

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana životního prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Bc. Věra Müllerová

Zpětnovazebné mechanismy a sukcese rostlin

Plant soil feedback and plant succession

Diplomová práce

Vedoucí práce: prof. Mgr. Ing. Jan Frouz, CSc.

Praha, 2020

Prohlašuji tímto, že jsem zadanou diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením prof. Ing. Mgr. Jana Frouze, CSc., a že jsem v seznamu literatury uvedla veškerou použitou literaturu a další zdroje, které jsem pro tuto práci použila. Tato práce se plně shoduje s verzí uloženou v elektronické podobě do SIS.

V Praze dne 13. 8. 2020

.....

Podpis

Abstrakt

Tato práce představuje zpětnovazebné mechanismy mezi rostlinou a půdou (plant-soil feedback) v časovém horizontu primární sukcese specifikované vlastním výzkumem na substrátu Velké podkrušnohorské výsypky. Práce se zaměřuje na raně sukcesní druhy – bobovité a jejich typické konkurenty – trávy. Nepřímo navazuje na práci Petry Zedníkové – Růst vikvovitých rostlin během primární sukcese na výsypkách po těžbě uhlí. Bobovité využívají spolupráci s dusík fixujícími Rhizobii, což jim, společně s arbuskulární mykorhizou, která je typická získkem fosforu, ale i jiných nedostatkových látek, umožňuje obsazovat i málo úrodné prostředí. Dále už jsou však trávy kompetičně úspěšnější, proto se předpokládal jiný dopad na bobovité než trávy. Ten se však neprokázal a bobovitým, jakož i travě, se v půdě trénované růstem bobovitých dařilo hůře než v půdě naivní. Vzhledem k tomu, že nedošlo ke změnám chemických vlastností půdy, změny byly vyvolány biotickým prostředím. Trendy růstu v čase, které se lišily mezi první a druhou generací, se dají už spíše přisoudit k chemickým změnám v půdě, jelikož ty se stářím půd korelují, především fosfor. Rozdíly mezi první a druhou generací rostlin jsou patrnější na půdách vyvíjejících se samovolně oproti půdám, které byly rekultivovány a urychleny v nich tak toky živin.

klíčová slova: plant-soil feedback, bobovité, *Fabaceae*, tráva, kompetice, rekultivace

Abstract

This thesis presents the plant-soil feedback mechanisms in the time horizon of the primary succession specified by own research performed on the substrate of Velká podkrušnohorská výsypka. The thesis focuses on the early succession species – *Fabaceae* and their typical competitors – *Poaceae*. It indirectly follows on from the thesis of Petra Zedníková – The growth of leguminous plants during primary succession in post-mining sites. The *Fabaceae* utilize the cooperation with nitrogen-fixating Rhizobia, which, along with arbuscular mycorrhiza that is distinctive for its yield of phosphorus along with other scarce substances, allows even little fertile environment to be colonized. From there on however the *Poaceae* are competitively more successful, therefore a different effect had been expected on *Fabaceae* compared to *Poaceae*. However, that has not proven to be the case and both *Fabaceae* and *Poaceae* fared worse in soil trained by *Fabaceae* growth compared to naïve soil. Since there haven't been any changes in the chemical properties of the soil, the changes had been caused by the biotic environment. The growth trends in time that differed between the first and the second generation can more likely be attributed to the chemical changes in the soil, as these do correlate with the soil age, especially phosphorus. The differences between the first and the second generation of plants are more evident on the spontaneously evolving soils compared to those that had been restored and thus the nutrient flows in them had been accelerated.

key words: plant-soil feedback, legumes, *Fabaceae*, grass, competition, restoration

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce panu prof. Ing. Mgr. Janu Frouzovi, CSc. za ochotu, trpělivost, odborné vedení a podnětné připomínky. Děkuji také panu prof. Laurentovi Canerovi z University v Poitiers za zahraniční inspiraci a dále za podporu všech vyučujících, např. RNDr. Zdeňka Janovského, Ph.D., bez nichž by tato práce také nevznikla.

Dále bych chtěla poděkovat celému týmu Laboratoře environmentální chemie a ochrany půd na Ústavu životního prostředí za podporu a rady při práci v laboratoři. V neposlední řadě děkuji také své rodině, hlavně té nejbližší, a přátelům, nejvíce Josefu Křížkovi, kteří mají velký vliv na dokončení této práce.

1.	ÚVOD	6
2.	INTERAKCE A ZPĚTNÉ VAZBY	9
2.1	Ovlivnění půdy rostlinou	11
2.1.1	Zdroj živin	11
2.1.2	Facilitátor půdního dění	12
2.2	Kompetice zasahující do interakcí	14
3.	LIMITACE ROSTLIN V PRŮBĚHU SUKCESE	16
4.	VÝSYPKY JAKO PŘÍKLAD SUKCESE.....	17
4.1	Rozdíly v rekultivačním a spontánně sukcesním přístupu	18
4.2	Srovnání se spontánní sukcesí po ústupu ledovce.....	22
5.	MATERIÁL A METODY.....	24
5.1	Experiment	24
5.1.1	Materiál	24
5.1.2	Design experimentu	26
5.1.3	Údržba experimentu.....	27
5.2	Stanovení na konci experimentu.....	28
5.2.1	Hmotnost biomasy rostlin	28
5.2.2	N, C	28
5.2.3	Stanovení P	28
5.2.4	Živiny – Ca, Mg, K – AAS (atomová absorpční spektrofotometrie).....	29
5.2.5	Respirace	29
5.2.6	Mikrobiální biomasa – fumigace	29
5.2.7	Vlhkost půdy.....	29
5.3	Statistické metody	30
6.	VÝSLEDKY	31
6.1	Růst rostlin	31
6.1.1	Půda naivní a trénovaná.....	31
6.1.2	Růst samostatný a v kompetici	31
6.1.3	Růst na spontánně sukcesních a rekultivovaných půdách	32
6.1.4	Stáří ploch.....	32
6.2	Shrnutí.....	33
6.3	Interakce mezi trénovanou a naivní půdou a stářím ploch.....	34
6.4	Korelace biomasy rostlin a kvalit půdy.....	35
6.4.1	Korelace s věkem.....	37
6.5	Základní makroprvky v biomase rostlin	38
6.5.1	Dusík a uhlík v půdě.....	38
6.5.2	Fosfor v půdě	40
7.	DISKUZE.....	42
8.	ZÁVĚR.....	44
9.	SEZNAM LITERATURY	45

1. Úvod

Rostliny s půdou utváří zásadní prostředí pro život na souši. Interakce těchto dvou složek prostředí není jednosměrná, ale probíhá oběma směry. Pro tento fakt používáme výraz plant-soil feedback (PSF) přenesený z anglického jazyka, kde plant je označení rostliny, soil znamená půda a feedback zpětná vazba. V základním pojetí je buď další růst pro rostlinu v daném prostředí příznivý, tedy hovoříme o pozitivní zpětné vazbě, nebo naopak je prostředí pro další růst nevhodné, a v tom případě je zpětná vazba negativní (Ehrenfeld et al., 2005). Jaké jsou příčiny a důsledky tohoto jevu budu dále rozvíjet v následujících kapitolách.

Znalosti zpětnovazebných mechanismů přinášejí rozvinuté poznání umožňující ovlivňovat stávající a vznikající rekultivace, a hrát tak významnou roli v ochraně přírody, zejména v obnově půdního prostředí (Suding et al., 2004; Van der Putten et al., 2013). Jakékoliv poznání vedoucí ke změnám v dosavadním přístupu je žádoucí z hlediska uchování a rozvíjení nezbytného prostředí pro příští generace.

V této práci se budu zabývat růstem rostlin v interakci s půdou ve zpětnovazebném procesu, a to i v souvislosti s vývojem v průběhu primární sukcese. Primární sukcese je přirozený vývoj vegetace na stanovišti spojený i se vznikem půdy jako takové. Odlišuje se tak od sukcese sekundární, při níž dochází pouze k disturbanci vegetace a není výrazným způsobem narušeno půdní prostředí (Glenn-Lewin et al., 1993). Jako příklad sekundární sukcese můžeme uvést např. les postižený požárem či pole ponechané samovolnému procesu. Ve své práci se budu zabývat výsypkami, které jsou nejčastějším zdrojem prostředí primární sukcese ve velkém měřítku ve středoevropském regionu (Chuman, 2015).

Cílem práce je sledování plant-soil feedbacku v systému *Fabaceae* trávy v průběhu primární sukcese u bobovitých rostlin v půdách různě zásobených živinami, a to v sukcesní řadě po rekultivaci, při které došlo k zarovnaní a výsadbě olší, a sukcesní řadě ponechané spontánnímu zarůstání. Toho dosahuji vyhodnocením změn růstu skrze hodnocení nadzemní a podzemní biomasy a vyhodnocením změn v půdě na základě hodnocení obsahu živin a mikrobiálního společenstva. Systém bobovité trávy postihuje bobovité s jejich konkurenty – trávami (Körner et al., 2008), a sleduje tak vliv kompetice ve zpětnovazebném působení. Za tímto účelem jsem provedla experiment s kultivací bobovitých rostlin na naivních (neovlivněných, netrénovaných) a již jednou osazených půdách z různě starých vývojových stádií. Jako modelové organismy jsem si vybrala dusík fixující rostlinu štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*) a jetel luční (*Trifolium*

pratense). Pro sledování konkurenčních procesů jsem zahrnula do experimentu i lipnici smáčknutou (*Poa compressa*), jakožto zástupce trav a hlavního konkurenta bobovitých.

Bobovité jakožto pionýrské rostliny by měly podléhat hlavně negativnímu plant-soil feedbacku, který by měl s časem vzrůstat, jelikož by mělo docházet k rostoucí akumulaci patogenů v půdě (Putten et al., 1993). Naopak úspěšnější konkurent, sukcesně následná rostlina – tráva, by tímto neměl být ovlivněn vůbec, nebo dokonce pozitivně. A to z toho důvodu, že bobovité coby dusík fixující rostliny zvětšují obrat dusíku v půdě, který trávy umí velmi dobře využít, i celkově pozitivně ovlivňují mikrobiální společenstvo. Celkově tedy mezidruhově způsobují pozitivní plant-soil feedback (Png et al., 2019). Kompetice mezi různými druhy, respektive přítomnost dvou rozdílných druhů, by mohla plant-soil feedback vyrovnávat, protože silnější kompetitoři bývají postiženi vyšším negativním plant-soil feedbackem (Lekberg et al., 2018). Další možnost, jak by kompetice mohla ovlivnit plant-soil feedback, spočívá v nutnosti vyšší adaptability. Pokud by se rostlina vydala cestou podpory mikrobiálního společenstva, pak by mělo dojít ke zvýraznění plant-soil feedbacku. Schopnost trav se lépe využívat živiny by se měla projevit v živinově bohatším prostředí rekultivovaných ploch. Naopak u bobovitých by mohlo dojít k větším změnám mezi generacemi na živinově chudším substrátu vyvíjejícím se spontánní sukcesí.

Hypotézy:

- H1 *Fabaceae* porostou v druhé generaci hůře než v naivní půdě
- H2 Trávy po *Fabaceae* porostou lépe než v naivní půdě
- H3 H1 a H2 budou zesilovat na sukcesně starších půdách
- H4 rozdíl mezi generacemi bude ovlivňovat kompetice
- H5 rozdíl mezi generacemi bude ovlivňovat způsob rekultivace: spontánní sukcese / zarovnění a rekultivace olší

Literární přehled

2. Interakce a zpětné vazby

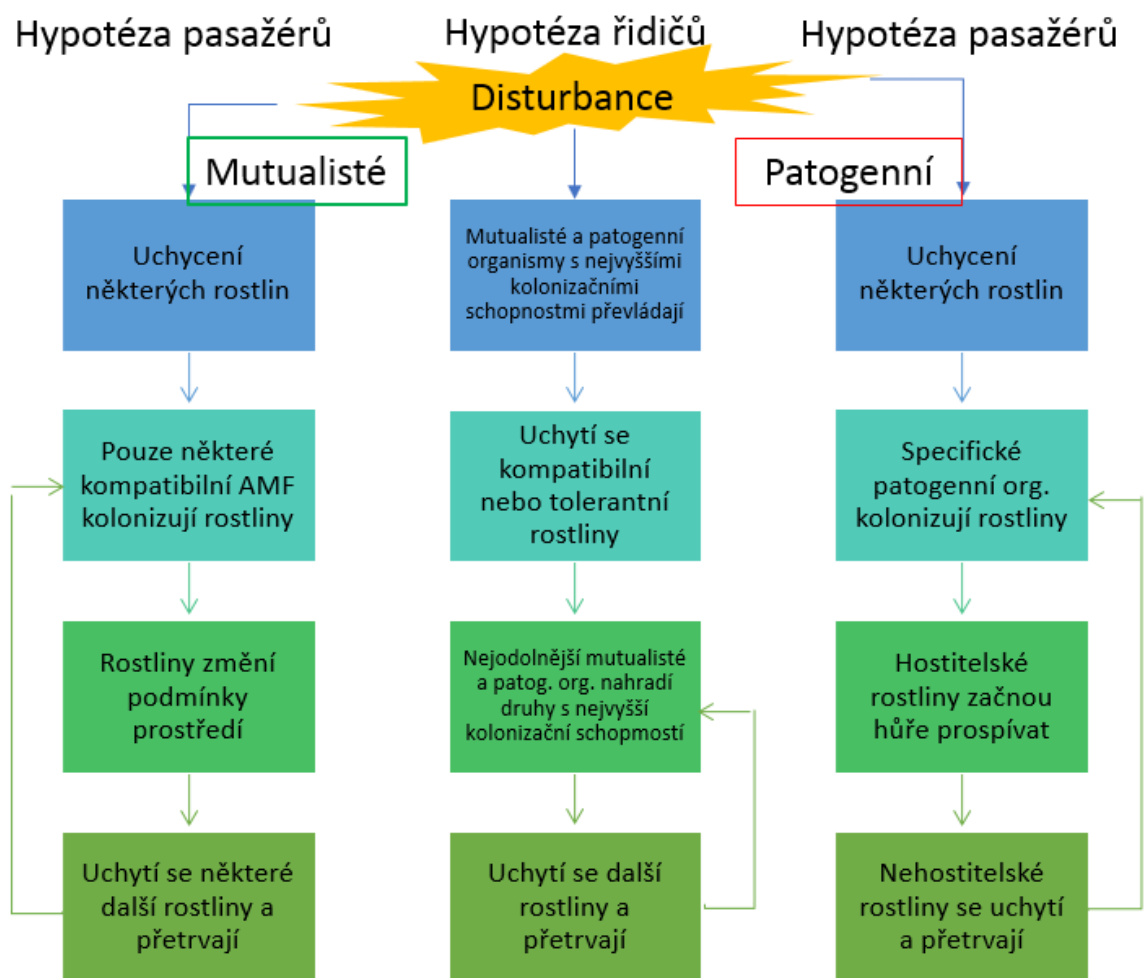
Bez rostlin by nebyla půda, jak ji známe dnes a bez půdy není suchozemských rostlin, protože by neměly kde žít. Půda se stává půdou ve chvíli, kdy je horninový substrát oživený mikroorganismy, případně lišejníky, které prostředí kolonizují. Takové prostředí bychom ale stěží na první pohled definovali jako půdu. V této fázi snadno podléhá erozi, stabilizuje ji až organická hmota, která souvisí s rozvojem životních forem, kde rostliny hrají klíčovou roli. V průběhu času provázanost a komplexita nadzemního i podzemního společenstva roste. Hovoříme o sukcesi, vývoji, vedoucí ke klimaxovému stádiu, které je v rovnováze se svým prostředím. Od současného lineárního chápání tohoto procesu se posouváme k pojetí cyklickému, kdy disturbance vrátí přirozeně prostředí do dřívějších fází a tento proces nikdy neustává. (Veblen, 1993) Dojde-li k jeho narušení, dochází ke změně prostředí odpovídající rozsahu a významu narušení. Podle toho můžeme rozdělit sukcesi na primární, kdy je půdní pokryv odstraněn na substrát, nebo sekundární, kdy půdní prostředí zůstává zachováno, a tedy má výrazný vliv na vznik společenství nad ním (Glenn-Lewin et al., 1993). S ohledem na experiment, jenž jsem v rámci své diplomové práce provedla, je důležité zdůraznit, že zde najdeme již vyvinutý substrát, který např. může obsahovat i značné množství dusíku (Rastetter et al., 2001). Ten je v počátcích primární sukcese limitující pro růst rostlin (Vitousek and Farrington, 1997).

K prvořadým důvodům změn rostlinného společenstva řadíme základní vlastnosti rostlin, tedy schopnost získat živiny, schopnost šířit se a schopnost reagovat na herbivorii. Jelikož ale nevysvětlují veškeré změny, projevuje se v posledních 20 letech zvýšený zájem o zpětnovazebné mechanismy (Klironomos, 2002). Teorie zpětných vazeb dokáže totiž zahrnout i vlivy, které dříve unikaly pozornosti. Zpětné vazby mezi rostlinou a půdou jsou takové vazby, kdy rostlina svým růstem mění vlastnosti půdy tak, že změna těchto vlastností ovlivňuje růst její nebo jiných rostlin, a obráceně, kdy proces začíná u půdy (Ehrenfeld et al., 2005).

Pokud jsou rostlina a půda vzájemně provázané, otázka zní, co bylo prvotní. Vývojově vzato je posloupnost jasná, tedy prostředí předchází uchycení rostliny, avšak v dalším vývoji se vlivy vyrovnávají. Rostlina determinuje fyzikální, biogeochemické prostředí půdy jakož i půdní organismy a zase zpětně půdní prostředí i organismy determinují rostlinu (van der Maarel, 2005; Van der Putten et al., 2013). Konkrétně u mikroorganismů Hart, Reader a Klironomos (2001) tento proces popsali jako hypotézu pasažérů (cestujících), kdy rostliny zapříčiňují výskyt arbuskulárních mykorhiz (symbiontů z řad hub) a hypotézu řidičů, kdy naopak mykorhizy ovlivňují rostlinné společenstvo (obrázek 1). Zobel a Öpik (2014) upozornili na skutečnost,

že při ověřování takovýchto hypotéz je nutné přidat ještě třetí hypotézu, a to hypotézu habitatu, kdy se rostlinná i arbuskulární společenstva vyvíjejí samostatně v závislosti na prostředí, a my tak můžeme pozorovat jejich korelaci.

Zpětné vazby můžeme obecně rozdělit na přímé a nepřímé. O přímých hovoříme, pokud rostlina či rostliny stejného druhu skrze změnu v rámci kořenů nebo opadu, která ovlivní biotické či abiotické půdní prostředí, zpětně ovlivní samu sebe či samy sebe nebo dceřiné rostliny. Nepřímé jsou ty, které ovlivňují dynamiku společenstev. Jsou to mezidruhové zpětné vazby. Ty mohou působit různě na přežívání a hustotu populace (Gómez-Aparicio, 2009). Další dělení můžeme vytvořit na základě dopadu, který změna indukuje. Výsledek zpětné vazby může mít na rostlinu pozitivní vliv (nejčastěji udávaný příklad je nahromadění symbiontů – hub, dusík fixujících bakterií), vliv neutrální (výsledný efekt rostliny na půdní prostředí je nulový) či vliv negativní (příkladem je nahromadění patogenů, vyčerpání živin) (Van der Putten et al., 2013).



Obrázek 1 Grafický model dvou alternativních mechanismů změn složení rostlinného společenstva. V hypotéze řidičů struktura půdního společenstva řídí změnu rostlinného, zatímco hypotéza pasažérů překládá změny rostlinného společenstva jako hybatele ve změnách půdního. Podle van der Maarel (2005) upraveno schéma Har et al. (2001)

2.1 Ovlivnění půdy rostlinou

2.1.1 Zdroj živin

Pokud je již substrát oživen mikrobiálním společenstvem, případně lišejníky, je vstup rostlin do prostředí významným faktorem nárůstu biomasy. Zásadní roli v tom hrají dusík fixující rostliny, které ho zprostředkovávají do půdy, v níž je málo zastoupen (Chapin, 2003). Biomasa znamená pro půdu organickou hmotu a po rozkladu zdroj živin pro další generace rostlin či další organismy. Jejím hlavním zdrojem průběžně se uvolňujícím do půdy je opad a kořenové exudáty.

Opad rostlin z produktivních společenstev, jako jsou byliny a opadavé rostliny, se rozkládá rychleji než opad z méně produktivních společenstev, jejichž příkladem jsou jehličnany (Prescott, 2002; Vitousek and Howarth, 1991). Mezi sledovanými parametry obsahu látek, které přispívají, resp. i nepřispívají k rozložitelnosti opadu, jsou lignin, množství dusíku (N) a poměr uhlíku a dusíku (C:N) (Ehrenfeld et al., 2005; Li et al., 2010). Lignin představuje stabilnější uhlíkatou látku, která se hůře rozkládá. To znamená, že přítomnost jiných uhlíkatých látek je pro bakterie mnohem výhodnější pro získání nezbytného uhlíku. Stejně tak mineralizace dusíku může probíhat jedině za přístupu dostatečného množství a rychle dostupného uhlíku, jelikož bakterie potřebují na 1 jednotku dusíku 25 jednotek uhlíku (Vitousek a Howarth, 1991).

Tyto procesy probíhají i na vyšší úrovni vzniku biomasy, tj. utváření specifických druhů humusu – nejpodstatnějšími jsou moder, mull a mor. V procesu pedogeneze (vývoj půd) jsou tyto druhy humusu jasně vázané na specifické půdní procesy a na typy společenstev, která je provázejí.

Kationtová výměnná kapacita (cation exchange capacity) půdy s obsahem humusu typu mull je vhodná pro rozvoj rostlinného pokryvu, kde se rostliny mohou spolehnout na zisk živin z půdy. Ve výsledku zde může růst nevyhraněné rostlinstvo, které „plýtvá“ s živinami tím, že produkuje velké množství opadu a půdních residuí, a tedy silně podporuje mikrobiální rozvoj a celkově půdní faunu. Půda obsahuje velké množství organické hmoty. Následkem toho, že, opad rychle rostoucích rostlin vede k vysokému obsahu organické hmoty v půdě, vznikají i půdní agregáty s vyšší schopností zadržovat vodu (Frouz, 2018).

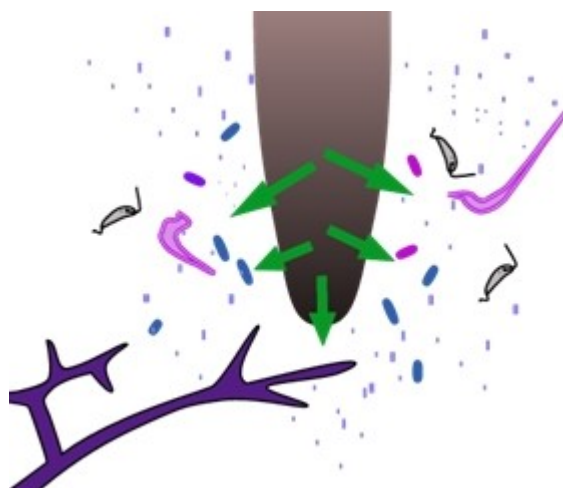
Oproti tomu mor je druh humusu, který nacházíme ve spojitosti s podzolizací. Ta probíhá především za nízkých teplot, které umožňují zachování fulvokyselin. Ty poté vytváří cheláty s železem a hliníkem, které jsou transportovány společně s organickou hmotou do nižších vrstev. Tím dochází k ochuzování již tak chudého prostředí. Rostliny, které zde rostou, jsou silně konzervativní a tvoří vazby s ektomykorizními symbionty. Typickými rostlinami takového prostředí jsou jehličnany, které udržují svoji biomasu co nejdéle funkční. To znamená, že jehlice

jsou tvořené především ligninem a obsahují další špatně rozložitelné látky, které je zároveň chrání proti konzumaci jinými organismy.

Mezi těmito dvěma extrémy stojí půdy s opadem typu moder.

2.1.2 Facilitátor půdního dění

Rostlina je schopná komunikovat s ostatními organismy v půdě pomocí kořenových exudátů (obrázek 2), které jsem zmiňovala v souvislosti se zdrojem živin. Pokud potřebuje využít spolupráce s mikrobiálním společenstvím, nabídne mu výměnou velké množství uhlíku, asimilovaného fotosyntézou, ve formě hojně zastoupených organických kyselin (kyseliny citronové, mléčné, jantarové, pyrohroznové, fumarové, oxalové a octové) a cukrů (glukózy, xylózy, fruktózy, maltózy, sacharózy, galaktózy a ribózy) a různorodě v podobě alfa-aminokyselin, nukleokyselin a vitaminů (tiamin, biotin) (Lugtenberg and Bloemberg, 2004, podle Maheshwari et al., 2008), které vylučuje z různých částí kořene, např. z oblasti kořenové čepičky (Hiltpold et al., 2015). Opačným směrem, tedy od bakterií a hub, dostává rostlina zpětnou vazbu pomocí mikrobiálních těkavých organických látek („Microbial Volatile Organic Compounds“, MVOC) a jiných signálních látek. Mikroorganismy jsou díky nim schopné zásadně ovlivnit růst rostlin (Hussain et al., 2019; Kanchiswamy et al., 2015).



Obrázek 2 Schematicky znázorněný kořínek a interakce s půdními organismy – bakteriemi, houbami, nematody, prvoky

Mezi rostlinami a půdními organismy vznikly i velice úzké vazby. Dobrým příkladem je získání dusíku, nejčastěji limitujícího prvku růstu rostlin. Různé rostlinné druhy vsadily na různé houbové (Vitousek a Howarth, 1991) i bakteriální symbionty (Buchanan et al, 2015). Mezi typické bakteriální symbionty umožňující rostlinám získání dusíku patří hlízkovité bakterie (rod *Rhizobium*),

aktinobakterie¹ rodu *Frankia* či zástupci cyanobakterií (např. rod *Anabaena*) (Buchanan et al., 2015). Zda budou tuto strategii využívat, záleží však na samotných rostlinách, přestože se třeba jedná o evoluční výhodu celé čeledi, jak je to např. u bobovitých. Pro symbionty často vytváří specifické struktury, tzv. nody (hlízky), na kořenech rostlin, které zamezí přístupu kyslíku omezujícímu fixaci dusíku (Buchanan et al, 2015). Navíc výměnou odvádějí již zmiňované uhlíkaté látky, vzniklé při fotosyntéze. Zisk dusíku prostřednictvím symbiózy je energicky náročný. Na 1 g dusíku, který takto získají, musí rostliny odevzdat 12 – 17 g uhlovodíků (Buchanan et al, 2015). Proto při dostatku N z jiného zdroje mohou bobovité rostliny omezit tvorbu nodů pro endosymbiotická *Rhizobia* (Gutschick, 1981, Buchanan et al, 2015). Druhou možností, jak se vypořádat s nedostatkem dusíku kromě spolupráce s půdním společenstvím je rozvoj kořenového systému. Bylo prokázáno, že pokud rostliny nodulují, umožňuje jim to mít kratší kořeny oproti rostlinám stejného druhu, které nenodulují (Binkley, 1986).

Tento fakt byl prokázán u olší (*Alnus*), které spolupracují s aktinobakteriemi z rodu *Frankia*. Přestože se jedná taky o nody jako u bobovitých rostlin, strukturně se liší. Zatímco většina bobovitých má schopnost spolupracovat s dusík fixujícími bakteriemi společnou, olše tuto schopnost vyvinula ve své čeledi (břízovité, *Betulaceae*) jako jediná. Je tím unikátní, stejně tak jako dále zmiňovaná dryádka patřící do růžovitých (*Rosaceae*), které nejsou všeobecně touto schopností vybaveny. (Čepička et al., 2007).

U bobovitých rostlin se můžeme dokonce setkávat s důležitým trojsystémem – rostlina, houba, bakterie. 94 % druhů veškerých *Fabaceae* jsou obligátními hostiteli mykorhiz a 3 % jsou hostiteli fakultativními (Wang and Qiu, 2006). Většina druhů připadá k arbuskulárním mykorhizám (86%), 7% ektomykorhizám a 7% k oběma typům (Wang and Qiu, 2006). Symbióza s hlízkovými bakteriemi z rodu *Rhizobium* je pro *Fabaceae* typická. Jak houbám vytvářejícím mykorhizu, tak *Rhizobiím* za vzájemnou spolupráci odvádí asimiláty získané fotosyntézou. Symbióza s arbuskulárními houbami umožňuje bobovitým prospívat i za nižšího obsahu fosforu (Castillo et al., 2013). Důležitost specifického trojsystému může reflektovat i skutečnost, že ektomykhorizální síť olší není napojena na obecnou meziorostlinnou ektomykhorizální síť a její symbionti jsou vysoce specifictí. A i přes svou specifčnost se shodují na celém světě, přestože druhy olší nacházíme nejen v temperátních, ale i tropických oblastech (Kennedy et al., 2015). Jedna z hypotéz vzniku tohoto uspořádání naráží na nutnost dělit asimiláty mezi bakterie a houby.

¹ V některých pramenech jsou nazývané tako jako aktinomycety. Pro svůj houbovitý vzhled byly dlouho považovány za houby (Joseph et al., 2018)

Rostlina exudáty ovšem přiláká nejen faunu příznivou, ale i různě parazitující či herbivorní (Ehrenfeld et al., 2005; Hiltbold et al., 2015). Nejčastěji zmiňovanou vylučovanou nízkomolekulární látkou je oxid uhličitý. Je pozoruhodné, že zatímco malá množství působí vábivě, velká množství působí dezorientačně (Rasmann et al., 2012). Rostliny jsou schopné produkovat i jiné těkavé organické látky („volatile organic compounds“, VOC), které přítomnost CO₂ maskují (Rasmann et al., 2012). Mezi dvě hlavní skupiny živících se živými kořeny rostlin patří hmyz a hlístice (nematoda) (Rasmann et al., 2012). Právě hlístice tvoří i více než 50 % veškeré herbivorie na loukách, tedy v nejproduktivnějších oblastech mírného pásu, a ovlivňují produktivitu rostlin více, než kolik by odpovídalo spasené biomase (Ingham and Detling, 1990). Tato početně nejbohatší skupina organismů živících se kořeny rostlin je schopná podle Verschoor et al. (2002a) podpořit sukcesí, jelikož iniciální druhy rostlin jsou více náchylné k herbivorii. Aniž by byla prokázána hostitelská specifická.

Nody bobovitých rostlin, konkrétně jetele lučního a vojtěšky, produkují těkavé látky schopné přitahovat herbivorní larvy hmyzu (Wolfson, 1987). To je příkladem toho, že bobovité rostliny mohou být postihovány specifickými negativními vazbami.

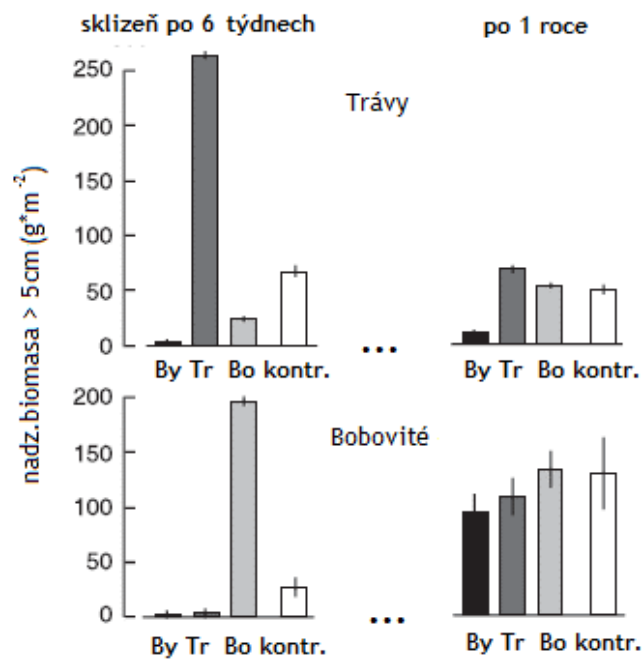
2.2 Kompetice zasahující do interakcí

Každá rostlina je schopná růst v určitém rozsahu podmínek, tomu říkáme tolerance. Pokud se zaměříme na jednotlivý faktor, hovoříme o ekologické valenci (Dorogova et al., 2016). To ovšem neznamená, že v celém rozsahu těchto podmínek je dobře konkurenceschopná. Dle Keddy (2007) je kompetice (výraz pro konkurenci mezi organismy) definována jako „negativní efekt, který má jeden organismus kvůli jinému, a to kvůli spotřebě či kontrole přístupu ke zdroji, který je limitován“. Konkurenceschopnost je závislá na schopnosti získat limitující prvek či strategickou surovinu (voda, sluneční záření) ve vhodnějším množství, případně se bez této složky obejít, či naopak v případě nadbytku se s ní vypořádat. Kompetice se dle definice může projevit také až za krajních podmínek, kdy je jinak dostupný zdroj limitujícím faktorem. Pokus s chlupáčkem květnatým Reader and Best (1989, podle Keddy, 2007) ukazoval signifikantní rozdíly v produkci, přežití, uchycení a růstu populace mezi rostlinami ovlivněnými a neovlivněnými kompeticí pouze na živinově bohatých spodních okrajích depresí. Obecně pokud do hry vstupuje nedostatek živin, hlavní vliv na růst rostliny má v první řadě limitace a až v případě jejich dostatku, je velikost rostliny určována kompeticí (Keddy, 2007). V případě nízkého zastoupení dusíku v půdě mají konkurenční výhodu rostliny fixující dusík. Tato konkurenční výhoda platí pouze do té doby, než je v půdě dusíku dostatečné množství i pro jiné druhy,

kteří zprostředkovávají dusík bez interakce se symbiotickými dusík fixujícími organismy (Vitousek and Farrington, 1997).

Typickými konkurenty dusík fixujících bylin, konkrétně bobovitých, jsou na loukách trávy, se kterými musí sdílet společný prostor, ale kořeny se záměrně vyhýbají (Turkington and Harper, 1979). Trávy jsou schopné lépe obsadit půdní i nadzemní prostor (Thompson and Harper, 1988). Mezi těmito různými skupinami rostlin jsou jasně patrné i morfologické rozdíly. Trávy mají svazčité kořeny, zatímco bobovité rostliny mají hlavní kořen s vedlejšími. Bobovité, které mají listy se zpeřenou žilnatinou, často složené, jsou omezo­vány trávami s dlouhými rovnoběžnými listy, vhodnými pro maximální využití slunečního záření. Trávy mají obecně vyšší C:N poměr, a tím jejich dekompozice trvá déle, zatímco bobovité se rozloží rychleji (Mckenna et al., 2018).

Růst rostliny je spojen se vznikem specifického mikrobiálního společenství, které ovlivňuje nejen rostlinu samu, ale i další generaci rostlin, která zde vyrůstá (Hu et al., 2018). Ve změněném prostředí se tedy biotické faktory stávají pro růst dalších rostlin důležitějšími než půdní anorganická složka (Klironomos, 2002). Na příkladu Körner et al. (2008) je možné ukázat, že pouze výsev o 3 týdny dříve než ostatních rostlinných funkčních skupin (trávy, bobovité, ostatní byliny) měl radikální dopad na vývoj rostlinného společenstva v následujících 4 měsících (obrázek 3). Celková nadzemní biomasa dané funkční skupiny, byla vždy největší tam, kde měla možnost se uchytit dříve. I když s postupujícím časem se tento rozestup vyrovnával.



Obrázek 3 Nadzemní biomasa je i pro trávy i pro bobovité nejvyšší tam, kde byly první tři týdny vysety ty samé funkční skupiny (By = byliny, Tr = trávy, Bo = bobovité), v kontrole (kontr.) byly vysety všechny zároveň, upraveno podle Körner et al (2008)

Vyšší schopnost konkurence trav oproti bobovitým je možné pozorovat na rychlejším uchycení trav po bobovitých než bobovitých po travách.

Je ovšem otázka, zdali je tomu i v případě porovnání sukcesně různě starých ploch (Van der Putten et al., 2013). Zobel a Öpik (2014) ukázali, že hypotéza řidičů² ovlivňuje rostlinné společenstvo během sekundární sukcese, zatímco hypotéza pasažérů³ ovlivňuje primární sukcesí. Rozmanitější AM taxony před nástupem rostlin potvrdila i práce de Leóna et al. (2016), která potvrzuje hypotézu řidičů v sekundární sukcesí. V brzkých fázích sekundární sukcese převládá negativní zpětná vazba především rychle se šířících ruderalních druhů, a později je nahrazována pozitivní či neutrální zpětnou vazbou rostlin pozdějších stádií (Van der Putten et al., 2013).

3. Limitace rostlin v průběhu sukcese

V průběhu primární sukcese se mohou klíčově projevit živiny limitující růst. V dlouhodobých gradientech mezi limitujícími prvky převládají P a N. V iniciálních fázích je zásadní N i P, a zatímco význam dusíku se snižuje, protože jeho celkové množství se s časem zvětšuje, význam fosforu zůstává stejný, jelikož množství celkového fosforu se snižuje, a tak jej i klimaxových stádiích překonává (Chapin et al., 1994). Poměr dusíku a fosforu, zpočátku nízký, se v průběhu primární sukcese zvětšuje. Vývoj fosforu popisuje Walker a Syersův model (Selmants and Hart, 2010). S úbytkem fosforu v čase (sukcese) narůstá limitace tímto prvkem (Vitousek and Farrington, 1997).

V iniciálních fázích sukcese je důležitost schopnosti získat dusík odvislá od jeho nízkého zastoupení v půdě a jeho zásadním zastoupení v rostlinné tkáni (Rastetter et al., 2001). Při zvětrávání se dusík uvolňuje ve velice malém množství, a tedy se v půdě v první řadě recykluje z odumřelých organismů, a to jak podzemních, tak nadzemních. Tyto organismy jsou v počátcích sukcese relativně málo objemné a s ohledem na tenkou půdní vrstvu je málo vyvinuté, respektive nevyvinuté, i stromové patro. Navíc se ukazuje, že v porovnání s mikroorganismy jsou rostliny kompetitivně slabší (Näsholm et al., 2009). Obecně se předpokládá imobilita anorganického dusíku až do poměru 25/1 C:N, a to na základě primárního odběru mikroorganismy (Vitousek a Howarth, 1991). V této fázi, kdy převažuje dostatek světla a N je silně limitující, mají dusík fixující rostliny kompetiční převahu nad rostlinami, které tuto schopnost nemají. A to přesto že jinak patří mezi špatně konkurující rostliny kvůli ztrátám uhlíkatých sloučenin, které vyměňují

² přítomnost arbuskulárních hub klíčově ovlivňuje složení rostlinného společenstva, viz str. 9

³ primárně rostliny udávají složení půdního společenstva, viz str. 9

za dusík (Vitousek and Howarth, 1991). Proto je také řadíme do pionýrských rostlin, jelikož v oblastech mírného pásu se jedná v největší míře o krátce žijící rostliny bylinného patra a typický klimaxový les neobsahuje bobovité stromy, jako např. akát (Gutschick, 1981). Z důvodu nižší vazby na obsah dusíku jsou tyto rostliny závislejší na obsahu fosforu a železa v půdě, a to kvůli nutnosti těchto prvků na jeho fixaci (Vitousek and Field, 1999).

Hromadění dusíku díky jeho fixaci a nárůstu půdní organické hmoty v průběhu sukcese vede ke snížení jeho limitujícího potenciálu (Chapin et al., 1994; Šourková et al., 2005). Do popředí se potom dostává konkurenční schopnost rychleji získat a obsadit prostor pro příjem světla (Procházka, 1998), protože jeho dostupnost se snižuje (Chapin et al., 1994). Tuto skutečnost můžeme pozorovat posunem poměru biomasy kořenů versus nadzemní biomasy na základě přídatku dusíku (Li et al., 2015). Omezení limitace dusíku vede k vyloučení či omezení niky pro dusík fixující rostliny, k čemuž často dochází až v klimaxových stádiích (Gutschick, 1981). Bobovité se tak ukazují jako vhodné přípravné rostliny při rekultivacích, abychom zajistili druhově rozmanité společenstvo (Jia et al., 2020). Ale ne ve všech případech, např. v podmínkách tundry podle Thomas and Bowman (1998) toto pravidlo neplatí.

4. Výsypky jako příklad sukcese

Primární sukcese, jak jsme již definovali výše, probíhá na holém substrátu, ze kterého se teprve půda tvoří. Naproti tomu sekundární sukcese znamená, že byla odstraněna pouze vegetace. Tudíž se primární sukcese vyskytuje v přírodě vzácněji. Nalézáme ji v oblastech po ústupu ledovce, lávových polích, pískových dunách, kamenných polích a celkově na místech, kde vzniká půda de novum. Ve středoevropském prostředí ji však můžeme nejčastěji pozorovat v oblastech, které ovlivnil člověk např. těžbou. Často v makroměřítku, třeba i hektarových porostech. Navíc postupně založené výsypky nám dávají možnost porovnávat v jednom čase různě staré půdy, které vznikají na stejném substrátu (Mudrák et al., 2016; Prach et al., 2014).

Ve spolupráci se Sokolovskou uhelnou, a.s., vznikly v jednom čase u lomu Jiří v podkrušnohorské oblasti na Velké podkrušnohorské výsypce (2,5 km široká a 10 km dlouhá) dva typy úprav založených výsypek – klasická rekultivace a přirozená sukcese (Frouz et al., 2015). Díky souběžně probíhajícím pokusům volného ponechání a standardnímu řešení obnovy krajiny můžeme zároveň pozorovat sukcesí přirozenou i řadu, která nevznikla přirozenou sukcesí, ale zásahy člověka. Dále pro přehlednost je budu nazývat „řada sukcesní“ a „řada rekultivační“, přičemž obě jsou sukcesními řadami. Jedna („sukcesní“) je bez zásahů člověka a druhá

(„rekultivační“) vznikla zásahy, které jí daly podobu považovanou za vhodnou k dalšímu užívání původně těžbou poznamenané krajiny (Česká národní rada, 2017).

Obecně je substrát výsypek, který je základem pro vznik půdy, svým charakterem kyselý a poměrně hrubý, což vede k nepříznivému vodnímu režimu vznikající půdy (Bradshaw, 1997). Nicméně konkrétní charakter se může lišit, jako např. charakter sokolovských výsypek, který je slabě zásaditý (Frouz et al., 2001; Frouz and Nováková, 2005). Rostliny rostoucí na těchto stanovištích často ohrožují těžké kovy (Bradshaw, 1997). Fytotoxicitu některých substrátů na Sokolovsku potvrzuje i Frouz et al. (2014) a Tesnerová et al. (2017). Hlušina vznikající po těžbě hnědého uhlí tvořená primárně terciálními jíly z takzvané cypriské formace (Rojík, 2004) obsahuje především kaolinit, montmorilonit a illit, doplněné místy kalcitem, sideritem a fosilní organickou hmotou zejména kerogenního typu. Na organický uhlík a biologické oživení je obsahově chudá (Frouz and Nováková, 2005). Při průměrné roční teplotě 6,8 °C a průměrných srážkách 650 mm ve 450 – 520 m n. m. postupně dochází k tvorbě organických horizontů a roste schopnost zadržovat vodu (Chapin et al., 1994; Kuráž et al., 2012). Dochází také ke snížení pH (přiblížení k neutrální hodnotě a jejímu překročení) v průběhu sukcese (Bartuška et al., 2015; Frouz et al., 2001; Frouz and Nováková, 2005). Trend narůstání uhlíku a snížení pH je výraznější na rekultivovaných plochách (Bartuška et al., 2015). Vznik fermentačních a organických horizontů uvádí Frouz et al. (2001) v době 20 – 30 let od založení. Humus typu moder v průběhu sukcese přesmykává do humusu typu mull (Frouz et al., 2001).

4.1 Rozdíly v rekultivačním a spontánně sukcesním přístupu

Rekultivace dusík fixujícími stromy má za následek zvýšený obrat živin (Dynarski et al., 2020). Do půdy se dostává dusík, dochází i k větší akumulaci uhlíku. Konkrétně olše je známa svým nízkým C:N poměrem, který dokáže obohatit půdu o dusík, který limituje primární produkci. Důležitý je i vliv na fosfor, který je nutný pro biologickou fixaci dusíku. Ten, ačkoliv nemusí mít měřitelně vyšší hodnoty, může být až o 100 % rychleji otáčen (Compton and Cole, 1998). Na druhou stranu pokud dusík díky intenzivní fixaci přestane být limitující, acidifikace spojená s jeho vyplavováním může vést až k vyplavování pro růst důležitých bazických kationtů (Ca, Mg, K) (Perakis et al., 2013).

Rozdíly ve vývoji na rekultivovaných a nereakultivovaných plochách jsou měřitelné. Pro srovnání uvádím tabulku 1 Frouze et al. (2015) podle Mudrák et al. (2010), která dokládá větší obsahy uhlíku a dusíku na rekultivovaných plochách, stejně tak výrazně hlubší A horizont. Další odlišnost nacházíme i u rostlinného pokryvu a půdního společenství i jejich vývoju v čase

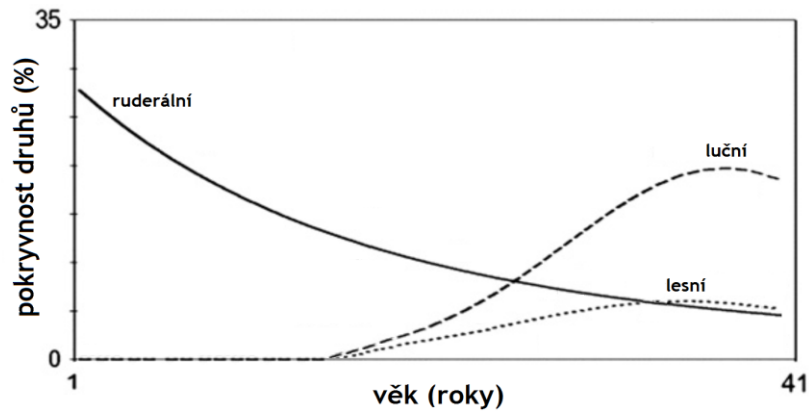
a prostoru. Např. mikrobiální společenstva rekultivovaných výsypkových substrátů jsou vertikálně méně diferenciované než substráty vyvíjející se samovolně (Moradi et al., 2020).

Tabulka 1 Porovnání parametrů půdy a vegetace rekultivovaných a sukcesních ploch 30letého stáří (hodnoty jsou udávány ± směrodatná odchylka, hvězdičky (, **, ***) udávají signifikantní rozdíly v t testu (n=8) pro p < 0,05, 0,01 a 0,001 respektive. Tabulka Frouz et al. (2015) podle Mudrák et al. (2010)*

parametr	plochy rekultivované olší	plochy ponechány sukcesi
lesní pokryv (%)	36 ± 10	35 ± 13
průměrná výška stromu (m)	9,7 ± 2,3	7,3 ± 3,3
pokryv podkorunového patra (%)	100 ± 0	33 ± 26 ***
biomasa podkorunového patra (g m ⁻¹)	92 ± 57	28 ± 18***
pH (KCl) (1:5)	5,9 ± 0,6	6,8 ± 0,5
celkový C (%)	10,0 ± 1,3	6,7 ± 1,2 **
celkový N (%)	0,71 ± 0,11	0,52 ± 0,15 *
celkový P (mg kg ⁻¹)	1428 ± 427	1338 ± 441
tloušťka O _e horizontu (mm)	1,9 ± 3,4	13,3 ± 9,1 **
tloušťka A horizontu (mm)	93,0 ± 9,1	27,0 ± 27,7***

K různému vývoji ploch ponechaných sukcesi a těch rekultivovaných dochází na základě dvou zásadních prvků: členitost terénu a akcelerace živin (Frouz and Nováková, 2005). Prohlubně a vyvýšeniny terénu vytváří různá stanoviště umožňující rozvoj vegetace díky lepšímu zachytávání vody a semen, ochranou proti větru. Vysazené stromy rovněž brání erozi a způsobují zvýšení organické hmoty v půdě rychleji, než jak tomu probíhá u spontánní sukcese. Důležitost struktury povrchu i ovlivnění toku živin dokládá Frouz et al. (2015), který porovnává tři stanoviště 30letého stáří: zarovnané plochy ponechané spontánní sukcesi, zvlněné plochy ponechané spontánní sukcesi a plochy rekultivované olší.

Plocha nechráněná vegetačním krytem ani zvlněním neměla viditelný A horizont, O_e horizont byl pokryt 3 – 4 centimetrovou vrstvou odpadu. Nerekultivované plochy měly taktéž nezřetelný A horizont a 3 cm O_e, zatímco rekultivované pouze částečně viditelný O_e (méně než 0,5 cm) a 6 cm A horizont. pH půd se přibližovalo rovněž mezi sukcesními plochami a lišilo se od těch rekultivovaných (pH 7,5 zarovnaná sukcese; 7,4 zvlněná sukcese; 6,9 rekultivace). Tedy struktura půdy se navenek nelišila, zda byla půda zarovnaná a ponechána sukcesi či ponechána ve zvlněném stavu. I přestože vegetační kryt se odlišoval, na srovnaných plochách se prosadila třtina křovištní (*Calamagrostis epigejos*), která obsadila 85 % plochy, zatímco na zvlněných plochách bylo travinobylinné společenstvo různorodější a pokrývalo jen 10 %. A naopak vliv zarovnaní se zde neprokázal. Podobnost ve struktuře však neznamenala i stejné složení půdního společenstva. Mykorizní společenství dubu letního (*Quercus robur*) se naopak přibližovalo u zarovnané sukcese a olšové plantáže.



Obrázek 4 Vývoj rostlinného pokryvu druhových společenstev na spontánně zarůstáných plochách Velké podkrušnohorské výsypky podle Frouz et al. (2008)

Rozdílnost spatřujeme i ve vegetačním krytu. Konkrétně můžeme pozorovat rostoucí druhovou rozmanitost na spontánně se vyvíjejících plochách, zatímco snižující se na rekultivovaných. Na iniciální ploše (stáří 11 let) nacházíme vzácně byliny a trávy, konkrétně podběl lékařský (*Tussilago farfara*) a třtinu křovištní (*Calamagrostis epigejos*). Pokryvnost podbělu na spontánně zarůstáných výsypkách s časem klesá, zatímco pokryvnost třtiny stále roste (s maximem kolem 40 let starých ploch) (Frouz et al., 2008) (obrázek 4). S nárůstem luční třtiny pozorujeme i vzestup dřevitých druhů, na plochách se stářím 25 let dominují keře tvořené vrbou jívou (*Salix caprea*). Keře půdu zastiňují, což má za následek málo vyvinuté bylinné patro. K jeho rozvoji dochází na pozdně sukcesních 33letých a starších plochách, které obsahují již stromové patro tvořené topolem osikou (*Populus tremuloides*) a břízou (*Betula spp.*) (Frouz and Nováková, 2005). Dokládá to i Frouz et al. (2015), který uvádí 10% pokryv travinobylinného společenstva na 30letých plochách, zatímco na plochách osázených olší lepkavou (*Alnus glutinosa*) 100%. Zde můžeme pozorovat jiný průběh sukcese bylinného pokryvu. Ten s věkem ustupuje, jelikož se zvětšuje korunový zápoj a postupně více a více zastiňuje bylinné patro (Frouz et al., 2001).



Obrázek 5 Schéma sukcesních řad – spontánně sukcesní na zvlněném terénu a rekultivační (rekultivace zarovnáním a vysazením olší) – na Velké podkrušnohorské výsypce. Zkratky udávají označení plochy. Zdroj: archiv autorky

Jak jsem již zmínila, na spontánně zarůstajících výsypkách s nástupem lučního druhu, třtiny, dochází k nástupu i dřevitých druhů. Můžeme tedy jasně pozorovat přechod mezi ruderálním společenstvím a post-ruderálním. Mezi zde vyskytujícími se ruderálními druhy se nachází zmiňovaný podběl lékařský (*T. farfara*), dále ředkevník galský (*Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz), mléč zelinný (*Sonchus oleraceus* L.), a také druhy s širokou ekologickou valencí jako vrba jíva (*Salix caprea*), lipnice smáčknutá (*Poa compressa* L.) a další. Post-ruderální společenstvo, které je spojeno s vznikem humusového horizontu, zastupuje řebříček obecný (*Achillea millefolium* L.), ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus* agg.), mrkev obecná (*Daucus carota* L.), lipnice úzkolistá (*Poa angustifolia* L.), jahodník obecný (*Fragaria vesca* L.) a další druhy luk a lesů: štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus* L.), violka Rivinova (*Viola riviniana* Rchb.), rozrazil lékařský (*Veronica officinalis* L.), dub letní (*Quercus robur* L.) a javor klen (*Acer pseudoplatanus* L.). (Frouz et al., 2008) Vůči rekultivovaným výsypkám je zde uchycování pozdně sukcesních druhů jako např. dubu letního (*Quercus robur*) a buku lesního (*Fagus sylvatica*) prokazatelně lepší (Frouz et al., 2015). To může být způsobeno i tím, že bříza a topol spontánně se vyskytující na výsypkách jsou vhodné „chůvičky“, tzv. nurse plants, zlepšující uchycení a růst sukcesně pozdějších rostlin (Stark et al., 2015). Tento jev je pravděpodobně následkem toho, že zmíněné stromy obohacují půdu o bazické kationty (Stark et al., 2015).

Půdní fauna se vyvíjí následovně. V raných fázích sukcese můžeme z půdní fauny nacházet želvušky, bakteriofágní a fungivorní nematoda a mikrosaprofágní dvoukřídlé. Většinový nárůst druhů je zaznamenán v prostřední fázi sukcese, nejvíc však u drobnušek (Pauropoda) a měňavkovců, jelikož je zde již přítomná tenká fermentační vrstva. Nejdůležitější druhy pro dekompozici opadu a půdní promíchávání, makrosaprofágní, jsou nejpočetnější na nejstarších plochách (Frouz et al., 2008).

Důležití půdní inženýři, žížaly, jsou prokázány kolem 15. roku, a to ve stejné době jako dochází ke vzniku humusového horizontu (Frouz et al., 2008). Jelikož však u rekultivovaných ploch zastává důležitou funkci kvalitní opad tvořený olšemi, efekt žížal se zde projevuje silněji (Mudrák et al., 2012). Jedná se konkrétně o žížalu epigeického druhu *Lumbricus rubellus* (Frouz et al., 2007) a endogeického *Aporrectodea caliginosa* (Frouz, 2018). Vyskytují se zde hojněji než na spontánně zanechaných plochách, a to i společně s dalšími druhy makrofauny (Frouz, 2018). Působení žížal má dalekosáhlé účinky, jako je např. podpora mikrobiálního společenstva, která vede k přesunu uhlíku do mikrobiální biomasy, jenž svým metabolismem uhlík z půdy uvolňuje, což vede k snižování C:N poměru (Groffman et al., 2015).

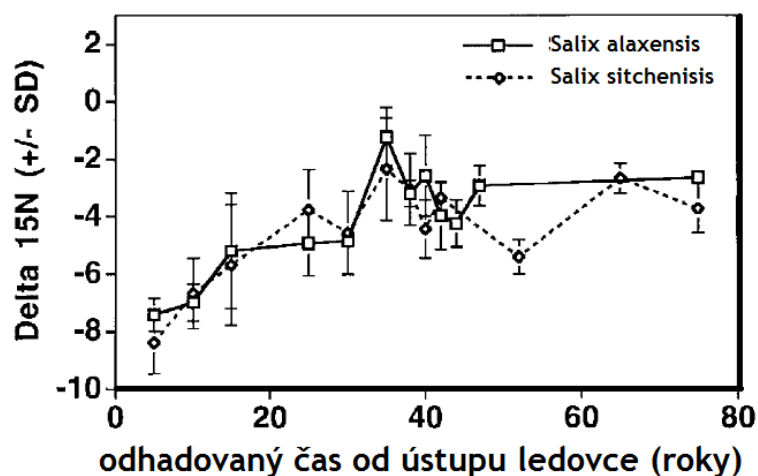
4.2 Srovnání se spontánní sukcesí po ústupu ledovce

Nejzkoumanější primární sukcese na světě Glacier Bay (jihozápadní Aljaška) se liší významným rozdílem v množství srážek, které je trojnásobné oproti Sokolovsku (1830 mm ročně) a průměrnou roční teplotou 5° C (Hobbie et al., 1998). Shodným prvkem je roztroušený růst vrb (*Salix* spp.) a topolu, v tomto případě chlupatoplodého (*Populus trichocarpa*), v raných fázích sukcese (20 let) (tabulka 2). V případě Aljašky je doplňují ostrůvky dusík fixujícího keříku dryádky (*Dryas drummondii*) (Hobbie et al., 1998), která tvoří nody pro bakterie *Frankia* (Kohls et al., 2003).

Tabulka 2 Sukcesní vývoj v Glacier Bay (jihozápadní Aljaška) - salix spp. předchází uchycení dusíkfixujících *Dryas*(keř) a olše *Alnus* (strom) podle Hobbie et al. (1998)

oblast	přibližná doba od zalednění (roky)	dominantní dřevitý porost
Muir Intlet	20	dryádka, vrba, topol
Goose Cove	55	olše
Adams Intlet	90	olše
Muir Point	110	olše, smrk
Beartrack Cove	165	smrk, jedlovec
Bartlett Cove	225	smrk, jedlovec

Přestože dusík fixující rostliny jsou silně vázány na přístupnost nafixovaného dusíku, podíl nafixovaného dusíku (atmosférického) v rostlinách ostatních se v chronologické sekvenci Glacier Bay přestal růst až po 40 letech od vzniku (Kohls et al., 2003) (obrázek 6). Do té doby musely rostliny využívat dusík z jiných zdrojů. A přestože obsah celkového dusíku zůstal přibližně stejný, obsahu dusičnanů a amoných iontů za 80 let sukcesního rozvoje v čase vzrůstal (Kohls et al., 2003).



Obrázek 6 Podíl $\delta^{15}\text{N}$ v listech vrb (*Salix alaxensis* a *Salix sitchensis*) v 80leté chronosekvenci po zmizení zalednění v Glacier Bay, Aljaška (SD = směrodatná odchylka) podle Kohls et al. (2003)

Praktická část

5. Materiál a metody

5.1 Experiment

5.1.1 Materiál

Pokus byl založen pro čtyři modelové rostliny – tři bobovité: štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), jetel luční (*Trifolium pratense*), vikev ptačí (*Vicia cracca*) (obrázek 7) a jednu kontrolní travu: lipnici smáčknotou (*Poa compressa*), které se hojně vyskytují na výsypkách v Krušnohorské oblasti (Frouz et al., 2008) a jejichž semena byla získána z komerční produkce *Planta naturalis*. Štírovník a jetel se vyskytují i v jiných vědeckých pracích (Cooke and Lefor, 1998; Körner et al., 2008) a dále pak hojně v literatuře z oblasti zemědělství, kde jsou významnými pícninářskými druhy. Už Zedníková (2019) upozorňuje na to, že chování v růstu se mezi těmito druhy se liší. V přírodě štírovník převládá na výrazně disturbovaných stanovištích, ale jetel se vyskytuje na nedisturbovaných (Cooke and Lefor, 1998). Štírovník při zhoršených půdních podmínkách, např. nedostatku fosforu, dokáže zajistit vyšší výnosy než jetel, který naopak dokáže využít lepší stanovištní podmínky (Bullard and Crawford, 1995; Castillo et al., 2013).



Obrázek 7 Bobovité (*Fabaceae*) použité v experimentu – v pořadí zleva doprava: štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), jetel luční (*Trifolium pratense*), vikev ptačí (*Vicia cracca*)

Zatímco vybrané bobovité druhy jsou prokazatelně hostiteli arbuskulárních mykoríz (Cooke and Lefor, 1998; Eriksen et al., 2002; Kasowska, 2002; Pawlowska et al., 1997). Lipnice smáčknotá se vyskytuje spíše jako nemykorrhizní (Harley and Harley, 1987; Kasowska, 2002). Tím veškeré nejdůležitější symbiotické vazby můžeme přiřadit bobovitým rostlinám. Ty se však liší v dusík fixujícími v symbiontech. Jetel nody vytváří v symbióze s bakteriemi z rodu *Rhizobium* (Stefan et al., 2018), nody lotusu vznikají na základě symbiózy s rodem *Mesorhizobium* (Jarvis

et al., 1997). *Mesorhizobia* byla vyčleněna i z toho důvodu, že rostou rychleji než *Rhizobia*, ale také protože se geneticky liší (Jarvis et al., 1997).

Pro pokus posloužila půda ze 7 ploch (E, S1, S2, V., EMA, A1, RÍZL) Velké podkrušnohorské výsypky (tabulka 3), z nichž polovina byla ponechána spontánní sukcesi, polovina byla upravena rekultivací a jedna byla srovnaná, ale bez porostu. Všechny pocházely ze stejného zdroje. Půdy byly různého stáří a to: 12, 25, 33 a 60 let. Rekultivace byla provedena zarovnáním terénu a výsadbou olše lepkavé (*Alnus glutinosa*) a olše šedé (*Alnus incana*). Vzhledem k materiálu výsypky zde nebyl použit přírůstek ornice, protože samotný substrát umožňuje výsadbu a prospívání rostlin.

Lom Jiří, k němuž přísluší Velká podkrušnohorská výsypka, je dolem na hnědé uhlí. Vzniklý substrát (hlušina) je složený primárně z kaolinitu, montmorilonitu a illitu, terciálních jíílů z takzvané cypriské formace (Rojík, 2004). Ty jsou místy doplněny kalcitem, sideritem a fosilní organickou hmotou zejména kerogenního typu (Rojík, 2004). Množství organického uhlíku a biologické oživení jsou nízké (Frouz and Nováková, 2005).

Tabulka 3 Zdroje půd z Velké podkrušnohorské výsypky

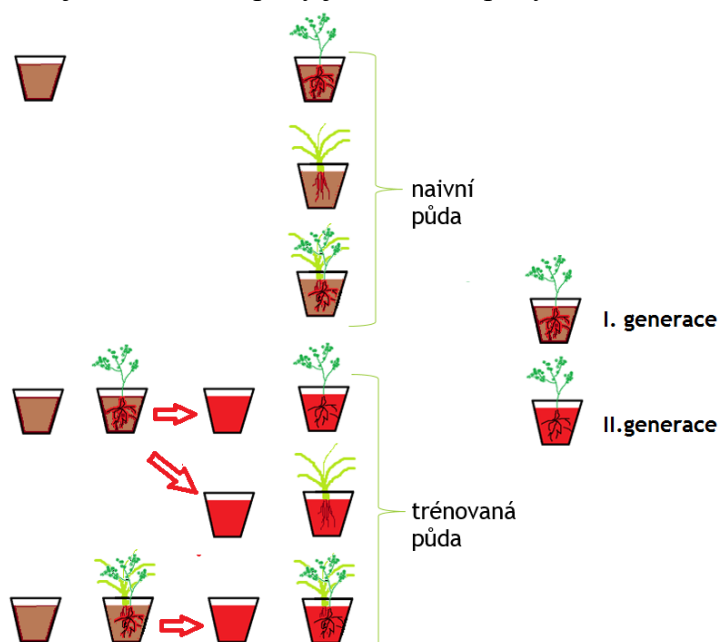
plocha	stáří (roky)	způsob obnovy	stav porostu
E	12	iniciální	srovnaný terén, holá půda bez humusu
S1	25	sukcese	zvlněný terén, porost třtiny, nálety vrby
S2	33	sukcese	lesík s vrbou, topolem, břízou
V.	60	sukcese	les s vrbou, topolem, břízou
EMA	25	rekultivace	smíšený porost olše lepkavé a šedé
A1	33	rekultivace	smíšený porost olše lepkavé a šedé
RÍZL	60	rekultivace	hustší porost olše lepkavé a šedé

Půdy z těchto lokalit byly odebrány do plastových pytlů během jednoho dne (říjen 2016). Po odhrnutí svrchní vrstvy opadu byla rýčem nabrána veškerá půda do hloubky přibližně 15 cm (Zedníková, 2019). V laboratoři byly zhomogenizovány, tedy přesáty na sítu s oky 6 mm a promíchány. Následně část půdy byla ponechána a část byla podrobena pěstování štírovníku růžkatého, jetelu lučního, vikvi ptačí samostatně a v kompetici s trávou lipnicí smáčkutou v pokusu Petry Zedníkové (2019), který byl proveden ve stejných podmínkách experimentálního skleníku, v nichž následoval i další pokus. Tak vznikla trénovaná půda pro druhou generaci rostlin v mém pokusu. V mezidobí byla uchována v lednici. Experiment jsem zahájila tím, že jsem půdu znovu zhomogenizovala, části kořenů byly rozmělněny natolik, aby nedošlo k oživení rostliny, a vráceny do půdy. Dále jsem ji rozmístila ve skleníku do květináčů o průměru 5 cm s trochou žulových kamínků, aby půda nepropadávala. Do připravených květináčů jsem pak zasela bobovité

rostliny podle designu experimentu 5 semen jednoho druhu do jednoho květináče. Množství bylo určeno vzhledem k ploše a objemu květináče, aby nebyla rozhodujícím kritériem růstu samotná kompetice mezi rostlinami stejného druhu.

5.1.2 Design experimentu

Cílem pokusu bylo zjistit, zda dochází k plant-soil feedbacku u bobovitých rostlin. Kontrolou tedy byly půdy, které nijak růstem bobovitých nebyly ovlivněné. Proto byly rostliny pěstovány ve variantě první a druhé generace: v první generaci na půdách neovlivněných (naivních), v druhé generaci na půdách, které již jednou byly součástí pokusu (trénované). Jelikož jsem chtěla zjistit, jestli k feedbacku na spontánně zarůstajících plochách nedochází vlivem nízkého zastoupení živin jako kontrolní půdy jsme zvolili půdy rekultivované olší.



Obrázek 8 Schéma provedeného pokusu – provedeno pro všechny tři bobovité duhy ve čtyřech opakováních

Volbu jsem provedla na základě známého faktu, že olše v symbióze s dusík fixujícími bakteriemi rodu *Frankia* se používají právě proto, aby obohatily půdu o dusík (Prescott, 2002) a urychlily sukcesní vývoj na lokalitě. Třetí faktor, který jsem chtěla zahrnout do této studie, byl vliv kompetice. *Fabaceae* jsou známy kompeticí s trávami, které jsou kompetičně silnější a jsou schopné bobovité z lokality vytlačit, respektive jim bobovité otevírají cestu na začátku sukcese. Proto vznikla i varianta bobovitá rostoucí samostatně a v kompetici, což znamenalo vyšetí bobovité i trávy v jednom květináči. Jako zástupce trávy jsem zvolila konkrétně lipnici smáčknutou (*Poa compressa*). Vzhledem k účelu práce, zjistit, jak se tento efekt mění v průběhu sukcese, bylo třeba zajistit půdy různého stáří. Byly vybrány lokality staré 12, 25, 33 a 60 let, které mají svůj ne/rekultivovaný protějšek, půda stará 12 let je brána jako iniciální. Schematicky

pokus znázorňuje obrázek 8. Pro větší přenositelnost získaných informací na celou skupinu bylinných bobovitých jsem pokus provedla se třemi druhy bobovitých: štírovníkem růžkatým (*Lotus corniculatus*), jetelem lučním (*Trifolium pratense*) a vikví ptačí (*Vicia cracca*). Všechny tyto kombinace (tabulka 4) byly vyvedeny ve čtyřech opakováních a náhodně rozmístěny, aby nebyla konkrétní skupina ovlivněna pozicí, kde vyrůstá.

Tabulka 4 Varianty pěstování – druhy, generace, kompetice, sukcese, stáří

druhy česky	druhy latinsky	generace	kompetice	sukcese	stáří
štírovník růžkatý	<i>Lotus corniculatus</i>	I	samostatně	rekultivace	12 let
jetel luční	<i>Trifolium pratense</i>	II	kompetice	sukcese	25 let
vikev ptačí	<i>Vicia cracca</i>				33 let
lipnice smáčknutá	<i>Poa compressa</i>				60 let

5.1.3 Údržba experimentu

Pěstební pokus byl realizován v experimentálním skleníku na Viničné 5 v Praze od prosince 2017 do května 2018 (obrázky 9 a 10), kdy byly rostliny sklizeny. Po dobu zimních měsíců byly rostliny dosvécovány LED zářením (500-700 μmol fotonů na metr čtvereční za sekundu), aby bylo zajištěné nasvícení L/D 12/12 a rovnoměrná distribuce světla. Květináče byly rovnoměrně zalévány rozprašováním vody podle potřeby. A pro omezení vlivu pozice květináče jsem ji v průběhu pokusu dvakrát změnila. Jak před založením, tak během experimentu nebyly půdy ošetřeny ani hnojením, ani aplikací ochranných prostředků.



Obrázek 9 Dosvécování rostlin v průběhu zimních měsíců (fotografie pořízena 22.2.2018)



Obrázek 10 Průběh experimentu (fotografie pořízena 5.5.2018)

5.2 Stanovení na konci experimentu

5.2.1 Hmotnost biomasy rostlin

Po vyjmutí z půdy byly rostliny očištěny a rozděleny na podzemní (kořeny) a nadzemní biomasu (stonky, listy). Dále byly usušeny při teplotě 50 °C po dobu 12 h. Každou rostlinou část jsem zvažila na vahách s přesností na čtyři desetinná místa $\pm 0,001$ g v Laboratoři environmentální chemie a analýzy půd. Zde probíhaly i další analýzy dále zmiňované.

5.2.2 N, C

Pro stanovení dusíku a uhlíku, bylo nutné půdní vzorky usušit a zhomogenizovat na jemný prášek, což jsem provedla rozemletím v oscilačním mlýně. Vzorky jsem v malých množstvích o známé hmotnosti uzavřela do kovových kapslí. Které byly dále spáleny a analyzovány rozdělením v chromatografické koloně v analyzátoru EA 1108.

5.2.3 Stanovení P

Pro analýzu fosforu a živin spektrofotometricky je nutný výluh, který jsem provedla metodou Mehlich III. Ta se provádí ze suché půdy kyselinou dusičnou a kyselinou chloristou, které napodobují vylučování kyselin rostlinami do půdy, aby získaly potřebné živiny, v tomto případě fosfor. Tato metoda by tedy měla stanovovat fosfor dostupný rostlinám. Kvůli nízkému obsahu P v půdě sokolovských výsypek, jsem pro výluh použila 3 g půdy.

Principem metody je převedení fosforu na barevnou sloučeninu a zjištění intenzity jejího zbarvení. P, nacházející se ve výluhu v podobě ortofosforečnanů, byl zkomplexován molybdenanem amonným a vinanem antimonodraselným. Modrá barva komplexu

(fosfomolybdeonová modř) vznikla reakcí s kyselinou askorbovou. Její intenzita jsem po 10 minutách stanovila spektroskopicky při vlnové délce 889 nm (Watanabe and Olsen, 1965).

5.2.4 Živiny – Ca, Mg, K – AAS (atomová absorpční spektrofotometrie)

Výluh podle Mehlich III jsem použila i pro stanovení živin – vápníku, hořčíku a draslíku. Při atomové absorpční spektrofotometrii se ke stanovení využívá množství vyzářeného záření, které je excitováno z atomů. Aby došlo k excitaci atomů je nutné je nejprve uvolnit spálením v plamenu (2000-3000 K). Na excitaci různých prvků je potřeba jiná vlnová frekvence, která odpovídá jeho energii ve valenční sféře. Před měřením se k vzorkům přidává směs lanthanoidů.

5.2.5 Respirace

Stanovení respirace se provádí z čerstvé půdy. V mém případě jsem použila titrační metodu. Principem metody je fixace CO₂ produkovaného při respiraci mikroorganismů v půdě do 3ml 0,5 M NaOH v uzavřeném objemu za stálé teploty po určitý čas. 3 g půdy byly uzavřeny do 100ml skleněných nádob s plastovým uzávěrem s těsněním. Stejná teplota po celou dobu měření respirace byla zajištěna umístěním nádob do termoboxu se stálou teplotou 20 °C. Vzniklý Na₂CO₃ jsem reakcí s BaCl₂ převedla na BaCO₃. Nadbytečné NaOH jsem stanovila titrací HCl (Vicena, 2014).

5.2.6 Mikrobiální biomasa – fumigace

Mikrobiální biomasa se stanovuje z čerstvé půdy. Metoda je založena na rozkladu buněk parami chloroformu. Jejich účinkem se buňky mikroorganismů lýzují a jejich obsah se uvolní do okolního prostředí. Určité procento mikroorganismů tento proces přežije a uvolněné látky využije pro svůj růst. Proto se měří rozdíl uvolněného oxidu uhličitého ze vzorků, které byly chloroformem fumigovány, a těch které nebyly. Fumigace se provádí uzavřením nádobek se vzorky v exikátoru společně s chloroformem a ten se působením podtlaku nechá vypařit. Chloroformu jsem vzorky vystavila 24 h. (Vance et al., 1987) Chloroform jsem vyklepala a nechala inkubovat v termoboxu. Množství uvolňujícího se CO₂ jsem stanovila stejně jako u respirace, tedy titrací.

5.2.7 Vlhkost půdy

Aby bylo možné hodnoty respirace a fumigace mezi vzorky porovnávat je nutné znát sušinu jednotlivých půd. Tu jsem zjistila zvážením vzorků půdy ve předem zvážených skleněných váženkách před a po vysušení do konstantní hmotnosti.

5.3 Statistické metody

Růst rostlin byl vyhodnocen pro jednotlivé druhy lineárními regresními modely s kategoriálními proměnnými generace, rekultivace/sukcese, kompetice a kontinuální proměnou stáří půd. Pro zachování normality u vyhodnocení biomasy byla nutná transformace. Jelikož data byla příliš blízká nule, použila jsem druhou odmocninu u hodnot. Kvůli zachování normality dat bylo nutné u biomasy lipnice rozdělit data na rostliny, které rostly v pokusu se štírovníkem, a ty, které rostly v pokusu s jetelem. Nejprve byl testován celkový lineární model se všemi proměnnými, statisticky významné prediktory byly otestovány analýzou variance (ANOVA) v programu R, respektive RStudio.

Závislosti mezi proměnnými charakterizující půdní prostředí a biomasou rostlin vyhodnoceny pomocí Pearsonovy korelace, kde kovariance je vydělena rozdílem směrodatných odchylek. Rozsah možných hodnot je od -1 do 1, čím více jsou data korelovaná, tím získáváme hodnotu blízkou 1 či -1.

Obsahy uhlíku, dusíku, fosforu byly testovány dvoucestnou analýzou variance kvůli zjištění statisticky významných posunů mezi kategoriemi: iniciální půda, a půda trénovaná růstem rostlin poprvé, půda trénovaná růstem rostlin podruhé – pro jednotlivé druhy rostlin; v závislosti na typu vývoje půd – spontánní či ovlivněný rekultivací.

6. Výsledky

6.1 Růst rostlin

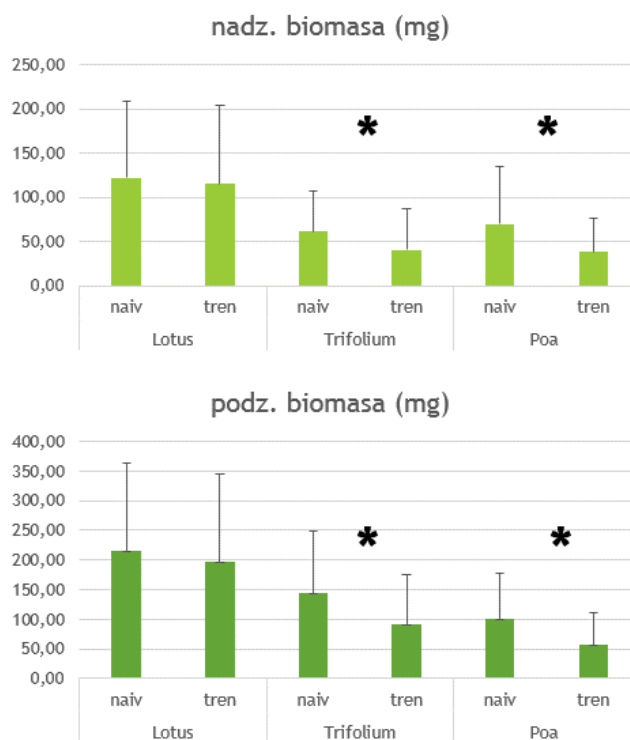
6.1.1 Půda naivní a trénovaná

Růst vikve byl natolik slabý a nepravidelný, že nebyla zahrnuta do statistického vyhodnocení.

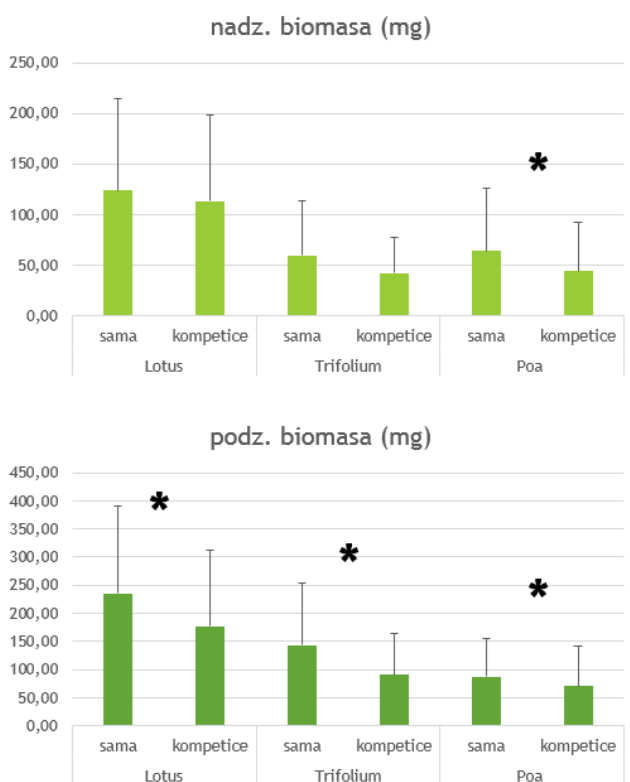
Rostliny, jetele a lipnice, které rostly v trénované půdě, ovlivněné v předchozí generaci růstem bobovitých a směsí s trávou, rostly hůře než rostliny rostoucí na naivní půdě (obrázek 11). Tento vliv se prokázal jak u nadzemní, tak i podzemní biomasy (GLM pro všechny faktory). Přesné hodnoty signifikance uvádím tabulce 5. U trávy se nepotvrdil předpoklad, že by profitovala z trénování půdy bobovitou rostlinou, naopak růst v trénované půdě pro ni znamenal omezení stejně jako pro bobovité.

6.1.2 Růst samostatný a v kompetici

Bobovité na rozdíl od trávy nebyly statisticky významně postižené kompeticí v nadzemní části rostliny (GLM pro všechny faktory). Kořeny bobovitých rostly méně pokud rostly ve společném květináči s trávou (obrázek 12). Tráva byla v růstu kompeticí omezována statisticky významně, a to jak nad zemí, tak v půdě. Neprojevila se však interakce s trénováním půdy předcházející generací rostlin.



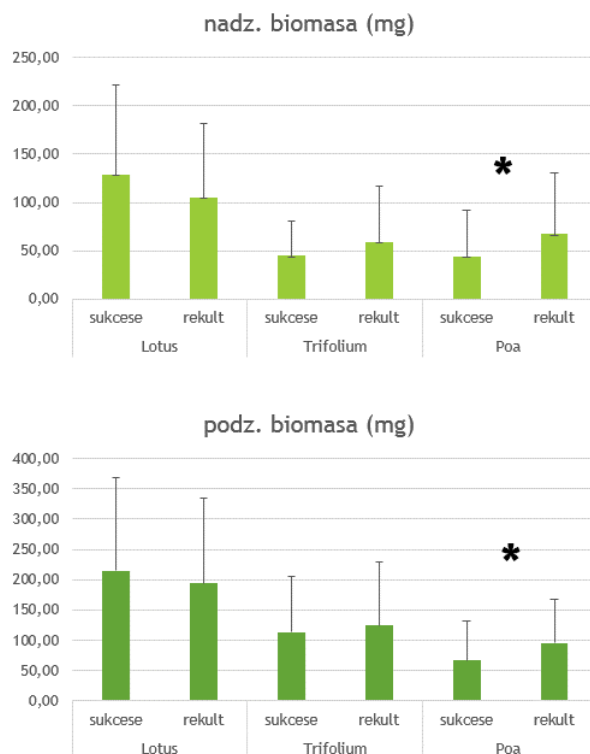
Obrázek 11 Množství nadzemní a podzemní biomasy (+ směrodatná odchylka) podle toho, zda rostlina rostla v půdě naivní či trénované (* označuje signifikanci v GLM se všemi faktory)



Obrázek 12 Množství nadzemní a podzemní biomasy (+ směrodatná odchylka) podle toho, zda rostlina rostla samostatně nebo v kompetici (* označuje signifikanci v GLM se všemi faktory)

6.1.3 Růst na spontánně sukcesních a rekultivovaných půdách

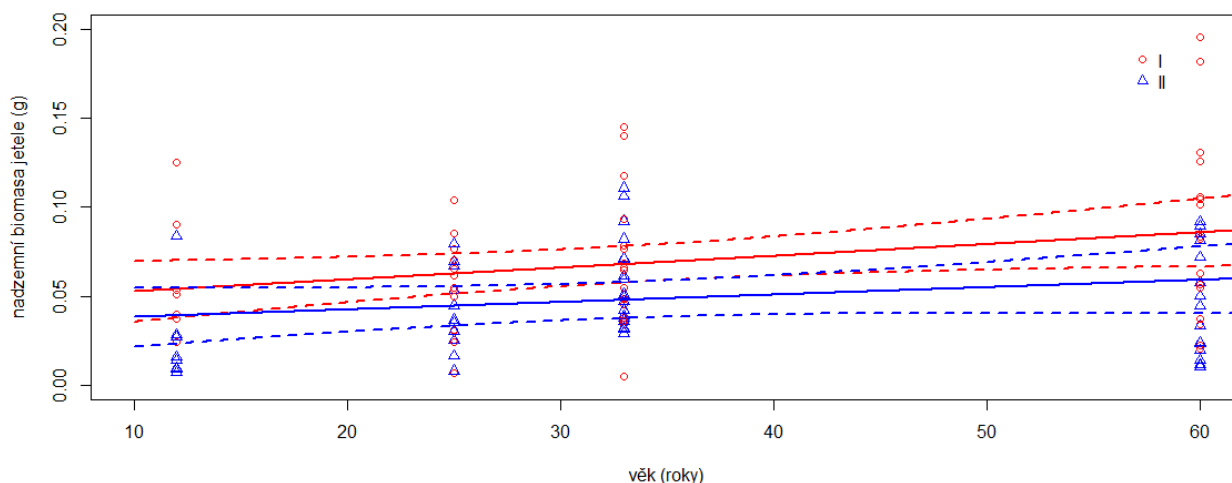
Růst bobovitých rostlin nebyl statisticky významně (GLM se všemi faktory) ovlivňovaný tím, zda probíhal na půdách, které se vyvíjely spontánně, nebo na těch, které vznikly rekultivací olší (obrázek 13). Podle předpokladu růst lipnice byl větší na plochách, které byly rekultivovány. Měla jak větší kořeny, tak i větší nadzemní biomasu. Nepodařilo se však prokázat, že by tento vliv přispěl k rozdílnému růstu trávy v naivních a trénovaných půdách (nesignifikantní interakce v GLM pro všechny faktory). Ani u bobovitých rostlin nebyla zaznamenána předpokládaná interakce (GLM pro všechny faktory).



Obrázek 13 Množství podzemní a nadzemní biomasy (+ směrodatná odchylka) podle toho, zda rostlina rostla na plochách spontánně zarůstajících nebo rekultivovaných (* označuje signifikanci v GLM se všemi faktory)

6.1.4 Stáří ploch

Podíl stáří ploch na růstu rostliny byl signifikantně významný pro nadzemní růst jetele lučního (GLM nadzemní biomasy jetele se všemi faktory), kterému se s postupující sukcesí dařilo více než v iniciálních fázích (obrázek 14).



Obrázek 14 Množství nadzemní biomasy jetele, na jehož růst měl signifikantní dopad růst na naivní (I.) a trénované (II.) půdě a stáří ploch (GLM pro všechny faktory)

6.2 Shrnutí

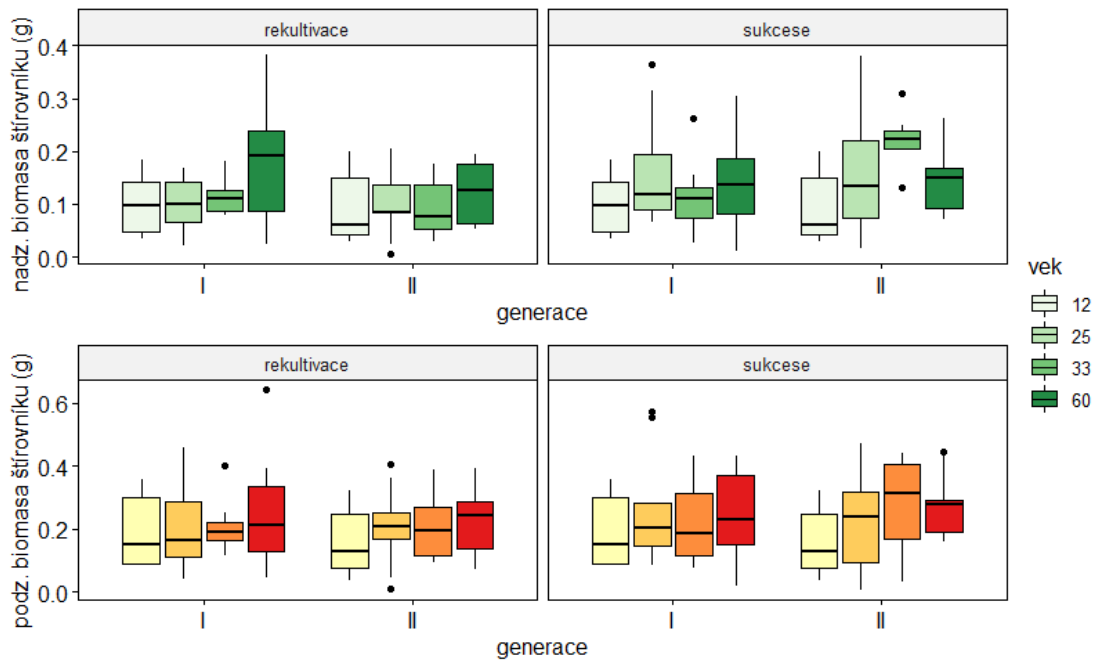
U bobovitých se jednotlivé vlivy lišily podle působení na nadzemní část a kořeny, zatímco signifikantní rozdíly v růstu trávy se projevovaly jak nad zemí, tak v podzemí (podle GLM pro všechny faktory jednotlivých druhů a částí rostliny). U jetele i u lipnice jsou znatelné rozdíly mezi rostlinami rostoucími v naivní půdě a trénované půdě. V obou případech je dopad na pěstování v trénované půdě negativní. Negativní vliv kompetice na růst rostlin byl zaznamenán u kořenů bobovitých a u lipnice jak u kořenů, tak i u nadzemní biomasy. Vliv rozdílného způsobu rekultivace se projevilo pouze u trávy. Vliv stáří půd na růst rostlin byl patrný pouze pro nadzemní biomasu jetele. Interakce mezi jednotlivými faktory nebyla zaznamenána u žádného z druhů.

Tabulka 5 Tabulka udávající signifikance ANOVA (odmocninová transformace dat) provedené pro každou rostlinu a rostlinnou část (co řádek to test) na základě signifikantních faktorů z GLM se všemi faktory. Interakce mezi faktory nebyly prokázány

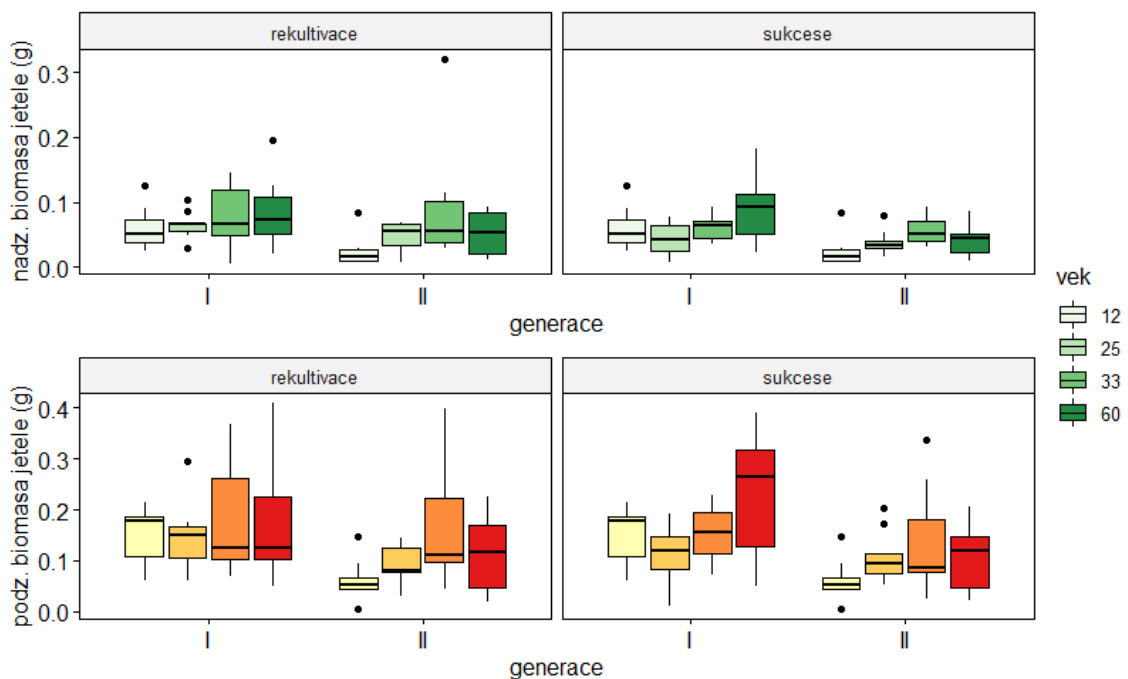
druh	generace	část	kompetice	sukcese / rekultivace	věk	interakce
štírovník	-	nadzemní	-	-	-	-
	-	podzemní	< 0,001	-	-	-
jetel	< 0,001	nadzemní	-	-	< 0,05	-
	< 0,001	podzemní	0,002	-	-	-
lipnice	0,005	nadzemní se štírovníkem	< 0,001	-	-	-
	0,005	nadzemní s jetelem	0,002	0,045	-	-
	0,005	podzemní se štírovníkem	0,002	0,045	-	-
	0,001	podzemní s jetelem	-	< 0,001	-	-

6.3 Interakce mezi trénovanou a naivní půdou a stářím ploch

Přestože lineární regrese u nadzemní biomasy jetele prokázala rozhodující vliv stáří plochy, rozdělení hodnot v grafech naznačuje různé chování první a druhé generace rostlin v průběhu sukcese. V první generaci totiž nacházíme postupný vzrůst hodnot až k 60. roku, zatímco u II. generace největší hodnoty biomasy (jak podzemní, tak nadzemní) se vyskytují kolem 30. roku (obrázek 15).



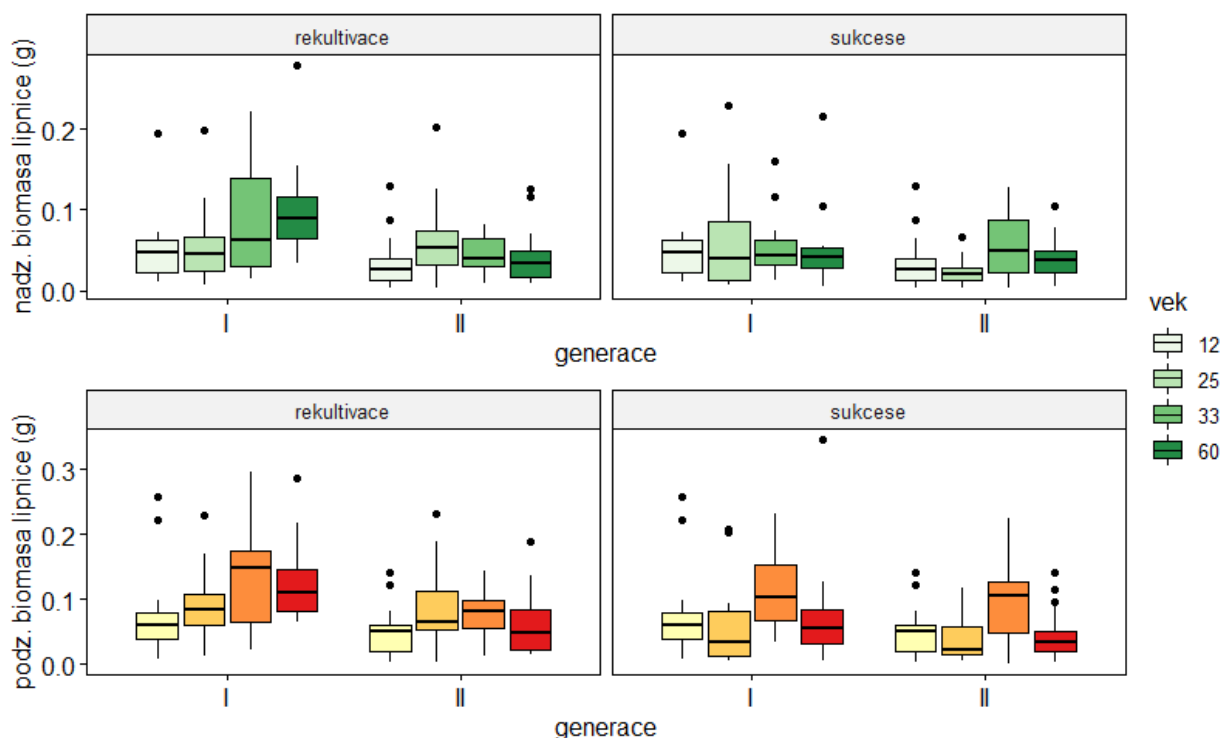
Obrázek 15 Časové trendy nadzemní a podzemní biomasy I. a II. generace (naivní a ovlivněná půda) štirovniku rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesí



Obrázek 16 Časové trendy nadzemní a podzemní biomasy I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) jetele rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesí

Data štírovníku podporují tento trend pouze pro půdy podléhající spontánnímu vývoji (obrázek 16).

U lipnice (obrázek 17) rozdílný růst v čase na půdách trénovaných a netrénovaných nemohu spolehlivě potvrdit. Ve všech variantách shledávám maximum jak u první, tak i druhé generace kolem 30. roku.

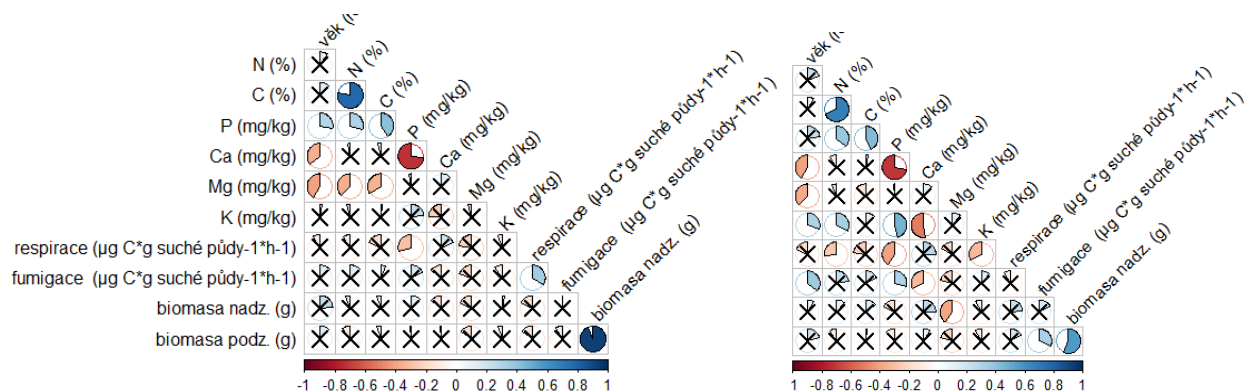


Obrázek 17 Časové trendy nadzemní a podzemní biomasy I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) lipnice smáčkuté rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesí

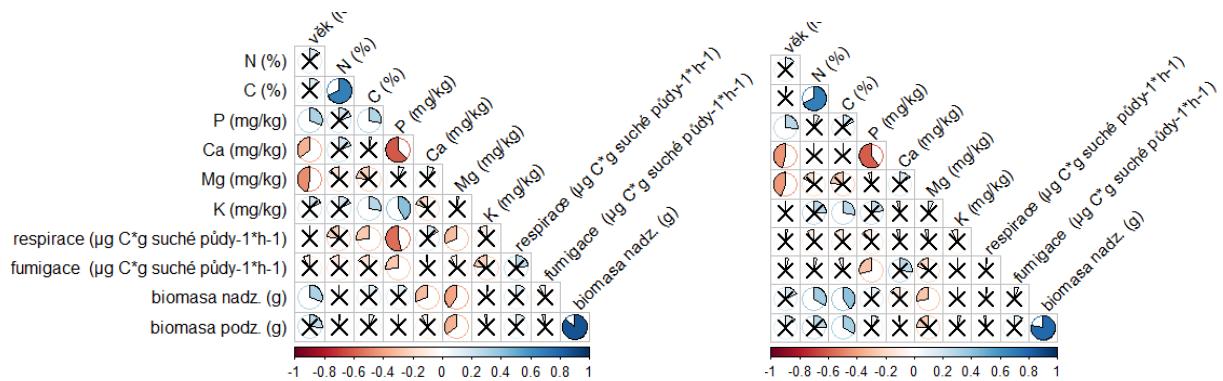
6.4 Korelace biomasy rostlin a kvalit půdy

Kromě zhodnocení množství biomasy a stavu půdy je vhodné zhodnotit i míru souvýskytu mezi vzorky. Rozdílné generační chování můžeme sledovat i zde. Zatímco u bobovitých rostlin se pozitivní korelace nacházejí ve vyšší míře v druhé generaci, u tráv naopak v první generaci. Jako pozitivní korelační faktory zde vystupují mikrobiální biomasa, dusík, uhlík a fosfor, bez ohledu na čeleď rostlin. Rovněž negativní korelační faktory, hořčík a vápník, se zde nacházejí bez ohledu na čeleď. Neexistuje tedy prvek, který by na bobovité působil s opačnou tendencí než na trávu, ale množství mikrobiální biomasy (pozitivní) a fosfor (taktéž pozitivní) a se vyskytly pouze u jedné z nich. Předpokládaná korelace bobovitých rostlin se nepotvrdila. Obecně se přitom předpokládá, že jelikož jsou schopné si potřebné množství dusíku zajistit přísunem z ovzduší, limituje je fosfor. Ten je nutný nejen pro samotný růst, ale i pro fixaci dusíku ze vzduchu.

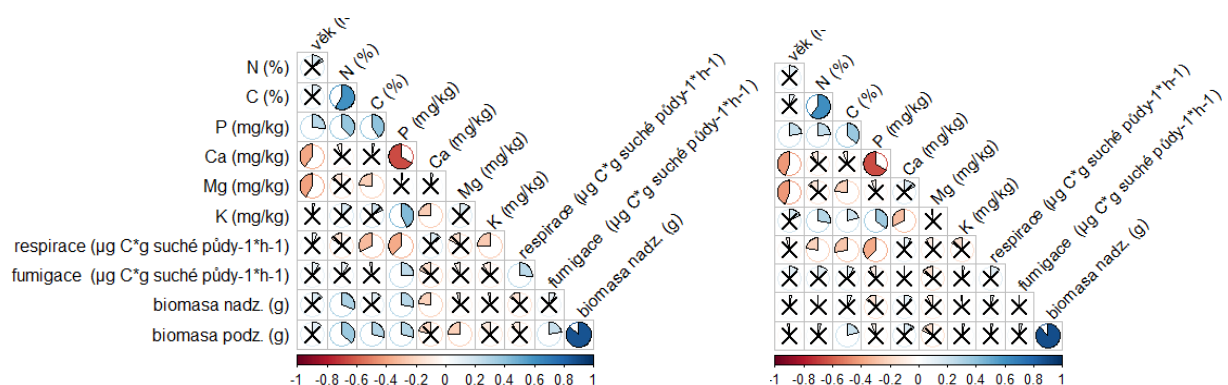
Korelační matice znázorňují obrázky 18 – 20, signifikantní korelace s biomasou rostlin shrnuje tabulka 6.



Obrázek 18 Korelační analýza věku, půdních vlastností a biomasy štirovníku růžkatého (I. generace vľavo, II. generace vpravo) korelační koeficient je vyjádřen procentuálně od -1 do 0 (červené barvy) a od 0 do 1 (modré barvy), statisticky nevýznamné hodnoty korelačního koeficientu je naznačena křížkem



Obrázek 19 Korelační analýza věku, půdních vlastností a biomasy jetelu lučního (I. generace vľavo, II. generace vpravo), korelační koeficient je vyjádřen procentuálně od -1 do 0 (červené barvy) a od 0 do 1 (modré barvy), statisticky nevýznamná hodnota korelačního koeficientu je naznačena křížkem



Obrázek 20 Korelační analýza věku, půdních vlastností a biomasy lipnice smáčkutě (I. generace vľavo, II. generace vpravo), korelační koeficient je vyjádřen procentuálně od -1 do 0 (červené barvy) a od 0 do 1 (modré barvy), statisticky nevýznamná hodnota korelačního koeficientu je naznačena křížkem

Tabulka 6 Tabulka shrnující signifikantní korelace shledané mezi biomasou jednotlivých druhů a půdními vlastnostmi

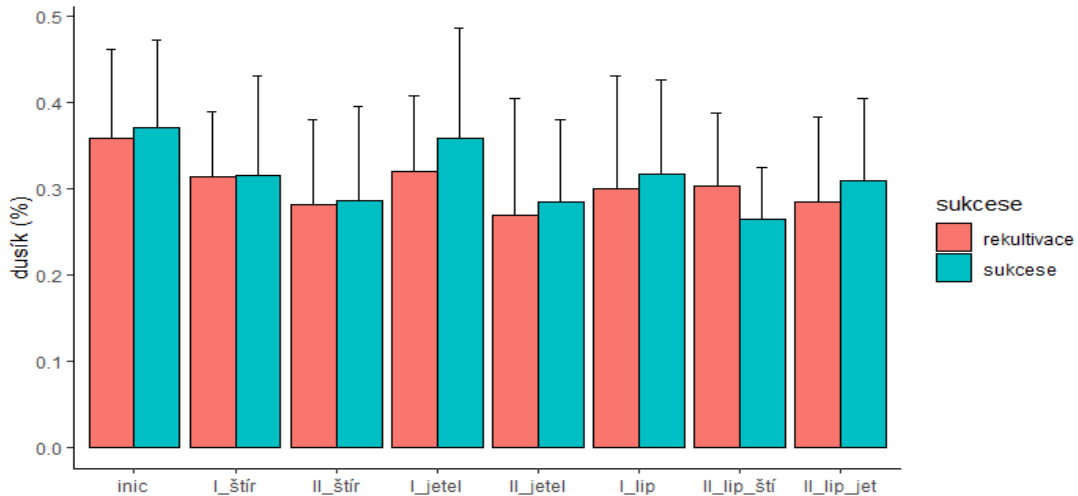
druh	generace	část	pozitivní korelace	negativní korelace
štírovník	I	nadzemní	-	-
		podzemní	-	-
	II	nadzemní	-	Mg
		podzemní	mikrobiální biomasa	-
jetel	I	nadzemní	věk	Mg, Ca
		podzemní	-	Mg
	II	nadzemní	C, N	Mg
		podzemní	C	-
lipnice	I	nadzemní	N, P	Ca
		podzemní	C, N, P	Mg
	II	nadzemní	-	-
		podzemní	C	

6.4.1 Korelace s věkem

Uhlík ani dusík v půdě s jejím stářím nekorelují. Ostatní prvky se však chovají stejně jak k biomase rostlin, tak ke stáří ploch. Fosfor, který pozitivně koreluje s biomasou rostlin (konkrétně podzemní biomasou lipnice), zároveň pozitivně koreluje se stářím ploch. Hořčík i vápník, které negativně korelují s biomasou (všechny druhy), negativně korelují i se stářím ploch.

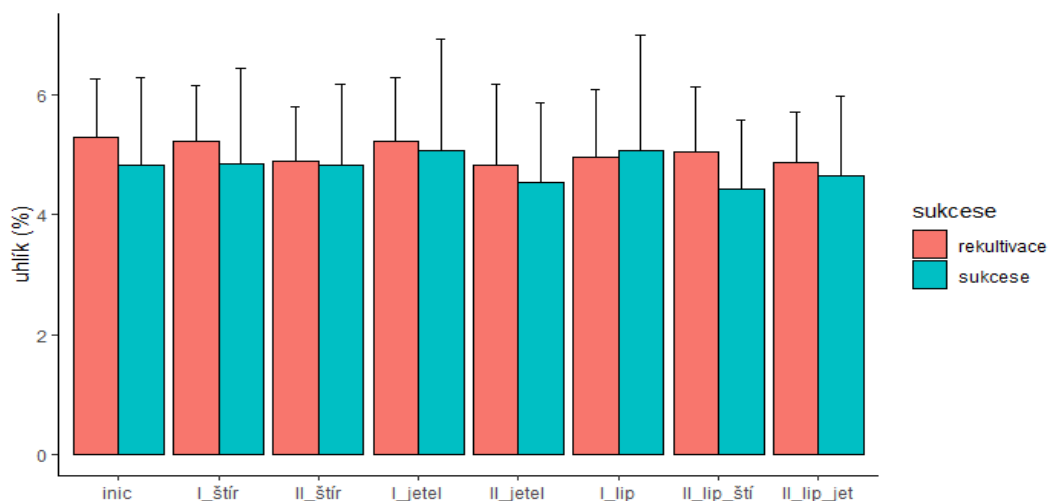
6.5 Základní makroprvky v biomase rostlin

6.5.1 Dusík a uhlík v půdě



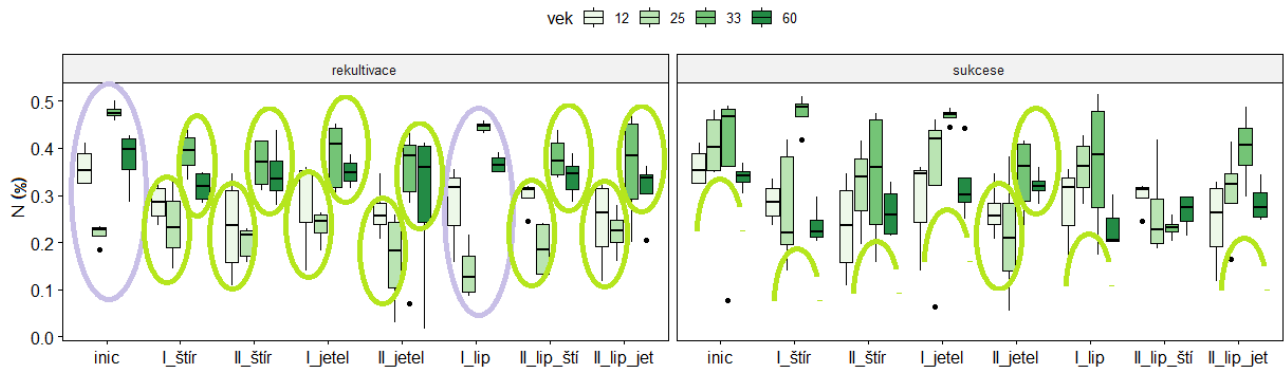
Obrázek 21 Množství dusíku (%) v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štírovníku, jetele a lipnice (se štírovníkem, s jetelem) rozdělené podle způsobu rekultivace

U dusíku je zaznamenána celkově výrazně větší variabilita mezi skupinami než u uhlíku, nicméně analýza variance neprokázala mezi skupinami žádné signifikantní rozdíly. Nedá se identifikovat žádný obecný trend, celkově však mohu konstatovat na základě průměrů, že půdy, na kterých nerostly rostliny vůbec, obsahovaly více dusíku než ty, na kterých rostliny vyrostly. To by odpovídalo tomu, že byl dusík spotřebován na jejich růst. Výjimku tvoří pouze jetel v první generaci, u něhož je hodnota stejná jako v iniciální půdě. Je pravděpodobné, že jetel mohl fixací dusíku udržovat jeho stálý obsah. Průměrné hodnoty obsahu dusíku klesají dále i po růstu I. generace rostlin. V půdách sukcesních ploch jsou průměrné nižší hodnoty dusíku než na půdách rekultivovaných



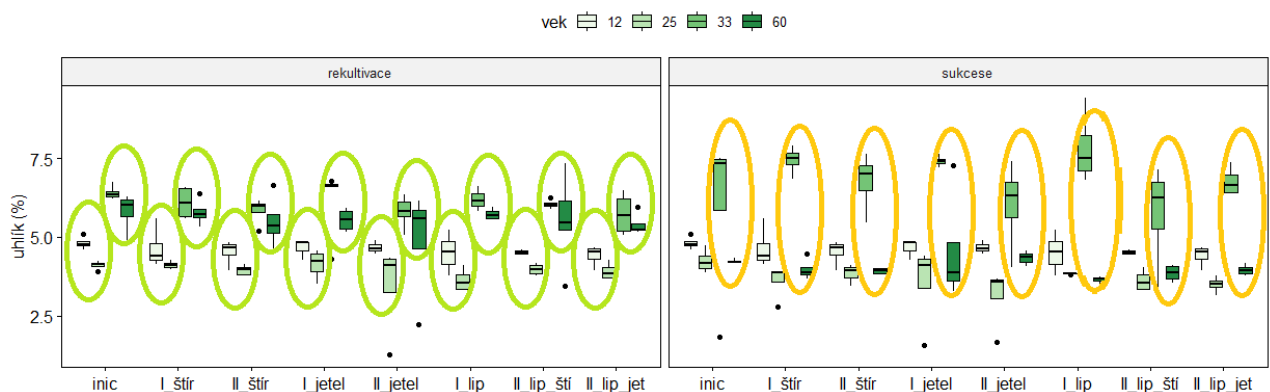
Obrázek 22 Množství uhlíku (%) v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štírovníku, jetele a lipnice (se štírovníkem, s jetelem) rozdělené podle způsobu rekultivace, rozdíly mezi skupinami nejsou statisticky významné (ANOVA)

U uhlíku nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinami (ANOVA). Průměrné hodnoty uhlíku jsou oproti dusíku v rekultivovaných půdách vyšší (obrázek 22). Výjimku tvoří půda, ve které poprvé rostla lipnice. Průměrné hodnoty uhlíku jsou 10krát vyšší než u dusíku, a tedy i rozsah hodnot je tomu přiměřený.



Obrázek 23 Časové trendy v množství dusíku (%) v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štirovníku, jetele a lipnice (se štirovníkem, s jetelem) rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesi

Pokud zahrneme i vliv stáří půd, pak je ve vzorcích ze spontánní sukcese vidět postupný nárůst obsahu dusíku do 30. roku, a poté sestup (obrázek 23). Oproti vzorkům z rekultivovaných ploch jsou mezi ovlivňujícími rostlinami i jednotlivými generacemi rostlin výraznější rozdíly v obsahu dusíku. V případě vzorků z rekultivace se jedná spíše o shlukování podobných hodnot kolem 12. a 25. roku a kolem 33. a 60. roku stáří půd. Půdy, kde rostla lipnice v první generaci, mají velmi podobné množství dusíku jako půdy netréované růstem rostlin. Všechny vzorky půdy trénované bobovitými rostlinami, ať už přímým růstem nebo růstem v předcházející generaci, vykazují zmiňované shlukování.



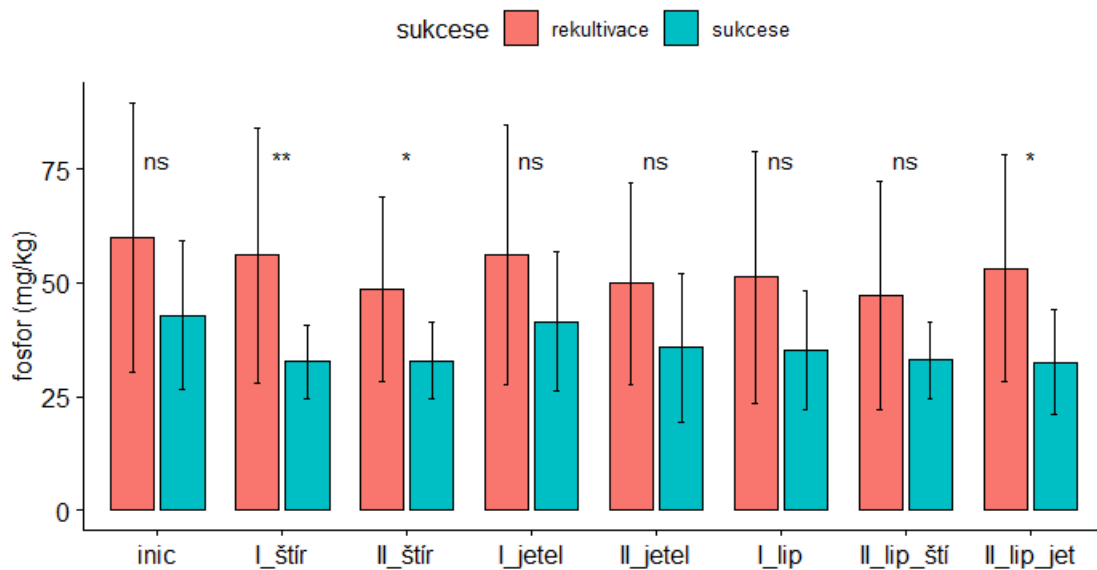
Obrázek 24 Časové trendy v množství uhlíku (%) v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štirovníku, jetele a lipnice (se štirovníkem, s jetelem) rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesi

S věkem můžeme rozeznat rozdílné chování obsahu uhlíku na půdách pocházejících ze spontánní sukcese a rekultivace, a to i vzhledem k dusíku. V sukcesi i v rekultivaci se maximum

nachází kolem 30. roku, ale zatímco rekultivované půdy mají podobné hodnoty kolem 30. a 60. roku, u sukcesních je velký nárůst kolem 30. roku a hluboký propad k 60. roku (obrázek 24).

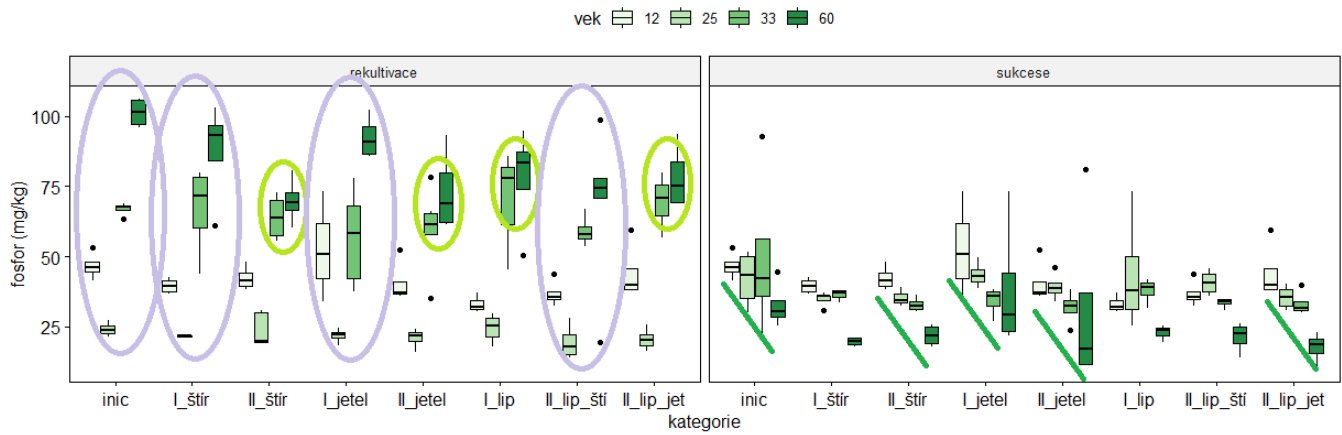
6.5.2 Fosfor v půdě

Hodnoty fosforu nevykazují statisticky významné rozdíly mezi iniciální půdou a půdou, která je trénovaná růstem rostlin, a to ani v případě trávy, jejíž růst v první generaci je s fosforem korelovaný (obrázek 25). Statisticky významný rozdíl mezi zásobením půd fosforem nacházíme mezi různě rekultivovanými půdami (ANOVA, následovaná porovnáním skupin). Půdy podléhající spontánní sukcesi značně zaostávají v obsahu fosforu oproti půdám rekultivovaným. Na půdách, na kterých rostl během pokusu štírovník, statisticky významně (two-way ANOVA). Korelace růstu lipnice s množstvím fosforu bude nejspíš ovlivňovat obě generace, přestože v případě druhé generace nebyla statisticky významná. V zásadě by se mohlo jednat o celkové lepší prospívání lipnice na rekultivovaných půdách, které bylo potvrzené lineárním modelem.



Obrázek 25 Množství dostupného fosforu (mg/kg (+směrodatná odchylka) v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štírovníku, jetele a lipnice (se štírovníkem, s jetelem) rozdělené podle způsobu rekultivace (ANOVA, * vyjadřují míru signifikance mezi různě rekultivovanými plochami)

Vliv stáří půd nemůžeme zanedbat (obrázek 26), což potvrdila i korelační analýza. Na sukcesních plochách dochází s věkem k úbytku fosforu, a to už v půdách iniciálních, na rekultivovaných se naopak množství fosforu zvyšuje.



Obrázek 26 Časové trendy v množství dostupného fosforu v půdě bez rostlin (iniciální), s rostlinami I. a II. generace (naivní a trénovaná půda) štirovníku, jetele a lipnice (se štirovníkem, s jetelem) rozdělené na sukcesní řadu podléhající rekultivaci a spontánní sukcesi

7. Diskuze

Druhá generace bobovitých rostlin prospívala hůře než generace první, projevuje se zde tedy negativní plant-soil feedback. Ten byl signifikantní u všech druhů s výjimkou štirovníku. Ve shodě s Van der Putten et al. (2013) předpokládáme, že tento jev je dán nahromaděním patogenů v rhizosféře rostlin první generace, které pak negativně ovlivňují rostliny druhé generace. Předpokládala jsem, že by se tento trend mohl s sukcesním stářím ploch zvětšovat, jelikož by docházelo k nafxování více a více patogenů v půdě jak naznačuje práce Putten et al. (1993). Interakce s věkem se však neprokázala. Může to být dáno tím, že s narůstajícím stářím narůstá biomasa a komplexita mikrobiálního společenstva, které má schopnost patogeny potlačovat (Grosch et al., 2012; Matilla and Krell, 2018).

Předpoklad, že rostliny rostoucí v kompetici, budou oslabenější a bude na ně zvýšeně působit negativní zpětná vazba se nepotvrdil, ale konkurence jako taková měla negativní vliv na růst rostlin v souladu s očekáváním a literaturou (Keddy, 2007).

Vliv rozdílného způsobu rekultivace na růst bobovitých rostlin se neprokázal, přestože práce Zedníkové 2019 tento vliv uvádí. Kombinace efektu způsobu rekultivace a trénování půdy rovněž nebyla statisticky prokázána.

Nadzemní biomasa jetele vykazovala zlepšování růstu v souvislosti se stářím ploch. Přestože rozdíl mezi růstem v průběhu primární sukcese u první a druhé generace nebyl statisticky významný (GLM pro všechny faktory), průměrné hodnoty naznačovaly rozdílné trendy. Spíše lineární nárůst první generace se neshoduje s trendy shledanými u obsahů dusíku a uhlíku v příslušných půdách. Ty vykazují maximum kolem 30. roku bez ohledu na generaci jetele, a tak jsou v obou případech bližší růstu druhé generace jetele, která má taktéž maximum v této době.

Specifičnost 30. roku na spontánně zarůstáných půdách by mohla spočívat v přítomnosti břízy a topolu, které Stark et al. (2015) uvádí jako nurse plants, obohacující půdu o bazické kationty a urychlující nástup sukcesně pozdějších druhů. Na druhou stranu hořčák (a vápník) byly s biomasou rostlin korelovány negativně. Podobné snížení růstu rostlin na sukcesně starších půdách pozoroval i Kaneda et al., 2020, ten si jej vysvětloval kompeticí rostlin s mikrobiální biomasou, zejména pak kompeticí o fosfor.

Podzemní biomasa (kořeny) a nadzemní biomasa reagovaly na doplňující faktory (kompetice/ samostatný růst, rekultivace/sukcese, stáří plochy) rozdílně. Stejně tak se mírně lišily reakce u jednotlivých druhů bobovitých rostlin. Data ohledně nadzemní biomasy štirovníku

naznačovala statisticky nevýznamně reakci na růst v naivních a trénovaných půdách, která byla jasně patrná na jeteli. To by mohlo být způsobeno jak vyšší tolerancí k nedostatku fosforu (Castillo et al., 2013) a celkovému úspěšnějšímu růstu v náročnější půdních podmínkách (Bullard and Crawford, 1995), tak např. i jiným symbiontem mezi bobovitými (*Mesorhizobium* u štirovníku, *Rhizobium* u jetele). *Mesorhizobia* vykazují rychlejší růst než *Rhizobia* (Jarvis et al., 1997), což by znovu potvrzovalo větší ekologickou valenci štirovníku, a tedy i možnou větší rezistivitu vůči podmínkám prostředí. První růst jetele oproti ostatním rostlinám nevyvolal propad průměrné hodnoty dusíku oproti půdě iniciální, navíc u jeho nadzemní biomasy byl signifikantní nárůst se stářím plochy (GLM pro všechny faktory), tyto skutečnosti by mohly být způsobeny větší schopností jetelu fixovat dusík.

Předpoklad, že by tráva rostla na půdě trénované bobovitými rostlinami lépe díky zvýšenému obsahu dusíku, se nepotvrdil. Množství dusíku bylo korelováno s hmotností trávy pouze v první generaci, a i lipnice rostla v půdě trénované bobovitou rostlinou hůře než v naivní půdě. Doklad o horším růstu trav v prvních 6 týdnech po bobovitých oproti kontrolní směsi obsahující jak trávy, tak byliny (s N-nefixujícími symbionty) a bobovité předkládá i Körner et al. (2008). Po roce se vlivy vyrovnávají a trávy rostou dokonce lépe po bobovitých než po směsi. Je tedy možné, že pokud by experiment probíhal déle, pak by se projevil i tento pozitivní vliv.

V kompetici rostly rostliny dle předpokladu hůře než rostliny rostoucí samostatně.

Pozorovatelný vliv rekultivačního způsobu, který u bobovitých nebyl zaznamenán, nejspíš souvisí s korelací s fosforem. Jelikož korelace s fosforem byla zaznamenána jedinečně pro biomasu lipnice. Obsah fosforu v rekultivovaných půdách byl výrazně vyšší než v půdách podléhajících spontánní sukcesi. To by odpovídalo zjištění, že olše dokáže stimulovat oběh fosforu v půdě (Compton and Cole, 1998).

Ani u trávy nebyla pozorovaná interakce mezi faktory. Narozdíl od práce Sun et al. (2019).

Zjištěné menší množství celkového uhlíku v rekultivovaných půdách může být způsobeno větší početností žížal. Ty podle Groffman et al. (2015) podporují velikost mikrobiálního společenstva, a tím jeho uvolnění z půdy.

Experiment za laboratorních podmínek může skrývat úskalí v podobě pravidelné závlaky v dostatečném množství. Přes snahu zabránit vysychání v podobě usazení květináčů do písku mohlo docházet k rychlejšímu vysychání, než by se dělo v přirozených podmínkách, kde je rezistence půdního prostředí větší díky provázanosti struktur. Na druhou stranu v přírodním prostředí je daleko menší pravidelnost přísunu srážkové vody.

8. Závěr

Přínos práce spočívá ve zjištění vlivů na růst ranně sukcesních druhů v podmínkách stejné půdy, která se navíc vyvíjí v čase. Postihuje tedy nejen okamžitý plant-soil feedback bobovitých rostlin, ale i jeho vývoj v průběhu primární sukcese. Navíc při stejných experimentálních podmínkách ověřuje doplňující vliv kompetice s trávou i případný rozdílný efekt plant-soil feedbacku na konkurenční druh.

Pochopení působení plant-soil feedbacku je podpořeno ověřením vlivu různých rekultivačních opatření, které ovlivňují průběh celé sukcese.

Závěry plynoucí z této práce:

- *Fabaceae* v trénované půdě prospívaly hůře
- Se stářím ploch nedocházelo ke zvětšování tohoto efektu
- Kompetice neztvětšovala efekt trénované půdy
- Rozdílný způsob rekultivace neztvětšoval efekt trénované půdy
- Tráva rostla na půdě trénované bobovitou hůře
- Se stářím ploch nedocházelo ke zvětšování tohoto efektu
- Neprojevila se u ní žádná ze sledovaných interakcí (s kompeticí, způsobem rekultivace)
- Vliv kompetice byl zaznamenán u všech rostlin
- Vliv rozdílného způsobu rekultivace se projevil na růstu pouze trávy, nejspíše kvůli vyššímu obsahu fosforu v rekultivovaných půdách

Práci by bylo možné rozšířit o zjištění množství nodů na kořenech bobovitých a obsahu atmosférického ^{15}N v trávě z důvodu ohodnocení, kolik množství dusíku bylo nafixováno z ovzduší. Přesnější stav mikrobiálního společenstva by bylo možné zjistit pomocí stanovení PLFA, fosfolipidických mastných kyselin.

9. Seznam literatury

- Bartuška, M., Pawlett, M., Frouz, J., 2015. Particulate organic carbon at reclaimed and unreclaimed post-mining soils and its microbial community composition. *Catena* 131, 92–98. doi:10.1016/j.catena.2015.03.019
- Binkley, D., 1986. *Forest nutrition management*. John Wiley & Sons.
- Bradshaw, A., 1997. Restoration of mined lands - Using natural processes. *Ecological Engineering* 8, 255–269. doi:10.1016/S0925-8574(97)00022-0
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons.
- Bullard, M.J., Crawford, T.J., 1995. Productivity of *Lotus corniculatus* L. (bird's-foot trefoil) in the UK when grown under low-input conditions as spaced plants, monoculture swards or mixed swards. *Grass and Forage Science* 50, 439–446. doi:10.1111/j.1365-2494.1995.tb02338.x
- Castillo, C., Acuña, H., Zagal, E., Inostroza, L., 2013. Phosphorus absorption and use efficiency by *Lotus* spp. under water stress conditions in two soils: A pot experiment. *Chilean Journal of Agricultural Research* 73, 31–40.
- Čepička, I., Kovář, F., Synek, P., 2007. *Mutualismus - vzájemně prospěšná symbióza*, first. ed. Národní institut dětí a mládeže MŠMT ČR.
- Česká národní rada, Z., 2017. ZÁKON České národní rady ze dne 12. května 1992 o ochraně zemědělského půdního fondu 7, 45–56.
- Chapin, F.S., 2003. Effects of plant traits on ecosystem and regional processes: A conceptual framework for predicting the consequences of global change. *Annals of Botany* 91, 455–463. doi:10.1093/aob/mcg041
- Chapin, F.S., Walker, L.R., Fastie, C.L., Sharman, L.C., 1994. Mechanisms of Primary Succession Following Deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecological Monographs* 64, 149–175.
- Chuman, T., 2015. Restoration Practices Used on Post Mining Sites and Industrial Deposits in the Czech Republic with an Example of Natural Restoration of Granodiorite Quarries and Spoil Heaps. *Journal of Landscape Ecology* 8, 29–46. doi:10.1515/jlecol-2015-0007
- Compton, J.E., Cole, D.W., 1998. Phosphorus cycling and soil P fractions in Douglas-fir and red alder stands. *Forest Ecology and Management* 110, 101–112.
- Cooke, J.C., Lefor, M.W., 1998. The mycorrhizal status of selected plant species from Connecticut wetlands and transition zones. *Restoration Ecology* 6, 214–222. doi:10.1046/j.1526-100X.1998.00628.x
- de León, D.G., Moora, M., Öpik, M., Neuenkamp, L., Gerz, M., Jairus, T., Vasar, M., Guillermo Bueno, C., Davison, J., Zobel, M., 2016. Symbiont dynamics during ecosystem succession: Co-occurring plant and arbuscular mycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbiology Ecology* 92, 1–9. doi:10.1093/femsec/fiw097
- Dorogova, Y.A., Zhukova, L.A., Turmuhametova, N. V., Polyanskaya, T.A., Notov, A.A., Dementyeva, S.M., 2016. Methods of analysis of environmental diversity of plants. *Biology and Medicine* 8. doi:10.4172/0974-8369.1000354

- Dynarski, K.A., Pett-ridge, J.C., Perakis, S.S., 2020. Decadal-scale decoupling of soil phosphorus and molybdenum cycles by temperate nitrogen-fixing trees. *Biogeochemistry* 149, 355–371. doi:10.1007/s10533-020-00680-9
- Ehrenfeld, J.G., Ravit, B., Elgersma, K., 2005. Feedback in the plant-soil system. *Annual Review of Environment and Resources* 30, 75–115. doi:10.1146/annurev.energy.30.050504.144212
- Eriksen, M., Bjureke, K.E., Dhillion, S.S., 2002. Mycorrhizal plants of traditionally managed boreal grasslands in Norway. *Mycorrhiza* 12, 117–123. doi:10.1007/s00572-002-0165-x
- Frouz, J., 2018. Changes of Water Budget during Ecosystem Development in Post-Mining Sites at Various Spatiotemporal Scales: The Need for Controlled Systems, in: *Hydrology of Artificial and Controlled Experiments*. pp. 95–106. doi:10.5772/62972
- Frouz, J., Elhottová, D., Pižl, V., Tajovský, K., Šourková, M., Pícek, T., Malý, S., 2007. The effect of litter quality and soil faunal composition on organic matter dynamics in post-mining soil: A laboratory study. *Applied Soil Ecology* 37, 72–80. doi:10.1016/j.apsoil.2007.04.001
- Frouz, J., Keplin, B., Pižl, V., Tajovský, K., Starý, J., Lukešová, A., Nováková, A., Balík, V., Háněl, L., Materna, J., Düker, C., Chalupský, J., Rusek, J., Heinkele, T., 2001. Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences. *Ecological Engineering* 17, 275–284. doi:10.1016/S0925-8574(00)00144-0
- Frouz, J., Nováková, A., 2005. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development. *Geoderma* 129, 54–64. doi:10.1016/j.geoderma.2004.12.033
- Frouz, J., Prach, K., Pižl, V., Háněl, L., Starý, J., Tajovský, K., Materna, J., Balík, V., Kalčík, J., Řehouňková, K., 2008. Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology* 44, 109–121. doi:10.1016/j.ejsobi.2007.09.002
- Frouz, J., Vobořilová, V., Janoušová, I., Kadochová, Š., Matějčík, L., 2015. Spontaneous establishment of late successional tree species english oak (*Quercus robur*) and european beech (*fagus sylvatica*) at reclaimed alder plantation and unreclaimed post mining sites. *Ecological Engineering* 77, 1–8. doi:10.1016/j.ecoleng.2015.01.001
- Frouz, J., Zadinová, R., Mihaljevič, M., Rojík, P., M., Ř., 2014. Effect of accelerated weathering and leaching on the chemistry and phytotoxicity of coal-mine overburden. *European Journal of Environmental Sciences* 4, 106–111.
- Glenn-Lewin, D.C., Peet, R.K., Veblen, T.T., 1993. *Plant succession: Theory and prediction*. Springer Netherlands.
- Gómez-Aparicio, L., 2009. The role of plant interactions in the restoration of degraded ecosystems: A meta-analysis across life-forms and ecosystems. *Journal of Ecology* 97, 1202–1214. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01573.x
- Groffman, P.M., Fahey, T.J., Fisk, M.C., Yavitt, J.B., Sherman, R.E., Bohlen, P.J., Maertz, J.C., 2015. Earthworms increase soil microbial biomass carrying capacity and nitrogen retention in northern hardwood forests. *Soil Biology & Biochemistry* 87, 51–58. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.025
- Grosch, R., Dealtry, S., Schreiter, S., Berg, G., Mendonça-Hagler, L., Smalla, K., 2012. Biocontrol of *Rhizoctonia solani*: Complex interaction of biocontrol strains, pathogen and indigenous microbial community in the rhizosphere of lettuce shown by molecular methods. *Plant and Soil* 361, 343–357. doi:10.1007/s11104-012-1239-y

- Gutschick, V.P., 1981. Evolved Strategies in Nitrogen Acquisition by Plants. *The American Naturalist* 118, 607–637.
- Harley, J.L., Harley, E.L., 1987. A Check-List of Mycorrhiza in the British Flora. *The New Phytologist* 105, 1–102.
- Hart, M.M., Reader, R.J., Klironomos, J.N., 2001. Life-History Strategies of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Relation to Their Successional Dynamics 93, 1186–1194.
- Hiltpold, I., Jaffuel, G., Turlings, T.C.J., 2015. The dual effects of root-cap exudates on nematodes: From quiescence in plant-parasitic nematodes to frenzy in entomopathogenic nematodes. *Journal of Experimental Botany* 66, 603–611. doi:10.1093/jxb/eru345
- Hobbie, E.A., Macko, S.A., Shugart, H.H., 1998. Patterns in N dynamics and N isotopes during primary succession in Glacier Bay, Alaska. *Chemical Geology* 152, 3–11. doi:10.1016/S0009-2541(98)00092-8
- Hu, L., Robert, C.A.M., Cadot, S., Zhang, X., Ye, M., Li, B., Manzo, D., Chervet, N., Steinger, T., Van Der Heijden, M.G.A., Schlaeppli, K., Erb, M., 2018. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications* 9, 1–13. doi:10.1038/s41467-018-05122-7
- Hussain, A., Husna, Ullah, I., Naseem, M., 2019. Plant-Associated Microbes Alter Root Growth by Modulating Root Apical Meristem, in: Naseem, M., Dandeka, T. (Eds.), *Plant Stem Cells*. Springer, pp. 49–58.
- Ingham, R.E., Detling, J.K., 1990. Effects of root-feeding nematodes on aboveground net primary production in a North American grassland. *Plant and Soil* 121, 279–281. doi:10.1007/BF00012321
- Jarvis, B.D.W., Van Berkum, P., CHEN, W.X., NOUR, S.M., Fernandez, M.P., CLEYET-MAREL, J.C., GILLIS, M., 1997. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*, and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47, 895–898. doi:10.1099/00207713-47-3-895
- Jia, P., Liang, J. liang, Yang, S. xiang, Zhang, S. chang, Liu, J., Liang, Z. wei, Li, F. mei, Zeng, Q. wei, Fang, Z., Liao, B., Shu, W. sheng, Cadotte, M.W., Li, J. tian, 2020. Plant diversity enhances the reclamation of degraded lands by stimulating plant–soil feedbacks. *Journal of Applied Ecology* 57, 1258–1270. doi:10.1111/1365-2664.13625
- Joseph, J., Sharma, S., Dave, V.P., 2018. Filamentous gram-negative bacteria masquerading as actinomycetes in infectious endophthalmitis: a review of three cases. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection* 8. doi:10.1186/s12348-018-0157-4
- Kanchiswamy, C.N., Malnoy, M., Maffei, M.E., 2015. Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity. *Frontiers in Plant Science* 6. doi:10.3389/fpls.2015.00151
- Kaneda, S., Angst, Š., Frouz, J., 2020. Development of nutrient uptake by understory plant *arrhenatherum elatius* and microbial biomass during primary succession of forest soils in post-mining land. *Forests* 11. doi:10.3390/f11020247
- Kasowska, D., 2002. Mycorrhizal status of plants in two successional stages on spoil heaps from fireloam mining in Lower Silesia (SW Poland). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 71, 155–161. doi:10.5586/asbp.2002.018

- Keddy, P.A., 2007. *Plants and Vegetation: Origins, Processes, Consequence*, druhá. ed, Cambridge University Press.
- Kennedy, P.G., Walker, J.K.M., Bogar, L.M., 2015. Interspecific Mycorrhizal Networks and Non-networking Hosts: Exploring the Ecology of the Host Genus *Alnus*, in: Horton, T.R. (Ed.), *Mycorrhizal Networks*. Springer, pp. 227–254. doi:10.1007/978-94-017-7395-9_8
- Klironomos, J.N., 2002. Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 417, 67–70. doi:10.1038/417067a
- Kohls, S.J., Baker, D.D., Van Kessel, C., Dawson, J.O., 2003. An assessment of soil enrichment by actinorhizal N₂ fixation using $\delta^{15}\text{N}$ values in a chronosequence of deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Plant and Soil* 254, 11–17. doi:10.1023/A:1024950913234
- Körner, C., Stöcklin, J., Reuther-Thiébaud, L., Pelaez-Riedl, S., 2008. Small differences in arrival time influence composition and productivity of plant communities. *New Phytologist* 177, 698–705. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02287.x
- Kuráž, V., Frouz, J., Kuráž, M., Mako, A., Shustr, V., Cejpek, J., Romanov, O. V., Abakumov, E. V., 2012. Changes in some physical properties of soils in the chronosequence of self-overgrown dumps of the Sokolov quarry-dump complex, Czechia. *Eurasian Soil Science* 45, 266–272. doi:10.1134/S1064229312030076
- Lekberg, Y., Bever, J.D., Bunn, R.A., Callaway, R.M., Hart, M.M., Kivlin, S.N., Klironomos, J., Larkin, B.G., Maron, J.L., Reinhart, K.O., Remke, M., van der Putten, W.H., 2018. Relative importance of competition and plant–soil feedback, their synergy, context dependency and implications for coexistence. *Ecology Letters* 21, 1268–1281. doi:10.1111/ele.13093
- Li, W., Jin, C., Guan, D., Wang, Q., Wang, A., Yuan, F., Wu, J., 2015. The effects of simulated nitrogen deposition on plant root traits: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 82, 112–118. doi:10.1016/j.soilbio.2015.01.001
- Li, W.J., Li, J.H., Lu, J.F., Zhang, R.Y., Wang, G., 2010. Legume-grass species influence plant productivity and soil nitrogen during grassland succession in the eastern Tibet Plateau. *Applied Soil Ecology* 44, 164–169. doi:10.1016/j.apsoil.2009.12.001
- Lugtenberg, B.J.J., Bloemberg, G. V., 2004. Life in the rhizosphere, in: Ramos, J.L. (Ed.), *Pseudomonas: Genomics, Life Style and Molecular Architecture*. Kluwer Acad/Plenum, New York, pp. 403–430.
- Maheshwari, D.K., Dubey, R.C., Kang, S.C., 2008. *Potential Microorganisms For Sustainable Agriculture: A Techno-Commercial Perspective*. I. K. International.
- Matilla, M.A., Krell, T., 2018. Plant Growth Promotion and Biocontrol Mediated by Plant-Associated Bacteria, in: *Plant Microbiome: Stress Response*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 54–80. doi:10.1007/978-981-10-5514-0
- Mckenna, P., Cannon, N., Conway, J., Dooley, J., 2018. The use of red clover (*Trifolium pratense*) in soil fertility-building: A Review. *Field Crops Research* 221, 38–49. doi:10.1016/j.fcr.2018.02.006
- Moradi, J., John, K., Vicentini, F., Vesel, H., Vicena, J., Ardestani, M.M., Frouz, J., 2020. Vertical distribution of soil fauna and microbial community under two contrasting post mining chronosequences: Sites reclaimed by alder plantation and unreclaimed regrowth. *Global Ecology and Conservation* 23, e01165. doi:10.1016/j.gecco.2020.e01165

- Mudrak, O., Dolezal, J., Frouz, J., 2016. Initial species composition predicts the progress in the spontaneous succession on post-mining sites. *Ecological Engineering* 95, 665–670. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.07.002
- Mudrak, O., Frouz, J., Velichova, V., 2010. Understory vegetation in reclaimed and unreclaimed post-mining forest stands. *Ecological Engineering* 36, 783–790. doi:10.1016/j.ecoleng.2010.02.003
- Mudrak, O., Uteseny, K., Frouz, J., 2012. Earthworms drive succession of both plant and Collembola communities in post-mining sites. *Applied Soil Ecology* 62, 170–177. doi:10.1016/j.apsoil.2012.08.004
- Nasholm, T., Kielland, K., Ganeteg, U., 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182, 31–48. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x
- Pawlowska, T.E., Blaskowski, J., Ruhling, A., 1997. The mycorrhizal status of plants colonizing a calamine spoil mound in southern Poland. *Mycorrhiza* 6, 499–505. doi:10.1007/s005720050154
- Perakis, S.S., Sinkhorn, E.R., Catricala, C.E., Bullen, Thomas, D., Fitzpatrick, J.A., Hynicka, J.D., Cromack, K., 2013. Forest calcium depletion and biotic retention along a soil nitrogen gradient. *Ecological Applications* 23, 1947–1961.
- Png, G.K., Lambers, H., Kardol, P., Turner, B.L., Wardle, D.A., Laliberte, E., 2019. Biotic and abiotic plant–soil feedback depends on nitrogen-acquisition strategy and shifts during long-term ecosystem development. *Journal of Ecology* 107, 142–153. doi:10.1111/1365-2745.13048
- Prach, K., Rehounkova, K., Lencova, K., Jirova, A., Konvalinkova, P., Mudrak, O., Student, V., Vanecek, Z., Tichy, L., Petrık, P., Smilauer, P., Pysek, P., 2014. Vegetation succession in restoration of disturbed sites in Central Europe: the direction of succession and species richness across 19 seres. *Applied Vegetation Science* 17, 193–200. doi:10.1111/avsc.12064
- Prescott, C.E., 2002. The influence of the forest canopy on nutrient cycling. *Tree Physiology* 22, 1193–1200. doi:10.1093/treephys/22.15-16.1193
- Prochazka, S., 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia.
- Putten, W.H. van der, Dijk, C. van., Peters, B.A.M., 1993. Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* 362, 53–56.
- Rasmann, S., Hiltbold, I., Ali, J., 2012. The Role of Root-Produced Volatile Secondary Metabolites in Mediating Soil Interactions, in: Montanaro, G. (Ed.), *Advances in Selected Plant Physiology Aspects*. InTech.
- Rastetter, E.B., Vitousek, P.M., Field, C.B., Shaver, G.R., Herbert, D., Gren, G.I., 2001. Resource optimization and symbiotic nitrogen fixation. *Ecosystems* 4, 369–388. doi:10.1007/s10021-001-0018-z
- Reader, R.J., Best, B.J., 1989. Variation in competition along an environmental gradient: *Hieracium floribundum* in an abandoned pasture. *Journal of Ecology* 77, 673–84.
- Rojık, P., 2004. New stratigraphic subdivision of the Tertiary in the Sokolov Basin in Northwestern Bohemia. *Journal of the Czech Geological Society* 49, 173–185.
- Selmants, P.C., Hart, S.C., 2010. Phosphorus and soil development: Does the Walker and Syers model apply to semiarid ecosystems? *Ecology* 91, 474–484.

- Šourková, M., Frouz, J., Šantrůčková, H., 2005. Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma* 124, 203–214. doi:10.1016/j.geoderma.2004.05.001
- Stark, H., Nothdurft, A., Block, J., Bauhus, J., 2015. Forest restoration with *Betula* ssp. and *Populus* ssp. nurse crops increases productivity and soil fertility. *Forest Ecology and Management* 339, 57–70. doi:10.1016/j.foreco.2014.12.003
- Stefan, A., Van Cauwenberghe, J., Rosu, C.M., Stedel, C., Labrou, N.E., Flemetakis, E., Efrose, R.C., 2018. Genetic diversity and structure of *Rhizobium leguminosarum* populations associated with clover plants are influenced by local environmental variables. *Systematic and Applied Microbiology* 41, 251–259. doi:10.1016/j.syapm.2018.01.007
- Suding, K.N., Gross, K.L., Houseman, G.R., 2004. Alternative states and positive feedbacks in restoration ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 46–53. doi:10.1016/j.tree.2003.10.005
- Sun, D., Müllerová, V., Ardestani, M.M., Frouz, J., 2019. Nitrogen fertilization and its legacy have inconsistent and often negative effect on plant growth in undeveloped post mining soils. *Soil and Tillage Research* 195. doi:10.1016/j.still.2019.104380
- Tesnerová, C., Zadinová, R., Píkl, M., Zemek, F., Kadochová, Š., Matějčík, L., Mihaljevič, M., Frouz, J., 2017. Predicting the toxicity of post-mining substrates, a case study based on laboratory tests, substrate chemistry, geographic information systems and remote sensing. *Ecological Engineering* 100, 56–62. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.12.014
- Thomas, B.D., Bowman, W.D., 1998. Influence of N₂-fixing *Trifolium* on plant species composition and biomass production in alpine tundra. *Oecologia* 115, 26–31. doi:10.1007/s004420050487
- Thompson, L., Harper, J.L., 1988. The Effect of Grasses on the Quality of Transmitted Radiation and Its Influence on the Growth of White Clover *Trifolium repens*. *Oekologia* 75, 343–347.
- Turkington, R., Harper, J.L., 1979. The Growth, Distribution and Neighbour Relationships of *Trifolium Repens* in a Permanent Pasture: II. Inter- and Intra-Specific Contact. *Journal of Ecology* 67, 219–230.
- van der Maarel, E., 2005. *Vegetation Ecology*. Blackwell Science Ltd.
- Van der Putten, W.H., Bardgett, R.D., Bever, J.D., Bezemer, T.M., Casper, B.B., Fukami, T., Kardol, P., Klironomos, J.N., Kulmatiski, A., Schweitzer, J.A., Suding, K.N., Van de Voorde, T.F.J., Wardle, D.A., 2013. Plant-soil feedbacks: The past, the present and future challenges. *Journal of Ecology* 101, 265–276. doi:10.1111/1365-2745.12054
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19, 703–707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Veblen, T.T., 1993. Regeneration dynamics, in: *Plant Succession: Theory and Prediction*. Springer Netherlands, pp. 152–187. doi:10.2307/2261684
- Verschoor, B.C., De Goede, R.G.M., Brussaard, L., 2002. Do plant parasitic nematodes have differential effects on the productivity of a fast- and a slow-growing grass species? *Plant and Soil* 243, 81–90. doi:10.1023/A:1019913417792
- Vicena, J., 2014. Vliv kvality opadu na dekompozici. Univerzita Karlova.
- Vitousek, P.M., Farrington, H., 1997. Nutrient limitation and soil development: experimental test of a biogeochemical theory. *Biogeochemistry* 37, 63–75. doi:10.1023/A:1005757218475

- Vitousek, P.M., Field, C.B., 1999. Ecosystem constraints to symbiotic nitrogen fixers: A simple model and its implications. *Biogeochemistry* 46, 179–202. doi:10.1007/BF01007579
- Vitousek, P.M., Howarth, R.W., 1991. Nitrogen Limitation on Land and in the Sea : How Can It Occur ? *Springer* 13, 87–115.
- Wang, B., Qiu, Y.L., 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16, 299–363. doi:10.1007/s00572-005-0033-6
- Watanabe, F.S., Olsen, S.R., 1965. Test of an Ascorbic Acid Method for Determining Phosphorus in Water and NaHCO₃ Extracts from Soil. *Soil Science Society of America Journal* 29, 677. doi:10.2136/sssaj1965.03615995002900060025x
- Wolfson, J.L., 1987. Impact of Rhizobium nodules on *Sitona hispidulus*, the clover root curculio. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 43, 237–243. doi:10.1111/j.1570-7458.1987.tb02215.x
- Zedníková, P., 2019. Růst vikvovitých rostlin během primární sukcese na výsypkách po těžbě uhlí. Univerzita Karlova.