

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta



Bakalářská diplomová práce  
(literární rešerše)

Diverzita ektomykorhizních hub na buku  
(*Fagus sylvatica*)

Ondřej Hejna  
2010

Vedoucí práce: Ing. Miloslava Kavková, Ph.D.

Hejna, O. 2010: Diverzita ektomykorhizních hub na buku (*Fagus sylvatica*) [Diversity of ectomycorrhizal fungi in beech forest (*Fagus sylvatica*), Bc. Thesis, in Czech] The University of South Bohemia, Faculty of Science, České Budějovice.

### **Annotation**

The objectives of this work described here were to summarize and evaluate current knowledge in ectomycorrhizal fungi with the intention at the colonization of root system beech *Fagus sylvatica* to ectomycorrhizal fungi. This work mainly was targeted at diversity of these ectomycorrhizal fungi in beech forest affected positive and negative by environmental and anthropogenic factors. Last part of this work describes qualitative and quantitative methods used in investigation of ectomycorrhizal fungi and their diversity.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

.....

datum

.....

podpis

## **Poděkování**

Děkuji ing. Miloslavě Kavkové, Ph.D. za vedení, pomoc, poskytnutí některých materiálů a cenných rad při vypracování mé bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat svým rodičům za umožnění studia na vysoké škole a kamarádům za drobné rady a podporu.

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	1
1.1 Současný stav českých lesů .....	1
1.2 Buk – jeho role a zastoupení v českých lesích.....	2
1.3 Snaha o návrat do minulosti .....	4
1.4 Zaměření a cíle práce.....	5
<b>2 Mykorrhizní symbióza</b> .....	6
2.1 Mykobiont.....	6
2.2 Ektomykorrhizní symbióza .....	7
2.3 Životní prostředí ektomykorrhizních hub .....	8
2.4 Výskyt ektomykorrhizních hub .....	10
2.5 Růst .....	11
2.6 Životní cyklus.....	12
2.6.1 Klíčení spór .....	12
2.6.2 Vznik spojení mezi houbou a rostlinou.....	12
2.6.3 Změna morfologie a anatomie kořínku.....	13
2.6.4 Fruktifikace .....	14
2.7 Druhy ektomykorrhizních hub na kořenech buků .....	15
2.8 Vliv ektomykorrhizních hub na hostitelské rostliny .....	15
2.8.1 Vodní režim.....	16
2.8.2 Houba jako brána do půdního prostředí.....	16
2.8.3 Mycelium jako zprostředkovatel energie .....	16
2.8.4 Mycelium jako zprostředkovatel podzemní vody .....	17
2.9 Nepřímý vliv ektomykorrhizních hub na rostliny .....	18
2.9.1 Zpřístupňování minerálních látek.....	19
2.10 Ektomykorrhizní houby ve vztahu k ostatním půdním organismům .....	20
<b>3 Diverzita ektomykorrhizních hub</b> .....	21
3.1 Faktory určující diverzitu hub v bukových porostech.....	22

3.1.1 Půdní vrstva .....	23
3.1.2 Vliv produktivity stromů.....	24
3.1.3 Stáří porostu .....	25
3.1.4 Vliv sucha na stupeň kolonizace a diverzitu ektomykorhizních hub ..	26
3.2 Diverzita ektomykorhizních hub pod tlakem lidské činnosti.....	27
3.2.1 Těžba dřeva.....	29
3.2.2 Hološeč .....	30
3.2.3 Zvýšené množství ozónu.....	31
3.2.4 Turistický ruch .....	32
3.2.5 Vápnění .....	33
3.3 Vliv diverzity hub na lesní porost .....	34
<b>4 Metody identifikace ektomykorhizních hub .....</b>	<b>35</b>
4.1 Sbíráání plodnic ektomykorhizních hub pro identifikaci .....	36
4.2 Identifikace a sledování plodnic.....	37
4.3 Identifikace ektomykorhizních špiček pomocí morfologických znaků .....	37
4.4 Identifikace ektomykorhizních špiček pomocí anatomických znaků .....	38
4.5 Metoda rychlého odhadu .....	39
4.6 Získání vzorku pro DNA analýzu.....	40
4.7 Extrakce DNA užitím CTAB-chloroform-isopropanolační extrakční metody .....	40
4.8 Polymerázová řetězová reakce .....	41
4.8.1 Výběr vhodných primerů.....	42
4.8.2 Princip elektroforézy.....	42
4.9 Extrahování a přecistění DNA.....	43
4.10 Princip sekvenování DNA .....	38
4.11 T-RFLP analýza .....	39
<b>5 Závěr.....</b>	<b>46</b>
<b>6 Seznam použité literatury.....</b>	<b>49</b>

# 1 Úvod

Naše území pokrývají z jedné třetiny lesy plné rozmanitých druhů rostlin, živočichů a hub. Každý organismus hraje v tomto prostředí svoji roli a ani houby nejsou výjimkou. Tato bohatá skupina eukaryotních primárně heterotrofních stélkatých organismů hraje v lesních ekosystémech důležitou úlohu jako významný článek v koloběhu živin. Absence simulačních pigmentů a následný heterotrofní způsob výživy staví tuto skupinu do podobnosti s živočichy. Také některé metabolické dráhy a hlavní zásobní látku glykogen sdílí se skupinou živočichů.

Houby získávají potravu rozkladem organické hmoty, parazitismem nebo v symbiotickém soužití s kořeny rostlin. Jejich hlavní význam spočívá právě v rozkladu organické hmoty. Saprotrofní druhy hub společně s bakteriemi tak udržují úrodnost lesních půd. Druhou důležitou úlohou je symbiotické spojení velkého množství druhů hub s kořeny rostlin, o kterém pojednává tato práce.

## 1.1 Současný stav českých lesů

Mnoho současných lesů na území České republiky není pěstováno pro udržení nebo zlepšení kvality české přírody ale čistě pro produkci dřevní hmoty. Taková krajina pak není schopna hodnotně neposkytovat její

hlavní cíle – udržení přírodní hodnoty daného území do budoucnosti a poskytování místa pro turistiku, sportovní vyžití a relaxaci obyvatel.

Podle stanoviska lesních odborníků a vědců<sup>1</sup> sužuje naše lesy několik problémů způsobené především znečištěním a změnou druhové skladby lesa ve prospěch jehličnanů. Současnému složení českých lesů dominuje smrk, horská dřevina adaptovaná na růst v chladném podnebí. Uměle je ale ve velkých množstvích vysazována i do středních a nižších poloh kam původně vůbec nepatří. Smrkové monokultury jsou náchylné ke škůdcům, jejich velké množství degraduje druhovou skladbu lesa a půdu. Takové porosty zadržují méně vody, proto následně dochází k rychlejšímu odplavování živin nebo dokonce přímo k erozi půdy. Malé druhové složení má dva hlavní důsledky: pokles rozmanitosti biotopů a následné hynutí živočichů, rostlin a hub (Bercha 2006).

Na řešení těchto problémů se v budoucnosti může významně podílet obnova původní druhové skladby lesa s dominancí buku žijící v symbióze s ektomykorhizními houbami.

## **1.2 Buk – jeho role a zastoupení v českých lesích**

Buk lesní (*Fagus sylvatica*) je jednodomý listnatý strom dorůstající výšky 35–45 m. Ve vhodných podmínkách se dožívá 200–400 let. Mohutný kořenový systém přechází ve štíhlý válcovitý kmen s hladkou stříbrošedou borkou. Koruna, u solitérů kulatá v porostu metlovitá, je bohatě větvená. Listy jsou uspořádány dvouřadě, střídavě, tvarem

---

<sup>1</sup> Stanovisko vědců a odborných pracovníků k ochraně českých lesů – 2006, stanovisko Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti Jíloviště-Strnady (VÚLHM) – 2006 a stanovisko Sdružení vlastníků obecních a soukromých lesů (SVOL) – 2006

řapíkaté až celistvě vejčité. Palisty opadávají. Pupeny jsou vřetenovité zakončené ostrou špičkou. Solitérní stromy začínají vytvářet plody ve 20–40 letech, v porostu v 50–80 letech. Plodem, lidově nazývaným bukvice, je dvojice trojbokých nažek uzavřených v dřevnaté číšce (Hejný & Slavík 1995, Úradníček 2009).

Buk je dřevinou oceánského a sub-oceánského klimatu vyskytující se od chladného pobřeží skandinávských zemí až po teplé oblasti španělských hor nebo Blízkého východu. V chladnějších oblastech roste obvykle v nižších polohách, směrem na jih vystupuje až do výšek přes 1000 m. n. m. Optimálních podmínek nalézá v 500–800 m. n. m. s průměrnými srážkami 800–1000 mm za rok. Výskyt je limitován jeho citlivostí k suchu, mrazům a silnému zavlhčení půdy. Jeho dřevo je velmi ceněné díky jeho tvrdosti – použití v nábytkářství, ale také kvůli jeho snadné štípanosti a vysoké výhřevnosti – použití jako palivové dřevo (Hejný & Slavík 1995, Úradníček 2009).

V České republice se přirozeně vyskytuje v nadmořských výškách od 300 do 1000 m. n. m. Přesunul se k nám relativně pozdě po poslední době ledové odhadem mezi 3000–4000 lety př. n. l. Nahrazoval zde původně dosti rozšířenou jedli bělokorou (Hejný & Slavík 1995, Úradníček 2009). V minulosti u nás buk dominoval na 40 % lesních porostů, v současnosti zabírá pouze 6 %. V mnohých typech přirozené vegetace na území České republiky je nedílnou součástí nebo přímo majoritní složkou: květnaté bučiny (*Eu-Fagenion*), vápenomilné bučiny (*Cephalanthero-Fagenion*) a acidofilní bučiny a jedliny (*Luzulo-Fagion*) (Neuhäuslová et. al. 1998). Jejich předpokládané přirozené rozšíření na našem území viz příloha Obr. č. 1, Obr. č. 2. Dále je alespoň částečný výskyt buku lesního doložen v některých typech dubohabřin a lipových doubrav, v suťových a roklinských lesích, subacidofilních středoevropských teplomilných doubrav, v acidofilních bikových, jedlových, březových a borových doubrav, v klimaxových podmáčených



smrčínách a v montálních až submontálních kapradinových smrčínách (Neuhäuslová et. al. 1998).

V současnosti je buku dáována velká pozornost v souvislosti s částečnou obnovou původní druhové skladby českých lesů. Cílem je rozšířit jeho zastoupení ze současných 6 % na 18 % (Šindelář 2001). Proto je také důležité věnovat se jeho symbiotickým houbám hrající významnou roli pro tyto stromy.

### **1.3 Snaha o návrat do minulosti**

Změny provedené za poslední dvě století na lesních porostech a následný neblahý dopad, nutí k zamyšlení jak problémy našich lesů řešit. Inspirací pro nové vedení lesa by mohla být historie. Bez zásahu lidského faktoru se v minulosti na našem území rozprostíraly stabilní lesní ekosystémy, ke kterým je nutno se alespoň částečně vrátit (Bercha 2006).

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, buk lesní dříve zabíral více jak 40 % našich lesů, v současnosti je jeho zastoupení 6 % (Šindelář 2001). Dle stanoviska vědců a odborných pracovníků k ochraně českých lesů<sup>2</sup> jsou největším problémem smrkové monokultury, proto by mělo být hlavním cíle jejich snížení. Jedním z nabízených řešení je zvýšení zastoupení porostů s buky v našich lesích. Buk je výborný kandidát na zlepšení kvality lesa. Některé studie potvrzují i dobré výsledky pěstování smíšeného prorostu smrku a buku nebo smíšeného lesa složeného ze smrků, buků, jedlí a javorů (Vacek, Simon & Kacálek 2005). Takovéto porosty dle pozorování měly vysoký

---

<sup>2</sup> *Stanovisko vědců a odborných pracovníků k ochraně českých lesů – 2006, stanovisko Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti Jíloviště-Strnady (VÚLHM) – 2006 a stanovisko Sdružení vlastníků obecních a soukromých lesů (SVOL) – 2006*

produkční potenciál a dobrou stabilitu (Kantor & Hurt 2009). Menší nevýhodou může být fakt, že v českých lesích není dostatek volně rostoucích buků, proto je nutné provádět umělou sadbu pomocí sazenic (Klimo & Kulhavý 1999). Výsledný efekt obohacování lesních porostů o buk by měl přinést zlepšení kvality vodního režimu a půdy, větší odolnost proti škůdcům a patogenním houbám a v neposlední řadě by měla být také zlepšena estetická hodnota lesa jeho diverzita a stabilita.

## **1.4 Zaměření a cíl práce**

Cílem práce je vyhledání a zpracování dostupných informací zabývajících se ektomykorhizní symbiózou a diverzitou ektomykorhizních hub se zaměřením na bukové porosty. Součástí by také měly být některé metody, které se pro výzkum ektomykorhizních hub používají a případný nástin použití těchto informací pro lesnickou praxi viz předchozí kapitoly.

Proč se ale práce zrovna zaměřuje na toto téma? Jak již bylo nastíněno v předchozích kapitolách, buk je dřevinou, která v následujících letech může uvádět trend lesního managementu, proto je důležité zjistit veškeré informace ovlivňující tyto stromy. Ektomykorhizní houby jsou částí, která se na růstu a vývoji těchto stromů významně podílí. Informaci o nich je však poskromnu. Tato práce by měla soužit jako ucelený soubor doposud známých informací týkající se tohoto tématu.

Zároveň studium těchto nesmírně důležitých organismů jako jsou ektomykorhizní houby a jejich diverzity může napomoci při řešení různých problémů v lesním hospodářství nebo jejich použití jako bioindikátorů efektu globálních změn, znečištění půd, eutrofizace a podobně (Erland & Taylor 2002).

## 2 Mykorhizní symbióza

Ektomykorhizní symbióza se tvoří mezi kořínky hostitelských rostlin a širokým rozsahem půdních hub (Smith & Read 1997). Její základ spočívá ve vzájemné pomoci těchto dvou odlišných skupin organismů. Houby od hostitelských rostlin dostávají výživu v podobě uhlíkatých látek a rostliny na oplátku od hub důležité látky z půdy, které svým kořenovým systémem přijímají jen obtížně. Houbové mycelium disponuje odlišnými fyzikálními vlastnostmi než kořeny rostlin. Hlavním pozitivem je jeho menší velikost, která mu umožňuje dostat se i do míst nepřístupných pro kořeny rostlin. Další nemalou výhodou je schopnost extracelulárního trávení pomocí sady specifických enzymů. Vylučováním těchto látek do okolí mycelia a zpětným vstřebáním, dokážou houby získat mnohé dusíkaté a na fosfor bohaté sloučeniny, které jsou pro hostitelské rostliny téměř nedosažitelné (Smith & Read 1997).

### 2.1 Mykobiont

Aniž by si to většina lidí uvědomovala, mykorhizní houby jsou společníkem téměř každé rostliny. Už od počátků zemědělství v Neolitu až to dob nedávných lidé tento zajímavý organismus přehlíželi. Převážně díky jeho malým rozměrům a zhoršeným možnostem jeho zkoumání byl po dlouho dobu badateli ignorován. Nyní s dostupným vybavením a po

objevení jejich pozitivního vlivu na rostliny se situace obrací a mykorhizní houby staly cílem velkého počtu vědeckých prací a následně se dostaly i do podvědomí široké veřejnosti.

Symbiotické houby jsou organismy žijící v přítomnosti téměř všech druhů rostlin. S rostlinami navazují vzájemně prospěšný vztah pomocí interakce s kořenovým systémem. Mykorhizní houby zahrnují druhy napříč celou říší hub. Nacházíme je ve třech základních skupinách: *Basidiomycota*, *Ascomycota* a menší část i ve skupině *Zygomycota*. Podstata této symbiotické interakce je založena na vzájemné výměně látek, energie a informací, které probíhá pomocí velkého množství spojení mycelia a kořínků rostlin. Houbové hyfy prorostou do kořene rostliny a vytvoří spojení v oblastech kořenové pokožky a primární kořenové kůry. Podle toho jak intimní je vzájemná interakce (hyfy pronikají do buněk nebo jen do jejich mezibuněčných prostor) rozlišujeme několik základních typů mykorhizních symbióz: arbuskulární mykorhizní symbióza, orchideoidní mykorhizní symbióza, erikoidní mykorhizní symbióza a ektomykorhizní symbióza.

## **2.2 Ektomykorhizní symbióza**

Pro ektomykorhizní symbiózu je charakteristické prorůstání mycelia pouze do mezibuněčných prostor. Hyfy kolonizují mezibuněčné prostory kořenové pokožky a primární kořenové kůry. Hustota zastoupení hyf směrem ke středu klesá, do středního válce už hyfy nezasahují. Prostorová síť, kterou mycelium mezi buňkami vytváří, se nazývá Hartigova síť. Ektomykorhizní symbióza je na kořenech patrná i pouhým okem, protože kořínek mění svojí morfologickou strukturu a vytváří typické ztloustlé útvary nazývané mykorhizní špičky. Propletené hyfy na povrchu tohoto útvaru se označují jako hyfový plášť.

Ektomykorhizní symbióza se vyskytuje v drtivé většině u dřevin. Největší zastoupení a také význam má pro severské lesy a lesy mírného pásma. Důkazy o výskytu ektomykorhizní symbiózy jsou ale známé i z tropických oblastí (Henkel et. al. 2002). Ektomykorhizní symbiózy je schopno se účastnit přibližně 2000 rostlinných druhů (Smith & Read 1997). Počet ektomykorhizních hub je odhadován na 5 000 (Molina et. al. 2002). Ektomykorhizní symbióza ale není jen privilegium dřevin, existuje i plno jiných rostlin vytvářejících s ektomykorhizními houbami symbiotické spojení i když se jedná spíše o jev vzácnější. Nejprimitivnější skupina, u které byla ektomykorhizní symbióza nalezena, jsou kapradorosty. Dominik & Pachlewski (1956) našli ektomykorhizní houby na rhizoidech<sup>3</sup> kapradiny druhu *Dryopteris filix-mas*. Z toho objevu lze usuzovat na provázanost výskytu ektomykorhizních hub s existencí primitivního vodivého pletiva, které se začíná objevovat právě u kapradin. U vývojově pokročilejších skupin rostlin je výskyt ektomykorhizních hub na kořenech běžným jevem. Největšího rozšíření se ektomykorhizní houby dočkaly u skupiny nahosemenných rostlin. Kryptosemenné rostliny tvoří všechny druhy mykorhizních symbióz včetně ektomykorhizní, ale ta je v této skupině vázána především na listnaté stromy.

## 2.3 Životní prostředí ektomykorhizních hub

Ektomykorhizní houby žijí ve značně různorodém prostředí půdy. Jelikož se půda skládá z velké části z pevné hmoty, není tak homogenní jako vzduch a i malé oblasti jsou svými podmínkami do jisté míry unikátní. Proto ektomykorhizní houby, které v tomto prostředí žijí, musí mít velkou schopnost se přizpůsobovat. K různorodosti prostředí dochází jak

---

<sup>3</sup> Primitivní typ rostlinných kořenů

ve vertikálním, tak především v horizontálním směru. Jednotlivé druhy hub následně rostou ve svých půdních horizontech, ve kterých se zároveň vyskytují jejich hostitelské rostliny (Dickie et. al. 2002, Tedersoo et. al. 2003, Rosling et. al. 2003). Jednotlivé vrstvy se odlišují svými chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Kolonizace jednotlivých půdních horizontů je pro jednotlivé druhy ektomykorhizních hub specifická. V některých vrstvách mohou dokonce tvořit základ půdního společenstva, podílející se na proměnách půdy dané vrstvy.

Podle Dickie et. al. (2002) rozlišujeme houby specializované na vrstvu opadu, houby specializované na fermentační horizont, na humusový horizont, na minerální horizont a houby přítomné ve všech horizontech. Největší počet druhů ektomykorhizních hub je zastoupeno v organominerálním humusovém horizontu. V tomto horizontu s největším výskytem ektomykorhizních hub dochází ke kontaktu nadložního humusu a minerálního horizontu. Nachází se zde dostatek organických i minerálních látek, dostatek kontaktu s kořeny hostitelských rostlin a v neposlední řadě i dostatek kyslíku, který se v níže položených horizontech stává limitujícím faktorem pro růst ektomykorhizních hub. Menší zastoupení hub je i v nadložním humusu a potvrzeny jsou i nálezy v hlubších podpovrchových horizontech (Rosling et. al. 2003).

Nezáleží však jen na struktuře ale i na chemickém složení půdy a zastoupení jednotlivých látek. Půda je totiž plná těkavých organických látek vznikajících při rozkladu organické hmoty a s jejich přítomností se ektomykorhizní houby musí vyrovnat. Jedna z těchto látek je například kyselina felurová, která je pro houby toxická, ale u některých druhů například *Laccaria sp.* a *Lactarius sp.* byla potvrzena jejich schopnost tuto látku degradovat (Münzenberger et. al. 2003). I celková půdní reakce ovlivňuje výskyt a růst ektomykorhizních hub. Bylo potvrzeno, že kyselá půdní reakce podporuje výskyt většího množství hub, u zásadité

půdy tomu bylo naopak (Wiemken et. al. 2001). Přítomnost některých půdních plynů jako je dusík může mít pozitivní vliv na výskyt ektomykorhizní houby (Nilsson & Wallander 2003).

Podle Pongeho (2003) rozlišujeme několik typů humusu, mul, moder a mor. Největší výskyt ektomykorhizních hub je dokládán půdou s humusem typu moder, který je charakteristický pro lesní ekosystémy. Koloběh organické hmoty je zde pomalejší, její největší část je vázána v houbách a rostlinách. Bakteriální zastoupení je zde menší díky přítomnosti houbových antibiotik.

Jeden ze základních limitujících faktorů výskytu ektomykorhizních hub je koncentrace kyslíku v půdním vzduchu. Studie Sheppard & Lloyd (2002) ukázala, že koncentrace kyslíku se zvyšující se hloubkou strmě klesá a od hloubky 12 cm se kyslík téměř nevyskytuje! Naopak koncentrace oxidu uhličitého s vzrůstající hloubkou roste vlivem prodýchání kyslíku půdními organismy, kořeny rostlin a houbami. Teplota půdy je stabilnější než na povrchu, nepodléhá velkým výkyvům a její vliv na houby je především při fruktifikaci.

## **2.4 Výskyt ektomykorhizních hub**

Průměrné hodnoty počtů druhů vyskytujících se na 1 m<sup>2</sup> v různých ekosystémech, zatím přesně vyčísleny nemáme. Podle studií je tato hodnota velmi variabilní a záleží na mnohých faktorech, které jsou popisovány v kapitole o diverzitě. Například Bruns (1995) vyzoroval, že na ploše 100 × 100 m se obvykle vyskytuje od 13 do 35 druhů ektomykorhizních hub. Jiná studie Straatsma et. al. (2001) hovoří o přibližně 66 druzích na ploše 150 × 150 m, což by přibližně odpovídalo 44 druhům na 100 × 100 m. Odlišná čísla je možno vysvětlit mozaikovitým výskytem hub a obtížností jejich nalezením a určením.

Svým objemem houba zahrnuje přibližně jednu třetinu veškeré živé hmoty v půdě (Högberg & Högberg 2002) a její hmotnost se odhaduje na 1 kg na každých 13 m<sup>2</sup> (Wallander et. al. 2001).

## 2.5 Růst

Ve vhodných půdních podmínkách s přítomností správného hostitele hyfy ektomykorhizní houby rychle prorůstají půdním prostředím a vytvářejí myceliární sítě rozšiřující se do velkých vzdáleností. Takto se tvořící kolonie hub můžeme dělit na kruhové, nepravidelné a rozdělené kolonie.

Kruhovitá kolonie je typická růstem zvětšující se kružnice se středem s hostitelskou rostlinou. Tento typ je charakteristický pro ektomykorhizní houby, které mají obvykle schopnost žít alespoň částečně saprotrofně. Kruhové kolonie byly pozorovány například u *Cantharellus*, *Tricholoma*, *Lyophyllum*, *Lepista*, *Ramaria*, *Clavariadelphus*, *Catahesma*, *Clitocybe* (Read 1992).

Pro nepravidelnou kolonii je typické náhodné rozmístění mycelia kolem hostitelských rostlin, zahrnuje rody fakultativně mykorhizních hub například *Cortinarius*, *Rozites*, *Sarcodon*, *Hydnellum*, *Suillus* (Read 1992).

Rozdělená kolonie je podobná nepravidelné, hostitelských strom se nachází v její blízkosti, ale může být i ve velkých vzdálenostech. Jednotlivé kolonie jsou propojeny na dálku přes rhizomorfní provazce. Zahrnuje například druhy *Amanita*, *Boletus*, *Paxillus*, *Russula*, *Lactarius*, *Gomphidius*, *Clavulina* (Read 1992).



## **2.6 Životní cyklus ektomykorhizních hub**

### **2.6.1 Klíčení spór**

Ke klíčení bazidiospor a askospor dochází jen za specifických podmínek a pod stimulem nepřeberného množství látek s velkou i menší specifitou. Obecně lze říci, že spóry druhů osídlující stanoviště první (primárně sukcesní druhy), klíčí mnohem snadněji bez složitých vnějších stimulů na rozdíl od ektomykorhizních hub pozdně sukcesních. Spouštění klíčení dochází například vlivem látek vylučovaných z kořenů rostlin (Horan & Chilvers 1990, Hua et. al. 1995), chemizmem okolí kořene (Fries et. al. 1987, Fries & Biraux 1981), chemizmem okolí již přítomného mycelia (Chang & Miles 1989), odstranění inhibiční látky ve spóře (Kumar & Satyanarayana 2002), přítomností větší koncentrace oxidu uhličitého (Griffin 1981) nebo přítomností organických kyselin v půdě (Ohta et. al. 1988).

### **2.6.2 Vznik spojení mezi houbou a rostlinou**

Úplně na začátku musí hyfa symbiotické houby narazit na kořínek hostitelského stromu. V druhé fázi dochází k nahloučení hyf kolem kořenové špičky a dále po povrchu konce kořínku. Tím procesem se vytvoří hyfový plášť, o kterém je pojednáno v kapitole ektomykorhizní symbióza. Uchycení hyf na povrchu kořínku je realizováno přes fibrilární struktury (Lei et. al. 1990). Mezi houbou a kořínkem probíhá chemická signalizace, oba partneři se v tuto chvíli rozhodnou zda vytvoří symbiotické spojení. Látky podílející se na této komunikaci nejsou zatím podrobně známy, důležitý je ale například rostlinný hormon auxin a jeho deriváty v procesu růstu a spojení mezi rostlinou a houbou. Mnoho

z látek stimulujících vznik symbiotického spojení působí na více druhů hub zároveň. U některých ektomykorhizních hub je třeba i přítomnost půdních organismů například bakterií. Ve sterilních podmínkách proto takové houby mykorhizu nevytváří.

Ve třetí fázi dochází k prorůstání hyf do mezibuněčných prostor kořenové kůry a vytvoření Hartigovy sítě. Vnitřní prostředí kořene není pro houbu nijak přívětivé. Nachází se zde velký obsah polyfenolických látek. Tyto látky vylučují především buňky taminové zóny a slouží jako ochrana před napadením patogeny. Pomocí vnitřního propojení houba s kořínkem hostitelské rostliny komunikuje a vyměňuje si s ektomykorhizní houbou různé látky. Kořenový systém stromu se tímto způsobem může připojit k velké myceliární síti sahající do vzdálenosti desítek centimetrů nebo dokonce na několikrát větší vzdálenosti pokud ektomykorhizní houba vytváří rhizomorfní provazce. Na celém procesu se z velké části uplatňuje genetika. Hned od prvního navázání kontaktu se v houbovém i rostlinném organismu mění exprese různých genů, umožňující produkci látek podílející se na vzájemném spojení (Martin et. al. 1995).

### **2.6.3 Změna morfologie a anatomie kořínku**

Na změně růstu a tvaru kořínku se podílí především známé rostlinné hormony jako auxin, cytokinin, kyselina absisová a etylen, které jsou produkovány samotnou houbou (Gogala 1991). Bylo prokázáno, že i vnitřní metabolismus kořínku se po navázání houby radikálně mění. Kořínek se ektomykorhizní houbě anatomicky přizpůsobuje, potlačuje své obranné reakce, vytváří prostor pro růst houby a svými asimiláty houbu vyživuje. Existují i důkazy o potlačování obranných reakcí kořene samotnou houbou (Schröder et. al. 2001). Pokud by nedocházelo

k odstranění obranných reakcí, ektomykorhizní houba by nedokázala uvnitř rostlinných pletiv přežít.

## 2.6.4 Fruktifikace

Plodnice slouží ektomykorhizní houbě pro tvorbu spór a jejich rozšíření do okolí. Základní faktorem mající vliv na tvorbu plodnic je dostatečně silné a zdravé mycelium napojené na kořínky hostitelských stromů. K vytvoření plodnic je potřeba dostatek biomasy a energie (Guidot et. al. 2002). Tento proces sebou nese alespoň částečné poškození nebo v extrémním případě úplné zničení mycelia (Zhou & Hogetsu 2002).

Faktory podílející se na tvorbě plodnic bývají druhově specifické, ale lze u nich najít některé zákonitosti. Základem bývá určité roční období<sup>4</sup> (Gryndler et. al. 2004), teplota (Godbout & Fortin 1990, Oliver et. al. 1997), voda a přítomnost látek podílející se na iniciaci fruktifikace ektomykorhizních hub. Voda je nejvíce zastoupenou látkou houbového organismu, proto je její dostatek v průběhu celé sezóny nezbytný (Salerni et. al. 2002). Její množství také významně ovlivňuje růst mycelia a tvorbě plodnic (Ower & Malachowski 1986, Mehus 1986). Dále bylo prokázáno, že na fruktifikaci některých ektomykorhizních hub se podílí vnitřní prostředí mycelia a látky podobné rostlinným hormonům (Rypáček & Sladký 1973), půdní prostředí a v něm obsažené humusové látky (Pizzeghello et. al. 2001), přítomnost světla (Koske & Perrin 1971) a dostatečný příjem vody ve fázi vytváření plodnice.

Nezanedbatelný je i vliv hostitelských rostlin na množství a velikost plodnic. Několik studií potvrdilo, že množství (Oliver et. al. 1997), vitalita (Last et. al. 1981, Vogt et. al. 1981), stáří

---

<sup>4</sup> V naší zeměpisné šířce dosahuje tvorba plodnic největší intenzity v měsících červenec, srpen a září (Gryndler et. al. 2004)

(Mihál 2002), složení hostitelských rostlin, ale i třeba velikost hostitele (Nara et. al. 2003) ovlivňuje fruktifikaci hub. Studie Lamhamedi et. al. (1994), která byla prováděna na ektomykorhizní houbě *Laccaria bicolor*, ukázala na vzájemnou propojenost fotosyntézy a fruktifikace. Čím byla fotosyntéza intenzivnější, tím více plodnic vznikalo. Naproti tomu při poškození plodnice klesla intenzita fotosyntézy!

## **2.7 Druhy ektomykorhizních hub na kořenech buků**

Buk lesní na rozdíl například od dubu vytváří pouze ektomykorhizní typ symbiózy. Tohoto nejrozšířenějšího spojení mezi stromy a houbami se podle odhadů účastní tisíce druhů hub. Konkrétní počet druhů schopných vést symbiotický svazek s bukem není přesně známý, ale odhady mluví o počtu v řádech stovek. Doložený počet druhů dle pramenu (de Roman et. al. 2005) je přibližně kolem 60. Dá se samozřejmě předpokládat, že toto číslo není zdaleka konečné a bude dále v budoucnosti narůstat. Konkrétní výpis druhů viz příloha Tabulka č. 1.

## **2.8 Vliv ektomykorhizních hub na hostitelské rostliny**

Podstata symbiózy je vzájemné propojení kořenového systému sazenice s myceliem houby. Hostitelé spolu interagují na úrovni informační, výměny energie a výměny hmoty.

### **2.8.1 Vodní režim**

Těžiště přínosu ektomykorhizních hub pro rostlinu leží v absorpčních schopnostech mycelia. Myceliární hyfy prorůstají půdou a vytváří rozsáhlou podzemní síť, která je schopna přijímat vodu a v ní rozpustné minerální látky. Mycelium má velký povrch a současně schopnost dostat se do malých půdních prostor, tím stromům může zpřístupnit pro ně nedostupné zdroje. Napojením kořenového systému stromů na myceliární síť se několikanásobně zvětší schopnost získávat vodu. Při běžném osídlení kořenového systému ektomykorhizními houbami tvoří mycelium většinou absorpčního povrchu. Získaná voda může pocházet i z velkých vzdáleností pokud je ektomykorhizní houba schopna tvořit rhizomorfní provazce, které tento vzdálený transport zajišťují. Z minerálních látek rozpustných ve vodě jsou pro rostlinu důležité zejména dusík, fosfor a síra. Tyto prvky jsou pro rostliny často limitující. Bylo prokázáno i zlepšení přísunu vápníku (Blum et. al. 2002).

### **2.8.2 Houba jako brána do půdního prostředí**

Půdní myceliární síť neslouží jen jednostrannému přenosu. Tok hmoty a informací probíhá oběma směry a ektomykorhizní houba se tak může stát bránou pro přenos látek do půdy, kam kořenový systém nezasahuje.

### **2.8.3 Mycelium jako zprostředkovatel energie**

V rostlinném společenstvu představují jednotlivé rostliny oddělená individua, které mohou na jednu stranu poskytovat vhodné podmínky pro život jiných rostlin, ale v rámci jednoho druhu si především konkurují. Při představě lesa s půdním prostředím, kde dominují silná rozsáhlá mycelia, můžeme tvrdit, že mycelium snižuje vzájemnou

kompetici jednotlivých stromů (Gryndler et. al. 2004). V takovém případě mycelium může sloužit k přenosu asimilátů mezi jednotlivými stromy. Pokud probíhá přenos mezi dospělými stromy a semenáčky, jev se nazývá efekt chůvy neboli „Nurse effect“ (Gryndler et. al. 2004). Semenáčky stromů tak dostávají v nejtěžším období života minerální výživu a energii v podobě cukrů, která může být v silně konkurenčním prostředí podrostu zvýhodňující (Simard et. al. 1997). Dospělé stromy si tak připravují silné potomky, kteří na jejich místě porostou po jejich smrti. V případě pádu dospělého jedince využijí stromky otevřenost korunového patra. Ektomykorhizními houbami kolonizované stromky pak následně mají větší šanci při boji o vzniklou světelnou mezeru. Takový to efekt byl pozorován v tropických deštných lesích (Onguene & Kuyper 2002), ale dá se předpokládat, že k podobnému efektu dochází právě v lesích s porosty *Fagus sylvatica*.

Další výhodou je metabolismus houby, který je odlišný od rostlinného a dokáže rozkládat nebo syntetizovat látky využitelné hostitelskými rostlinami. Mycelium má také zásobní schopnost. Dokáže uchovávat fosfor ve formě polyfosfátu (Ashford et. al. 1986) a dusík (Hobbie & Colpaert 2003).

#### **2.8.4 Mycelium jako zprostředkovatel podzemní vody**

Silné kořenné systémy některých druhů stromů například buků prorůstají do značných hloubek až za hranici podzemní vody. Ektomykorhizní houby v takových hloubkách nežijí, ale jsou schopny tuto podzemní vodu přerozdělit ve svrchních půdních vrstvách. K takovému efektu dochází například mezi semenáčky a dospělými stromy stejného druhu, které jsou vzájemně spojeny myceliem houby. Přes den hlavně za slunečného počasí dospělé stromy využívají veškerou

vodu pro fotosyntézu a největší část ztrácí evaporací. Ve chvíli kdy intenzivní fotosyntéza neprobíhá, přebytek vody může být částečně směřován i do symbiotického mycelia. To se pak stává prostředníkem této podzemní vody. Podzemní voda je ve výsledku dopravena od nejhlubších kořenů dospělých stromů přes mycelium až do kořenového systému semenáčků s ektomykorhizními houbami. Kořenový systém malých stromků nedosahuje nějaké závratné hloubky, proto jim toto zprostředkování vody může být prospěšné. Tento jev je podložen například studií, která byla provedena na dubech *Quercus agrifolia*, u kterého bylo pozorováno takovéto zprostředkování podzemní vody. V nočních hodinách se voda objevovala v myceliu ektomykorhizních hub *Cortinarius sp.* a *Cenococcum sp.* Na zprostředkování se podílely i arbuskulární houby, který je *Quercus agrifolia* také schopen hostit (Querejeta et. al. 2003).

## **2.9 Nepřímý vliv ektomykorhizních hub na rostliny**

Nepřímý vliv je zde symbolizován jako ovlivnění půdního prostředí, v němž se rozkládají kořeny rostlin. Ektomykorhizní houby z půdního prostředí spoustu látek přijímají, přeměňují a produkují řadu látek nových ovlivňující půdní organizmy, rostliny a samotné houby. Stabilizují také půdní strukturu a mění tak půdní prostředí. Hlavní látky ovlivňující rostliny jsou látky podobné rostlinným hormonům nebo přímo rostlinné hormony jako jsou auxiny, cytokininy, kyselinu abscisová a etylen (Gogala 1991). Produkce látek s antibiotickými účinky mají také nepřímo vliv na rostliny. Takové látky mohou zabránit houbovým patogenům v růstu. Například studie Marx (1969) ukázala produkci nitrildiatretyn ektomykorhizními houbami, který brání v růstu

známému patogenu *Phytophthora cinnamomi*. Také patogenní houba *Rhizocteria sp.* likvidující semenáčky borovic byla eliminována antibiotickými látkami ektomykorhizních hub (Sen 2001). I studie českých vědců dokazuje zastavení patogenní houby *Rhizoctonia solani* antibiotickými látkami vylučující mykorhizní houbou (Šálek & Musílek 1968).

### **2.9.1 Zpřístupňování minerálních látek**

Ektomykorhizní houby ovlivňují koloběh uhlíku v půdním prostředí jako málokterá další složka. Rostlina investuje do houby až 10 % veškerých asimilátů. Tyto uhlíkaté sloučeniny končí v půdním prostředí buď jako biomasa hub (odhadované množství biomasy mycelia je skoro tuna na 1 hektar lesní půdy!) (Wallander et. al. 2001) nebo jsou vyloučeny do půdy v podobě různorodých látek. Jednou z významných látek vylučovaných ektomykorhizními houbami je hydrofobin, který je uvolňován při vzniku ektomykorhizy. Hydrofobin v půdě zůstává jako hůře rozložitelná organická látka, která hydrofobními interakcemi na sebe váže další organické molekuly. Touto vazností se hydrofobin stává nezastupitelnou složkou humusu, chrání organické molekuly proti rozkladu (Spaccini et. al. 2002). Je možné, že nepřímo tímto způsobem ektomykorhizní houby zadržují velké množství organické hmoty v půdě (Gryndler et. al. 2004). Naopak vylučováním látek s enzymatickou aktivitou, se ektomykorhizní houby podílí na rozkladu organických látek (Tibbett & Sanders 2002). Bylo prokázáno, že některé druhy ektomykorhizních hub disponují enzymy rozkládající lignin, což je hlavní výsadou saprotrofních hub (Burke & Cairney 2002).

Rozklad organických látek na minerální je rostlinám jednoznačně prospěšný. Minerální látky stromy přijímají s vodou přes kořenový systém a jsou pro ně důležité jako stavební materiál vlastního těla.



Rozklad je jednoznačně pozitivní, zadržování organických látek bude pravděpodobně na rostliny mít negativní vliv z pohledu menšího příjmu minerálních látek z půdy. Celkově se předpokládá, že ektomykorhizní symbióza se podílí spíše na zadržování uhlíku v půdě (Cornelissen et. al. 2001). Měření však potvrdila, že efekt je pravděpodobně potlačen činností dalších půdních organismů, protože koncentrace organické hmoty v půdě je stálá.

## **2.10 Ektomykorhizní houby ve vztahu k ostatním půdním organismům**

Společný vliv rostlin a ektomykorhizních hub je založen především na obohacování půdy organickými látkami. Je známo, že okolí kořene rostliny tzv. rhizosféra je na půdní organismy bohatší než okolní půda. Příčinou tohoto jevu je přítomnost organických látek, které se z kořenů uvolňují. Okolí ektomykorhizy tzn. mykorhizosféra má také bohatou základnu půdních organismů, svým složením se však liší. Celkově ale může být několikanásobně bohatší na půdní organismy než rhizosféra. Máme také důkazy o působení půdních organismů, především bakterií na ektomykorhizy. Ovlivňují klíčení mycelia, jeho růst, vznik mykorhizy a produkci výměšků (Founoune et. al. 2002). Plno ektomykorhizních hub je natolik vázáno na půdní organismy, že bez nich nejsou schopny ani vyklíčit nebo vytvořit ektomykorhizní spojení. Tento efekt velmi znesnadňuje pěstování ektomykorhizních hub ve sterilních podmínkách.

### 3 Diverzita ektomykorhizních hub

Ačkoli jsou houby rozšířeny od rovníku až po polární kruhy, jen málo je zatím známo o jejich diverzitě. Přitom míra a objasnění diverzity je jedna z nejdůležitějších otázek ekologie (Gaston 2000, Purvis & Hector 2000, Tilman 2000) Veškeré pokusy o řešení tohoto problému pak ztroskotávají na nedostatku informací o této skupině organismů, která svou velikostí patří k těm největším (Gaston 2000). I u nejrozšířenějších rodů hub o jejich diverzitě víme zatím jen málo, přitom pochopení struktury a příčin diverzity u těchto skupin, by mohlo být klíčem k celkovému pochopení diverzity této obrovské skupiny organismů jako jsou houby (Schmit et. al. 2005).

Nejodvážnější odhady počtů všech druhů hub na Zemi se blíží hodnotě 1 500 000. Dnes máme popsáno přibližně 7 500 druhů, v krajním případě bychom tedy mohli předpokládat, že 95 % druhů hub je zatím neznámých (Hawksworth & Rosseman 1997)!

Ektomykorhizní houby hrají klíčovou roli v půdní mikroflóře v lesích mírného pásma. Takové lesy bývají obvykle limitovány dusíkem a fosforem, které jim ektomykorhizní houby pomáhají získat (Read & Perez-Moreno 2003). Rozsah kolonizace a diverzita houbových symbiontů v takovýchto porostech bývá obvykle vysoká (de Roman, Claveria & De Miguel 2005). Faktory ovlivňující diverzitu jsou však z velké části zahaleny tajemstvím. Klíčovou roli zde hraje například množství již zmíněného dusíku v půdě (Lilleskov et. al. 2002).

Na přirozené bohatosti ektomykorhizních hub se podílí především množství a dostupnost hostitelů. V lesních ekosystémech bohatost a diverzita společenstev ektomykorhizních hub silně kontrastuje s počtem druhů stromů. Počet druhů hub je různý strom od stromu se značnou heterogenitou mezi jednotlivými stromy. Celkové počty druhů se pohybují v řádech stovek (Horton & Bruns 2001, Dahlberg 2001, Jonsson et. al. 2001). Dále se na diverzitě nemalou měrou podílí fyzikální vlastnosti daného stanoviště jako například půda a její chemické složení, množství organické hmoty, která je v lesním porostu k dispozici, a množství odumřelého a rozkládajícího se dřeva. Z živých složek je to převážně dostupnost druhů ektomykorhizních hub v okolí, které dokážou být rostlině prospěšné, druhové složení a diverzita ostatních rostlin a přítomnost konkurenčního prostředí jiných hub (Erland & Taylor 2002, Agerer & Göttlein 2003, Buée et. al. 2005, Baier et. al. 2006).

### **3.1 Faktory určující diverzitu hub v bukových porostech**

Jak již bylo předesláno v úvodu, faktory udržující diverzitu a řídící dynamiku společenstev ektomykorhizních hub jsou z velké části neznámé. Několik základních vlivů již bylo prostudováno, celkový seznam je však mnohem delší a současné studie odhalují jen jeho malou část. Zatím nemáme důvod k tomu vymezovat diverzitu v bukových porostech nad diverzitu v ostatních lesních ekosystémech mírného pásma. Zdá se, že je řízena podobnými faktory jako obecná diverzita ektomykorhizních hub. Z abiotických faktorů je například ovlivněna pH půdy, obsahem dusíku, půdní vlhkostí a teplotou nebo například extrémní změnou jako je lesní požár (Dighton & Skeffington 1987,

Peter et. al. 2001, Erland & Taylor 2002, Jany et. al. 2002). Mnoho faktorů působí přímo na konkrétní druhy, celkový efekt je poté mnohdy nejednotný. Například zvýšení pH v půdě vede k zvýšení výskytu lanýžů (Pruett, Bruhn & Mihail 2008). Vyšší koncentrace dusíku naopak působí proti rozvoji kolonizace a diverzity ektomykorhizních hub (Jonsson, Anders & Tor-Erik 2000, Peter et. al. 2001, Avis et. al. 2008). Několik základních faktorů, které do dnešní doby v bukových porostech zkoumány jsou popsány v následujících podkapitolách.

### **3.1.1 Půdní vrstva**

Struktura společenstev ektomykorhizních hub v jednotlivých půdních vrstvách se odvíjí od jejich odlišné schopnosti získávání živin z půdy. Tato funkční diverzita pak nejen ovlivňuje druhovou diverzitu v jednotlivých vrstvách ale i v jednotlivých druzích půd (Bruns 1995, Dickie et. al. 2002, Tedersoo et. al. 2003).

Studie prováděné na dubových kořenových systémech ukázaly, že struktura společenstva ektomykorhizní hub se znatelně mění v závislosti na půdní vrstvě (Buée 2007). Zdá se, že i ostatní studie podobného rázu v různých porostech potvrzují tento výsledek, proto lze tento faktor vlivu na ektomykorhizní houby vztáhnout i na kořenové systémy buků. Největší druhové bohatství bylo nalezeno ve svrchním horizontu obvykle označovaném jako A1. I katabolická aktivita potvrzuje největší bohatost svrchní vrstvy. V dubovém lese měly největší zastoupení rody *Lactarius* a *Tomentella* (Buée 2007).

### 3.1.2 Vliv produktivity stromů

O vlivu vitality rostlin na množství a diverzitu kolonizace ektomykorhizních hub není příliš známo (Johnoson et. al. 2005). Předpokládá se, že při strádání rostlin se diverzita i kolonizace bude snižovat. Přibližně 20–30 % asimilátů, které rostlina vytvoří, skončí jako výživa symbiotických hub (Finlay & Söderstöm 1992, Söderstöm 2002). Dá se tedy předpokládat, že v nepříznivých podmínkách rostlina nebude investovat do svých symbiontů.

Studie, které byly prováděny na borovicích, ale nepotvrdily domněnku snížení množství kolonizace nebo diverzity ektomykorhizních hub na jejich kořenech při strádání hostitelů. Stromům bylo odebráno část jejich jehlic a tím dosaženo menší schopnosti tvořit asimiláty. Nicméně pokus neukázal významné změny v diverzitě a kolonizaci ektomykorhizních hub. Došlo pouze ke snížení tvorby plodnic hub (Kuikka et. al. 2003). Ani v dalších pokusech u jehličnanů a na březových porostech nebylo zaznamenáno snížení kolonizace nebo změna druhového složení společenstva ektomykorhizních hub vlivem omezení světla a tím následné snížení fotosyntézy u stromů (Dehlin et. al. 2004). Opačného výsledku bylo dosaženo u bříz v podrostu, které po vystavení většího množství světla, následně reagovaly zvýšením množství svých symbiontů Cheng, Widden & Misier 2005).

Podobná studie byla prováděna i na bucích. Menší stromky buků byly záměrně stíněny nebo jim byl přímo znesnadněn transport uhlíkatých látek z listů do kořenového systému. Buk je v mládí velice přizpůsobivý. Dokáže se adaptovat na silné zastínění, které mu pomáhá přežít delší dobu v podrostu. Na druhou stranu je ale také je schopen adaptovat se na intenzivní oslunění, kterého využije pokud se v zapojeném porostu uvolní místo (Johnson et. al. 1997, Parelle, Roudaut & Ducrey 2006). Navzdory této přizpůsobivosti zastíněné

stromky reagovaly omezením svých symbiontů. Konkrétně snížily kolonizaci jen na 10 % svého kořenového systému. Stromy vystavené běžné intenzitě světla měly kolonizováno 74 % kořenového systému. Vyšší diverzita byla pozorována na osluněných stromcích. Vitalita hostitelských stromů nebyla ovlivněna. Omezením transportu uhlikatých látek do kořenů nebyla pozorována změna diverzity ani kolonizace (Druebert, Lang, Valtanen & Polle 2009).

### **3.1.3 Stáří porostu**

Různorodost kořenových systémů odlišně starých stromů dává možnost změny ektomykorhizní kolonizace. Obecně platí, že větší věková různorodost porostu sebou obvykle nese větší druhovou diverzitu ektomykorhizních hub (Wiensczyk et. al. 2002).

Některé studie toto potvrzují i v bukových porostech. Nejnížší diverzita byla nalezena u nejmladších stromků a postupně se zvyšovala až to určité věkové hranice, od které se počet druhů držel na podobných hodnotách (Tratnik & Pohleven 1995). I rozsah kolonizace je větší u dospělých stromů v porovnání se semeníčky. Poslední studie, která se tohoto faktoru ovlivnění druhové diverzity v bukových porostech týkala, nezaznamenala větší odlišnosti ve vitalitě a stupni ektomykorhizní kolonizace při porovnání kořenových systémů jednotlivých stromů v rámci jednoho porostu. Druhová diverzita se významně neměnila v závislosti na stáří bukového porostu. Změny diverzity byly patrné spíše v závislosti na vlastnostech půdy a orientaci svahu na zkoumaném území. Tato studie tedy spíše ukázala na větší vliv abiotických faktorů, které ovlivňují diverzitu více než stáří jednotlivých stromů (di Marino et. al. 2008).

### 3.1.4 Vliv sucha na stupeň kolonizace a diverzitu ektomykorhizních hub

Ektomykorhizní houby pomáhají svým hostitelským stromům významně zvětšit schopnost příjmu živin z půdních roztoků a vody zvětšením kořenového systému o myceliární síť, která prostupuje na velké vzdálenosti půdou. Jaký však bude mít vliv vysušení půdy na strukturu společenstva ektomykorhizních hub?

Dostupnost vody je jedním z hlavních limitujících faktorů výskytu buku *Fagus sylvatica* v jeho jižním areálu (Ebert 1996). Mykorhizní houby pomáhají svým hostitelským stromům překonávat stres z nedostatku vody (Davies et. al. 1996). Předpokládá se, že výskyt v některých suchých oblastech je vázán právě na spolupráci buků s ektomykorhizními houbami v příjmu vody.

Studie prováděná na bukových porostech v Německu neukázala významný posun ve stupni kolonizace kořenových systémů buků, ale potvrdila změnu druhové diverzity ve společenstvu ektomykorhizních hub (Shi et. al. 2002). Některé druhy se při vystavení suchu ztratily, jiné ovšem nahradily jejich místo. Pokles diverzity u sušší půdy v bukových porostech záleží na odolnosti konkrétních druhů vůči suchu (Buée 2005). Vitalita stromů nebyla nijak narušena (Shi et. al. 2002). *Cenococcum geophilum* byl druhem nejvíce zvýhodněným v suché půdě. Obecně tento druh patří ke kosmopolitním druhům ektomykorhizních hub. Kromě velkého rozšíření je také tento druh znám svou velkou genetickou diverzitou (Jany et. al. 2002). V bukových porostech bývá často dominantním druhem mezi ektomykorhizními houbami. Některé studie potvrzují, že tento druh významně pomáhá hostitelským rostlinám překonávat stres ze sucha (di Pietro 2007). Často je patrný i na kořenových systémech malých semenáčků, které jsou suchem více ohroženi než vzrostlé stromy.

### **3.2 Diverzita ektomykorhizních hub pod tlakem lidské činnosti**

Lidský faktor působí povětšinou negativně na diverzitu ektomykorhizních hub. Vypouštění velkého množství oxidu uhličitého do ovzduší, zvětšující se ozónová díra, přesycování zemědělských půd hnojivy, kontaminace půd těžkými kovy a další vlivy nepříznivě ovlivňují diverzitu naší přírody a ektomykorhizní houby v bukových porostech nejsou výjimkou (Baxter et. al. 1999, Erland & Taylor 2002).

Překyselení půdy vznikající jako důsledek zvýšeného znečištění ovzduší je jedním z nejsilnějších negativních faktorů ovlivňující lesní ekosystémy. Zvýšené průmyslové emise především oxidu siřičitého dávají za deště vznik směsi slabé kyseliny, která dopadá na zem. Z půdy jsou pak následně odstraňovány bazické kationty a pH půdy se snižuje. Tento jev postihuje hlavně méně tolerantní druhy ektomykorhizních hub. K poškození dochází především na myceliu (Anderson & Cairney 2007), ale i kořenovém systému hostitelských stromů včetně buků (Murach 1990). S tímto jevem jsme se setkávali hlavně v průběhu druhé poloviny dvacátého století. U nás byl nejpatrnější v severních Čechách, kde se nacházelo velké množství hnědouhelných elektráren. Následkem znečištění ovzduší došlo k úhynu rozsáhlých oblastí lesních porostů v Krušných horách. Kyselé deště mění strukturu společenstev ektomykorhizních hub a omezují biomasu extracelulárního mycelia. Počet mykorhizních špiček se snižuje, ale stupeň kolonizace je obvykle zachován (Arnolds 1991, Qiu et. al. 1993, Roth & Fahey 1998, Agerer et. al. 1998).

Zvýšení množství oxidu uhličitého v ovzduší vedlo k lepší vitalitě stromů, které následně i pozitivně ovlivňovali houby. Došlo k změně diverzity ektomykorhizních hub, množství kolonizace se zvýšilo a zvýšila si i vitalita mycelia (Godbold et. al. 1997, Rey & Jarvis 1997).



Zvýšení množství ozónu vede obvykle k změně diverzity a mírnému poklesu kolonizace kořenového systému ektomykorhizními houbami (Edwards & Kelly 1992, Qiu et. al. 1993, Roth & Fahey 1998).

U kontaminace půdy těžkými kovy záleží především na konkrétním druhu a jeho toleranci k určitému kovu. Obecně dochází k poklesu a mizení méně tolerantních druhů ektomykorhizních hub (Rühling & Söderstöm 1990, Leyval et. al. 1997, Hartley et. al. 1999).

Přidávání dolomitu do lesní půdy vedlo podle poznatků k poklesu diverzity a množství počtu mykorhizních špiček. Stupeň kolonizace zůstal zachován (Kraigher et. al. 1996, Lilleskov & Fahey 1996, Wallenda & Kottke 1998, Erland et. al. 1999, Taylor et. al. 2000).

Zvýšení obsahu dusíku v lesní půdě je obvykle doprovázeno negativní odezvou ektomykorhizních hub. Optimální množství dusíku v půdě se nachází kolem 7 mg dusíku na 100 g suché půdy. Rody *Inocybe*, *Cortinarius*, *Russula* a *Lactarius* jsou na vyšší obsah dusíku zvláště citlivé (Holec & Beran 2006). Dochází jak k poklesu diverzity, tak i kolonizace. Existují ale druhy hub, kterým zvýšený obsah dusíku v půdě nevadí (Arnebrant & Söderstöm 1992, Kårén & Nylund 1996, Wallenda & Kottke 1998).

Dnes již běžná lesnická praxe vápnění podle studií vede k mírnému vzestupu počtu mykorhizních špiček, kolonizace zůstává zachována. Druhová diverzita se mění ve prospěch druhů, které jsou vůči vápnění více tolerantní jako například *Clavulina sp.* nebo *Lactarius subdulcis* (Erland & Söderstöm 1991, Anderson & Söderstöm 1995, Agerer 1998, Jonsson et. al. 1999, Bakker et. al. 2000, Rineau et. al. 2009).

O vlivu popelu, který zůstává v lese po spalování větví nebo o organickém hnojení lesních půd, víme zatím jen málo. Jediné dva zdroje zatím mluví o mírné změně diverzity nebo stálosti bez narušení kolonizace (Kårén & Nylund 1996, Mahmood 2000). V následujících

podkapitolách jsou popsány důležité vlivy lidské činnosti, kterých se dostalo průzkumu i přímo v bukových porostech.

### **3.2.1 Těžba dřeva**

Dnešní způsob těžby a vedení lesa jako je vypalování lesů, vytěžení všech stromů na daném místě, přihnojování dusíkem, vápnění a další časté praktiky mají na diverzitu ektomykorhizních hub silný dopad potvrzený řadou studií (Bakker et. al. 2000, Peter et. al. 2001, Lilleskov et. al. 2002). Dřevní hmota je jedním z obnovitelných zdrojů energie, nabízí se však otázka jestli intenzivní těžba nebude trvale degradovat diverzitu lesa a tudíž i diverzitu ektomykorhizních hub. Dnešním trendem je z lesa odvést téměř vše. Větve, kůra nebo vrcholky stromů, které dřív v lese zůstávaly, se dnes často naštěpují a po vysušení slouží jako palivo. Právě větve a kůra jsou na rozdíl od surového dřeva plné důležitých prvků nezbytných pro růst nových stromů. Z pohledu ektomykorhizních hub odumřelé dřevo představuje útočiště a zdroj živin pro velkou část druhů této skupiny. Odumřelé dřevo následně zlepšuje nebo udržuje kvalitu lesní půdy – její pórovitost a schopnost zadržovat vodu. Absorpce vody a půdních roztoků u stromů závisí na ektomykorhizních houbách. Největší intenzita přeměny látek je ve svrchních deseti centimetrech půdy, kde hlavní dominantní složkou jsou právě ektomykorhizní houby (Bruns 1995, Prévost & Pargney 1995, Bakker et. al. 2000). Příznivý vliv odumřelého dřeva byl potvrzen i v bukových porostech (Aubertin 1971). Přestárlé stromy, které dnes již v lesech obvykle nevidíme, skýtají pro některé druhy ektomykorhizních hub jedinečné prostředí pro život.

Jak takové prořezávání a těžba některých stromů ovlivňuje diverzitu ektomykorhizních hub v bukových porostech ukazuje nedávná studie prováděná v bučinách ve Francii. Výzkum potvrdil, že lesní

probírka ovlivňuje diverzitu ektomykorhizních hub na buku *Fagus sylvatica* (Buée et. al. 2005). Na zkoumané území o rozloze 0,8 ha bukového porostu bylo nalezeno 61 druhů ektomykorhizních hub. Bohatost a hojnost druhů odpovídá diverzitě, která byla pozorována (Horton & Bruns 2001, Jonsson et. al. 2001, Lilleskov et. al. 2002). Mírně větší diverzita druhů byla prokázána v bučinách, kde probíhala selektivní těžba dřeva (Buée et. al. 2005).

### **3.2.2 Holoseč**

Kompletní vykácení dospělých stromu značně ovlivňuje některé fyzikální vlastnosti prostředí. Pro nevzrostlé stromy, stromky a bylinné patro se silně zintenzivní osvětlení a zvýší se rozsah teplot mezi dnem a nocí. Podobně se vychýlí i teplota půdy. Změnou také projde vodní režim dané oblasti. Dojde ke změně vlhkosti půdy i vzduchu. Změna několika hlavních faktorů vede k poklesu druhové diverzity daného místa (Halpern & Spies 1995).

Také je třeba zmínit neblahý vliv použité techniky a zvýšeného pohybu lidí v dané oblasti. Dochází především k poškození kompaktnosti půdy a semenáčků. Takovéto poškození může ještě více zpomalovat nadcházející regeneraci porostu (van der Hout 2000).

Podrobné výzkumy ohledně tohoto problému v bukových porostech byly prováděny v severním Španělsku. Pozorování struktury ektomykorhizního společenstva hub bylo prováděno v přirozeně regenerujícím lese, který v minulosti prošel kompletním vykácením. Výsledky ukázaly na nerovnováhu v hromadění některých uhlovodíků a stupněm kolonizace kořenů. Druhové složení ektomykorhizního společenstva zkoumané oblasti se výrazně lišilo od typického společenstva vyskytující se v přirozených bukových lesích. 40 % druhů ektomykorhizních hub bylo vázáno na narušený ekosystém. Výsledné

množství druhů a obsazení kořenového systému bylo srovnatelné s přirozeným ekosystémem bukového lesa. Výsledná diverzita byla tedy srovnatelná s kontrolní oblastí. Konkrétně bylo na poškozeném území nalezeno 25 druhů ektomykorhizních hub, na rozdíl od kontrolní oblasti, kde bylo určeno 24 druhů. Množství houbových spor byl přibližně stejný na obou dvou územích (Goicoechea, Closa & Michuel 2009).

### **3.2.3 Zvýšené množství ozónu**

Ozón je jedovatý bezbarvý plyn tvořící ozónovou vrstvu v atmosféře, která chrání rostliny a živočichy na naší planetě před škodlivým ultrafialovým zářením. Molekula ozónu je tvořena třemi atomy kyslíku. Klasický kyslík, který dýcháme, je tvořen pouze dvěma atomy kyslíku. Vzrůstající teplota a intenzita slunečního záření vede v lesních porostech ke zvyšování množství ozónu, který je v těchto místech škodlivý. Některé druhy jsou na ozón citlivé, proto zvyšující se množství tohoto plynu v lesním porostu může poškodit i stabilní lesní ekosystém (Werner & Fabian 2002). Několik studií potvrzuje, že vlivem zvýšeného množství ozónu opravdu dochází poškození nadzemních organismů včetně citlivějších druhů stromů (Smith et. al. 2005). Může ale zvyšující koncentrace ozónu poškozovat ektomykorhizní houby a ovlivňovat jejich diverzitu?

Studií zabývajících se vlivu ozónu na podzemní organismy není mnoho. Některé prokazují negativní vliv ozónu na množství a aktivitu půdních organismů (Holmes et. al. 2003), navzdory tomu, že stromy vlivem ozónu vypouštějí více organických látek kořeny, které podporují množství půdní mikroflóry (McCrary & Andersen 2000).

I pokusy zaměřené na ektomykorhizní houby ukázaly snížení počtu druhů v osikových a březových hájích vystavených zvýšené dávky ozónu (Phillips et. al. 2002). V porostu obsahující javory ale ke změnám

nedošlo, zdá se tedy, že javory jsou vůči ozónu odolnější (Phillips et. al. 2002). I u nás bylo potvrzeno snížení množství ektomykorhizních hub vliv zvýšeného množství ozónu v ovzduší (Železník et. al. 2007).

Při zvýšené dávce ozónu v bučinách a bukojedlových porostech v Německu nebyla zaznamenána výraznější změna v počtu druhů a rozsahu kolonizace kořenových systémů ektomykorhizními houbami. Došlo pouze k menší změně zastoupení druhů, ale množství zůstalo podobné. Na ozónem ovlivněných místech bylo nalezeno 26 druhů ektomykorhizních hub, naproti tomu na kontrolních místech byl počet nalezených druhů 28. Množství kolonizace bylo stejné, akorát byly zvýhodněny některé druhy ektomykorhizních hub. Většího zastoupení v oblasti se zvýšeným množstvím ozónu měl druh *Cenococcum geophilum*. Dále byly zvýhodněny druhy *Russula sesinflora*, *R. fellea*, *R. illota*, *Tuber puberlum*, *Lactarius sp.* Některé se dokonce vyskytovaly jen na ozónem ovlivněných místech *Fagirhiza fusca*, *F. setifera*, *Lactarius acris*, *Piceirhiza migra* a *Lactarius sp.* (Grebenc & Kraigher 2007).

### **3.2.4 Turistický ruch**

Stále se rozrůstající lidská populace čím dál více zasahuje do volné přírody. Nejvíce pak lidé ve městech touží po odpočinku mimo betonovou džungli města a vyražejí alespoň o víkendech do příměstské krajiny za relaxací nebo sportovním vyžitím. A právě lesy se stávají častým cílem takovýchto výletů. Na rozdíl od přibývajících lidí počet druhů lesních rostlin a hub klesá (Cole 1987, Rusterholz et. al. 2000). Lesní ekosystémy jsou velice propracované funkční celky přírody s relativně velkou citlivostí na porušování jejich prostředí (Baur et. al. 1999, Larsen 1995). Je možné, aby takovýto tlak lidí ovlivňoval výskyt a diverzitu ektomykorhizních hub? Ne každý

organismus reaguje na narušení jeho životního prostředí stejně. Některé organismy se s narušením dokážou do značné míry vyrovnat, jiné neovlivňuje nebo naopak reagují velmi citlivě (Cole 1995, Norton 1996, Marshall 2000). Obecný fakt je ale takový, že čím větší narušení na dané oblasti probíhá, tím více se snižuje její přírodní hodnota.

Sešlapávání půdy působí negativně na půdu, která přichází o svou pórovitost a výskyt hrudek. Udusaná půda se pak pro některé ektomykorhizní houby stává nepříjemná, diverzita a kolonizace se snižuje (Amaranthus et. al. 1996, Harvey et. al. 1996). Některé studie tento negativní vliv nepotvrdily (Page-Dumroese et. al. 1998).

Studie, která probíhala ve švýcarských bukových lesích zasažených turistickým ruchem, prokázala redukci pokryvu, vegetace a listového opadu. Malé semenáčky buků měly následně menší množství biomasy a jejich kořenové systémy byly méně kolonizované ektomykorhizními houbami. U dospělých stromů se tento efekt neprojevil a jejich kolonizace a diverzita symbiotických hub byla stejná jako na kontrolních místech. V porostu dospělých stromů byla prokázána pouze provázanost dostupné organické hmoty a výskytu ektomykorhizních hub (Waltert et. al. 2002).

### **3.2.5 Vápnění**

Jedná se o dnes již běžnou lesnickou praxi, která byla zavedena po překyselení lesních půd v 80. letech. Nevhodným výběrem pěstovaných dřevin, ale hlavně vlivem tzv. kyselých dešťů vznikajících převážně z emisí oxidu siřičitého se půdy nepříjemně okyselovaly. Při dešti je tento plyn vznikající například při spalování uhlí, smísen s vodou za vzniku kyselin, které dopadají na zem. Z půd jsou pak následně odstraňovány důležité živiny, hlavně vápník a hořčík, které jsou pro růst buků ale i jiných dřevin klíčové (Hüttl 1989). Po vápnění

půdy dochází ke zvýšení pH, obsahu vápníku i hořčíku a mění se celkově chemické složení půdy. Bude mít takováto změna vliv na výskyt a diverzitu ektomykorhizních hub?

Vápnění redukuje vrstvu humusové půdy a způsobuje akumulaci uhlíkatých a dusíkatých látek v půdě. Obecně zvyšuje pH půdy a snižuje obsah hlinitých kationtů (Kreutzer 1995). Studie potvrzují negativní vliv na diverzitu a výskyt ektomykorhizních hub (Erland & Taylor 2002, Qian et. al. 1998).

V bukových porostech byly dokázány podobné výsledky. Po vápnění došlo k vymizení některých ektomykorhizních druhů hub žijících ve svrchních horizontech půdy. V organominerálních horizontech k žádným změnám nedošlo (Blaise & Garbaye 1983, Rineau et. al. 2009).

### **3.3 Vliv diverzity hub na lesní porost**

Různorodost půdní mikroflóry má důležitý vliv na produktivitu a též zpětně na diverzitu rostlinného pokryvu v lesních ekosystémech (van der Heijden et. al. 2008). Ektomykorhizní houby zastupují nemalou část této mikroflóry, která hraje ústřední roli v lesích mírného pásma. Pro tyto lesy je typická limitace dusíku, které jim ektomykorhizní houby pomáhají získat. Přibližně 80 % příjmu dusíku a 75 % příjmu fosforu je v těch lesích zprostředkováno symbionty (Simard, Jones & Durall 2002, Hobbie & Hobbie 2006, van der Heijden et. al. 2008). Vysoká diverzita ektomykorhizních hub je obvykle znakem stabilních a různorodých lesních porostů. Otázka důležitosti takovéto diverzity zatím nebyla spolehlivě zodpovězena (Johnson et. al. 2005). Některé důkazy můžeme najít u arbuskulárních mykorhizních hub, kde byla prokázána spojitost mezi vyšší diverzitou hub a vyšší produktivitou a diverzitou rostlin (van der Heijden et. al. 2006, Vogelsang et. al. 2006).

## **4 Metody identifikace ektomykorhizních hub**

Nalezení a určení ektomykorhizních hub je práce velice složitá a časově náročná. V půdě se vyskytuje velké množství různých hub, z nichž jen některé jsou houbami ektomykorhizními. Vzhledem k jejich malým rozměrům nebyla v minulosti ektomykorhizním houbám dána velká pozornost. Navíc jejich rozložení v půdě není pravidelné, ale spíše mozaikovitě. Mycelium houby roste podle charakteristik daného půdního prostředí, které je velice různorodé. Obvykle nedochází ani výskytu dominantních druhů a i malý kořenový systém sazenice stromků může hostit několik druhů ektomykorhizních hub. Smysluplná práce by měla zahrnovat detekci velkého množství ektomykorhizních hub (Horton & Bruns 2001, Tedersoo et. al. 2003). Práce s ektomykorhizními špičkami je o něco jednodušší, protože k jejich nalezení nám stačí obvykle pracovat s kořeny hostitelských stromů. Plnohodnotná práce by měla také obsahovat velké množství identifikovaných ektomykorhizních špiček (Taylor 2002).



## **4.1 Sbírání plodnic ektomykorhizních hub pro identifikaci**

Ať už sbíráme plodnice hub pro DNA analýzu nebo pro jiný způsob identifikace, musíme se řídit několika základními pravidly. Na daném stanovišti se snažíme o nalezení všech plodnic daného druhu. Poté z nich vybereme reprezentativní exempláře pokud možno různého stáří. Při sběru vybraných plodnic se jich snažíme dotýkat co nejméně, mnoho z nich jsou velice křehké a mohlo by dojít například ke změně barvy nebo poškození. Pokud máme možnost vždy je lepší si exemplář vyfotografovat. Plodnici vyjmeme z půdy celou případně i s myceliem napojeným na kořeny stromů. Vzorek uložíme do hliníkové folie. K dané houbě je vhodné si též zapsat lokalitu, na které byla nalezena, vegetaci v okolí a datum sběru (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## **4.2 Identifikace a sledování plodnic**

K identifikaci plodnic používáme atlasy nebo klíče k určování hub. Znaků, kterých si na houbách všímáme, je velké množství. Hodnotíme-li klobouk, všímáme si jeho tvaru, velikosti, barvy, povrchu a jeho okraje. U třeně se díváme na její tvar, velikost, texturu a barvu. Dále sledujeme přítomnost prstenu, rourek nebo lupenů případně jejich zbarvení, které může ukazovat na barvu výtrusného prachu. Posledním sledovaným znakem je houbová tkáň, její chuť, vůně a barva případně změna barvy po otlačení (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

Pokud plodnice ektomykorhizních hub dokážeme bez problémů identifikovat, můžeme se zabývat sledováním jejich výskytu. Nejstarší používaná metoda k identifikaci ektomykorhizních hub je relativně jednoduchá a spočívá jen v pozorování hub při fruktifikaci na určitém

území. Vytyčená oblast musí být dostatečně velká alespoň 2500m<sup>2</sup>, abychom byli schopni identifikovat místa s výskytem plodnic hub. Sledovaná oblast by měla pokud možno pokrývat nepřerušovanou reprezentativní část lesa. Po nalezení oblasti s výskytem hub, se dané území může pro přesnost rozdělit na menší čtverce o straně 5 nebo 10 metrů. Daná oblast se prochází několikrát během sezóny s přihlédnutím na období, kdy je u většiny druhů růst plodnic intenzivnější (červenec a září). V této době by se mělo vybrané území procházet s větší frekvencí. Fruktifikace hub je též vázána na počasí, proto častější průzkum zvyšuje přesnost pozorování. Největší výhodou této metody spočívá v jednoduchosti provedení. Naopak nevýhodou je velká časová náročnost a nepřesnost výsledků. Růst plodnic kolísá nejen během roku, ale je značně variabilní i v rámci let (Agerer 1991). Fruktifikace hub je pro houby významné období, které musí splňovat specifické podmínky. U některých hub je také fruktifikace velmi vzácná a existují ektomykorhizní druhy hub u kterých ani nikdy pozorováním nebyla. Taková ektomykorhizní houba je pak nazývána podle hostitelské rostliny. Například fagirrhiza u ektomykorhizních hub kolonizující kořeny buků (Read 1992). Výsledky vycházející z této metody dnes již nelze brát jako plnohodnotné, celkový počet ektomykorhizních hub, který se opravdu na kořenech stromů na daném území nacházejí je obvykle vyšší (Nylund 1995).

### **4.3 Identifikace ektomykorhizních špiček pomocí morfologických znaků**

Při identifikaci ektomykorhizních špiček začínáme nejdříve získáním půdních vzorků. Půdní vzorky odebíráme z takového horizontu, který nás zajímá. Nejbohatší na ektomykorhizní houby je svrchní půdní

horizont (Agerer 2002). Půdní vzorky v počáteční fázi necháme minimálně hodinu odmočit, následně začneme odstraňovat zeminu. Snažíme se o co nejmenší poškození ektomykorhizních špiček. Kořeny nalezené ve vzorcích oplachujeme mírným proudem vody. Abychom nepřišli o žádný kořínek, je vhodné použít například dvojicí sít s velikostí ok 2 mm a druhé s 0,25 mm umístěné nad sebe pod promývaný materiál. Snažíme se získat co nejvíce vzorků s minimem poškození. Promyté kořínky umístíme do větší Pepiho misky s vodou, kde dále pokračujeme v odstraňování posledních zbytků půdních částic (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

Dobře vyčištěné kořínky poté přemístíme do menší Pepiho misky s vodou a pozorujeme pod binolupou. Základním znakem je rozmanitost ektomykorhizních špiček a procentuální kolonizace kořene ektomykorhizními houbami. U jednotlivých morfotypů se sestředíme o hodnocení jejich znaků. Základní soubor charakteristik, kterých si všímáme, jsou zbarvení, délka, šířka ektomykorhiz, jejich tvar a zakončení, struktura pláště, druh větvení, přítomnost enačních hyf, případně jejich umístění a přítomnost rhizomorf. (Kovács & Jakucs 2006, Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

Jednotlivé druhy hub mohou vytvářet různé druhy monotypů podle hostitele nebo se mohou značně lišit v závislosti na stáří (Agerer 2001). Pro vyhodnocení pozorovaných znaků používáme klíče, atlasy nebo jiné popisné materiály zaměřené na identifikaci ektomykorhizních špiček<sup>5</sup>. Pro uchovávání ektomykorhizních špiček se používá fixační roztok. Nejčastěji používaný je roztok nazývaný FAA, složený z formaldehydu, 70 % etanolu a kyseliny octové v poměru 5:90:5. Preparáty se uchovávají za pokojové teploty (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

---

<sup>5</sup> Agerer 2002: *Colour atlas of ectomycorrhizae*, Agerer 1991: *Charakterization of ektomykorhiza*, Agerer et. al. 2006: *Descriptions of ectomycorrhizae*

## **4.4 Identifikace ektomykorhizních špiček pomocí anatomických znaků**

Vzorky pro pozorování anatomických znaků získáváme stejným postupem, jaký byl popsán v předchozí kapitole. Obvykle využíváme anatomii jako doplnění morfologických znaků, které nejsou pokaždé dostačující pro přesné určení ektomykorhizní houby. Nejprve z připravených ektomykorhizních špiček připravíme preparáty pro mikroskopické pozorování. Reprezentativní špičku přeneseme na podložní sklíčko. Pomocí žiletky přibližně v polovině nařezeme špičku příčnými řezy. Pro vytvoření řezů je také možné použití mikrotomu. Řezy pozorujeme při 400 násobném a 1000 násobném zvětšení. Při menších zvětšeních používáme mezi podložní a krycí sklíčko vodu, při větším zvětšení používáme 50 % roztok glycerolu nebo polyvinylakotoglycerolu. Při hodnocení anatomických znaků se zaměřujeme především na anatomii pláště a Hartigovy sítě (Nylund 1997). Všímáme si Celkové anatomie, přítomnosti přepážek, anastomóz, Napojení hyf, tvaru a uspořádání buněk a přítomnosti speciálních struktur jako jsou chlamydospóry, haustoria a podobně (Peterson, Massicotte & Melville 2004, Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## **4.5 Metoda rychlého odhadu**

Metoda rychlého odhadu je postup staršího ražení ale dosud hojně využívaný při studiu ektomykorhizních hub. Její provedení je relativně rychlé a využívá identifikaci pomocí morfologických a anatomických znaků popsaných výše. Princip spočívá v počítání a obsazení kořínků ektomykorhizní houbou na délku kořenů hostitelských rostlin. Její

provedení může být značně variabilní podle potřeb studie. Můžeme si všimnout i jiných znaků, ale základní výstup bývá zařazení kořínků do pěti kategorií podle frekvence ektomykorhiz na kořenech – 1. kategorie (0–5 %) obsazení kořínků, 2. kategorie 6–25 % obsazení kořínků, 3. kategorie 26–50 % obsazení kořínků, 4. kategorie 51–75 % obsazení kořínků, 5. kategorie 76–100 % obsazení kořínků (Kormanik & McGraw 1982).

## **4.6 Získání vzorku pro DNA analýzu**

Při získávání materiálu z houbového organismu musíme dodržovat základní sterilizační pravidla. Obvykle se jako nástroj používá sterilizovaný skalpel, pomocí něhož vyřízneme část tkáně. Jako zdroj DNA materiálu můžeme použít různé části ektomykorhizní houby. Nejčastěji se však používá buď vypreparovaný kousek tkáně z reprezentativní plodnice nebo ektomykorhizní špička vytvořená na kořenech hostitelských stromů. Ať už je zdroj DNA materiálu jakýkoli jeho uchování probíhá na místech se sníženou teplotou ve fixačních roztocích (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## **4.7 Extrakce DNA užitím CTAB-chloroform-isopropanolační extrakční metody**

Vzorky umístíme do roztoku 2 × CTAB, který periodicky zmrazujeme a rozmrazujeme. Takto změkčené vzorky můžeme ještě 15 minut inkubovat při teplotě 65 °C. Při práci s ektomykorhizními špičkami vzorky rozetřeme tloučkem. Následně směs inkubujeme 30–60 minut při teplotě 65 °C. Tímto krokem inaktivujeme přítomné enzymy, které by

mohly ovlivnit výsledky extrakce. V dalším kroku promícháme hmotu s chloroformem, ve kterém se rozpustí komplex CTAB polysacharidů a proteinů. Pomocí fázového rozhraní odstraníme chloroform. Následným přidáním isopropanolu vysrážíme DNA. Centrifugací oddělíme sraženinu, kterou v posledním kroku pročistíme v ethanolu a vysušíme (Cardoso & Gardes 1996, Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## 4.8 Polymerázová řetězová reakce

PCR analýza je metoda sloužící k vytvoření dostatečného množství totožných molekul DNA z templátového řetězce. Jedná se o relativně rychlou metodu, která dokáže pracovat i s malým množstvím DNA. Během pár hodin je možné dosáhnout namnožení do řádů miliard molekul DNA. Tato metoda je složena ze třech základních kroků, které se 30krát až 40krát opakují k dosažení dostatečného množství DNA. První krok se nazývá denaturace a probíhá jednu minutu při teplotě 94 °C. V tomto kroku je dvoušroubovice DNA separována na dvě oddělená vlákna. Vysoká teplota také zastaví jakoukoli enzymatickou aktivitu. Druhý ochlazovací krok probíhá při teplotě 55 °C a dochází k přisednutí vybraných primerů na jednovlákenou DNA molekulu. Tyto proteinové molekuly umožní nasednutí polymerázy, která začíná vytvářet kopii templátového řetězce od příslušného primeru. Ve třetím kroku probíhající obvykle dvě minuty dochází k navýšení teploty na 72 °C. Tato teplota je ideální pro práci polymerázy, která rychle prodlužuje templátový řetězec DNA (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

### **4.8.1 Výběr vhodných primerů**

Základní princip PCR analýzy popsaný v předchozí kapitole se ve svých krocích výrazně nemění ať už namnožujeme DNA z houby, rostliny nebo živočicha. Rozdílem je použití specifických primerů, které určují, jaká oblast DNA bude namnožena. Nejrozšířenější primery používané při identifikaci ektomykorhizních hub jsou dvojice primerů ITS1 - ITS4, ITS1F - ITS4, ITS1 - LR21 a ITS1F - LR21. Obvykle tyto páry označují makromoleku DNA o délce 600–800 bází. Použití jakékoli dvojice primerů není bezproblémové a liší se podle cíle práce (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

ITS1 - ITS4 jsou univerzální primery, které amplifikují i DNA krytosemenných rostlin. Tyto primery dokážou namnožit DNA všech známých ektomykorhizních hub, největší uplatnění však nacházejí při práci s DNA plodnic hub nebo ektomykorhizních hub jehličnanů. Dvojice primerů ITS1F - ITS4 také amplifikuje DNA krytosemenných rostlin, ale v menším měřítku. Jejich nevýhoda je ve vytváření těžko oddělitelných pruhů na gelu elektroforézy. Při vhodném snížení teploty lze tento problém eliminovat. Také tato dvojice dokáže efektivně namnožit DNA všech ektomykorhizních hub. Největší použití nacházejí při studiu komunit houbových organismů. Zbývající dvě dvojice primerů se používají méně často a slouží při sekvenování jiných oblastí DNA molekul (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

### **4.8.2 Princip elektroforézy**

Elektroforéza je založena na pohybu elektricky nabitých molekul v elektrickém poli. Pohyb molekul závisí na velikosti náboje dané molekuly, na jejím tvaru a velikosti. Směs makromolekul se umístí na začátek porézní látky, přes kterou jsou molekuly taženy vlivem

elektrické síly. Základem porézní látky je obvykle agarový nebo polyakrylamidový gel v roztoku vhodného pufru, který po dobu elektroforézy udržuje stabilní pH. Různé druhy molekul se v takovéto látce pohybují jinak rychle, tím dochází k separaci jednotlivých druhů molekul. Na konci procesu jsou podobné molekuly stejně daleko od startovací pozice.

V případě separace makromolekul DNA se používá jako porézní látka agarový gel o koncentraci 0,4 % až 4 % podle velikosti molekul. Nejčastější koncentrací pro produkci PCR analýzy je 1,5 %. Agarový gel je průhledná hmota, ve které molekuly DNA nejsou okem rozpoznatelné. Do elektroforézního roztoku s agarovým gelem se proto v tomto případě přidává malé množství etidiumbromidu pevně se vázajícího na vazby v molekulách DNA. Taková to místa jsou poté viditelná pod UV světlem (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## **4.9 Extrahování a přečistění DNA**

Předtím než začneme se sekvenování DNA, musíme s produktu elektroforézy získat pouze amplifikované molekuly DNA. Pufry, různé enzymy, nevyužité nukleotidy, primery a polymerázy by případně mohli negativně ovlivnit proces a výsledky sekvenování DNA. K odstranění těchto nežádoucích komponent se používají speciální filtry propouštějící vše kromě makromolekul DNA. Takto promytá směs molekul DNA je pak připravena pro sekvenování (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).



## 4.10 Princip sekvenování DNA

V předchozím kroku jsme získali potřebné množství DNA, které je pro sekvenování nezbytné. Cílem této techniky je zjištění nukleotidové sekvence namnoženého úseku DNA určený vybranými primery. Technika je podobná PCR analýze. Probíhá ve třech krocích a cyklicky se opakuje 30krát až 40krát. V prvním kroku probíhá denaturace DNA při teplotě 95 °C. V druhém kroku následuje zchlazení na teplotu 50 °C za přidání jednoho primeru. Třetí krok je charakteristický prodlužováním řetězce. Od PCR analýzy se liší tím, že probíhá při teplotě 60 °C a v roztoku nejsou k dispozici všechny deoxyribonukleotidy. Jeden je nahrazen dideoxynukleotidem, který má schopnost se zařadit do prodlužujícího se řetězce DNA. Chybějící OH skupina dideoxynukleotidu však zablokuje další prodlužování molekuly. Zároveň je dideoxynukleotid fluorescenčně značen a následně detekován. Takto probíhá cyklus stále dokola, dokud nedojde k detekci všech bází v amplifikované DNA. Získaná sekvence se porovná s již známými sekvencemi ektomykorhizních hub (Kjøller, Parrent, Taylor & Vrålstad 2007).

## 4.11 T-RFLP analýza

Jedna z nejpoužívanějších metod při studiu společenstev organismů založená podobně jako PCR analýza na amplifikaci určitého úseku DNA. U T-RFLP analýzy používají dva primery navíc odlišně fluorescenčně značené. Za pomoci restričních nukleáz dojde k specifickému naštěpení. Směs je pak dále rozdělena pomocí kapilární nebo polyakrylamidovou elektroforézou. Rozdílné úseky jsou detekovány fluorescenčními primery, tyto molekuly jsou pak následně osekvenovány (Liu, Marsh,

Cheng, & Forney 1997). Výsledky T-RFLP analýzy neslouží k určení rodů nebo druhů hub, ale tato metoda se používá k detekci počtu druhů v daném vzorku (Nikolcheva & Barlocher 2005).

## 5 Závěr

Ektomykorhizní houby jsou důležitou součástí biodiverzity lesa. Nejvíce se však uplatňují v lesních ekosystémech mírného podnebí. Rozsah kolonizace kořenových systémů a diverzita hub bývá v těchto lesích velmi vysoká, téměř veškeré kořeny stromů v lesích mírného pásma jsou obsazeny ektomykorhizními houbami (de Roman 2005, van der Heijden et. al. 2008). Do dnešních dnů bylo popsáno přes 150 rodů a několik tisíc druhů těchto hub (Molina et. al. 2002). Největší druhová diverzita ektomykorhizních hub byla pozorována na kořenových systémech stromů původní skladby lesa před rekultivací krajiny člověkem a na kořenech stromů zabírající na daném území největší rozlohu (Newton 1998). Největší druhové zastoupení ektomykorhizních hub bylo pozorováno v porostech bříz a buků (Newton 1998). Naopak nejmenší druhová rozmanitost byla nalezena na kořenech zavlečených jehličnanů (Newton 1998). Když odhlédneme od specifikace hostitelským stromem, tak největší diverzitu ektomykorhizních hub je pravděpodobně spojena s různorodostí zdrojů, rozrušování půdy a vzájemné kompetici ektomykorhizních hub (Bruns 1995).

Podle studií zdravé bukové porosty obvykle disponují velkou diverzitou a vysokým stupněm kolonizace ektomykorhizních hub. Téměř každá část kořenového systému dospělého stromu v bukovém porostu je kolonizována ektomykorhizními houbami (Buée et. al. 2005, Grebenc & Kraigher 2007). Počet druhů vytvářející symbiotické spojení

s kořeny buků je v porovnání s ostatními hostitelskými stromy jeden z největších (Newton 1998). Doposud bylo identifikováno kolem 70 druhů ektomykorhizních hub na kořenech buků (de Roman et. al. 2005). Nové studie potvrzují, že toto číslo není zdaleka konečné. Průzkum zabývající se monitorováním diverzity ektomykorhizních hub v bukových porostech identifikoval 61 druhů na 0,8 ha bukového lesa (Buée et. al. 2005). Tato studie je srovnatelná s dalšími probíhající v odlišných porostech. Horton & Bruns (1998) našli 60 druhů ektomykorhizních hub, Peter et. al. (2001) našel 85 druhů hub na rozloze 1,1 ha, obdobně i studie Jonsson et. al. (2001) a Lilleskov et. al. (2002).

V lesních ekosystémech je druhová rozmanitost a vitalita ektomykorhizních hub ovlivněna řadou biotických a abiotických faktorů. Některé z těchto vlivů mohou být pro ektomykorhizní houby prospěšné jiné naopak škodlivé. Nepříznivé podmínky mohou být houbami tolerovány v závislosti na druhu a jeho fyziologických vlastností, případně si mohou houby toleranci na určitý stres vypěstovat pod vlivem tohoto faktoru. Dostupnost živin a vody půdní teplota, vlhkost a pH i ostatní články ekosystému jako jsou rostliny, zvířata a ostatní druhy hub ovlivňují diverzitu ektomykorhizních hub. Nejsilnějším faktorem jsou jejich symbiotičtí partneři – hostitelské stromy (Molina et. al. 1992, Krivtsov 2007).

V současné době jsou lesní ekosystémy pod vlivem malých i velkých změn. Hlavním iniciátorem a zároveň nejsilnějším záporným faktorem ovlivňující diverzitu ektomykorhizních hub je sám člověk. Průmyslové znečištění, překyselení půdy, eutrofizace, kontaminace půdy těžkými kovy a hlavně změna druhového složení lesa jsou jedny z hlavních faktorů udávající současný trend poklesu druhové diverzity ektomykorhizních hub (Rühling & Söderstöm 1990, Arnolds 1991, Qiu et. al. 1993, Leyval et. al. 1997, Roth & Fahey 1998, Agerer et. al. 1998, , Hartley et. al. 1999).

Ovlivnění diverzity v bukových porostech se faktory významně nemění od ostatních porostů. Největší negativní vliv na diverzitu ektomykorhizních hub v bukových porostech mělo vápnění a obohacování půdy dusíkem. Současně při těchto faktorech docházelo k poklesu kolonizace kořenů buků (Lilleskov et. al. 2002, Rineau et. al. 2009). Větší změny diverzity bez významného ovlivnění kolonizace měli podle studií na svědomí selektivní a intenzivní těžba dřeva, snížení dostupné vody v půdě a zvýšení množství ozónu (Shi et. al. 2002, Buée et. al. 2005, Grebenc & Kraigher 2007, Goicoechea, Closa & Michuel 2009). Bez významného vlivu na diverzitu a kolonizaci v bukových lesích má stáří porostu (di Marino et. al. 2008). Pozitivně byla diverzita a kolonizace ovlivňována zvýšením produktivity asimilátu u hostitelských stromů (Druebert, Lang, Valtanen & Polee 2009).

## 6 Seznam použité literatury

**Agerer R. (1991):** Characterization of Ectomycorrhiza. *Methods in Microbiology* 23: 25–73

**Agerer R., Taylor A. F. S. & Treu R. (1998):** Effects of acid irrigation and liming on the production of fruit bodies by ecto-mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 199: 179–190

**Agerer R. (2001):** Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 11: 107–114

**Agerer R. (1987–2002):** Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd

**Agerer R. & Göttlein A. (2003):** Correlation between projection area of ectomycorrhizae and H<sub>2</sub>O extractable nutrients in organic soil layers. *Mycological Progress* 2: 45–52

**Agerer R. (2006):** Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological Progress* 5: 67–1007

**Amaranthus M. P., Page-Dumroese D., Harvey A., Cazares E. & Bednar L. F. (1996):** Soil compaction and organic matter affect conifer seedlings, nonmycorrhizal and ectomycorrhizal root tip abundance and diversity. USDA Forest Service Pacific Northwest Research Station, Research paper NR 494

**Anderson S. & Söderstöm B. (1995):** Effects of lime (CaCO<sub>3</sub>) on ectomycorrhizal colonisation of *Picea abies* (L.) Karst. Seedlings plants in a spruce forest. *Scandinavian Journal of Forest Research* 10: 149–154

- Anderson I.C. & Cairney J. W. G. (2007):** Ectomycorrhizal fungi: exploring the myceliar frontier. *Microbiological Review* 31: 388–406
- Arnebrant K. & Söderstöm B. (1992):** Effects of different fertilizer treatment on ectomycorrhizal colonization potential in two Scots pine forests in Sweden. *Forest Ecology and Management* 53: 77–89
- Arnolds E. (1991):** Decline of ecto-mycorrhizal fungi in Europe. *Agriculture Ecosystem and Environment* 35: 209–244
- Ashford A. E., Peterson R. L., Dwarte D. & Chivers G. A. (1986):** Polyphosphate granules in eukalypt mycorrhizal: 677–687
- Avis P. G., Mueller G. M. & Lussenhop J. (2008):** Ectomycorrhizal fungal communities in two North American oak forests respond to nitrogen addition. *New Phytologist* 179: 472–483
- Aubertin C.M. (1971):** Nature and extent of macropores in forest soils and their influence on subsurface water movement. *USDA Forest Service Research Paper NE* 192, pp 33
- Baier R., Ingengaag J. & Blaschke H. (2006):** Vertical distribution of an ectomycorrhizal community in upper soil horizons of a young Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) stand of the Bavarian Limestone Alps. *Mycorrhiza* 16(6): 197–206
- Bakker M. R., Gagbaye J. & Nys C. (2000):** Effect of liming on the ecto-mycorrhizal status of oak. *Forest Ecology and Management* 126: 121–131
- Baur B., Gilgen C., Lack M., Herde T., Rusterholz H.-P., Stingelin K., Dell D., Alig P., Lesslauer C. & Sutter M. (1999):** Der Allschwiler Wald. Verkehrs- und Kulturverein Allschwil, pp 1–154
- Baxter J. W., Picket S. T. A., Carriero M. M. & Dighton J. (1999):** Ectomycorrhizal diversity and community structure in oak forest stands exposed to contrasting anthropogenic impacts. *Canadian Journal of Botany* 77: 771–782

- Bercha J., Fanta J., Farkač J., Hruška J., Košulič M., Prach K. & Rusek J. (2006):** Stanovisko vědců a odborných pracovníků k ochraně českých lesů. *Lesnická práce*, ročník 85, číslo 6
- Blaise T. & Garbaye J. (1983):** Effets de la fertilisation minerale sur les ectomycorhizes d'une hêtre. *Oecologia Plantarum* 18: 165–169
- Blum J. D., Klaue A., Nezat C. A., Driscoll C. T., Johnson C. E., Siccama T. G., Eagar C., Fahey T. J. & Likens G. E. (2002):** Mycorrhizal weathering of apatite as an important calcium source in base-poor forest ecosystems. *Nature* 417: 729–731
- Bruns T. D. (1995):** Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 170: 63–73
- Buée M., Vairelles D. & Garbaye J. (2005):** Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15: 235–245
- Buée M., Courty P. E., Mignot D. & Garbaye J. (2007):** Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 1947–1955
- Burke R. M. & Cairney J. W. G. (2002):** Laccases and other polyphenol oxidases in ecto and ericoid mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 12: 105–116
- Chang S. T. & Miles P. G. (1989):** Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press Boca Raton
- Cheng S., Widden P. & Messier C. (2005):** Light and tree size influence belowground development in yellow birch and sugar maple. *Plant and Soil* 270: 321–330
- Cole D. N. (1987):** Effects of three seasons of experimental trampling on five montane forest communities and a grassland in Western Montana, USA. *Biological Conservation* 40: 219–244



- Cole D. N. (1995):** Experimental trampling of vegetation. 1. Relationship between trampling intensity and vegetation response. *Journal of Applied Ecology* 32: 203–214
- Cornelissen J. H. C., Aerts R., cerebolini B., Werger M. J. A., & van der Heiden (2001):** Carbon cycling trait of plant species are linked with mycorrhizal strategy, *Oecologia* 129: 611–619
- Dahlberg A. (2001):** Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150: 555–562
- Davies F. T. Jr, Svenson S. E., Cole J. C., Phavaphutanon L., Duray S. A., Olalde-Portugal V., Meier C. E. & Bo S. H. (1996):** Non-nutritional stress acclimation of mycorrhizal woody plants exposed to drought. *Tree Physiologist* 16: 985–993
- Dehlin H., Nilsson M. C., Wardle D. A. & Shevtsova A. (2004):** Effects of shading and humus fertility on growth, competition, and ectomycorrhizal colonization of boreal forest tree seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 34: 2573–2586
- Dickie I. A., Xu B. & Koide R. T. (2002):** Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156: 527–535
- Dighton J. & Skeffington R. A. (1987):** Effects of artificial acid precipitation on the mycorrhizas of Scots pine seedlings. *New Phytologist* 107: 191–202
- Dominik T. & Pachlewski R. (1956):** Investigations on mycotropism of plant associations in the lower timber zone of the Tatra. 3–26
- Druebert Ch., Lang Ch., Valtanen K. & Polle A. (2009):** Beech carbon productivity as driver of ectomycorrhizal abundance and diversity. *Plant, Cell and Environment* 32: 992–1003
- Ebert H. P. (1996):** Klimaänderung und Baumartenentwicklung. *Forst Holz* 51: 802–804

**Edwards G. S. & Kelly J. M. (1992):** Ecto-mycorrhizal colonisation of loblolly-pine seedlings during 3 growing seasons in response to ozone, acid precipitation and soil Mg status. *Environment and Pollution* 76: 71–77

**Erland S. & Söderstöm B. (1991):** Effects of lime and ash treatments on ecto-mycorrhizal infection on *Pinus sylvestris* L. seedlings planted in a pine forest. *Scandinavian Journal of Forest Research* 6: 519–526

**Erland S. & Taylor A. F. S. (1999):** Resupinate Ecto-mycorrhizal Fungal Genera. In: Cairney JWG, Chambers SM (eds) Ecto-mycorrhizal fungi: key genera in profile. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 347–363

**Erland S. & Taylor A. F. S. (2002):** Diversity of ecto-mycorrhizal fungal communities in relation to the abiotic environment. In: van der Heijden, M.G.A., Sanders, I.R. (Eds), Ecological Studies. Mycorrhizal Ecology, vol. 157. Springer Berlin Heidelberg, New York.

**Finlay R. & Söderstöm B. (1992):** Mycorrhiza and carbon flow to the soil. In *Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process* (ed. M.F. Allen) pp. 134–160. Chapman and Hall, New York, USA

**Founoune H., Dupponois R., Ba A. M., Sall S., Branger I., Lorquin J., Neyra M. & Chotte J. L. (2002):** Mycorrhiza helper bacteria stimulate ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus alba*: *New Phytologist* 153: 81–89

**Fries N. & Biraux D. (1981):** Spore germination in *Hebeloma* stimulated by living plant roots. *Experientia* 36: 1056–1057

**Fries N., Serck-Hanssen K., Häll-Dimberg L. & Theander O. (1987):** Abietic acid, an activator of basidiospore germination in ectomycorrhizal species of the genus *Suillus*. *Experimental Mycology* 11: 360–363

- Gardes F. & Cardoso N. (1996):** Caractérisation et Analyse des Comportements de Consommation des Ménages pauvres sur Données Individuelles Françaises. *Revue Economique*, 687–698
- Gaston K. J. (2000):** Global patterns in biodiversity. *Nature* 405: 220–227
- Godbold D. L. & Bernston G. M. (1997):** Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration changes ectomycorrhizal morphotype assemblages in *Betula papyrifera*. *New Phytologist* 17: 347–350
- Godbout C. & Fortin J. A. (1990):** Cultural control of basidiome formativ in *Laccaria bicolor* eith container-grown white pine seedlings. *Mycological reasearch* 94: 1051–1058
- Gogala N: (1991):** Regulativ of mycorrhizal infection by hormonal factors produces by hosts and fungi. *Experimentea* 47: 331–339
- Goicoechea N., Closa I. & de Miguel A. M. (2009):** Ectomycorrhizal communities within beech (*Fagus sylvatica* L.) forests that naturally regenerate from clear-cutting in northern Spain. *New Forests* 38: 157–175
- Grebenc T. & Kraigher H. (2007):** Changes in the community of ectomycorrhizal fungi and increased fine root number under adult beech trees chronically fumigated with double ambient ozone concentration. *Plant Biology* 9: 279–287
- Grebenc T. & Kraigher H. (2007):** Types of Ectomycorrhiza of Mature Beech and Spruce at Ozone-Fumigated and Control Forest Plots. *Environmental Monitoring and Assessment* 128: 47–59
- Griffin D. H. (1981):** Fungal Physiology. John Wiley and Sons, New York, 430 pp
- Gryndler M., Baláž M., Hrdlová H., Jansa J. & Vosátka M. (2004):** Mykorhizní symbióza. O soužití hub s kořeny rostlin, *Academia Praha*

- Guidot A., Debat J.-C. & Marmeisse R. (2002):** Spatial disturbance of the below-ground mycelia of an ectomycorrhizal fungus inferred from specific quantification of its DNA in soil samples. *Fems Microbiology Ecology* 42: 477–486
- Halpern C. B. & Spies T. A. (1995):** Plant species diversity in natural and managed forests of the Pacific Northwest. *Ecological Applications* 5: 913–934
- Hejný S. & Slavík B. (1995):** Květena České republiky, *Academia Praha*
- Harvey A. E., Page-Dumroese D. S., Jurgensen M. F., Graham R. T. & Tonn J. R. (1996):** Site preparation alters biomass, root and ectomycorrhizal development of outplanted western white pine Douglas fir. *New Forests* 11: 255–270
- Hartley J., Cariney J. W. G., Freestone O., Woods C. & Meharg A. A. (1999):** The effects of multiple metal contamination on ectomycorrhizal Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. *Environment and Pollution* 106: 413–424
- Hawksworth D. L. & Rossman A. Y. (1997):** Where are all the underground scribed fungi? *Phytopathology* 87: 888–891
- van der Heijden M. G. A., Streitwolf-Engel R., Riedl R., Siegrist S., Neudecker A., Ineichen K., Boller T., Wiemken A. & Sanders I. R. (2006):** The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172: 739–752
- van der Heijden M. G. A., Bardgett R. D. & van Straalen N. M. (2008):** The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11: 296–310
- Henkel T. W., Terborgh J. & Vilgalys R. J. (2002):** Ectomycorrhizal fungi and their leguminous hosts in the Pakaraima mountains of Guyana. 515–531

- Hobbie E. A. & Colpaert J.V. (2003):** Nitrogen availability and colonization by mycorrhizal fungi correlate with nitrogen isotopic patterns in plants. *New Phytologist* 157: 115–126
- Hobbie J. E. & Hobbie E. A. (2006):** N-15 in symbiotic fungi and plants estimates nitrogen and carbon flux rates in Arctic tundra. *Ecology* 87: 816–822
- Holec J. & Beran M. (2006):** Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. *Příroda, Praha*, 24: 1–282
- Holmes W. E., Zak D. R., Pregitzer K. S., & King J. S. (2003):** Soil nitrogen transformations under *Populus tremuloides*, *Betula papyrifera* and *Acer saccharum* following 3 years exposure to elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. *Global Change Biology* 9: 1743–1750
- Horan D. P. & Chilvers G. A. (1990):** Chemotropism: the key to ectomycorrhizal formation? *New Phytologist* 119: 451–458
- Horton T. R. & Bruns T. D. (1998):** Multiple host fungi are the most frequent and abundant ectomycorrhizal types in a mixed stand of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* D. Don) and bishop pine (*Pinus muricata* D. Don). *New Phytologist* 139: 331–339
- Horton T. R. & Bruns T. D. (2001):** The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10: 1855–1871
- van der Hout P. (2000):** Testing the applicability of reduced impact logging in greenheart forest in Guyana. *International Forestry Review* 2: 24–32
- Högberg M. N. & Högberg P. (2002):** External ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated roots, half the dissolved organic carbon in a forest soil. *New Phytologist* 154: 791–795

- Hua X., Liu G., Zhang X., Yu L., Zeng P. & Huang D. (1995):** Study on mycorrhization of pine in nursery and field by cutting off primary root apex of young seedlings. *Forestry Research* 8: 535–543
- Hüttl R. F. (1989):** Liming and fertilization as mitigation tools in declining forests ecosystems. *Water Air and Soil Pollution* 44: 93–118
- Jany J. L., Garbaje J. & Martin F. (2002):** *Cenococcum geophilum* populations show a high degree of genetic diversity in beech forests. *New Phytologist* 154: 651–659
- Johnson J. D., Tognetti R., Michelozzi M., Pinzauti S., Minotta G. & Borghetti M. (1997):** Ecophysiological responses of *Fagus sylvatica* seedlings to changing light conditions. II. The interaction of light environment and soil fertility on seedling physiology. *Physiologia Plantarum* 101: 124–134
- Johnson D., IJdo M., Genney D. R., Anderson I. C. & Alexander I. J. (2005):** How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of Experimental Botany* 56: 1751–1760
- Jonsson L., Dahlberg A., Nilsson M. C., Zackrisson O. & Kårén O. (1999):** Ectomycorrhizal fungal communities in late-successional Swedish boreal forest, and their composition following wildfire. *Molecular Ecology* 8: 205–212
- Jonsson L., Anders D. & Tor-Erik B. (2000):** Spatiotemporal distribution of an ectomycorrhizal community in an oligotrophic Swedish *Picea abies* forest subjected to experimental nitrogen addition: above- and below-ground views. *Forest Ecology and Management* 132: 143–156
- Jonsson L. M., Nilsson M. C., Wardle D. A. & Zackrisson O. (2001):** Context dependent effects of ectomycorrhizal species richness on tree seedling productivity. *Oikos* 93: 353–364
- Kantor P. & Hurt V. (2009):** Limity zastoupení smrku v hospodářských lesích pahorkatin. *Lesnická práce*, ročník 88, číslo 7

**Karén O. & Nylund J. E. (1996):** Effects of N-free fertilization on ectomycorrhiza community structure in Norway spruce stands in southern Sweden. *Plant Soil* 181: 295–305

**Kjøller R., Parrent J., Taylor A., Vrålstad T., Larson E., Køljalg U., Schumacher I. A. & Schumacher T. (2007):** Identifying ectomycorrhizal fungi. Biological institut, University of Copenhagen

**Klimo E. & Kulhavý J. - Ústav ekologie lesa LDF MZLU v Brně (1999):** Smrkové monokultury ve střední Evropě. *Lesnická práce*, ročník 78, číslo 10

**Komarnik P. P. & McGraw A. C. (1982):** Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck NC [ed.] *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathological Society, St. Paul, pp 37–45

**Koske R. E. & Perrin P. W. (1971):** Basidiocarps, anelloconidia, and sclerotia in agar cultures of *Pistillaria*. *Canadian Journal of Botany* 49: 695–697

**Kovács G. M. & Jakucs E. (2006):** Morphological and molecular comparison of white truffle ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 16: 567–574

**Kraigher H., Batič F. & Agerer R. (1996):** Types of ectomycorrhizae and mycobioindication of forest site pollution. *Phyton (Horn, Austria)* 36:115–120.

**Kraigher H., Petkovšek S. S., Grebenc T. & Simončič P. (2007):** Types of Ectomycorrhiza as Pollution Stress Indicators: Case Studies in Slovenia. *Environmental Monitoring and Assessment* 128: 31–45

**Kreutzer K. (1995):** Effects of forest liming on soil processes. *Plant and Soil* 168: 447–470.

**Krivtsov V., Brendler A., Watling R., Liddell K. & Staines H. J. (2007):** Some aspects of forest soil and litter ecology in the Dawyck Cryptogamic Sanctuary with a particular reference to fungi. *Acta Ecologica Sinica* 27: 813–836

- Kuikka K., Härmä E., Markkola A., Rautio P., Roitto M., Saikkonen K., Ahonen-Jonnarth U., Finlay R. & Tuomi J. (2003):** Severe defoliation of Scots pine reduces reproductive investment by ectomycorrhizal symbionts. *Ecology* 84: 2051–2061
- Kumar S. & Satyanarayana T. (2002):** Isolation of ectomycorrhizal fungi. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 133–142
- Lamhamedi M. S., Godbout C. & Fortin J. A. (1994):** Dependence of *Laccaria bicolor* basidiome development on current photosynthesis of *Pinus strobus* seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1797–1804
- Larsen J. B. (1995):** Ecological stability of forests and sustainable silviculture. *Forest Ecology and Management* 73: 85–96
- Last F. T., Mason P. A., Smith R., Pelham J. Bhoja – Shetty K. A. & Mahmood – Hussain A. M. (1981):** Factors affecting the production of fruitbodies of *Amanita muscaria* in plantations of *Pinus patula*. *Plant Sciences* 90: 91–98
- Lei J., Lapeyrie F. Malajczuk N. & Dexheimer J. (1990):** Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* Coker and Couch on roots of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake in vitro. *New Phytologist* 116: 115–122
- Leyval C., Turnau K. & Haselwandter K. (1997):** Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7: 139–153
- Lilleskov E. A. & Fahey T. J. (1996):** Patterns of ectomycorrhizal diversity over an atmospheric nitrogen deposition gradient near Kenai, Alaska. In: Szaro TM, Bruns TD (eds) Abstracts of the 1<sup>st</sup> International Conference on Mycorrhizae: University California, Berkeley, 76
- Lilleskov E. A., Fahey T. J., Horton T. R. & Lovett G. M. (2002):** Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology* 83: 104–115



- Liu W., Marsh T., Cheng H. & Forney L. (1997):** Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applies and Environmental Mikrobiology* 63: 4516–4522
- Mahmood S. (2000):** Ectomycorrhizal community structure and function in relation to forest residue harvesting and wood ash applications. Doctoral Thesis, Lund University
- di Marino E. (2008):** The ectomycorrhizal community structure in beech coppices of different age. Tesi di dottorato
- Marshall V. G. (2000):** Impacts of forest harvesting on biological processes in northern forest soils. *Forest Ecology and Management* 133: 43–60
- Martin F., Laurent P., Ce-Carvalho D., Burgess T., Murphy P., Nehls U. & Tagu D. (1995):** Fungal gene expression during ectomycorrhiza formation. *Canadian Journal of Botany* 73: 541–547
- McCrary J. K. & Andersen C. P. (2000):** The effect of ozone on below-ground carbon allocation in wheat. *Environmental Pollution*. 107: 465–472
- Mehus H. (1986):** Fruit body production of macrofungi in some North Norwegian forest types. *Nordic Journal of Botany* 6: 679–701
- Mihál I. (2002):** Production of epigeic sporocarps of ectomycorrhizal fungi in differently aged Norway spruce monocultures. *Bratislava* 21: 129–136
- Molina R., Massicotte H. & Trappe J. M. (1992):** Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In: Allen MF, ed. *Mycorrhizal Functioning: an Integrative Plant Fungal Process*. New York: Chapman and Hall, 357–423

- Molina R., Pilz D., Smith J., Dunham S., Dreisbach T., O'Deel T. & Castellano M. (2002):** Conservation and management of forest fungi in the Pacific Northwestern United states
- Murach D. (1990):** Effects of soil acidification on root growth in beech (*Fagus sylvatica* L.) and spruce (*Picea abies* Karst.) stands and its possible consequences for the shoot.
- Müzenberger B., Hammer E., Wray V., Schauer F., Schmidt H. & Starack D. (2003):** Detoxification of ferulic acid by ectomycorrhizal fungi. *Mykorrhiza* 13: 117–121
- Nara K., Nakaya H. & Hogetsu T. (2003):** Ectomycorrhizal sporocarp succession on Mount Fiji. *New Phytologist* 158: 193–206
- Neuhäuslová Z., Blázková D., Grulich V., Husová M., Chytrý M., Jeník J., Jirásek J., Kolbek J., Kropáč Z., Ložek V., Moravec J., Prach K., Rybníček K., Rybníková E. & Sádlo J. (1998):** Mapa potenciální přirozené vegetace České republiky, *Academia Praha*
- Newton A. C. & Haigh J. M. (1998):** Diversity of ectomycorrhizal fungi in Britain: a test of the species-area relationship, and the role of host specificity. *New Phytologist* 138: 619–627
- Nikolcheva L. G. & Bärlocher F. (2005):** Molecular Approaches to Estimate Fungal Diversity. I. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP). *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, pp 169–176
- Nilsson L. O. & Wallander H. (2003):** Production of external mycelium by ectomycorrhizal fungi in a Norway spruce forest was reduced in response to nitrogen fertilization. *New Phytologist* 158: 409–416
- Nylund J. E., Dahlberg A., Högberg N., Karen O., Grip K. & Jonsson L. (1995):** Methods for studying species composition of mycorrhizal fungal communities in ecological studies and environmental monitoring. *Biotechnology of ectomycorrhizae* 19: 229–239

- Nylund J. E. & Karen O. (1997):** Effects of ammonium sulphate on the community structure and biomass of ectomycorrhizal fungi in a Norway spruce stand in southwestern Sweden. *Canadian Journal of Botany* 10: 1628–1642
- Norton T. W. (1996):** Conservation of biological diversity in temperate and boreal forest ecosystems. *Ecology and Management* 85: 1–7
- Ohta A. (1988):** Effects of butyric acid and related compounds on basidiospore germination of some mycorrhizal fungi. *Trans of the Mycological Society of Japan* 29: 375–382
- Oliver J. M., Guinberteau J. & Rondet J. (1997):** Vers inoculation controlée des champignons comestibles. *Revue Forestière Française* 49: 222–234
- Onguene N. A. & Kuwper T. W. (2002):** Importance of the ectomycorrhizal network of seedlings survival and ectomycorrhiza formation in rain forests of south Cameroon. *Mycorrhiza* 12: 13–17
- Ower R. D. & Malachowski J. A. (1986):** Cultivation of *Morchella* U.S. Patent
- Page-Dumroese D. S., Harvey A. E., Jurgensen M. F. & Amaranthus M. P. (1998):** Impacts of soil compaction and tree stump removal on soil properties and outplanted seedlings in northern Idaho, USA. *Canadian Journal of Soil Science* 78: 29–34
- Parelle J., Roudaut J.-P. & Ducrey M. (2006):** Light acclimation and photosynthetic response of beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings under artificial shading or natural Mediterranean conditions. *Annals of Forest Science* 63: 257–266
- Peter M., Francois A. & Egli S. (2001):** Nitrogen addition in Norway spruce stand altered sporocarp production and below-ground ectomycorrhizal species composition. *New Phytologist* 149: 311–325
- Peterson R. L., Massicotte H. B. & Melville L. H. (2004):** Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology, CABI

- Phillips R. L., Zak D. R., & Holmes W. E. (2002):** Microbial community composition and function beneath temperate trees exposed to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and tropospheric O<sub>3</sub>. *Oecologia* 131: 236–244
- di Pietro M., Churin J.-L. & Garbaye J. (2007):** Differential ability of ectomycorrhizas to survive drying. *Mycorrhiza* 17: 547–550
- Pizzeghello D., Niccolini G. & Nardi S. (2001):** Hormone-like activity of humic substances in *Fagus sylvatica* forests. *New Phytologist* 151: 647–657
- Ponge J. F. (2003):** Humus forms in terrestrial ecosystems: a framework to biodiversity. *Soil Biology and biochemistry* 35: 743–751
- Prévost A. & Pargney J.C. (1995):** Comparaison des ectomycorhizes naturelles entre le hêtre (*Fagus sylvatica*) et deux lactaires (*Lactarius blennius* var *viridis* et *Lactarius subdulcis*). I. Caractéristiques morphologiques et cytologiques. *Annals of Forest Science* 52: 131–146
- Pruett G., Bruhn J. N. & Mihail J. D. (2008):** Colonization of pedunculate oak by the Burgundy truffle fungus is greater with natural than with pelletized lime. *Agroforestry Systems* 72: 41–50
- Purvis A. & Hector, A. (2000):** Getting the measure of biodiversity. *Nature* 405: 212–219
- Qian X. M., Kottke I. & Oberwinkler F. (1998):** Influence of liming and acidification on the activity of the mycorrhizal communities in a *Picea abies* (L.) Karst. Stand. *Plant and Soil* 199: 99–109
- Qiu Z., Chepellka A. H., Somers G. L., Lockaby B. G. & Meldahl R. S. (1993):** Effects on Ozone and simulated acid precipitation on ectomycorrhizal formation on loblolly pine seedlings. *Environmental Experimental Botany* 33: 423–431
- Querejeta J. I., Egerton L.W. & Allen M. F., (2003):** Direct nocturnal water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drought. *Oecologia* 134: 55–64

- Read D. J. (1992):** The mycorrhizal fungal community with special reference to nutrient mobilization. In: Carroll G. C., Wilcklow D. T. (eds): The fungal community. Its Organization and Role in the Ecosystem 2. vydání. *Marcel Dekker, New York, Basel Hon-Kong*, pp 631–652
- Read D. J. & Perez-Moreno J. (2003):** Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475–492
- Rey A. & Jarvis P. G. (1997):** Growth response of young birch trees (*Betula pendula* Roth.) after four and a half years of CO<sub>2</sub> exposure. *Annals of Botany* 80: 809–816
- Rineau F. & Garbaye J. (2009):** Effects of liming on ectomycorrhizal community structure in relation to soil horizons and tree hosts. *Fungal ecology* 2: 103–109
- de Roman M., Claveria V. & de Miguel A. M. (2005):** A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961. *Mycological Research* 109: 1063–1104
- Rosling A. (2003):** Vertical disturbance of ectomycorrhizal fungal taxa in a podzol soil profile. *New Phytologist* 159: 775–783
- Roth D. R. & Fahey T. J. (1998):** The effects of acid precipitation and ozone on the ecto-mycorrhiza of red spruce saplings. *Water Air Soil Pollution* 103: 263–276
- Rühling Å. & Söderstöm B. (1990):** Changes in fruitbody production of mycorrhizal and litter decomposing macromycetes in heavy metal polluted coniferous forests in north Sweden. *Water Air Soil Pollution* 49: 375–387
- Rusterholz H.P., Stingelin K. & Baur B. (2000):** Freizeitnutzung des Allschwiler Waldes: Einfluss auf Bodenvegetation, Strauchschicht und wirbellose Tiere. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen* 151: 117–126
- Rypáček V. & Sladký Z. (1973):** Relation between the level of endogenous growth regulators and the differentiation of the fungus

*Lentinus tigrinus* studied in synthetic medium. *Biologia Plantarum* 15: 20–26

**Šálek V. & Musílek V. (1968):** Antibiotic activity of mycorrhizal Basidiomycetes and their relation on the host-plant parasites. *Česká mykologie* 22: 50–55

**Salerni E., Lagana A., Perini C., Loppi S. & Dedominicis V. (2002):** Effects of temperature and rainfall on fruiting of macrofungi in oak forests of the Mediterranean area. *Israel Journal of Plant science* 50: 189–198

**Sen R. (2001):** Multitrophic interactions between a *Rhizoctonia sp.* and mycorrhizal fungi affect Scots pine seedling performance in nursery soil. *New Phytologist* 152: 543–553

**Sheppard S. K. & Lloyd D. (2002):** Direct mass spectrometric measurement of Gates in soil monoliths. *Journal of Microbiological Methods* 50: 175–188

**Shi L., Guttenberger M., Kottke I. & Hampp R. (2002):** The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* 12: 303–311

**Schröder S., Hildebrandt U., Bothe H. & Niehaus K. (2001):** Suppression of an elicitor-induced oxidative burst reaction in *Nicotiana tabacum* and *Medicago sativa* cell cultures by corticocin but not by mycorradicin. *Mycorrhiza* 25: 101–106

**Schmit J.P., Mueller G.M., Leacock P. R., Mata J. L., Wu Q. F. & Huang Y. (2005):** Assessment of tree species richness as a surrogate for macrofungal species richness. *Biological Conservation* 120: 99–110

**Simard S. W., Perry D. A., Jones M. D., Myrold D. D., Dural D. M. & Molina R. (1997):** Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* 388: 579–582

- Simard S. W., Jones M. D. & Durall D. M. (2002):** Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. In *Mycorrhizal Ecology. Ecological Studies 157* (eds M.G.A. van der Heijden & I.R. Sanders) pp. 33–74. Springer Verlag, Heidelberg, Germany
- Smith G., Coulston J., Jepsen E., & Prichard T. (2005):** A national ozone biomonitoring program – results from field surveys of ozone sensitive plants in North-Eastern forests (1994–2000). *Environmental Monitoring and Assessment* 87: 271–291
- Smith S. E. & Read D. J. (1997):** *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edn. Academic Press, London
- Söderstöm B. (2002):** Challenges for mycorrhizal research into the new millennium. *Plant and Soil* 244: 1–7
- Spaccini R., Piccolo A., Conte P., Haberhauer G. & Gerzabek M. H. (2002):** Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1839–1851
- Straatsma G., Ayer F. & Egli S. (2001):** Species richness, abundance, and phenology of fungal fruit bodies over 21 years in Swiss forest plot. *Mycological Research* 105: 515–523
- Šindelář J. (2001):** Provenienční výzkum buku lesního a lesnická praxe, *Lesnická praxe*, ročník 80, číslo 11
- Taylor A. F. S., Martin F. & Read D. J. (2000):** Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) and Beech (*Fagus sylvatica* L.) along north-south transects in Europe. In: Schulze ED, ed. Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems. Berlin: Springer 343–365
- Taylor A. F. S. (2002):** Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection. *Plant and Soil* 244: 19–28

**Tedersoo L., Koljalg U., Hallenberg N. & Larsson K. H. (2003):** Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist* 159: 153–165

**Tibbett M. & Sanders F. E. (2002):** Ectomycorrhizal symbiosis can enhance plant nutrition through improved access to discrete organic nutrient patches of high resource quality. *Annals of Botany* 89: 783–789

**Tilman D. (2000):** Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature* 405: 208–211

**Tratnik N.V. & Pohleven F. (1995):** Sukcesija in interakcija gliv povzročiteljic piravosti bukovine. *Zbornik gozdarstva in lesarstva* 46: 163–176

**Úradníček L. (2009):** Dřeviny České republiky, *Lesnické práce*

**Vacek S., Simon J. & Kacálek D. (2005):** Strategie zalesňování nelesních půd, *Lesnická práce*, ročník 84, číslo 1

**Vogelsang K. M., Reynolds H. L. & Bever J. D. (2006):** Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytologist* 172: 554–562

**Vogt K. A., Edmonds R. L. & Grier C. C. (1981):** Biomass and nutrient concentration of sporocarps produced by mycorrhizal and decomposer fungi in *Abies amabilis* stands. *Oecologia* 50: 170–175

**Wallander H., Nilsson L. O., Hagerberg D. & Baath E. (2001):** Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytologist* 151: 735–760

**Wallenda T. & Kottke I. (1998):** Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. *New Phytologist* 139: 169–187

**Waltert B., Wiemken V., Rusterholz H., Boller T. & Baur B. (2002):** Disturbance of forest by trampling: Effects on mycorrhizal roots of



seedlings and mature trees of *Fagus sylvatica*. *Plant and Soil* 243: 143–154

**Werner H. & Fabian P. (2002):** Free-air fumigation of mature trees: (a novel system for controlled ozone enrichment in grown-up beech and spruce canopies). *Environmental Science Pollution and Research* 9: 117–121

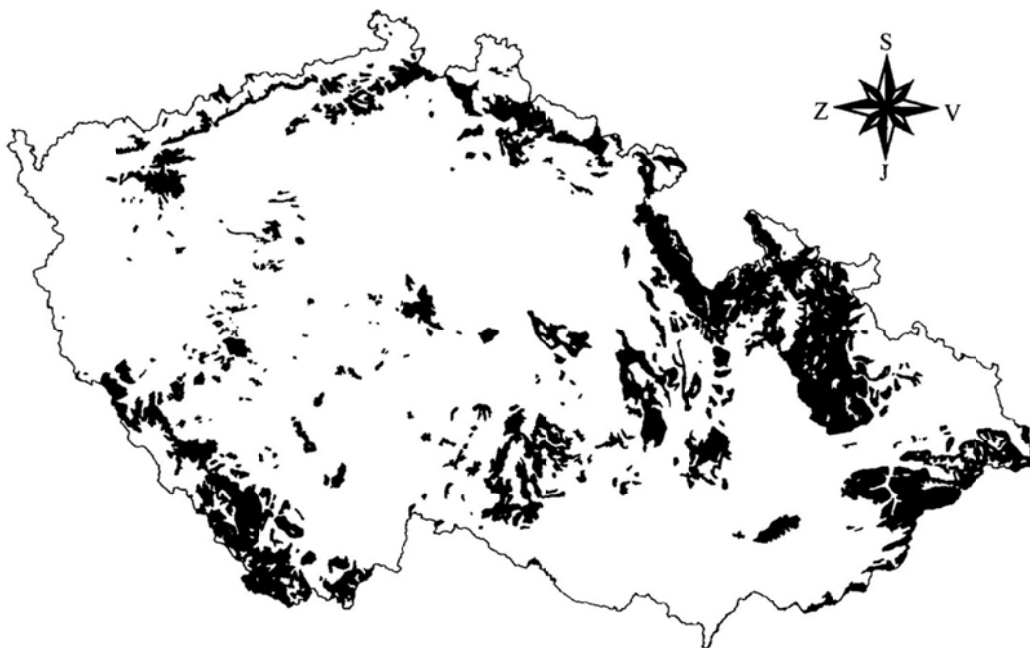
**Wiemken V., Ineichen K. & Boller T. (2001):** Development of ectomycorrhizas in model beech – spruce ecosystems on siliceous and calcareous soil: a 4 year experiment with atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment and nitrogen fertilization. *Plant and Soil* 234: 99–108

**Wiensczyk A. M., Gamiet S., Durall D.M., Jones M.D. & Simard S.W. (2002):** Ectomycorrhizae and forestry in British Columbia: A summary of current research and conservation strategies. *B.C. Journal of Ecosystems and Management*

**Železnik P., Hrenko M., Then C., Koch N., Grebenc T., Levanič T. & Kraigher H. (2007):** Root parameters and type of Ectomycorrhizal of young beech plants exposed to different ozone and light regimes. *Plant Biology* 9: 298–308

**Zhou Z. & Hogetsu T. (2002):** Subterranean community structure of ectomycorrhizal fungus under *Suillus grevillei* sporocarps in a *Larix kaempferi* forest. *New Phytologist* 154:529–539

# Příloha



Obrázek č. 1: Květnaté bučiny a jedliny a vápenomilné bučiny  
(Neuhäuslová et. al. 1998)



Obrázek č. 2: Acidofilní bučiny a jedliny (Neuhäuslová et. al. 1998)

druh	reference	místo nálezu	typ místa nálezu
<i>Agaricales</i>	Buée, Vairelles & Garbaye (2004)	Francie	v terénu
<i>Ascomycota</i>	Al Sayegh & Kraigher (2000)	Slovensko	v terénu
<i>Byssocorticium atrovirens</i>	Buée et. al. (2004), Brand (1991)	Francie	v terénu
<i>Coenococcum geophilum</i>	Buée et. al. (2004), Jany, Garbaye & Martin (2002)	Francie	v terénu
<i>Coenococcum cristata</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Cortinarius</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Cortinarius bolaris</i>	Brand (1991), Brand (1992)	Německo	v terénu
<i>Cortinarius cinnabarinus</i>	Brand (1991), Ceruti, Benvenuti & Mosca (1988)	Německo a Itálie	v terénu
<i>Cortinarius multiformis</i>	Ceruti et. al. (1988)	Itálie	v terénu
<i>Cortinarius nemorensis</i>	Ceruti et. al. (1988)	Itálie	v terénu
<i>Elaphomyces muricatus</i>	Brand (1991)	Německo a Itálie	v terénu
<i>Fagihiza arachnoidea</i>	Brand (1991) Brand (1992)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza cystitophora</i>	Brand (1988)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza fusca</i>	Brand (1991) Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza globulifera</i>	Brand (1991), Brand (1992)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza granulosa</i>	Brand (1988)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza lanata</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza oleifera</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza pallida</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza rosea</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza setifera</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza spinulosa</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza tubulosa</i>	Brand (1988)	Německo	v terénu
<i>Fagihiza vermiculiformis</i>	Jakucs & Agerer (1998)	Maďarsko	v terénu
<i>Geastrum fimbriatum</i>	Agerer & Beenken (1998)	Německo	v terénu
<i>Genea hirsutidula</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Hebeloma</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Inocybe</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu

Tabulka č. 1 (první část): Druhy ektomykorhizních hub na kořenech buků (de Roman et. al. 2005)

druh	reference	místo nálezů	typ místa nálezů
<i>Laccaria amethystina</i>	Buée et. al. (2004), Brand (1988d)	Německo a Francie	v terénu
<i>Laccaria laccata</i>	Ceruti et. al. (1988)	Itálie	v terénu
<i>Lactarius</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Lactarius acris</i>	Brand (1991), Brand (1992)	Německo	v terénu
<i>Lactarius blennius</i>	Buée et. al. (2004), Ceruti et. al. (1988)	Itálie a Francie	v terénu
<i>Lactarius canphoratus</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Lactarius pallidus</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Lactarius pterosporus</i>	Ceruti et. al. (1988)	Itálie	v terénu
<i>Lactarius rubrocinctus</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Lactarius subdulcis</i>	Brand (1987), Buée et. al. (2004)	Německo a Francie	v terénu
<i>Lactarius vellereus</i>	Brand (1987)	Německo a Itálie	v terénu
<i>Pezizaceae</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Ptiloderma croceum</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Ramaria aurea</i>	Agerer (1996)	Německo	v terénu
<i>Ramaria spinulosa</i>	Agerer (1996)	Německo	v terénu
<i>Rhizopogon</i>	Al Sayegh & Kraigher (2000)	Německo	v terénu
<i>Russula</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Russula cyanoxantha</i>	Beenken (2001)	Německo	v terénu
<i>Russula densifolia</i>	Beenken (2001), Ceruti et. al. (1988)	Německo a Itálie	v terénu
<i>Russula foetens</i>	Beenken (2001)	Německo	v terénu
<i>Russula illota</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Russula matrei</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Russula ochroleuca</i>	Brand (1991)	Německo	v terénu
<i>Scleroderma</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Tomentella</i>	Bradbury et. al. (1998), Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Tomentella ferruginea</i>	Raidl & Müller (1996), Raidl (1998)	Německo	v terénu
<i>Tomentella acerbum</i>	Agerer & Waller (1993)	Německo	v terénu
<i>Tomentella scitodes</i>	Brand (1992)	Německo	v terénu
<i>Tuber</i>	Buée et. al. (2004)	Francie	v terénu
<i>Tuber albidum</i>	Voiry (1981)	Francie	v terénu
<i>Tuber rufum</i>	Palenzona et al. (1972)	Itálie	u semenáčků ve školce

Tabulka č. 1 (druhá část): Druhy ektomykorhizních hub na kořenech buků (de Roman et. al. 2005)