al. 2017).

## 1.5 Závěr

Pro výzkum mikrobiálního společenstva půdy existuje řada důvodů, ať už jde o bližší poznání faktorů ovlivňujících globální cykly živin, ekosystémové služby a změny s tím související nebo sledování reakcí mikroorganismů coby indikátorů vlivu okolního prostředí.

Stav mikrobiálního společenstva a jeho odezvu na faktory prostředí lze sledovat pomocí biochemických markerů. Použití konkrétního typu markeru nebo metody by se mělo odvíjet od hypotéz a také podmínek experimentu nebo místa odběru. Jelikož jednotlivé markery poskytují pouze částečnou informaci o mikrobiálním společenstvu, je vhodné je pokud možno kombinovat a vzájemně doplňovat.

Hlubší poznání mikrobiálního společenstva je vzhledem k jeho významu a funkcím velmi důležité. Abychom mohli zachovat jeho funkční diverzitu je nezbytné poznat všechny možné aspekty lidské činnosti, které mohou mít na mikrobiální společenstvo půdy vliv. V posledních letech se studium mikrobiálního společenstva stává jedním z hlavních směrů půdní biologie.



## 2 Seznam citované literatury

- ABUZINADAH, R. A. a D. J. READ, 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* [online]. **103**(3), 481–493. ISSN 0028-646X, 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-8137.1986.tb02886.x
- AVERILL, Colin, Benjamin L. TURNER a Adrien C. FINZI, 2014. Mycorrhiza-mediated competition between plants and decomposers drives soil carbon storage. *Nature* [online]. **505**(7484), 543–545. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature12901
- AVGUŠTIN, Ambrožič Jerneja, Patricia PETRIČ a Lejla PAŠIĆ, 2019. Screening the cultivable cave microbial mats for the production of antimicrobial compounds and antibiotic resistance. *International Journal of Speleology* [online]. **48**(3), 295–303. ISSN 0392-6672, 1827-806X. Dostupné z: doi:10.5038/1827-806X.48.3.2272
- BAKSHI, Madhunita a Ajit VARMA, 2010. Soil Enzyme: The State-of-Art. In: Girish SHUKLA a Ajit VARMA, ed. *Soil Enzymology* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, s. 1–23 [vid. 2020-07-25]. ISBN 978-3-642-14224-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-14225-3\_1
- BARDGETT, Richard D. a Wim H. VAN DER PUTTEN, 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* [online]. **515**(7528), 505–511. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature13855
- BATTEN, Katharine M., Kate M. SCOW, Kendi F. DAVIES a Susan P. HARRISON, 2006. Two Invasive Plants Alter Soil Microbial Community Composition in Serpentine Grasslands. *Biological Invasions* [online]. **8**(2), 217–230. ISSN 1387-3547, 1573-1464. Dostupné z: doi:10.1007/s10530-004-3856-8
- BELNAP, Jayne, Susan L. PHILLIPS, Susan K. SHERROD a Andy MOLDENKE, 2005. Soil biota can change after exotic plant invasion: Does this affect ecosystem processes? *Ecology* [online]. **86**(11), 3007–3017. ISSN 0012-9658. Dostupné z: doi:10.1890/05-0333
- BENGTSSON, Jan, 1998. Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function. *Applied Soil Ecology* [online]. **10**(3), 191–199. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/S0929-1393(98)00120-6
- BLACKBURN, T. M., 2004. Avian Extinction and Mammalian Introductions on Oceanic Islands. *Science* [online]. **305**(5692), 1955–1958. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1101617
- BLOEM, Jaap, David W HOPKINS a Anna BENEDETTI, 2006. *Microbiological methods for assessing soil quality* [online]. Wallingford, UK; Cambridge, MA: CABI Pub. [vid. 2020-07-20]. ISBN 978-1-84593-141-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1079/9780851990989.0000>
- BROOKES, P.C., M.L. CAYUELA, M. CONTIN, M. DE NOBILI, S.J. KEMMITT a C. MONDINI, 2008. The mineralisation of fresh and humified soil organic matter by the soil

microbial biomass. *Waste Management* [online]. **28**(4), 716–722. ISSN 0956053X. Dostupné z: doi:10.1016/j.wasman.2007.09.015

BÜNEMANN, E. K., G. D. SCHWENKE a L. VAN ZWIETEN, 2006. Impact of agricultural inputs on soil organisms—a review. *Soil Research* [online]. **44**(4), 379. ISSN 1838-675X. Dostupné z: doi:10.1071/SR05125

CALLAWAY, R. M., 2000. Invasive Plants Versus Their New and Old Neighbors: A Mechanism for Exotic Invasion. *Science* [online]. **290**(5491), 521–523. ISSN 00368075, 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.290.5491.521

CIPOLLINI, Don, Chad M. RIGSBY a E. Kathryn BARTO, 2012. Microbes as Targets and Mediators of Allelopathy in Plants. *Journal of Chemical Ecology* [online]. **38**(6), 714–727. ISSN 0098-0331, 1573-1561. Dostupné z: doi:10.1007/s10886-012-0133-7

CLARK, R.B. a S.K. ZETO, 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* [online]. **23**(7), 867–902. ISSN 0190-4167, 1532-4087. Dostupné z: doi:10.1080/01904160009382068

COVENTRY, D.R. a J.R. HIRTH, 1992. Effects of tillage and lime on *Rhizobium trifolii* populations and survival in wheat-subterranean clover rotation in southeastern Australia. *Soil and Tillage Research* [online]. **25**(1), 67–74. ISSN 01671987. Dostupné z: doi:10.1016/0167-1987(92)90063-H

CREAMER, R.E., D. STONE, P. BERRY a I. KUIPER, 2016. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp<sup>TM</sup> method. *Applied Soil Ecology* [online]. **97**, 36–43. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2015.08.004

CROWTHER, Thomas W., Daniel S. MAYNARD, Jonathan W. LEFF, Emily E. OLDFIELD, Rebecca L. MCCULLEY, Noah FIERER a Mark A. BRADFORD, 2014. Predicting the responsiveness of soil biodiversity to deforestation: a cross-biome study. *Global Change Biology* [online]. **20**(9), 2983–2994. ISSN 13541013. Dostupné z: doi:10.1111/gcb.12565

DAVIDSON, E.A, K SAVAGE, P BOLSTAD, D.A CLARK, P.S CURTIS, D.S ELLSWORTH, P.J HANSON, B.E LAW, Y LUO, K.S PREGITZER, J.C RANDOLPH a D ZAK, 2002. Belowground carbon allocation in forests estimated from litterfall and IRGA-based soil respiration measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* [online]. **113**(1–4), 39–51. ISSN 01681923. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1923(02)00101-6

DE VRIES, F. T., E. THEBAULT, M. LIIRI, K. BIRKHOFFER, M. A. TSIAFOULI, L. BJORNLUND, H. BRACHT JORGENSEN, M. V. BRADY, S. CHRISTENSEN, P. C. DE RUITER, T. D'HERTEFELDT, J. FROUZ, K. HEDLUND, L. HEMERIK, W. H. G. HOL, S. HOTES, S. R. MORTIMER, H. SETALA, S. P. SGARDELIS, K. UTESENY, W. H. VAN DER PUTTEN, V. WOLTERS a R. D. BARDGETT, 2013. Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **110**(35), 14296–14301. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1305198110

- DE VRIEZE, J., 2015. The littlest farmhands. *Science* [online]. **349**(6249), 680–683. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.349.6249.680
- DEL GIORGIO, Paul A. a Jonathan J. COLE, 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* [online]. **29**(1), 503–541. ISSN 0066-4162. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.ecolsys.29.1.503
- DENHAM, Tim, 2011. Early Agriculture and Plant Domestication in New Guinea and Island Southeast Asia. *Current Anthropology* [online]. **52**(S4), S379–S395. ISSN 0011-3204, 1537-5382. Dostupné z: doi:10.1086/658682
- DJAJAKIRANA, G., R. G. JOERGENSEN a B. MEYER, 1996. Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. *Biology and Fertility of Soils* [online]. **22**(4), 299–304. ISSN 0178-2762, 1432-0789. Dostupné z: doi:10.1007/BF00334573
- DOMINY, C. S. a R. J. HAYNES, 2002. Influence of agricultural land management on organic matter content, microbial activity and aggregate stability in the profiles of two Oxisols. *Biology and Fertility of Soils* [online]. **36**(4), 298–305. ISSN 0178-2762. Dostupné z: doi:10.1007/s00374-002-0542-9
- ELDOR, Paul A., 2015. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* [online]. B.m.: Elsevier [vid. 2020-07-12]. ISBN 978-0-12-415955-6. Dostupné z: doi:10.1016/C2011-0-05497-2
- FIERER, N. a R. B. JACKSON, 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **103**(3), 626–631. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0507535103
- FIERER, Noah, 2017. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **15**(10), 579–590. ISSN 1740-1526, 1740-1534. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro.2017.87
- FREY, S.D., V.V.S.R. GUPTA, E.T. ELLIOTT a K. PAUSTIAN, 2001. Protozoan grazing affects estimates of carbon utilization efficiency of the soil microbial community. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **33**(12–13), 1759–1768. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/S0038-0717(01)00101-8
- FROSTEGARD, A. a E. BAATH, 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* [online]. **22**(1–2), 59–65. ISSN 0178-2762. Dostupné z: doi:10.1007/BF00384433
- FROUZ, Jan, 2020. Soil biodiversity conservation for mitigating climate change. In: *Climate Change and Soil Interactions* [online]. B.m.: Elsevier, s. 1–19 [vid. 2020-08-02]. ISBN 978-0-12-818032-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-818032-7.00001-1
- FROUZ, Jan, Karel PRACH, Václav PIŽL, Ladislav HÁNĚL, Josef STARÝ, Karel TAJOVSKÝ, Jan MATERNA, Vladimír BALÍK, Jiří KALČÍK a Klára ŘEHOUNKOVÁ, 2008. Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology* [online]. **44**(1), 109–121. ISSN 11645563. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejsobi.2007.09.002

GAERTNER, Mirijam, Alana DEN BREEYEN, CANG HUI a David M. RICHARDSON, 2009. Impacts of alien plant invasions on species richness in Mediterranean-type ecosystems: a meta-analysis. *Progress in Physical Geography: Earth and Environment* [online]. **33**(3), 319–338. ISSN 0309-1333, 1477-0296. Dostupné z: doi:10.1177/0309133309341607

GARCÍA DE LEÓN, David, Mari MOORA, Maarja ÖPIK, Teele JAIRUS, Lena NEUENKAMP, Martti VASAR, C. Guillermo BUENO, Maret GERZ, John DAVISON a Martin ZOBEL, 2016. Dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi and plants during succession. *Acta Oecologica* [online]. **77**, 128–135. ISSN 1146609X. Dostupné z: doi:10.1016/j.actao.2016.10.006

GEISSELER, Daniel a Kate M. SCOW, 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **75**, 54–63. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2014.03.023

GHANI, A, M DEXTER a K.W PERROTT, 2003. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **35**(9), 1231–1243. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/S0038-0717(03)00186-X

GOPALAKRISHNAN, Subramaniam, Vadlamudi SRINIVAS a Srinivasan SAMINENI, 2017. Nitrogen fixation, plant growth and yield enhancements by diazotrophic growth-promoting bacteria in two cultivars of chickpea ( *Cicer arietinum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. **11**, 116–123. ISSN 18788181. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2017.06.012

GREGORICH, E.G., B.C. LIANG, C.F. DRURY, A.F. MACKENZIE a W.B. MCGILL, 2000. Elucidation of the source and turnover of water soluble and microbial biomass carbon in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **32**(5), 581–587. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/S0038-0717(99)00146-7

GUPTA, Raj K., I. P. ABROL, Charles W. FINKL, M. B. KIRKHAM, Marta Camps ARBESTAIN, Felipe MACÍAS, Ward CHESWORTH, James J. GERMIDA, Richard H. LOEPPERT, Maurice G. COOK, G. O. SCHWAB, Krystyna KONSTANKIEWICZ, Jarosław PYTKA, J. J. OERTLI, Arieh SINGER, William Joseph EDMONDS a Yucheng FENG, 2008. Soil Microbiology. In: Ward CHESWORTH, ed. *Encyclopedia of Soil Science* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, s. 673–678 [vid. 2020-07-21]. ISBN 978-1-4020-3994-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4020-3995-9\_544

HABERL, H., K. H. ERB, F. KRAUSMANN, V. GAUBE, A. BONDEAU, C. PLUTZAR, S. GINGRICH, W. LUCHT a M. FISCHER-KOWALSKI, 2007. Quantifying and mapping the human appropriation of net primary production in earth's terrestrial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **104**(31), 12942–12947. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0704243104

HAMZA, M.A. a W.K. ANDERSON, 2005. Soil compaction in cropping systems. *Soil and Tillage Research* [online]. **82**(2), 121–145. ISSN 01671987. Dostupné z: doi:10.1016/j.still.2004.08.009

- HÄRING, V., H. FISCHER, G. CADISCH a K. STAHR, 2013. Implication of erosion on the assessment of decomposition and humification of soil organic carbon after land use change in tropical agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **65**, 158–167. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2013.04.021
- HARRIS, J. A. a J. STEER, 2003. Modern Methods for Estimating Soil Microbial Biomass and Diversity: An Integrated Approach. In: Václav ŠAŠEK, John A. GLASER a Philippe BAVEYE, ed. *The Utilization of Bioremediation to Reduce Soil Contamination: Problems and Solutions* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, s. 29–48 [vid. 2020-07-31]. ISBN 978-1-4020-1142-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-010-0131-1\_3
- HART, Miranda M. a Richard J. READER, 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* [online]. **153**(2), 335–344. ISSN 0028-646X, 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1046/j.0028-646X.2001.00312.x
- HATFIELD, Jerry L. a Charles L. WALTHALL, 2015. Soil Biological Fertility: Foundation for the Next Revolution in Agriculture? *Communications in Soil Science and Plant Analysis* [online]. **46**(6), 753–762. ISSN 0010-3624, 1532-2416. Dostupné z: doi:10.1080/00103624.2015.1005227
- HELMY, Qomarudin, Rudy LAKSMONO a Edwan KARDENA, 2015. Bioremediation of Aged Petroleum Oil Contaminated Soil: From Laboratory Scale to Full Scale Application. *Procedia Chemistry* [online]. **14**, 326–333. ISSN 18766196. Dostupné z: doi:10.1016/j.proche.2015.03.045
- HENDRIX, Paul F., Robert W. PARMELEE, D. A. CROSSLEY, David C. COLEMAN, Eugene P. ODUM a Peter M. GROFFMAN, 1986. Detritus Food Webs in Conventional and No-Tillage Agroecosystems. *BioScience* [online]. **36**(6), 374–380. ISSN 00063568, 15253244. Dostupné z: doi:10.2307/1310259
- HERNANDEZ-SORIANO, Maria C. a Jose JIMENEZ-LOPEZ, 2014. Metabolomics for Soil Contamination Assessment. In: Maria C. HERNANDEZ SORIANO, ed. *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination* [online]. B.m.: InTech [vid. 2020-08-01]. ISBN 978-953-51-1235-8. Dostupné z: doi:10.5772/58294
- HÖGBERG, Mona N., 2006. Discrepancies between ergosterol and the phospholipid fatty acid 18:2 $\omega$ 6,9 as biomarkers for fungi in boreal forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **38**(12), 3431–3435. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2006.06.002
- HOLLAND, Taylor C., Pat A. BOWEN, Carl P. BOGDANOFF, Thomas D. LOWERY, Olga SHAPOSHNIKOVA, Scott SMITH a Miranda M. HART, 2016. Evaluating the diversity of soil microbial communities in vineyards relative to adjacent native ecosystems. *Applied Soil Ecology* [online]. **100**, 91–103. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2015.12.001
- CHOTTE, Jean-Luc, 2005. Importance of Microorganisms for Soil Aggregation. In: Ajit VARMA a Francois BUSCOT, ed. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and*

*Functions* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, s. 107–119 [vid. 2020-08-01]. ISBN 978-3-540-22220-0. Dostupné z: doi:10.1007/3-540-26609-7\_5

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2000. *Summary for policymakers: land use, land-use change, and forestry : a special report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Place of publication not identified: Intergovernmental Panel on Climate Change. ISBN 978-92-9169-114-2.

ISHAQ, Suzanne L., Stephen P. JOHNSON, Zach J. MILLER, Erik A. LEHNHOFF, Sarah OLIVO, Carl J. YEOMAN a Fabian D. MENALLED, 2017. Impact of Cropping Systems, Soil Inoculum, and Plant Species Identity on Soil Bacterial Community Structure. *Microbial Ecology* [online]. **73**(2), 417–434. ISSN 0095-3628, 1432-184X. Dostupné z: doi:10.1007/s00248-016-0861-2

JACOBSEN, Carsten Suhr a Mathis Hjort HJELMSØ, 2014. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. **27**, 15–20. ISSN 09581669. Dostupné z: doi:10.1016/j.copbio.2013.09.003

JANSSON, Janet K. a Kirsten S. HOFMOCKEL, 2020. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **18**(1), 35–46. ISSN 1740-1526, 1740-1534. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-019-0265-7

JOERGENSEN, R.G., 1995. Microbial biomass. In: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* [online]. B.m.: Elsevier, s. 375–417 [vid. 2020-07-19]. ISBN 978-0-12-513840-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012513840-6/50023-9

JOHNSON, Nancy Collins, Donald R. ZAK, David TILMAN a F. L. PFLEGER, 1991. Dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizae during old field succession. *Oecologia* [online]. **86**(3), 349–358. ISSN 0029-8549, 1432-1939. Dostupné z: doi:10.1007/BF00317600

KALBITZ, K., S. SOLINGER, J.-H. PARK, B. MICHALZIK a E. MATZNER, 2000. CONTROLS ON THE DYNAMICS OF DISSOLVED ORGANIC MATTER IN SOILS: A REVIEW: *Soil Science* [online]. **165**(4), 277–304. ISSN 0038-075X. Dostupné z: doi:10.1097/00010694-200004000-00001

KARACA, Ayten, Sema Camci CETIN, Oguz Can TURGAY a Ridvan KIZILKAYA, 2010. Soil Enzymes as Indication of Soil Quality. In: Girish SHUKLA a Ajit VARMA, ed. *Soil Enzymology* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, s. 119–148 [vid. 2020-07-25]. ISBN 978-3-642-14224-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-14225-3\_7

KARLEN, Douglas a Charles RICE, 2015. Soil Degradation: Will Humankind Ever Learn? *Sustainability* [online]. **7**(9), 12490–12501. ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su70912490

KAUR, Amrit, A. CHAUDHARY, Kaur AMARJEED, H. CHOUDHARY a R. KAUSHIK, 2005. Phospholipid fatty acid - A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science*. **89**(7), 1103–1112.

- KIBBLEWHITE, M.G, K RITZ a M.J SWIFT, 2008. Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. **363**(1492), 685–701. ISSN 0962-8436, 1471-2970. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2007.2178
- LAL, R., 2004. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science* [online]. **304**(5677), 1623–1627. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1097396
- LAMBERS, Hans a FrançOis P. TESTE, 2013. Interactions between arbuscular mycorrhizal and non-mycorrhizal plants: do non-mycorrhizal species at both extremes of nutrient availability play the same game?: Mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. *Plant, Cell & Environment* [online]. n/a-n/a. ISSN 01407791. Dostupné z: doi:10.1111/pce.12117
- LE MER, Jean a Pierre ROGER, 2001. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *European Journal of Soil Biology* [online]. **37**(1), 25–50. ISSN 11645563. Dostupné z: doi:10.1016/S1164-5563(01)01067-6
- LE MOUËL, C. a A. FORSLUND, 2017. How can we feed the world in 2050? A review of the responses from global scenario studies. *European Review of Agricultural Economics* [online]. **44**(4), 541–591. ISSN 0165-1587, 1464-3618. Dostupné z: doi:10.1093/erae/jbx006
- LEE, N. M., D. B. MEISINGER, R. AUBRECHT, L. KOVACIK, C. SAIZ-JIMENEZ, S. BASKAR, R. BASKAR, W. LIEBL, M. L. PORTER a A. S. ENGEL, 2012. Caves and karst environments. In: E. M. BELL, ed. *Life at extremes: environments, organisms and strategies for survival* [online]. Wallingford: CABI, s. 320–344 [vid. 2020-07-26]. ISBN 978-1-84593-814-7. Dostupné z: doi:10.1079/9781845938147.0320
- LI, Yang-Ping, Yu-Long FENG, Ya-Jun CHEN a Yao-Hua TIAN, 2015. Soil microbes alleviate allelopathy of invasive plants. *Science Bulletin* [online]. **60**(12), 1083–1091. ISSN 20959273. Dostupné z: doi:10.1007/s11434-015-0819-7
- LI, Yang-Ping, Yu-Long FENG, Zong-Li KANG, Yu-Long ZHENG, Jiao-Lin ZHANG a Ya-Jun CHEN, 2017. Changes in soil microbial communities due to biological invasions can reduce allelopathic effects. *Journal of Applied Ecology* [online]. **54**(5), 1281–1290. ISSN 00218901. Dostupné z: doi:10.1111/1365-2664.12878
- LI, Yiqing, Ming XU, Osbert J. SUN a Wangcheng CUI, 2004. Effects of root and litter exclusion on soil CO<sub>2</sub> efflux and microbial biomass in wet tropical forests. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **36**(12), 2111–2114. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2004.06.003
- LU, Meng, Xuhui ZHOU, Qiang YANG, Hui LI, Yiqi LUO, Changming FANG, Jiakuan CHEN, Xin YANG a Bo LI, 2013. Responses of ecosystem carbon cycle to experimental warming: a meta-analysis. *Ecology* [online]. **94**(3), 726–738. ISSN 0012-9658. Dostupné z: doi:10.1890/12-0279.1
- LUO, Yiqi a Xuhui ZHOU, 2006. *Soil respiration and the environment*. Amsterdam ; Boston: Elsevier Academic Press. ISBN 978-0-12-088782-8.

- MAIER, Raina M. a Ian L. PEPPER, 2009. Earth Environments. In: *Environmental Microbiology* [online]. B.m.: Elsevier, s. 57–82 [vid. 2020-07-26]. ISBN 978-0-12-370519-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-370519-8.00004-3
- MCGEOCH, Melodie A., Stuart H. M. BUTCHART, Dian SPEAR, Elrike MARAIS, Elizabeth J. KLEYNHANS, Andy SYMES, Janice CHANSON a Michael HOFFMANN, 2010. Global indicators of biological invasion: species numbers, biodiversity impact and policy responses: Invasive alien species indicator: 2010 Biodiversity Target. *Diversity and Distributions* [online]. **16**(1), 95–108. ISSN 13669516. Dostupné z: doi:10.1111/j.1472-4642.2009.00633.x
- MCNEILL, Ann a Murray UNKOVICH, 2007. The Nitrogen Cycle in Terrestrial Ecosystems. In: Petra MARSCHNER a Zdenko RENGEL, ed. *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, s. 37–64 [vid. 2020-07-30]. ISBN 978-3-540-68026-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-540-68027-7\_2
- MUMMEY, Daniel L. a Matthias C. RILLIG, 2006. The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant and Soil* [online]. **288**(1–2), 81–90. ISSN 0032-079X, 1573-5036. Dostupné z: doi:10.1007/s11104-006-9091-6
- NILSSON, R. Henrik, Sten ANSLAN, Mohammad BAHRAM, Christian WURZBACHER, Petr BALDRIAN a Leho TEDERSOO, 2019. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **17**(2), 95–109. ISSN 1740-1526, 1740-1534. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-018-0116-y
- NKONGOLO, K. K. a R. NARENDRULA-KOTHA, 2020. Advances in monitoring soil microbial community dynamic and function. *Journal of Applied Genetics* [online]. **61**(2), 249–263. ISSN 1234-1983, 2190-3883. Dostupné z: doi:10.1007/s13353-020-00549-5
- OGLE, Stephen M., F. Jay BREIDT a Keith PAUSTIAN, 2005. Agricultural management impacts on soil organic carbon storage under moist and dry climatic conditions of temperate and tropical regions. *Biogeochemistry* [online]. **72**(1), 87–121. ISSN 0168-2563, 1573-515X. Dostupné z: doi:10.1007/s10533-004-0360-2
- OLSSON, Pål Axel, Erland BÅÅTH, Iver JAKOBSEN a Bengt SÖDERSTRÖM, 1995. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Mycological Research* [online]. **99**(5), 623–629. ISSN 09537562. Dostupné z: doi:10.1016/S0953-7562(09)80723-5
- PAWLOWSKI, Andrew C., Wenliang WANG, Kalinka KOTEVA, Hazel A. BARTON, Andrew G. MCARTHUR a Gerard D. WRIGHT, 2016. A diverse intrinsic antibiotic resistome from a cave bacterium. *Nature Communications* [online]. **7**(1), 13803. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/ncomms13803
- PEACOCK, Gary A. a Michael W. GOOSEY, 1989. Separation of fungal sterols by normal-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. **469**, 293–304. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(01)96464-7



- PENNANEN, Taina, 2001. Microbial communities in boreal coniferous forest humus exposed to heavy metals and changes in soil pH—a summary of the use of phospholipid fatty acids, Biolog® and 3H-thymidine incorporation methods in field studies. *Geoderma* [online]. **100**(1–2), 91–126. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-7061(00)00082-3
- PEPPER, Ian L, Charles P GERBA, Terry J GENTRY a Raina M MAIER, 2011. *Environmental Microbiology*. ISBN 978-0-08-091940-9.
- PHILIPPOT, Laurent, Karl RITZ, Pascal PANDARD, Sara HALLIN a Fabrice MARTIN-LAURENT, 2012. Standardisation of methods in soil microbiology: progress and challenges. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. **82**(1), 1–10. ISSN 01686496. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01436.x
- PLASSARD, Claude, Adeline BECQUER a Kevin GARCIA, 2019. Phosphorus Transport in Mycorrhiza: How Far Are We? *Trends in Plant Science* [online]. **24**(9), 794–801. ISSN 13601385. Dostupné z: doi:10.1016/j.tplants.2019.06.004
- RAMIREZ, Kelly S., Joseph M. CRAINE a Noah FIERER, 2012. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology* [online]. **18**(6), 1918–1927. ISSN 13541013. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x
- READ, D. J. a J. PEREZ-MORENO, 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New Phytologist* [online]. **157**(3), 475–492. ISSN 0028-646X, 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00704.x
- ROSS, Sheila M., 1993. Organic matter in tropical soils: current conditions, concerns and prospects for conservation. *Progress in Physical Geography* [online]. **17**(3), 265–305. ISSN 0309-1333, 1477-0296. Dostupné z: doi:10.1177/030913339301700301
- ROSSELLÓ-MORA, R, 2001. The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. **25**(1), 39–67. ISSN 01686445. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-6445(00)00040-1
- SEITZ, L. M., 1979. Ergosterol as a Measure of Fungal Growth. *Phytopathology* [online]. **69**(11), 1202. ISSN 0031949X. Dostupné z: doi:10.1094/Phyto-69-1202
- SEO, Dong Cheol a Ronald D. DELAUNE, 2010. Effect of redox conditions on bacterial and fungal biomass and carbon dioxide production in Louisiana coastal swamp forest sediment. *Science of The Total Environment* [online]. **408**(17), 3623–3631. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2010.04.043
- SHADE, Ashley, Hannes PETER, Steven D. ALLISON, Didier L. BAHO, Mercè BERGA, Helmut BÜRGMANN, David H. HUBER, Silke LANGENHEDER, Jay T. LENNON, Jennifer B. H. MARTINY, Kristin L. MATULICH, Thomas M. SCHMIDT a Jo HANDELSMAN, 2012. Fundamentals of Microbial Community Resistance and Resilience. *Frontiers in Microbiology* [online]. **3** [vid. 2020-07-16]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2012.00417

SCHIMEL, Joshua, Teri C. BALSER a Matthew WALLENSTEIN, 2007. Microbial stress-Response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* [online]. **88**(6), 1386–1394. ISSN 0012-9658. Dostupné z: doi:10.1890/06-0219

SCHIMEL, Joshua P. a Jennifer BENNETT, 2004. Nitrogen Mineralization: Challenges of a Changing Paradigm. *Ecology* [online]. **85**(3), 591–602. ISSN 0012-9658. Dostupné z: doi:10.1890/03-8002

SCHMIDT, Michael W. I., Margaret S. TORN, Samuel ABIVEN, Thorsten DITTMAR, Georg GUGGENBERGER, Ivan A. JANSSENS, Markus KLEBER, Ingrid KÖGEL-KNABNER, Johannes LEHMANN, David A. C. MANNING, Paolo NANNIPIERI, Daniel P. RASSE, Steve WEINER a Susan E. TRUMBORE, 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* [online]. **478**(7367), 49–56. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature10386

SIX, J., S. D. FREY, R. K. THIET a K. M. BATTEN, 2006. Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* [online]. **70**(2), 555–569. ISSN 03615995. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj2004.0347

SMIL, Vaclav, 2001. *Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production*. Cambridge, Mass: MIT Press. ISBN 978-0-262-19449-5.

STEVENSON, F. J., 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York: Wiley. ISBN 978-0-471-59474-1.

STRICKLAND, Michael S. a Johannes ROUSK, 2010. Considering fungal:bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **42**(9), 1385–1395. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2010.05.007

STUTTER, Marc I., Charles A. SHAND, Timothy S. GEORGE, Martin S. A. BLACKWELL, Roland BOL, Regina L. MACKAY, Alan E. RICHARDSON, Leo M. CONDRON, Benjamin L. TURNER a Philip M. HAYGARTH, 2012. Recovering Phosphorus from Soil: A Root Solution? *Environmental Science & Technology* [online]. **46**(4), 1977–1978. ISSN 0013-936X, 1520-5851. Dostupné z: doi:10.1021/es2044745

SWENSON, Tami L., Stefan JENKINS, Benjamin P. BOWEN a Trent R. NORTHEN, 2015. Untargeted soil metabolomics methods for analysis of extractable organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **80**, 189–198. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.007

THIÉBAUT, Gabrielle, Michèle TARAYRE a Héctor RODRÍGUEZ-PÉREZ, 2019. Allelopathic Effects of Native Versus Invasive Plants on One Major Invader. *Frontiers in Plant Science* [online]. **10**, 854. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2019.00854

THIELE-BRUHN, Sören, Jaap BLOEM, Franciska T DE VRIES, Karsten KALBITZ a Cameron WAGG, 2012. Linking soil biodiversity and agricultural soil management.

*Current Opinion in Environmental Sustainability* [online]. **4**(5), 523–528. ISSN 18773435. Dostupné z: doi:10.1016/j.cosust.2012.06.004

THOMPSON, Luke R., Daniel MCDONALD, Amnon AMIR, Joshua LADAU, Kenneth J. LOCEY, Robert J. PRILL, Anupriya TRIPATHI, Sean M. GIBBONS, Gail ACKERMANN, Jose A. NAVAS-MOLINA, Stefan JANSSEN, Evguenia KOPYLOVA, Yoshiki VÁZQUEZ-BAEZA, Antonio GONZÁLEZ, James T. MORTON, Siavash MIRARAB, Zhenjiang ZECH XU, Lingjing JIANG, Mohamed F. HAROON, Jad KANBAR, Qiyun ZHU, Se JIN SONG, Tomasz KOSCIOLEK, Nicholas A. BOKULICH, Joshua LEFLER, Colin J. BRISLAWN, Gregory HUMPHREY, Sarah M. OWENS, Jarrad HAMPTON-MARCELL, Donna BERG-LYONS, Valerie MCKENZIE, Noah FIERER, Jed A. FUHRMAN, Aaron CLAUSER, Rick L. STEVENS, Ashley SHADE, Katherine S. POLLARD, Kelly D. GOODWIN, Janet K. JANSSEN, Jack A. GILBERT a Rob KNIGHT, 2017. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature* [online]. **551**(7681), 457–463. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature24621

TIESSEN, H., E. CUEVAS a P. CHACON, 1994. The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. *Nature* [online]. **371**(6500), 783–785. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/371783a0

TORSVIK, V, R SØRHEIM a J GOKSØYR, 1996. Total bacterial diversity in soil and sediment communities—A review. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* [online]. **17**(3–4), 170–178. ISSN 0169-4146, 1476-5535. Dostupné z: doi:10.1007/BF01574690

TORSVIK, Vigdis a Lise ØVREÅS, 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* [online]. **5**(3), 240–245. ISSN 13695274. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-5274(02)00324-7

TRIVEDI, Pankaj, Ian C. ANDERSON a Brajesh K. SINGH, 2013. Microbial modulators of soil carbon storage: integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends in Microbiology* [online]. **21**(12), 641–651. ISSN 0966842X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2013.09.005

TRUMBORE, Susan, 2000. Age of soil organic matter and soil respiration: radiocarbon constraints on belowground C dynamics. *Ecological Applications* [online]. **10**(2), 399–411. ISSN 1051-0761. Dostupné z: doi:10.1890/1051-0761(2000)010[0399:AOSOMA]2.0.CO;2

VAN DER HEIJDEN, Marcel G. A., Richard D. BARDGETT a Nico M. VAN STRAALLEN, 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* [online]. **11**(3), 296–310. ISSN 1461-023X, 1461-0248. Dostupné z: doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x

VERLINDEN, Melanie S., Arne VEN, Erik VERBRUGGEN, Ivan A. JANSSENS, Håkan WALLANDER a Sara VICCA, 2018. Favorable effect of mycorrhizae on biomass production efficiency exceeds their carbon cost in a fertilization experiment. *Ecology* [online]. **99**(11), 2525–2534. ISSN 0012-9658, 1939-9170. Dostupné z: doi:10.1002/ecy.2502

- VINHAL-FREITAS, Isabel C., Gilberto F. CORRÊA, Beno WENDLING, Lenka BOBULSKÁ a Adão S. FERREIRA, 2017. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. *Ecological Indicators* [online]. **74**, 182–190. ISSN 1470160X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecolind.2016.11.020
- WEETE, John D., Maritza ABRIL a Meredith BLACKWELL, 2010. Phylogenetic Distribution of Fungal Sterols. *PLoS ONE* [online]. **5**(5), e10899. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0010899
- WILLERS, C., P.J. JANSEN VAN RENSBURG a S. CLAASSENS, 2015. Phospholipid fatty acid profiling of microbial communities-a review of interpretations and recent applications. *Journal of Applied Microbiology* [online]. **119**(5), 1207–1218. ISSN 13645072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.12902
- WITHERS, Emma, Paul W. HILL, David R. CHADWICK a Davey L. JONES, 2020. Use of untargeted metabolomics for assessing soil quality and microbial function. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. **143**, 107758. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2020.107758
- WOLIŃSKA, Agnieszka, 2019. Metagenomic Achievements in Microbial Diversity Determination in Croplands. In: *Microbial Diversity in the Genomic Era* [online]. B.m.: Elsevier, s. 15–35 [vid. 2020-07-30]. ISBN 978-0-12-814849-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814849-5.00002-2
- WRIGHT, S.F., J.L. STARR a I.C. PALTINEANU, 1999. Changes in Aggregate Stability and Concentration of Glomalin during Tillage Management Transition. *Soil Science Society of America Journal* [online]. **63**(6), 1825. ISSN 1435-0661. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj1999.6361825x
- ZELLES, L., Q. Y. BAI, R. RACKWITZ, D. CHADWICK a F. BEESE, 1995. Determination of phospholipid- and lipopolysaccharide-derived fatty acids as an estimate of microbial biomass and community structures in soils. *Biology and Fertility of Soils* [online]. **19**(2–3), 115–123. ISSN 0178-2762, 1432-0789. Dostupné z: doi:10.1007/BF00336146
- ZHANG, Pei, Bo LI, Jihua WU a Shuijin HU, 2019. Invasive plants differentially affect soil biota through litter and rhizosphere pathways: a meta-analysis. *Ecology Letters* [online]. **22**(1), 200–210. ISSN 1461-023X, 1461-0248. Dostupné z: doi:10.1111/ele.13181
- ZHOU, Jizhong, Ye DENG, Zhili HE, Liyou WU a Joy D. VAN NOSTRAND, 2010. Applying GeoChip Analysis to Disparate Microbial Communities: These high-throughput gene arrays, used to analyze microbial communities, link their structures to how they affect ecosystems. *Microbe Magazine* [online]. **5**(2), 60–65. ISSN 1558-7452, 1558-7460. Dostupné z: doi:10.1128/microbe.5.60.1
- ZHU, Xunzhi, Jintun ZHANG a Keping MA, 2011. Soil Biota Reduce Allelopathic Effects of the Invasive *Eupatorium adenophorum*. *PLoS ONE* [online]. **6**(9), e25393. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0025393

## 3 Hlavní cíle a výstupy práce

### 3.1 Hlavní cíle

**Publikace 1:** Zhodnotit jaký vliv má na mikrobiální společenstvo, půdní organickou hmotu a živiny tradiční způsob zemědělství, který je uplatňován v prostředí tropického deštného lesa na Papui-Nové Guinei.

**Publikace 2:** Prozkoumat vliv nepůvodního invazivního druhu *Piper aduncum* na půdní mikrobiální společenstvo a vybrané živiny na stejně starých sukcesních plochách v prostředí tropického deštného lesa na Papui-Nové Guinei.

**Publikace 3:** Popsat výskyt ektomykorhizní a arbuskulárně mykorhizní hub v závislosti na sukcesní vegetaci *Salix capra* a *Calamagrostis epigejos* v půdách vznikajících na výsypkách po těžbě hnědého uhlí.

**Publikace 4:** Prozkoumat vliv neregulované návštěvnosti na mikrobiální společenstvo jeskynního sedimentu.

### 3.2 Hlavní výstupy

#### 3.2.1 Publikace 1:

Kukla, J., Whitfeld, T., Cajthaml, T., Baldrian, P., Veselá-Šimáčková, H., Novotný, V., Frouz, J., 2019. The effect of traditional slash-and-burn agriculture on soil organic matter, nutrient content, and microbiota in tropical ecosystems of Papua New Guinea. *Land Degrad. Dev.* 30, 166–177. DOI: 10.1002/ldr.3203

Tradiční způsob zemědělství (slash-and-burn) na Papui-Nové Guinei je založen na principu pravidelné rotace obdělávaných ploch, čímž vznikají plochy různého stáří. Ty byly využity pro výzkum efektu tradičního zemědělství na půdu (celkový C, N, P, a C frakce půdy a dostupný P, Ca, Mg, K, NO<sub>3</sub>, pH, mikrobiální biomasa a složení). Byla zvolena chronosekvence obsahující plochy aktivního hospodaření, opuštěné zahrádky (5–10 let), plochy sekundárního lesa (stáří 20–40 let) a primárního lesa (stáří nejméně 60 let). Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi jednotlivými sukcesními stádii v mikrobiální biomase založené na analýze PLFA, stejně tak v celkovém C, N a P, frakcích půdní organické hmoty, pH a konduktivitě. Půdní zásoba C, N a P se rovněž významně nelišila. Naopak koncentrace dostupného P, Ca, Mg, K a NO<sub>3</sub> byla největší na aktivních zahrádkách. Výsledky reflektují relativní šetrnost zdejšího způsobu zemědělství vůči půdě. Při zakládání ploch jsou

odstraněny pouze nadzemní části vegetace. Spálením biomasy se živiny v ní akumulované dostávají zpět do půdy. Plochy jsou navíc poměrně malé (0,25–1 ha), obhospodařované po relativně krátkou dobu (obvykle okolo 2 let) a po většinu času je půda kryta vegetací. To zajišťuje dostatek živin a organické hmoty, aby nedocházelo k výrazným změnám ani v mikrobiálním společenstvu.

### 3.2.2 Publikace 2:

Kukla, J., Heděnc, P., Baldrián, P., Cajthaml, T., Novotný, V., Moradi J., Whitfeld, T.J.S., Frouz, J. The plant invasion of *Piper aduncum* altered soil microbiota and nutrient content in shifting areas of neotropical lowland forests in Papua-New Guinea

(rukopis)

*Piper aduncum* je invazivní keř, který je na Papui-Nové Guinei široce rozšířený. Zkoumány byly sukcesní plochy disturbované tradičním způsobem zemědělství, které jsou k zarůstání touto rostlinou náchylné. Vzorky byly odebírány ze stejně starých sukcesních ploch, vždy na ploše invadované *P. aduncum* a ploše s domácí vegetací, ze dvou hloubek (0–5 cm a 5–10 cm). Analýzou PLFA byly zjištěny signifikantní změny v mikrobiálním společenstvu v hloubce 5–10 cm u bakterií, aktinobakterií, Gram-pozitivních bakterií a celkové mikrobiální biomasy ve prospěch neinvadované plochy. Rozdíly ve složení mikrobiálního společenstva byly zjištěny i při analýze molekulárními metodami. Stejně tak koncentrace některých půdních živin (C a N, P, Ca a NO<sub>3</sub>), byly větší na neinvadovaných plochách. Výsledky naznačují, že vliv přetrvává i po odstranění vegetace a pěstování zemědělských plodin. Na plochách, kterým předcházela úhor domácí vegetace, se projevil zvýšený C/N poměr v půdě a N v listech sladkých brambor, oproti plochám kde jako úhor předcházela *P. aduncum*. Rychle rostoucí *P. aduncum* do své biomasy akumuluje živiny, což může vysvětlit jejich úbytek z půdy oproti neinvadovaným plochám. *P. aduncum* obsahuje antibakteriální a antifungální látky, které jsou využívány i pro medicínské účely. Tyto látky se do půdy mohou dostávat z listů a kořenů a tak způsobovat výrazné změny v půdním mikrobiálním společenstvu. Pomocí markerů byl zjištěn doposud málo zkoumaný efekt této invazní rostliny na půdu v tropickém deštném lese.

### 3.2.3 Publikace 3:

Knoblochová, T., Kohout, P., Püschel, D., Doubková, P., Frouz, J., Cajthaml, T., Kukla, J., Vosátka, M., Rydlová, J., 2017. Asymmetric response of root-associated fungal communities of an arbuscular mycorrhizal grass and an ectomycorrhizal tree to their coexistence in primary succession. *Mycorrhiza* 27, 775–789. DOI: 10.1007/s00572-017-0792-x

Na výsypkách po těžbě hnědého uhlí na Sokolovsku byla vybrána stanoviště porostlá travou *C. epigejos*, stanoviště porostlá *S. caprea* a stanoviště na kontaktu těchto dvou stanovišť. Výsypky, resp. plochy spontánní sukcese, jsou vhodné pro sledování interakcí ektomykorhizních rostlin (EcM) a arbuskulárněmykorhizních rostlin (AM). V odebraných vzorcích byl analyzován ergosterol a neutrální lipidy (NLFA). Pro analýzu diverzity mikroorganismů bylo použito molekulárních metod (Illumina MiSeq). Intenzita AM kolonizace byla významně ovlivněna typem stanoviště a to tak, že stanoviště porostlé pouze *C. epigejos* bylo více kolonizováno než stanoviště v kontaktní zóně obou rostlin. Byl indikován nárůst EcM hub a snížení AM hub v kořenech *C. epigejos*, když koexistují s EcM rostlinou *S. caprea*. Koexistence s *S. caprea* negativně ovlivnila AM abundanci, AM OTUs bohatost a kolonizaci rhizosféry *C. epigejos*. Výskyt *S. caprea* ovlivňuje složení AM houbového společenstva, což může být jedním z mechanismů způsobujících změnu travního porostu *C. epigejos* s dominantní AM k mladému lesu *S. Caprea* s dominantní EcM. Příčinou pozorovaného efektu může být druhová kompetice a alelopatické látky v listech a kořenech *S. caprea*.

### 3.2.4 Publikace 4:

Kukla, J., Holec, M., Trögl, J., Holcová, D., Hofmanová, D., Kuráň, P., Popelka, J., Pacina, J., Kříženecká, S., Ust'ak, S., Honzík, R., 2018. Tourist Traffic Significantly Affects Microbial Communities of Sandstone Cave Sediments in the Protected Landscape Area “Labské Pískovce” (Czech Republic): Implications for Regulatory Measures. *Sustainability* 10, 396. DOI: 10.3390/su10020396

Bylo vybráno několik pískovcových jeskyní v kaňonu Labe, kde byla zjištěna různá míra návštěvnosti. Z těchto jeskyní byly odebrány vzorky sedimentu nacházejícího se v koridoru a mimo koridor návštěvnických tras, a ty byly následně analyzovány. Metoda PLFA indikovala, že sešlap jeskynního sedimentu návštěvníky významně zvýšil poměr hub k

bakteriím (F/B) a poměr Gram-pozitivních ke Gram-negativním bakteriím (G + / G-), jakož i aktinobakterií a poměr cy/pre stresového indikátoru. Počet návštěvníků byl pozitivně korelován s poměrem G + / G - a živinami v jeskynním sedimentu, ale negativně korelován s vlhkostí sedimentu a aktivitou peroxidáz. Výsledky naznačují vliv návštěvnosti na mikrobiální společenstvo sedimentu, způsobené pravděpodobně distribucí živin do jeskynního prostředí např. na podrážkách bot a oděvech návštěvníků. Díky možnosti porovnat výsledky mikrobiologických analýz s návštěvností jednotlivých jeskyní bylo stanoveno, že akceptovatelný počet návštěvnosti je méně než 165 osob/rok. Doporučuje se proto upravit management ochrany jeskyní.



## 4 Hlavní závěry

Mikrobiální společenstvo půdy má zásadní význam pro řadu životně důležitých procesů. Avšak vzhledem k jeho charakteru ho nebylo v dřívějších dobách tak efektivně a komplexně prostudováno. Jeho stav je možné sledovat pomocí biochemických markerů. V posledních letech, s pokročilým vývojem analytických metod, je jejich analýza dostupnější a z mikrobiologie se stala dynamicky se rozvíjející vědní disciplína. S přibývajícím množstvím studií se zvyšuje míra poznání, které o chování mikroorganismů a vlivech prostředí a člověka na mikrobiální společenstvo máme. Je důležité poznat reakci mikroorganismů na širokém spektru stanovišť.

Významnou formou antropogenního stresu je narušení půdy zemědělstvím, což může být problematické zejména v tropických ekosystémech. Na Papui-Nové Guinei bylo zjištěno, že tamní tradiční způsob zemědělství nemá významně vliv na mikrobiální společenstvo půdy, ani na půdní organickou hmotu. To naznačuje fakt, že tradiční způsob zemědělství je k půdě relativně šetrný a udržitelný. Mikrobiální společenstvo se tak s určitými typy disturbancí dokáže poměrně dobře vyrovnat.

Biologické invaze představují globální problém, avšak jejich vliv na půdu není příliš prozkoumán. Na Papui-Nové Guinei dochází na disturbovaných místech k invazi keřem *P. aduncum*, který má významný vliv na snížení živin, mikrobiální biomasy a taxonomického složení mikrobiálního společenstva v porovnání s kontrolními plochami s přirozenou vegetací. To může být způsobeno ovlivněním mikroorganismů alelopatickými látkami v kořenech a listech *P. aduncum* a poukazuje to na silný vliv invazivní rostliny na půdní mikroorganismy.

Vztahy mezi rostlinami a mikroorganismy hrají podstatnou roli během sukcese. Výsypky po těžbě uhlí jsou specifická stanoviště, na kterých lze díky jejich chronosekvenci pozorovat procesy vývoje ekosystému v reálném čase. Bylo zjištěno, že dřevina *S. caprea* potlačuje ektomykorhizní houby v kořenech trávy *C. epigejos*. Výsledky naznačují, že citlivost mikroorganismů na přítomnost rostlin je jedním z faktorů ovlivňujících změnu dominance určitého typu vegetace v ekosystému.

Mikrobiální komunity kolonizují téměř všechna přírodní stanoviště, i ta která jsou na život poměrně dost chudá. V izolovaném jeskynním prostředí lze pomocí biomarkerů sledovat vliv návštěvnosti na mikrobiální společenstvo v sedimentu. Výsledkem jsou významné

změny ve složení společenstva. Rovněž pozitivní korelace biomasy mikroorganismů s mírou návštěvnosti poukazuje na vliv turismu na mikrobiální společenstvo a rozšiřuje spektrum využití mikrobiologických metod jako indikátoru návštěvnosti pro řešení praktických otázek v ochraně přírody.

Použití biochemických markerů v uvedených studiích pomohlo nastínit doposud ne příliš prozkoumané vlivy přímého i nepřímého antropogenního stresu a biologických procesů na mikrobiální společenstvo půdy. Tyto poznatky mohou sloužit jako podklady pro rozhodování v praktických opatřeních nebo mohou zpřesnit odhady vývoje globálních cyklů živin a predikci ekosystémových změn.

## 5 Přílohy disertační práce

### Publikace 1:

**Kukla, J.**, Whitfeld, T., Cajthaml, T., Baldrian, P., Veselá-Šimáčková, H., Novotný, V., Frouz, J., 2019. **The effect of traditional slash-and-burn agriculture on soil organic matter, nutrient content, and microbiota in tropical ecosystems of Papua New Guinea.** *Land Degrad. Dev.* 30, 166–177. DOI: 10.1002/ldr.3203

### Publikace 2:

**Kukla, J.**, Heděnc, P., Baldrián, P., Cajthaml, T., Novotný, V., Moradi J., Whitfeld, T.J.S., Frouz, J. **The plant invasion of *Piper aduncum* altered soil microbiota and nutrient content in shifting areas of neotropical lowland forests in Papua-New Guinea**

Podíl J. Kukly: výběr lokalit, odběr vzorků v terénu, extrakce markerů (PLFA), vyhodnocení dat a psaní textu.

### Publikace 3:

Knoblochová, T., Kohout, P., Püschel, D., Doubková, P., Frouz, J., Cajthaml, T., **Kukla, J.**, Vosátka, M., Rydlová, J., 2017. **Asymmetric response of root-associated fungal communities of an arbuscular mycorrhizal grass and an ectomycorrhizal tree to their coexistence in primary succession.** *Mycorrhiza* 27, 775–789. DOI: 10.1007/s00572-017-0792-x

### Publikace 4:

**Kukla, J.**, Holec, M., Trögl, J., Holcová, D., Hofmanová, D., Kuráň, P., Popelka, J., Pacina, J., Kříženecká, S., Ust'ak, S., Honzík, R., 2018. **Tourist Traffic Significantly Affects Microbial Communities of Sandstone Cave Sediments in the Protected Landscape Area “Labské Pískovce” (Czech Republic): Implications for Regulatory Measures.** *Sustainability* 10, 396. DOI: 10.3390/su10020396