

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí



a

Botanický ústav AV ČR

**Nepůvodní druhy rostlin a biotická rezistence kolonizovaných
společenstev**

Diplomová práce

(Alien species of plants and biotic resistance of invaded communities)

Vypracovala: Bc. Michaela Kubátová

Vedoucí práce: Mgr. Petr Dostál, PhD.

Interní konzultant: Doc. Ing. Mgr. Jan Frouz, CSc.

Praha srpen 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval/a samostatně s využitím uvedené literatury a informací, na něž odkazuji. Svoluji k jejímu zapůjčení s tím, že veškeré (i přijaté) informace budou řádně citovány. Rovněž prohlašuji, že předložená diplomová práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

Podepsána.....v Praze dne.....

Poděkování

Děkuji svému školiteli Petrovi Dostálovi za jeho čas a ochotu při řešení problémů na této práci. Také děkuji svým rodičům, manželovi a celé rodině za jejich podporu a lásku.

Také děkuji Grantové agentuře AV ČR, z jejíž prostředků juniorského badatelského grantového projektu č. KJB600050713: *Jsou zavlečené druhy v novém areálu zvýhodněny díky absenci nepřátel? Terénní srovnání s domácími příbuznými druhy* bylo zajištěno financování pokusu.

Abstrakt

Nepůvodní druhy rostlin a biotická rezistence kolonizovaných společenstev

Tato diplomová práce se zabývá problematikou nepůvodních rostlin a jejich vztahu k původním společenstvům. Ekologové si stále více uvědomují, že půdní organismy mohou mít vliv na rostlinná společenstva, protože jsou součástí procesů, které je ovlivňují. U nepůvodních druhů půdní organismy mohou ovlivnit úspěšnost invaze. Každý druh rostlin se liší v interakce s půdními organismy, tyto interakce mohou způsobit specifické zpětné vazby, které pak ovlivňují budoucí růst dalších rostlin. Podle Darwinovy naturalizační hypotézy by příbuzné druhy měli mít podobné nepřátele. To předpokládá menší úspěšnost invaze u nepůvodních rostlin příbuzných s domácími.

Praktická část se skládá ze dvou pokusů, kde jsem v kontrolovaných podmínkách zkoumala pomocí zpětné vazby význam příbuznosti původních rostlin a jejich půdních organismů na růst tří druhů nepůvodních rostlin *Impatiens parviflora*, *Stenactis annua* a *Epilobium ciliatum*.

Byly použity vzorky půdy z lokalit s příbuzným a nepříbuzným druhem, tato půda byla použita jako inokulum pro pěstování první generace rostlin, kde byly původní příbuzné, nepříbuzné i nepůvodní rostliny. V druhé fázi se pěstovaly již jen nepůvodní druhy. Část vzorků půdy byla v obou pokusech upravena sterilizací, v druhém pokusu navíc rozdělena na frakce s odlišnou půdní biotou. Jednotlivé nepůvodní rostliny byly stimulovány jak samy sebou, tak domácími druhy, které s nimi rostou společně na stanovištích.

Nenašla jsem žádný vliv příbuznosti původních druhů na růst nepůvodních druhů, nepodařilo se tedy prokázat Darwinovu naturalizační hypotézu.

Výsledky naznačují, že rozdíly v úspěchu invaze mohou alespoň u některých druhů být ovlivněné druhově specifickými interakcemi mezi půdní biotou a rostlinou.

Klíčová slova: biologické invaze, nepůvodní druhy rostlin, biotické interakce, rezistence společenstev, zpětná vazba mezi rostlinami a půdní biotou

Abstract

Alien species of plants and biotic resistance of invaded communities

This study is about problems and questions of alien plants and their relation to native communities in their new range.

Ecologists are increasingly aware that soil organisms may affect plant communities because they are part of the processes that affect them.

The soil organisms may affect the success of alien species invasion.

Each species of plants differ in interaction with soil organisms, these interactions can result in specific feedback that will influence the future growth of other plants.

According to Darwin's naturalization hypothesis related species should have similar enemies. This implies less successful invasion of alien plants at home with relatives.

The practical part consists of two experiments. Using plant-soil feedback I studied under controlled conditions the importance of kinship of native plants and their soil organisms on the growth of three species of alien plants *Impatiens*, *Parviflora*, *Stenactis annua* and *Epilobium ciliatum*.

There were used soil samples from localities with related and unrelated species; the soil was used as inoculums for growing first-generation plants, where there were original related, unrelated and alien plants.

In the second phase only alien species were grown. Part of the soil samples was sterilized in both experiments, in the second experiment also split into fractions with different soil biota.

Individual alien plants were stimulated both by themselves and native species that grow together with them on the sites.

I found no effect of relatedness of native species on the growth of alien species, thus failed to prove Darwin's naturalization hypothesis.

The results suggest that differences in invasion success at least in some species can be affected by species-specific interactions between soil biota and plant.

Keywords: biological invasions, alien plant species, invasive plant, biotic interactions, community resistance, plant - soil feedback

Obsah

1. Úvod.....	7
1.1. Problematika nepůvodních a invazních rostlin.....	8
1.2. Biotická rezistence kolonizovaných společenstev.....	9
1.3 Biotické interakce invazních druhů s původním ekosystéme.....	11
1.3.1. Půdní interakce.....	12
1.4. Zpětná vazba mezi rostlinami a půdní biotou.....	16
1.5 Cíle práce.....	19
2. Metodika.....	20
2.1. Charakteristika nepůvodních rostlin použitých v pokusech.....	21
2.2. Charakteristika původních rostlin použitých v pokusech.....	23
2.3. Soil Feedback experiment 2008.....	25
2.3.1. Průběh pokusu.....	25
2.3.2. Statistika.....	28
2.4. Soil Feedback experiment 2010.....	29
2.4.1. Průběh pokusu	29
2.4.2. Stanovení rozsahu mykorhizní kolonizace kořenů.....	31
2.4.3. Statistika.....	31
3. Výsledky.....	33
3.1. Výsledky: Soil Feedback 2008.....	33
3.2. Výsledky: Soil Feedback 2010.....	37
3.2.1. Výsledky: <i>Stenactis annua</i>	37
3.2.2. Výsledky: <i>Epilobium ciliatum</i>	40
4. Diskuze.....	44
4.1. Komentáře k výsledkům.....	45
4.1.1. Soil Feedback 2008.....	45
4.1.2. Soil Feedback 2010.....	46
4.1.3 Srovnání výsledků obou pokusů.....	47
4.2. Nedostatky výzkumu.....	48
5. Závěr.....	49
6. Použitá literatura.....	50
7. Přílohy.....	54

I. Úvod

1.1 Problematika nepůvodních a invazních rostlin

Studium nepůvodních a invazních druhů je v posledním desetiletí jedním z nejvíce studovaných oborů současné ekologie, protože invazní druhy mají důsledky ekonomické, společenské a ekosystémové a mohou ovlivňovat i lidské zdraví.

Nepůvodní druh je takový, který se na daném území vyskytuje díky aktivitě člověka (úmyslné i neúmyslné zavlečení), či druh, který se na dané území dostal z areálu, kde byl/je nepůvodní (Richardson et al. 2000). Invazní druhy jsou podskupinou naturalizovaných druhů (druhy, které se na nepůvodním území šíří bez pomoci člověka), které vytváří reprodukce schopné potomky často ve velkých množstvích a ve značné vzdálenosti od mateřských jedinců. Tyto druhy mají vysoký potenciál šířit se na velké území (Richardson et al. 2000).

Biologické invaze jsou jedním z průvodních jevů lidské civilizace a nyní, v době globalizace celého světa se tento problém stává stále více viditelnější. Nové studie ukazují, že boj s invazními druhy nás ročně stojí asi 5 % světového HDP, to je asi 1,4 bilionu USD (Pimentel 2002). V roce 2008 se náklady na boj proti invazivním druhům a na odstraňování jimi způsobených škod po celé EU pohybovaly ve výši 9,6–12,7 miliardy eur. USA na boj proti biologickým vetřelcům vynakládají okolo 80 miliard eur ročně (Anonym, Evropská komise).

Studium šíření nepůvodních druhů je velmi složité, protože se na tomto procesu podílí mnoho různých mechanismů. Naštěstí ne všechny zavlečené druhy se stávají invazními, předpokládá se že jen asi 1 % všech zavlečených druhů se stane invazním druhem (Williamson 1996).

Nepůvodní a zvláště invazní rostliny značně pozměňují ekosystém, často zásadně snižují druhovou diverzitu a jsou dnes považovány za jeden z hlavních činitelů ohrožující biodiverzitu v ekosystémech.

Invazivnost druhu je dána konkrétními vlastnostmi druhu (biologické vlastnosti užitečné pro invazi jsou např. schopnost produkce velkého množství semen, nebo schopnost se dobře vegetativně rozmnožovat, vysoká klíčivost, krátká vegetační doba, vysoká životaschopnost, adaptabilita apod.) a také vlastnostmi prostředí, důležitý je přísun dostatečného množství propagulí z původního areálu.

Mechanická a chemická kontrola je nejčastější způsob obrany proti nepůvodním druhům, ale je velmi drahá a její využití je pouze lokální. Biologická kontrola v tradičním chápání, kdy se ke kontrole exotů využívá specializovaných predátorů nebo patogenů z původního

areálu, je často účinná, avšak problematická ve smyslu budoucího působení nepůvodních škůdců v novém areálu. Dalším, ale méně užívaným mechanismem možné kontroly nepůvodních druhů je biotická rezistence domácích společenstev - z dosavadních poznatků vyplývá, že ne všechna společenstva jsou stejně úspěšně kolonizována. Jedním z vysvětlení je působení různých biotických interakcí, domácích škůdců a patogenů na cizí druhy. Nepůvodní druh přechodem do nové lokality ztrácí svoje interakce s okolím a v nové lokalitě nutně navazuje jiné, navíc v nových abiotických podmínkách.

Tato práce je zaměřená na vzájemné působení rostlin prostřednictvím půdní bioty, tzv. zpětnou vazbu mezi rostlinami a půdní biotou.

1.2. Biotická rezistence kolonizovaných společenstev

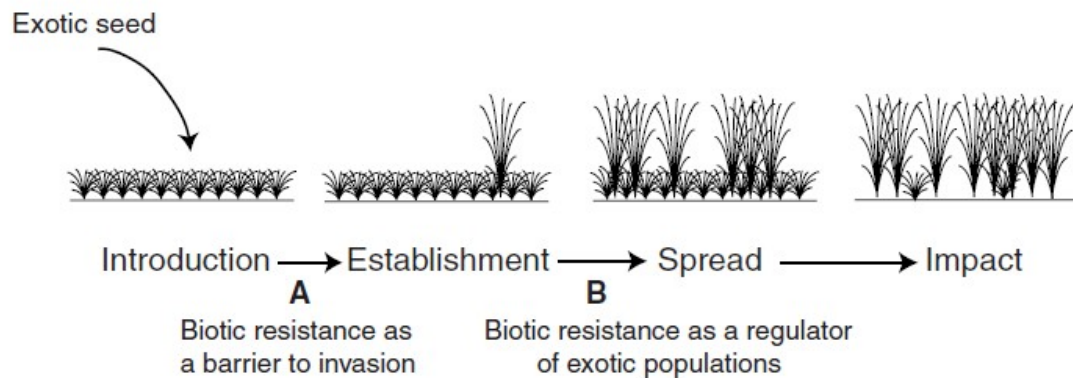
Nepůvodní rostliny v novém areálu interagují s různými druhy ostatních organismů - mutualistů, konkurentů a nepřátel. To jak snadno (nebo složitě) se začleňují do ekosystému můžeme popsat biotickou rezistencí. Domácí organismy ovlivňují nepůvodní druh přímými a nepřímými účinky a různými zpětnými vazbami těchto účinků (Mitchell et al. 2002).

Biotická rezistence je schopnost původních druhů společenstva potlačovat úspěch invazí.. Biotická rezistence působí jako bariéra ovlivňující úspěšnost invaze a ovlivňuje tedy počet zavlečených druhů ve společenstvu. Schopnost společenstva úspěšně se bránit invazi je důležitá pro zachování vlastností původního ekosystému a někdy i biodiverzity. Nepůvodní druh musí nejprve překonat biotickou rezistenci původního společenstva, aby se stal úspěšným.

Účinky biotických interakcí na nepůvodní druhy také závisí na abiotickém prostředí. Tyto podmínky jsou variabilní v prostoru a čase a v stále více ovlivňovány antropogenními procesy a někdy i invazemi samotnými (Mitchell et al. 2002)

Různé ekosystémy jsou různě invazibilní. Invazibilita je náchylnost společenstva k pronikání nepůvodních druhů. Nejnáchylnější jsou obecně ekosystémy poškozené (ovlivněné) člověkem.

Důležitá otázka je, jestli je biotická rezistence schopná zcela zastavit invazi? Co nás zajímá je, jaké interakce s původním společenstvem přispívají nejvíce k biotické rezistenci?



Obr. č. 1 Koncepce invazního procesu, kde biotická resistance nejvíce ovlivňuje postup invaze. A - biotická resistance je bariéra. B - biotická resistance reguluje populaci nepůvodní rostliny.

Zdroj: Levine et al. (2004)

Společenstva odolávají invazi pomocí mnoha procesů a interakcí. Nejdůležitější jsou predátoři, herbivoři, soutěžení o zdroje a nemoci vyvolané nejrůznějšími patogeny.

Rezistence kolonizovaného společenstva může spočívat také v přítomnosti nových, zde původních nepřátel, kteří budou kontrolovat invazi stejně jako nepřátelé v původním areálu.

Rezistentní efekt původního společenstva může být formou kompetice, predace. Nejdůležitějšími složkami společenstva, které ovlivňují úspěch invaze jsou podle závěrů Levine et al. (2004) herbivoři, kompetice, druhová diverzita a mykorrhiza..

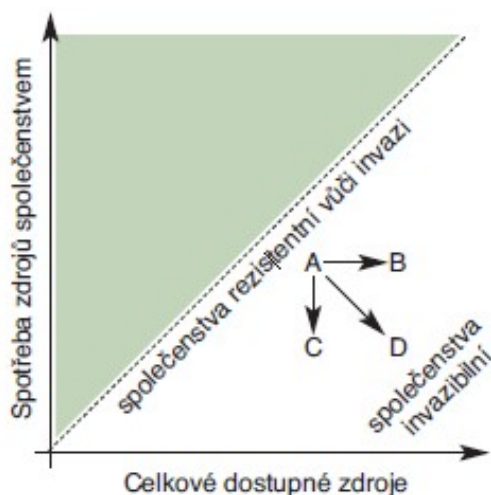
Kompetice (soutěžení o stejné zdroje) je významnou bariérou ovlivňující výsledek invaze a věnuje se jí mnoho studií.

Mutualismus může být limitujícím faktorem, jestliže je nepůvodní druh na svém svazku závislý, neznamena to ale vždy neúspěch invaze. Například, je-li druh závislý na svém opylovači, může se ještě rozmnožovat vegetativně.

Efekt společenstva na nepůvodní druh může být ale i pozitivní, původní druhy mohou podpořit dynamiku nepůvodního druhu třeba tak, že omezují jeho nepřátele. Například nepůvodní skokan volský v Oregonu osidluje vodní plochy, kde žijí nepřátelé jeho nepřátel (Lockwood et al. 2007).

Samozřejmě, že resistance společenstva proti invazi není jen biotická, důležitou roli hrají i abiotické podmínky. Ukázkou může být závislost invazibility společenstva na spotřebě dostupných zdrojů. Závislost ukazuje obr. č. 2.

Společenstva, která spotřebovávají všechny dostupné zdroje jsou resistantní vůči invazi. Společenstva, která nespotebovávají všechny zdroje jsou invazí ohrožené. Čím více je nespotebovaných zdrojů (např. po hnojení, disturbanci), tím více je společenstvo náchylnější.



Obr. č. 2. V zelené části jsou společenstva, které spotřebovávají všechny dostupné zdroje. Resistentní společenstvo (A) se může stát invazibilním pokud se zvýší objem volných zdrojů (B), nebo se sníží využívání zdrojů (C) nebo se zároveň zvýší objem zdrojů a omezí se jejich využívání.

Zdroj: (upraveno podle Davis et al. 2000).

Příklady vlivu nepůvodních druhů na složky původního ekosystému

- Rostliny využívají nadměrně zdroje (voda, světlo), takže se jich nedostává ostatním druhům
- Rostlinné druhy mohou měnit prostředí a zdroje takovou mírou, že to vede k výměně druhů a tím změně sukcesního vývoje (Tilman 1988).
- Rostliny naopak obohacují ekosystém o limitní zdroje a jiné látky. Rostliny vázající dusík do půdy dodávají nadbytečný dusík, zvyšují primární produkci a mění druhové složení rostlin (Walker 1993).

- Nepůvodní rostliny mohou měnit složení půdního mikrobiálního společenstva (Klironomos 2002), což může mít za následek kvalitativní změnu půdy a tím usnadnění dalších introdukcí nových druhů.
- Některé druhy mohou podporovat vznik požárů (*Bromus tectorum*), (Pyšek 2005), nebo naopak jejich tlumení (*Mimosa pigra*).
- k dalším patří zpevňování sedimentů, hromadění opadu (*Pinus Strobus*), (Pyšek et al. 2004) a stabilizace dun.
- *Eucalyptus* vysušuje půdu (Pyšek 2005).
- Některé druhy zvyšují erozi (*Impatiens grandulifera*).
- U řady druhů se kombinuje několik ekosystémových důsledků.

1.3. Biotické interakce

Interakce mezi jedinci téhož druhu i jednotlivých druhů mezi sebou v ekosystému jsou základními kameny jeho stavby.

Interakce mohou být pro invazní druh negativní nebo pozitivní. Pozitivní interakce napomáhají druhu se úspěšně infiltrovat do ekosystému, případně vytlačit původní rostliny (nebo živočišné druhy) a rozmnožit se na jejich úkor. Negativní interakce naopak potlačují rozvoj invazního druhu a kontrolují tak jeho invazi. Mezi negativní interakce patří přítomnost patogenů, plísní a jiných původců nemocí, konzumentů a dalších nepřátel. Mezi pozitivní interakce patří mykorrhizními houbami, půdní biotou, s vhodnými opylovači atd. Podle toho jaký typ interakcí bude na určitém stanovišti převládat lze usuzovat na úspěšnost invaze.

Interakce nepůvodních rostlin s okolím jsou ovlivněné abiotickými podmínkami v novém areálu. Tyto podmínky nejsou jen variabilní v čase a prostoru, ale jsou ovlivňovány i antropogenními procesy a někdy i invazemi samotnými.

Na úspěch nepůvodního druhu může mít závažný vliv přítomnost původního příbuzného druhu. Podle Darwinovy naturalizační hypotézy konkurence mezi blízkce příbuznými druhy stejného rodu je intenzivnější než mezi nepříbuznými druhy. Je pravděpodobné, že příbuzné druhy využívají stejné zdroje živin a tím si konkurují. Předpokládá, že příbuzné druhy mají v různých částech světa relativně podobné škůdce, kteří se snadno přeorientují na podobný druh a negativně tak ovlivňují nepůvodní druh již od počátku, např. míra herbivorie působící na nepůvodní druhy může být v přítomnosti domácích druhů vyšší.

Nepůvodní druh může (ale také nemusí) narušovat interakce v původním společenstvu. Jestliže zkoumáme vliv zavlečených druhů na interakce s ostatními druhy v prostředí, můžeme rozlišovat impakt v několika úrovních: na úrovni jednotlivce, genetický impakt, změny populační dynamiky, vliv na společenstva a změny ekosystému (Pergl 2008).

Pojem biotické interakce je možné nahradit známějším slovem symbióza. Přehled symbiotických vztahů ukazuje tabulka č. 1.

Tab. č. 1 Typy vztahů mezi populacemi

Typ vztahu	Vliv na druh	Charakter vzájemných vztahů
Konkurence	- -	Populace se vzájemně omezují
Neutralismus	0 0	Populace se neovlivňují
Protokooperace	+ +	Vztah je prospěšný pro obě strany, není ale nutný
Mutualismus	+ +	Vztah je prospěšný a nutný
Parazitismus	+ -	Parazit využívá hostitele
Komezálismus	+ 0	První populace využívá druhou populaci, která z toho nemá užitek, ale není poškozena
Amenzálismus	0 -	První populace není ovlivněna a nemá žádný užitek, druhá je poškozena.

Zdroj: Volně podle internet 1.

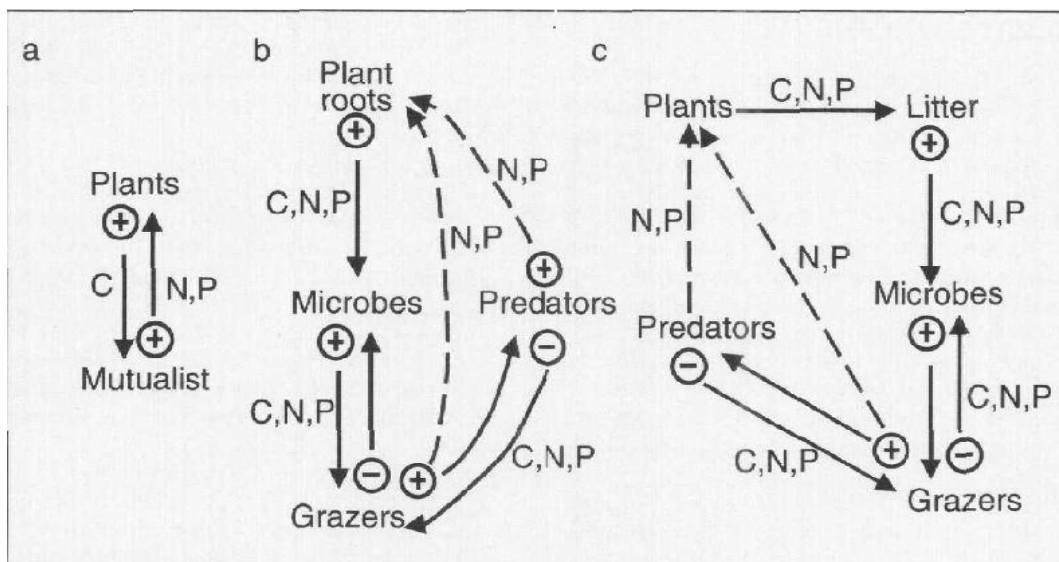
1.3.1. Půdní interakce

Půdní společenství hraje zásadní roli v ekosystému, má vliv na biogeochemické procesy v půdě, přímý vliv na růst rostlin a na strukturu půdy (Wall et al. 2005).

Kořeny rostliny přijímají většinu potřebných živin a vodu, kořenový bal a jeho nejbližší okolí tvoří rhizosféru. Rhizosféra má odlišné složení od ostatní půdy, což umožňuje život specifických druhů půdních organismů. Interakce mezi kořeny a okolním půdním prostředím a přítomnost (pozitivních) nebo nepřítomnost (negativních) některých půdních organismů také ovlivňuje úspěšnost invaze. Příklady symbiotických a nesymbiotických půdních vztahů ukazuje obrázek č. 3.

1 cm³ půdy obsahuje asi 2000 různých druhů. Na biotické osídlení půdy mají vliv její abiotické vlastnosti, jako jsou její nehomogenost, minerální složení, chemické vlastnosti, půdní vlhkost a vzduch apod. Půdní organismy nazýváme edafon, ten můžeme rozdělit na fytoedafon (bakterie, houby, řasy, mikromycety, aktinomycety) a zooedafon (červi, prvoci, měkkýši, savci), nebo podle velikosti na makroedafon (např. krtek), mezoedafon (0,2 mm až 80 mm, členovci, měkkýši) a mikroedafon (pod 0,2 mm, bakterie, prvoci, sinice, aktinomycety...).

Půda obsahuje humus a další organické látky (polysacharidy, peptidy a jejich nízkomolekulární složky, organické kyseliny), které ovlivňují půdní biotu. Půda také obsahuje mnoho látek vylučovaných rostlinami, které také mohou ovlivňovat růst jiných druhů rostlin. Například kořeny ořešáku černého (*Juglans nigra*) vylučují toxické látky omezující růst ostatních druhů (internet 3).



Obr. č. 3. Příklady symbiotických a nesymbiotických půdních mutualistických vztahů.
 a) mutualistické symbiózy zahrnující mykorhizu, aktinomycety (*Frankia*) a *N*-fixátory.
 b) nesymbiotické interakce kontrolující dostupnost výživy.
 c) ostatní nesymbiotické interakce společenstva, které kontrolují rozklad a dostupnost výživy.
 Zdroj: Wall H. Diana, Moore C. John (1999)

Studium půdních patogenů a jejich vliv na nepůvodní rostlinu je obtížné studovat, protože vliv patogenů je také ovlivněn abiotickými faktory, interakcemi společenstva a vyžaduje také nejlépe porovnání vlivu patogenů v původním areálu invazivní rostliny (Reinhart et al. 2006).

Hodně studií (Klikomoros 2002, Callaway et al. 2004)) se věnuje zpětné vazbě mezi rostlinami a půdní biotou, tzv. *plant - soil feedback*. Praktické experimenty s půdní biotou mají ale své limity, například dovoz mikrobů, speciálně patogenů je etický problém, protože není známo co by to mohlo způsobit (Reinhart et al. 2006). Studie (Belnap et al. 2005) předpokládají že nepůvodní rostliny mění půdní biotické osídlení, strukturu půdy i dostupné živiny.

V kontextu k experimentům jsem vybrala dvě skupiny půdní bioty, které zde popíši blíže. S největší pravděpodobností tyto skupiny budou v pokusech mít nejvýznamnější vliv na růst nepůvodních druhů rostlin.

Půdní bakterie

Jednou z významných skupin organismů, které kontrolují populační dynamiku rostlin jsou půdní mikroorganismy. Jsou mezi nimi mikroorganismy s pozitivním efektem (mykorhizní houby), tak i ty s negativním (patogeny). Rozlišujeme několik ekologických skupin těchto bakterií, např. bakterie rozpouštějící nerozpustné soli fosforu a dalších prvků, bakterie stimuluji růst rostlin, bakterie potlačující růst jiných mikroorganismů, rhizosférní bakterie, fixátory molekulárního dusíku a další. Některé půdní bakterie mohou produkovat biologicky aktivní látky, např. rostlinné hormony.

Skupiny půdních bakterií:

- Antagonistické (alelopatické) - svou produkcí chemických látek negativně ovlivňují jiné organismy. Přítomnost původních půdních antagonistů může potlačit růst, plodnost a přežití nepůvodních druhů v původním společenstvu (Klikomoros 2002).
- Rhizosférní bakterie, které mají antagonistické vlastnosti proti patogenům nebo samy produkují látky jinak stimuluji růst rostlin jsou označovány zkratkou PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), typickými zástupci PGPR jsou bakterie rodu *Pseudomonas* (Gryndler et al. 2004)
- Diazotrofní bakterie - tyto bakterie mají schopnost zachycovat molekulární dusík a poutat je do formy přístupné rostlinám. Fixace dusíku jsou také schopné některé sinice (*Nostoc*, *Anabaena*) a i aktinomycety (*Frankia*).

Bakterie vázající dusík jsou přínosné pro všechny druhy rostlin (zvyšují koncentraci dusíku v půdě).

Mykorhizní symbióza

(zdroj: podle mé bakalářské práce)

Mykorhizní symbióza je soužití kořenů vyšších rostlin a hub a je to zřejmě také nejrozšířenější symbióza na světě (asi 70-90% všech rostlin je mykorhizních). Známe několik typů mykorhizní symbiózy - endomykorhizní typy se vyznačují pronikáním houby do vnitřního prostoru buněk rostliny, u ektomykorhizních typů houba neproniká buněčnou stěnou do vnitřního prostoru buněk rostliny.

Nejrozšířenější je mykorhiza arbuskulární (endomykorhiza), kterou má asi 80% všech mykorhizních rostlin, a mají ji také rostliny použité v pokusech této diplomové práce. Arbuskulární houby jsou řazené do řádu *Glomales*.

Arbuskulární mykorhiza je nejméně specifická ze všech druhů mykorhiz, proto může mít mnoho různých hostitelů a snadno se také přizpůsobí novému. To je důležité pro nepůvodní rostliny pro které může být tato symbióza ze začátku dobrým prostředníkem s okolím. Mykorhizní houby stimulují rhizosferní mikroflóru a její enzymatické aktivity, což je významné pro růst, výživu a zdraví rostlin, také dodávají rostlině minerální látky z půdy,

Mykorhizní houby mohou propojovat svojí sítí hyf hostitelské rostliny různých druhů, velikostí i vývojových stádií a tvoří tak rozsáhlou podzemní síť. V přítomnosti mykorhizních hub se také snižuje kompetice (Gryndler et al. 2004). Arbuskulární mykorhiza je tedy důležitý prostředník kompetitivních interakcí mezi původními a nepůvodními rostlinami.

Vznik nové mykorhizy není dosud přesně popsán, zjistilo se že invazivní rostliny mohou nejprve využívat výhody původní vazby mykorhiz s původními druhy, aniž by samy „platily“ za výhody myceliální sítě. Tato forma symbiózy může být sice nestabilní, ale může pomoci invazivnímu druhu se uchytit a posléze vytvořit novou myceliální síť a případně až úplně vyloučit původní druhy. Nové kombinace vztahů mezi invazivními rostlinami a místními mykorhizními houbami mohou také přinášet silnější parazitické nebo mutualistické vztahy a tak napomoci úspěšnosti invaze.

Současné práce (Klironomos 2002, Reinhart et al. 2006, Kulmatiski et al. 2008) naznačují, že mykorhiza může hrát rozhodující roli v úspěchu invaze a početnosti rostlin.

1.4 Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou (plant - soil feedback)

Interakce rostlin s půdou, ve které rostou, jsou ústředním tématem pochopení půdy a ekologie rostlin. Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou popisuje sled událostí a interakcí, kde výsledek procesu ovlivňuje podmínky, které ze začátku spustily proces. Zpětná vazba je definována jako změna, úprava či řízení procesů probíhajících mezi rostlinou a půdou (Ehrenfeld et al. 2005)

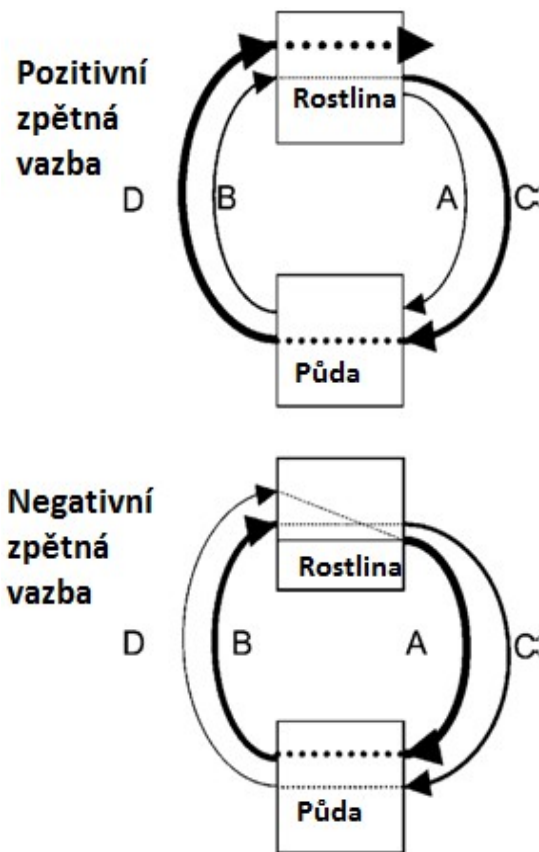
Zpětná vazba mezi rostlinou a půdou zahrnuje procesy chemické, biogeochemické a biotické. Důležité jsou fyzikální vlastnosti půdy a druhová biodiverzita v ní. Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou se projevuje mnohými důkazy o vzájemném působení.

Procesy probíhající v půdě jsou důležitou částí ekologických procesů a také jsou významným prvkem ekologické odpovědi na globální změny životního prostředí (změna klimatu, koncentrace CO₂, a změny v globálním cyklu N,P a vody) (Ehrenfeld et al. 2005).

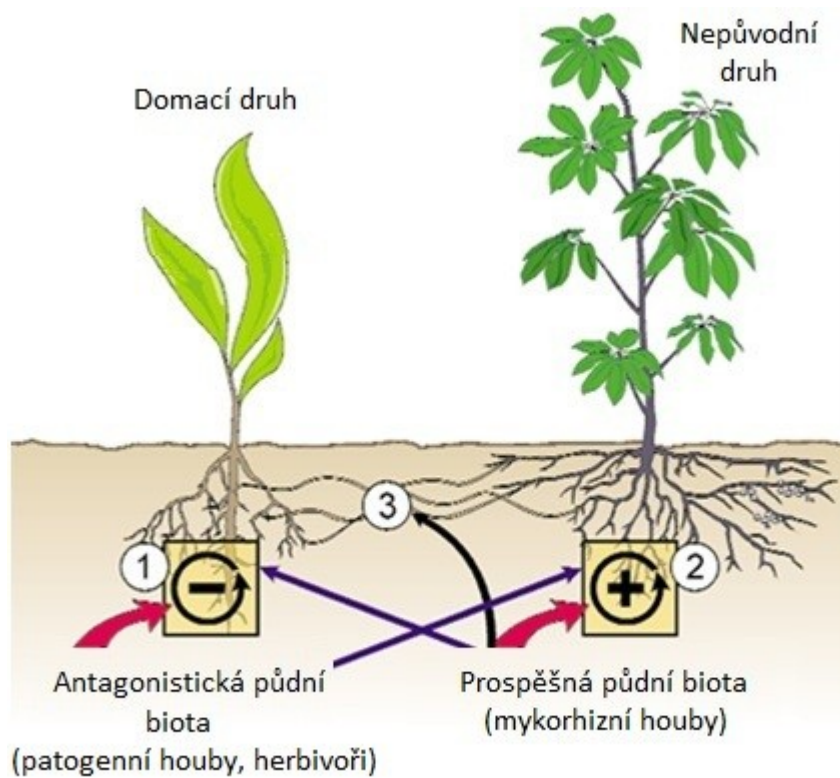
Půdní mikroorganismy mohou mít velký negativní nebo prospěšný vliv na růst rostlin, jejich zdravotní vztah, mykorhizní symbiózy a na řízení nutričního cyklu na kterém rostliny závisí (Callaway et al. 2004). Negativní efekt nastává, jestliže se v rhizosféře hromadí škodlivé patogeny a bakterie. Pozitivní nastává, když je v rhizosféře převaha prospěšných bakterií (př. fixátoři N) a mykorhizních hub. Působením půdní bioty na rostliny a naopak se zabývá mnoho prací (např. Callaway et al. 2004, Reinhart 2006). Názorně to ukazuje obr. č. 5.

Půdní organismy u nepůvodních druhů ovlivňují také soužití s původními druhy a invazní potenciál. Mohou ovlivňovat rostliny přímo, ale často jejich dopad může být upraven jinými rostlinami. Rostliny mohou změnit půdní společenství tak, aby interakce s půdou ovlivnily ostatní jedince. Studie (Callway et al. 2004) naznačují, že domácí druhy musí čelit negativnější stimulaci než nepůvodní druhy a tím jsou tyto druhy ve výhodě. Je to tím, že vztahy mezi patogeny a rostlinami jsou často specifické. Úspěchu může napomáhat také to, že zatímco negativní interakce jsou specifické, pozitivní interakce s mykorhizní houbou (arbuskulární) jsou nesespecifické a proto pro rostlinu dostupné.

Zpětná vazba mezi rostlinami a půdou je nepochybně důležitým fenoménem (Callaway et al. 2004).



Obr. č. 4. **Pozitivní zpětná vazba.** (A) Rostliny působí na půdu a ta působí na ně (B), účinek rostlin na půdu se dále zesiluje (C), a ta také zvyšuje svůj vliv na rostliny (D)
Negativní zpětná vazba. (A) Rostliny působí na půdu a ta působí na ně (B). Efekt rostlin na půdu je dále tlumen (C), která dále zeslabuje svůj vliv na rostliny (D). Když (D) dosáhne určité hranice, vzájemné účinky se mohou vrátit na původní úroveň (A)
 Zdroj: upraveno podle Ehrenfeld et al. (2005)



Obrázek č. 5. Zobrazuje, jak půdní organismy mohou ovlivnit rostliny. Negativní organismy (1) se hromadí v rhizosféře původních rostlin (negativní zpětná vazba). (2) Nepůvodní rostliny získají výhodu mutualismem s prospěšnými organismy. (3) Nepůvodní rostliny mohou také využívat zdrojů z okolních rostlin přes hyfová vlákna.

Zdroj: upraveno podle Wolfe et al. (2005)

1.5. Cíle práce

Moje diplomová práce navazuje na bakalářskou práci, kde jsem shrnula teoretické znalosti o nepůvodních druzích a biotické rezistenci kolonizovaných společenstev a cílem diplomové práce je experimentálně ověřit zda domácí druhy mohou ovlivňovat růst cizích druhů prostřednictvím půdní mikrobioty (*plant-soil feedback*).

Praktická část se sestává ze dvou různých pokusů, které se snaží testovat přímý dopad půdní bioty na vybrané nepůvodní rostliny v závislosti na typu lokality (absence/presence domácích příbuzných), tak i odezvu druhé generace pěstovaných rostlin na stimulaci půdy pomocí první generace rostlin.

Proč se použil domácí příbuzný (kongener) a nepříbuzný (heterogener) druh? Předpokladem je, že půda z lokalit bez a s domácím příbuzným druhem se liší přítomností určitých půdních mikroorganismů. V půdě s domácím příbuzným druhem se mohou vyskytovat specializované mikroorganismy - domácí příbuzný může stimulovat specializované půdní patogeny, které budou působit na cizí druh (domácí nepříbuzný nebude stimulovat tyto specializované patogeny).

Použité domácí rostliny byly zvoleny podle toho, že se na vybraných lokalitách s nepůvodními rostlinami vyskytovaly nejčastěji (Dostál, nepublikováno).

Ve své práci bych chtěla odpovědět na tyto otázky:

- Mohou rostliny ovlivňovat růst dalších rostlin prostřednictvím stimulace půdní bioty?
- Má identita stimulujících rostlin vliv na růst nepůvodních druhů rostlin?
- Má inokulum z míst s příbuznými domácími druhy větší negativní dopad na nepůvodní druh, než inokulum bez těchto druhů? A tím ověřit nebo vyvrátit Darwinovu naturalizační hypotézu
- Je růst nepůvodních druhů více redukován v půdě stimulované heterogeny než kongenery? Může druh a původ inokula vzájemně ovlivňovat růst nepůvodních druhů?
- Liší se různé frakce inokula ve svém vlivu na růst nepůvodních rostlin? Je růst ovlivněn interakcí mezi různými frakcemi a stimulujícími druhy?

2. Metodika

Použité nepůvodní druhy

- 1) *Epilobium ciliatum*
- 2) *Impatiens parviflora*
- 3) *Stenactis annua*

V první fázi pokusů bude půda stimulována těmito domácími druhy (příbuzný a nepříbuzný):

- ad 1) *Epilobium hirsutum*, *Achillea millefolium*
ad 2) *Impatiens noli-tangere*, *Galeopsis speciosa*
ad 3) *Erigeron acris*, *Geum urbanum*

Pro pěstování 1. generace byla použita půda pocházející z lokalit:

- i) kde roste nepůvodní druh sám
- ii) kde se vyskytuje nebo nevyskytuje nepůvodní druh společně s domácím příbuzným .

První pokus, nazvaný Soil Feedback 2008 (podle roku realizace) je obsáhlejší použitím více druhů rostlin a více opakování jednotlivých zkoumaných variant. Druhý pokus, Soil Feedback 2010 je rozsahem menší, jak do počtu užitých druhů (jen *S. annua* a *E. ciliatum*), tak i nižším opakováním jednotlivých variant. Inokulum je ale zde v pěstované druhé generaci rostlin rozděleno na frakce půdní bioty následujícím způsobem:

- a) celé inokulum
- b) jen AMF (mykorhizní houby)
- c) jen patogeny/saprobi
- d) sterilizace (kontrola)

U pokusu Soil Feedback 2010 pro ověření úspěšnosti separace frakcí půdní bioty po sklizni následuje laboratorní analýza výskytu mykorhizní symbiózy.

Pokusy byly realizovány ve skleníku s kontrolovanými podmínkami v Botanickém ústavu AV ČR v Průhonicích.

Výsledky prvního pokusu Soil Feedback 2008 byly již publikovány ve vědeckém článku:

Dostál P., Palečková¹ M. (2011). *Does relatedness of natives used for soil conditioning*

¹ Moje rodné příjmení

influence plant-soil feedback of exotics?, který byl publikován časopisem Biological Invasions.

2.1. Charakteristika nepůvodních rostlin použitých v pokusech

(Zdroj podle www.botany.cz)

1) *Epilobium ciliatum*

čeled': Onagraceae (pupalkovité), česky vrbovka žlaznatá.

Popis: Vytrvalá, 15 až 150 cm vysoká bylina. Lodyha přímá nebo krátce vystoupavá, tupě 4hranná až oblá, se 2 až 4 úzkými křídly sbíhajícími od listů, někdy načervenalá, v dolní části lysá, v horní části nebo jen v květenství kadeřavě pýřitá a s hojnými žláznatými chlupy. Listy vstřícné, všechny velmi krátce řapíkaté, podlouhle až vejčité kopinaté, na okraji pilovitě zubaté, lysé nebo na okraji a na spodní straně na žilkách řídce pýřité, tmavě zelené nebo načervenalé. Květy čtyřčetné, korunní lístky růžové, zřídka téměř bílé, úzce vykrojené. Kvete od července do září.

Stanoviště: Roste na velmi rozmanitých až téměř jakýchkoliv stanovištích a půdách, jako jsou příkopy, břehy, rákosiny, rumiště, paseky, lesní cesty, skládky, zahrady, dvory, paty zdí atd., na půdách mokrých až suchých, jílovitých až štěrkovitých.

Rostlina vzácně dominuje přirozenějším společenstvům. Problémem je hybridizace *E. ciliatum* s původními druhy a zřejmě i plodnost hybridů - ohrožuje genofond původních druhů rodu *Epilobium*. U nás známo deset kříženců *E. ciliatum* (Stýblo 1997).

Rozšíření: Původní je v Severní Americe, kde roste od Aljašky až po jih Mexika. Neofyt - v Evropě se poprvé objevila zřejmě na konci 19. století, ve druhé polovině 20. století se začala na našem území velmi rychle šířit (poprvé popsána v podkrkonoší 1926 (Smejkal 1997)), dnes u nás patří k nejhojnějším zástupcům rodu vrbovka vůbec. Roste velmi hojně od pahorkatin po horské oblasti, v nižších polohách je převážně vzácnější. Kromě Evropy roste druhotně i ve východní Asii, na Havaji, v Austrálii, Tasmánii a na Novém Zélandu.

2) *Impatiens parviflora*

Čeled': *Balsaminaceae* (netýkavkovité), česky netýkavka malokvětá.

Popis: Jednoletá bylina. Lodyha je přímá, v horní polovině větvená, 30-80 cm vysoká. Lodyžní listy jsou střídavé, řapíkaté, vejčité, jemně ostře pilovité. Květy na stopce 3-10, jejich barva je světle žlutozelená, uvnitř s červenou kresbou, kvete od června do září. Plodem je podlouhle kyjovitá tobolka .

Stanoviště: Roste na březích řek a potoků, podél lesních cest, v lesních údolích a v příměstských lesích, objevuje se i na stinných místech v zahradách a parcích. Roste také v blízkosti lidských sídlišť. Vyhledává především stinná a vlhká místa. Půdy vyžaduje bohaté živinami..

Rozšíření: Původní je v oblasti jižní části západní Sibiře, západního Mongolska, přilehlé turánské oblasti a západní části Himálaje. Druhotně se netýkavka malokvětá rozšířila do dalších oblastí Asie, Evropy, severní Afriky a Severní Ameriky. V našich zemích se začala rozšiřovat na konci 19. století. Za původce rozšíření se považují botanické zahrady, zámecké parky a soukromé sbírky. Nyní je netýkavka malokvětá rozšířená na značné části našeho území.

Poznámka: Tento druh netýkavky často vytváří velké porosty rostlin, které utlačují přirozenou bylinnou vegetaci

3) *Stenactis annua*

čeled' Asteraceae (hvězdnicovité), česky turan roční.

Popis: Jednoletá, případně ozimá bylina. Lodyha je přímá, 30-120 cm vysoká, hranatá, v dolní části chlupatá, spodní listy tvoří přízemní růžici. Květní úbory jsou široké 15-20 mm a jsou uspořádány v kružel. Jazykovité květy jsou nejčastěji světle fialové, vzácně i bílé, terč je žlutý. Kvete od června do září.

Stanoviště: Vyhledává rumišťe, úhory, mýtiny, okolí cest a železničních tratí atd. Preferuje živinami bohaté půdy.

Rozšíření: Původní v Severní Americe. Druhotně se rozšířil do Evropy. Dále se rozšířil např. i do Japonska, Číny. U nás je druh zdomácnělý, roste roztroušeně hlavně v nižších a středních polohách.

2.2. Charakteristika původních rostlin použitých v pokusech

1) k *E. ciliatum*

Epilobium hirsutum

čeled': *Onagraceae* (pupalkovité), česky vrbovka chlupatá

Popis: vytrvalá rostlina s přímou lodyhou vysokou někdy až 2 m. Lodyha je často v horní části větvená, hustě oděná žláznatými i nežláznatými chlupy. Listy jsou kopinaté, po obvodě ostře zubaté. Květy růžové, kvete od července do srpna

Stanoviště: na mokřích až zaplavovaných půdách, v příkopech, při březích vod a na ruderalizovaných vlhkých místech.

Rozšíření: Evropa, západní, střední Asie, severní Afrika.

Achillea millefolium

čeled': Asteraceae (hvězdnicovité), česky řebříček obecný

Popis: Vytrvalá bylina s plazivým oddenkem, sotva 30 cm vysokou přímou lodyhou, dolními lodyžními listy přisedlými až krátce řapíkatými. Zákrovní listy jsou zpravidla na okrajích široce černě nebo hnědě lemované, jazykovité květy jsou bílé, často i růžové. Kvete od července do září.

Stanoviště: louky, ruderalizovaná místa.

Rozšíření: Evropa, Severní Amerika, Asie

2) k *I. parviflora*

Impatiens noli-tangere

čeled': *Balsaminaceae* (netýkavkovité), česky netýkavka nedůtklivá

Popis: Jednoletá bylina dorůstající do výšky 30–80 cm. Lodyha je přímá, v horní části větvená. Lodyžní listy jsou střídavé, kvete žlutě. Plodem je tobolka. Kvete v červenci a v srpnu.

Stanoviště: zastíněné břehy řek, lužní lesy, vlhké listnaté, jehličnaté i smíšené lesy, okolí lesních pramenišť a mokřady. Roste na vlhkých, humózních a živinami bohatých půdách

Rozšíření: Cirkumboreální druh

Galeopsis speciosa

čeled': *Lamiaceae* (hluchavkovité), česky konopice sličná

Popis: jednoletá bylina, 60–150 cm vysoká, lodyha přímá, kvete od července do září.

Stanoviště: stinné lesy a křoviny, na březích vodních toků, také jako plevel podél cest, půdy vyhledává vlhké, bohaté na živiny, vyskytuje se v pásmu od pahorkatin až do hor.

Rozšíření: euroasijský druh, zavlečen do Severní Ameriky.

3) k *Stenactis annua*

Erigeron acris

čeled': *Asteraceae* (hvězdnicovité), česky turan ostrý

Popis: Dvouletá až krátce vytrvalá, 10–50 cm vysoká bylina. Lodyha přímá, řídce olistěná, chlupatá. Trubkovité květy žluté. Plodem je nažka. Kvete od června do července

Stanoviště: na loukách a pastvinách, okrajích cest, lomech, skládkách a jiných narušených stanovištích.

Rozšíření: Evropa, zavlečen do Severní Ameriky.

Geum urbanum

čeled': *Rosaceae* (růžovité), česky kuklík městský

Popis: Vytrvalá, 20 až 80 cm vysoká bylina. Lodyha přímá, jednoduchá nebo v horní polovině chudě větvená, krátce a měkce pýřitá. Přizemní listy krátce řapíkaté, lyrovitě zpeřené, se 2 až 8 lístky. Květenství kulovité, květy žluté, nažky se zobánkem, kterým se přichytávají na zvířata a tak šířena.

Stanoviště: Křoviny, okraje lesů, lužní lesy, lesní cesty, parky, staré zahrady, hřbitovy, stinná rumiště, preferuje půdy čerstvě vlhké až vysychavé, výživné, humózní, dusíkaté.

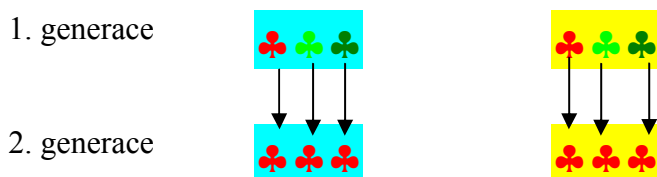
Rozšíření: Evropa

2.3. Soil feedback experiment 2008

2.3.1. Průběh pokusu:

V kultivaci první generace rostlin byly použity jak nepůvodní, tak domácí druhy (příbuzné a nepříbuzné) a také půda z obou typů lokalit (s přítomností a bez přítomnosti domácího příbuzného). V druhé generaci se pěstují pouze nepůvodní druhy.

Schématický náčrt :



♣ cizí druh

♣ domácí příbuzný

♣ domácí nepříbuzný

modře vyznačena půda z lokalit s domácím příbuzným, žlutě půda z lokalit bez domácího příbuzného)

Odběr vzorků půdy

Odběry vzorků půdy byly provedeny v květnu 2008 na lokalitách uvedených v tabulce č. 2. Všechny lokality jsou ve Středočeském kraji, okolo Benešova u Prahy. Polovina vzorků je z lokalit jen s nepůvodním druhem a druhá polovina z lokalit, kde se nepůvodní druh vyskytoval společně s domácím příbuzným (minimální hustota 1 rostlina/m²). Lokality byly vybrány tak, aby se od sebe příliš ekologicky nelišily a mikrobiální společenstvo bylo srovnatelné.

Vzorky byly odebrány na každé lokalitě na 40 místech, podle 5 transektů. Z každého místa byl vzorek cca 5 x 5 x 5 cm, celkový objem asi 5 litrů z každé lokality. Následně se půda v čistém laboratorním prostředí vyčistila, odstranily se kameny a hrubé kořeny, půda byla homogenizována a použita jako inokulum do květináčů. Každý květináč byl naplněn směsí v poměru inokula a sterilizovaného písku 1:6. Květináče měly rozměry 10 x 10 x 10 cm a objem 1 litr.

Tab. č. 2. Lokality, kde se sbírala semena a půdní inokulum

Duh	Lokalita	GPS	Habitat	Přítomnost kongenerů*
<i>Epilobium ciliatum</i>	Jablečno	N49°53', E13°46'	vlhká louka	ANO
<i>Epilobium ciliatum</i>	Pojbuky	N49°30', E14°54'	vlhká louka	ANO
<i>Epilobium ciliatum</i>	Otradovice	N49°39', E14°41'	vlhká louka	ANO
<i>Epilobium ciliatum</i>	Jankovská Lhota	N49°40', E14°43'	vlhká louka	NE
<i>Epilobium ciliatum</i>	Ondřejka	N49°29', E14°56'	vlhká louka	NE
<i>Epilobium ciliatum</i>	Mračl	N49°50', E14°42'	opuštěná orná půda	NE
<i>Impatiens parviflora</i>	Okrouhlice	N49°46', E14°44'	smíšený les	ANO
<i>Impatiens parviflora</i>	Křešice	N49°48', E14°50'	smíšený les	ANO
<i>Impatiens parviflora</i>	Líšno	N49°44', E14°42'	smíšený les	ANO
<i>Impatiens parviflora</i>	Průhonice1	N49°60', E14°34'	smíšený les	NE
<i>Impatiens parviflora</i>	Struhařov	N49°46', E14°48'	smíšený les	NE
<i>Impatiens parviflora</i>	Chvojen	N49°47', E14°39'	smíšený les	NE
<i>Stenactis annua</i>	Sulice	N49°56', E14°33'	opuštěná orná půda	ANO
<i>Stenactis annua</i>	Mračl	N49°50', E14°42'	opuštěná orná půda	ANO
<i>Stenactis annua</i>	Mrač2	N49°50', E14°42'	opuštěná orná půda	ANO
<i>Stenactis annua</i>	Mrač3	N49°50', E14°42'	jednoletý trávník na kamenném podloží	NE
<i>Stenactis annua</i>	Průhonice2	N49°60', E14°34'	opuštěná orná půda	NE
<i>Stenactis annua</i>	Senohraby	N49°53', E14°42'	opuštěný třešnový sad	NE

*Inokula pro 1. generaci se nasbírala na 3 místech, kde se nepůvodní druh vyskytoval sám a 3 místech, kde současně rostly kongenery. Zeleně označené lokality byly použity i v druhém pokusu Soil Feedback 2010.

Pěstování rostlin

Semena (pro oba pokusy) byla získána na lokalitách v roce 2007 a smíchána dohromady. Předpěstované semenáčky se pak sázely do květináčů.

Pěstování 1. generace

Rostliny byly pěstovány od začátku června do začátku srpna 2008 v květináčích.

Aby bylo možné analyzovat vliv původu inokula z různých lokalit, každý nepůvodní druh byl pěstován ve 30 květináčích. 5 květináčů se zeminou z každé lokality a jednou rostlinou v květináči. Stejný počet květináčů byl sterilizován gama zářením (45 kGray), použity v analýze jako referenční květináče. Domácí druhy - heterogenery a kongenery byly také pěstovány každý v 30 květináčích (5 květináčů se zeminou z každé lokality a jednou rostlinou v květináči). Rostliny byly každý týden hnojeny Hoaglandovým živným roztokem o koncentraci 0,25mol/l (viz. příloha č. 1) a pěstovány po 8 týdnů.

Rozsah pokusu: v první části bylo celkem 360 květináčů: 6 lokalit x 3 nepůvodní druhy x 2 domácí druhy x 2 typy inokula x 5 opakování.

Na začátku srpna 2008 byly rostliny a substrát sklizeny. Rostliny byly rozděleny na nadzemní a pozemní část, usušeny při 70 °C do konstantní váhy a poté zváženy. Substrát z první generace pak rozdělen na 2 části. Jedna část pak byla sterilizována gamma zářením (45 kGray), druhá pak ponechána bez ošetření.

Pěstování 2. generace

Substrát z 1. generace (sterilizovaný a nesterilizovaný) pak posloužil jako inokulum pro pěstování 2. generace rostlin (už jen nepůvodní druhy).

Jedinci nepůvodních druhů byly pěstovány v půdě ovlivněném stejným druhem, kongenerem a heterogenerem. Rostliny každého druhu byly pěstovány se sterilizovaným a nesterilizovaným inokulem. Inokulum jsme získali smícháním substrátů z květináčů se stejným původem inokula.

Rozsah pokusu: v druhé fázi: 6 lokalit x 3 stimuluující druhy x 2 typy inokula x 3 nepůvodní druhy x 5 opakování, celkem 540 květináčů.

Opět byly rostliny každý týden hnojeny Hoaglandovým živným roztokem.

Rostliny byly pěstovány po dobu 10 týdnů, od konce srpna do října 2008. Rostliny byly rozděleny na nadzemní a pozemní část, usušeny při 70 °C do konstantní váhy a poté zváženy.

Během druhé experimentální části 11 rostlin *E. ciliatum*, 8 rostlin, *I. parviflora* a 11 rostlin *S. annua* odumřelo a byly vyloučeny z analýzy.

2.3.2. Statistika

Experiment byl zpracován pomocí programu Microsoft Excel a STATISTIKA, pokus byl vyhodnocen mnohorozměrnou analýzou rozptylu (ANOVA), před vlastní analýzou byla data upravena, aby soubor dat dosáhl normálního rozdělení a homogenity.

Analýza dat

Pro obě experimentální fáze se analyzovala celková biomasa exotů jako závislá proměnná. V první fázi experimentu pevné faktory v Anově byly: sterilizace půdy, lokalita a jejich interakce. Identita lokality byla zvolena jako náhodný faktor.

Analýza byla provedena zvlášť pro každý druh a poté pro všechny dohromady. Zde byla totožnost druhů zahrnuta jako další náhodný faktor.

V druhé fázi jsou stejné faktory a taktéž byla provedena analýza pro všechny druhy zvlášť a poté dohromady. V tomto případě pevný faktor stimulující druh/kategorie se vztahuje k jednomu ze tří použitých druhů (příslušný druh, heterogener a kongener). Významné vlivy pevných faktorů byly dále zkoumány post-hoc srovnáním (Student-Newman-Keuls test)

2.4. Soil feedback experiment 2010

2.4.1. Průběh pokusu:

Design pokusu je shodný jako u předchozího. Rozsah pokusu je ale menší, zaměřila jsem se na druhy *Stenactis anua* a *Epilobium ciliatum*, které v předchozím pokusu dosáhly nejlepších výsledků.

Odběr vzorků půdy

Odběry vzorků půdy na inokulum byly provedeny v dubnu 2010 na lokalitách uvedených v tabulce č. 2. Vybrané lokality se shodují s lokalitami použitými na experiment Soil Feedback 2008. Aby byly lokality srovnatelné, jsou vybrány tak, aby byly ekologicky podobné.

Na každé lokalitě byly vzorky odebrány na 40 místech podél 5 transektů. Na každém místě to byl vzorek cca 5 x 5 x 5 cm. Z každé lokality tak bylo odebráno asi 5 litrů.

Následně se vzorky zpracovaly v laboratoři - byly vyčistěny, odstraněny kameny a velké kořeny. Půda byla homogenizována a použita jako inokulum do květináčů.

Každý květináč byl naplněn v poměru inokula a sterilizovaného písku 1: 6. Rozměry květináčů jsou 10 x 10 x 10 cm a objem 1 litr.

Pěstování 1. generace

Rostliny byly pěstovány od začátku května 2010 do konce června (9 týdnů) v květináčích ve skleníku.

Rozsah experimentu: Aby bylo možné analyzovat vliv původu inokula z různých lokalit, každý druh byl pěstován ve 20 květináčích. 5 květináčů se zeminou z každé lokality a jednou rostlinou v květináči.

Přehledně tedy rozsah 1. fáze experimentu: 2 cíloví exoti x 4 lokality x 3 stimulační druhy x 5 opakování = 120 květináčů

Aby se vyloučil vliv podmínek působících v určité části skleníku - množství světla, zálivky - květináče byly znáhodněny tak, aby květináče se stejným ošetřením nebyly vedle sebe.

Rostliny byly každý týden hnojeny Hoaglandovým živným roztokem o koncentraci 0,25 mol/l (viz. příloha č. 1).

Na konci července 2010 byly rostliny a substrát sklizeny. Rostliny byly rozděleny na nadzemní a pozemní část, usušeny při 70 °C do konstantní váhy a poté zváženy.

Pěstování 2. generace

Nejprve se zpracoval substrát získaný z pěstování 1. generace rostlin. Skupiny květináčů 5 stejných opakovaní se smíchaly do jednoho vzorku substrátu (celkem tedy 24 vzorků). Substrát se po dobu čekání na zpracování uchovával v ledničce při stále teplotě 5°C.

Substrát se rozdělil na čtyři části následujícím způsobem:

Jedna část byla ponechána bez ošetření, druhá byla sterilizována gamma zářením (45kGray). Sterilizaci prováděla specializovaná firma.

Dále se inokulum rozdělilo pomocí kovových sít:

a) sítím 20 µm na frakci, kde je předpoklad dominantní přítomnosti patogenů a saprobů - tedy inokulum s negativním dopadem na růst rostlin (materiál se získal z toho co propadlo sítím).

b) sítím 45 µm na frakci, kde je předpoklad dominantní přítomnosti mykorhizních hub a tedy inokulum s pozitivním dopadem na růst rostlin (materiál se získal z toho co zůstalo na sítu).

Nesterilizované i sterilizované inokulum se přidalo do jednotlivých květináčů s novým sterilizovaným pískem. Nepůvodní rostliny byly pěstovány v kohortách v půdě ovlivněné kongenerem, nebo heterogenerem a v jednotlivých druzích inokula.

Rozsah 2. fáze experimentu: 2 cíloví exoti x 4 lokality x 3 stimulující druhy x 4 typy úpravy inokula z 1. fáze x 3opakování = 288květináčů.

Ve skleníku se květináče opět znáhodnily. Rostliny byly také každý týden hnojeny Hoaglandovým živným roztokem (viz. příloha č. 1).

Rostliny byly pěstovány od začátku srpna do začátku října po dobu 10 týdnů. Rostliny se při sklizni opět rozdělily na nadzemní a podzemní část. Nadzemní část byla usušena do konstantní váhy při 70 °C a poté zvážena.

Protože jsem se rozhodla pro doplňkovou analýzu přítomnosti kolonizace mykorhizními houbami, byla manipulace s kořeny složitější.

Jemné kořínky vhodné na laboratorní analýzu se oddělily a mokré zvážily na laboratorních vahách. Poté se kořínky uchovaly v roztoku 10 % KOH (hydroxid draselný) pro pozdější analýzu. Zbytek kořenů se také mokrý zvážil a pak byl usušen při 70 °C do konstantní váhy a posléze zvážen. Celková váha kořenů se pak spočítala pomocí sesýchacího poměru.

2.4.2. Stanovení rozsahu mykorhizní kolonizace kořenů

Použila jsem průsečkovou metodu, která je zřejmě nejrozšířenější systematicky používanou metodou při studiu mykorhizních symbióz (Gryndler 2004).

Postup barvení kořínků pro zjištění přítomnosti mykorhizy:

- 1) Důkladné omytí kořenů od půdy
- 2) Vzorek kořenů se vloží do lahvičky a zalije 10% roztokem KOH. Lahvičky se udržují při teplotě cca 90°C asi 40 – 60 minut (do odbarvení)
- 3) KOH se z kořenů vymyje pod tekoucí vodou
- 4) Kořínky se zalijí 2% kyselinou mléčnou (nebo 2%HCL) a zahřívají na 90 °C po 20 minut.
- 5) Kyselina se vylije ze vzorku a kořeny se zalijí 0,05% roztokem trypanové modři v laktoglycerinu a zahřívají se na 90 °C po dobu cca 30 minut.
- 6) Barva se vymyje pod tekoucí vodou a kořeny v lahvičkách se skladují v laktoglycerinu.

Průsečková metoda (grid-line intersect method)

Tato metoda je založená na sledování průsečíků rozložených kořenových segmentů na Petriho misce s vyznačenou čtvercovou sítí. Zaznamenává se přítomnost a nepřítomnost houbových struktur na kořenech v místě průsečíků. Hodnotí se minimálně 100 průsečíků. Procento kolonizace (%C) se vypočítá takto:

$$\%C = 100 \frac{\sum(+)}{(\sum(+)+\sum(-))}$$

Metoda je omezena použitím malých zvětšení 20 až 100násobného (Gryndler 2004).

Já kořeny pozorovala pod binokulární lupou při 40násobném zvětšení.

2.4.3. Statistika

Experiment byl zpracován pomocí programů Microsoft Excel a statistického programu R (verze 2.13.0), pokus byl vyhodnocen mnohonásobnou analýzou variance (Multi-way ANOVA), před vlastní analýzou byla data upravena, aby soubor dat dosáhl normálního rozdělení a homogenity.

Analýza dat

Naměřené hodnoty váhy biomasy byly přepsány do tabulky programu Microsoft Excel. Následně byla data zkontrolována, jestli někde není chyba, např. špatně umístěná desetinná čárka apod.

Samotná analýza dat byla provedena ve statistickém programu R. Pro obě experimentální fáze se analyzovala celková biomasa, nepůvodních druhů jako závislá proměnná. V druhé fázi faktory byly: stimulující druh, frakce inokula a jejich interakce.

V druhé fázi jsem testovala také samotnou podzemní a nadzemní biomasu. Oba druhy jsem testovala zvlášť.

Stenactis annua - z analýzy byla vyloučena 1 rostlina, která uhynula dříve.

Epilobium ciliatum - z analýzy bylo vyloučeno 12 rostlin, které uhynuly dříve. Další rostliny byly vyloučeny z laboratorní analýzy mykorrhizy, protože neměly dostatečně velký kořenový systém.

Některé rostliny byly během vegetačního období napadeny padlím (řád *Erysiphales*) na listech i stoncích (foto viz. příloha č. 3), tato skutečnost mi přišla zajímavá a proto jsem ji zařadila do zpracování dat, jestli se neobjeví nějaká statistická významnost. Rostlinám jsem odhadla stupeň napadení padlím:

0 - žádné napadení

1 - do 50% napadení

2 - nad 50 % napadení

Rostliny *Stenactis* tímto napadením netrpěly.

3. Výsledky

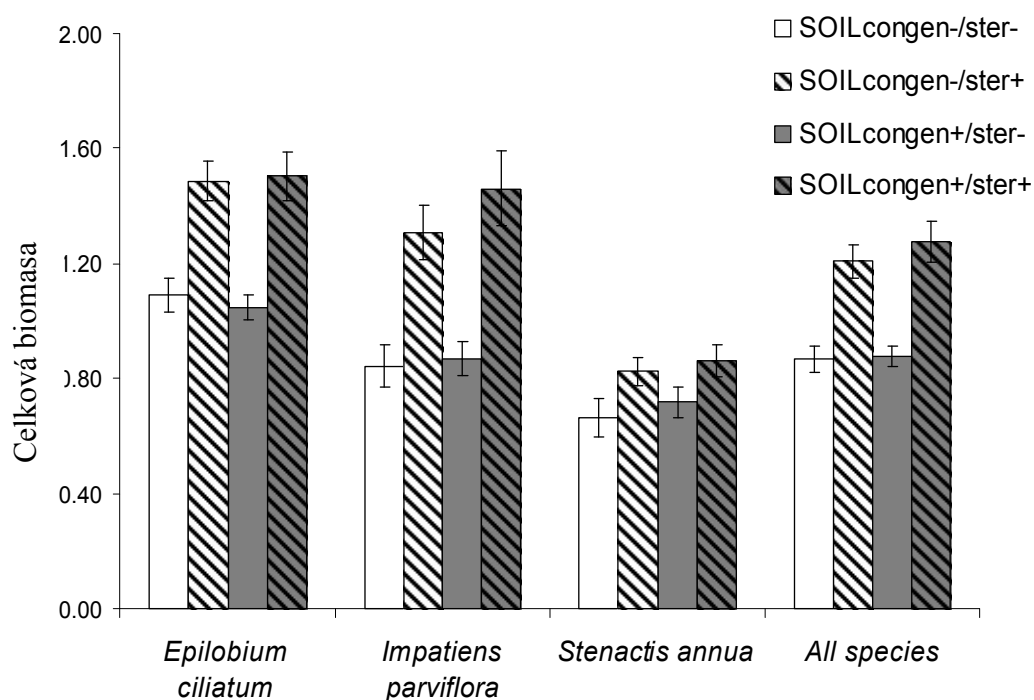
3.1 Výsledky: Soil Feedback 2008

1. generace

Tato generace byla pěstována jako přípravná pro hlavní fázi pokusu. Jako závislá proměnná je zvolena celková biomasa nepůvodních druhů.

V první experimentální části sterilizace půdy výrazně zlepšila růst všech tří druhů. Biomasa rostlin rostoucích ve sterilizované půdě byla u *Epilobium* byla vyšší o 40 %, u *Impatiens* 62 %, u *Stenactis* o 22 %. U všech druhů byl negativní vliv inokula nezávislý na jeho původu, tedy přítomnost nebo nepřítomnost kongenerů neovlivnila růst nepůvodních druhů, ani interakce mezi půdou a sterilizací nebyly signifikantně významné. Množství biomasy je znázorněno v grafu č. 1.

Podrobné výsledky Anovy jsou uvedeny v tabulce č. 3.



Graf. č. 1. Celková biomasa 1. generace rostlin v závislosti na sterilizaci a lokalitě původu půdy. *Legenda: - znamená NE, + znamená ANO (přítomnost kongenera a sterilizace půdy)*

Tab. č. 3., část 1. Výsledky Anovy se smíšenými efekty ukazují vliv sterilizace, původního stanoviště a jejich vzájemné působení na celkovou biomasu v 1. fázi experimentu. Významné závislosti jsou tučně vyznačeny ($p < 0,05$), kurzívou jsou psané méně významné závislosti ($p < 0,10$)

Efekt	<i>Epilobium ciliatum</i>			<i>Impatiens parviflora</i>		
	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota
<i>Pevné faktory</i>						
Sterilizace	1, 52	38.27	<0.001	1, 52	32.28	<0.001
Původ inokula	1, 4	0.09	0.783	1, 4	1.21	0.334
sterilizace x původ inokula	1, 52	0.06	0.801	1, 52	0.11	0.741
<i>Náhodné faktory</i>						
Druh	-			-		
Místo odběru půdy	4, 52	0.46	0.766	4, 52	0.66	0.625
Chyby	52			52		

Tab č. 3., 2. část

Efekt	<i>Stenactis annua</i>			Všechny druhy		
	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota
<i>Pevné faktory</i>						
Sterilizace	1, 52	9.26	0.004	1, 160	68.98	<0.001
Původ inokula	1, 4	0.41	0.555	1, 11.35	1.8	0.321
sterilizace x původ inokula	1, 52	0.25	0.618	1, 160	0.00	0.969
<i>Náhodné faktory</i>						
Druhy	-			2, 15.33	52.11	<0.001
Místo odběru půdy	4, 52	2.33	0.068	14, 160	1.8	0.379
Chyby	52			160		

2. generace rostlin

Ve druhé fázi také sterilizace zlepšila růst všech tří druhů.

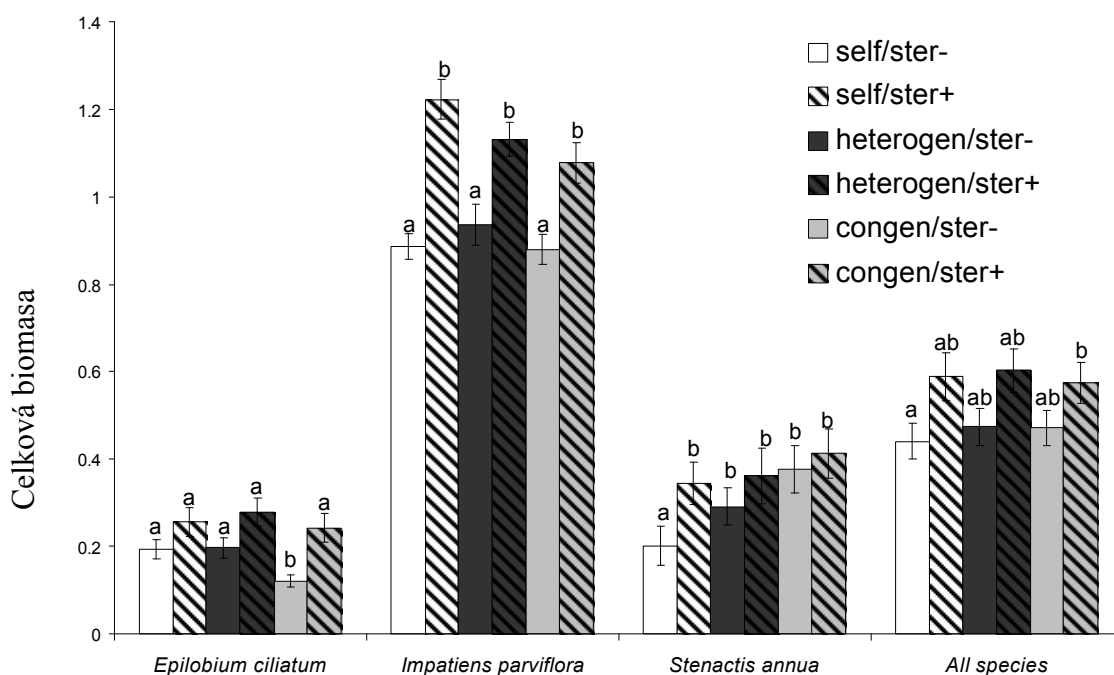
Biomasa rostlin rostoucích ve sterilizované půdě byla u *Epilobia* vyšší o 51 %, u *Impatiens* 27 %, u *Stenactis* o 28 % než u rostlin rostoucí v nesterilizované půdě.

U *Epilobia* a *Stenactis* konečná biomasa závisela na druhu stimulující rostliny. *Stenactis* rostlo nejméně v půdě, kde bylo stimulováno samo sebou. U *Stenactis* byly signifikantně závislé i interakce sterilizace, lokalit odběru půdy a stimulujícího druhu. *Epilobium* bylo nejvíce negativně ovlivňováno v půdě stimulovaným domácím příbuzným druhem. Největší vliv měly patrně změny v mikrobiálním společenství v půdě a nikoliv alelopatie

nebo nutriční změny. To naznačil další post-hoc test, kde identita stimulujícího druhu vyvolala rozdílnou biomasu jen v nesterilizované půdě.

Celková biomasa je znázorněna v grafu č. 2.

Pokud druhy byly analyzovány společně, byla sterilizace byla jediným významným faktorem v testu. Vliv sterilizace a interakce původu půdy byly velmi málo významné (tab. č. 4.).



Graf. č. 2. Celková biomasa 2. generace rostlin závislá na použitém stimulujícím druhu a druhu ošetření půdy. *Legenda: - znamená NE, + znamená ANO (úprava sterilizací)*

Z výsledků lze soudit, že v půdě převažují negativní interakce - patogeny převažují nad pozitivními organismy (např. AMF houbami). Nepůvodní rostliny nevykazují menší negativní zpětnou vazbu v půdě, kde již rostly ve srovnání s půdou stimulovanou jinými druhy.

Výsledky nepodporují Darwinovu naturalizační hypotézu, neprokázal se rozdílný vliv inokula sbíraného na místech s nebo bez příbuzného domácího druhu.

Tab. č 4., část 1. Výsledky smíšené Anovy ukazují vliv sterilizace, stimulujících druhů, původního stanoviště a jejich interakcí na celkovou biomasu v 2. generaci rostlin. Významné závislosti jsou vypsány tučně ($p < 0,05$), kurzívou jsou psané méně významné závislosti ($p < 0,10$)

Efekt	<i>Epilobium ciliatum</i>			<i>Impatiens parviflora</i>		
	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota
<i>Pevné faktory</i>						
Sterilizace	1, 154.77	16.21	<0.001	1, 157.42	33.41	<0.001
Původ inokula	1, 3.99	0.12	0.747	1, 3.85	1.67	0.269
Stimulující druh/kategorie	2, 154.20	3.32	0.039	2, 157.33	0.96	0.386
sterilizace x původ	1, 154.38	0.04	0.843	1, 157.53	0.05	0.820
sterilizace x stimulující druh	2, 155.03	2.40	0.094	2, 157.33	0.63	0.536
stimulující druh x původ	2, 154.23	0.44	0.648	2, 157.74	0.64	0.529
sterilizace x stimulující druh x původ	2, 155.16	0.35	0.704	2, 157.70	1.61	0.203
<i>Náhodné faktory</i>						
Nepůvodní druh	-			-		
ID (stimulující kategorie)	-			-		
Místo odběru půdy	4, 153	5.62	<0.001	4, 156	0.93	0.450
Chyby	153			156		

Tab. č. 4., část 2.

Efekt	<i>Stenactis annua</i>			Všechny druhy		
	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota	stupně volnosti (df, ddf)	F hodnota	P hodnota
<i>Pevné faktory</i>						
Sterilizace	1, 155.42	3.50	0.063	1, 220.84	18.49	<0.001
Původ inokula	1, 3.99	0.26	0.640	1, 13.88	0.31	0.587
Stimulující druh/kategorie	2, 154.41	5.85	0.004	2, 4.03	0.34	0.729
sterilizace x původ	1, 153.84	5.13	0.025	1, 428.90	3.23	0.073
sterilizace x stimulující druh	2, 154.28	4.55	0.012	2, 124.52	1.7	0.347
stimulující druh x původ	2, 154.53	0.93	0.398	2, 96.20	1.33	0.269
sterilizace x stimulující druh x původ	2, 154.39	4.3	0.020	2, 63.48	0.68	0.509
<i>Náhodné faktory</i>						
Nepůvodní druh	-			2, 7.46	33.04	<0.001
ID (stimulující kategorie)	-			4, 486.68	6.1	<0.001
Místo odběru půdy	4, 153	4.27	0.003	14, 478	3.75	<0.001
Chyby	153			478		

3.2. Výsledky: Soil Feedback 2010

1. generace rostlin

Tato generace byla pěstována jako přípravná pro hlavní fázi pokusu. Na rozdíl od předchozího pokusu zde nebyla v 1. fázi pokusu provedena sterilizace ani žádné jiné ošetření půdy. Statistické analýzy jsem provedla jen pro druhou, hlavní fázi pokusu.

2. generace rostlin

3.2.1. Výsledky: *Stenactis annua*

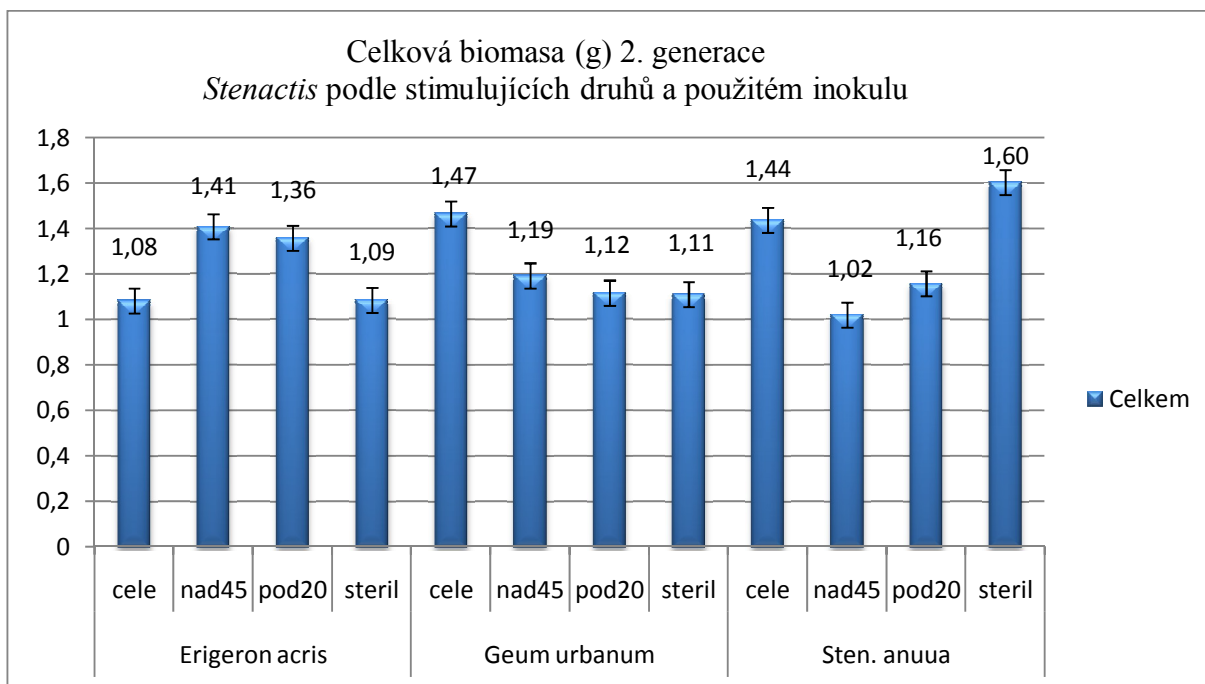
Rozdíly mezi celkovou biomasou rostlin v půdě stimulované různými druhy byly u tohoto druhu malé, jak je vidět z grafu č. 3. *Stenactis* se nejlépe dařilo v půdě, kde se již vyskytoval v předchozí generaci, průměrná váha byla 1,3 g. Růst zde byl o 6 % vyšší než u stimulace příbuznými a nepříbuznými druhy, kde oproti předpokladům byl růst prakticky stejný.

V případě, že se budeme dívat jen na růst v jednotlivých druzích inokula, *Stenactis* se nejvíce dařilo v celém, tedy neošetřeném inokulu, průměrná váha celkové biomasy byla 1,33 g. Ve sterilním inokulu byl růst o 5 % menší, v inokulu pod 20 μ m a nad 45 μ m byl růst shodně o 9 % nižší.

Ale v případě závislosti růstu rostlin jak na použitém stimulujícím druhu, tak zároveň na inokulu, se pořadí těchto skupin liší. Například *S. annua* stimulované *G. urbanum* vykazovalo nejlepší růst popořadě ve frakcích celé, nad 45 μ m, pod 20 μ m a sterilizovaného inokula.

Neprokázala jsem signifikantní vliv inokula ani stimulujícího druhu na celkovou biomasu *Stenactis* (tab. č. 5). Ale jejich interakce jsou signifikantní, což naznačuje že různý druh interaguje s různou složkou půdní bioty a tak ovlivňuje růst nepůvodního druhu.

V případě zvolení jen podzemní biomasy jako závislé proměnné vyšly statistické závislosti stejně (tab. č. 6), v případě nadzemní biomasy nebyla signifikantní závislost ani u interakce inokula a stimulujícího druhu (tab. 7)



Graf.č. 3. Průměrná celková biomasa 2. generace *Stenactis* v závislosti na stimulačním druhu a použitém inokulu. Chybové úsečky ukazují střední chybu průměru.

Tab. č. 5. Výsledky Anovy: Závislost celkové biomasy *Stenactis annua* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	0,335	3	0,39660	0,75564
Stimulační druh	0,184	2	0,3269	0,72173
Inokulum:Stimulační druh	4,251	6	2,51380	0,02461*
Reziduální	36,920	131		

Tab. č. 6. Výsledky Anovy: Závislost podzemní biomasy *Stenactis* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

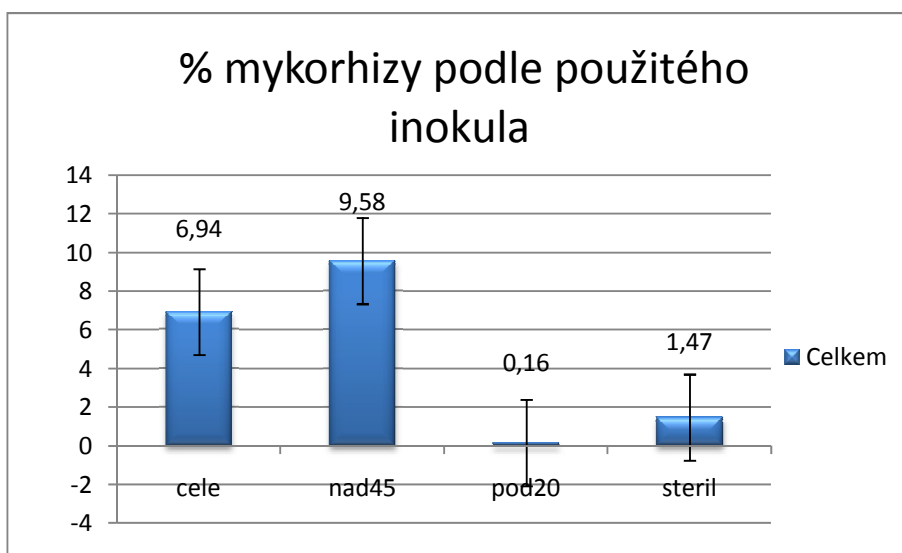
Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	0,0633	3	0,3562	0,784739
Stimulační druh	0,0399	2	0,3370	0,714491
Inokulum:Stimulační druh	1,3732	6	3,8666	0,001384**
Reziduální	7,7542	131		

Tab. č. 7. Výsledky Anovy: Závislost nadzemní biomasy *Stenactis* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	0,1135	3	0,3906	0,7599
Stimulační druh	0,0748	2	0,3861	0,6805
Inokulum:Stimulační druh	0,8215	6	1,4133	0,2142
Reziduální	12,6898	131		

Pro ověření úspěšnosti separace frakcí půdní bioty jsem zvolila laboratorní analýzu přítomnosti mykorhizy. Graf č. 4 ukazuje, že se separace podařila.

Nejvíce mykorhizních hub (dále AMF) obsahovala půda s inokulem nad 45 μm - 9,6% v půdě s celým inokulem jich bylo o 28% méně. V půdě s inokulem pod 20 μm jich bylo zanedbatelné množství, malé procento kolonizace AMF ve sterilním inokulu vysvětluje tím, že do půdy mohly proniknout AMF z okolního prostředí. Statistická analýza potvrzuje, že mykorhiza závisí na použitém inokulu. Není ale signifikantně závislá na použitém stimulačním druhu (tab. č. 8).



Graf. č. 4. Průměrné % přítomnosti mykorhizy ve vzorku kořenů *Stenactis annua*. Je vidět, že se nám podařilo vcelku úspěšně separovat tuto skupinu půdní bioty. Chybové úsečky ukazují střední chybu průměru.

Tab. č. 8. Výsledky Anovy: Závislost výskytu mykorhizy u *Stenactis* na použitém inokulu a stimulujícím druhu.

Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	2137,7	3	7,6628	9,298e-05***
Stimulující druh	195,5	2	1,0513	0,3524
Inokulum:Stimulující druh	392,9	6	0,7042	0,6467
Reziduální	12181,5	131		

3.2.2. Výsledky: *Epilobium ciliatum*

U tohoto druhu byl průměrný růst více ovlivněn použitým stimulujícím druhem (graf č. 5). *E. ciliatum* rostlo nejlépe v půdě stimulované svým domácím příbuzným druhem *E. hirsutum*, celková průměrná biomasa byla 0,43 g. V půdě stimulované *A. millefolium* byl růst o 20 % nižší a v případě kdy *E. ciliatum* bylo stimulováno samo sebou byl růst nižší dokonce o 60 %.

V případě, že se budeme dívat jen na růst v jednotlivých druzích inokula, *E. ciliatum* se nejvíce dařilo ve sterilním inokulu, průměrná váha celkové biomasy byla 0,47 g. V půdě s inokulem pod 20 µm byl růst menší o 40 %, u celého inokula o 47 %, a v inokulu nad 45 µm o 53 %. Druhý nejlepší růst v inokulu pod 20 µm je zde poněkud překvapivý.

V případě, že zároveň srovnáme efekt stimulujícího druhu a použitého inokula, sterilizace u *E. ciliatum* vždy nejvíc podpořila růst. U ostatních typů inokula pořadí kolísá. Například *E. ciliatum* stimulované *E. hirsutum* vykazuje nejlepší růst popořadě v půdě se sterilizovaným, celým, pod 20 µm a nad 45 µm inokulem.

Na rozdíl od *S. annua* byl zde prokázán signifikantní efekt inokula i stimulujícího druhu na celkovou biomasu (tab. č. 9). Interakce inokula a stimulujícího druhu nebyla prokázána jako signifikantní.

V případě zvolení podzemní biomasy jako závislé proměnné vyšly p - hodnoty stimulujícího druhu a inokula ještě více signifikantní (tab. č. 10).

V případě nadzemní biomasy jako závislé proměnné, byla signifikantní závislost jen u faktoru stimulující druh (tab. č. 11).

Tab. č. 9. Výsledky Anovy: Závislost celkové biomasy *Epilobium* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

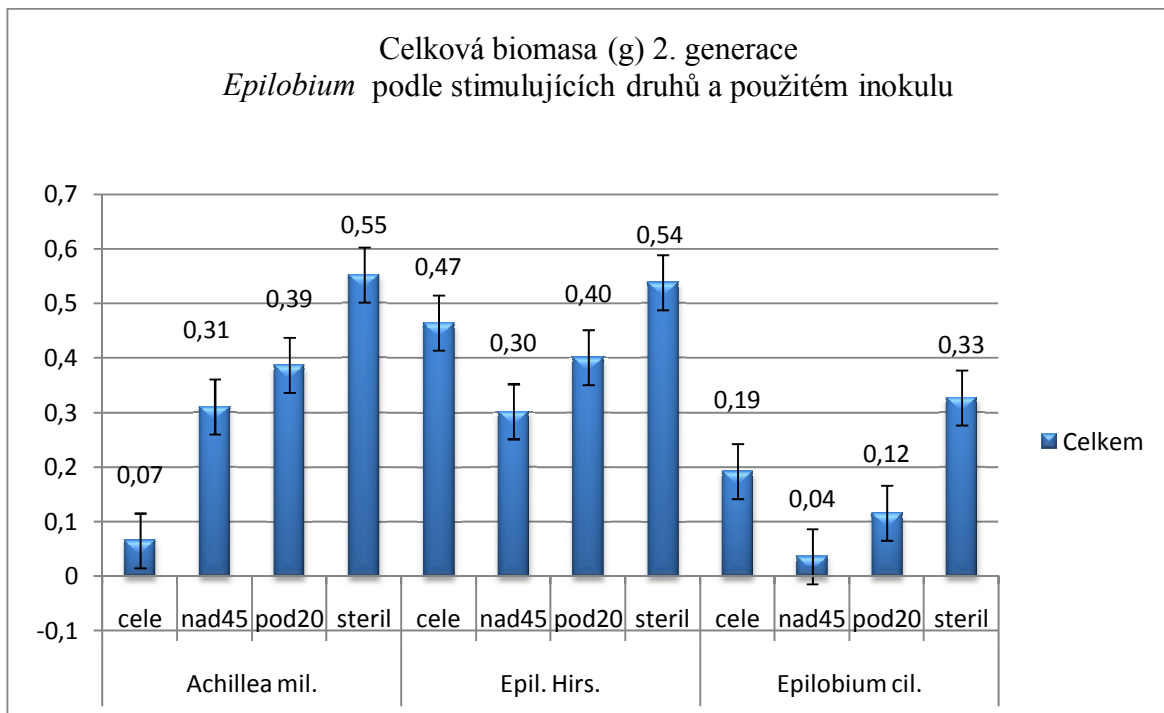
Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	21,903	3	3,3283	0,02195*
Stimulační druh	20,536	2	4,6808	0,01101*
Inokulum:Stimulační druh	19,303	6	1,4660	0,19530
Reziduální	265,433	121		

Tab. č. 10. Výsledky Anovy: Závislost podzemní biomasy *Epilobium* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	24,835	3	4,1623	0,007619**
Stimulační druh	20,130	2	5,0605	0,007751**
Inokulum:Stimulační druh	9,985	6	0,8367	0,543851
Reziduální	240,662	121		

Tab. č. 11. Výsledky Anovy: Závislost nadzemní biomasy *Epilobium* v 2. generaci na použitém inokulu a stimulačním druhu.

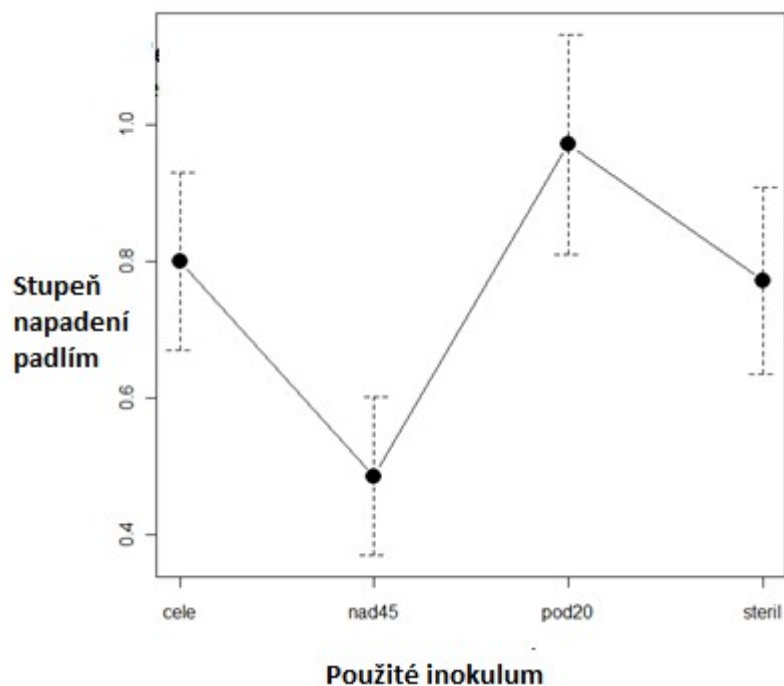
Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	16,160	3	2,4691	0,06524.
Stimulační druh	20,731	2	4,7513	0,01032*
Inokulum:Stimulační druh	11,883	6	0,9078	0,49176
Reziduální	263,979	121		



Graf. č. 5. Celková biomasa (g) 2. generace *Epilobium* podle stimulujících druhů a použitém inokulu. Chybové úsečky ukazují střední chybu průměru.

Bohužel analýza přítomnosti mykorrhizy u *Epilobium* nešla provést pro nedostatek dat. Jen velice málo rostlin mělo dostatečný kořenový systém pro tuto analýzu. Ale na základě zkušenosti se *S. annua* si myslím, že se tu také podařilo půdní biotu separovat.

Rostliny *E. ciliatum* napadlo padlí, které závisí na použitém inokulu, jak ukazuje graf č. 6. Největší napadení padlím je u rostlin v půdě s frakci pod 20 μm , naopak nejnižší u rostlin v půdě s frakci nad 45 μm . Průměrný stupeň napadení u inokula pod 20 μm byl 0,97 a u inokula nad 45 μm 0,47, tedy rozdíl 52%! Sterilní a celkové inokulum vykazují velmi podobné napadení (stupeň 0,77 a 0,8). Různé inokulum tedy mělo vliv na stupeň nadzemního napadení padlím. Výsledky Anovy (tab. č. 12) potvrzují, že inokulum mělo signifikantní vliv na napadení nadzemní části rostliny padlím, a že tedy podzemní biomasa může mít vliv i na fitness nadzemní části rostliny.



Graf. č. 6. Závislost výskytu padlí na použitém inokulu. Stupeň napadení 0 znamená žádné napadení, stupeň 1 do 50 % napadení, stupeň 2, nad 50 % napadení.

Chybové úsečky ukazují střední chybu průměru.

Tab č. 12. Výsledky Anovy: Závislost podzemní biomasy na stupni napadení padlím a použitém inokulu.

Efekt	Součet čtverců	Stupně volnosti (Df)	F hodnota	P hodnota
Inokulum	24,717	3	3,9138	0,01044*
Padlí	4,933	2	1,1717	0,31334
Inokulum:Padlí	11,124	6	0,8807	0,51133
Reziduální	254,720	121		

4. Diskuze

Zpětná vazba mezi rostlinami a půdní biotou se obecně obtížně zkoumá. Postup využití dvou generací rostlin v jednom experimentu popularizoval James Bever et al. (1997). Tento způsob zkoumání není zaměřen na konkrétní složku společenství, výzkum využívá interakcí mezi půdní biotou a rostlinami. Vazba mezi rostlinami a půdní biotou může být důležitým mechanismem pro soužití a regulaci rostlin.

Je důležité si uvědomit, že původní druhy mohou ovlivnit půdní společenství prostřednictvím stejných mechanismů, ale účinky na jednotlivé nepůvodní druhy se mohou lišit (Wolfe et al. 2005).

Také je nutné zvážit nejen to, jak nepůvodní rostliny ovlivňují půdní organismy, ale také to jak struktura a funkce půdního společenství ovlivňuje nepůvodní rostliny. (Wolfe et al. 2005).

Existuje mnoho přímých a nepřímých mechanismů jak zpětná vazba mezi rostlinami a půdní biotou ovlivňuje nepůvodní rostliny (Reinhart et al. 2006). Hlavní mechanismus, kterým půdní biota ovlivňuje nepůvodní druhy je přes přímý vliv (negativní nebo pozitivní) specifických půdních organismů, čehož využívám v pokusech této práce. Známý příklad toho jak půdní biota může ovlivňovat invazi, je symbióza borovice *Pinus* s ektomykorhizními houbami. Na jižní polokouli se donedávna tyto symbiotické houby nevyskytovaly, ale po zavlečení těchto hub byly borovice najednou schopné invadovat do mnoha rostlinných společenstev (Smith et al. 1997). Tato práce byla založena na přímém pozorování v terénu, jiné práce (Klironomos et al. 2002) zkoumaly jak konkrétní část půdní bioty, jako jsou AMF houby a půdní patogeny mohou mít vliv na růst a invazi nepůvodních rostlin. K těmto pracím se řadí i tato práce. Bylo prokázáno, že jednotlivé složky půdní bioty mají rozdílný vliv na růst, plodnost a biotické interakce nepůvodních druhů (Callaway et al. 2004). Doposud všechny studie porovávající sílu negativní zpětné vazby ukázaly silnější negativní zpětnou vazbu pro domácí druhy (Klironomos 2002, Callaway et al. 2004)

Je také důležité brát v úvahu, že důležitost půdních organismů na invazi může záviset na stupni invazního procesu, ve kterém se uplatňují (Wolfe et al. 2005). Zatím není jasné v jaké fázi invazního procesu jsou nejvíce důležité.

4.1. Komentáře k výsledkům

4.1.1. Soil Feedback 2008

Očekávali jsme² v souladu s Darwinovou naturalizační hypotézou, že nepůvodní druhy porostou nejhůře v půdě z lokalit s domácími příbuznými, které byli použity k jejich stimulaci. Zjistili jsme, že nepůvodní druhy rostly hůře v nesterilizované půdě bez specifikace jejího původu nebo stimulujícího druhu. Menší růst v půdě z lokalit s příbuznými druhy, které byly také použity ke stimulaci však nebyl prokázán.

Při samotné sterilizaci se do půdy může vyplavit množství živin a to může způsobit nárůst biomasy. Toto se ale kompenzovalo pravidelným hnojením Hoaglandovým roztokem všech květináčů, takže se domníváme, že v půdě převažují organismy s negativním efektem, toto potvrzují i jiné studie (Argawal et al. 2003, Callaway 2004).

V první experimentální fázi neprokázal původ inokula vliv na růst nepůvodních druhů. U 2. generace rostlin se také neprokázal větší negativní vliv půdy s kongenery než s ostatními stimulujícími druhy. Jedno z vysvětlení je, že experimentální design ovlivnil tuto závislost. Opakovaly se vždy jen 3 stejné lokality v rámci jednoho druhu. Tento problém, ale šel zmírnit sloučením dat, čím se počet stejných lokalit zvýšil na devět. Větším problémem byl nízký počet opakování pro každý stimulující druh. To může být nedostatečné množství k prokázání naturalizační hypotézy.

Kromě tohoto vysvětlení, ale existují i jiné vysvětlující nedostatky vlivu původu půdy. V první experimentální fázi mohlo dojít k tomu že specializované patogeny (u kongenerů) měly příliš malou početnost, aby ovlivnily růst rostlin. Na rozdíl od Callaway et al. 2004, kteří získali mikroby přímo z rhizosféry jsme vzorky půdy brali na lokalitách bez ohledu na polohu kongenerů. Toto použili také Mackay a Kotanen (2008), což mohlo způsobit tento problém.

V druhé experimentální fázi se efekt původu inokula a sterilizace objevil okrajově u *Stenactis annua*. Předpokládáme tedy, že v této fázi byla již abundance mikrobů vyšší. To souhlasí se závěry Mackay a Kotanen (2008), kteří tvrdí, že dopad inokula se v průběhu několika generací druhu *Ambrosia artemisifolia* zvyšuje. Zajímavý je vliv původu půdy na růst *S. annua*, který je v rozporu s tím co jsme očekávali; *Stenactis* lépe rostlo v půdě z lokalit s přítomností kongenerů, než v půdě z lokalit s heterogeny.

² U tohoto pokusu budu používat množné číslo 1. osoby, protože jsme se s mým školitelem podíleli společně na jeho hodnocení. U druhého pokusu jsem vše hodnotila sama, proto zde budu používat jednotné číslo.

Naturalizační hypotéza předpokládá že příbuzný druh bude mít podobné nepřátele, které inhibují růst nepůvodního druhu. Ale také naopak mohou být hostiteli specializovaných symbiontů s pozitivním dopadem na nepůvodní druh (např. opylovačů, Brown et al. 2002). Identita stimulujících druhů neměla vliv na celkové analýze, ale jsou průkazné rozdíly v růstu dvou nepůvodních druhů (*Stenactis*, *Epilobium*) v závislosti na identitě druhů stimulujících půdní bioty. Kongener *E. acer* (kongener) zlepšil růst *S. annua*, Naopak *E. ciliatum* bylo nejvíce inhibováno *E. hirsutum* (kongener).

I. parviflora naopak byla jen velmi málo ovlivněna identitou stimulujících druhů, tak i původem půdy z lokalit. To se zdá být jedním z vysvětlení jejího velkého rozšíření v Evropě.

Také vyšlo, že nepůvodní rostliny neukazují méně negativní zpětnou vazbu, při růstu v půdě stimulované samy sebou ve srovnání s půdou stimulované jinými druhy. To odporuje výsledkům Klironomos (2002), nebo Callaway et al. (2004), kteří vysvětlili lepší růst rostlin v půdě, kde již v minulosti byly, přítomností generalistů. Naše výsledky ukazují, že i když nepůvodní druh opustí některé patogeny v původním areálu, mohou se setkat s novými, které nejsou pravděpodobně specializovaní. Výsledky tohoto experimentu nepodporují předpoklady naturalizační hypotézy.

4.1.2. Soil Feedback 2010

Vzorky půdy se opět získaly stejným způsobem, i přes jisté pochyby, jako u předcházejícího pokusu, V 2. generaci rostlin bylo inokulum rozděleno na stejné frakce, které Klironomos (2002) uvedl ve svém článku. Použité rozměry sít vycházejí z předpokládané rozdílné velikosti půdní bioty s pozitivním a negativním účinkem. Jak ukázala analýza přítomnosti mykorhizy rozdělení půdní bioty bylo úspěšné (alespoň u myhorhizních hub).

Identita stimulujících druhů u *Stenactis* vykazovala jen malé rozdíly v množství biomasy. Nejlépe tento druh rostl v půdě stimulované sám sebou, což se liší od výsledků v předchozím pokusu, kde jeho růst nejvíce podpořil kongener.

Ale vliv stimulujícího druhu a inokula se u tohoto druhu neprokázal jako statisticky významný, jejich interakce ovšem ano. Naopak *Epilobium* bylo signifikantně ovlivněno inokulem i stimulujícím druhem, nikoli jejich interakcemi. Naznačuje to, že *Epilobium* je citlivější na tyto jednotlivé vlivy než *S. annua*. V případě, že se jako závislou proměnná zvolila pouze podzemní biomasa byly tyto vlivy ještě o řád významnější. Ani u jednoho druhu se nepotvrdil předpoklad Darwinovy naturalizační hypotézy, že rostliny budou

nejvíce inhibovány v půdě stimulované příbuznými druhy, *E. ciliatum* dokonce v této půdě rostlo nejlépe. Rozdíly mezi výsledky *Stenactis* a *Epilobium* potvrzují, že druhy reagují na stejné podmínky různě a jsou ovlivněny jinými interakcemi.

U *E. ciliatum* nejvíce podpořila růst sterilizace, stejně jako u předcházejícího pokusu. U *Stenactis* tomu tentokrát tak nebylo, nejlépe se mu dařilo v celém inokulu.

Předpokládala jsem, že rostliny budou mít v nesterilizované půdě nejmenší biomasu v půdě s inokulem pod 20 μm , to se ale nepotvrdilo, jedním z možných vysvětlení je, že vliv jednotlivých druhů půdních organismů nemusí přesně odrážet interakce vyskytující se v přírodě (Reinhart et al. 2006). Nenaplnil se ani předpoklad nejlepšího růstu v inokulu nad 45 μm , může to být tím, že množství AMF hub může být stimulováno v přirozeném společenstvu rhizosférními bakteriemi (Gryndler et al. 2004), které tu nebyly přítomny.

Výskyt padlí u rostlin *E. ciliatum* byl opravdu podmíněn použitým inokulem, rostliny rostoucí v inokulu nad 45 μm vykazovaly o 52 % nižší napadení než rostliny rostoucí v inokulu pod 20 μm , což naznačuje, že půdní organismy dokáží ovlivnit i nadzemní fitness rostliny i jinak než jen potlačením růstu. Jedním z vysvětlení je, že mykorrhizní houby jsou schopny potlačovat napadení patogeny. Výsledky Klironomos (2002) ukazují, že půdní organismy a jejich zpětná vazba může výrazně ovlivnit relativní výskyt druhu ve společenství.

I výsledky tohoto experimentu nepodporují předpoklady naturalizační hypotézy.

4.1.3. Srovnání výsledků obou pokusů

Rozdíly ve výsledcích se dají vysvětlit neovlivnitelnými sezónními venkovními faktory, jakou jsou rozdíly v průběhu teploty, množství slunečního světla v době vegetace rostlin. Tyto faktory bohužel, v podmínkách těchto pokusů nelze odfiltrovat. Invazní proces je, ale ovlivněn mnoha faktory v čase a načasování invaze může celý její průběh pozměnit. A proto průběh pokusů v reálných podmínkách (ne například v řízených klimaboxech) odráží skutečné bariéry se kterými se nepůvodní rostlina ve společenstvu může setkat.

Vzorky půdy z lokalit byly sbírány pro každý pokus zvlášť, tedy s rozdílem 2 let, je možné, že mikrobiální složení půdy bylo odlišné a to se také mohlo podepsat na rozdílnosti výsledků pokusů.

Jak už bylo několikrát zmíněno invazní proces je velmi nepředvídatelný a závisí na mnoha faktorech, které jsou závislé v čase a prostoru.

4.2. Nedostatky výzkumu

Velké rozdíly mezi druhy, malý počet zkoumaných druhů a omezený počet opakování, neumožňují dělat rozhodné závěry o úloze příbuznosti nepůvodních druhů a zpětné vazby.

Přesto rozdíly mezi druhy mohou vysvětlovat rozdílnou úroveň úspěšnosti jejich invaze.

Při rozdělení půdní bioty u pokusu Soil Feedback 2010 také existují nejistoty ohledně správného rozdělení inokula do frakcí, ale z hlediska finančního a časového nebylo možné provést speciální analýzy. Jednoduchá analýza přítomnosti mykorhizy ale ukázala, že rozdělení bylo úspěšné (alespoň v případě oddělení mykorhizních hub).

5. Závěr

V důsledku antropogenních aktivit je i nadále spousta přírodních společenstev ohrožována biologickými invazemi. Studie prokázaly, že půdní organismy hrají důležitou roli v invazi nepůvodních druhů. Půdní biota reaguje rozdílně na každý nepůvodní druh. V důsledku stupně nynějších znalostí nejde zobecnit interakce mezi půdní biotou a nepůvodními rostlinami (Wolfe et al. 2005). Je užitečné pochopit účinky specifických půdních organismů, ale znalost role celého půdního společenstva je ještě užitečnější pro pochopení celého průběhu invazního procesu.

Pochopení ekosystému je nezbytné pro úspěšnou správu a obnovu přirozených společenstev. Současné studie ukazují, že vliv půdního společenstva je velký, dá se říct, že ovlivňuje celé ekosystémy.

Potenciál experimentů zkoumající zpětnou vazbu mezi rostlinami a půdní biotou je velký. Je zde možnost zkoumání od molekulární signalizace rostlin a jejich mutualismu ke globálnímu měřítku změny klimatu. Existuje mnoho důkazů o vzájemném působení rostlin na půdu a opačně. (Ehrenfeld et al. 2005). V poslední době významně stoupá počet prací zabývajících se vazbou mezi rostlinami a půdní biotou.

V současné době, ale ještě není práce, která by komplexně zkoumala vliv půdní bioty na nepůvodní rostliny ve všech fázích invazního procesu. Jen několik málo druhů v různých ekosystémech bylo takto podrobně zkoumáno. Jednou z priorit dalšího výzkumu by proto mělo být zkoumání dalších nepůvodních rostlin ve více různých společenstev. Je možné, že interakce s půdní biotou jsou důležité jen pro některé druhy rostlin. A je důležité pochopit jaké vlastnosti druhů rostlin, ekosystému přispívají k rozdílnosti významnosti těchto vlivů. (Wolfe et al. 2005)

Pochopení mechanismu zodpovědného za početnost organismů, může vést k novým přístupům k řízení ekosystému, zejména v případech ochrany vzácných a ohrožených druhů a ochrany ekosystému před invazemi nepůvodních druhů

Vazba mezi rostlinami a půdní biotou je důležitý mechanismus soužití a zachování biodiverzity v ekosystémech, je to také pravděpodobný mechanismus vysvětlující úspěch a neúspěch mnoho druhů nepůvodních rostlin.

Další výzkum by se měl ubírat směrem zkoumání vazby mezi rostlinami a půdní biotou v přirozenějším prostředí (Kulmatiski et al. 2008).

6. Použitá literatura

Agrawal, A.A. & Kotanen, P.M. (2003). Herbivores and the success of exotic plants: a phylogenetically controlled experiment. *Ecol. Lett.*, 6, 712–715.

Belnap J., Phillips L. S., Sherrod S., Moldenke A., (2005) Soil biota can change after exotic plant invasion: Does this affect ecosystem process? *Ecology* 86(11) pp 3007-3017

Bever D. J., Westover M. K., Antonovics J. (1997) Incorporating the Soil Community into Plant Population Dynamics: The Utility of the Feedback Approach. *Journal of Ecology*, Vol 85, No. 5, 561-573

Blaney, C.S. & Kotanen, P.M. (2001b). Effects of fungal pathogens on seeds of native and exotic plants: a test using congeneric pairs. *J. Appl. Ecol.*, 38, 1104–1113.

Bonanomi G., Giannino F., Mazzoleni S. (2005). Negative plant soil feedback and species coexistence. *Oikos* 111: 311–321

Callaway, R. M., Thelen G. C., Rodriguez, A. & Holben W. E. (2004). Soil biota and exotic plant invasion. *Nature* 427:731–733.

Cappuccino N., Carpenter D. (2005). Invasive exotic plants suffer less herbivory than non-invasive exotic plants. *Biol. Lett.* 1, 435-438

Carpenter, D., & Cappuccino, N. (2005). Herbivory, time since introduction and the invasiveness of exotic plants. *J. Ecol.* 95:315–321.

Chytrý Milan, Pyšek Petr. Kam se šíří zavlečené rostliny? *Živa* 1/2009 str. 11-14, *Živa* 2/2009, str. 60-63

Colautti, R. I., Ricciardi, A., Grigorovich, I. A. & MacIsaac, H. J. (2004). Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecol. Lett.* 7:721–733.

Davis, M. A., Grime, J. P. & Thompson, K. (2000). Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *J. Ecol.* 88:528–534.

Dostál, P. & Palečková M. (2011). Does relatedness of natives used for soil conditioning influence plant-soil feedback of exotics? *Biological Invasions* 13, 331-340.

Ehrenfeld J., Ravit B., Elgersma K. (2005). Feedback in the plant soil system. *Environ. Resour.* 30:75–115

Gryndler Milan a kolektiv (2004). Mykorhizní symbióza, o soužití hub s kořeny rostlin. Academia

Hierro L. J., Maron L. J., Callaway R. M. (2005). A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology*, 93, 5- 15.

- Hokkanen, H.M.T. & Pimentel, D. (1989). New associations in biological control: theory and practice. *Can. Entomol.*, 121, 829–840.
- Keane, R. M., & Crawley, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol. Evol.* 17:164–170.
- Klironomos, J. N. (2002). Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 417:67–70.
- Kulmatiski A., Heard H. K., Stevens R. J., Cobbold M. S. (2008). Plant-soil feedbacks: a meta-analytical review. *Ecology Letters* (2008) 11: 980–992
- Levine, J. M., P. B. Adler, and S. G. Yelenik. (2004). A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters* 7: 975-989
- Lockwood L. Julie, M. F. Hoopes, M. P. Marchetti. (2007). *Invasion Ecology*, Blackwell Publishing
- MacArthur R. H. & Wilson E. O. (1967). *The theory of island biogeography*. – Princeton University Press, Princeton.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M. & Bazzaz, F.A. (2000). Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.*, 10, 689–710.
- MacKay J, Kotanen PM (2008) Local escape of an invasive plant, common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.), from above-ground and below-ground enemies in its native area. *J Ecol* 96:1152–1161
- Mitchell Ch. E. et al. (2006). Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters* 9: 726–740
- Mlíkovský J., Stýblo P. (2006): *Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky*, ČSOP, Praha
- Nadel, H., Frank, J.H. & Knight, R.J. (1992). Escapees and accomplices – the naturalization of exotic *Ficus* and their associated faunas in Florida. *Fla Entomol.*, 75, 29–38.
- Nijer S, Rogers E. W. and Sieman E. (2007). Negative plant-soil feedbacks may limit persistence of an invasive tree due to rapid accumulation of soil pathogens. *Proc. R. Soc. B* 274, 2621-2627
- Palečková M. (2009). *Nepůvodní druhy rostlin a biotická rezistence kolonizovaných společenstev*. Bakalářská práce (Ústav pro životní prostředí, UK Praha)
- Pergl J. (2008). Co víme o vlivu zavlečených rostlinných druhů? *Zprávy české bot. společnosti*. 23: 183-192
- Perrings Ch., Williamson M., Dalmazzone S. (2000). *The Economics of Biological Invasions*. Edward Elgar Publishing.

Pimentel, D. (2002). *Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species*. CRC, Boca Raton, Florida.

Pyšek P. (2005). Rostlinné invaze. Materiály k přednášce, Katedra ekologie PřF UK Praha, zimní semestr 2005/2006

Pyšek P. Chytrý M: Dvanáct let výzkumu rostlinných invazí v české republice a ve světě. *Zprávy čes. bot. společ.*, Praha, 43, Mater. 23: 3–15, 2008

Pyšek Petr & Sádlo Jiří. (2004). Zelení cizinci a nové krajiny, *Vesmír* 83:80-85

Pyšek, P., Sádlo, J. & Mandák B. (2002). Catalogue of alien plants of the Czech Republic. *Preslia* 74: 97-186

Rahbek C. (1995): The elevational gradient of species richness: a uniform pattern? *Ecography* 18: 200–205.

Reinhart O. K., Callaway M. R. (2006). Soil biota and invasive plant. *New Phytologist* 170: 445–457

Rejmánek M. (1996). What attributes make some plant species more invasive? *Ecology*, Vol 77, No. 6, 1655 – 1661.

Rejmánek, M. (1999). Invasive plant species and invulnerable ecosystems. In: *Invasive Species and Biodiversity Management* (eds Sandlund, O.D., Schei, P.J. & Viken, A.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 79–102.

Richardson, D. M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D. & West, C. J. (2000). Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers. Distrib.* 6: 93–107.

Richardson, D.M., Allsopp, N., D'Antonio, C.M., Milton, S.J. & Rejmánek, M. (2000). Plant invasions — the role of mutualisms. *Biological Reviews*, 75, 65–93. Scientific, Oxford, UK

Shea Katriona, Chesson Peter (2002): Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* Vol. 17 No. 4

Smejkal M.(1997). *Epilobium* L., vrbovka,.In: Slavík B., Chrtěk J., Tomšovic P. (eds.): *Květena České Republiky*. 5: 99-132. Praha: Academia

Smith SE, Read DJ. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. San Diego: Academic Press.

Somereit N., Rogers E. W., Siemann E. (2007). Negative plant–soil feedbacks may limit persistence of an invasive tree due to rapid accumulation of soil pathogens. *Proc. R. Soc. B* (2007) 274, 2621–2627

Strauss Y. S., Webb O. C., Salamin N. (2006). Exotic taxa less related to native species are more invasive. PNAS, vol. 103, 5841-5845

Tilman D(1988). Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities. Princeton University Press

Vačkář David (editor). (2005). Ukazatele změn biodiverzity, Academia

Walker, L. R. (1993): Nitrogen fixers and species replacements in primary succession. 249-272 in J. Miles and D.W. H. Walton, editors. Primary succession on land. Blackwell

Wall H. Diana, Moore C. John. (1999). Interactions Underground, Soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. Bioscience 1999: 49, 2; Academic Research Library pg. 109

Williamson M., Fitter A. (1996). The Varying Success of Invaders. Ecology, Vol 77, No. 6, 1661-1666

Wolfe E. B., Klironomos N. J. (2005). Breaking New Ground: Soil Communities and Exotic Plant Invasion. Bioscience 477-487.

Wolfe, L. M. (2002). Why alien invaders succeed: support for the escape-from-enemy hypothesis. Am. Natur. 160: 705–711.

Internetové zdroje:

internet 1: http://ec.europa.eu/environment/pubs/pdf/factsheets/Invasive%20Alien%20Species/Invasive_AlienS_C.pdf 1.7.2011

Internet 2 : <http://cs.wikipedia.org/wiki/Symbi%C3%B3za>, 1.8.2011

internet 3: http://cs.wikipedia.org/wiki/Trnovn%C3%ADk_ak%C3%A1t 1.8.2011

internet 4: http://en.wikipedia.org/wiki/Hoagland_solution 27.7.2011

www.botany.cz

<http://www.centaurea.cz>

<http://www.europe-aliens.org/index.jsp>

<http://www.gisp.org/>

www.vesmir.cz

www.wikipedie.com

www.wikipedie.cz

7. Přílohy:

Příloha č. 1.

Hoaglandův živný roztok

Hoaglandův živný roztok je jedním z nejoblíbenějších používaných hnojiv pro rostliny (přínejmenším ve vědeckém světě). Je vhodný pro pěstování mnoha druhů rostlin.

Hoagland a Snyder tento roztok vyvinuli již v roce 1933, od té doby se složení roztoku mírně upravilo (internet 4).

V pokusech jsem použila roztok o koncentraci 0,25mol/l

Složení roztoku:

Složka	Množství v ml/l roztoku
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,5
KNO_3	1,25
Stopové prvky	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
EDTA (kys. ethylendiamintetraoctová)	0,5
KHPO_4	0,25

Pokusy se hnojily 1x za týden v množství 0,1l na 1 květináč.

Příloha č. 2.

Fotografie - Soil feedback 2008

Vlastní fotografie pokusu ve skleníku Botanického Ústavu AV ČR v Průhonicích.



Pohled na pokus ve skleníku



Detail *Impatiens Parviflora*



Detail *Epilobium ciliatum*

Příloha č. 3.

Fotografie - Soil Feedback 2010

Vlastní fotografie pokusu ve skleníku Botanického Ústavu AV ČR v Průhonicích.



Pohled na pokus ve skleníku



Detail rostliny *Epilobium* napadené padlím



Kořínky připravené na analýzu přítomnosti mykorhizy