

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Bc. Renata Fričová, DiS.

Variabilita znaků arbuskulárně mykorhizních hub
Variability of traits in arbuscular mycorrhizal fungi

Diplomová práce

Vedoucí práce: Mgr. Martina Janoušková, Ph.D.

Konzultant: prof. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení:

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

V Praze, 07.08.2024

Bc. Renata Fričová, DiS.

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala zejména Mgr. Martině Janouškové, Ph.D. za ochotu, laskavý a trpělivý přístup v průběhu celého vedení práce. Zároveň také děkuji prof. RNDr. Janě Albrechtové, Ph.D. za cenné rady a připomínky k této diplomové práci. Dále děkuji celému Oddělení mykorhizních symbióz Botanického ústavu AVČR, zejména pak Mgr. Zuzaně Kolaříkové, Ph.D., RNDr. Janě Rydlové, Dr. a RNDr. Radce Sudové, Ph.D. za odborné rady při vyhodnocování vzorků, Veronice Chroustové a Soně Zvolenské za pomoc při zakládání a sklizni experimentů a Mgr. Jakubovi Skřivánkovi za vedení projektu GA UK a pomoc při realizaci experimentů. Děkuji také svým kamarádům, spolužákům a kolegům, Mgr. Václavu Novákovi a Mgr. Janu Štěpkovi, DiS. za mnoho dobré nálady a oporu v těžkých časech. Zvláštní díky patří mým rodičům, kteří mě podporovali během celého studia.

Finanční podpora:

Projekt GA ČR GA22-06936S „Jak porozumět složení společenstev arbuskulárně mykorhizních hub: od strukturních vlastností k základním a realizovaným nikám“ a GA UK č. 413622 „Reakce arbuskulárně mykorhizních hub na globální změny: porovnání realizovaných a fundamentálních nik“

Abstrakt

Arbuskulárně mykorhizní (AM) houby jsou globálně rozšířené půdní mikroorganismy, které ovlivňují řadu ekosystémových funkcí. S rostlinami vytváří úzký symbiotický vztah, kdy hyfová vlákna AM hub pronikají do primární kůry hostitelské rostliny a vytváří bohatě větvené struktury zvané arbuskuly. Jejich prostřednictvím dochází k intenzivní výměně látek, energie a informací mezi oběma symbionty. V buňkách hostitele mohou vytvářet také tzv. vezikuly, které zřejmě plní zásobní funkci. Kolonizační schopnosti AM hub a znaky jejich mycelia, hyfových vláken schopných kolonizace hostitele, jsou do značné míry ovlivněny biotickými a abiotickými faktory prostředí, jako je druh hostitelské rostliny, přítomnost dalších půdních mikroorganismů, dostupnost fosforu, dusíku a vody či pH půdy.

Hlavním cílem této práce bylo popsat dynamiku rozvoje mycelia vybraných izolátů AM hub, jeho variabilitu v závislosti na hostitelské rostlině a dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu. Za tímto účelem byly provedeny dva nádobové skleníkové experimenty zaměřené na dynamiku rozvoje čtyř druhů AM hub, kolonizaci různých druhů hostitelských rostlin a vliv dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu jako vybraného půdního faktoru na růst mimokořenového a vnitrokořenového mycelia. V prvním experimentu byly zvoleny čtyři druhy hostitelských rostlin s různými fyziologickými znaky – sveřep vzpřímený (*Bromus erectus*), tolíce vojtěška (*Medicago sativa*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*) a čirok dvoubarevný (*Sorghum bicolor*). Založený experiment byl vyhodnocen ve čtyřech odběrech po čtyřech, osmi, dvanácti a osmnácti týdnech s cílem popsat rozvoj AM symbiózy v čase a strukturu vnitrokořenového mycelia různých druhů AM hub. Druhý experiment sledoval kolonizaci kořenů a půdy AM houbami v symbióze s jitrocelem kopinatým na gradientu dusíku v kultivačním substrátu.

V prvním experimentu se dynamika a struktura kolonizace AM houbami lišila jak mezi izoláty, tak v závislosti na druhu hostitelské rostliny. V druhém experimentu měla koncentrace dusíku v kultivačním substrátu výrazný vliv na tvorbu mimokořenového i vnitrokořenového mycelia, avšak růstové optimum obou struktur bylo odlišné. Extrémně nízké hladiny dusíku měly pozitivní vliv na vnitrokořenovou kolonizaci a negativní vliv na mimokořenovou kolonizaci. Extrémně vysoké hladiny dusíku vedly k inhibici vnitrokořenového i mimokořenového mycelia u všech izolátů s výjimkou *R. irregularis*. Práce svými výsledky přispěla k hlubšímu pochopení variability znaků AM hub v závislosti na změnách abiotických a biotických faktorů.

Klíčová slova: arbuskulárně mykorhizní houby, znaky, mycelium, mykorhiza, mimokořenové mycelium, vnitrokořenové mycelium

Abstract

Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are globally distributed soil microorganisms that affect a range of ecosystem functions. They form a close symbiotic relationship with plants, where the hyphae of AM fungi penetrate the primary cortex of the host plant and form richly branched structures called arbuscules. Through these structures, an intense exchange of material, energy and information occurs between the two symbionts. They can also form so-called vesicles in host cells, which appear to have a storage function. The colonization traits of AM fungi and the traits of their mycelium, the hyphal filaments capable of colonizing the host, are largely influenced by biotic and abiotic environmental factors such as the type of host plant, the presence of other soil microorganisms, the availability of phosphorus, nitrogen and water or the soil pH.

The main objective of this study was to describe the dynamics of mycelial development of selected AM fungal isolates, its variability depending on the host plant and nitrogen availability in the cultivation substrate. For this purpose, two containerized greenhouse experiments were conducted to investigate the dynamics of development of four AM fungal species, colonization of different host plant species and the effect of nitrogen availability in the culture medium as a selected soil factor on the growth of extraradical and intraradical mycelium. In the first experiment, four host plant species with different physiological characteristics were selected - *Bromus erectus*, *Medicago sativa*, *Plantago lanceolata* and *Sorghum bicolor*. The established experiment was evaluated in four sampling periods of four, eight, twelve and eighteen weeks to describe the development of AM symbiosis over time and the structure of the intraradical mycelium of different AM fungal species. The second experiment monitored the colonization of roots and soil by AM fungi in symbiosis with *P. lanceolata* on a nitrogen gradient in the culture medium.

In the first experiment, the dynamics and structure of AM fungal colonization varied among isolates and depending on the host plant species. In the second experiment, nitrogen concentration had a significant effect on the construction of extra- and intraradical mycelium, but the growth optimum of the two structures was different. Extremely low nitrogen levels had a positive effect on intraradical colonization and a negative effect on extraradical colonization. Extremely high nitrogen levels resulted in inhibition of both intra- and extraradical mycelium in all isolates except *R. irregularis*. The results contributed to a deeper understanding of the variability of AM fungal properties in relation to changes in abiotic and biotic factors.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi, traits, mycelium, mycorrhiza, extraradical mycelium, intraradical mycelium

Seznam použitých zkratk

AM – arbuskulárně mykorhizní

CMNs - common mycelial networks (sdílené myceliální sítě)

ERM – extraradikální (mimokořenové) mycelium

IRM – intraradikální (vnitrokořenové) mycelium

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1 Cíle práce.....	3
2. Literární úvod.....	4
2.1 Principy fungování mykorrhizy	4
2.2 Znamky mykorrhizních asociací.....	8
2.2.1 Morfologické znamky	10
2.2.2 Fyziologické znamky	13
2.2.3 Fenologické znamky	17
2.2.4 Vliv znamků arbuskulárně mykorrhizních hub na jejich výskyt v prostředí.....	19
3. Materiál a metody.....	23
3.1 Experiment 1.....	23
3.1.1 Materiál	23
3.1.2 Design experimentu	25
3.1.3 Založení, udržování a sklizeň experimentu.....	26
3.2 Experiment 2.....	27
3.2.1 Materiál	27
3.2.2 Design experimentu	27
3.2.3 Založení, udržování a sklizeň experimentu.....	28
3.3 Stanovení rozvoje hub	30
3.3.1 Vnitrokořenové mycelium	30
3.3.2 Mimokořenové mycelium.....	31
3.4 Statistické analýzy	32
4. Výsledky.....	33
4.1 Rozvoj vnitrokořenové kolonizace čtyř druhů rostlin v Experimentu 1.....	33
4.1.1 Rozvoj v čase	33
4.1.2 Dynamika kolonizace jednotlivých druhů AM hub.....	34
4.1.3 Struktura kolonizace jednotlivých druhů AM hub.....	39
4.2 Rozvoj AM hub na gradientu dostupnosti dusíku v Experimentu 2.....	40
4.2.1 Struktura kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku	40
4.2.2 Vnitrokořenová kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku	41
4.2.3 Mimokořenová kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku.....	44
5. Diskuse.....	46
5.1 Rozvoj arbuskulárně mykorrhizní symbiózy	46
5.1.1 Rozvoj AM hub.....	46

5.1.2 Rozvoj na gradientu dusíku v kultivačním substrátu	49
5.2 Metodické aspekty	53
5.3 Shrnutí práce	55
6. Závěr	57
7. Seznam příloh	59
8. Seznam literatury	60

1. Úvod

Znaky organismů (anglicky traits) jsou definovány jako měřitelné charakteristiky morfologického, fyziologického, fenologického, behaviorálního či kulturního potenciálu individua či vyššího populačního řádu (Dawson *et al.*, 2021). Mohou být vyvinuty jako reakce na prostředí s omezenými životními zdroji, nepříznivými klimatickými podmínkami či problematickými podmínkami k rozmnožování (Aroca *et al.*, 2003). Rostliny jsou mnohotvárné organismy, jejichž morfologické znaky jsou dobře rozlišitelné (Grime & Hunt, 1975). V důsledku toho jsou rostlinné organismy vhodně zasazeny do stávajících ekologických konceptů (Stearns, 1989).

Znaky arbuskulárně mykorhizních (AM) hub jsou obtížněji sledovatelné než znaky rostlin. To je dáno především jejich úzkou vazbou na hostitelskou rostlinu, na níž jsou obligátně závislé a bez navázání symbiomy nemohou dokončit svůj životní cyklus (Smith & Read, 2008). Je však zřejmé, že různé druhy AM hub mají odlišné znaky (Pearson & Jakobsen, 1993; Hart & Reader, 2002) a tyto mezidruhové rozdíly mohou ovlivnit celá společenstva hub a rostlin (Hart, Reader & Klironomos, 2001).

Většina ekologických konceptů založených na znacích byla vytvořena pro individuální organismy. Jejich uplatnění či vytváření příslušných paralel k těmto zavedeným konceptům může být obtížné, jedná-li se o organismy definované také znaky asociovaných symbiotických partnerů. Znaky jednotlivých druhů pak mohou v symbióze vznikat, zanikat či se jinak proměňovat na základě charakteristik symbiotického vztahu (Zanne *et al.*, 2020). K velkému pokroku v mykorhizní ekologii založené na znacích vedla aplikace Grimeova konceptu životních strategií C-S-R (competitor - stress tolerator - ruderal) na mykorhizní houby (Grime, 1997; Chagnon *et al.*, 2013). Grimeův koncept životních strategií, původně určený pro rostliny, v této paralele charakterizuje znaky AM hub (např. rychlost růstu hyf a jejich obrat, schopnost disperze, fenologie spor či rychlost přenosu minerálních látek do hostitele) a spojuje je s analogickými znaky rostlin. AM houby se schopností rychlé kolonizace hostitelské rostliny by měly přednostně interagovat s rostlinami s krátkým životním cyklem (Chagnon *et al.*, 2013). Naproti tomu pro pomalé kolonizátory, tzv. kompetitory, jsou výhodnými symbiotickými rostlinami druhy s delším životním cyklem a s vysokými požadavky na fosfor (López-García *et al.*, 2017). Alternativní výzkum Bergmann *et al.* (2020) zaměřující se na hospodaření kořenů s živinami ukazuje, že znaky půdních symbiontů a mykorhizní asociace vysvětlují variace v životních strategiích rostlin, což koreluje s užitím C-S-R konceptu. Vzhledem k úzkému

symbiotickému svazku obou symbiontů jsou tedy znaky arbuskulární mykorhizy určeny znaky AM houby (tj. houbové) nebo znaky obou symbiontů (tj. symbiotické) (Chaudhary *et al.*, 2022).

Současné klimatické podmínky jsou typické nejen výkyvy teplot a srážek, ale také zvýšenou depozicí minerálních látek do biosféry. Evoluční adaptace organismů představuje dlouhodobý proces a působení stresových faktorů může vést ke kompetičnímu vyloučení řady organismů (Kraft, Godoy & Levine, 2015), AM houby nevyjímaje. Je proto důležité porozumět růstovým reakcím AM hub na škále kontrolovaných klimatických podmínek. V jaké míře se do fungování mykorhizy promítají mezidruhové rozdíly AM hub zůstává nejasné. Hlubší pochopení mezidruhové variability znaků AM hub a jejich odpovědí na změny prostředí by napomohlo k lepšímu porozumění fungování rostlinných a houbových společenstev.

1.1 Cíle práce

Hlavním cílem práce bylo popsat dynamiku rozvoje mycelia vybraných izolátů AM hub a variabilitu těchto dat v závislosti na hostitelské rostlině a dostupnosti dusíku v pěstebním substrátu.

Dílčí cíle:

1. Popsat dynamiku rozvoje AM symbiózy a určit, do jaké míry je dynamika rozvoje fenologický houbový či symbiotický znak.
2. Porovnat rozvoj AM hub mezi hostitelskými rostlinami a určit, do jaké míry je struktura vnitrokořenového mycelia v aktivní fázi symbiózy morfologický houbový či symbiotický vztah.
3. Porovnat rozvoj různých izolátů AM hub na gradientu dostupnosti dusíku.

Hypotézy:

1. Dynamika rozvoje AM hub je symbiotický mykorhizní znak určený druhem hostitelské rostliny a morfologickými znaky AM houby.
2. AM houby se liší ve schopnosti kolonizovat hostitelské rostliny. Rozvoj kolonizace hyfami a četnost vezikul jsou mezi různými druhy hostitelských rostlin méně variabilní než četnost arbuskul.
3. Vnitrokořenové a mimokořenového mycelium se liší v odpovědi na dostupnost dusíku v kultivačním substrátu. Extrémně nízké a extrémně vysoké hladiny dusíku inhibují rozvoj obou struktur.

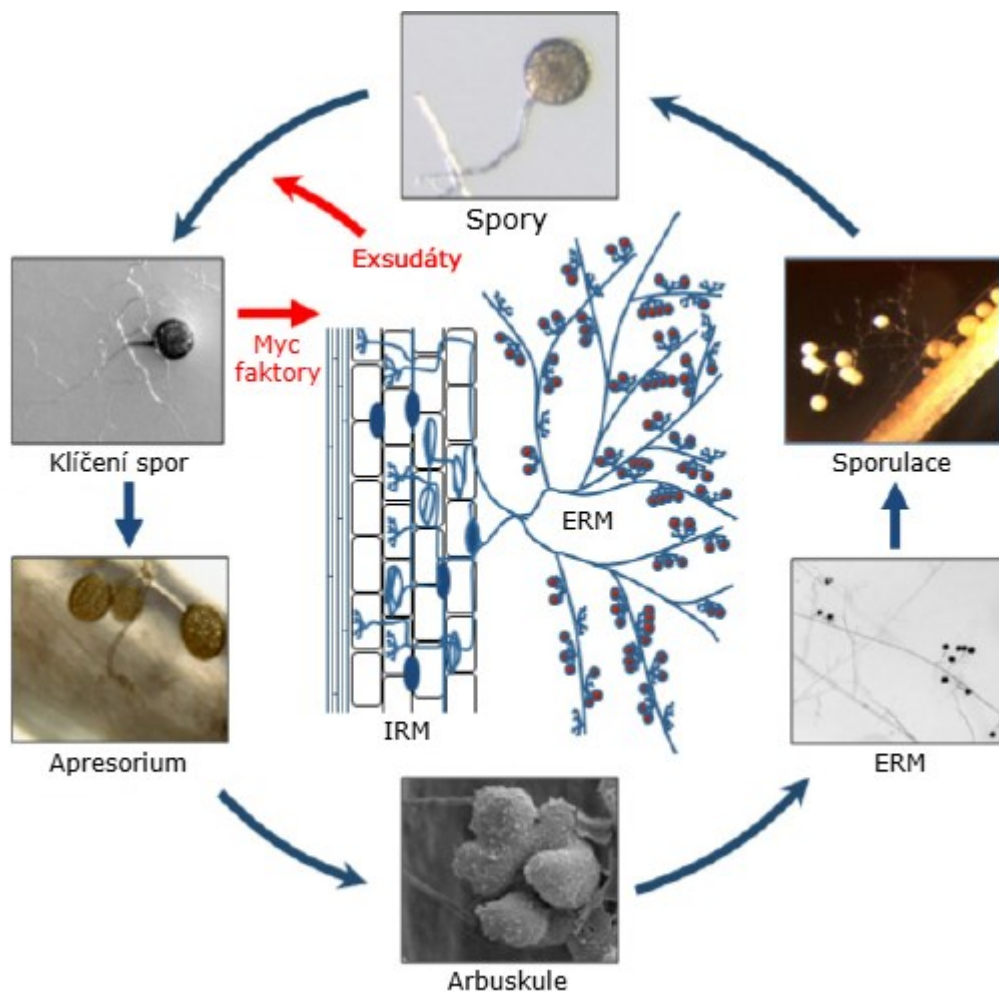
2. Literární úvod

2.1 Principy fungování mykorrhizy

Mykorrhizní symbióza je úzký symbiotický vztah rostlin s určitými skupinami půdních hub, které kolonizují kořeny rostlin. Arbuskulárně mykorrhizní (AM) symbiózu tvoří houby z pododdělení Glomeromycotina s přibližně 80 % cévnatých rostlin, zejména bylinami (Smith & Read, 2008). AM houby jsou na rostlině obligátně závislé a bez navázání symbiózy s hostitelskou rostlinou nemohou dokončit svůj životní cyklus (Gryndler *et al.*, 2004). Rostliny poskytují houbovým partnerům uhlíkaté látky vytvořené v procesu fotosyntézy, a to výměnou za usnadněný příjem minerálních živin (zejména dusíku a fosforu) a vody (Ning & Cumming, 2001). Míra prospěšnosti tohoto vztahu závisí na prostředí a identitě obou symbiontů (Kiers *et al.*, 2011). AM symbióza je známa také svou klíčovou rolí v ekosystémech v důsledku ochrany rostlin před patogeny (Garmendia, Goicoechea & Aguirreolea, 2004; Campos-Soriano, García-Martínez & Segundo, 2012; Veresoglou & Rillig, 2012; Schouteden *et al.*, 2015), zvýšení odolnosti rostlin vůči těžkým kovům (Joner, Briones & Leyval, 2000; Ouziad *et al.*, 2005; Göhre & Paszkowski, 2006), toleranci vůči suchu (Augé, 2001; Voříšková *et al.*, 2019; Püschel *et al.*, 2021), příspěvku k agregaci půdy a zlepšení fyzikálních podmínek půdního substrátu (Augé, 2001; Bitterlich, Franken & Graefe, 2018), vlivu na globální koloběh uhlíku a komplexním vlivům na rostliny a půdní prostředí (Soudzilovskaia *et al.*, 2015; Braghieri *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2024).

Životní cyklus AM hub začíná tvorbou houbových propagulí ve formě klidových spor či oddělených vnitrokořenových či mimokořenových hyf (**Obrázek 1**). Jejich růst je omezený, závislý na zásobních formách uhlíku (triacylglyceridy a glykogen). Mobilizace těchto látek vede k vývoji coenocytických trubiček a poskytuje zdroje pro buněčný anabolismus včetně de novo syntézy chitinové buněčné stěny (Shachar-Hill *et al.*, 1995; Bago *et al.*, 2003; Wipf *et al.*, 2019). Během asymbiotického růstu potřebné cukry vznikají z uskladněných lipidů, dochází k syntéze a degradaci trehalózy, ale také argininu a dalších aminokyselin (Bago *et al.*, 2003). Asymbiotický růst AM houby je udržován po dobu jednoho až dvou týdnů, během kterých mohou zárodečné trubičky dosáhnout až několika centimetrů (Gryndler *et al.*, 2004). Pokud během tohoto omezeného období nedojde k ustanovení symbiózy, AM houby zastavují svůj růst septací zárodečných trubic a jadernou autolýzou, po níž se propagule znovu dostávají do dormantního stavu, z něhož mohou až několikrát opakovaně vyklíčit (Bago, Pfeffer & Shachar-Hill, 2000). Samotné načasování zastavení růstu asymbiotických hyf před úplným vyčerpáním

zásob uhlíku může být strategií, jak zvýšit šance na nalezení vhodného hostitelského kořene ke kolonizaci. Bago, Pfeffer & Shachar-Hill (2000) také uvádí, že metabolismus uhlíku má během asymbiotického růstu rysy na pomezí metabolismu uhlíku vnitrokořenových a mimokořenových hyf v symbiotickém stavu. Navázání symbiotického vztahu mezi AM houbou a rostlinou je zprostředkováno vzájemnou signalizací. Pokud AM houba nalezne vhodného hostitele, vytváří terček (apresorium), specializovanou strukturu, která přilne k povrchu kořene (**Obrázek 1**). Z té vyrůstá jedno či více infekčních vláken, které pronikají rhizodermis do parenchymatických buněk primárního kořene rostliny (Bucking & Ambilwade, 2012).

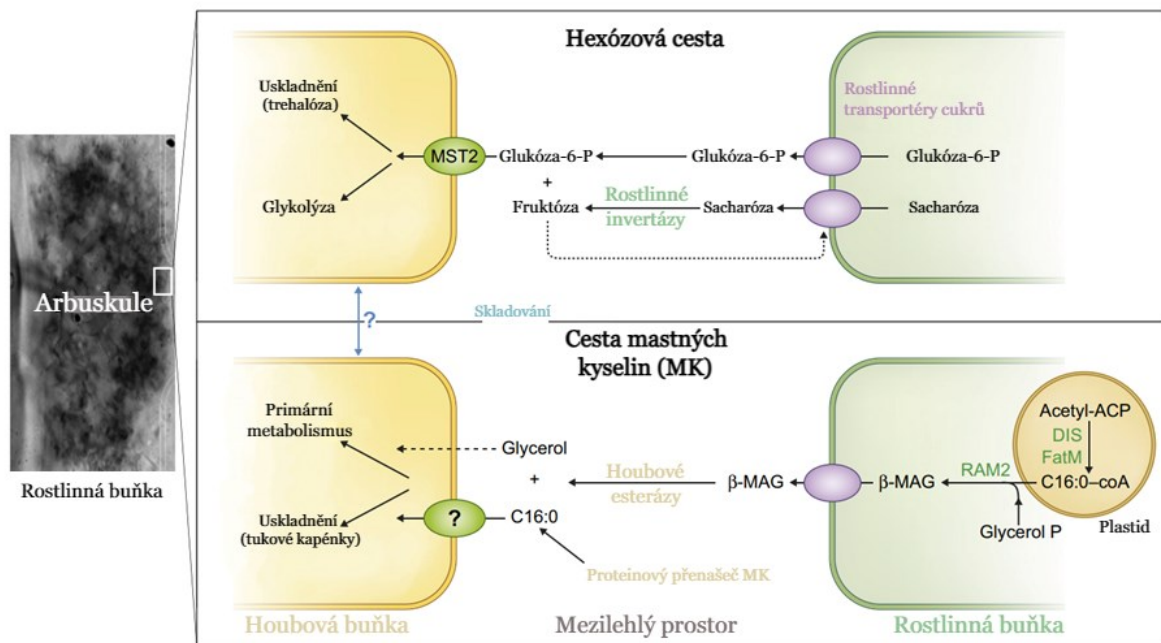


Obrázek 1. Schéma životního cyklu arbuskulárně mykorhizních hub. Klíčící spory produkují Myc-faktory, které mohou být rozpoznány receptory potenciálních hostitelských rostlin, což aktivuje vzájemnou signalizaci AM symbiontů. Pokud AM houba nalezne vhodného hostitele, dochází k diferenciaci buněk apresoria, struktur umožňujících průnik hyf do buňky rhizodermis. Zde hyfy AM hub prorůstají do parenchymatických buněk primární kůry kořene. V symbiotické fázi vnitrokořenové hyfy (IRM) proliferyjí kořenem rostliny, dále se dichotomicky dělí a uvnitř primární kůry kořene pak mohou diferencovat na vezikuly, arbuskuly či spory. Mimokořenové mycelium (ERM) může v půdě produkovat nové spory, čímž uzavírá životní cyklus. Převzato a upraveno z (Bucking & Ambilwade, 2012).

AM houby tvoří během 3–4 dne od penetrace kořene uvnitř parenchymatických buněk primární kůry arbuskuly, keříčkovité útvary tvořené mnohačetně dichotomicky větvenými hyfami. Četnost tvorby arbuskul je ovlivněna zejména dostupností fosforu a dalšími půdními faktory (například pH) a jejich životnost je relativně krátká (Smith & Read, 2008). Při průniku hyfy do parenchymatických buněk primární kůry kořene nedochází k perforaci cytoplazmatické membrány hostitelské buňky. Tím vzniká tzv. interfaciální matrix (mezilehlý prostor) mezi větvemi arbuskuly a periarbuskulární membránou, vychlípenou cytoplazmatickou membránou hostitelské buňky. Mezilehlý prostor odpovídající interfaciální matrix je tedy obklopen perifungální membránou houbové buňky a periarbuskulární membránou hostitelské, rostlinné buňky (Peterson & Massicotte, 2004). Pro tento prostor je charakteristické kyselé pH, za což jsou pravděpodobně zodpovědné rostlinné H⁺-ATPázy lokalizované na periarbuskulární membráně (Gryndler, 2004).

Prostřednictvím arbuskul dochází mezi oběma partnery k intenzivní výměně látek, energie a informací (Gryndler *et al.*, 2004). Některé druhy AM hub vytváří také vezikuly, struktury s vysokou hladinou lipidů a glykogenu, které patrně hrají roli při ukládání živin (Cooper & Lösel, 1978). Mimokořenové mycelium (ERM) pak může v půdě produkovat nové spory.

V symbiotické fázi přijímají AM houby uhlík ve formě hexóz. V případě sacharózy se na přeměně v šestiuhlíkaté fruktózy podílí rostlinné invertázy, zatímco monoacylglycerol (β -MAG) je štěpen na trojsytný alkohol (glycerol) a karboxylovou kyselinu také pomocí esteráz houbového původu (Wipf *et al.*, 2019). Tyto látky AM houby následně využívají k primárnímu metabolismu, glykolýze či uskladnění ve formě glykogenu nebo tukových kapének (**Obrázek 2**). Glykogen tedy v AM symbióze hraje důležitou roli při sekvestraci hexózy přijaté z hostitelské rostliny, dlouhodobém skladování ve sporách, translokaci z vnitřkořenového mycelia (IRM) do ERM a pufrování hladin intracelulární hexózy v průběhu životního cyklu (Bago *et al.*, 2003).



Obrázek 2. Přenos uhlíku ve formě cukrů a lipidů na biotrofičném rozhraní mezi houbovou a rostlinnou buňkou v arbuskulární mykorhize. Mezilehlý prostor odpovídá interfaciální matrix a je obklopen perifungální membránou houbové buňky a periarbuskulární membránou hostitelské, rostlinné buňky. Převzato a upraveno z (Wipf *et al.*, 2019).

Takto přijatý fotosynteticky fixovaný uhlík AM houby přemísťují z kořenů rostlin do IRM i ERM a využívají jej na výstavbu nových struktur (Bago *et al.*, 2003). Pro růst AM houby je proto nutný stálý kontakt s hostitelskou rostlinou. Množství přeneseného uhlíku z rostliny do AM houby může stimulovat vyšší přenos minerálních látek v opačném směru (Bücking & Shachar-Hill, 2005). V symbiotické fázi ERM výrazně zvětšuje absorpční povrch kořenů (Smith & Read, 2008), například v tropické lesní půdě s vysokým obsahem organické hmoty ERM znásobilo délku hostitelských kořenů až třináctkrát, což průměrně odpovídá délce hyf 3,1 m/cm³ (Camenzind & Rillig, 2013) v závislosti na teplotě, pH a dostupnosti minerálních prvků a vody (Van Aarle, Olsson & Söderström, 2002; Heinemeyer *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2015). Symbiotické mycelium přirůstá rychlostí přibližně 3–5 mm za den v závislosti na konkrétním izolátu a podmínkách prostředí (Giovannetti, 2008). Při kontaktu s odumřelým kořenem rostliny je ERM aktivní až dalších pět měsíců dle konkrétního izolátu AM houby a hostitelské rostliny (Pepe, Giovannetti & Sbrana, 2018).

V přírodních ekosystémech je běžné, že je tatáž rostlina kolonizována větším počtem druhů AM hub. Sejný princip platí i opačně – jednotlivé taxony AM hub vstupují do symbiózy s různými druhy rostlin. Může tak docházet ke vzniku spletité hyfové sítě, tzv. „common mycelial networks“ (CMNs), tj. sdílené myceliální sítě (Allen, 1987; Lekberg *et al.*, 2007).

Skrze podzemní hyfovou síť dochází k vzájemné výměně látek mezi rostlinami a houbami (Giovannetti *et al.*, 2004). Účinnost CMNs je ovlivněna řadou faktorů, například dostupností živin, disturbancí prostředí nebo fyziologickými znaky obou symbiontů (Kiers *et al.*, 2011). Systém zpětnovazebných smyček, ať už pozitivních či negativních, může ve svém důsledku ovlivnit kompetici mezi druhy a celkové složení rostlinného i houbového společenstva (Hart, Reader & Klironomos, 2001; Jansa, Smith & Smith, 2008). Druhy AM hub citlivé na stresy přítomné v určitém prostředí budou dané stanoviště osidlovat omezeně či vůbec (Maherali & Klironomos, 2007). Variabilita v těchto znacích a reakcích na kontext prostředí může formovat celá společenstva rostlin i hub (Hart, Reader & Klironomos, 2001).

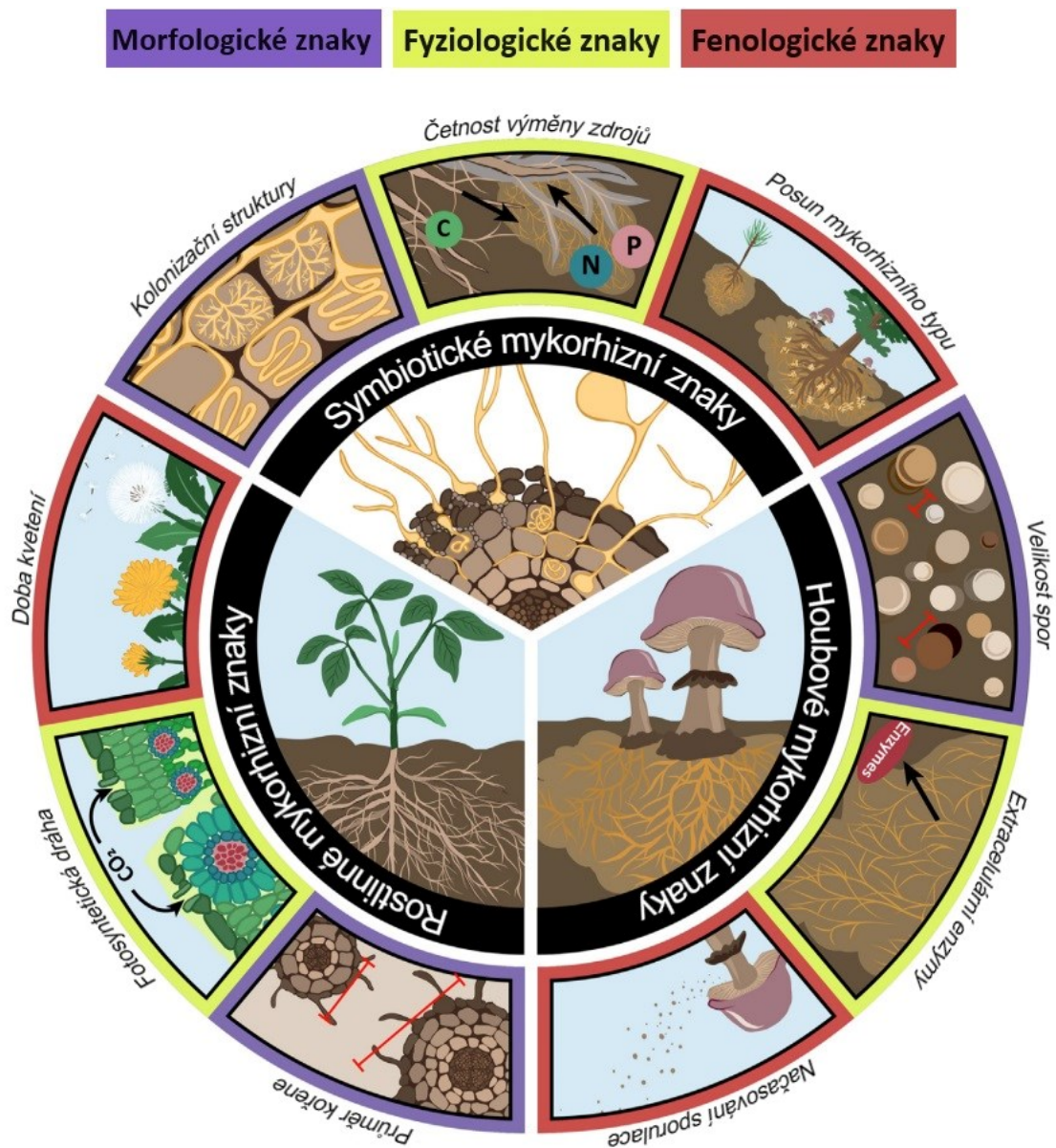
2.2 Znaky mykorhizních asociací

Tradiční taxonomie arbuskulárně mykorhizních hub byla založena především na morfologických a cytochemických znacích spor (Gryndler *et al.*, 2004). Řada genotypů AM hub nesporuluje, což značně omezuje jejich určení do druhu. Molekulárně genetické metody v řadě studií odhalují „skrytou diverzitu“ AM hub (Helgason *et al.*, 2007; Hawksworth & Lücking, 2017; Zanne *et al.*, 2020). Využití molekulární identifikace hub ukazuje, že rozmanitost těchto organismů je výrazně větší, než se dosud předpokládalo. Vzhledem k metodologickým omezením však nejsou popsány jako samostatné druhy, přestože rozdílnosti v sekvencích DNA tomu nasvědčují (Öpik *et al.*, 2009). Studium funkčních znaků je klíčem k zodpovězení důležitých ekologických otázek, neboť umožňuje zkoumat, jak prostředí přímo ovlivňuje či je samo ovlivněno různými organismy na základě jejich znaků. Tento přístup je důležitý zejména v případě taxonomických skupin, u nichž je druhová identita těžko rozpoznatelná (Kraft, Godoy & Levine, 2015).

Terminologie znaků AM hub je dosud neustálená. Rozdíly jsou dány jednak různými morfologickými měřítky a aproximací funkčních měření, na rostlinu orientovanou perspektivou a nesnadnou pozorovatelností (Chaudhary *et al.*, 2022).

Mykorhizní znaky lze rozlišit do tří kategorií – morfologické, fyziologické a fenologické. Mnoho znaků důležitých pro ekologické funkce ekosystému není v případě arbuskulárně mykorhizních hub relevantních (např. exprese specifických enzymů) nebo není možné je realisticky stanovit (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019). Práce autorů Chaudhary *et al.* (2022) poskytuje koncepční pohled na funkční znaky mykorhizních hub. Každé hledisko je zkoumáno z pohledu AM hub, symbiotické rostliny a mykorhizní asociace. Protože znaky organismu se vždy vztahují k individu, autoři se domnívají, že správný popis mykorhizní

symbiózy musí zahrnovat atributy všech výše zmíněných hledisek (Obrázek 3) (Chaudhary *et al.*, 2022).



Obrázek 3. Schematické zobrazení mykorhizních znaků houbových, rostlinných a symbiotických s grafickým znázorněním morfologických, fyziologických a fenologických příkladů znaků. Převzato a upraveno z Chaudhary *et al.* (2022).

Rostlinné mykorhizní znaky jsou v tomto smyslu chápány jako morfologické, fyziologické či fenologické znaky rostlinného symbionta. Příkladem těchto znaků může být morfologie kořene, neboť poskytuje mikrohabitat přítomným půdním symbiontům, dále fotosyntetická dráha či doba kvetení. Houbové mykorhizní znaky jsou morfologické, fyziologické či fenologické znaky houbového symbionta. V tomto kontextu je schéma (Obrázek 3) použitelné pro všechny mykorhizní typy. Mezi tyto charakteristiky může patřit

například morfologie spor, produkce extracelulárních enzymů ovlivňujících půdní prostředí či sporulace a disperze spor. Symbiotické mykorhizní znaky morfologického, fyziologického a fenologického charakteru jsou závislé na obou symbiotických partnerech. Mezi takové patří například míra a frekvence výměny zdrojů – uhlík ze strany rostliny, minerální látky ze strany mykorhizní houby (Kiers *et al.*, 2011). Četnost tvorby vnitrokořenových kolonizačních struktur lze považovat za charakteristiku AM hub (výstavba IRM), ale také za symbiotický mykorhizní znak, neboť například četnost tvorby arbuskul je významně ovlivněna rostlinou (Kubota, McGonigle & Hyakumachi, 2005).

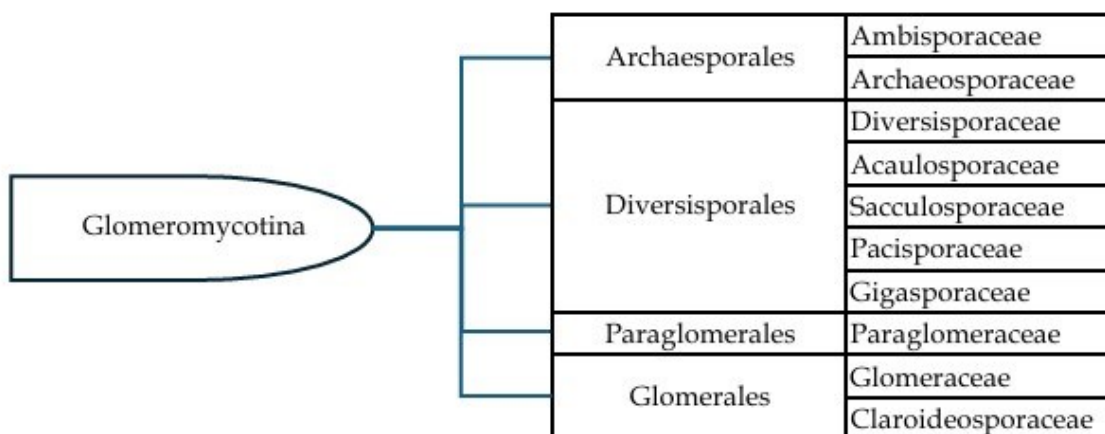
Aby bylo možné propojit znalosti o mykorhizních houbách s odpovědí rostlin na mykorhizu s konkrétními druhy AM hub, je nutné věnovat pozornost takovým rostlinným a houbovým znakům, které mají pro mykorhizní symbiózu funkční důsledky (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019). Pochopení těchto souvislostí přispěje k porozumění mechanismů shromažďování společenstev a predikci ekologických nik.

O důležitých rostlinných, houbových a symbiotických znacích bude pojednáno v následujících kapitolách dle jejich morfologického, fyziologického a fenologického zařazení.

2.2.1 Morfologické znaky

Empirické znalosti o morfologických znacích AM hub jsou mnohdy omezené. Ačkoliv nám mohou monoxenické kultury poskytnout cenné informace o morfologických znacích ERM (Bago, Azcón-Aguilar & Piche, 1998; Declerck *et al.*, 2001), je nutné mít na paměti, že mycelium může v těchto kulturách nabývat jiných znaků než v půdě (Silvani *et al.*, 2014; Kokkoris & Hart, 2019). Morfologické znaky ERM lze z půdních vzorků analyzovat obtížně a kultivace monoxenických kultur s kořeny rostlin na agarovém médiu je možná pouze u několika druhů (Cranenbrouck *et al.*, 2005).

Řada morfologických znaků, jako je velikost a disperze spor či propagace hyfových vláken, je na úrovni čeledí částečně fylogeneticky konzervovaná (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019). V rámci pododdělení Glomeromycotina rozlišujeme čtyři velké řády zahrnující čeledě AM hub tvořících mykorhizní symbiózu s kořeny rostlin – Archaesporales, Diversisporales, Paraglomerales a Glomerales (Spatafora *et al.*, 2016) (**Obrázek 4**).



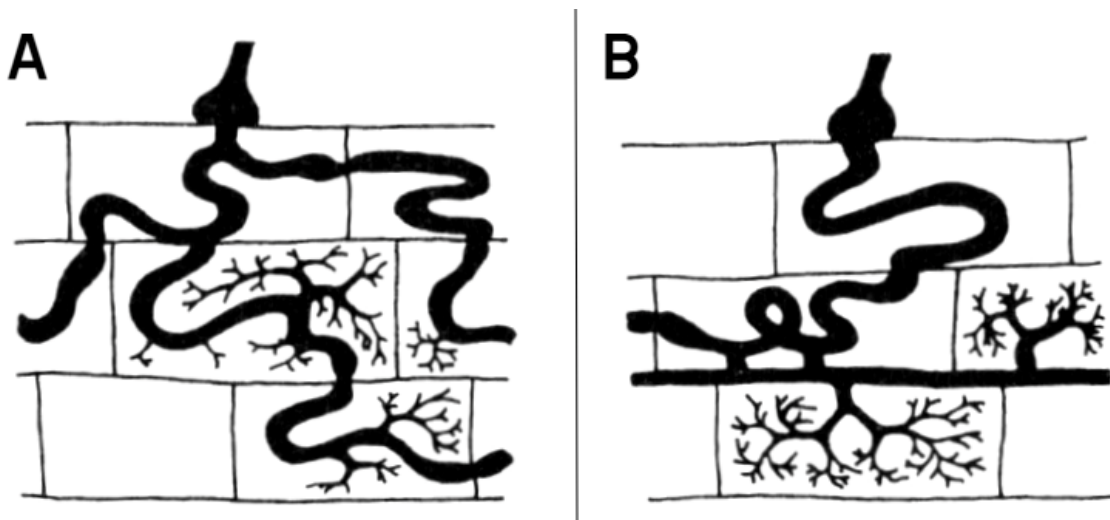
Obrázek 4. Taxonomická klasifikace čeledí pododdělení *Glomeromycotina*, které tvoří mykorhizní symbiózu s kořeny rostlin. Převzato a upraveno ze Spatafora *et al.* (2016).

AM houby čeledí Archaeosporaceae či Paraglomeraceae vytváří spory spíše malé, snadno přenášené vzduchem. Vzhledem k rané divergenci čeledí Archaeosporaceae a Paraglomeraceae je pravděpodobné, že plasticita velikosti spor mezi druhy AM hub se v evoluci vyvinula až později. Mezi velikostí spor a jejich produkcí navíc existuje negativní korelace, která naznačuje, že druhy s malými spory produkují více spor než druhy s velkými spory (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019). To významně ovlivňuje jejich způsob šíření. Přestože jsou spory AM hub přenášeny převážně zoochorií (Allen, 1987; Vašutová *et al.*, 2019), téměř třetina dosud popsáných druhů může být potenciálně anemochorní (Chaudhary *et al.*, 2020). Dalšími morfologickými znaky, které mohou ovlivnit disperzi hub ve vzduchu, je barva, tloušťka stěny či vnější ornamentace (Roper *et al.*, 2008). Melanizace spor může navíc zvyšovat toleranci AM hub k vysokým teplotám či UV záření (Deveautour *et al.*, 2020).

ERM AM hub rozšiřuje absorpční plochu rostlinných kořenů a umožňuje rostlině využívat zdroje mimo dosah kořenového systému (Smith *et al.*, 2011). Jansa, Mozafar & Frossard (2005) ukázali, že rozsah ERM AM houby z velké míry určuje rychlost přenosu minerálních látek do hostitele. Vzhledem k tomu, že množství přeneseného uhlíku z hostitelské rostliny do symbiotické AM houby může stimulovat vyšší přenos látek v opačném směru, mohla by být právě architektura ERM klíčovým znakem v ustanovení dynamiky AM symbiózy. Mezi druhy AM hub jsou v investicích do výstavby ERM značné rozdíly. Zatímco druhy čeledí Acaulosporaceae disponují malým a pomalu rostoucím ERM, mycelium druhů čeledí Gigasporaceae a Glomeraceae je rozsáhlé (Davison *et al.*, 2021). S morfologií ERM může souviset rovněž způsob šíření příslušných taxonů. Fragmenty ERM druhů z čeledí Glomeraceae

a Acaulosporaceae jsou infekčnější než mycelia druhů čeledě Gigasporaceae (Redecker *et al.*, 2013). Zástupci čeledi Gigasporaceae se naopak šíří jen prostřednictvím intaktní sítě mycelia napojené na hostitelskou rostlinu, převážně však prostřednictvím spor (Klironomos & Hart, 2002). Hustá síť ERM může také hrát roli fyzické bariéry, a bránit tak například příjmu těžkých kovů z půdního prostředí (Joner, Briones & Leyval, 2000).

Podoba IRM je obvykle považována za morfologický znak hub. Je však nutné mít na paměti, že četnost vnitrokořenových struktur a jejich výstavba závisí na obou symbiotických partnerech, a lze je tedy pokládat za symbiotické mykorhizní znaky. Druhy čeledi Glomeraceae a Claroideoglomeraceae jsou známé rozsáhlým IRM s rovnými hyfami propojenými anastomózami (De La Providencia *et al.*, 2005). Větvení IRM je naopak typické pro druhy čeledi Gigasporaceae a Acaulosporaceae (de Souza *et al.*, 2005). Četnost a typ arbuskul se liší v závislosti na druhu AM houby, genotypu rostliny a dále pak na dostupnosti fosforu (Smith & Read, 2008). Existují dva morfologické typy kolonizace AM houbami – *Arum* a *Paris* (Gallaud, 1905). Typ *Arum* se hyfami v buňkách hostitele šíří spíše apoplasticky (mezibuněčnými prostory) a obsahuje typické arbuskuly, zatímco typ *Paris* se vyznačuje symplastickým šířením buňkami kořenové kůry (Gryndler *et al.*, 2004), kde tvoří hyfové smyčky (hyphal coils), které mají pravděpodobně funkci arbuskul (**Obrázek 5**).



Obrázek 5. Schematické znázornění morfologických typů kolonizace AM houbami – typ *Paris* (A) a typ *Arum* (B). Převzato a upraveno z Gryndler *et al.* (2004).

Výsledný morfotyp a růst AM houby v buňkách hostitele je dán nejen identitou AM houby, ale především druhem rostliny (Kubota, McGonigle & Hyakumachi, 2005). Například *Rhizophagus irregularis* tvořil v rostlině *Medicago truncatula* morfotyp *Arum*, zatímco v rostlině *Brachypodium distachyon* pouze typ *Paris* (Hong *et al.*, 2012). Některé rostliny

mohou mít v kořenech oba morfotypy kolonizačních struktur v závislosti na konkrétním druhu AM houby (Cavagnaro *et al.*, 2001; Tominaga *et al.*, 2022). Oba morfotypy se běžně vyskytují v ekosystémech, avšak typ *Arum* je častější v ruderálních biotopech. Typ *Paris* je typický spíše pro nenarušená stanoviště (Smith & Read, 2008).

Morfologické znaky rostlin související s rozvojem AM symbiózy jsou dány zejména charakteristikami kořenového systému rostliny, jako je například architektura kořene, jeho průměr, hustota kořenového vlášení či poměr kořene k prýtu a s ním související alokace zdrojů (Maherali, 2014). Rostliny se silným, málo větveným kořenovým systémem mají větší potřebu rozšíření zóny, z níž mohou čerpat zdroje (Sikes, 2010). AM houby o rozdílných morfologických charakteristikách (například rozsah ERM) mohou různě ovlivnit rostlinné funkce v závislosti na znacích dané rostliny. Příkladem je ochrana před kořenovými patogeny, jejíž míra je závislá na druhu AM houby a jejích morfologických znacích (Caccia *et al.*, 2024), stejně jako na kořenových parametrech dané rostliny (Vos *et al.*, 2012). Podle práce Sikes (2010) druhy čeledi Glomeraceae omezovaly patogenní kolonizaci kořenů u všech rostlin, zatímco AM houby z čeledě Gigasporaceae prospívaly zejména rostlinám s jednoduchými kořeny. Je zřejmé, že morfologie kořene rostlin spolu se způsobem růstu AM hub může určit, jak velký význam budou mít určité mykorhizní funkce.

Rozvoj AM symbiózy ovlivňuje také forma růstu rostliny. Rostlinná odpověď na mykorhizu je mimo jiné dána také morfologií a typem stonku (Yang *et al.*, 2016). Studie ukazují, že důležitým morfologickým znakem rostlin, který koreluje s vývojem AM struktur, je rovněž velikost semen. Podle výzkumu Jin *et al.* (2009) průměr semen rostlin z čeledě Fabaceae negativně koreluje s frekvencí kolonizace kořenů AM houbami, tj. rostliny s menšími semeny obsahují v kořenech vyšší podíl kolonizačních jednotek AM hub než rostliny s většími semeny.

2.2.2 Fyziologické znaky

Fyziologické znaky AM hub mohou být reprezentovány rozdílnou náročností hub na uhlík a minerální živiny, rozdílnou přeměnou sacharidů a obratem hyf, schopností tvořit sekundární metabolity (například melanin) či specifickou signalizací. Je pravděpodobné, že AM houby jsou schopny svou fyziologií částečně reagovat na podmínky prostředí. O rozmanitosti těchto reakcí však není příliš známo.

Je potřeba mít na paměti, že fyziologické procesy obou symbiontů jsou výrazně ovlivňovány prostředím. Například obsah melaninu ve strukturách AM hub je považován za funkční znak ve vztahu k abiotickému stresu. Deveautour *et al.* (2020) naznačují, že v aridních

podmínkách jsou selektovány druhy AM hub s vyššími hladinami melaninu, který způsobuje tmavší zbarvení houbových struktur. Zdá se, že právě investice a fyziologie související s tmavším zbarvením struktur AM hub by mohla být spojena s vyšší odolností vůči suchu. Na druhou stranu, v případě stopkovýtrusných hub (oddělení Basidiomycota) byla pozorována rychlejší klíčivost druhů se světlejšími spory (Halbwachs & Bässler, 2015). V prostředí s nepředvídatelnými a vysoce proměnlivými dešťovými srážkami by se potenciálně mohlo jednat o další úspěšnou životní strategii AM hub (Deveautour *et al.*, 2020).

Parvin *et al.* (2020) ukázali odlišný vliv AM hub na hostitelskou rostlinu rovněž v prostředí se zvýšenou koncentrací solí. Cukry působí jako osmotické regulátory a signální molekuly při aktivaci obranných mechanismů proti stresu zasolením. Ošetření rostlin kyselinou salicylovou vede k významnému navýšení kolonizace kořenů AM houbami (Garg & Bharti, 2018), což je patrně způsobeno účinnějším udržováním iontové rovnováhy a modulací metabolismu sacharidů (Quiroga *et al.*, 2018). Zdá se, že AM houby na zvýšenou koncentraci solí reagují intenzivnější produkcí glomalinu – glykoproteinu, který díky svému lepivému charakteru napomáhá k stabilizaci půdní struktury a omezuje tak ztráty vody a živin z půdní hmoty (Hestrin *et al.*, 2019). Práce Dastogeer *et al.* (2020) poukazuje na mezidruhové rozdíly AM hub v účincích na hostitelskou rostlinu, což indikuje rozdílné fyziologické procesy v různých taxonech AM hub. Změny těchto metabolitů napříč druhy AM hub však dosud nejsou známy. Výsledky studie Parvin *et al.* (2020) naznačují, že různé druhy AM hub mají vůči zvýšené koncentraci soli odlišnou odolnost. Specifické druhy AM hub by tak mohly podporovat toleranci rostlin k půdní salinitě a zvyšovat jejich produktivitu zvýšením účinnosti fotosyntézy a omezením příjmu a transportu sodných iontů z kořene do prýtu. Pro pochopení mechanismů tolerance symbiotických interakcí je potřeba identifikace fyziologických znaků AM hub spojených s odolností vůči salinitě.

Různé druhy AM hub mohou odlišně interagovat s fyziologickými procesy v rostlině. Práce Boussageo *et al.* (2022) poukazuje na rozdíly ve fyziologických dráhách výživy rostliny v případě dvou druhů AM hub *Rhizophagus irregularis* a *Funneliformis mosseae*, a to v závislosti na dostupnosti dusíku a fosforu v půdě. Autoři tvrdí, že *F. mosseae* byl v porovnání s *R. irregularis* efektivnější v dodávkách fosforu, ale zároveň vykazoval menší efektivitu v dodávkách dusíku. Tyto rozdíly mohou být dány mykorhizními znaky v morfologii AM hub (jako je podíl IRM a ERM či jeho hustota). Je pravděpodobné, že svou roli hrají také odlišné požadavky jednotlivých druhů AM hub na konkrétní živiny. Lze se domnívat, že různé druhy AM hub mohou v podmínkách s omezenými zdroji uvolňovat živiny z IRM zapojením

odlišných transportérů (Boussageo *et al.*, 2022) či v různé míře ukládat živiny v houbových vakuolách (Ezawa & Saito, 2018). Tyto parametry by mohly představovat fyziologické rysy, které AM houby funkčně odlišují.

Vysoké nároky AM hub na dusík jsou dané vysokou koncentrací dusíku v hyfách, která může u některých taxonů přesahovat 5 % (Hodge & Fitter, 2010). Odlišné požadavky na dostupnost dusíku mezi druhy AM hub mohou hrát klíčovou roli již před započítím symbiotické fáze, při růstu klíčnicích hyf. To může do značné míry omezovat výskyt konkrétních taxonů v určitých environmentálních podmínkách (Treseder & Allen, 2002). Schopnost přetrvávat v prostředí s vysokou depozicí dusíku vykazují izoláty rodu *Glomus*, zatímco druhy čeledi Gigasporaceae disponují spíše malou tolerancí k vysoké koncentraci dusíku (Treseder *et al.*, 2018). Důvodem může být selhání sporulace druhů investujících do velkých a energeticky náročných spor (Egerton-Warburton & Allen, 2000). Tolerance některých taxonů k vysoké koncentraci půdního dusíku by navíc mohla znamenat nižší schopnost poskytovat fosfor hostitelským rostlinám (Treseder *et al.*, 2018). To by představovalo negativní důsledky pro schopnost rostlin získávat fosfor mykorhizní cestou a k omezení čisté primární produktivity ekosystémů. Zheng *et al.* (2014) naopak tvrdí, že AM houby jsou ovlivněny zvýšenou depozicí dusíku především kvůli změněným charakteristikám půdy a částečně modifikovaným společenstvím rostlin, méně pak přímými účinky přidaného dusíku. Podle práce Mueller & Bohannan (2015) může zvýšená koncentrace dusíku vést ke změnám v druhových interakcích, ale nedochází k významným změnám ve společenstvech AM hub. Je možné, že vliv koncentrace dusíku záleží také na srážkách (Chen Y.L. *et al.*, 2017), na vegetační době (Zheng *et al.*, 2014) a konkurenci o uhlík s dalšími mikrobiálními symbionty (Püschel *et al.*, 2017). Rozdílnosti ve fyziologických parametrech AM hub a minerální požadavky jednotlivých druhů mohou hrát klíčovou roli v celkové bilanci minerálních zdrojů.

AM houby jsou obligátní biotrofové a bez uhlíku hostitelské rostliny nemohou dokončit svůj životní cyklus (Smith & Read, 2008). Uhlík je proto hlavním limitujícím faktorem omezujícím růst AM hub (Gryndler *et al.*, 2004). Nároky na živiny obou symbiontů a jejich vzájemná kooperace mohou výrazně ovlivnit míru kolonizace hostitelské rostliny AM houbou (Kiers *et al.*, 2011). Zdá se, že různé druhy AM hub mají odlišné strategie získávání uhlíku. Zatímco *Rhizophagus irregularis* byl popsán jako druh s vysokými nároky na uhlíkaté látky, *Claroideoglossum claroideum* má požadavky na uhlík menší (Jansa, Mozafar & Frossard, 2005; Lendenmann *et al.*, 2011). To se promítá také do jejich nákladů na fosfor poskytnutý hostitelské rostlině – *R. irregularis* dodává hostiteli větší množství půdního fosforu než *C. claroideum*

(Thonar *et al.*, 2011). Zajímavý paradox byl pozorován u druhu *Gigaspora margarita*, který kladl vysoké požadavky na uhlík, avšak poskytoval signifikantně menší množství fosforu než *C. claroideum* (Lendenmann *et al.*, 2011). Tyto rozdílnosti mohou být spojeny s fyziologickými znaky AM hub jako je vývoj mycelia, účinnost absorpce fosforu ERM a translokace fosforu do kořenů rostlin (Jansa, Mozafar & Frossard, 2005). Ačkoli žádná z uvedených publikací neprokázala vliv na růstovou odpověď rostliny, dostupné informace poukazují na širokou funkční diverzitu mezi AM houbami.

Obsah půdních minerálních látek úzce souvisí s hodnotou pH. Lze předpokládat, že AM houby mohou mít odlišnou toleranci k nízkému pH půdy (Van Aarle, Olsson & Söderström, 2002). Podle práce Davison *et al.* (2021) mají zástupci čeledí Gigasporaceae a Archaeosporaceae optimální pH posunuté do kyselejší oblasti. To podporuje také práce (Feng *et al.*, 2023), která ukazuje pozitivní reakci rodu *Gigaspora* na snižujícím se gradientu pH, zejména pak ve tvorbě arbuskul. Naproti tomu druh *R. irregularis* v kyselém pH spolu se sníženou akumulací fosfolipidových mastných kyselin tvorbu arbuskul výrazně inhiboval. Práce Oehl *et al.* (2017) představuje rozdílná růstová optima jednotlivých druhů AM hub pozorovaných na pastvinách a na zemědělských půdách v závislosti na pH. Zdá se, že druh *F. mosseae* se přirozeně vyskytuje v půdách s vyššími hodnotami pH, zatímco druh *Acaulospora paulinae* se přirozeně v půdách s pH vyšším než 7 nevyskytuje vůbec. Práce autorů Joner & Johansen (2000) ukazuje, že optimální pH druhů *R. irregularis* a *C. claroideum* z hlediska aktivity alkalické fosfatázy, enzymu napomáhajícímu transportu anorganických fosfátů přes buněčnou stěnu, je 5,2–5,6. Největší druhové bohatosti AM houby dosahují při pH mezi 5,3 a 6,4, přičemž s hodnotou pH pozitivně koreluje především hustota spor (Oehl *et al.*, 2017). Je otázka, do jaké míry jsou tyto výsledky dány přímými znaky organismů a jakou roli hraje mezidruhová kompetice. Jedním z fyziologických znaků, který by mohl být za kompetiční výhodu určitých skupin AM hub zodpovědný, je lepší hospodaření s lipidy a úspěšnější tvorba arbuskul v prostředí s nízkým pH (Feng *et al.*, 2020). Pro hlubší pochopení této problematiky by bylo zapotřebí výzkumu zkoumajícího růstovou reakci jednotlivých druhů AM hub na gradientu pH.

Lze se domnívat, že extraradikální hyfy AM hub přímo reagují na teplotní odezvy okolí (Barrett, Campbell & Hodge, 2014). Podle práce Bunn, Lekberg & Zabinski (2009) se úroveň kolonizace a celková délka mimokořenových hyf s teplotou zvyšuje. Dosud však nejsou známa teplotní optima jednotlivých druhů AM hub.

Vliv AM hub na růst a ochranu rostlin při působení abiotických a biotických stresorů lze zařadit mezi symbiotické fyziologické znaky, neboť se na něm podílejí oba symbionti. Rostliny jsou proti stresu různě odolné, zatímco AM houby napomáhají s aktivací mechanismů obrany proti býložravcům jak konstitutivním, tak indukovatelným způsobem, což rovněž vede ke sníženému poškození hmyzem (Selvaraj & Thangavel, 2021). Jednotlivé druhy AM hub se v účincích na symbiotické rostliny pod vlivem stresu liší (Veresoglou & Rillig, 2012). Je pravděpodobné, že rozdílný vliv druhů AM hub na ochranu rostlin je daný rozdílnostmi v jejich metabolismu a náročností na živiny (Campos-Soriano, García-Martínez & Segundo, 2012).

Mezi rostlinné fyziologické znaky patří zejména fotosyntetická dráha, jejímž prostřednictvím rostliny získávají uhlík. Ukazuje se, že C3 a C4 rostliny se liší v citlivosti na mykorhizu, stejně tak jako rostliny se schopností fixovat dusík. Dusík fixující luční byliny, C4 traviny a dusík nefixující dřeviny na mykorhizu reagují nejlépe (Yang *et al.*, 2016). Jiný úhel pohledu přináší práce Řezáčová *et al.* (2018), která zkoumá účinek CMNs na C3 a C4 rostliny v rozdílných teplotách a přichází se zjištěním, že C3 rostliny dodávají do CMNs uhlíkaté látky v konstantní míře, a to navzdory omezenému růstu ve zvýšených teplotách, a tím i sníženému množství vnitrokořenových struktur AM hub. Jaké houbové a symbiotické fyziologické mechanismy jsou v těchto případech zapojeny, zůstává nezodpovězeno.

Jednotlivé skupiny znaků jsou propojené a je obtížné stanovit, zda jsou některé symbiotické projevy způsobeny morfologickými či fyziologickými znaky AM hub. Pro hlubší porozumění těmto problematikám je potřeba dalšího výzkumu zaměřeného na konkrétní fyziologické znaky AM hub a jejich proměnlivost v odlišném prostředí v symbióze s různými druhy hostitelských rostlin.

2.2.3 Fenologické znaky

Fenologické znaky související s AM houbami a rostlinami jsou nejméně prozkoumaným spektrem parametrů důležitým pro symbiotický vztah obou partnerů (Chaudhary *et al.*, 2022). Životní cyklus AM hub se může lišit v mnoha ohledech, ať už jde o rychlost růstu hyf, jejich obrat či rychlost a délku sporulace (Sýkorová *et al.*, 2007; Oehl *et al.*, 2009). Tyto znaky mohou do značné míry definovat životní strategie AM hub. Výzkumy zabývající se dynamikou rozvoje hub, časovými posuny kolonizačních struktur a jejich dlouhověkostí jsou složité a časově náročné.

Aktivita struktur IRM klesá s délkou symbiózy a liší se v závislosti na konkrétním druhu AM houby (Boddington & Dodd, 1998). To je spojováno s nižší hustotou mitochondrií, jejichž

četnost je obvykle vyšší v mladých rostoucích mimokořenových hyfách (Besserer *et al.*, 2006). Nejsou však k dispozici žádné informace o hustotě nebo distribuci mitochondrií ve vnitrokořenových houbových strukturách jako jsou intraradikální hyfy, arbuskuly či vezikuly (Krak *et al.*, 2012). Při sledování aktivity IRM jsou proto výzkumy obvykle svázané s aktivním barvením alkalickou fosfatázou (APL) (Boddington & Dodd, 1998; Kjøller & Rosendahl, 2000; Hu *et al.*, 2015) či sukcinátdehydrogenázou (SDH) (Tawaraya *et al.*, 1994; Abdel-Fattah, 2001; Kobae *et al.*, 2017). S využitím qPCR autoři Voříšková *et al.* (2019) zjistili, že druhy AM hub se ve vitalitě mycelia liší, přičemž nejvyšší schopnost vytrvat v systému ve vysoké abundanci vykazuje druh *R. irregularis*. To je rovněž podpořeno předešlými studiemi, které zařazují tento druh jako vysoce infekční a odolný vůči disturbancím prostředí (Chagnon, Bradley & Klironomos, 2015; Zubek *et al.*, 2015; Majewska, Rola & Zubek, 2017; Püschel *et al.*, 2019). Bylo také ukázáno, že vitalita vnitrokořenových struktur druhů *R. irregularis* a *C. claroideum* v čase rychle klesá (Thonar, 2009; Janoušková *et al.*, 2013; Voříšková *et al.*, 2017). Zdá se, že rychle rostoucí a málo životaschopné mycelium těchto druhů je rychle nahrazováno novými strukturami, zatímco pomalu rostoucí druhy disponují myceliem o delší životnosti (Voříšková *et al.*, 2017).

Bylo rovněž prokázáno, že AM houby se liší ve sporulační dynamice (Pringle & Bever, 2002), což zřejmě souvisí i s disperzí AM hub ve vzduchu (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019; Chaudhary *et al.*, 2020). Časové posuny ve sporulaci AM hub jsou spojeny s fenologií rostlinných hostitelů a dalšími proměnnými prostředí, jako je půda a stanoviště, teplota a srážky (Liu *et al.*, 2009). V tomto smyslu je často uvažována závislost sporulace spor na sezóně, přičemž sezónní sporulační vzorce se u různých druhů liší. Příkladem může být rozdílná sporulační dynamika zástupců rodu *Acaulospora* a *Gigaspora*. Zatímco *Acaulospora* sporuluje častěji v teplém období, *Gigaspora* preferuje chladnější teploty (Pringle & Bever, 2002). To napovídá, že pro efektivní sporulaci AM hub rodu *Gigaspora* je potřeba chladové dormance, kterou jiné druhy nevyžadují (Juge *et al.*, 2002). V rámci rodu *Rhizophagus* byla pozorována vysoká vnitrodruhová rozmanitost čítající od žádné přes osmdesát generací spor během pěti týdnů (Kokkoris & Hart, 2019). Rozdílná dynamika sporulace spolu s kontrastní sezónní reakcí AM druhů může usnadnit udržení rozmanitého společenstva AM hub.

Životní strategie rostlin a jejich forma růstu jsou hlavní fenologické znaky, které spoluurčují vývoj AM symbiózy (López-García, Azcón-Aguilar & Barea, 2014). Práce Primieri *et al.* (2022) ukazuje, že fenologie rostlin může hrát roli při ustanovení dynamiky AM symbiózy zejména v případě synergického vztahu s dalšími organismy. Vytrvalé rostliny v symbióze

s AM houbami a gramnegativními bakteriemi rodu *Rhizobium* vykazovaly větší nárůst biomasy než rostliny jednoleté. Inokulace rostlin AM houbami může zvýšit abundanci kořenových hlízek, ale podle dosavadních výzkumů není kolonizace AM hub přítomností těchto bakterií zvýšena (Larimer, Clay & Bever, 2014; Primieri *et al.*, 2022). Investice a načasování kvetení rostliny je navíc podmíněno biotickými i abiotickými faktory. Podle Liu *et al.* (2018) doba prvního kvetení rostlin při nízké hladině fosforu negativně koreluje s kolonizací kořenů AM houbou. Účinky AM hub na fenologii kvetení hostitelské rostliny a alokaci biomasy se významně liší v závislosti na druhu AM houby (Liu *et al.*, 2018; Bennett & Meek, 2020). Je zřejmé, že životní strategie rostlin do značné míry ovlivňují kolonizaci rostlin AM houbou.

Struktury AM hub se mění v závislosti na ontogenetickém stádiu rostliny, roční době, půdním prostředí a abiotických faktorech (Lekberg *et al.*, 2007; López-García, Azcón-Aguilar & Barea, 2014). Funkční rozmanitost společenstev je úzce spojena s morfologickými a fyziologickými znaky rostlin i AM hub (López-García *et al.*, 2017) a pro hlubší porozumění této problematice je potřeba dalších dlouhodobých experimentů.

2.2.4 Vliv znaků arbuskulárně mykorhizních hub na jejich výskyt v prostředí

Řada studií uvádí inhibici rozvoje AM symbiózy při vysokých hladinách půdního fosforu (Colla *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2018) a dusíku (Antoninka, Reich & Johnson, 2011; Chen *et al.*, 2020), nízkých teplotách (Heinemeyer & Fitter, 2004) a extrémních hodnotách pH (Van Aarle, Olsson & Söderström, 2002; Feng *et al.*, 2020). Jednotlivé druhy AM hub se liší v toleranci nepříznivých podmínek, biotických i abiotických. Ekologie založená na znacích organismů umožňuje propojení gradientů prostředí s distribucí druhů prostřednictvím funkčních znaků (McGill *et al.*, 2006). Taxonomické zaměření na druhovou identitu organismů s sebou nese řadu problémů, zejména u organismů, u nichž je zařazení do nižších taxonomických skupin obtížné, jako je tomu např. u AM hub. Posun od tohoto přístupu k hodnocení omezeného počtu vhodně zvolených znaků by umožnilo srovnávat odezvy znaků na prostředí a naopak.

AM houby se souborem znaků rychlých kolonizátorů, jako je vysoká produkce spor v krátkém časovém horizontu či extenzivní šíření ERM, dominují v raných fázích ekosystému (Hart, Reader & Klironomos, 2001). Naproti tomu pozdější sukcesní stádia vyžadují toleranci ke špatně dosažitelným či jinak omezeným zdrojům (Sýkorová *et al.*, 2007). Schopnost AM hub rychlé reprodukce a kolonizace prostředí se s tolerancí ke špatně dosažitelným zdrojům do jisté míry vylučují. To může ovlivnit celkovou sukcesní dynamiku ekosystémů. Podle práce López-García *et al.* (2014) v pozdních stádiích sukcese přetrvávají pouze zástupci čeledě

Glomeraceae, zatímco jiné druhy (čeledi Archaeosporaceae, Diversisporaceae či Acauosporaceae) jsou typické pouze pro rané fáze ekosystémů. To může souviset s rychlostí růstu hyf či s rychlou sporulací. De Souza *et al.* (2005) postulují, že ERM zástupců čeledě Gigasporaceae roste rychleji, pokud kořeny hostitelské rostliny ukončí svůj růst. To by nasvědčovalo, že druhy čeledi Gigasporaceae disponují variabilitou rychlosti růstu hyf a budou tvořit efektivnější symbiózu s rostlinami o delším životním cyklu, tj. v pozdějších sukcesních stádiích.

Na druhou stranu, schopnost efektivního přetrvání v prostředí může být do určité míry dána nejen rychlostí kolonizace, ale také sporulační dynamikou AM hub (Liu *et al.*, 2009). Zatímco velké spory často vyžadují specifické podmínky pro sporulaci (Juge *et al.*, 2002; Pringle & Bever, 2002), malé spory sporulují převážně rychle (Souza, 2005; Kokkoris & Hart, 2019). Druhy s malými sporama se navíc mohou snáze šířit vzduchem a rychleji obsadit nový životní prostor (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019), v němž je posléze pro jiné druhy AM hub obtížnější se prosadit (Pringle & Bever, 2002). Složení společenstev AM hub přítomných ve vzduchu by mohlo být závislé na sezónních sporulačních vzorcích specifických druhů přítomných v okolních půdách, což rovněž vysvětluje, proč určité druhy AM hub ve vzduchu dominují v různých obdobích roku (Lee *et al.*, 2006; Chaudhary *et al.*, 2020). Lepší pochopení druhově specifického šíření AM hub by navíc zlepšilo naši schopnost manipulace s AM symbiózou v přirozených i umělých ekosystémech a zefektivnilo využití inokulantů AM hub (Hart *et al.*, 2018).

Bylo prokázáno, že druhy AM hub se významně liší ve svých účincích na růst a ochranu symbiotických rostlin proti biotickým a abiotickým stresorům (Sikes, 2010; Veresoglou & Rillig, 2012; J. Chen *et al.*, 2017), což do značné míry souvisí s jejich morfologickými a fyziologickými znaky. AM houby náročné na uhlík hůře probouzí obrannou odpověď rostlin (Frew & Wilson, 2021) a mohou hostitelské rostlině dodávat méně minerálních živin (Frew *et al.*, 2022). Celkový výsledek závisí na fyziologických znacích AM hub, genotypu rostliny a faktorech prostředí. Příklad kombinace uvedených faktorů uvádí práce Borowicz (2013), která ukazuje rozdílný vliv druhů *R. irregularis* a *F. mosseae* na herbivorní účinek a růst rostliny. Zatímco *R. irregularis* zhoršil poškození rostlinné biomasy herbivory a zároveň výrazně navýšil růst rostlin, inokulace *F. mosseae* měla opačný efekt. Účinky obou AM hub navíc nejsou aditivní. To otevírá prostor pro otázku, zda by indukované zvýšení odolnosti rostliny mohlo být způsobeno snížením kvality rostliny jako potravy, což pak vede ke zvýšení její spotřeby. Podle práce Frew & Wilson (2021) se rozdílné účinky různých druhů AM hub promítají do odlišných

koncentrací listových fenolických látek. Klíčovou roli pak hraje především diverzita AM hub (Frew *et al.*, 2022), což rovněž podporuje předpoklad odlišného účinku jednotlivých druhů AM hub na odolnost rostlin. Mezidruhové rozdíly účinku AM hub na růst a obranu rostlin se liší v závislosti na přítomnosti býložravců, stejně tak jako na tom, zda mohou AM houby poskytovat další ekologické služby, jako je přitahování opylovačů nebo spásáčů (Pineda *et al.*, 2013). Rozdílná složení AM společenstev mohou mít odlišný vliv na koloběh živin v závislosti na rozdílných stanovištích. Ačkoli je složení společenstev do jisté míry řízeno stochastickými procesy, jako je speciace, mortalita a disperze (Hubbell, 2001), v některých ohledech může být složení AM houbových společenstev určeno odlišnou odpovědí na různé podmínky prostředí.

Teplota a množství srážek jsou vědci považovány za jedny z nejdůležitějších abiotických faktorů, které ovlivňují rozšíření AM hub (Davison *et al.*, 2021). Změna klimatu směrem k vyšším teplotám může prioritizovat skupiny AM hub s většími sporami, které jsou tvořeny metabolicky nákladnými sloučeninami (Davison *et al.*, 2021). Zda teplotní stres a kompetiční znevýhodnění skupin AM hub s nižším teplotním optimem povede k jejich lokálnímu vymizení, zůstává neznámé.

V posledních letech zaznamenáváme významně zvýšenou depozici dusíkatých látek do biosféry (Galloway & Cowling, 2002). Nárůst dusíku v ekosystémech je způsoben spalováním fosilních paliv a nadměrným užíváním hnojiv v zemědělství (Galloway & Cowling, 2002). Zvýšený příjem dusíku rostlinami také ovlivňuje jejich asimilační procesy a celkovou bilanci uhlíku. Fixovaný uhlík je přednostně využit na zpracování dusíku v kořenu, neboť by se mohl pro rostlinu stát toxickým (Bücking & Kafle, 2015). Množství uhlíku poskytnutého kořenovým symbiontům tak může být podstatně menší. Koncentrace půdního dusíku je jedním z faktorů, který hraje významnou roli při utváření společenstev AM hub (Treseder *et al.*, 2018). Podle práce Davison *et al.* (2021) má většina AM hub optimum v nižších hodnotách koncentrace dusíku, s výjimkou zástupců z čeledi Acaulosporaceae. Zvýšená koncentrace dusíku by mohla znamenat další lokální vymizení četného množství AM houbových druhů. Je však potřeba mít na paměti, že vysoký obsah půdního dusíku úzce souvisí s nízkým pH půdy. AM houby mají zřejmě odlišnou toleranci k nízkému pH půdy (Treseder *et al.*, 2018). To také potvrzuje práce Davison *et al.* (2021), která uvádí, že zástupci čeledí Gigasporaceae a Archaeosporaceae mají optimální pH posunuté do kyselejší oblasti. Zvýšený obsah půdního dusíku vede ke zvýhodnění druhů AM hub s menšími, energeticky úspornějšími sporami (například zástupce čeledě Acaulosporaceae) (Egerton-Warburton & Allen, 2000). Výzkumy zabývající se přirozeným

výskytem AM hub v různých podmínkách prostředí jsou významně ovlivněny konkurencí mezi organismy. Do jaké míry jsou výsledky prací dány znaky organismů je nejasné.

Znalost o šíři tolerance AM houbových druhů k různým abiotickým stresorům je nezbytná k porozumění jejich rozšíření v přírodních ekosystémech. Pochopení procesů udržujících druhovou rozmanitost je ústřední ekologickou problematikou. Rozdíly ve znacích mohou podporovat funkční diverzitu ekosystému, ale také vlivem rozdílné biologické zdatnosti (tzv. fitness) vést ke kompetičnímu vyloučení (Kraft, Godoy & Levine, 2015). Odhadnutí dynamiky těchto vnitrodruhových i mezidruhových vztahů a jejich následků pro ekosystém je komplikovanou výzvou pro budoucí výzkum.

3. Materiál a metody

Byly založeny dva kultivační experimenty zaměřené na rozvoj kolonizace pěti izolátů AM hub. Cílem prvního experimentu bylo pozorovat znaky AM hub v symbióze se čtyřmi druhy rostlin a popsat vývoj těchto znaků v čase. Druhý experiment si kladl za cíl sledovat rozvoj AM hub na gradientu dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu.

Jednalo se o rozsáhlé experimenty v rámci projektů GA ČR GA22-06936S „Jak porozumět složení společenstev arbuskulárně mykorhizních hub: od strukturních znaků k základním a realizovaným nikám“ a GA UK č. 413622 „Reakce arbuskulárně mykorhizních hub na globální změny: porovnání realizovaných a fundamentálních nik“, do jejichž realizace byl zapojen celý projektový tým. Mým úkolem bylo zpracování vzorků a vyhodnocení parametrů, které jsou obsahem této diplomové práce. Podílela jsem se také na založení a sklizních obou experimentů a měla jsem na starosti udržování (tj. pravidelnou zálivku a její přípravu) Experimentu 2, viz kap. 3.2.3.

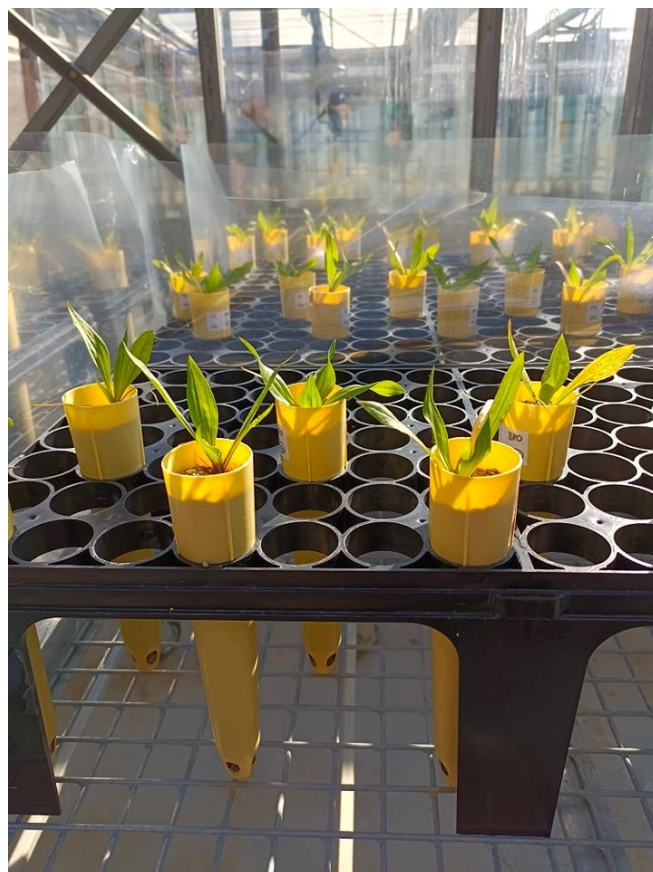
3.1 Experiment 1

3.1.1 Materiál

Byly použity čtyři druhy rostlin: vojtěška setá *Medicago sativa* cv. MAGDA C, jitrocel kopinatý *Plantago lanceolata* cv. LIBOR, sveřep vzpřímený *Bromus erectus* a čirok dvoubarevný *Sorghum bicolor* cv. RUZROK. V případě vojtěšky, jitrocele a čiroku byly použity komerčně pěstované odrůdy, zatímco semena sveřepu byla získána od firmy Planta Naturalis¹. Jmenované rostliny zastupují různé skupiny rostlin, které se liší v odpovědi na mykorhizu (Janos, 2007; Hoeksema *et al.*, 2010). *M. sativa* a *P. lanceolata* jsou hemikryptofytní polykarpické vytrvalé neklonální byliny, zatímco *B. erectus* je klonální travina odolná vůči stresu a méně senzitivní k mykorhize. *S. bicolor* je terofytní C4 obilnina. *M. sativa* tvoří symbiózu s hlízkovými bakteriemi rodu *Rhizobium*, tedy dusík fixujícími bakteriemi.

Rostliny byly naklíčeny v Petriho miskách vystlaných filtračním papírem a zavlažovány destilovanou vodou. Klíčící rostliny byly průběžně přesouvány do nových Petriho misek na filtrační papír. Ve chvíli, kdy rostliny disponovaly dvěma pravými listy, byly zasazeny do experimentu. Rostliny byly kultivovány v kónických nádobách o objemu 164 ml výrobce Stuewe & Sons, Inc. (**Obrázek 6**).

¹ Rostliny pěstované firmou Planta Naturalis (www.plantanaturalis.com) jsou pěstovány na nehojených polích. Semena jsou posléze sbírána z konkrétních lokalit.



Obrázek 6. Kónické nádoby (Ray Leach „Cone-tainers“) o objemu 164 ml výrobce Stuewe & Sons, Inc.

Pro experiment bylo vybráno pět izolátů AM hub reprezentujících druhy z různých fylogenetických skupin: *Rhizophagus irregularis* PH5 (Walker & Schuessler, 2010), *Funneliformis mosseae* BEG95 (Walker & Schuessler, 2010), *Gigaspora margarita* BEG34 (Becker & Hall 1976), *Claroideoglomus claroideum* BEG23 (Walker & Vestberg, 1998) a *Acaulospora tuberculata* BEG41 (Janos & Trappe, 1982). Lze předpokládat, že se uvedené AM houby liší v rychlosti rozvoje, kolonizačních schopnostech a četnosti tvorby vnitrokořenových struktur (Hart & Reader, 2002; Powell *et al.*, 2009; Koch *et al.*, 2017). Pro tento účel byla využita sbírka izolátů AM hub z Oddělení mykorhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR. Izoláty byly napěstovány jako čisté kultury ve sterilizovaném inertním substrátu zeolitu a písku v poměru 1:1 na hostitelských rostlinách kukuřice seté (*Zea mays*) a stužkovce (*Desmodium sp.*).

Kultivační substrát byl tvořen směsí zeolitu a písku s příměsí 10 % půdy z ovocného sadu na pozemku Botanického ústavu v Průhonicích s nízkou dostupností fosforu. Znaky této půdy jsou shrnuty v **Tabulka 1**. Všechny použité složky substrátu byly sterilizovány – zeolit a písek klávkováním (při 121 °C po dobu 30 minut), půda gama-ozářením (>25 kGy). Výsledný substrát byl směsí písku, zeolitu a půdy v poměru 4,5 : 4,5 : 1.

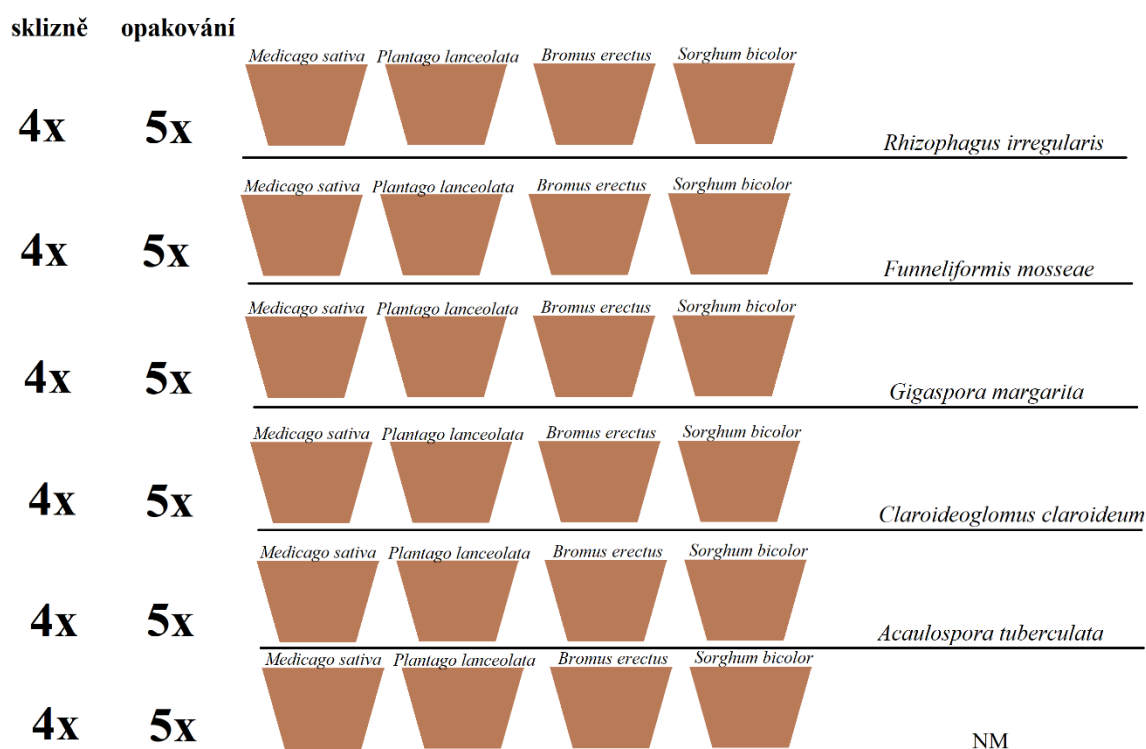
pH akt. [H ₂ O]	pH vým. [KCl]	P (Mehlich III) mg/kg	N tot. %	C tot. %	sušina %	Ca (Mehlich III) mg/kg	Mg (Mehlich III) mg/kg
6,32	5,64	36,36	0,24	2,31	96,86	2473,15	189,60

Tabulka 1. Znaky sadové půdy, která byla použita jako příměs do kultivačního substrátu.

3.1.2 Design experimentu

V prvním experimentu byly sledovány znaky pěti izolátů AM hub v symbióze se všemi čtyřmi druhy rostlin a jejich dynamika v čase. Sledování dynamiky AM symbiózy v čase probíhalo prostřednictvím čtyř naplánovaných sklizní – po čtyřech, osmi, dvanácti a osmnácti týdnech.

Během čtrnácti dnů bylo v etapách založeno čtyři sta osmdesát nádob po čtyřech druzích rostlin, s pěti inokulačními variantami (čtyři druhy AM hub a neinokulovaná kontrola), po čtyřech plánovaných sklizních a pěti opakování na variantu (**Obrázek 7**). Vojtěška byla do pokusu zasazena 8. února, sveřep 11. února, jitrocel 16. února a čirok 24. února.



Obrázek 7. Schéma Experimentu I. Rostliny *M. sativa*, *P. lanceolata*, *B. erectus* a *S. bicolor* inokulovány druhy AM hub *R. irregularis*, *F. mosseae*, *G. margarita*, *C. claroideum* a *A. tuberculata*. NM představuje nemykorrhizní variantu, která sloužila jako kontrola pro stanovení rostlinné odpovědi na mykorrhizu. Varianty byly založeny po 5 opakováních ve 4 sestavách, které odpovídaly sklizním. Dohromady bylo založeno čtyři sta osmdesát nádob.

Z nesterilní sadové půdy byl připraven filtrát smícháním 50 ml půdy s 500 ml destilované vody. Po míchání po dobu 30 min byl substrát dvakrát přefiltrován přes 25 µm síto za současného třepání na třepačce (100 kmitů/min). Výsledný filtrát byl doplněn 650 ml destilované vody.

Každá rostlina (tzn. každé opakování) byla inokulována 200 sporami příslušného izolátu, které byly po promytí substrátu vybrány pinzetou. Pro každý rostlinný druh bylo pinzetou vybráno 200 spor od každého izolátu. Vybrané spory byly pipetovány do zkumavek typu eppendorf s destilovanou vodou, které se následně uskladnily v lednici při teplotě 4–5 °C.

3.1.3 Založení, udržování a sklizeň experimentu

Na dno pěstebních kónických nádob o objemu 164 ml (**Obrázek 6**) byla vložena směs velkozrnného a drobnozrnného keramzitu. Následně byl do pěstebních nádob vsypán substrát. Poté bylo do nádob přidáno 5 ml půdního filtrátu a rostliny byly sázeny v etapách podle rostlinného druhu. Všechny rostliny a opakování stejného druhu byly zasazeny v týž den.

Rostliny byly hnojeny jednou týdně 20 ml Whiteova minerálního média (Gryndler, Vejsadová & Vančura, 1992) dle **Tabulka 2**.

<i>Sloučenina</i>	<i>Koncentrace [mg/l]</i>
<i>KCl</i>	135
<i>KNO₃</i>	240
<i>Ca(NO₃)₂·4H₂O</i>	295,20
<i>MnCl₂·4H₂O</i>	0,75
<i>KI</i>	0,75
<i>H₃BO₃</i>	1,50
<i>ZnSO₄·7H₂O</i>	1,20
<i>CuSO₄·5H₂O</i>	0,001
<i>Na₂MoO₄·2H₂O</i>	0,00017
<i>KH₂PO₄</i>	12,20
<i>MgSO₄·7H₂O</i>	720
<i>FeNaEDTA</i>	4,60

Tabulka 2. Prvkové složení Whiteova minerálního média užitého k hnojení rostlin zasazených v Experimentu 1. Koncentrace makroprvků odpovídala 0·09 mmol/l pro fosfor a 1·62 mmol/l pro dusík. Převzato z (Gryndler, Vejsadová & Vančura, 1992).

Sklizně probíhaly po stanovených časových úsecích od založení jednotlivých druhů rostlin. Při sklizni byly rostliny vyjmuty z nádob, substrát byl zbaven velkozrnného a drobnozrnného keramzitu. Nadzemní část rostliny byla vložena do papírového sáčku, usušena při 60 °C a zvážena. Kořenový systém rostliny byl promyt na sítu s oky o průměru 2,5 mm, osušen na papírové utěrce a zvážen. Následně byly kořeny nastříhány na malé segmenty o délce přibližně 1,5 cm a zhomogenizovány. Část kořenů určená ke stanovení délky vnitrokořenového mycelia pro barvení Trypanovou modří byla vložena do lahvičky a zalita hydroxidem draselným – viz metodika v kap. 3.3.1. Zbytek kořenového systému byl znovu zvážen, usušen při 60 °C a opět zvážen. Ze stanovených hmotností kořenového systému byla spočítána celková suchá hmotnost kořenového systému (DWt) dle uvedeného vzorce:

$$DWt = FWt \times \frac{DWp}{FWp}$$

Rovnice 1. Celková suchá hmotnost kořenového systému (DWt) byla spočítána jako podíl suché (DWp) a čerstvé (FWp) hmotnosti části kořenového systému po odebrání vzorku na kolonizaci násobeně čerstvou hmotností celého kořenového systému (FWt).

3.2 Experiment 2

3.2.1 Materiál

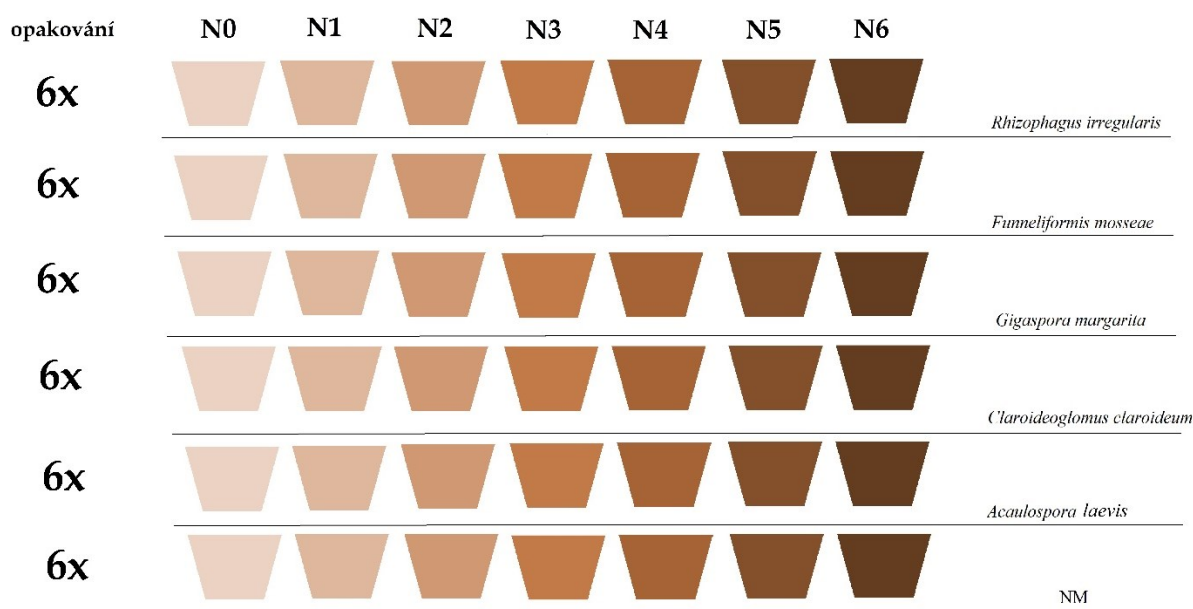
Pro účely druhého pokusu byl použit druh rostliny *Plantago lanceolata* cv. LIBOR. Rostliny byly naklíčeny stejným způsobem jako v prvním experimentu, stejně tak byly zasazeny do kónických pěstebních nádob o objemu 164 ml (**Obrázek 6**).

Jako inokulum sloužily AM houby *Rhizophagus irregularis* PH5, *Funneliformis mosseae* BEG95, *Gigaspora margarita* BEG34, *Claroideoglossum claroideum* BEG23, tedy stejné houby jako v Pokusu 1, s výjimkou *Acaulospora tuberculata* BEG41, která byla nahrazena druhem *Acaulospora laevis* (Gerdemann & Trappe, 1974). Pro tento účel byla využita sbírka izolátů AM hub z oddělení Mykorhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR. Jako substrát byl použit čistý písek.

3.2.2 Design experimentu

Druhý experiment byl situován do stejné vegetační doby jako Experiment 1, s ročním odstupem. Experiment byl založen 3. února 2023 a sklizen 3. dubna, celková doba kultivace tedy byla šedesát dní. Byly sledovány vnitrokořenové a mimokořenové znaky pěti izolátů AM hub na sedmi hladinách koncentrace dusíku.

Bylo založeno dvě stě padesát dva pěstebních nádob po pěti druzích AM hub a jedné nemykorhizní variantě, sedmi koncentracích dusíku a šesti opakování na variantu. Pro užití hladiny dusíku bylo zavedeno označení N0 – N6 se vzrůstající koncentrací dusíku (**Obrázek 8**).



Obrázek 8. Schéma Experimentu 2. Rostliny druhu *P. lanceolata* byly inokulovány druhy AM hub *R. irregularis*, *F. mosseae*, *G. margarita*, *C. claroideum* a *A. laevis* a zasazeny do pěstebních nádob ve variantách sedmi hladin koncentrace dusíku ve vzestupném pořadí N0, N1, N2, N3, N4, N5 a N6. NM představuje nemykorhizní variantu, která sloužila jako kontrola. Varianty byly založeny po 6 opakováních. Dohromady bylo založeno dvě stě padesát dva nádob.

Inokulum AM hub bylo v tomto případě použito komplexní, tj. obsahující spory, fragmenty kořenů a hyf. Vybrané kultury hub byly nasondovány, promyty a zkontrolovány na vysokou četnost spor v půdě svědčící o dostatečném rozvoji kultury pro inokulaci. Každá rostlina byla inokulována 5 ml suspenze. Inokulum bylo umístěno 3–5 cm do vrstvy půdy pod rostlinou.

3.2.3 Založení, udržování a sklizeň experimentu

Založení experimentu proběhlo podobným způsobem jako v Experimentu 1. Všechny varianty byly do experimentu zasazeny během dvou dnů.

Udržování experimentu jsem měla na starosti já. Rostliny byly třikrát týdně hnojeny zalévacími roztoky o sedmi různých koncentracích dusíku. Cílem tohoto přístupu bylo obsáhnout celé spektrum dusíkové dostupnosti – jeho deficienci, optimum a nadbytek. Jako základ pro všechny zalévací roztoky byly připraveny čtyři zásobní roztoky shrnuté v **Tabulka 3**. Uvedené roztoky byly připraveny dle Beck *et al.* (1993) a neobsahovaly dusík.

Do 800 ml destilované vody byly postupně namíchány roztoky A, B, C a D a MES buffer v množství dle **Tabulka 3**. Nakonec byl přimíchán zásobní roztok N (**Tabulka 4**). Po průběžné kontrole pH pomocí pH metru byl přidán chelát železa Fe-EDDHA (**Tabulka 3**), poté bylo pH roztoku upraveno na 6,5. Po dosažení optimální hladiny pH byl roztok doplněn destilovanou vodou tak, aby objemem odpovídal 1 l. Posléze byl skladován pod příslušným označením ošetření dusíkem (**Tabulka 4**).

<i>Koncentrovaný roztok</i>	<i>Obsažené látky (g/L)</i>	<i>Přídavek do živného roztoku (ml/L)</i>
<i>roztok A</i>	294,1 g CaCl \cdot 2H $_2$ O	0,5
<i>roztok B</i>	136,1 g KH $_2$ PO $_4$	0,5
<i>roztok C</i>	123,3 g MgSO $_4$ \cdot 7H $_2$ O	
	87 g K $_2$ SO $_4$	0,5
	0,338 g MnSO $_4$ \cdot H $_2$ O	
	0,247 g H $_3$ BO $_3$	
<i>roztok D</i>	0,288 g ZnSO $_4$ \cdot 7H $_2$ O	
	0,1 g CuSO $_4$ \cdot 5H $_2$ O	0,5
	0,048 g H $_2$ MoO $_4$ \cdot H $_2$ O	
	0,056 g CoSO $_4$ \cdot 7H $_2$ O	
<i>MES buffer</i>		0,0244
<i>Fe-EDDHA</i>		0,01 g/L

Tabulka 3. Příprava živných roztoků podle Beck et al. (1993).

<i>Varianta</i>	<i>Přídavek NH$_4$NO$_3$ (g/L)</i>	<i>Molární koncentrace (mM)</i>
<i>N0</i>	0	0
<i>N1</i>	0,113	2,834
<i>N2</i>	0,227	5,669
<i>N3</i>	0,454	11,338
<i>N4</i>	0,907	22,676
<i>N5</i>	1,814	45,351
<i>N6</i>	3,628	90,703

Tabulka 4. Koncentrace dusičnanu amonného (NH $_4$ NO $_3$) užitě pro jednotlivá ošetření ve vztupném pořadí, zaokrouhlena na tři desetinná čísla.

Všechny roztoky byly skladovány v lednici při teplotě 4 °C. Před ošetřením rostlin zalévacími roztoky byly tyto nádoby z lednice vyjmuty a ponechány 30–45 min rozeřtí na pokojovou teplotu. Rostliny byly hnojeny 3x týdně 10 ml zalévacího roztoku. Ve zbylých dnech byly dle potřeby zalévány destilovanou vodou.

Rostliny byly po šedesáti dnech sklizeny stejným způsobem jako bylo uvedeno v Experimentu 1, viz kap. 3.1.3.

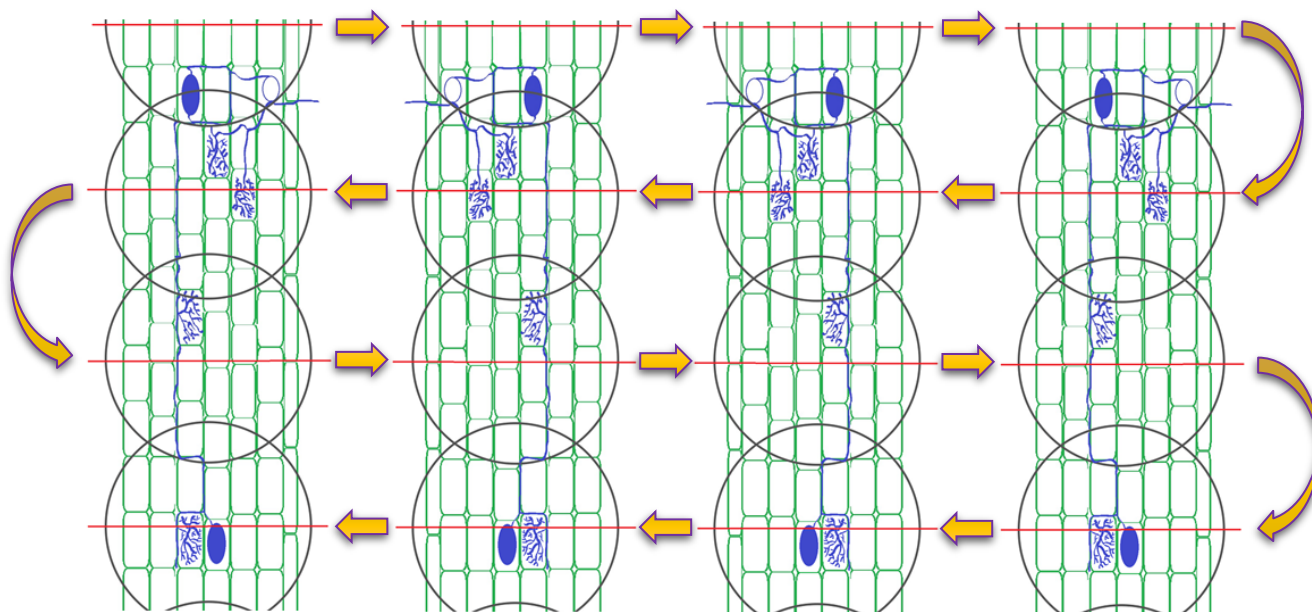
3.3 Stanovení rozvoje hub

3.3.1 Vnitrokořenové mycelium

Reprezentativní vzorek promytých kořenů v 10 % roztoku hydroxidu draselného byl zahříván na 90 °C po dobu 40 minut. Vzorek i lahvička byly promyty pod tekoucí vodou, zality 2% roztokem kyseliny mléčné a inkubovány při teplotě 90 °C po dobu 20 minut. Po slítí kyseliny byly vzorky zality 0,05 % roztokem trypanové modři v laktoglycerolu (0,05 % trypanové modři ve směsi glycerolu, kyseliny mléčné a destilované vody v objemových poměrech 2:2:1). Vzorky byly opětovně 20 minut inkubovány při 90 °C. Barva byla následně ponechána k zafixování při pokojové teplotě (20–24 °C) po dobu 48 hodin. Po uběhnutí doby potřebné k fixaci barvy byl ze vzorků odlit roztok trypanové modři, kořínky byly promyty pod tekoucí vodou, umístěny zpět do vymyté lahvičky a zality laktoglycerolem (Koske & Gemma, 1989).

Kořenové preparáty byly vytvářeny nejméně po třech dnech v laktoglycerolu, který z barvených kořenů vymyl přebytečnou barvu. Obsah lahvičky byl spolu s menším obsahem vody umístěn na Petriho misku. Z obarvených kořenů byly postupně vybírány kořínky nižších řádů a umístěny vertikálně na podložní sklo tak, aby všechny odpovídaly přibližně stejné délce (1,5 – 2 cm). Na jedno podložní sklo bylo vždy umístěno 30–40 kořínků. Následně byl preparát zavodněn destilovanou vodou a přiklopen krycím sklíčkem.

Intraradikální kolonizace byla vyhodnocována prostřednictvím metody zorných polí (McGonigle *et al.*, 1990). Preparátem umístěným pod světelným mikroskopem byla středem zorného pole vedena horizontální linie formou úsečky vložené do okuláru. Následně byla zaznamenána přítomnost či nepřítomnost jednotlivých struktur hub (hyfa, arbuskule, vezikule) na této linii, a to při 100x zvětšení. V případě dosažení konce linky byla započata linie nová v jiné části preparátu (**Obrázek 9**). Takto byl rovnoměrně vyhodnocen celý preparát, v rámci kterého bylo zaznamenáno sto pozorování.



Obrázek 9. Náhodně vybraná zorná pole mikroskopu (kruhy) a pozice horizontální linie (červená linka). Můžeme pozorovat následující možnosti (1. kořen zleva, shora dolů): 1. pouze kořen, 2. hyfa a arbuskul, 3. pouze hyfa, 4. hyfa, vezikul a arbuskul. Šipky znázorňují posloupnost pozorování jednotlivých kořenů preparátu.

Zaznamenané hodnoty frekvence pozorovaných struktur byly vyjádřeny v procentech. Frekvence arbuskul a vezikul byla dále vztažena k frekvenci hyf, dle uvedených vzorců:

$$Ar = \frac{A}{H} \quad Vr = \frac{V}{H}$$

Rovnice 2. Výpočet relativní četnosti arbuskul (Ar) a vezikul (Vr). A = frekvence arbuskul; V = frekvence vezikul; H = frekvence hyf; Ar = relativní četnost arbuskul; Vr = relativní četnost vezikul.

Ar a Vr tedy vyjadřují četnost arbuskul a vezikul v rámci hyfami kolonizovaných segmentů kořenů.

3.3.2 Mimokořenové mycelium

Mimokořenové mycelium (ERM) bylo stanoveno metodou membránové filtrace modifikované dle Jakobsen, Abbott & Robson (1992). Do vývěvy byl umístěn nitrocelulóзовý filtr hrubou stranou směrem vzhůru. Bylo naváženo 5 gramů homogenizovaného substrátu. Navážka byla nasypána do vody o objemu 500 ml a mixována v mixéru po dobu 30 sekund. Ze středu vodního sloupce byly okamžitě odebrány 3 ml (v případě druhu *Rhizophagus irregularis*) a 4 ml (v případě zbylých druhů AM hub) a umístěny do vývěvy, kde došlo k odsátí vody. Po vypnutí aparatury byl filtr vyjmut a na podložním skle ošetřen třemi kapkami 0,1 % trypanové modři. Na závěr byl preparát přiklopen krycím sklíčkem.

Pro vyhodnocení extraradikální kolonizace byl použit světelný mikroskop. Pod 200x zvětšením byly pozorovány všechny úlomky a větvení mimokořenového mycelia AM hub zachycené na nitrocelulózovém filtru. Délka úlomků byla odhadnuta pomocí okulárového mikrometru. Postupně byl vyhodnocen celý vzorek, k orientaci v pohybu po nitrocelulózovém filtru sloužila mřížka umístěná v druhém okuláru.

Délka ERM byla stanovena jako poměr délky pozorovaných úlomků a celkového zvětšení mikroskopu násobený poměrem celkového a pipetovaného objemu. Výsledek byl dále násoben převrácenou hodnotou navážky (**Rovnice 3**).

$$ERM \left[\frac{mm}{g} \right] = \frac{x}{z} \times \frac{V_{celk.}}{V_{pipet.}} \times \frac{1}{n}$$

Rovnice 3. Výpočet délky mimokořenového mycelia (ERM). x =délka pozorovaných úlomků; z =zvětšení; $V_{celk.}$ =celkový objem; $V_{pipet.}$ =pipetovaný objem; n =navážka.

Od každé varianty bylo odečteno pozadí v podobě průměrné hodnoty příslušných nemykorhizních variant.

3.4 Statistické analýzy

Pro statistické vyhodnocení dat obou experimentů byl použit program R, verze 4.2.1. Ověření normálního rozdělení dat bylo provedeno prostřednictvím Shapiro-Wilkovovým testem, Bartlettův test prověřil homogenitu rozptylu. Pro určení významnosti jednotlivých faktorů byla použita analýza rozptylu, ANOVA typu III (Type III Sum of Squares). Pokud data nesplňovala podmínky pro analýzu rozptylu, byla provedena transformace druhou mocninou. Statisticky průkazný vliv sledovaných faktorů byl stanoven na hladině pravděpodobnosti $P < 0,05$. Statisticky významné rozdíly mezi hladinami faktoru nebo kombinace faktorů (v případě statisticky významné interakce) byly vyhodnoceny pomocí post-hoc Tukeyova HSD testu pro vícenásobná porovnání na hladině $P < 0,05$.

Statistické vyhodnocení dat biomasy rostlin (nadzemní sušina a sušina kořenů) z obou provedených experimentů proběhlo stejným způsobem (Příloha 1–4). Pokud data nesplnila podmínku normálního rozložení, byla transformována pořadovou transformací. Data jsou součástí příloh a nejsou začleněna do hlavního textu práce, neboť slouží především ke komplexnějšímu pochopení prezentovaných dat.

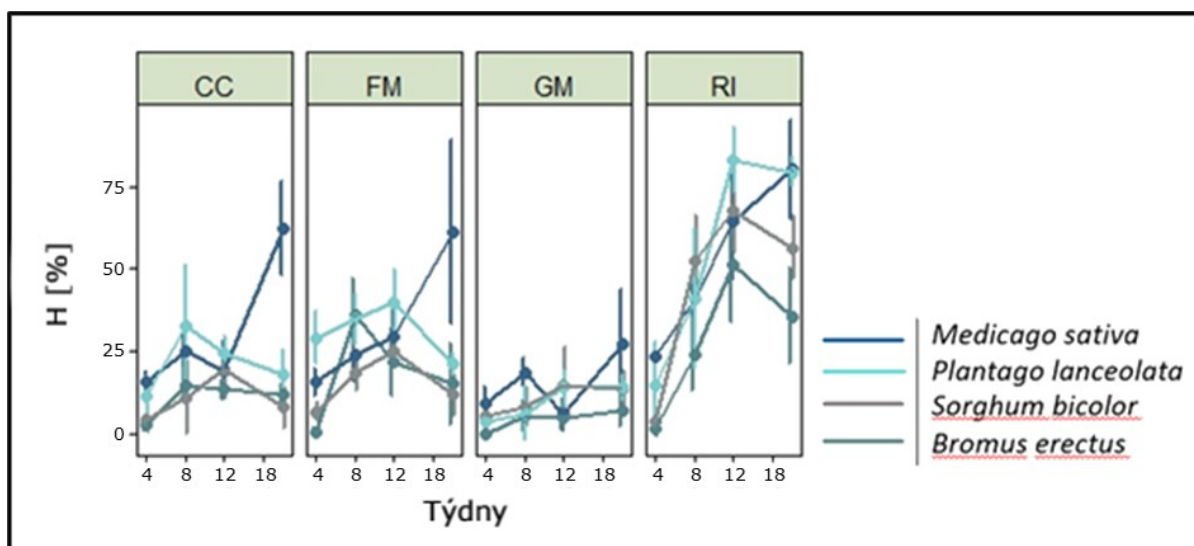
4. Výsledky

4.1 Rozvoj vnitrokořenné kolonizace čtyř druhů rostlin v Experimentu 1

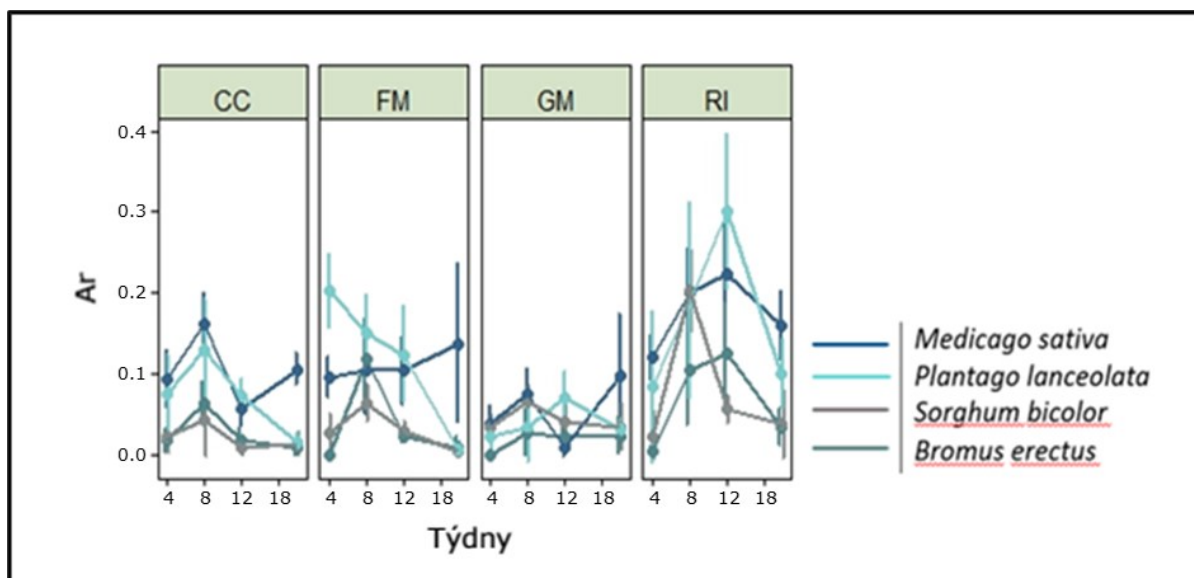
Hostitelské rostliny rostly ve všech variantách podobně (Příloha 1 a 2). Váha nadzemních sušiny rostlin nebyla mezi variantami statisticky významně odlišná (Příloha 1), rozdíly ve váze sušiny kořenů byly spíše ojedinělé (Příloha 2). Byly zkontrolovány všechny kořeny neinkulovaných rostlin. V nemykorhizních variantách nebyla mykorhiza pozorována. Druh *Acaulospora tuberculata* byl v kořenech rostlin detekován pouze stopově, proto byl ze zpracování dat vyloučen. AM houby druhů *Claroideoglopus claroideum*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora margarita* a *Rhizophagus irregularis* byly graficky zpracovány a statisticky vyhodnoceny.

4.1.1 Rozvoj v čase

Na první pohled se dynamika rozvoje kolonizace kořene hyfami AM hub lišila mezi jednotlivými izoláty, s menší variabilitou mezi rostlinami (Graf 1). V případě čtvrté sklizně (po 18 týdnech) pozorujeme trend poklesu kolonizačních jednotek, především arbuskul (Graf 2). Z grafu je patrné, že nejméně kolonizačních jednotek vykazovaly rostliny zaočkované AM houbou *G. margarita*, zatímco nejvíce kolonizačních struktur bylo pozorováno v rostlinách zaočkovaných druhem *R. irregularis*, a to včetně poslední sklizně. Rostliny v symbióze s druhu *F. mosseae* a *C. claroideum* dosahovaly průměrných hodnot mezi oběma extrémny.



Graf 1. Frekvence hyf (H) AM hub – CC (*Claroideoglopus claroideum*), FM (*Funneliformis mosseae*), GM (*Gigaspora margarita*), RI (*Rhizophagus irregularis*) – uvedené v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene rostlin v závislosti na týdnu sklizně (osa x) a druhu hostitelské rostliny (barevné odlišení). Úsečky u pozorovaných hodnot odpovídají směrodatným odchylkám naměřených dat.



Graf 2. Relativní četnost arbuskul (Ar) AM hub – CC (*Claroideoglomus claroideum*), FM (*Funneliformis mosseae*), GM (*Gigaspora margarita*), RI (*Rhizophagus irregularis*) – uvedená jako bezrozměrná jednotka odpovídající poměru frekvence arbuskul a hyf v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene v závislosti na týdnu sklizně (osa x) a druhu hostitelské rostliny (barevné odlišení). Úsečky u pozorovaných hodnot odpovídají směrodatným odchylkám naměřených dat.

4.1.2 Dynamika kolonizace jednotlivých druhů AM hub

Následně byla analýze podrobena data kolonizace jednotlivých druhů AM hub. Sledována byla jejich dynamika v čase v závislosti na symbióze s konkrétním druhem rostliny.

Faktor sklizně, tj. času, se jako signifikantní faktor prokázal u druhů *F. mosseae* (FM) a *R. irregularis* (RI), neprokázal se jako statisticky významný u druhů *C. claroideum* (CC) a *G. margarita* (GM) (**Tabulka 5**). Druh rostliny byl signifikantní pouze u *R. irregularis*. Statisticky významné interakce obou faktorů však prokazují, že dynamika rozvoje kolonizace závisela také na druhu hostitelské rostliny.

	Df	CC		FM		GM		RI	
		F	P	F	P	F	P	F	P
Sklizeň	3	1,824	0,152	8,513	<0,001	0,809	0,493	11,438	<0,001
Rostlina	3	1,323	0,275	2,514	0,066	2,481	0,069	4,492	0,006
Sklizeň:Rostlina	9	8,424	<0,001	6,743	<0,001	2,186	0,034	2,577	0,013

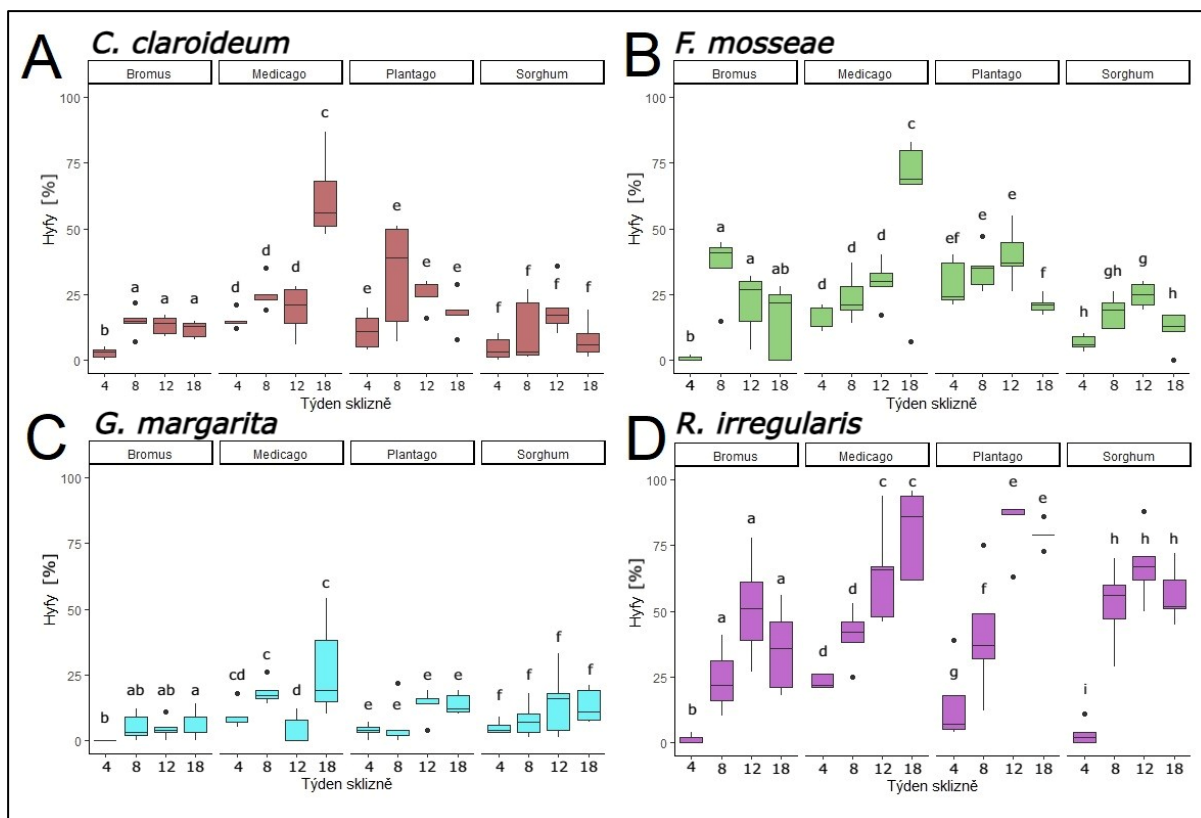
Tabulka 5. Vliv faktorů času (Sklizeň), druh rostliny (Rostlina) a jejich interakce na frekvenci hyf AM hub druhů *C. claroideum* (CC), *F. mosseae* (FM), *G. margarita* (GM) a *R. irregularis* (RI) v kořenech rostlin prvního experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

U kolonizace hyfami druhem *G. margarita* byly rozdíly mezi studovanými druhy rostlin malé a neprokázy se jako signifikantní (**Tabulka 5**). Kolonizace kořenů rostlin byla

v porovnání s jinými druhy AM hub výrazně nižší. Nejvyšších hodnot dosahovala v symbióze s vojtěškou, a to ve čtvrté sklizni po osmnácti týdnech (**Graf 3C**). Je zajímavé si povšimnout, že všechny druhy AM hub dosáhly v symbióze s vojtěškou ve čtvrté sklizni nejvyšší kolonizace. Naproti tomu malá či nulová vnitrokořenová kolonizace *G. margarita* byla pozorována v symbióze se sveřepem. Ostatní druhy sledovaných AM hub dosáhly v symbióze se sveřepem výrazně vyšší procentuální kolonizace.

Podobně jako v případě *G. margarita*, kolonizace *C. clarioideum* nevykazovala napříč časem výraznou dynamiku, zejména pak v případě symbiózy s jitrocelem a čirokem (**Graf 3A**). Určitou dynamiku kolonizace pozorujeme v symbióze se sveřepem a vojtěškou. Je zajímavé, že statisticky významné rozdíly byly pozorovány v krajních hodnotách sklizní – první sklizeň v případě sveřepu, poslední v případě vojtěšky (**Graf 3A**).

Oproti *C. clarioideum* a *G. margarita*, u nichž ANOVA prokázala signifikanci pouze v interakci faktorů sklizně a rostliny, u *F. mosseae* a *R. irregularis* byl signifikantní také samostatný faktor sklizně (**Tabulka 5**), což indikuje, kolonizace rostlin AM houbami se lišila napříč všemi sklizněmi. Dynamika kolonizace *F. mosseae* se zdá podobná jako v případě *C. clarioideum*, avšak jsou zde patrné výraznější rozdíly. To je dobře pozorovatelné v kolonizaci jitrocele a čiroku, kde druh *F. mosseae* (**Graf 3B**) vykazuje výraznější dynamiku než *C. clarioideum* (**Graf 3A**). V symbióze se sveřepem, jitrocelem a čirokem pozorujeme vyšší četnost hyf v druhé a třetí sklizni, zatímco ve čtvrté sklizni je patrný jejich pokles. Naopak kontinuální nárůst kolonizačních jednotek napříč všemi sklizněmi pozorujeme u vojtěšky (**Graf 3A,B,C,D**).



Graf 3. Závislost četnosti hyf uvedené v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene na čase (Týden sklizně) u jednotlivých druhů AM hub v symbióze s různými druhy rostlin (zleva: sveřep, vojtěška, jitrocel, čirok). *Claroideoglomus claroideum* (A); *Funneliformis mosseae* (B); *Gigaspora margarita* (C); *Rhizophagus irregularis* (D). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu, vždy odběrů v rámci hostitelské rostliny. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehle hodnoty.

Stejně jako v případě *F. mosseae*, v kolonizaci kořenů druhem *R. irregularis* byl statisticky významný faktor sklizně (Tabulka 5), druh vykazoval výraznou dynamiku v čase. *R. irregularis* kolonizoval rostliny ze všech studovaných druhů AM hub v nejvyšší míře. Nízké hodnoty kolonizace byly naměřeny pouze v raných stádiích symbiotického vztahu, tj. v první sklizni po čtyřech týdnech (Graf 3D). To je dobře patrné zejména v případě symbiózy se sveřepem a čirokem. *R. irregularis* a *F. mosseae* vykazovali v symbióze s čirokem a jitrocelem výraznější dynamiku než druhy *G. margarita* a *C. claroideum*.

Dle výsledků analýzy rozptylu byla relativní četnost arbuskul u všech druhů AM hub závislá na čase (faktor sklizeň) a druhu rostliny (Tabulka 6). Interakce mezi těmito proměnnými byly prokázány jako signifikantní v případě druhů *F. mosseae*, *G. margarita* a *R. irregularis* (Tabulka 6).

	Df	CC		FM		GM		RI	
		F	P	F	P	F	P	F	P
Sklizeň	3	4,4814	0,006	18,222	<0,001	3,001	0,037	9,811	<0,001
Rostlina	3	6,807	<0,001	8,191	<0,001	4,637	0,005	9,608	<0,001
Sklizeň:Rostlina	9	1,848	0,076	9,146	<0,001	3,590	0,001	2,676	0,011

Tabulka 6. Vliv faktorů času (Sklizeň), druh rostliny (Rostlina) a jejich interakce na relativní četnost arbuskul (podíl frekvence arbuskul a hyf) AM hub druhů *C. claroideum* (CC), *F. mosseae* (FM), *G. margarita* (GM) a *R. irregularis* (RI) v kořenech rostlin prvního experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

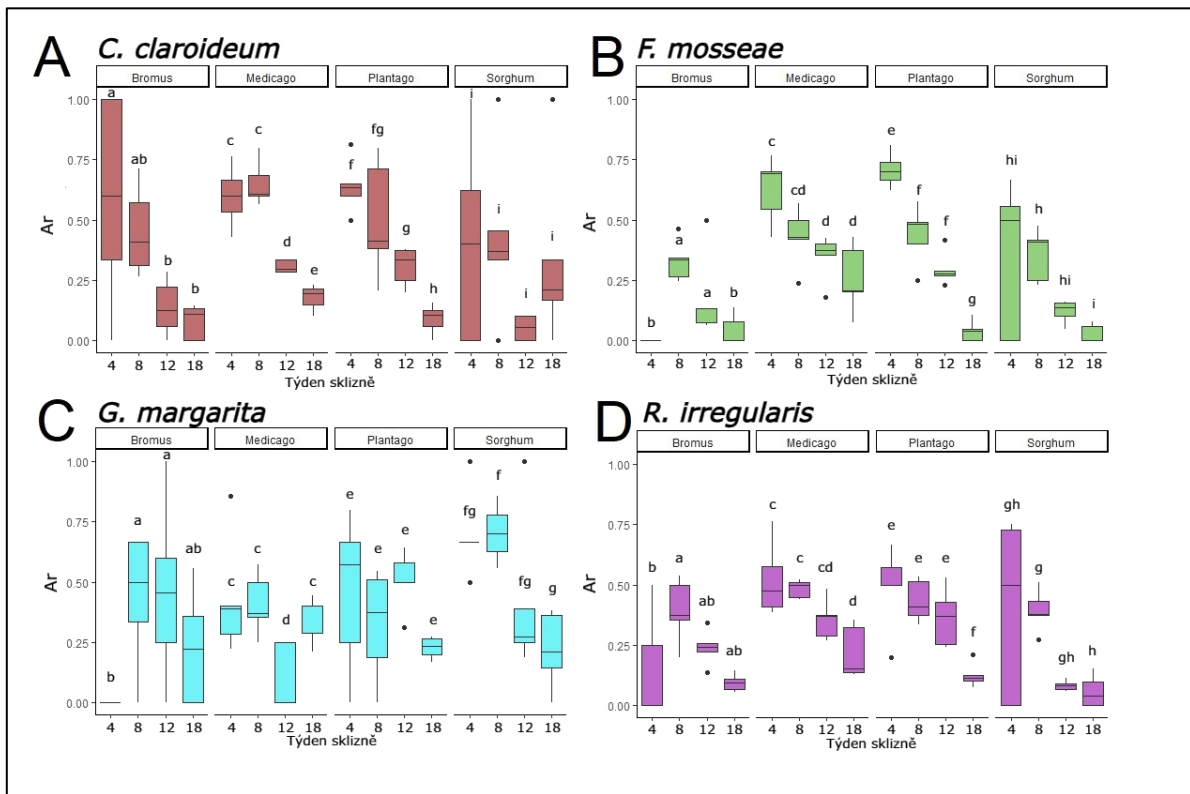
Na rozdíl od kolonizace rostlin hyfami nebyla relativní četnost arbuskul *G. margarita* (tj. četnost v rámci kolonizovaných částí kořenů) v porovnání s ostatními druhy AM hub jednoznačně nižší. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo po osmi týdnech v symbióze s čirokem (Graf 4C). Rozdíly v čase však byly ve srovnání s jinými druhy hub malé. V symbióze s jitrocelem je *G. margarita* jediným pozorovaným druhem AM houby, kde se relativní četnost arbuskul v čase nelišila.

Oproti předešlému případu symbiózy druhu *G. margarita* s jitrocelem, *C. claroideum* je jediným druhem AM houby, který nevykazoval statisticky významnou dynamiku četnosti arbuskul v symbióze s čirokem. V symbióze s ostatními druhy rostlin zde pozorujeme výraznější dynamiku (Graf 4A) než v případě *G. margarita* (Graf 4C). V symbióze s vojtěškou, jitrocelem a sveřepem byly arbuskuly v rámci kolonizovaných částí kořenů podobně četné v prvních dvou sklizních a později došlo k výraznému poklesu jejich četnosti.

Relativní četnost arbuskul *F. mosseae* vykazovala výraznou dynamiku v čase a stejně jako u *G. margarita*, *C. claroideum* a *R. irregularis* tvorba arbuskul závisela na druhu rostliny, čase a interakci obou faktorů (Tabulka 6). V symbióze s vojtěškou, jitrocelem a čirokem pozorujeme výrazný sestupný trend pozorovaných struktur (Graf 4B). Je zajímavé, že v symbióze se sveřepem byla pozorována opožděná tvorba arbuskul (v druhé sklizni), podobně jako tomu je v případě symbiózy sveřepu s *G. margarita* a *R. irregularis*.

Izolát druhu *R. irregularis* vykazoval v poměru k hyfám velké množství arbuskul již v raných fázích vývoje (Graf 4D). Byla patrná výrazná dynamika relativní četnosti arbuskul v čase. Nejméně výrazná dynamika je patrná v symbióze s jitrocelem, což je ve velkém kontrastu s dynamikou arbuskul druhů *F. mosseae* (Graf 4B) či *C. claroideum* (Graf 4A) v symbióze s touto hostitelskou rostlinou. Ve všech pozorovaných hostitelských rostlinách pozorujeme postupný pokles relativní četnosti arbuskul v čase (Graf 4D), stejně jako tomu bylo v případě *F. mosseae* (Graf 4B). Tento trend je nejvýraznější v symbióze s jitrocelem, ale patrný

je také v symbióze s vojtěškou. V případě vojtěšky a sverepu je pokles patrný již v třetí sklizni po dvanácti týdnech (Graf 4D). Je zřejmé, že zatímco kolonizace hyfami v čase narůstala (Graf 3), aktivita houby ve tvorbě arbuskul zůstala podobná či s postupem času docházelo spíše k degradaci arbuskul než k jejich de novo tvorbě (Graf 4).



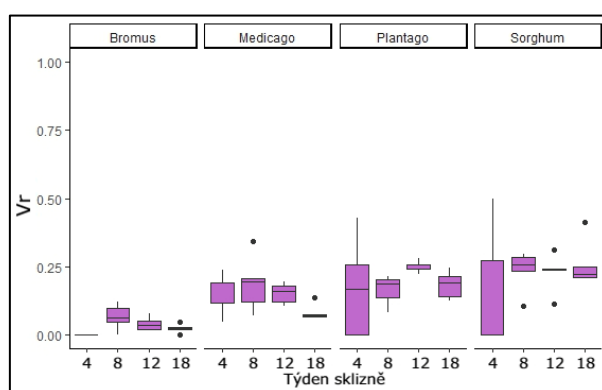
Graf 4. Závislost relativní četnosti arbuskul (*Ar*) uvedené jako bezrozměrné jednotce odpovídající poměru frekvence arbuskul a hyf v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene na čase (Týden sklizně) u jednotlivých druhů AM hub v symbióze s různými druhy rostlin (zleva: sverep, vojtěška, jitrocel, čirok). *Claroideoglomus claroideum* (A); *Funneliformis mosseae* (B); *Gigaspora margarita* (C); *Rhizophagus irregularis* (D). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vymezují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehlé hodnoty.

Vezikuly tvořila pouze AM houba *R. irregularis*. Analýza rozptylu neprokázala vliv rostliny ani času na relativní četnost vezikul (Tabulka 7). Druh *C. claroideum* tvořil vezikuly pouze ojediněle (v 6 variantách s nejvyšší dosaženou frekvencí 2 %, v symbióze s vojtěškou ve 2. sklizni a s čirokem ve 3. sklizni), a proto tato data nebyla podrobena analýze.

	RI		
	Df	F	P
Sklizně	1	2,698	0,106
Rostlina	3	0,852	0,471
Sklizně:Rostlina	3	0,693	0,560

Tabulka 7. Vliv faktorů času (Sklizně), druh rostliny (Rostlina) a jejich interakce na relativní četnost vezikul (podíl frekvence vezikul a hyf) AM houby *R. irregularis* (RI) v kořenech rostlin prvního experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

Nejvíce vezikul bylo pozorováno v symbióze *R. irregularis* s čirokem, nejméně pak se sveřepem (Graf 5).



Graf 5. Závislost relativní četnosti vezikul (V_r) uvedené jako bezrozměrné jednotky odpovídající poměru frekvence vezikul a hyf v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene AM houby druhu *R. irregularis* na čase (Týden sklizně) v symbióze s různými druhy rostlin (zleva: sveřep, vojtěška, jitrocel, čirok). Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehle hodnoty.

4.1.3 Struktura kolonizace jednotlivých druhů AM hub

ANOVA byla provedena pouze na datech druhé a třetí sklizně, neboť data první a čtvrté sklizně nesplňovala podmínky pro provedení analýzy rozptylu. Druh houby ovlivňoval množství sledovaných kolonizačních jednotek, tj. hyf a arbuskul v obou analyzovaných sklizních (Tabulka 8). Druh rostliny měl signifikantní vliv na relativní četnost arbuskul v obou sklizních, zatímco na frekvenci hyf v kořenech pouze v případě druhé sklizně. Interakce obou faktorů se prokázaly jako signifikantní ve všech případech kromě kolonizace hyfami ve třetí sklizni (Tabulka 8).

	2. sklizeň					3. sklizeň			
	HYFY			ARBUSKULY		HYFY		ARBUSKULY	
	Df	F	P	F	P	F	P	F	P
Houba	3	8,701	<0,001	4,257	0,008	18,363	<0,001	10,466	<0,001
Rostlina	3	4,231	0,009	6,235	<0,001	1,157	0,333	7,991	<0,001
Houba:Rostlina	9	3,401	0,002	2,291	0,006	0,553	0,829	4,479	<0,001

Tabulka 8. Vliv faktorů druh houby (Houba), druh rostliny (Rostlina) a jejich interakce na frekvenci hyf v kořenech (Hyfy) a relativní četnost arbuskul (Ar, Arbuskuly) v druhé (po osmi týdnech) a třetí (po dvanácti týdnech) sklizni prvního experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

4.2 Rozvoj AM hub na gradientu dostupnosti dusíku v Experimentu 2

Hostitelské rostliny rostly na jednotlivých hladinách dostupnosti dusíku ve všech variantách inokulace podobně, s jasnou závislostí na dostupnosti dusíku a maximem růstu v N3–N4 (Příloha 3 a 4). Byly zkontrolovány všechny kořeny neinokulovaných rostlin. V nemykorhizních variantách nebyla mykorhiza pozorována. Druh *Acaulospora laevis* byl pozorován pouze v ojedinělých případech (ve dvaceti třech vzorcích z celkového počtu vzorků v maximální výši 7 % kolonizace hyfami), a proto byl z následných analýz vyloučen. Protože byl druh *A. laevis* v kořenech rostlin detekován pouze stopově, nebyla statisticky vyhodnocena ani kolonizace půdy mimokořenovým myceliem (ERM). AM houby druhů *Claroideoglossum claroideum*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora margarita* a *Rhizophagus irregularis* byly graficky zpracovány a statisticky vyhodnoceny.

4.2.1 Struktura kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku

Dynamika rozvoje kolonizace kořene hyfami AM hub se lišila mezi jednotlivými izoláty, ale také mezi dílčími hladinami dusíku. Oba pozorované faktory (dostupnost dusíku a inokulace AM houbou) včetně jejich interakce byly prokázány jako signifikantní a ovlivňovaly kolonizaci rostliny AM houbou (**Tabulka 9**).

	Hyfy			Arbuskuly		ERM	
	Df	F	P	F	P	F	P
Dusík	6	10,656	<0,001	9,855	<0,001	7,630	0,006
Inokulace	3	8,058	<0,001	16,764	<0,001	16,647	<0,001
Dusík:Inokulace	18	5,088	<0,001	2,794	<0,001	4,344	0,006

Tabulka 9. Vliv faktorů dostupnost dusíku (Dusík), druh AM houby (Inokulace) a jejich interakce na frekvenci hyf v kořenech (Hyfy), podíl frekvencí arbuskul a hyf (Ar, Arbuskuly) a délku mimokořenového mycelia (ERM) druhého experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

4.2.2 Vnitrokořenová kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku

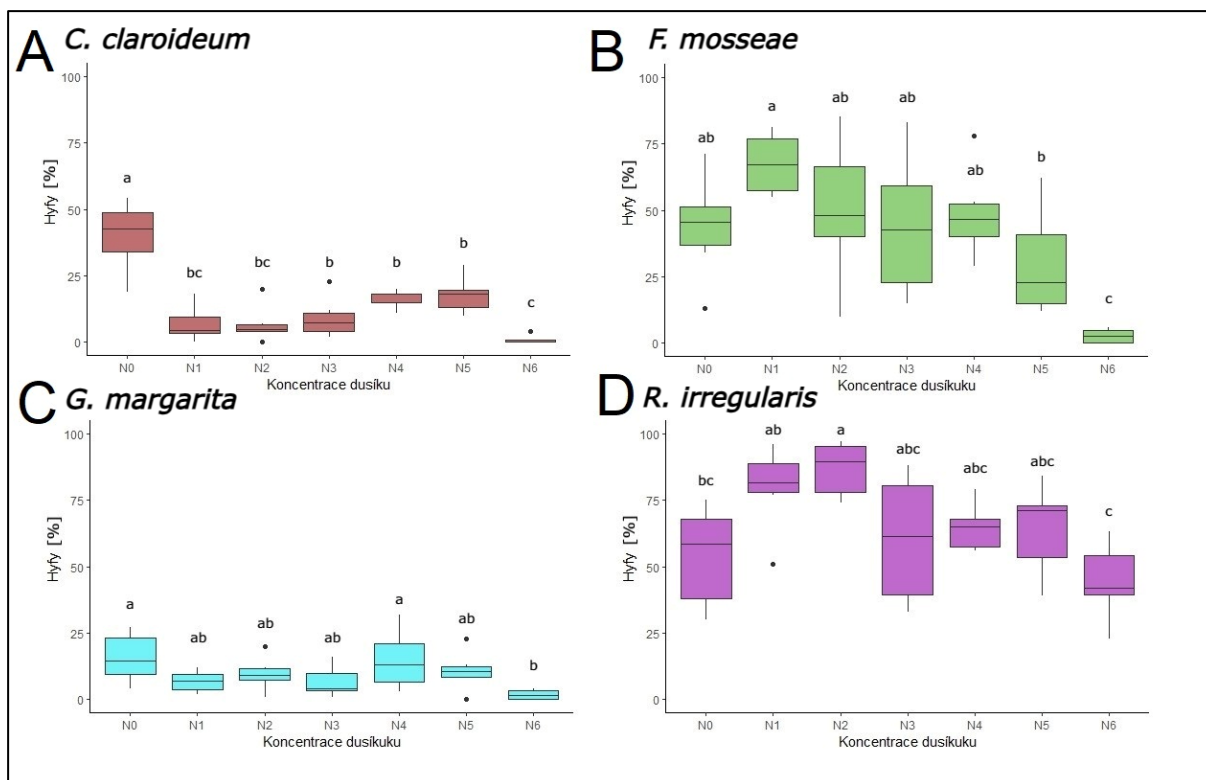
Dostupnost dusíku v kultivačním substrátu byla u všech druhů AM hub prokázána jako signifikantní faktor, který ovlivňoval jejich schopnost kolonizovat hostitelskou rostlinu (**Tabulka 10**).

		CC		FM		GM		RI		
	Df	F	P	F	P	F	P	F	P	
Dusík	6	Hyfy	14,031	<0,001	11,921	<0,001	2,742	0,028	4,282	<0,001
		Arbuskuly	5,358	<0,001	2,392	0,048	2,129	0,076	11,167	<0,001
		Vezikuly	6,416	<0,001	-	-	-	-	7,181	<0,001

Tabulka 10. Vliv faktoru dostupnost dusíku (Dusík) na frekvenci hyf v kořenech (Hyfy), relativní četnost arbuskul (Ar, Arbuskuly) a relativní četnost vezikul (Vr, Vezikuly) AM hub druhů *C. claroideum* (CC), *F. mosseae* (FM), *G. margarita* (GM) a *R. irregularis* (RI) v kořenech rostlin prvního experimentu. Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

Malou míru kolonizace hyfami vykazoval druh *G. margarita* (**Obrázek 6C**). Naproti tomu nejvyšší hodnoty četnosti hyf byly pozorovány u rostlin zaočkovaných druhem *R. irregularis* (**Obrázek 6D**). Ve všech případech byla pozorována poměrně velká variabilita naměřených hodnot, zejména pak v případě rostlin zaočkovaných druhem *C. claroideum* (**Obrázek 6A**) na substrátu chudém na dusík. Velká variabilita frekvence kolonizace byla patrná také v případě rostlin rostoucích v symbióze s druhem *R. irregularis* (**Obrázek 6D**).

Při analýze dat hyfové kolonizace na gradientu dusíku v kultivačním substrátu byl u všech druhů AM hub zjištěn významný pokles frekvence hyf v kořenech na hladině N6. Naproti tomu maximální četnost hyf byla pozorována v nižších středních hodnotách v N1 a N2 u *R. irregularis* a *F. mosseae* (**Obrázek 6B,D**) a v N0 u *C. claroideum* (**Obrázek 6A**). Z **Graf 6C,B,D** je patrné, že druhy *F. mosseae*, *G. margarita* a *R. irregularis* vykazovaly v N0 podobnou kolonizaci kořenů jako v N1. Zatímco *C. claroideum* na prostředí s extrémně nízkou dostupností dusíku reagoval v porovnání s vyššími hladinami dostupného dusíku (N1 – N6) výrazným zvýšením vnitrokořenové kolonizace rostliny (**Obrázek 6A**), u *R. irregularis* byl na hladině N0 pozorován signifikantní pokles hyfové kolonizace ve srovnání s hladinou N2.

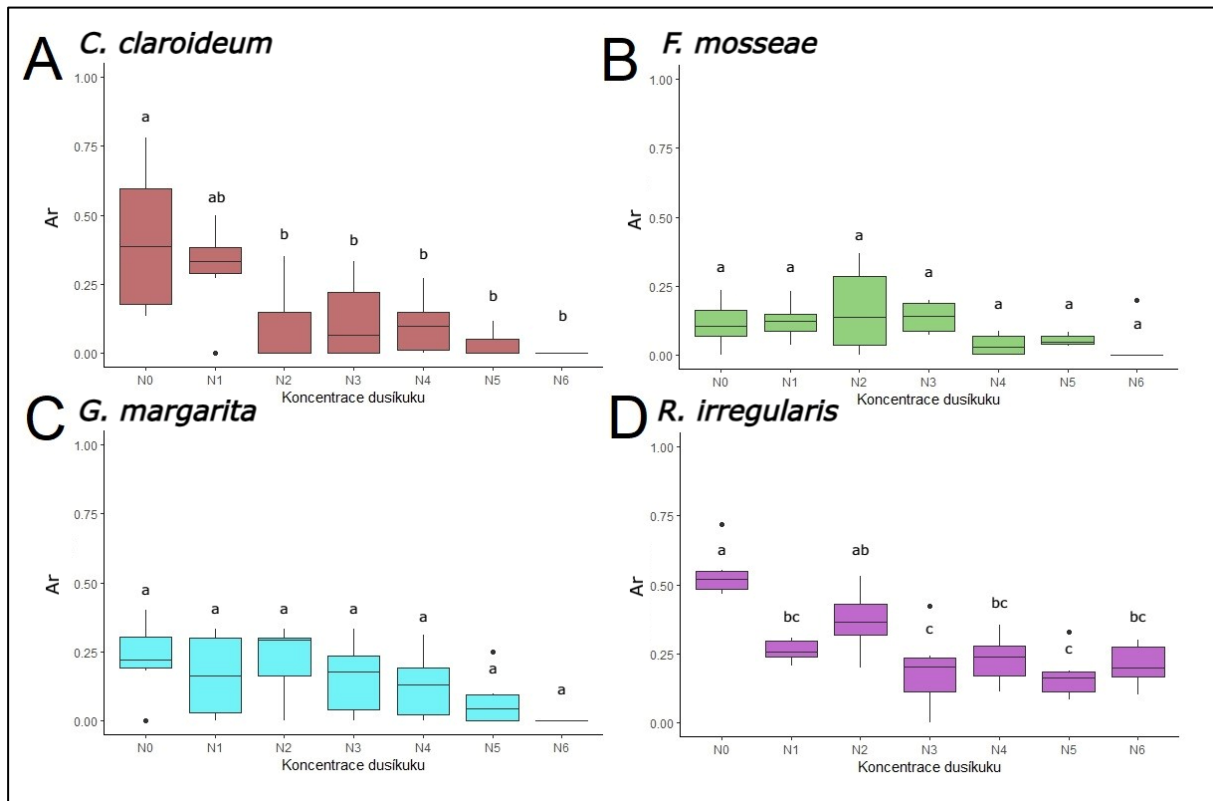


Graf 6. Závislost hyfové kolonizace uvedené v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene na dostupnosti dusíku (N0 nejnižší, N6 nejvyšší) u jednotlivých druhů AM hub – *Claroideoglomus claroideum* (A); *Funneliformis mosseae* (B); *Gigaspora margarita* (C); *Rhizophagus irregularis* (D). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehlé hodnoty.

Relativní četnost arbuskul AM hub byla u druhu *R. irregularis* a *C. claroideum* výrazně ovlivněna dostupností dusíku. U *F. mosseae* a *G. margarita* je tento trend méně významný, přičemž v případě *G. margarita* byl na hladině významnosti 0,05 vliv dusíku těsně nesignifikantní ($P=0.076$) (Tabulka 10).

Oproti výše uvedenému případu kolonizace hyfami (Obrázek 6), četnost arbuskul nevykazovala u druhů *F. mosseae* a *G. margarita* na hladinách dusíku žádné statisticky významné rozdíly (Graf 7B,C). AM houba druhu *C. claroideum* dosahovala nejvyšší relativní četnosti arbuskul při nízkých hladinách dusíku (N0). Naproti tomu největší variabilita v relativní četnosti arbuskul byla pozorována u druhu *R. irregularis*. Stejně jako v případě *C. claroideum*, izolát *R. irregularis* tvořil nejvíce arbuskul při růstu v nízkých koncentracích dusíku (N0) (Graf 7A,D). Zatímco u druhu *C. claroideum* nebyl pozorován signifikantní pokles kolonizačních jednotek ani při o stupeň vyšší hladině dusíku (N1), *R. irregularis* v této

koncentraci dusíku vykazoval podobné hodnoty jako ve značně vyšší dostupnosti dusíku (N3 až N6). Výjimkou zůstala střední hladina dusíku označená N2, při níž *R. irregularis* tvořil arbuskuly s podobnou intenzitou jako v nižší (N0 a N1) i vyšších (N4 a N6) dostupnosti dusíku (Graf 7D). U všech AM hub jsme pozorovali trend poklesu četnosti arbuskul se zvyšující se dostupností dusíku.

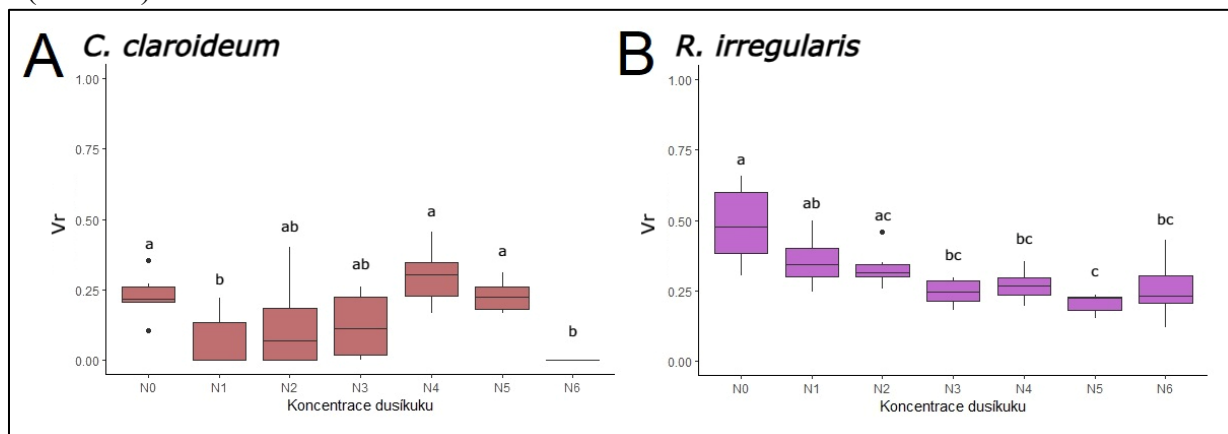


Graf 7. Závislost relativní četnosti arbuskul (*Ar*) uvedené jako bezrozměrné jednotky odpovídající poměru frekvence arbuskul a hyf v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene na dostupnosti dusíku (N0 nejnižší, N6 nejvyšší) u jednotlivých druhů AM hub – *Claroideoglomus claroideum* (A); *Funneliformis mosseae* (B); *Gigaspora margarita* (C); *Rhizophagus irregularis* (D). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehle hodnoty.

Vezikuly v kořenech rostlin tvořily pouze druhy *C. claroideum* a *R. irregularis*. V obou případech se dostupnost dusíku prokázala jako signifikantní faktor ovlivňující jejich relativní četnost (Tabulka 10).

V případě druhu *C. claroideum* nepozorujeme lineární závislost relativní četnosti vezikul na vzestupné dostupnosti dusíku (Graf 8A). V porovnání s hladinami dusíku označenými N1 a N6 jsou statisticky významně odlišné hladiny N0, N4 a N5 (Graf 8A).

Naproti tomu relativní četnost vezikul druhu *R. irregularis* v nejvyšší koncentraci dusíku N6 není významně odlišná od středních hodnot koncentrace dusíku (**Graf 8B**). Podobně jako u relativní četnosti arbuskul (**Graf 7D**) však pozorujeme trend poklesu četnosti vezikul s narůstající dostupností dusíku. Hladina N5 je statisticky významně odlišná od hladin N0 a N1 (**Graf 8B**).



Graf 8. Závislost relativní četnosti vezikul (V_r) uvedené jako bezrozměrné jednotky odpovídající poměru frekvence vezikul a hyf v procentech kolonizovaného pletiva primární kůry kořene na dostupnosti dusíku (N0 nejnižší, N6 nejvyšší) u jednotlivých druhů AM hub – *Claroideoglomus claroideum* (A); *Rhizophagus irregularis* (B). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medianu. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousty). Jednotlivé body v grafech představují odlehlé hodnoty.

4.2.3 Mimokořenová kolonizace na gradientu dostupnosti dusíku

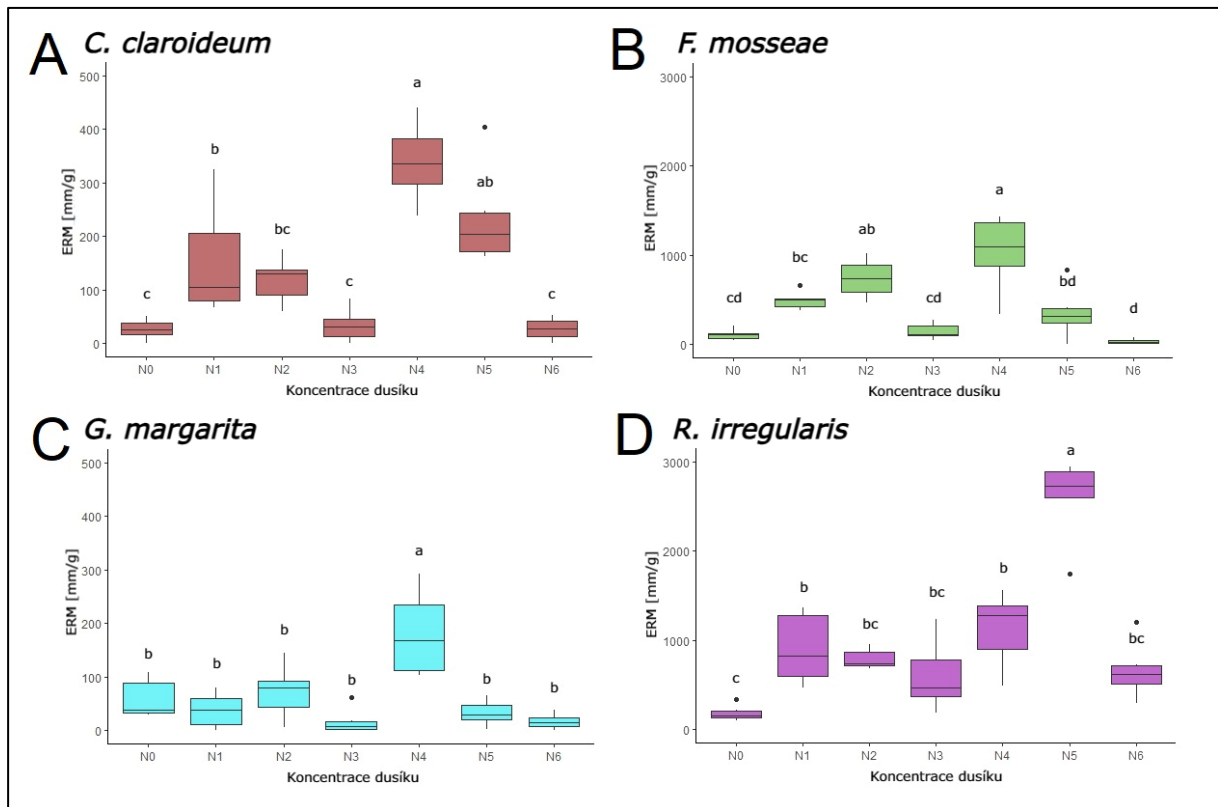
Dostupnost dusíku v pěstebním substrátu měla statisticky významný vliv na rozvoj ERM. Dostupnost dusíku se u všech pozorovaných AM hub prokázala jako signifikantní faktor, který ovlivňuje schopnost AM hub kolonizovat substrát (**Tabulka 11**).

Dusík	ERM										
	CC			FM		GM		RI		F	P
	Df	F	P	F	P	F	P	F	P		
	6	19,203	<0,001	13,631	<0,001	10,064	<0,001	31,687	<0,001		

Tabulka 11. Výsledky analýzy rozptylu (ANOVA) délky mimokořenového mycelia (ERM) na gradientu dusíku v kultivačním substrátu (Dusík) v druhém pokusu u jednotlivých druhů AM hub – *C. claroideum* (CC), *F. mosseae* (FM), *G. margarita* (GM) a *R. irregularis* (RI). Df (stupně volnosti), F (F-hodnota) a P (P-hodnota) byly stanoveny podle analýzy rozptylu (ANOVA).

Druhy *C. claroideum* a *F. mosseae* shodně vykazovaly nejnižší hustotu ERM v krajních (N0 a N6) a střední (N3) hodnotě koncentrace dusíku (**Graf 9A,B**). Podobný trend byl pozorován i u druhů *R. irregularis* a *G. margarita*. Kolonizace substrátu druhem *C. claroideum* byla nejvyšší na hladině dusíku označené N4, zatímco tatáž koncentrace v případě druhu *F.*

mosseae nebyla statisticky významně odlišná od koncentrace N2 (**Graf 9B**). Je zajímavé, že délka ERM u druhu *G. margarita* byla nejvyšší rovněž v koncentraci označené N4. Z dostupných výsledků vyplývá, že zatímco druhy *C. claroideum*, *F. mosseae* a *G. margarita* dosahovaly optimální délky ERM v koncentraci označené N4, druh *R. irregularis* měl optimum délky ERM posunuto do vyšší hladiny dusíku, tj. N5 (**Graf 9D**).



Graf 9. Délka mimokořenového mycelia (ERM) jednotlivých druhů AM hub – *Claroideoglomus claroideum* (A); *Funneliformis mosseae* (B); *Gigaspora margarita* (C); *Rhizophagus irregularis* (D) – v závislosti na hladině dusíku (N0 nejnižší, N6 nejvyšší). V grafech jsou znázorněny rozdíly pomocí vícenásobného porovnání Tukeyova HSD testu. Boxy označené stejným písmenem se statisticky významně neliší na hladině významnosti $P = 0,05$. Boxploty v grafech vyznačují 1. (dolní část) a 3. (horní část) kvartil naměřených dat, horizontální linie znázorňuje medián. Vertikální linie vycházející ze střední části diagramů kolono nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem (tzv. vousy). Jednotlivé body v grafech představují odlehlé hodnoty. Měřítko osy y jsou stejná pro dvojice hub *C. claroideum* (A), *G. margarita* (A) a *F. mosseae* (B), *R. irregularis* (D).

5. Diskuse

5.1 Rozvoj arbuskulárně mykorhizní symbiózy

5.1.1 Rozvoj AM hub

Z dosavadních výzkumů vyplývá, že AM houby se významně liší ve svých schopnostech kolonizace hostitelských rostlin, substrátu a perzistence v prostředí (Hart, Reader & Klironomos, 2001; Stürmer, Bever & Morton, 2018; Chaudhary *et al.*, 2020). Předpokládá se, že rychlí kolonizátoři budou produkovat velké množství spor s krátkou dormancí a disponovat schopností rychlého a expanzivního růstu (Hart, Reader & Klironomos, 2001). To vyžaduje vysokou dostupnost zdrojů, která se s časem snižuje. Pomalí kolonizátoři by měli být odolnější vůči špatně dosažitelným zdrojům a disponovat schopností vysoké výtěžnosti minerálních látek z prostředí (Hart, Reader & Klironomos, 2001; De Souza & Declerck, 2003). Do jaké míry tento rozvoj reguluje druh hostitelské rostliny je však dosud nejasné.

Oba experimenty prokázaly rozdílnou dynamiku, rozsah a strukturu kolonizace hostitelských rostlin mezi izoláty. To může být způsobeno různými znaky jednotlivých druhů AM hub, jako je rychlost růstu mycelia (Hart & Reader, 2002a), nakládání s minerálními látkami (Klironomos, McCune & Moutoglis, 2004; Ijdo *et al.*, 2010), odlišný poměr vnitrokořenového mycelia (IRM) a mimokořenového mycelia (ERM) (Hempel, Renker & Buscot, 2007) či rozdílná infekčnost spor (Klironomos & Hart, 2002).

Kolonizační jednotky druhu *G. margarita* byly v kořenech rostlin po celé období kultivace pozorovány v nejmenší míře, což je v souladu s předešlými studiemi, které tuto AM houbu zařazují mezi pomalu rostoucí druhy (Hart & Reader, 2002b). Přestože se faktor sklizně neprokázal jako signifikantní (Tabulka 5), na Graf 3C ve čtvrté sklizni po osmnácti týdnech pozorujeme mírný stoupající trend hyfové kolonizace v kořenech rostlin. Zdá se, že míra tohoto nárůstu ve čtvrté sklizni je ovlivněna druhem rostliny. *G. margarita* je obvykle považována za AM houbu náročnou na uhlík (Lendenmann *et al.*, 2011; Thonar *et al.*, 2011; Ji & Bever, 2016; Blažková *et al.*, 2021). Vzhledem k nejzřetelnějšímu nárůstu četnosti hyfové kolonizace v symbióze s vojtěškou se lze domnívat, že právě tento rostlinný druh nejvíce podporoval růst AM houby (Corrêa, Cruz & Ferrol, 2015). To může být způsobeno tím, že rostlina AM houbě poskytuje největší množství uhlíku, neboť je nejlépe zásobena dusíkem, jehož fixaci symbiotickými bakteriemi navíc AM symbióza stimuluje (Püschel *et al.*, 2017).

Zatímco v symbióze AM hub se sveřepem, jitrocelem a čirokem docházelo po osmnácti týdnech u všech izolátů k různě výraznému poklesu kolonizačních jednotek, symbióza

s vojtěškou vykazovala zřejmý nárůst vnitrokořenových struktur AM hub v čase. Zdá se, že míra kolonizace kořenů AM houbami není bakteriemi rodu *Rhizobium* negativně ovlivněná (Primieri *et al.*, 2022). Bakterie jsou v ontogenezi rostliny aktivní dříve než AM houby a v pozdních fázích symbiózy je již jejich aktivita malá či žádná (Pitkäjärvi *et al.*, 2003; Chou *et al.*, 2019; Velandia, Reid & Foo, 2022). Je proto možné, že vojtěška v pozdních fázích symbiózy disponuje volným uhlíkem, který může poskytnout symbiotické houbě. To se může projevat dramatickým nárůstem kolonizace rostliny (**Graf 3A,B,C,D**).

Nejvyšší míru kolonizace vykazoval druh *R. irregularis*. Ten je jako zástupce čeledi Glomeraceae považován za jednoho z nejrychlejších kolonizátorů (Hart & Reader, 2002b). V proběhlém experimentu *R. irregularis* vykazoval menší počet kolonizačních jednotek v raných fázích vývoje v symbióze se sveřepem a čirokem (**Graf 3D**). Navzdory tomu byly naměřené hodnoty kolonizačních jednotek v pozdějších sklizních násobně vyšší než u jiných druhů AM hub. To může být způsobeno jednak vysokou infekčností propagulí (Redecker *et al.*, 2013), jednak také schopností vytvářet rozsáhlou vnitrokořenovou biomasu (Hempel, Renker & Buscot, 2007). Vedle rychlé kolonizace hostitele mají podle práce Martínez-García *et al.* (2015) členové čeledi Glomeraceae také schopnost přetrvat v prostředí v delším časovém horizontu. To je v souladu s naměřenými daty ve čtvrté sklizni po osmnácti týdnech. Přestože *R. irregularis* ve čtvrté sklizni vykazuje určitý pokles kolonizačních jednotek, jejich množství stále vypovídá o intenzivní kolonizaci hostitelských rostlin. Z dostupných prací vyplývá, že *R. irregularis* svou rozsáhlou biomasou násobně převyšuje jiné izoláty AM hub (Voříšková *et al.*, 2019; Blažková *et al.*, 2021; Janoušková *et al.*, 2023; Caccia *et al.*, 2024).

Napříč všemi izoláty AM hub byly nejméně kolonizovanými hostiteli rostliny sveřepu, což odpovídá předpokladu, že jsou tyto rostliny méně responsivní vůči mykorhize (Janos, 2007; Hoeksema *et al.*, 2010). Ačkoliv jsou druhy *C. claroideum* a *F. mosseae* považovány za středně rychlé kolonizátory, vrcholu kolonizace kořenů sveřepu dosahují dříve (po osmi týdnech) než rychlý kolonizátor *R. irregularis* (po dvanácti týdnech) (Hart, Reader & Klironomos, 2001; Blažková *et al.*, 2021).

Ačkoliv bylo v případě *G. margarita* pozorováno méně rozsáhlé IRM (**Graf 3**), relativní četnost arbuskul tohoto druhu byla srovnatelná s ostatními izoláty (**Graf 4**). Lze se domnívat, že *G. margarita* je v komunikaci s hostitelskou rostlinou v porovnání s jinými druhy AM hub stejně či podobně aktivní (Caccia *et al.*, 2024). Vzhledem k pozorované délce životního cyklu AM houby rodu *Gigaspora* (de Souza *et al.*, 2005) nelze vyloučit, že proběhlý experiment nepostihl celou délku jejího životního cyklu. Na druhou stranu, bylo pozorováno, že rod

Gigaspora obecně tvoří méně kolonizačních jednotek i v pozdějších fázích symbiomy (Hart & Reader, 2002b). To se patrně rovněž promítlo do nízké variability naměřených dat *G. margarita* v porovnání s ostatními izoláty.

AM symbiomy tvoří velké množství rostlinných druhů (Smith & Read, 2008). V dřívějších studiích bylo pozorováno, že arbuskuly napříč různými druhy AM hub mají relativně krátkou životnost, přibližně tři až šest dnů (Brundrett & Peterson, 1985, Gryndler *et al.*, 2004). Arbuskuly existují pouze krátkou dobu na vrcholu vývojové křivky a celý arbuskulární cyklus trvá kolem osmi dní, přičemž aktivní fáze arbuskul tvoří pouze 33 % celého cyklu (Alexander *et al.*, 1989). V důsledku toho naměřená data zahrnují různá vývojová stadia arbuskul. Je proto možné, že velká variabilita dat v první sklizni čiroku v symbiomy s izoláty *C. claroideum*, *F. mosseae* a *R. irregularis* (Graf 4A,B,D) naznačují variabilní nástup aktivní symbiotické fáze mezi sklizenými rostlinami (Kobae & Hata, 2010). Trend opožděného nástupu aktivní symbiomy pozorujeme u rostlin sverepu v symbiomy s izoláty *F. mosseae*, *G. margarita* a *R. irregularis* (Graf 4B,C,D). Ostatní rostliny vykazovaly maximální hustotu arbuskul v raných fázích symbiomy, po čtyřech týdnech. Zatímco tvorba arbuskul je postupný proces, kolaps arbuskule má velmi rychlý průběh (Toth & Miller, 1984), který je dokončen během 2,5 – 5,5 hodin (Kobae & Hata, 2010; Li *et al.*, 2019). U rostlin vojtěšky a jitrocele v symbiomy s *C. claroideum*, *F. mosseae* a *R. irregularis* byl pozorován prudký pokles četnosti arbuskul v rámci kolonizace ve třetí a čtvrté sklizni po dvanácti a osmnácti týdnech kultivace, což svědčí o rychlejší degradaci arbuskul vůči jejich tvorbě.

Analýza relativní četnosti arbuskul odhalila signifikantní interakce mezi druhem rostliny a sklizní, což poukazuje na odlišnou dynamiku rozvoje aktivních struktur AM hub napříč rostlinami. Zatímco vliv rostliny na rozvoj hyfové kolonizace byl prokázán pouze v druhé sklizni, její účinek na četnost arbuskul se projevil v obou analyzovaných sklizních. Ve všech případech byl pozorován pokles četnosti arbuskul v čase, což naznačuje klesající aktivitu AM hub v dodávkách fosforu (Silveira & Cardoso, 2004; Wipf *et al.*, 2019). Jak rozvoj hyfové kolonizace, tak četnost arbuskul byly prokázány jako symbiotické mykorhizní znaky. Vliv rostliny se ve větší míře projevoval v četnosti arbuskul. Míra tohoto vlivu se pak lišila mezi AM houbami. Hodnoty indikující interakci mezi uvedenými faktory byly nejvyšší v případě *F. mosseae* a *C. claroideum* (Tabulka 5), tj. u druhů, které rostlinu kolonizovaly středně rychle. Nejmenší vliv rostliny je naopak patrný u nejpomalejšího kolonizátora, *G. margarita*. Zdá se, že vliv rostliny se nejvíce projevuje právě u středně rychlých kolonizátorů, nejméně pak u pomalých kolonizátorů. Rychlá proliferace AM houby kořeny zřejmě vyžaduje větší kontrolu

mladé rostliny nad tvorbou struktur zodpovědných za výměnu látek, tj. arbuskul (Blažková *et al.*, 2021).

Vezikuly v prvním experimentu tvořila pouze AM houba *R. irregularis* (Graf 5). Nejméně vezikul bylo pozorováno v symbióze se sveřepem, nejvíce pak s čirokem. Je zajímavé, že v raných fázích symbiózy se sveřepem *R. irregularis* vezikuly netvořil, což je v souladu s pozdějším nástupem rozvoje arbuskul (Graf 4D). Olsson *et al.* (2011) tvrdí, že nejhojnější prvek obsažený ve vezikulách je fosfor, dále pak vápník, síra, křemík a draslík. To naznačuje přípravu AM houby na hůře dostupný fosfor poskytovaný rostlině v pozdějších fázích symbiózy (Kiers *et al.*, 2011; Fellbaum *et al.*, 2014). To by bylo v souladu s trendem poklesu hustoty vezikul v pozdějších sklizních (Graf 5), kdy již dochází k výrazné spotřebě zásobních látek AM houby určených jak k výměně s hostitelskou rostlinou, tak pro výstavbu nových struktur (Bago *et al.*, 2002). V symbióze se sveřepem a vojtěškou pozorujeme trend poklesu četnosti vezikul, což odpovídá klesající četnosti arbuskul tohoto izolátu. Vliv rostliny na četnost tvorby vezikul nebyl prokázán, což indikuje, že tvorba vezikul je houbovým mykorhizním znakem a druh rostliny na jejich hustotu nemá vliv.

5.1.2 Rozvoj na gradientu dusíku v kultivačním substrátu

Dusík má v růstu AM hub ambivalentní postavení. Vzhledem k jeho závislosti na dalších faktorech byl formulován tzv. dusíkový paradox (Johnson, 2010). Účinek hladiny koncentrace dusíku závisí na součinné limitaci fosforem. Relativní množství fosforu a dusíku proto může do značné míry určovat mykorhizní funkci (Johnson *et al.*, 2003; Blanke *et al.*, 2005). Vzhledem k úzké provázanosti dusíku s dalšími faktory prostředí, jako je dostupnost fosforu a uhlíku (Johnson *et al.*, 2003; Blanke *et al.*, 2005), vody (Wu *et al.*, 2021), věku hostitelské rostliny, teplotě, světlu (Bücking & Kafle, 2015) či přítomnosti dalších organismů (Meng *et al.*, 2015), je obtížné pro AM houby stanovit absolutní hranici limitace dusíkem. Z dostupných výzkumů je však zřejmé, že dusík hraje při ustanovení AM symbiózy klíčovou, ač nejasnou roli (Johnson *et al.*, 2003; Corrêa, Cruz & Ferrol, 2015; Püschel *et al.*, 2016).

V provedeném experimentu dostupnost dusíku v kultivačním substrátu významně ovlivnila rozvoj AM symbiózy, což je v souladu s předešlými pracemi (Treseder & Allen, 2002; Nouri *et al.*, 2014; Bueno de Mesquita *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2024). Všechny izoláty AM hub vykazovaly na hladinách dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu velkou variabilitu ve struktuře vnitrokořenné a mimokořenné kolonizace, což poukazuje na široké spektrum druhových odpovědí AM hub.

Nízké koncentrace dusíku v kultivačním substrátu by podle zákona minima měly předpokládat větší investici AM hub do růstu ERM (Johnson, 2010). Tím by mohly získat lepší přístup k limitujícímu zdroji. Dle výsledku experimentu však AM houby v nízkých koncentracích dusíku disponovaly nejméně rozsáhlým myceliem (**Graf 9**). Je možné, že v nejnižších koncentracích dusíku neměly AM houby dostatek zdrojů pro produkci stavebních látek a výstavbu mimokořenových struktur (Corrêa, Cruz & Ferrol, 2015) a nedostupnost dusíku inhibovala růst rostliny i AM houby (Püschel *et al.*, 2016). To potvrzuje předpoklad, že AM houby jsou náročné na dusík (Hodge & Fitter, 2010; Grman & Robinson, 2013; Corrêa, Cruz and Ferrol, 2015; Püschel *et al.*, 2016) a v závislosti na dalších podmínkách prostředí dochází při jeho nedostatku k růstové inhibici AM hub i rostlin (Corrêa, Ferrol & Cruz, 2024). Výsledky experimentu naznačují stoupající trend ve vyšších hladinách dusíku a následný pokles hustoty ERM v nejvyšší koncentraci dusíku (**Graf 9**).

V délce ERM na gradientu dusíku pozorujeme značné mezidruhové rozdíly AM hub. ERM *G. margarita* dosahovalo i v nejvyšších naměřených hodnotách řádově nižší délky (**Graf 9C**) než mycelium *R. irregularis* a *F. mosseae*, což je v rozporu s pracemi, které poukazují na rozsáhlé mimokořenové struktury tohoto druhu (Hart & Reader, 2002; de Souza *et al.*, 2005). Zdá se, že *G. margarita* je na dusík v porovnání s ostatními izoláty méně responsivní. Vzhledem k délce jejího životního cyklu je pravděpodobné, že nízká odpověď na dusík je způsobena nedostatečně rozvinutým myceliem (Chagnon, Bradley & Klironomos, 2015). Předešlé studie poukazují na lepší reakci *G. margarita* na prostředí s obtížně dostupnými zdroji (Hart & Reader, 2002; Johnson *et al.*, 2003; Lerat *et al.*, 2003). Lze se proto domnívat, že vliv dusíku by se na kolonizačních znacích izolátu projevil až v delším časovém horizontu.

Optimální výstavbu ERM pozorujeme v hladině dusíku označené N4 u všech izolátů AM hub kromě *R. irregularis*, u nějž je optimum posunuto do hladiny N5. Nejrozsáhlejší ERM tedy *R. irregularis* tvořil v podmínkách limitace růstu rostliny fosforem, avšak ne v jeho extrémní deficienci. Vzhledem k tomu, že *R. irregularis* je obvykle označován za ruderální druh (Chagnon, Bradley & Klironomos, 2015), je možné, že je vůči vyšší dostupnosti dusíku tolerantnější.

Na druhou stranu pokles vnitrokořenových a mimokořenových struktur ve středních hodnotách koncentrace dusíku (N3) odpovídá optimálnímu růstu rostlin za vyváženého podílu dusíku a fosforu (Příloha 3 a 4). Lze se domnívat, že tyto podmínky prostředí nepodněcují rostlinu k intenzivní výměně látek s AM houbou a rozsah strukturních jednotek AM hub tak může být více či méně omezený (Johnson, 2010). Ve vyšších hladinách dusíku byly rostliny

limitovány fosforem, v nižších dusíkem. To může vést ke stimulovanému růstu mimokořenových struktur (Govindarajulu *et al.*, 2005). Zatímco v podmínkách extrémně nízké koncentrace dusíku AM houba s rostlinou o dusík kompetuje a dochází k významné redukci jejich růstu (Püschel *et al.*, 2016), mírně zvýšená, avšak stále limitující dostupnost dusíku může vést ke stimulovanému růstu AM houby a dodávkám dusíku rostlině (Govindarajulu *et al.*, 2005; Püschel *et al.*, 2017). Extrémně vysoké koncentrace dusíku pak vedou k inhibici růstu AM hub (Corrêa, Ferrol & Cruz, 2024). Biomasa rostlin byla v této koncentraci malá, ale rostliny byly stále životaschopné.

To by znamenalo, že zatímco v extrémních hladinách dusíku je růst AM hub ovlivněn podmínkami prostředí, ve středních hodnotách jsou růstové vzorce ovlivněny zejména fyziologií rostlin. Úspěšnost AM hub v kolonizaci hostitele a prostředí pak může být dána spíše tolerancí izolátu AM houby k nezávislosti rostliny na symbióze (tj. menších dodávkách uhlíku) (Johnson, 2010; Kiers *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2015), než na samotné toleranci k abiotickým faktorům. Lze říci, že růstová reakce AM hub na dostupnost dusíku v kultivačním substrátu ve středních hodnotách jeho koncentrace odpovídá symbiotickému mykorhiznímu znaku, neboť je z velké míry ovlivněna oběma symbionty. Naopak v krajních hodnotách koncentrace dusíku je vliv rostliny menší a kolonizační schopnosti AM hub odráží spíše houbové mykorhizní znaky.

Je zajímavé, že rozvoj IRM a ERM se na gradientu dusíku v kultivačním substrátu významně lišil. Zatímco optimální růst ERM byl pozorován na hladině označené N4 u druhů *C. claroideum*, *F. mosseae* a *G. margarita* (**Graf 9A,B,C**) a N5 v případě druhu *R. irregularis* (**Graf 9D**), výstavba vnitrokořenové kolonizace měla na gradientu dusíku převážně klesající trend (**Graf 6**). To naznačuje, že nízká koncentrace dusíku vede k účinnější kolonizaci hostitelské rostliny, zatímco vyšší koncentrace dusíku vedou k účinnější kolonizaci substrátu. Efektivní kolonizace hostitelské rostliny v nízké koncentraci dusíku by mohla znamenat účast AM houby na příjmu dusíku (Yao, Ohtomo & Saito, 2010; Bucking, Liepold & Ambilwade, 2012; Püschel *et al.*, 2017). I zde však pozorujeme značné mezidruhové rozdíly.

C. claroideum a *G. margarita* dosahovaly nejvyšší míry kolonizace převážně v nízkých koncentracích dusíku kultivačního substrátu (**Graf 6A,C**), přičemž toto optimum bylo srovnatelné či nižší než kolonizace obou rychlých kolonizátorů, *R. irregularis* a *F. mosseae* (Hart & Reader, 2002a). Tyto izoláty měly optimální rozvoj hyfové kolonizace posunut do vyšších hladin dusíku (**Graf 6B,D**). Kolonizace kořenů je však do velké míry relativní parametr, který závisí na růstu rostliny. V extrémně nízkých koncentracích dusíku rostliny rostou špatně (Příloha 3 a 4) a i pomalu proliferaující AM houba s menším množstvím vnitrokořenových

jednotek může dosáhnout vysokého podílu kolonizace kořenového systému. Vysoká kolonizace *F. mosseae* a *R. irregularis* na hladinách dusíku N1 a N2 může také naznačovat, že AM houby rostlině limitující zdroj dusíku poskytují, začaž získávají fotosynteticky fixovaný uhlík (Jakobsen & Hammer, 2015; Hestrin *et al.*, 2019). Ten mohou následně investovat do výstavby nových struktur. Naproti tomu ve středních hodnotách dostupnosti dusíku může být kořenový systém rostlin natolik rozsáhlý, že jej pomalu rostoucí AM houby kolonizují jen z velmi malé procentuální části. Poměrně vysoká kolonizace relativně rychlých kolonizátorů rostlin *R. irregularis* a *F. mosseae* (Hart & Reader, 2002a) ve středních hodnotách dusíku s optimálním růstem rostliny naznačuje, že na rozdíl od *C. clarioideum* a *G. margarita* jsou tyto druhy schopny získat od rostliny uhlík, ačkoliv sama hostitelská rostlina od nich minerální látky nepotřebuje (Johnson, Graham & Smith, 1997; Fellbaum *et al.*, 2014). Tuto hypotézu podporuje také lepší růst nemykorhizních rostlin na hladině dusíku N3 (Příloha 3 a 4).

Lze se domnívat, že rychlá kolonizace s sebou nese vysokou náročnost na dusík. Autoři Yao, Ohtomo & Saito (2010) ve své práci demonstrují, že zvýšený obsah dusíku a fosforu v presymbiotické fázi může napomáhat k akumulaci polyfosfátů, což by mohlo znamenat rychlejší reakci klíčících hyf na nastalou symbiózu a účinnější přenos látek mezi symbionty. Je možné, že rychlí kolonizátoři jsou tak na symbiózu ve vyšší dostupnosti půdního dusíku lépe připraveni a mohou účinněji kolonizovat hostitelskou rostlinu. Vzhledem k limitaci rostlin fosforem ve vyšších hladinách koncentrace dusíku v kultivačním substrátu Experimentu 2 lze také říci, že rychle rostoucí AM houby jsou lépe připraveny reagovat na rostlinnou potřebu fosforu (Jansa, Mozafar & Frossard, 2005). To se pak v rámci výměny fosforu za uhlík promítá do velkého nárůstu ERM AM hub. V souladu s prací Treseder *et al.* (2018) a rychlou kolonizací prostředí, *G. irregularis* navíc vykazoval toleranci k vysoké dostupnosti dusíku (hladina N6), kde byly rostliny extrémně limitovány fosforem. Odolnost těchto AM hub může být dána jednak lepším přístupem k minerálním látkám (zejména fosforu) a jejich účinnější směně za uhlík, ale také malými energeticky úspornými sporami (Aguilar-Trigueros *et al.*, 2019). Naproti tomu sporulace druhů s velkými energeticky náročnými sporami, může v prostředí s vysokou koncentrací dusíku selhávat (Saito, Oba & Kojima, 2011; Chen *et al.*, 2020).

Klesající trend na gradientu dusíku v kultivačním substrátu pozorujeme rovněž v případě četnosti arbuskul v kolonizaci kořenů (**Graf 7**). Druhy *C. clarioideum* a *R. irregularis* vykazovaly nejvyšší četnost arbuskul v nejnižší hladině dostupnosti dusíku (**Graf 7A,D**), zatímco optimální aktivita *F. mosseae* byla posunuta do středních hodnot hladiny dusíku (**Graf 7B**). Hustota arbuskul izolátu *G. margarita* byla rovnoměrná ve všech zvolených hladinách

dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu (**Graf 7C**). V případě *C. claroideum* a *G. margarita* je tento výsledek konzistentní s intenzivní výstavbou IRM v nízké dostupnosti dusíku. *R. irregularis* byl jediný druh AM houby, který vykazoval aktivitu mycelia i ve vysoké dostupnosti dusíku, což pozorujeme jak v četnosti arbuskul, tak vezikul (**Graf 7D**, **Graf 8D**). Z výsledků struktury ERM a IRM lze usuzovat, že *R. irregularis* dosahuje stabilní kolonizace hostitelské rostliny i substrátu ve vysokých hladinách dostupnosti půdního dusíku. To naznačuje vyšší toleranci druhu vůči vysokému obsahu dusíku v půdě, která nebyla zaznamenána u ostatních izolátů AM hub (Treseder *et al.*, 2018).

Houbové vezikuly jsou obvykle považovány za struktury zodpovědné za ukládání zásobních látek (Cooper & Lösel, 1978). Zatímco nejvyšší četnost těchto struktur byla u *R. irregularis* pozorována v nejnižší hladině dusíku (**Graf 8B**), vezikuly *C. claroideum* byly nejčetnější ve vyšších hladinách dusíku (N4) (**Graf 8A**). To je zajímavé zejména vzhledem ke zřejmému poklesu aktivity mycelia v četnosti arbuskul (**Graf 7A**). Z dostupných výsledků je možné se domnívat, že AM houby ukládají zásobní látky jak v aktivní fázi symbiózy, tak v jejím útlumu, kdy je přístup k novým zdrojům uhlíku již značně omezený. V kontextu obou experimentů je navíc zajímavá absence vezikul izolátu *C. claroideum* v prvním pokusu. Bylo pozorováno, že oproti zástupcům čeledi Glomeraceae, kteří tvoří vezikuly v hojném množství, druhy čeledi Claroideoglomeraceae vytváří vezikuly spíše zřídka (Souza, 2015; Willis *et al.*, 2016). Lze se domnívat, že v aktivní tvorbě vezikul *C. claroideum* hrála dostupnost dusíku klíčovou roli. Vzhledem k zařazení izolátů *R. irregularis* a *F. mosseae* do čeledi Glomeraceae, skupiny AM hub s četně vytvářenými vezikuly, si lze rovněž povšimnout, že u *F. mosseae* nebyly vezikuly pozorovány ani v jednom z provedených experimentů (Al-Qarawi, Mridha & Dhar, 2013).

5.2 Metodické aspekty

Oba provedené experimenty byly realizovány formou nádobové kultivace ve skleníku, což nám umožnilo kontrolovat kultivační podmínky. Nevýhodou těchto podmínek je omezený objem půdního substrátu. Ten AM houbám v přírodních podmínkách umožňuje rozšiřovat prostor, z něhož čerpají živiny prostřednictvím růstu ERM, což může mít pozitivní účinek na růst rostliny i vnitřní kolonizačních struktur AM hub (Smith & Read, 2008). Umělý substrát směsi zeolitu, písku a malé příměsi půdy navíc do značné míry omezuje množství dostupných minerálních zdrojů. V delším časovém horizontu (v uvedeném experimentu v měřítku čtvrté sklizně po osmnácti týdnech) může omezený objem a složení půdního substrátu omezovat rozvoj AM symbiózy.

Alternativou ke skleníkovému pokusu je pokus polní, který umožňuje studovat dynamiku symbiózy v přirozeném prostředí. V přirozených půdních podmínkách však vždy existuje více druhů hub. Vzhledem k tomu, že oba experimenty studovaly znaky jednotlivých druhů AM hub, nebylo by provedení takového experimentu možné. Druhý experiment rovněž vyžadoval přesnou regulaci podmínek substrátu z hlediska kontrolované hladiny dostupnosti dusíku. Vzhledem k interakci s dalšími minerálními prvky (zejména fosforem) by byl takový výzkum v polních podmínkách neproveditelný.

Při porovnávání rozvoje různých izolátů AM hub je vždy klíčovým faktorem standardizace inokula hub tak, aby rozvoj hub nebyl limitován množstvím infekčních jednotek, případně aby byl tímto faktorem limitován u všech porovnávaných hub podobně (Klironomos & Hart, 2002; Mummey, Antunes & Rillig, 2009). V obou experimentech byla optimalizace inokula provedena odlišným způsobem. Důvodem, proč byl v prvním experimentu zvolen manuální výběr jednotného počtu spor, byl důraz kladený na dynamiku rozvoje AM symbiózy. Tento způsob inokulace nebývá příliš častý, neboť manuální výběr spor je velmi pracný a časově náročný (Bianciotto *et al.*, 2017; Crossay *et al.*, 2017; Srisom *et al.*, 2020). V počátcích rozvoje symbiózy je velikost inokula podstatná, neboť se AM houby významně liší v infekčnosti různých propagulí. Ačkoliv nemusí být klíčení všech spor stejné, jedná se o teoreticky nejpreciznější způsob standardizace inokula. Vzhledem k ranému odběru první sklizně (po čtyřech týdnech) bylo nutné zajistit podmínky pro stejnou či velmi podobnou infekčnost vybraných izolátů AM hub.

Jiným exaktním způsobem by byla standardizace množství infekčních propagulí AM hub prostřednictvím testu MPN (anglicky „most probable number“), který je založený na ředění inokula (Voříšková *et al.*, 2016) a umožňuje stanovit množství infekčních propagulí v jednom gramu substrátu. Výhodou tohoto přístupu je teoreticky vysoká přesnost vzhledem k rozdílům v infekčnosti různých druhů AM hub. Nevýhodou jsou extrémně velké rozdíly v přirozené infektivitě jednotlivých druhů AM hub v půdě, a tedy i v objemech potřebného inokula. Rizikem je také, že se infektivita AM hub v čase změní, respektive poklesne (Janoušková *et al.*, 2013).

Vzhledem k tomu, že druhý experiment nepřímo porovnával optimální růst AM hub na gradientu dusíku v kultivačním substrátu, byl způsob inokulace upraven na optimalizaci prostřednictvím jednotného objemu. Výběr vhodně narostlých a stejně starých kultur v kulminující fázi rozvoje AM symbiózy je méně přesnou, avšak časově efektivní metodikou optimalizace inokula. Inokulum každého izolátu bylo zkontrolováno, aby byla zjištěna vysoká

četnost spor u každé varianty, zajišťující optimální rozvoj kolonizace, tj. aby rozvoj houby nebyl limitován nedostatkem inokula. K infekčnosti inokula zde navíc přispívala přítomnost dalších propagulí jako jsou fragmenty IRM (Klironomos & Hart, 2002). Druhý experiment byl sklizen po osmi týdnech, což by mělo zajistit dostatečný rozvoj symbiózy úměrně ke kolonizačním schopnostem jednotlivých izolátů AM hub.

Je zřejmé, že optimalizace inokula různých druhů AM hub je obtížná disciplína a není možné zajistit stoprocentní jednotu v infekčnosti odlišných izolátů. Je proto nutné optimalizaci inokula přizpůsobit především účelům konkrétního experimentu.

5.3 Shrnutí práce

Cílem práce bylo popsat variabilitu znaků AM hub v závislosti na hostitelské rostlině, době trvání mykorhizní symbiózy a dostupnosti dusíku. Do jaké míry jsou mykorhizní znaky určeny houbou a rostlinou je stále předmětem diskusí. Jedná se však o podstatný dílčí krok v porozumění fungování mykorhizního vztahu a jeho podobám v různém prostředí.

Rozvoj kolonizace AM hub je ovlivněn znaky AM hub i rostlin. Znaky obou symbiontů se promítají do dynamiky kolonizace i do její konkrétní úrovně a morfologie, resp. četnosti arbuskul a vezikul. Výsledná data poukázala na výrazný účinek druhu hostitelské rostliny na rozvoj hyfové kolonizace v raných fázích symbiózy, přičemž vliv rostliny byl nejvýraznější u středně rychlých kolonizátorů. Nejmenší vliv rostliny byl naopak pozorován u nejpomalejšího AM kolonizátora. S postupem času byl vliv rostliny umenšen a dynamika hyfové kolonizace byla z větší míry určena druhem AM houby. Zajímavý rozvoj kolonizace AM houbami byl pozorován u vojtěšky. Všechny izoláty AM hub zde vykazovaly vysoký podíl kolonizačních jednotek i v pozdních fázích symbiózy, kde byl v případě jiných druhů rostlin naměřen výrazný pokles všech kolonizačních struktur AM hub.

Výsledky experimentu odhalily rozdílnou mezidruhovou odpověď AM hub na dusík v kultivačním substrátu. Na gradientu dusíku v zálivce byl *C. claroideum* zařazen mezi druhy preferující nízkou koncentraci dusíku, *F. mosseae* a *G. margarita* mezi druhy nejlépe rostoucí ve středních koncentracích dusíku a *R. irregularis* byl shodně s předešlými studiemi (Treseder *et al.*, 2018) označen za druh tolerující vysoké hladiny koncentrace dusíku.

Extrémně nízké hladiny dusíku v kultivačním substrátu měly odlišný vliv na rozvoj IRM a ERM. Pro kolonizaci kořenů a četnost arbuskul byly nízké koncentrace dusíku v kultivačním substrátu spíše stimulační, a to v závislosti na konkrétním izolátu. Naproti tomu rozvoj ERM byl extrémně nízkou hladinou dusíku v kultivačním substrátu inhibován. Extrémně vysoké

hladiny dostupného půdního dusíku inhibovaly rozvoj IRM i ERM. Výjimka byla pozorována pouze v případě výstavby IRM *R. irregularis*. Lze se domnívat, že druh vykazuje vyšší toleranci k vysokému obsahu půdního dusíku, která nebyla pozorována u ostatních studovaných izolátů AM hub (Treseder *et al.*, 2018). Zdá se, že odpověď AM hub na dostupnost dusíku ve výstavbě vnitrokořenových struktur je složitější než v rozvoji ERM.

Je zřejmé, že AM symbióza je komplexní vztah, jehož dynamiku ovlivňují znaky AM hub, hostitelských rostlin a abiotické a biotické faktory prostředí. Znaky obou symbiotických organismů mohou určovat složení houbových i rostlinných společenstev v různých podmínkách prostředí (Hart & Reader, 2002). Znaky AM hub se mohou měnit v závislosti na globálních změnách klimatu a obsahu dusíku v půdě (Braghiere *et al.*, 2021). Reakce AM hub na změny těchto faktorů jsou zatím odvozovány pouze od jejich přirozeného výskytu v různých biotopech (Davison *et al.*, 2021). Výsledky těchto studií mohou být ve velké míře ovlivněny mezidruhovou kompeticí a interakcí s dalšími organismy (například patogeny), a nemusí tak odpovídat potenciálnímu rozšíření AM hub.

Budoucí výzkum v této oblasti by se měl zabývat studiem různých znaků AM hub (například míra vnitrokořenové kolonizace, délka ERM, aktivita relevantních enzymů, velikost spor či načasování sporulace) na gradientu dalších abiotických faktorů jako je teplota, koncentrace fosforu či pH. Navazující výzkum by napomohl k identifikaci houbových a mykorhizních znaků důležitých pro fungování AM symbiózy v různých podmínkách prostředí. Další studium by mohlo být zaměřeno na širší spektrum mykorhizních znaků a hostitelských rostlin. Hlubší pochopení znaků různých izolátů AM hub by přispělo k pochopení složení společenstev napříč abiotickými a biotickými podmínkami prostředí. Práce svými výsledky přispěla k pochopení faktorů, které ovlivňují rozvoj AM hub. Výsledky této práce mohou být využity k dalšímu výzkumu variability znaků AM hub a jejich reakcím na abiotický stres a přispět tak k hlubšímu pochopení fungování mykorhizy v podmínkách měnícího se klimatu.

6. Závěr

Práce popsala dynamiku rozvoje mycelia vybraných izolátů AM hub a variabilitu těchto dat v závislosti na hostitelské rostlině a dostupnosti dusíku v kultivačním substrátu.

Byly stanoveny následující hypotézy:

1. Dynamika rozvoje AM hub je symbiotický mykorhizní znak určený druhem hostitelské rostliny a morfologickými znaky AM houby.

Hypotéza byla potvrzena. Rozvoj hyfové kolonizace i relativní četnost arbuskul jsou symbiotické mykorhizní znaky, přičemž míra vlivu rostliny se liší mezi různými izoláty. Nejmenší vliv rostliny byl patrný u *G. margarita*, AM houby s nejpomalejším rozvojem.

2. AM houby se liší ve schopnosti kolonizovat hostitelské rostliny. Rozvoj kolonizace hyfami a četnost vezikul jsou mezi různými druhy hostitelských rostlin méně variabilní než četnost arbuskul.

Hypotéza byla potvrzena. Rostlina ovlivnila dynamiku hyfové kolonizace i četnosti arbuskul v rámci kolonizovaných částí kořenů. Vliv rostliny byl výraznější v dynamice tvorby arbuskul, kde byly pozorovány zřetelnější rozdíly mezi rostlinami. Naopak v případě četnosti hyf byly pozorované rozdíly mezi rostlinami menší, u většiny druhů AM hub (*C. claroideum*, *F. mosseae* a *G. margarita*) se nelišily celkově, ale v závislosti na čase. Vezikuly tvořil pouze izolát *R. irregularis*, na jejich tvorbu neměla rostlina vliv. V našem experimentálním systému se tedy jednalo čistě o houbový mykorhizní znak.

3. Vnitrokořenové a mimokořenového mycelium se liší v odpovědi na dostupnost dusíku v kultivačním substrátu. Extrémně nízké a extrémně vysoké hladiny dusíku inhibují rozvoj obou struktur.

Hypotéza byla potvrzena částečně. Vnitrokořenové mycelium (IRM) a mimokořenové mycelium (ERM) se v odpovědi na dostupný dusík v kultivačním substrátu liší. Optimální koncentrace dusíku pro rozvoj ERM byla

vyšší než pro rozvoj IRM. Extrémně nízké hladiny dusíku měly pozitivní vliv na kolonizaci kořenů a četnost arbuskul v kolonizovaných kořenech a negativní vliv na rozvoj ERM. V extrémně vysokých hladinách dostupného půdního dusíku byl růst ERM všech izolátů inhibován. Proliferace IRM byla v extrémně vysokých hladinách dusíku v kultivačním substrátu inhibována u všech druhů s výjimkou izolátu *R. irregularis*. AM houby se tedy na gradientu dusíku v kultivačním substrátu projevovaly podobně, avšak s výjimkou *R. irregularis*, který byl k vyšší dostupnosti dusíku méně citlivý.

7. Seznam příloh

Příloha 1 – Statistická analýza váhy nadzemní sušiny hostitelských rostlin v Experimentu 1

Příloha 2 – Statistická analýza váhy sušiny kořenů hostitelských rostlin v Experimentu 1

Příloha 3 – Statistická analýza váhy nadzemní sušiny hostitelských rostlin v Experimentu 2

Příloha 4 – Statistická analýza váhy sušiny kořenů hostitelských rostlin v Experimentu 2

Příloha 5 – Kultivace rostlin zasazených do Experimentu 1

Příloha 6 – Sklizeň Experimentu 1

Příloha 7 – Udržování Experimentu 2 a zalévací roztoky s různou koncentrací dusíku

Příloha 8 – Vnitrokořenová kolonizace *F. mosseae* na hladině dostupnosti dusíku N2 v Experimentu 2

Příloha 9 – Vnitrokořenová kolonizace *R. irregularis* na hladině dostupnosti dusíku N5 v Experimentu 2

Příloha 10 – Vnitrokořenová kolonizace *F. mosseae* na hladině dostupnosti dusíku N5 v Experimentu 2

Příloha 11 – Fragmenty mimokořenového mycelia *F. mosseae* v Experimentu 2

8. Seznam literatury

- VAN AARLE, I.M., OLSSON, P.A. & SÖDERSTRÖM, B. (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytologist*, **155**: 173–182. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00439.x>.
- ABDEL-FATTAH, G. M. (2001). Measurement of the viability of arbuscular-mycorrhizal fungi using three different stains; relation to growth and metabolic activities of soybean plants. *Microbiological Research*, **156**(4): 359–367. doi: 10.1078/0944-5013-00121.
- AGUILAR-TRIGUEROS, C.A. ET AL. (2019). Bridging reproductive and microbial ecology: a case study in arbuscular mycorrhizal fungi. *ISME Journal*, **13**(4): 873–884. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0314-7>.
- ALEXANDER, T., TOTH, R., MEIER, R., WEBER, H.C. (1989). Dynamics of arbuscule development and degeneration in onion, bean and tomato with reference to vesicular-arbuscular mycorrhizae in grasses, *Can. J. Bot.*, **62**: 2505–2513.
- ALLEN, M.F. (1987). Re-establishment of mycorrhizas on Mount St Helens: Migration vectors. *Transactions of the British Mycological Society*, **88**(3): 413–417. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(87\)80019-0](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(87)80019-0).
- AL-QARAWI, A. A., MRIDHA, M. A. U. AND DHAR, P. P. (2013). Report of Funneliformis mosseae (Nicol. & Gerd.) Gerd. and Trappe from Rangeland Soil of Saudi Arabia. *Research Journal of Biotechnology*, **8**(2): 96–99.
- ANTONINKA, A., REICH, P. B. AND JOHNSON, N. C. (2011). Seven years of carbon dioxide enrichment, nitrogen fertilization and plant diversity influence arbuscular mycorrhizal fungi in a grassland ecosystem. *New Phytologist*, **192**(1): 200–214. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03776.x.
- AROCA, R. ET AL. (2003). Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling-induced water stress. *Plant Science*, **165**(3): 671–679. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00257-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00257-7).
- AUGÉ, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, **11**(1): 3–42. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s005720100097>.
- BAGO, B., AZCÓN-AGUILAR, C., & PICHÉ, Y. (1998). Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia*, **90**(1): 52–62. <https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026878>
- BAGO, B. ET AL. (2002). Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*, **128**(1): 108–124. doi: 10.1104/pp.010466.
- BAGO, B. ET AL. (2003). Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiology*, **131**(3): 1496–1507. Dostupné z: <https://doi.org/10.1104/pp.102.007765>.
- BAGO, B., PFEFFER, P. & SHACHAR-HILL, Y. (2000). Update on Symbiosis Arbuscular Mycorrhizas. *Plant physiology*, **124**(11): 949–957.
- BARRETT, G., CAMPBELL, C.D. & HODGE, A. (2014). The direct response of the external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi to temperature and the implications for nutrient transfer. *Soil Biology and Biochemistry*, **78**: 109–117. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.07.025>.
- BECK ET AL. (1993). Practical Rhizobium-legume technology manual. *International centre for agricultural research in the Dry Areas, Aleppo, Syrian Arab Republic*, **9**: 1-245.
- BECKER, W.N. & HALL, I.R. (1976). *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon*, **4**(1):155–160.

- BERGMANN, J. *ET AL.* (2020). The fungal collaboration gradient dominates the root economics space in plants. *Science Advances*, 6(27): 1–9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba3756>.
- BESSERER, A. *ET AL.* (2006). Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology*, 4(7): 1239–1247. doi: 10.1371/journal.pbio.0040226.
- BIANCOTTO, V. *ET AL.* (2017). Detection and Identification of Bacterial Endosymbionts in Arbuscular Mycorrhizal Fungi Belonging to the Vertical Transmission of Endobacteria in the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Gigaspora margarita* through Generation of Vegetative Spores. 70(11): 3600–3608. doi: 10.1128/AEM.70.6.3600.
- BITTERLICH, M., FRANKEN, P. AND GRAEFE, J. (2018). Arbuscular mycorrhiza improves substrate hydraulic conductivity in the plant available moisture range under root growth exclusion. *Frontiers in Plant Science*, 9(3): 1–11. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00301>.
- BLANKE, V. *ET AL.* (2005). Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site. *New Phytologist*, 166(3): 981–992. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01374.x.
- BLAŽKOVÁ, A. *ET AL.* (2021). Is mycorrhiza functioning influenced by the quantitative composition of the mycorrhizal fungal community?. *Soil Biology and Biochemistry*, 157(4): 108249. doi: 10.1016/j.soilbio.2021.108249.
- BODDINGTON, C. L. & DODD, J. C. (1998). A comparison of the development and metabolic activity of mycorrhizas formed by arbuscular mycorrhizal fungi from different genera on two tropical forage legumes. *Mycorrhiza*, 8(3): 149–157. doi: 10.1007/s005720050228.
- BOROWICZ, V.A. (2013). The impact of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth following herbivory: A search for pattern. *Acta Oecologica*, 52: 1–9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2013.06.004>.
- BOUSSAGEO, R. *ET AL.* (2022). The fine-tuning of mycorrhizal pathway in sorghum depends on both nitrogen–phosphorus availability and the identity of the fungal partner. *Plant Cell and Environment*, 45(11): 3354–3366. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/pce.14426>.
- BRAGHIERE, R.K. *ET AL.* (2021). Mycorrhizal Distributions Impact Global Patterns of Carbon and Nutrient Cycling. *Geophysical Research Letters*, 48(19): 1–11. Dostupné z: <https://doi.org/10.1029/2021GL094514>.
- BUENO DE MESQUITA, C. P. *ET AL.* (2018). Patterns of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes across a mostly-unvegetated, high-elevation landscape. *Fungal Ecology*, 36: 63–74. doi: 10.1016/j.funeco.2018.07.009.
- BÜCKING, H. & KAFLE, A. (2015). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in the nitrogen uptake of plants: Current knowledge and research gaps. *Agronomy*, 5(4): 587–612. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agronomy5040587>.
- BÜCKING, H. & SHACHAR-HILL, Y. (2005). Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. *New Phytologist*, 165(3): 899–912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01274.x>.
- BUNN, R., LEKBERG, Y. AND ZABINSKI, C. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi ameliorate temperature stress in thermophilic plants. *Ecology*, 90(5): 1378–1388. Dostupné z: <https://doi.org/10.1890/07-2080.1>.
- CACCIA, M. *ET AL.* (2024). Divergent colonization traits, convergent benefits: different species of arbuscular mycorrhizal fungi alleviate *Meloidogyne incognita* damage in tomato. *Mycorrhiza*, 34(1–2): 145–158. doi: 10.1007/s00572-024-01139-7.
- CAMPOS-SORIANO, L., GARCÍA-MARTÍNEZ, J. & SEGUNDO, B.S. (2012). The arbuscular mycorrhizal symbiosis promotes the systemic induction of regulatory defence-related genes in rice leaves and confers resistance to pathogen infection. *Molecular Plant Pathology*, 13(6): 579–592. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00773.x>.
- CAVAGNARO, T.R. *ET AL.* (2001). Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist*, 151(2): 469–475. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00191.x>.

- CHAGNON, P.L. *ET AL.* (2013). A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends in Plant Science*, 18(9): 484–491. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.05.001>.
- CHAGNON, P.L., BRADLEY, R.L. & KLIRONOMOS, J.N. (2015). Trait-based partner selection drives mycorrhizal network assembly. *Oikos*, 124(12): 1609–1616. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/oik.01987>.
- CHAUDHARY, V.B. *ET AL.* (2020). Trait-based aerial dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 228(1): 238–252. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.16667>.
- CHAUDHARY, V.B. *ET AL.* (2022). What are mycorrhizal traits?. *Trends in Ecology and Evolution*, 37(7): 573–581. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.04.003>.
- CHEN, J. *ET AL.* (2017). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates salt stress in black locust through improved photosynthesis, water status, and K⁺/Na⁺ homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 8(10): 1–14. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01739>.
- CHEN, Y.L. *ET AL.* (2017). Nitrogen deposition and precipitation induced phylogenetic clustering of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 115: 233–242. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.024>.
- CHEN, W. *ET AL.* (2020). Direct and indirect influences of long-term fertilization on microbial carbon and nitrogen cycles in an alpine grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 149: 523–535. doi: 10.1016/j.soilbio.2020.107922.
- CHOU, M. *ET AL.* (2019). Comprehensive analysis of phenotype, microstructure and global transcriptional profiling to unravel the effect of excess copper on the symbiosis between nitrogen-fixing bacteria and *Medicago lupulina*. *Science of the Total Environment*, 656: 1346–1357. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.005.
- COLLA, G. *ET AL.* (2008). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus Concentration. *Biology and Fertility of Soils*, 44(3): 501–509. doi: 10.1007/s00374-007-0232-8.
- COOPER, K. M. & LÖSEL, D. M. (1977). Lipid physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 80: 143–151.
- CORRÊA, A., CRUZ, C. & FERROL, N. (2015). Nitrogen and carbon/nitrogen dynamics in arbuscular mycorrhiza: the great unknown. *Mycorrhiza*, 25(7): 499–515. doi: 10.1007/s00572-015-0627-6.
- CORRÊA, A., FERROL, N. & CRUZ, C. (2024). Testing the trade-balance model: resource stoichiometry does not sufficiently explain AM effects. *New Phytologist*, 242(4): 1561–1575. doi: 10.1111/nph.19432.
- CRANENBROUCK, S. *ET AL.* (2005). Methodologies for in Vitro Cultivation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Root Organs. In: Declerck, S., Fortin, J.A., Strullu, DG. (eds) *In Vitro Culture of Mycorrhizas*. *Soil Biology*, vol 4. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-27331-X_18
- CROSSAY, T. *ET AL.* (2017). New method for the identification of arbuscular mycorrhizal fungi by proteomic-based biotyping of spores using MALDI-TOF-MS. *Scientific Reports*, 7(1): 1–16. doi: 10.1038/s41598-017-14487-6.
- DASTOGEER, K.M.G. *ET AL.* (2020). Plant Salinity Tolerance Conferred by Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Associated Mechanisms: A Meta-Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 11. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588550>.
- DAVISON, J. *ET AL.* (2021). Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* [Preprint]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.17240>.
- DAWSON, S.K. *ET AL.* (2021). The traits of “trait ecologists”: An analysis of the use of trait and functional trait terminology. *Ecology and Evolution*, 11(23): 16434–16445. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ece3.8321>.
- DECLERCK, S. *ET AL.* (2001). Modelling the sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in monoxenic culture. *Mycorrhiza*, 11(5), 225–230. <https://doi.org/10.1007/s005720100124>

- DE LA PROVIDENCIA, I.E. *ET AL.* (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi reveal distinct patterns of anastomosis formation and hyphal healing mechanisms between different phylogenetic groups. *New Phytologist*, 165(1): 261–271. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01236.x>.
- DE SOUZA, F.A. *ET AL.* (2005). Life history strategies in Gigasporaceae: insight from monoxenic culture. *In vitro culture of mycorrhizas*, 4: 73–91.
- DEVEAUTOUR, C. *ET AL.* (2020). Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungal spore traits along an aridity gradient, and responses to experimental rainfall manipulation. *Fungal Ecology*, 46. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.100899>.
- EGERTON-WARBURTON, L.M. & ALLEN, E.B. (2000). Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecological Applications*, 10(2): 484–496. Dostupné z: [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0484:SIAMCA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0484:SIAMCA]2.0.CO;2).
- EZAWA, T. & SAITO, K. (2018). How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. *New Phytologist*, 220(4): 1116–1121. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.15187>.
- FELLBAUM, C. R. *ET AL.* (2014). Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. *New Phytologist*, 203(2): 646–656. doi: 10.1111/nph.12827.
- FENG, Z. *ET AL.* (2020). Linking lipid transfer with reduced arbuscule formation in tomato roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungus under low pH stress. *Environmental Microbiology*, 22(3): 1036–1051. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14810>.
- FENG, Z. *ET AL.* (2023). Cooperation of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria to facilitate the host plant growth dependent on soil pH. *Frontiers in Microbiology*, 14(3). Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1116943>.
- FREW, A. *ET AL.* (2022). Plant herbivore protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity?. *New Phytologist*, 233(3): 1022–1031. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.17781>.
- FREW, A. & WILSON, B.A.L. (2021). Different mycorrhizal fungal communities differentially affect plant phenolic-based resistance to insect herbivory. *Rhizosphere*, 19(5): 100365. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100365>.
- GALLOWAY, J.N. & COWLING, E.B. (2002). Reactive nitrogen and the world: 200 Years of change. *Ambio*, 31(2): 64–71. Dostupné z: <https://doi.org/10.1579/0044-7447-31.2.64>.
- GALLAUD I. (1905). Études sur les mycorrhizes endotrophes. *Revue Générale de Botanique*, 17: 313-325.
- GARG, N. & BHARTI, A. (2018). Salicylic acid improves arbuscular mycorrhizal symbiosis, and chickpea growth and yield by modulating carbohydrate metabolism under salt stress. *Mycorrhiza*, 28(8): 727–746. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0856-6>.
- GARMENDIA, I., GOICOECHEA, N. & AGUIRREOLEA, J. (2004). Effectiveness of three *Glomus* species in protecting pepper (*Capsicum annum* L.) against verticillium wilt. *Biological Control*, 31(3): 296–305. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.04.015>.
- GERDEMANN, J. W., & TRAPPE, J. M. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN IN COLLABORATION WITH THE MYCOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA*.
- GIOVANNETTI, M. *ET AL.* (2004). Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 164(1): 175–181. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01145.x>.
- GIOVANNETTI, M. (2008). Structure, extent and functional significance of belowground arbuscular mycorrhizal networks. *Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics. Third edition. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg*: 59-72.

- GOVINDARAJULU, M. *ET AL.* (2005). Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 435(7043): 819–823. doi: 10.1038/nature03610.
- GÖHRE, V. & PASZKOWSKI, U. (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223(6): 1115–1122. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0225-0>.
- GRIME, J.P. (1997). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and evolutionary theory. *The American Naturalist* 111: 1169–1194.
- GRIME, J.P. & HUNT, R. (1975). Relative Growth-Rate : Its Range and Adaptive Significance in a Local Flora Author (s) : J . P . Grime and Roderick Hunt Published by : British Ecological Society Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/2258728>. *Journal of Ecology*, 63(2): 393–422.
- GRMAN, E. & ROBINSON, T. M. P. (2013). Resource availability and imbalance affect plant-mycorrhizal interactions: A field test of three hypotheses. *Ecology*, 94(1): 62–71. doi: 10.1890/12-0385.1.
- GRYNDLER, M., BALÁŽ, M., HRŠELOVÁ, H., JANSÁ, J. & VOSÁTKA, M. (2004) MYKORHIZNÍ SYMBIÓZA, O SOUŽITÍ HUB S KOŘENY ROSTLIN. PRAHA: ACADEMIA, ISBN 80-200-1240-0.
- GRYNDLER, M., VEJSADOVÁ, H. & VANČURA, V. (1992). The effect of magnesium ions on the vesicular—arbuscular mycorrhizal infection of maize roots. *New Phytologist*, 122(3): 455–460. doi: 10.1111/j.1469-8137.1992.tb00073.x.
- HALBWACHS, H., BÄSSLER, C. (2015). Gone with the wind e a review on basidiospores of lamellate agarics. *Mycosphere* 6, 78–112. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/6/1/10>.
- HART, M. M. *ET AL.* (2018). Fungal inoculants in the field: Is the reward greater than the risk?. *Functional Ecology*, 32(1): 126–135. doi: 10.1111/1365-2435.12976.
- HART, M.M. & READER, R.J. (2002a). Host plant benefit from association with arbuscular mycorrhizal fungi: Variation due to differences in size of mycelium. *Biology and Fertility of Soils*, 36(5): 357–366. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0539-4>.
- HART, M.M. & READER, R.J. (2002b). Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 153(2): 335–344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00312.x>.
- HART, M.M., READER, R.J. & KLIRONOMOS, J.N. (2001). Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their successional dynamics. *Mycologia*, 93(6): 1186–1194. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063251>.
- HAWKSWORTH, D.L. & LÜCKING, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *The Fungal Kingdom*, 2: 79–95. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/9781555819583.ch4>.
- HEINEMEYER, A., INESON, P., OSTLE, N., & FITTER, A. H. (2006). Respiration of the external mycelium in the arbuscular mycorrhizal symbiosis shows strong dependence on recent photosynthates and acclimation to temperature. *New Phytologist*, 171(1): 159-170.
- HEINEMEYER, A. & FITTER, A. H. (2004). Impact of temperature on the arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis: Growth responses of the host plant and its AM fungal partner. *Journal of Experimental Botany*, 55(396): 525–534. doi: 10.1093/jxb/erh049.
- HELGASON, T. *ET AL.* (2007). Specificity and resilience in the arbuscular mycorrhizal fungi of a natural woodland community. *Journal of Ecology*, 95(4): 623–630. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01239.x>.
- HEMPEL, S., RENKER, C. & BUSCOT, F. (2007). Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environmental Microbiology*, 9(8): 1930–1938. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01309.x>.

- HESTRIN, R. *ET AL.* (2019). Synergies between mycorrhizal fungi and soil microbial communities increase plant nitrogen acquisition. *Communications Biology*, 2(1). Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0481-8>.
- HODGE, A. & FITTER, A.H. (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(31): 13754–13759. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.1005874107>.
- HOEKSEMA, J. D. *ET AL.* (2010). A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecology Letters*, 13(3): 394–407. doi: 10.1111/j.1461-0248.2009.01430.x.
- HONG, J.J. *ET AL.* (2012). Diversity of morphology and function in arbuscular mycorrhizal symbioses in *Brachypodium distachyon*. *Planta*, 236(3): 851–865. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1677-z>.
- HU, J. *ET AL.* (2015). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity, root colonization, and soil alkaline phosphatase activity in response to maize-wheat rotation and no-tillage in North China. *Journal of Microbiology*, 53(7): 454–461. doi: 10.1007/s12275-015-5108-2.
- HU, X. *ET AL.* (2024). Global research trends on the effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the soil carbon cycle: A bibliometric analysis. *Ecological Indicators*, 158(1): 111543. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.111543>.
- IJDO, M. *ET AL.* (2010). Do arbuscular mycorrhizal fungi with contrasting life-history strategies differ in their responses to repeated defoliation?. *FEMS Microbiology Ecology*, 72(1): 114–122. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00829.x>.
- JAKOBSEN, I., ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. (1992). External hyphae of vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. *New Phytologist*, 120(4): 509–516. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01800.x>.
- JAKOBSEN, I., & HAMMER, E.C. (2015). Nutrient dynamics in arbuscular mycorrhizal networks. *Mycorrhizal networks*: 91-131.
- JANOS, D. P. (2007). Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 17(2): 75–91. doi: 10.1007/s00572-006-0094-1.
- JANOS, D.P. & TRAPPE, J.M. (1982). Two new Acaulospora species from tropical America. *Mycotaxon*, 15: 515–522.
- JANOUSHKOVÁ, M. *ET AL.* (2013). Effects of inoculum additions in the presence of a preestablished arbuscular mycorrhizal fungal community. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(20): 6507–6515. doi: 10.1128/AEM.02135-13.
- JANOUSHKOVÁ, M. *ET AL.* (2023). Transferred communities of arbuscular mycorrhizal fungal persist in novel climates and soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 187(3). doi: 10.1016/j.soilbio.2023.109190.
- JANSA, J., MOZAFAR, A. & FROSSARD, E. (2005). Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil*, 276(1–2): 163–176. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11104-005-4274-0>.
- JANSA, J., SMITH, F.A. & SMITH, S.E. (2008). Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi?. *New Phytologist*, 177(3): 779–789. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02294.x>.
- JANSA, J., FORCZEK, S. T., ROZMOŠ, M., PÜSCHEL, D., BUKOVSKÁ, P., & HRŠELOVÁ, H. (2019). Arbuscular mycorrhiza and soil organic nitrogen: network of players and interactions. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1): 1-10.
- Ji, B. & BEVER, J. D. (2016). Plant preferential allocation and fungal reward decline with soil phosphorus: Implications for mycorrhizal mutualism. *Ecosphere*, 7(5): 1–11. doi: 10.1002/ecs2.1256.
- JIANG, S. *ET AL.* (2018). Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal community structure and functioning along a

- nitrogen enrichment gradient in an alpine meadow ecosystem. *New Phytologist*, 220(4): 1222–1235. doi: 10.1111/nph.15112.
- JIN, L. *ET AL.* (2009). Seed size influences arbuscular mycorrhizal symbiosis across leguminous host-plant species at the seedling stage. *Symbiosis*, 49(2): 111–116. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13199-009-0013-2>.
- JOHNSON, N. C. *ET AL.* (2003). Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology*, 84(7): 1895–1908. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[1895:NEAMAA]2.0.CO;2.
- JOHNSON, N. C. (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist*, 185(3): 631–647. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03110.x.
- JOHNSON, N. C., GRAHAM, J. H. & SMITH, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135(4): 575–585. doi: 10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x.
- JONER, E.J., BRIONES, R. & LEYVAL, C. (2000). Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant and Soil*, 226: 227–234.
- JONER, E.J. & JOHANSEN, A. (2000). Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 104(1): 81–86. Dostupné z: <https://doi.org/10.1017/S0953756299001240>.
- JUGE, C. *ET AL.* (2002). Breaking dormancy in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: A critical cold-storage period. *Mycorrhiza*, 12(1): 37–42. doi: 10.1007/s00572-001-0151-8.
- KIERS, E.T. *ET AL.* (2011). Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science* 333: 880–883.
- KJØLLER, R. AND ROSENDAHL, S. (2000). Effects of fungicides on arbuscular mycorrhizal fungi: Differential responses in alkaline phosphatase activity of external and internal hyphae. *Biology and Fertility of Soils*, 31(5): 361–365. doi: 10.1007/s003749900180.
- KLIRONOMOS, J.N. & HART, M.M. (2002). Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza*, 12(4): 181–184. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0169-6>.
- KLIRONOMOS, J.N., MCCUNE, J. & MOUTOGLIS, P. (2004). Species of arbuscular mycorrhizal fungi affect mycorrhizal responses to simulated herbivory. *Applied Soil Ecology*, 26(2): 133–141. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.11.001>.
- KOBAE, Y. *ET AL.* (2017). A simple model system for identifying arbuscular mycorrhizal fungal taxa that actively colonize rice (*Oryza sativa* L.) roots grown in field soil. *Soil Science and Plant Nutrition*, 63(1): 29–36. doi: 10.1080/00380768.2016.1277156.
- KOBAE, Y. & HATA, S. (2010). Dynamics of periarbuscular membranes visualized with a fluorescent phosphate transporter in arbuscular mycorrhizal roots of rice. *Plant and Cell Physiology*, 51(3): 341–353. doi: 10.1093/pcp/pcq013.
- KOCH, A. M. *ET AL.* (2017). Evolutionary asymmetry in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: conservatism in fungal morphology does not predict host plant growth. *New Phytologist*, 214(3): 1330–1337. doi: 10.1111/nph.14465.
- KOKKORIS, V., & HART, M. M. (2019). The role of in vitro cultivation on symbiotic trait and function variation in a single species of arbuscular mycorrhizal fungus. *Fungal Biology*, 123(10), 732–744. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.009>
- KOSKE, R.E. & GEMMA, J.N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 92(4): 486–488. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(89\)80195-9](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(89)80195-9).
- KRAFT, N.J.B., GODOY, O. & LEVINE, J.M. (2015). Plant functional traits and the multidimensional nature of species coexistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(3): 797–802. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.1413650112>.

- KRAK, K. *ET AL.* (2012). Intraradical dynamics of two coexisting isolates of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* sensu lato as estimated by real-time PCR of Mitochondrial DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(10): 3630–3637. doi: 10.1128/AEM.00035-12.
- KUBOTA, M., MCGONIGLE, T.P. & HYAKUMACHI, M. (2005). Co-occurrence of Arum- and Paris-type morphologies of arbuscular mycorrhizae in cucumber and tomato. *Mycorrhiza*, 15(2): 73–77. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-004-0299-0>.
- LARIMER, A.L., CLAY, K. & BEVER, J.D. (2014). Synergism and context dependency of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia with a prairie legume. *Ecology*, 95(4): 1045–1054. Dostupné z: <https://doi.org/10.1890/13-0025.1>.
- LEE S.A, ADHIKARI A, GRINSHPUN S.A, MCKAY R, SHUKLA R, REPONEN T. 2006. Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environments. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 3: 118–130.
- LEKBERG, Y. *ET AL.* (2007). Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Journal of Ecology*, 95(1): 95–105. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01193.x>.
- LENDENMANN, M. *ET AL.* (2011). Symbiont identity matters: Carbon and phosphorus fluxes between *Medicago truncatula* and different arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 21(8): 689–702. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0371-5>.
- LERAT, S. *ET AL.* (2003). Carbon partitioning in a split-root system of arbuscular mycorrhizal plants is fungal and plant species dependent. *New Phytologist*, 157(3): 589–595. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00691.x.
- LI, C. *ET AL.* (2019). A purple acid phosphatase, GmPAP33, participates in arbuscule degeneration during arbuscular mycorrhizal symbiosis in soybean. *Plant Cell and Environment*, 42(6): 2015–2027. doi: 10.1111/pce.13530.
- LIU, S. *ET AL.* (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi differ in affecting the flowering of a host plant under two soil phosphorus conditions. *Journal of Plant Ecology*, 11(4): 623–631. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jpe/rtx038>.
- LIU, Y. *ET AL.* (2009). Arbuscular mycorrhizal dynamics in a chronosequence of *Caragana korshinskii* plantations. *FEMS Microbiology Ecology*, 67(1): 81–92. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00597.x.
- LÓPEZ-GARCÍA, Á. *ET AL.* (2014). Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi determine succession into roots of *Rosmarinus officinalis* L., a characteristic woody perennial plant species from Mediterranean ecosystems. *Plant and Soil*, 379(1–2): 247–260. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2060-6>.
- LÓPEZ-GARCÍA, Á. *ET AL.* (2017). Plant traits determine the phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Molecular Ecology*, 26(24): 6948–6959. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/mec.14403>.
- LÓPEZ-GARCÍA, Á., AZCÓN-AGUILAR, C. & BAREA, J.M. (2014). The interactions between plant life form and fungal traits of arbuscular mycorrhizal fungi determine the symbiotic community. *Oecologia*, 176(4):1075–1086. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00442-014-3091-7>.
- MAHERALI, H. (2014). Is there an association between root architecture and mycorrhizal growth response?. *New Phytologist*, 204(1): 192–200. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.12927>.
- MAHERALI, H. & KLIRONOMOS, J.N. (2007). Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science*, 316(5832): 1746–1748. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1143082>.
- MAJEWSKA, M. L., ROLA, K. & ZUBEK, S. (2017). The growth and phosphorus acquisition of invasive plants *Rudbeckia laciniata* and *Solidago gigantea* are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 27(2): 83–94. doi: 10.1007/s00572-016-0729-9.
- MARTÍNEZ-GARCÍA, L.B. *ET AL.* (2015). Host identity is a dominant driver of mycorrhizal fungal community composition during ecosystem development. *New Phytologist*, 205(4): 1565–1576. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.13226>.

- McGILL, B.J. *ET AL.* (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(4): 178–185. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>.
- McGONIGLE, T.P. *ET AL.* (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3): 495–501. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>.
- MUELLER, R.C. & BOHANNAN, B.J.M. (2015). Shifts in the phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi in response to experimental nitrogen and carbon dioxide additions. *Oecologia*, 179(1): 175–185. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3337-z>.
- MUMMEY, D. L., ANTUNES, P. M. & RILLIG, M. C. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi pre-inoculant identity determines community composition in roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(6): 1173–1179. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.02.027.
- NING, J. & CUMMING, J.R. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungi alter phosphorus relations of broomsedge (*Andropogon virginicus* L.) plants. *Journal of Experimental Botany*, 52(362): 1883–1891. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.362.1883>.
- NOURI, E. *ET AL.* (2014). Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in petunia hybrida. *PLoS ONE*, 9(3). doi: 10.1371/journal.pone.0090841.
- OEHL, F. *ET AL.* (2009). Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134(3–4): 257–268. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.07.008>.
- OEHL, F. *ET AL.* (2017). Diversity and biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils*, 53(7): 777–797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1217-x>.
- OLSSON, P. A. *ET AL.* (2011). Elemental composition in vesicles of an arbuscular mycorrhizal fungus, as revealed by PIXE analysis. *Fungal Biology*, 115(7): 643–648. doi: 10.1016/j.funbio.2011.03.008.
- ÖPIK, M. *ET AL.* (2009). Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist*, 184(2): 424–437. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02920.x>.
- OUZIAD, F. *ET AL.* (2005). Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology*, 162(6): 634–649. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.09.014>.
- PARVIN, S. *ET AL.* (2020). Effects of single and multiple species inocula of arbuscular mycorrhizal fungi on the salinity tolerance of a Bangladeshi rice (*Oryza sativa* L.) cultivar. *Mycorrhiza*, 30(4): 431–444. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00957-9>.
- PETERSON, R.L. & MASSICOTTE, H.B. (2004). Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*, 82(8): 1074–1088.
- PINEDA, A. *ET AL.* (2013). Beneficial microbes in a changing environment: Are they always helping plants to deal with insects?. *Functional Ecology*, 27(3): 574–586. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12050>.
- PITKÄJÄRVI, J. *ET AL.* (2003). Persistence, population dynamics and competitiveness for nodulation of marker gene-tagged *Rhizobium galegae* strains in field lysimeters in the boreal climatic zone. *FEMS Microbiology Ecology*, 46(1): 91–104. doi: 10.1016/S0168-6496(03)00210-1.
- POWELL, J.R. *ET AL.* (2009). Phylogenetic trait conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1676): 4237–4245. doi: 10.1098/rspb.2009.1015.
- PRIMIERI, S. *ET AL.* (2022). Perennial, but not annual legumes synergistically benefit from infection with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia: a meta-analysis. *New Phytologist*, 233(1): 505–514. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.17787>.
- PRINGLE, A. & BEVER, J. D. (2002). Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular

- mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. *American Journal of Botany*, 89(9): 1439–1446. doi: 10.3732/ajb.89.9.1439.
- PÜSCHEL, D. ET AL. (2016). Plant–fungus competition for nitrogen erases mycorrhizal growth benefits of *Andropogon gerardii* under limited nitrogen supply. *Ecology and Evolution*, 6(13): 4332–4346. doi: 10.1002/ece3.2207.
- PÜSCHEL, D. ET AL. (2017). Arbuscular mycorrhiza stimulates biological nitrogen fixation in two *Medicago* spp. through improved phosphorus acquisition. *Frontiers in Plant Science*, 8(3): 1–12. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00390>.
- PÜSCHEL, D. ET AL. (2019). Survival and long-term infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in peat-based substrates stored under different temperature regimes. *Applied Soil Ecology*, 140(12): 98–107. doi: 10.1016/j.apsoil.2019.04.020.
- PÜSCHEL, D. ET AL. (2021). Drought accentuates the role of mycorrhiza in phosphorus uptake. *Soil Biology and Biochemistry*, 157(3). Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108243>.
- QUIROGA, G. ET AL. (2018). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and salicylic acid regulate aquaporins and root hydraulic properties in maize plants subjected to drought. *Agricultural Water Management*, 202: 271–284. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.12.012>.
- R Core Team (2022), (<https://www.R-project.org>).
- REDECKER, D. ET AL. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7): 515–531. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>.
- ROPER, M. ET AL. (2008). Explosively launched spores of ascomycete fungi have drag-minimizing shapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(52): 20583–20588. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.0805017105>.
- SAITO, M., OBA, H. & KOJIMA, T. (2011). Effect of nitrogen on the sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing several gramineous plant species. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57(1): 29–34. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00380768.2010.541869>.
- SCHOUTEDEN, N. ET AL. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: A review of the mechanisms involved. *Frontiers in Microbiology*, 6(11): 1–12. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01280>.
- SILVEIRA, A. P. D. DA & CARDOSO, E. J. B. N. (2004). Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plants. *Scientia Agricola*, 61(2): 203–209. doi: 10.1590/s0103-90162004000200013.
- SELVARAJ, A. & THANGAVEL, K. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi: Potential plant protective agent against herbivorous insect and its importance in sustainable agriculture. *Symbiotic Soil Microorganisms: Biology and applications*, 60: 319–337.
- SHACHAR-HILL, Y. ET AL. (1995). Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leek. *Plant Physiology*, 108(1):7–15. Dostupné z: <https://doi.org/10.1104/pp.108.1.7>.
- SIKES, B.A. (2010). When do arbuscular mycorrhizal fungi protect plant roots from pathogens?. *Plant Signaling and Behavior*, 5(6): 763–765. Dostupné z: <https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11776>.
- SILVANI, V. A. ET AL. (2014). Growth dynamics of geographically different arbuscular mycorrhizal fungal isolates belonging to the “Rhizophagus clade” under monoxenic conditions. *Mycologia*, 106(5), 963–975. <https://doi.org/10.3852/13-118>
- SMITH, S.E. ET AL. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156(3): 1050–1057. Dostupné z: <https://doi.org/10.1104/pp.111.174581>.
- SMITH, S. E., READ, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. San Diego, USA: Academic press, 3rd edn. ISBN 978-0-12- 370526-6.

- SOUZILLOVSKAIA, N.A. *ET AL.* (2015). Quantitative assessment of the differential impacts of arbuscular and ectomycorrhiza on soil carbon cycling. *New Phytologist*, 208(1): 280–293. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/nph.13447>.
- SOUZA, T. (2015) Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. Berlin: Springer, ISBN 978-3-319-24850-9.
- SRISOM, K. *ET AL.* (2020). New method for arbuscular mycorrhizal fungus spore separation using a microfluidic device based on manual temporary flow diversion. *Mycorrhiza*, 30(6): 789–796. doi: 10.1007/s00572-020-00986-4.
- STEARNS, S.C. (1989). Trade-Offs in Life-History Evolution. *Function Ecology*, 3(3): 259–268.
- SÝKOROVÁ, Z. *ET AL.* (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): 1–14. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00572-007-0147-0>.
- TAWARAYA, K. *ET AL.* (1994). Effect of phosphate application to arbuscular mycorrhizal onion on the development and succinate dehydrogenase activity of internal hyphae. *Soil Science and Plant Nutrition*, 40(4): 667–673. doi: 10.1080/00380768.1994.10414306.
- THONAR, C. *ET AL.* (2011). Traits related to differences in function among three arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 339(1): 231–245. doi: 10.1007/s11104-010-0571-3.
- TOMINAGA, T. *ET AL.* (2022). Conserved and Diverse Transcriptional Reprogramming Triggered by the Establishment of Symbioses in Tomato Roots Forming Arum-Type and Paris-Type Arbuscular Mycorrhizae. *Plants*, 11(6). Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants11060747>.
- TOTH, R. & MILLER, R. M. (1984). Dynamics of Arbuscule Development and Degeneration in a Zea Mays Mycorrhiza. *American Journal of Botany*, 71(4): 449. doi: 10.2307/2443320.
- THONAR, C. (2009). Synthetic mycorrhizal communities, establishment and functioning. Dissertation. ETH ZURICH. doi: 10.3929/ETHZ-A-005927506.
- TRESEDER, K.K. *ET AL.* (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen deposition: A trait-based predictive framework. *Journal of Ecology*, 106(2): 480–489. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12919>.
- TRESEDER, K. K. & ALLEN, M. F. (2002). Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: A model and field test. *New Phytologist*, 155(3): 507–515. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00470.x.
- VELANDIA, K., REID, J. B. & FOO, E. (2022). Right time, right place: The dynamic role of hormones in rhizobial infection and nodulation of legumes. *Plant Communications*, 3(5): 100327. doi: 10.1016/j.xplc.2022.100327.
- VOŘÍŠKOVÁ, A. *ET AL.* (2017). Real-time PCR quantification of arbuscular mycorrhizal fungi: does the use of nuclear or mitochondrial markers make a difference?. *Mycorrhiza*, 27(6): 577–585. doi: 10.1007/s00572-017-0777-9.
- VOŘÍŠKOVÁ, A. *ET AL.* (2019). Abiotic contexts consistently influence mycorrhiza functioning independently of the composition of synthetic arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Mycorrhiza*, 29(2): 127–139. doi: 10.1007/s00572-018-00878-8.
- VOS, C. *ET AL.* (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce root-knot nematode penetration through altered root exudation of their host. *Plant and Soil*, 354(1–2): 335–345. doi: 10.1007/s11104-011-1070-x.
- WAGNER, B.M. & BECK, E. (1993). Cytokinins in the perennial herb *Urtica dioica* L. as influenced by its nitrogen status. *Planta*, 190: 511–518. doi: 10.1007/BF00224790.
- WALKER, C. & SCHUSSLER, A. (2010). 'The Glomeromycota', A species list with new families and new genera. *The Royal Botanic Garden Kew*, 1. Available at: http://www.arbuscular-mycorrhiza.net/species_infos/higher_taxa/funneliformis_claroidoglomus_rhizophagus_redeckera.pdf.
- WALKER, C. & VESTBERG, M. (1998). Synonymy amongst the arbuscular mycorrhizal fungi: *Glomus claroidium*, *G. maculosum*, *G. multisubstenum* and *G. fistulosum*. *Annals of Botany*, 82(5): 601–624.

- WANG, J. *ET AL.* (2024). Shifts of arbuscular mycorrhizal fungal functioning along a simulated nitrogen deposition gradient. *Food and Energy Security*, 13(2): 1–11. doi: 10.1002/fes3.542.
- WILLIS, A. *ET AL.* (2016). *Sacculospora felinovii*, a novel arbuscular mycorrhizal fungal species (Glomeromycota) from dunes on the west coast of India. *Mycological Progress*, 15(7): 791–798. doi: 10.1007/s11557-016-1208-6.
- WIPF, D. *ET AL.* (2019). Trading on the arbuscular mycorrhiza market: from arbuscules to common mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 223(3): 1127–1142. doi: 10.1111/nph.15775.
- ZHENG, C. *ET AL.* (2015). Shading decreases plant carbon preferential allocation towards the most beneficial mycorrhizal mutualist. *New Phytologist*, 205(1): 361–368. doi: 10.1111/nph.13025.
- ZUBEK, S. *ET AL.* (2015). Enhanced concentrations of elements and secondary metabolites in *Viola tricolor* L. induced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 390(1–2): 129–142. doi: 10.1007/s11104-015-2388-6.