Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra experimentální biologie rostlin

Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Experimental Plant Biology

Doktorský studijní program: Anatomie a fyziologie rostlin
Ph.D. study program: Plant anatomy and physiology

Význam arbuskulární mykorhizní symbiózy pro růst rostlin ve specifických podmínkách hadcových půd

The role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in plant performance under the specific edaphic conditions of serpentine soils

Pavla Doubková

Školitel/Supervisor: RNDr. Radka Sudová, Ph.D.
Školitel-konzultant/Supervisor-consultant:
RNDr. Miroslav Vosátka, CSc.

Prague 2014

Souhrn

Hadcové půdy představují specifické prostředí s nepříznivými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které zahrnují především vysoký obsah hořčíku, spolu s nízkým poměrem vápníku vůči hořčíku, zvýšené koncentrace některých těžkých kovů a často také nedostatek základních živin či nízkou vododržnou kapacitu půdy. Předložená práce vycházela z předpokladu, že za těchto nepříznivých podmínek může hrát významnou pozitivní roli v růstu a výživě rostlin jejich symbióza s arbuskulárně mykorhizními (AM) houbami. Ty zlepšují příjem živin hostitelskými rostlinami a pomáhají jim překonávat různé typy abiotického stresu. U zvolené modelové hostitelské rostliny – chrastavce rolního (*Knautia arvensis*, Dipsacaceae) jsme zjišťovali: i) přirozený výskyt AM symbiózy a druhovou bohatost a složení společenstev AM hub kolonizujících kořeny; ii) význam AM symbiózy v hadcových podmínkách pro rostliny z hlediska růstu, příjmu prvků a odpovědi při vystavení vodnímu stresu; iii) diferenciaci hadcových a nehadcových populací *K. arvensis*, resp. AM hub v reakci na hadcové podmínky.

Rostliny *K. arvensis* na hadcových lokalitách vykazovaly obecně nižší kolonizaci kořenů AM houbami než rostliny v nehadcových půdách. Přilehlé hadcové a nehadcové populace se přitom lišily druhovým složením společenstev AM hub kolonizujících jejich kořeny. AM společenstva byla v první řadě ovlivněna mikrostanovištními půdními parametry – hodnoty pH a koncentrace niklu působily na druhové složení AM společenstev; hodnoty pH, koncentrace chromu a draslíku na jejich bohatost.

AM symbióza měla celkově pozitivní vliv na růst rostlin *K. arvensis*, přičemž míru mykorhizní růstové odpovědi určoval především obsah živin v půdě, bez ohledu na její hadcový vs. nehadcový charakter. Identita AM izolátů a složení použitých AM inokul (jednotlivé izoláty vs. společenstva AM hub) měly, na rozdíl od obsahu živin v půdě, pouze minimální vliv na to, do jaké míry symbióza podpořila růst a příjem živin u hostitelské rostliny. Pozitivní působení AM symbiózy v hadcové půdě se pravděpodobně zakládalo především na zvýšení příjmu fosforu a zmírnění vodního stresu, nikoli na modifikaci příjmu či transportu hořčíku, vápníku nebo niklu. Při výrazně zvýšené dostupnosti niklu AM symbióza dokonce zřejmě ještě zesílila jeho toxický účinek na rostliny. V přesazovacím experimentu prokázaly vybraný hadcový a nehadcový AM houbový izolát edafickou diferenciaci, kdy hadcový izolát dosahoval v hadcové půdě vyššího procenta mykorhizní kolonizace kořenů a ve větší míře podporoval růst a příjem fosforu u hadcových rostlin. Dále byla doložena také edafická diferenciace populací *K. arvensis* – na základě jejich růstu a příjmu prvků. Zatímco v příjmu či transportu vápníku se mezi populacemi neprojevily rozdíly, pro hadcové rostliny byla jako jedna ze zásadních adaptací na růst v hadcové půdě rozpoznána tolerance k akumulaci hořčíku v pletivech nadzemní části rostlin.

1. Úvod

Hadcové půdy se vyznačují specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které se souhrnně nazývají hadcový syndrom a zahrnují především nízký poměr Ca:Mg (zpravidla vycházející z kombinace nízké dostupnosti Ca a vysoké koncentrace Mg), zvýšené koncentrace těžkých kovů (TK; zvláště Ni, Cr, Co nebo Mn), často i nízkou dostupnost makroprvků (P, N, K),

nízký obsah organické hmoty a nízkou vododržnou kapacitu. Jak dokládá existence hadcových ekotypů, rostliny se na tyto nepříznivé podmínky dokáží adaptovat. Přizpůsobení k nízkému Ca:Mg u nich spočívá v toleranci nedostatku Ca a/nebo toxicity Mg, v selektivním příjmu Ca a omezení příjmu Mg či kontrole jeho transportu z kořenů do nadzemních částí, nebo ve zvýšeném požadavku Mg. Podobně s vyššími koncentracemi TK v půdě se rostliny vyrovnávají omezením jejich příjmu, ukládáním do určitých pletiv či buněčných struktur, nebo naopak tolerancí jejich zvýšeného obsahu v pletivech. Na nepříznivé vlhkostní poměry reagují celkově menším vzrůstem, xeromorfními listy, vyšší relativní investicí do kořenů oproti nadzemní biomase nebo změnami v načasování reprodukce a velikosti semen. Poznatky o hadcových půdách a rostlinách shrnují mj. přehledové práce: Brady a kol. (2005), Kazakou a kol. (2008), O´Dell a Rajakaruna (2011).

Hadcové rostliny mohou být také do určité míry závislé na symbióze s arbuskulárními mykorhizními (AM) houbami (Glomeromycota), obligátními symbionty kolonizujícími kořeny většiny cévnatých rostlin (Smith a Read, 2008). Rozsáhlá síť tvořená hyfami AM hub zvětšuje objem půdy dostupný pro příjem málo pohyblivých živin (zvláště P). Mykorhizní kořeny tak přijímají tyto prvky účinněji, k čemuž přispívají i změny vyvolané AM symbiózou v genové expresi některých membránových přenašečů. AM houby rovněž pomáhají udržovat vyrovnanou vodní bilanci rostlin, zlepšují půdní strukturu, ovlivňují interakce rostlin s patogeny a s herbivory atd. AM symbióza tímto způsobem zmírňuje intenzitu/účinky různých abiotických i biotických stresů působících na rostliny (Leyval a kol., 1997; Augé, 2001; Smith a kol., 2010).

Diverzitou AM hub v hadcových půdách se zabývalo několik studií (Schechter a Bruns, 2008, 2013; Fitzsimons a Miller, 2010; Ji a kol., 2010). Předpokládá se, že také hadcové AM houby vyvinuly různé adaptace,

kterými pomáhají svým hostitelům vyrovnat se s podmínkami na hadcích (Amir a kol., 2008; Schechter a Bruns, 2013). Zvýšený zájem o výzkum AM symbiózy na hadcových lokalitách začíná nyní přinášet poznatky důležité k pochopení jejího významu pro fyziologické adaptace hadcových rostlin (konkrétně z hlediska příjmu P, Ca a Mg a snížení toxicity Ni; Orlowska a kol., 2011; Amir a kol., 2013; Lagrange a kol., 2013).

2. Cíle práce

- Srovnání hadcových a nehadcových lokalit modelové hostitelské rostliny z hlediska přítomnosti, druhového složení a bohatosti společenstev AM hub kolonizujících její kořeny.
- Vyhodnocení významu AM symbiózy pro modelovou rostlinu z hlediska jejího růstu, příjmu prvků a tolerance k vodnímu stresu. Srovnání přínosu AM symbiózy v hadcových a nehadcových podmínkách.
- Zhodnocení vlivu hadcového vs. nehadcového původu a stupně ploidie na toleranci modelové rostliny k hadcovým podmínkám a na její interakce s AM houbami.

3. Modelová rostlina a AM houby, terénní odběry a přehled experimentů

Chrastavec rolní, *Knautia arvensis* (L.) J. M. Coult – vytrvalá bylina z čeledi štětkovitých (Dipsacaceae), byl zvolen jako modelová mykorhizní rostlina, protože se v České republice vyskytuje na hadcových i nehadcových lokalitách (přitom na obou typech je zastoupen diploidní i tetraploidní cytotyp). Do prezentovaných studií (přehled viz níže) bylo zahrnuto celkem třináct

populací z ČR a západního Slovenska. Substráty, nažky *K. arvensis* a společenstva i hadcové izoláty AM hub použité v experimentech pocházely přímo z modelových lokalit.

I. Ověření kolonizace kořenů *K. arvensis* AM houbami u osmi modelových populací (kombinace hadcové a nehadcové × diploidní a tetraploidní).

II. Pilotní nádobový experiment s nativními kombinacemi substrát-rostlina-společenstvo AM hub, u osmi modelových populací *K. arvensis*.

III. Přesazovací nádobový experiment kombinující hadcový a nehadcový substrát, populaci hostitelské rostliny a AM izolát s osmi modelovými populacemi *K. arvensis*, s modelovým hadcovým a modelovým nehadcovým substrátem a AM houbovým izolátem.

IV. Nádobový experiment testující význam AM symbiózy pro snížení vodního stresu u rostlin v hadcové půdě, u modelové hadcové populace v nativním substrátu inokulované nativním izolátem/společenstvem AM hub.

V. Nádobový experiment srovnávající vliv různých hadcových izolátů vs. společenstev AM hub na rostliny *K. arvensis* v nativních substrátech, u dvou hadcových a dvou nehadcových populací.

VI. Semi-hydroponický experiment testující vliv zvýšené koncentrace niklu na rostliny *K. arvensis* a izoláty AM hub v závislosti na jejich hadcovém a nehadcovém původu, u modelové hadcové a modelové nehadcové populace, resp. izolátu.

VII. Srovnání bohatosti a druhového složení společenstev AM hub kolonizujících kořeny *K. arvensis* (s použitím 454-sekvenace), u tří dvojic přilehlých hadcových a nehadcových populací a stanovení vlivu konkrétních půdních chemických vlastností.

4. Výsledky a diskuse

Arbuskulární mykorhizní houby na lokalitách K. arvensis

Kořeny všech vzorkovaných rostlin byly kolonizovány AM houbami, u hadcových (H) rostlin dosahovala mykorhizní kolonizace obecně nižší úrovně než u nehadcových (NH), přitom určující je zřejmě kombinace chemických vlastností půdy. Obecně může být příčinou nižšího rozvoje AM hub na hadcích nízký poměr Ca:Mg, nízký obsah Ca nebo vysoký obsah Mg či Ni (Jarstfer a kol., 1998; Gustafson a Casper, 2004; Vivas a kol., 2006; negativní vliv Ni podpořen i výsledky semi-hydroponického pokusus s *K. arvensis*).

Přilehlé H a NH populace se lišily složením společenstev AM hub kolonizujících jejich kořeny, přičemž jako dva hlavní vysvětlující faktory vystupovaly půdní pH a koncentrace Ni. Půdní pH také ovlivnilo bohatost společenstev (také např. Fitzsimons a kol., 2008; Helgason a Fitter, 2009). Bohatost dále vykazovala negativní vztah s koncentrací Cr (viz též Khan, 2001; Nakatani a kol., 2011) a K v půdě. Na bohatost společenstva AM hub měla vliv (pozitivní, nebo negativní) i přítomnost určitých druhů rostlin v bezprostředním okolí (viz též Mummey a kol., 2005; König a kol., 2010).

Vliv AM hub na toleranci rostlin k hadcovému syndromu

Ve většině pokusů převažoval pozitivní účinek AM symbiózy na růst *K. arvensis*. Relativní přínos AM symbiózy nezávisel na H vs. NH charakteru substrátu, ale především na celkové dostupnosti půdních živin. Růstovou odpověď jednotlivých populací *K. arvensis* na inokulaci AM houbami ale částečně ovlivnil i poměr Ca:Mg (resp. koncentrace Ca a Mg).

Pozitivní mykorhizní růstový vliv v H i NH substrátech vycházel především z lepšího příjmu P (relativní příspěvek inokulace k navýšení

koncentrací P v biomase mykorhizních rostlin stoupal s jeho klesající dostupností). Naproti tomu koncentrace N v listech byla u mykorhizních rostlin většinou snížená. Nelze vyloučit, že došlo k „naředění“ N ve větším množství biomasy, ale příčinou mohla být i vyšší síla sinku pro N u AM hub oproti rostlinám, vedoucí k zadržování N v houbových pletivech (Hodge a Fitter, 2010; Johnson, 2010). Uvedený pozitivní vliv na růst ještě vzrostl při omezené zálivce, zřejmě díky zvýšení významu lepšího příjmu živin v podmínkách jejich nižší mobility a snížení vodního stresu pro hostitelskou rostlinu (menší akumulace prolinu a kyseliny abscisové; nižší koncentrace osmoticky aktivního K). Menší investice mykorhizních rostlin do biomasy kořenů při omezené dostupnosti vody ukazuje na možné přímé zapojení mycelia AM hub do příjmu vody.

Mykorhizní rostliny se vyznačovaly sníženou koncentrací K v listech, což odpovídá obecnému převažujícímu vlivu AM symbiózy na příjem tohoto prvku (Smith a Read, 2008). Jedním z možných vysvětlení je soustředění K v houbových strukturách tam, kde se hromadí polyfosfát (Olsson a kol., 2008; Orłowska a kol., 2013). Vliv AM symbiózy na příjem Mg rostlinami závisel na jeho dostupnosti (podobně jako v pracích Liu a kol., 2002; Taylor a Harrier, 2001). V NH substrátech vedla inokulace k nárůstu koncentrace Mg v nadzemní biomase, zatímco v H substrátech se snížila či nezměnila. V NH substrátech AM symbióza koncentraci Ca v kořenech převážně zvyšovala, zatímco u rostlin v jejich nativní půdě ji snižovala, nebo neovlivnila, bez ohledu na dostupnost Ca a H vs. NH charakter.

AM symbióza měla velmi proměnlivý vliv na koncentraci Ni v nadzemní biomase *K. arvensis* v H substrátech, bez zjevné souvislosti s půdní dostupností Ni; ta zřejmě nikdy nepřekročila hranici fytotoxicity. Jednotné působení inokulace AM houbami jsme však nezaznamenali ani při výrazně

vyšší koncentraci Ni v roztoku. Tyto výsledky, spolu se závěry studií Doherty a kol. (2008) a Vivas a kol. (2006), svědčí o závislosti mykorhizního efektu jak na dostupnosti Ni v půdě, tak na kombinaci hostitelské rostliny a AM houby. Nižší relativní tolerance k Ni u mykorhizních rostlin (viz též Doherty a kol., 2008) by mohla pramenit z posunu v symbiotickém vztahu, kdy investice hostitelské rostliny v podobě C do houbového symbionta převáží nad jejími zisky (např. Johnson a kol., 1997).

Vliv identity AM hub

V přesazovacím nádobovém pokusu modelový H a NH houbový izolát prokázaly jasnou diferenciaci z hlediska své odpovědi na H podmínky. U rostlin v H substrátu se H izolát vyznačoval vyšší mykorhizní kolonizací kořenů a také vyšší symbiotickou účinností z hlediska příjmu P. Každý izolát podporoval příjem P ve větší míře v tom typu substrátu, který odpovídal jeho nativní půdě. Z výsledků jsme vyvodili existenci vztahu mezi jednotlivými AM houbami a půdními podmínkami (viz též van der Heijden a kol., 2006; Johnson a kol., 2010). V semi-hydroponickém pokusu byla inokulace H izolátem spojena s nižším negativním růstovým efektem Ni (což zřejmě souviselo s výraznějším poklesem mykorhizní kolonizace kořenů u tohoto izolátu, a tedy menším sinkem pro C od hostitelské rostliny). Jelikož se však nedá vyloučit určitý vliv odlišného taxonomického postavení modelových izolátů, nelze z těchto výsledků vyvozovat obecné závěry o možné koadaptaci rostlin *K. arvensis* a AM hub na H půdy.

Při srovnání čtyř H izolátů z hlediska jejich vlivu na růst *K. arvensis* v nativních půdách jsme nenalezli rozdíly v žádné z rostlinných populací. Ani identita AM hub v inokulu ani procento mykorhizní kolonizace kořenů nebyly určujícími faktory pro rozsah mykorhizní růstové odpovědi a vlivu

na příjem P. Výsledná mykorhizní růstová odpověď však významně závisela na dostupnosti živin v daném substrátu.

Experimenty neposkytly přesvědčivý důkaz, že nativní společenstva AM hub jsou z hlediska podpory růstu a příjmu živin a/nebo zmírnění dopadů vodního stresu pro rostlinu přínosnější než jednotlivé izoláty. Příčinou mohl být nerovnoměrný vývoj různých AM hub v pokusných nádobách, kdy se patrně uchytila pouze část druhů z původního společenstva (a to zejména r-stratégové; viz také např. Sýkorová a kol.; 2007; Verbruggen a kol., 2012). To mohlo narušit vzájemné vztahy mezi houbami ustavené dlouhodobým vývojem na původní lokalitě (Wagg a kol., 2011).

***Edafická diferenciace populací* K. arvensis**

Přesazovací nádobový pokus přinesl doklad edafické diferenciace H a NH populací, oproti předpokladu však neprokázal obecně horší růst v H podmínkách. Ačkoli H populace rostly v H substrátu lépe než NH rostliny, všechny populace prospívaly lépe v H substrátu s vyšší dostupností makroprvků – šlo tedy zřejmě o kombinované působení limitace určitými živinami a specifických hadcových vlastností. Při růstu v nativních substrátech se rostliny přizpůsobily nízké dostupnosti živin (P, Ca, Mg, N) relativním zvýšením jejich příjmu (vyjádřeno tzv. akumulačním poměrem, tj. koncentrace v nadzemní biomase/koncentrace v půdě). Naproti tomu akumulační poměr Ni se obecně spíše zvyšoval s rostoucí dostupností Ni v půdě.

Snížení příjmu Mg představovalo obecnou odpověď rostlin *K. arvensis* na H podmínky. Rostliny H populací rostoucí v H substrátu se vyznačovaly vyšší relativní alokací Mg do nadzemní části. Zdá se tedy, že se u nich vyvinula tolerance k vyšší koncentraci Mg v listových pletivech při růstu v půdě s jeho zvýšenou dostupností. Když však H populace rostly v NH

substrátu nebo v roztoku s vysokým poměrem Ca:Mg, zadržovaly Mg v kořenech. To ukazuje na adaptivní odpověď H rostlin na zvýšenou dostupnost Mg spíše než na stabilní rozdíly mezi H a NH populacemi v příjmu Mg (viz také Kolář a kol., 2014). Naopak různá dostupnost Ca vyvolala u rostlin velmi omezenou reakci, s výjimkou půdy s nejnižší koncentrací Ca. Z toho vyvozujeme, že si H rostliny *K. arvensis* vyvinuly toleranci k nízké koncentraci Ca v H půdách.

V semi-hydroponickém experimentu způsobila zvýšená koncentrace Ni v roztoku redukci biomasy rostlin, bez ohledu na jejich H či NH původ. Rostliny H původu měly ale vyšší obsah fotosyntetických pigmentů. Také vyšší koncentrace karotenoidů a nižší poměr karotenoidů vůči chlorofylům ukazovaly na menší intenzitu oxidativního stresu a účinnější ochranu H rostlin před toxickými účinky Ni (viz např. Drazkiewicz a Baszynski, 2010; Martínez-Peñalver a kol., 2011). Z výsledků Koláře a kol. (2014) vyplývá, že toxický vliv Ni na růst kořenů *K. arvensis* může částečně zmírnit zvýšená koncentrace Mg; což nabízí i možné vysvětlení tak výrazného účinku Ni v naší studii. Při růstu v H substrátu fungovala u H i NH rostlin bariéra pro transport Ni z kořenů do nadzemní části, zatímco v semi-hydroponickém pokusu s vyšší hladinou Ni vykazovaly NH rostliny pouze omezenou schopnost regulovat transport Ni.

***Vliv stupně ploidie rostlin* K. arvensis**

Zaznamenané rozdíly v mykorhizní kolonizaci kořenů mezi dvěma cytotypy (nižší hodnoty u tetraploidů) mohly souviset spíše se specifickými půdními podmínkami jednotlivých lokalit než s vlivem ploidie samotné. Stejná absence jasného efektu stupně ploidie byla prokázána i pro jiný druh hostitelské rostliny se zastoupením více cytotypů – hvězdnici chlumní (*Aster amellus*;

Sudová a kol., 2014). Ani mykorhizní růstová odpověď rostlin *K. arvensis* ve vlastních nativních substrátech nebyla ovlivněna jejich ploidií, což dále podpořilo závěr o rozhodující roli půdních podmínek. Také v pokusu s modelovým H a NH substrátem mykorhizní růstová odpověď rostlin nezávisela na cytotypu samotném, ale na jeho interakci se substrátem (srov. také Sudová a kol., 2014).

Diploidní rostliny *K. arvensis* se obecně vyznačovaly vyšší tolerancí k H podmínkám, bez ohledu na svůj původ; zato v NH substrátu se žádný rozdíl mezi cytotypy neprojevil. Kolář a kol. (2014) došli na základě hydroponického pokusu, v němž rostliny vystavili zvýšeným koncentracím Mg, k závěru, že sama ploidie hraje v hadcové diferenciaci populací *K. arvensis* velmi malou roli. Vzhledem k parapatrickému rozšíření obou cytotypů nelze vyloučit, že zaznamenané rozdíly lze zčásti vysvětlit adaptací jednotlivých populací na místní podmínky. Při interpretaci dále musíme vzít v potaz, že diploidní a tetraploidní NH populace představují geneticky vzdálené linie, zatímco H tetraploidi jsou geneticky velmi blízcí H diploidům, vznikli pravděpodobně autopolyploidizací (Kolář a kol., 2012, 2014).

5. Závěry

Společenstva AM hub kolonizující kořeny rostlin K. arvensis *v přirozených podmínkách*

- Hadcové rostliny vykazovaly obecně nižší úroveň mykorhizní kolonizace kořenů ve srovnání s rostlinami na nehadcových stanovištích.
- Přilehlé hadcové a nehadcové populace se lišily druhovým složením společenstev AM hub kolonizujících jejich kořeny. Určující pro bohatost a složení AM společenstev byly v první řadě vlastnosti půdy.

- Pro vysvětlení druhového složení AM společenstev se jako nejdůležitější faktory ukázaly půdní pH a koncentrace Ni, a také sousedství určitých rostlinných druhů. Bohatost AM společenstev se zvyšovala společně s půdním pH (v rozmezí hodnot 3.6–5.8) a snižovala se s rostoucí půdní koncentrací Cr a K.

Role AM symbiózy v adaptaci* K. arvensis *na hadcové půdy

- AM symbióza měla celkově pozitivní vliv na růst. Míru mykorhizní růstové závislosti hostitelských rostlin určoval především obsah živin v substrátu, bez ohledu na jeho hadcový vs. nehadcový charakter.
- Zvýšený příjem P a snížení intenzity vodního stresu byly zřejmě klíčové mechanismy pozitivního mykorhizního vlivu v hadcových substrátech.
- Příjem Mg a Ca hadcovými rostlinami v hadcových substrátech se při inokulaci AM houbami snížil, nebo se nezměnil, a také příjem Ni zůstával obecně beze změny. Při vyšší koncentraci Ni v roztoku naopak AM symbióza zvýšila toxický účinek Ni na rostliny.
- V přesazovacím nádobovém experimentu byla prokázána diferenciace vybraného hadcového a nehadcového houbového izolátu v hadcových podmínkách. Hadcový izolát dosahoval vyšší mykorhizní kolonizace kořenů a byl účinnější v podpoře růstu i příjmu P hadcovými rostlinami.
- Identita AM hub v inokulu i použití jednotlivých izolátů vs. nativních společenstev měly minimální vliv na mykorhizní růstovou odpověď a příjem živin ve srovnání s významem obsahu živin v substrátu.

Vliv hadcového vs. nehadcového původu a stupně ploidie na toleranci rostlin* K. arvensis *k hadcovým podmínkám a jejich interakce s AM houbami

- Populace *K. arvensis* vykazovaly edafickou diferenciaci z hlediska růstu a příjmu prvků v hadcových podmínkách. Hadcové a nehadcové populace se nelišily v příjmu a/nebo translokaci Ca, zatímco tolerance k akumulaci Mg v pletivech nadzemní části se jevila jako jedna ze zásadních adaptací hadcových rostlin.
- Akumulační poměry prvků poukázaly na adaptaci rostlin k nedostatku nebo zvýšené koncentraci makroprvků v jejich nativních substrátech, bez ohledu na hadcový vs. nehadcový původ rostlin.
- Pozitivní účinek AM symbiózy na růst rostlin v hadcovém substrátu byl v přesazovacím experimentu pozorován pouze při inokulaci hadcové rostliny hadcovým AM houbovým izolátem.
- Stupeň plodie rostlin zřejmě nehrál zásadní úlohu v jejich adaptaci na hadcové podmínky ani při jejich interakci s AM houbami.

Summary

Serpentine soils represent a unique environment characterized by unfavourable physicochemical properties involving low calcium to magnesium ratio, increased concentrations of heavy metals, often also deficiencies of essential macronutrients, and low water-holding capacity. Under these adverse conditions, a considerable potential of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to promote plant growth was hypothesized due to the importance of arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis for plant nutrition and alleviation of various types of abiotic stress. On a model host plant species, *Knautia arvensis* (Dipsacaceae), we examined: i) occurrence of AM symbiosis and species richness and composition of the native AMF communities; ii) role of AM symbiosis in plant growth, element uptake and drought stress tolerance; iii) edaphic differentiation in plant populations or in AMF symbionts under serpentine vs non-serpentine conditions.

Generally, *K. arvensis* plants showed lower frequency of mycorrhizal root colonization at serpentine compared to the non-serpentine sites. Adjacent serpentine and non-serpentine populations also differed in AMF species assemblages colonizing their roots. Both, species composition and richness of these AMF communities depended primarily on edaphic parameters of the native soils (pH value and nickel concentration for composition; pH value, and soil chromium and potassium concentrations for richness).

AM symbiosis showed an overall beneficial effect on *K. arvensis* growth, with the mycorrhizal growth dependence of host plants determined mainly

by nutritional status of the soil, regardless of its serpentine vs non-serpentine character. In contrast, the identity and complexity of AMF inocula generally played a minor role in determining the extent of mycorrhizal growth and nutrient uptake promotion. In serpentine substrates, improved phosphorus acquisition and drought stress alleviation were likely the crucial mechanisms of the beneficial influence of AM symbiosis, instead of any substantial modifications in calcium and magnesium nutrition or nickel uptake. The phytotoxicity effect of nickel seemed to be even increased by AM symbiosis at considerably elevated nickel availability. In the reciprocal transplant experiment, edaphic differentiation was proved for the selected serpentine and non-serpentine AMF isolates. The serpentine isolate developed higher root colonization and it was more efficient in growth promotion of and phosphorus uptake by the serpentine plants. Edaphic differentiation of *K. arvensis* populations was found under serpentine conditions in terms of plant growth and element uptake. No differences in calcium nutrition were recorded, while a tolerance to accumulation of magnesium in shoot tissues seemed to be one of the essential adaptive traits of serpentine *K. arvensis* plants.

1. Introduction

Serpentine soils are characterized by specific physicochemical properties, collectively referred to as serpentine syndrome. They primarily include low Ca:Mg ratio (stemming typically from both low Ca and high Mg concentrations), elevated concentrations of heavy metals (HM; especially Ni, Cr, Co or Mn), frequently also deficiency in essential macronutrients (P, N, K), low content of organic matter and low soil water holding capacity. As evidenced by the existence of intraspecific ecotypes, plants are able to adapt to this

harsh environment. Their adaptive responses to low Ca:Mg ratio consist in tolerance to Ca deficiency and/or Mg toxicity, selective Ca uptake together with restricted Mg uptake/translocation to shoot biomass, or increased plant Mg requirement. Also concerning the elevated HM concentrations, plants have evolved various strategies including restricted HM acquisition or translocation to shoot biomass, tolerance or compartmentalisation. The adverse soil water conditions can be overcome by reduced plant stature, xeromorphic leaves, higher relative investment to roots compared to shoot biomass, by reproduction timing or size of seed set. For reviews on the characteristics of both, serpentine soils and serpentine plants, see Brady et al. (2005), Kazakou et al. (2008), O´Dell and Rajakaruna (2011).

Serpentine plants may also be dependent upon symbiotic partnership with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF; phylum Glomeromycota), obligate symbionts colonizing roots of most vascular plants (Smith and Read, 2008). Extensive network of AMF hyphae increases the volume of soil available for acquisition of immobile nutrients (especially P). Together with AMF-induced modifications in gene expression of some membrane nutrient transporters, mycorrhizal roots take up these elements more efficiently. AMF also participate in water balance maintenance, soil structure improvement, plant-pathogen and plant-herbivore interactions etc. As a result, AMF have been frequently evidenced to alleviate different abiotic and biotic stresses (for reviews, see e.g. Leyval et al., 1997; Augé, 2001; Smith et al., 2010).

AMF diversity at serpentine habitats has recently been studied e.g. by Schechter and Bruns (2008, 2013), Fitzsimons and Miller (2010) and Ji et al. (2010). Serpentine AMF were suggested to have evolved various adaptive strategies parallel to serpentine vegetation, and thus to contribute to host plants in their coping with the serpentine soil conditions (e.g. Amir et al.,

2008; Schechter and Bruns, 2013). Increased interest in the research of AM symbiosis at serpentine habitats in the past few years promises an important progress in understanding its role in physiological adaptations of serpentine plants (namely in P, Ca and Mg uptake, and reduction of Ni-phytotoxicity; Orlowska et al., 2011; Amir et al., 2013; Lagrange et al., 2013).

2. Aims of the thesis

- Comparison of serpentine and non-serpentine sites with regard to the mycorrhizal root colonization, species richness and composition of AMF communities, using a model host plant species.
- Assessment of the role of AMF in growth, element uptake and drought tolerance of the model host plant species. Comparison of the relative beneficial effects of AM symbiosis under serpentine and non-serpentine conditions.
- Assessment of the influence of edaphic origin and ploidy level on serpentine tolerance of the model plant species and its interactions with AMF.

3. Model plant species and AMF, field surveys and experiments overview

A perennial herb, field scabious – *Knautia arvensis* (L.) J. M. Coult. (Dipsacaceae) – was used as a model mycorrhizal host plant. This species inhabits both serpentine and non-serpentine habitats in the Czech Republic (with diploid and tetraploid cytotypes occurring on both soil types). In total, thirteen populations from the Czech Republic and western Slovakia were involved in the studies. Substrates, *K. arvensis* achenes, AMF communities and serpentine AMF isolates involved in the experiments originated from the native sites.

I. Initial field survey of AMF occurrence at *K. arvensis* sites, for eight model populations (combination of serpentine and non-serpentine × diploid and tetraploid).

II. Pilot pot experiment involving native substrate-plants-AMF communities combinations, with eight model populations of *K. arvensis*.

III. Reciprocal transplant experiment combining serpentine and non-serpentine substrates, host plant populations and AMF isolates, with eight model populations of *K. arvensis*; model serpentine vs. model non-serpentine substrate and AMF isolate.

IV. Pot experiment testing AMF role in alleviation of drought stress imposed on *K. arvensis* plants under serpentine conditions, involving one model serpentine population in its native substrate; inoculated with native AMF isolate vs community.

V. Pot experiment comparing effects of different serpentine AMF isolates vs communities on *K. arvensis* plants in their native substrates, involving two serpentine and two non-serpentine model populations.

VI. Semi-hydroponic study testing the impact of Ni supplementation on *K. arvensis* plants and AMF isolates with respect to their serpentine vs non-serpentine origin, involving model serpentine and model non-serpentine population.

VII. Comparison of species richness and composition of AMF communities colonizing roots of *K. arvensis* plants (using 454-sequencing) for three pairs of adjacent serpentine and non-serpentine populations, and identification of the influence of particula soil chemical characteristics..

4. Results and discussion

Arbuscular mycorrhizal fungi native to the K. arvensis *sites*

All plants sampled in the field were colonized by AMF, with serpentine (S) plants generally colonized to lower extent than the non-serpentine (NS) plants. We suggest that AMF colonization in *K. arvensis* roots is determined by the interplay of soil chemical parameters. Generally, lower AMF development in S soils may be assigned to low Ca:Mg ratio, low Ca, high Mg or elevated Ni concentrations (Jarstfer et al., 1998; Gustafson and Casper, 2004; Vivas et al., 2006; the negative impact of Ni was also supported by the results of our semi-hydroponics with *K. arvensis*).

Adjacent S and NS populations differed in the species composition of AMF communities colonizing their roots, with soil pH and Ni concentration identified as significant explanatory factors. Soil pH value also influenced the fungal richness per plant (see also e.g. Fitzsimons et al., 2008; Helgason and Fitter, 2009). The latter was negatively correlated with both, Cr (in accordance with Khan, 2001; Nakatani et al., 2011) and K concentrations. In addition, the presence of four particular plant spesies in neighbouring vegetation affected (either negatively, or ppositively) the richness of AMF communities in *K. arvensis* roots (see also Mummey et al., 2005; König et al., 2010).

Effects of AMF on plant tolerance to serpentine syndrome

Beneficial effect of AM symbiosis on *K. arvensis* growth prevailed in most of the experiments. The relative importance of AM symbiosis primarily depended on soil nutritional status rather than on its S vs. NS character. However, the response of plants from particular populations to AMF inoculation was partialy influenced also by soil Ca:Mg ratio (or Ca and Mg concentrations).

In both S and NS substrates, the beneficial mycorrhiza growth effect stemmed primarily from improved P acquisition (relative contribution of AMF inoculation to higher P concentration in mycorrhizal plants generally increased with decreasing soil P availability). In contrast, mycorrhizal plants showed mostly consistently lower shoot N concentrations. A biomass-dilution effect cannot be excluded; but, the alternative explanation lies in higher N-sink in AMF- compared to host plant-tissues, leading to N sequestration in fungal tissues (Hodge and Fitter, 2010; Johnson, 2010). The mycorrhizal growth promotion recorded under well-watered conditions even increased under limited water supply, likely due to higher importance of improved nutrition in the situation of their lower mobility and to alleviation of drought stress imposed on host plants (lower increase in accumulation of proline and abscisic acid, lower concentration of osmoprotective K). Lower investment of mycorrhizal plants into roots under intensive drought stress indicates a potential engagement of extraradical mycelium in direct water uptake.

Mycorrhizal plants showed consistently lower foliar K concentrations, in accordance with generally prevailing AMF-effect on K uptake (Smith and Read, 2008); potentially stemming from K accumulation in fungal structures in response to accumulation of polyphosphate (Olsson et al., 2008; Orłowska et al., 2013). AMF-effect on Mg uptake by plants was influenced by its soil availability (similarly to e.g. Liu et al., 2002; Taylor and Harrier, 2001). In NS substrates, increased shoot Mg concentration was generally recorded for mycorrhizal plants, compared to decrease/no effect in Mg-rich S substrates. AMF-mediated decrease in root Ca prevailed for plants in the NS substrate, while shoot Ca of mycorrhizal plants growing in their native substrates were either not influenced or decreased, regardless of the soil type and soil Ca availability.

A broad range of AMF-effects on shoot Ni concentrations was recorded for *K. arvensis* plants in S substrates with no evident relation to soil Ni availability; which likely did not exceed a phytotoxicity threshold. No general AMF-effect on Ni uptake was recorded even in the solutions with considerably higher Ni. These results, together with findings by Doherty et al. (2008) and Vivas et al. (2006), suggest a dependence of mycorrhizal effect both on soil Ni availability and host plant-AMF combination. Lower relative Ni tolerance of mycorrhizal *K. arvensis* plants (similarly to Doherty et al., 2008) might have stemmed from a shift in the balance of symbiotic relationship, if the host plant C-investment exceeded the benefits provided by the fungal partner (e.g. Johnson et al., 1997).

Role of AMF identity

Clear edaphic differentiation between model S and NS fungi in their response to S conditions was recorded in the reciprocal transplant pot experiment. In the S substrate, the S isolate was characterized by higher root colonization and also symbiotic efficiency in terms of P acquisition. Each of the isolates showed higher P-uptake benefit in its native substrate type. A functional relationship between particular AMF and edaphic conditions in this respect was thus suggested, in accordance with van der Heijden et al. (2006) and Johnson et al. (2010). When these isolates were involved in the semi-hydroponics, the S AMF was connected with a less pronounced Ni-induced growth inhibition (likely based on its more decreased root colonization, i.e. lower C sink). However, as an effect of different taxonomical position on the edaphic differentiation of the model isolates could not be eliminated, no general conclusions on the possible coadaptation of *K. arvensis* plants and AMF to serpentine soils can be derived from these results.

When four S isolates were compared in terms of their effect on plant growth in native substrates, no differences were found in any *K. arvensis* population. Neither AMF identity nor the level of root colonization, were the overriding factors in determining plant growth and P-uptake mycorrhizal benefit. Instead, the substantial impact of substrate nutritional status on the extent of mycorrhizal growth promotion was confirmed.

No convincing evidence was recorded for higher beneficial effects of native AMF communities on host plant growth, nutrition and/or drought stress alleviation compared to single isolates. This might stem from an imbalance in AMF species development in the pots, i.e. from presumable establishment of only a part of originally coexisting species (mainly r-strategists, as also shown by Sýkorová et al.; 2007; Verbruggen et al., 2012), potentially disrupting the AMF complementarity and selection relationships (Wagg et al., 2011) evolved in the long term at the native *K. arvensis* sites.

Plant edaphic differentiation

The reciprocal transplant pot experiment evidenced edaphic differentiation between S and NS populations of *K. arvensis*, but did not support the assumption of generally lower biomass production under S conditions. Although S plants grew better in the S substrate than their NS counterparts, still all populations performed better in the S substrate with generally higher macronutrient availability – both, nutrient limitation and specific serpentine characteristics seemed to play a role in this respect. Plants grown in their respective native substrates showed the ability to adapt to low nutrient (P, Ca, Mg, N) availabilities by raising their accumulation ratios (shoot/soil concentration); while the Ni accumulation ratio tended to increase with rising soil Ni availability.

A decrease in Mg uptake was identified as a general response of *K. arvensis* plants to S conditions. In S substrate, S *K. arvensis* plants showed higher relative allocation of Mg into shoots and thus seem to have evolved a tolerance to higher Mg in shoot tissues under elevated Mg availability. On the other hand, retention of Mg in roots was recorded for S plants grown in NS substrate or in solution with high Ca:Mg ratio in the semi-hydroponics; pointing to an adaptive plant response rather than stable differences between S and NS populations of *K. arvensis* in terms of Mg uptake (also supported by Kolář et al., 2014). In contrast, plants were rather unresponsive to soil Ca availability, except for the most Ca-limited population. Therefore, a tolerance for low internal Ca concentration seems to be the actual adaptive mechanism of *K. arvensis* plants to Ca-limitation of serpentine substrates.

Ni-induced plant growth depression recorded in the semi-hydroponics showed to be independent of plant edaphic origin, but the S plants were able to maintain higher concentrations of chlorophylls; and their higher concentrations of carotenoids and lower carotenoids:chlorophylls ratio pointed to more intense defensive response to Ni toxicity and lower oxidative stress (see e.g. Drazkiewicz and Baszynski, 2010; Martínez-Peñalver et al., 2011). Kolář et al. (2014) suggested the toxic impact of Ni on growth of *K. arvensis* roots to be partly alleviated by elevated Mg; providing a possible explanation of the pronounced negative impact of Ni in our study. In the S substrate, both S and NS plants showed a strong barrier to root-to-shoot Ni translocation, while in the semi-hydroponics with supplemented Ni in nutrient solution, NS plants had only a limited ability to regulate Ni transport.

Role of* K. arvensis *ploidy level

Differences in mycorrhizal root colonization between the two cytotypes (i.e. lower values for tetraploids) might be related rather to site-specific edaphic conditions than to the effects of ploidy level *per se*. The lack of cytotype-specific pattern is in accordance with the results for another ploidy-heterogeneous host plant species, *Aster amellus* (Sudová et al., 2014). Mycorrhizal growth response of *K. arvensis* plants grown in their native substrates was independent of ploidy level, suggesting a superior role of edaphic conditions. When cultivated in model S and NS substrates, the interaction between cytotype and substrate type significantly influenced mycorrhizal growth dependence, but the effect of cytotype alone remained non-significant (see also Sudová et al., 2014).

K. arvensis diploids showed generally higher S tolerance, regardless of their edaphic origin; while no intercytotype growth difference was recorded in the NS substrate. Kolář et al. (2014) concluded that the ploidy alone played rather a minor role in *K. arvensis* serpentine differentiation, based on the results of hydroponics with increased Mg concentrations. Due to parapatric distribution of the two cytotypes, it cannot be excluded that the recorded inter-cytotype differences might be partly explained by local adaptations of individual populations. Importantly, the interpretation of the differences might be confounded by the fact, that NS diploids and tetraploids represent genetically distinct lineages, while S tetraploids are genetically close to S diploids, with the likely origin of the tertaploids from autopolyploidization of the diploids (Kolář et al., 2012, 2014).

5. Conclusions

AMF communities in K. arvensis *roots at native sites*

- The serpentine plants showed generally lower frequency of mycorrhizal root colonization compared to their non-serpentine counterparts.
- Adjacent serpentine and non-serpentine populations differed in AMF communities colonizing their roots. Both species composition and richness of the AMF communities were determined primarily by edaphic parameters.
- Regarding the AMF species composition, soil pH and Ni concentration were the most significant explanatory factors, together with neighbourhood of certain plant species. AMF species richness increased with soil pH (in the range of 3.6–5.8) and decreased with rising soil Cr and K concentrations.

AM symbiosis in serpentine adaptation of K. arvensis *plants*

- AM symbiosis showed overall beneficial effects on host plant growth. The mycorrhizal growth dependence of host plants was governed mainly by nutritional status of the soil, independently of its serpentine character.
- Improved P acquisition and drought stress alleviation were likely the crucial mechanisms of the beneficial mycorrhizal effect in serpentine soils.
- AMF inoculation either decreased or had no effect on both plant Mg and Ca acquisition and generally did not influence Ni uptake of serpentine plants under serpentine conditions. On contrary, AM symbiosis increased the Ni-phytotoxicity effect in case of Ni supplementation in solution.
- Selected serpentine and non-serpentine AMF isolates proved their differentiation under serpentine conditions in the reciprocal transplant pot experiment. The serpentine AMF isolate developed higher root colonization

and was more efficient in growth promotion of and P uptake by the serpentine plants.

- The identity and complexity (isolates vs. communities) of AMF inoculum had generally a minor effect on mycorrhizal growth response and nutrient uptake compared to nutritional status of the substrate.

Effects of edaphic origin and ploidy level on serpentine tolerance of* K. arvensis *plants and their interactions with AMF

- Populations of *K. arvensis* showed edaphic differentiation in terms of plant growth and element uptake under serpentine conditions. No differences in Ca uptake and/or allocation were recorded between serpentine and non-serpentine populations, while the tolerance to Mg accumulation in shoot tissues seemed to be one of the essential adaptive traits of serpentine *K. arvensis* plants.
- Regardless of their serpentine or non-serpentine origin, *K. arvensis* populations proved their adaptation to macronutrient deficiency or excess in their native substrates, as indicated by plant accumulation ratios of macronutrients.
- In the reciprocal transplant pot experiment, only the combination of serpentine plant and fungal partners led to a promotional mycorrhizal effect on plant growth in the serpentine substrate.
- The ploidy level of *K. arvensis* plants seemed to play no fundamental role in their adaptation to serpentine edaphic conditions or in their responsiveness to AM symbiosis.

Použitá literatura/References

Amir H, Jasper DA, Abbott LK (2008) Tolerance and induction of tolerance to Ni of arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils. Mycorrhiza 19: 1–6

Amir H, Lagrange A, Hassaïne N, Cavaloc Y (2013) Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. Mycorrhiza, 23: 585–595

Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11: 3–42

Brady KU, Kruckeberg AR, Bradshaw HD (2005) Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 36: 243–266

Doherty JH, Ji BM, Casper BB (2008) Testing nickel tolerance of *Sorghastrum nutans* and its associated soil microbial community from serpentine and prairie soils. Environmental Pollution 151: 593–598

Drazkiewicz M, Baszynski T (2010) Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of *Zea mays*. Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 982–986

Fitzsimons MS, Miller RM, Jastrow JD (2008) Scale-dependent niche axes of arbuscular mycorrhizal fungi. Oecologia 158: 117–127

Fitzsimons MS, Miller, RM (2010) Serpentine soil has little influence on the root-associated microbial community composition of the serpentine tolerant grass species *Avenula sulcata*. Plant and Soil 330: 393–405

Gustafson DJ, Casper BB (2004) Nutrient addition affects AM fungal performance and expression of plant/fungal feedback in three serpentine grasses. Plant and Soil 259: 9–17

Helgason T, Fitter AH (2009) Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota). Journal of Experimental Botany 60: 2465–2480

Hodge A, Fitter AH (2010) Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107: 13754–13759

Jarstfer AG, Farmer-Koppenol P, Sylvia DM (1998) Tissue magnesium and calcium affect arbuscular mycorrhiza development and fungal reproduction. Mycorrhiza 7: 237–242

Ji BM, Bentivenga SP, Casper BB (2010) Evidence for ecological matching of whole AM fungal communities to the local plant-soil environment. Ecology 91: 3037–3046

Johnson NC, Graham JH, Smith FA (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytologist 135: 575–586

Johnson D, Anderson IC, Williams A, Whitlock R, Grime JP (2010) Plant genotypic diversity does not beget root-fungal species diversity. Plant and Soil 336: 107–111

Johnson NC (2010) Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. New Phytologist 185: 631–647

Kazakou E, Dimitrakopoulos PG, Baker AJM, Reeves RD, Troumbis AY (2008) Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. Biological Reviews 83: 495–508

Khan AG (2001) Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. Environment International 26: 417–423

Kolář F, Dortová M, Lepš J, Pouzar M, Krejčová A, Štech M (2014) Serpentine ecotypic differentiation in a polyploid plant complex: shared tolerance to Mg and Ni stress among di- and tetraploid serpentine populations of *Knautia arvensis* (Dipsacaceae). Plant and Soil 374: 435–447

Kolář F, Fér T, Štech M, Trávníček P, Dušková E, Schönswetter P, Suda J (2012) Bringing together evolution on serpentine and polyploidy: spatiotemporal history of the diploid-tetraploid complex of *Knautia arvensis* (Dipsacaceae). Plos One 7 (7), doi:10.1371/journal.pone.0039988.g001

König S, Wubet T, Dormann CF, Hempel S, Renker C, Buscot F (2010) TaqMan real-time PCR assays to assess arbuscular mycorrhizal responses to field manipulation of grassland biodiversity: effects of soil characteristics, plant species richness, and functional traits. Applied and Environmental Microbiology 76: 3765–3775

Lagrange A, L'Huillier L, Amir H (2013) Mycorrhizal status of Cyperaceae from New Caledonian ultramafic soils: effects of phosphorus availability on arbuscular mycorrhizal colonization of *Costularia comosa* under field conditions. Mycorrhiza, doi: 10.1007/s00572-013-0503-1

Leyval C, Turnau K, Haselwandter K (1997) Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. Mycorrhiza 7: 139–153

Liu A, Hamel C, Elmi A, Costa C, Ma B, Smith DL (2002) Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. Canadian Journal of Soil Science 82: 271–278

Martínez-Peñalver A, Reigosa MJ, Sánchez-Moreiras AM (2011) Imaging chlorophyll a fluorescence reveals specific spatial distributions under different stress conditions. Flora 206: 836–844

Mummey DL, Rillig MC, Holben WE (2005) Neighboring plant influences on arbuscular mycorrhizal fungal community composition as assessed by T-RFLP analysis. Plant and Soil 271: 83–90

Nakatani AS, Mescolotti DLC, Nogueira MA, Martines AM, Miyauchi MYH, Sturmer SL, Cardoso EJBN (2011) Dosage-dependent shift in the spore community of arbuscular mycorrhizal fungi following application of tannery sludge. Mycorrhiza 21: 515–522

O'Dell R and Rajakaruna N (2011) Intraspecific variation, adaptation, and evolution. In: Harrison S and N. Rajakaruna (eds) Serpentine: Evolution and ecology in a model system, UC Press, California, pp. 97–137

Olsson PA, Hammer EC, Wallander H, Pallon J (2008) Phosphorus availability influences elemental uptake in the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*, as revealed by particle-induced X-ray emission analysis. Applied and Environmental Microbiology 74: 4144–4148

Orlowska E, Przybylowicz W, Orlowski D, Mongwaketsi NP, Turnau K, Mesjasz-Przybylowicz J (2013) Mycorrhizal colonization affects the elemental distribution in roots of Ni-hyperaccumulator *Berkheya coddii* Roessler. Environmental Pollution 175: 100–109

Orlowska E, Przybylowicz W, Orlowski D, Turnau K, Mesjasz-Przybylowicz J (2011) The effect of mycorrhiza on the growth and elemental composition of Ni-hyperaccumulating plant *Berkheya coddii* Roessler. Environmental Pollution 159: 3730–3738

Schechter SP, Bruns TD (2008) Serpentine and non-serpentine ecotypes of *Collinsia sparsiflora* associate with distinct arbuscular mycorrhizal fungal assemblages. Molecular Ecology 17: 3198–3210

Schechter SP, Bruns TD (2013) A common garden test of host-symbiont specificity supports a dominant role for soil type in determining AMF assemblage structure in *Collinsia sparsiflora*. Plos One 8 (2), doi: 10.1371/journal.pone.0055507

Smith SE, Facelli E, Pope S, Smith FA (2010) Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 326: 3–20

Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Cambridge

Sudová R, Pánková H, Rydlová J, Münzbergová Z, Suda J (2014) Intraspecific ploidy variation: a hidden, minor player in plant-soil-mycorrhizal fungi interactions. American Journal of Botany, doi: 10.3732/ajb.1300262

Sýkorová Z, Ineichen K, Wiemken A, Redecker D (2007) The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. Mycorrhiza 18: 1–14

Taylor J, Harrier LA (2001) A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria* ×*ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology 18: 205–215

van der Heijden MGA, Streitwolf-Engel R, Riedl R, Siegrist S, Neudecker A, Ineichen K, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (2006) The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. New Phytologist 172: 739–752

Verbruggen E, van der Heijden MGA, Weedon JT, Kowalchuk GA, Roling WFM (2012) Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. Molecular Ecology 21: 2341–2353

Vivas A, Biro B, Nemeth T, Barea JM, Azcón R (2006) Nickel-tolerant *Brevibacillus brevis* and arbuscular mycorrhizal fungus can reduce metal acquisition and nickel toxicity effects in plant growing in nickel supplemented soil. Soil Biology and Biochemistry 38: 2694–2704

Wagg C, Jansa J, Schmid B, van der Heijden MGA (2011) Belowground biodiversity effects of plant symbionts support aboveground productivity. Ecology Letters 14: 1001–1009

Curriculum vitae: **Pavla Doubková** (pavla.doubkova@ibot.cas.cz)

Education:

- since 2008: Ph.D. study (program Plant anatomy and physiology), Department of Experimental Plant Biology, Faculty of Science of the Charles University in Prague
- since 2005: Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Czech Republic (AS CR), Department of Mycorrhizal Symbioses
- 2004–2005: English and German language study program, Language school ETC, Prague
- 1999–2005: Master´s study (program Geobotany), Department of Botany, Faculty of Science of the Charles University in Prague

Employment:

- since 2011: Živa, journal for popularization of biology, AS CR
- since 2006: Institute of Botany AS CR, Department of Mycorrhizal Symbioses
- 2003–2005: assistant in Pedological laboratory, Department of Botany, Faculty of Science of the Charles University in Prague

Publikace a rukopisy zahrnuté v disertační práci
Publications and manuscripts presented in the Ph.D. thesis

- Doubková P, Suda J, Sudová R (2011) Arbuscular mycorrhizal symbiosis on serpentine soils: the effect of native fungal communities on different *Knautia arvensis* ecotypes. Plant Soil 345:325−338
- Doubková P, Suda J, Sudová R (2012) The symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi contributes to plant tolerance to serpentine edaphic stress. Soil Biol Biochem 44: 56−64
- Doubková P, Vlasáková E, Sudová R (2013) Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates plant drought stress in serpentine soils. Plant Soil 370: 149−161
- Doubková P, Kohout P, Sudová R (2013) Soil nutritional status, not inoculum identity, primarily determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of *Knautia arvensis* plants. Mycorrhiza 23: 561−572
- Doubková P, Sudová R (2014) Nickel tolerance of serpentine or non-serpentine *Knautia arvensis* plants as affected by arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 24: 209−217
- Kohout P, Doubková P, Bahram M, Suda J, Tedersoo L, Voříšková J, Sudová R. Niche partitioning in arbuscular mycorrhizal communities in temperate grasslands: a lesson from adjacent serpentine and non-serpentine habitats

Další publikace/Other publications

- Doubková P (2005): Podmínky uchycování smrku (*Picea abies*) na nekosených loukách ve východních Krkonoších, MS thesis, depon. In: Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague
- Doubková P (2008): Uchycování smrku v opuštěných travních porostech ve východních Krkonoších, Opera Corcontica 45: 69−79
- Sudová R, Doubková P, Vosátka M (2008): Mycorrhizal association of *Agrostis capillaris* and *Glomus intraradices* under heavy metal stress: Combination of plant clones and fungal isolates from contaminated and uncontaminated substrates. Applied Soil Ecology 40: 19−29