

ZMENY DIVERZITY A AKTIVITY PÔDNYCH MIKROORGANIZMOV POZDĽŤ SUKCESNÉHO GRADIENTU NA OPUSTENÝCH PASIENKOCH V OBLASTI POĽANY

SOIL MICROORGANISMS ACTIVITY AND DIVERSITY ALONG THE SUCCESSIONAL GRADIENT ON THE ABANDONED PASTURES IN THE REGION POĽANA

Erika Gömöryová – Karol Ujházy – Richard Hrivnák – Monika Janišová – Dušan Gömöry

Abstract

The study deals with the changes of soil microbial diversity at the locality Príslopy in the Biosphere Reserve Poľana, where abandoned pastures have been colonized by forest. At this locality a transect was established, which crosses all successional stages from a relatively open grassland to a closed spruce stand. In soil samples, taken from the A-horizon at the grid of 5 × 5 m, soil microbial activity and diversity were determined. Analysis of the functional diversity of microbial community using the BIOLOG® method showed that in association with successional stage, changes in the presence of some functional groups of microorganisms can occur.

Key words: soil microorganisms, microbial functional diversity, microbial activity, secondary succession

ÚVOD

Živá zložka pôdy, hoci predstavuje menej ako 0,5% z celkového objemu pôdy a 10% z celkovej organickej hmoty v pôde, má veľmi významnú a nezastupiteľnú úlohu pri dekompozícii organickej hmoty, v kolobehu uhlíka, dusíka, síry, fosforu, transformácii a degradácii rôznych odpadových a toxických látok, v značnej miere ovplyvňuje aj fyzikálne vlastnosti pôdy, atď.

Zo živej zložky pôdy majú z hľadiska procesov prebiehajúcich v pôde najväčší význam pôdne mikroorganizmy, reprezentované najmä taxónmi baktérií a húb, ktoré sú v pôde najpočetnejšie. Uvádzajú sa, že doteraz bolo na Zemi identifikovaných a pomenovaných len asi 1% zo všetkých taxónov mikroorganizmov (NIELSEN, WINDING 2002). Veľká časť z týchto „neznámych druhov“ mikroorganizmov sa vyskytuje aj v pôde. Na základe molekulárnych metód sa zistilo, že 1g pôdy môže obsahovať viac ako 10^9 baktérií patriacich k približne 10.000 rôznym druhom (CAMPBELL, PURI 2002).

Väčšina taxónov pôdnych mikroorganizmov sa nedá zachytiť bežnými, v mikrobiológii používanými, kultivačnými metódami. Odhaduje sa, že 80–99 % zo všetkých druhov ešte nebolo kultiváciou podchytených. Na hodnotenie diverzity mikroorganizmov bolo novšie vypracovaných viacero metód. Z nich sa používa najmä metóda analýzy fosfolipidických mastných kyselín (PLFA) a analýzy metabolického potenciálu systémom BIOLOG® (KIRK *et al.* 2004). Obe metódy majú spoločné to, že pri nich sa neizolujú jednotlivé taxóny mikroorganizmov, ale identifikácia sa vykonáva na úrovni spoločnosti. V posledných rokoch sa čoraz intenzívnejšie pri zisťovaní diverzity pôdnych mikroorganizmov využívajú molekulárne techniky. Štúdium DNA fragmentov známych génov alebo nekódujúcich úsekov fragmentačnou analýzou, alebo sekvenovaním pomocou fluorescenčne značených prôb, resp. dideoxynukleotidov na automatických DNA sekvenátoroch znamená novú dimenziu pri charakterizovaní a štúdiu pôdnych mikroorganizmov, ktoré nie je možné kultivovať (KIRK *et al.* 2004; ARIAS *et al.* 2005).

Keďže v priebehu sekundárnej sukcesie dochádza k rozsiahlym zmenám v diverzite, zložení a produkcii vegetácie, možno predpokladať, že nastanú zmeny aj v štruktúre a biomase pôdneho mikrobiálneho spoločenstva (CHABRERIE *et al.* 2003). Diverzita pôdnych mikroorganizmov a ich aktivita je totiž úzko spätá s pôdnymi, klimatickými a vegetačnými pomermi. Postupné zmeny hustoty, vekovej, hrúbkovej a výškovej štruktúry stromovej vrstvy pozdĺž gradientu kolonizácie bývalých pasienkov či lúk lesnými drevinami ovplyvňujú mikrostanovištné podmienky, v ktorých mikrobiálne spoločenstvá pôdy existujú, v mnohých aspektoch. Priamy vplyv drevín spočíva predovšetkým v tom, že poskytujú opad, následne rozkladaný pôdnymi mikroorganizmami, ovplyvňujú prístup svetla a zrážok na pôdny povrch, výšku a dobu trvania snehovej pokrývky, odoberajú z pôdy vodu a živiny, a ich korene vstupujú do priamych interakcií (často symbiotických) s pôdnymi mikroorganizmami (STOYAN *et al.* 2000; WILKINSON, ANDERSON 2001; PHILLIPS, MARION 2004). Nepriamy vplyv je sprostredkovaný cez vplyv drevín na zloženie bylinnej a machovej vegetácie, ktorá vykazuje podobné priame dopady na pôdnu mikrobiotu, ako dreviny. Stromy sa teda významne podieľajú na regulácii teplotného, vlh-

kostného a živinového režimu pôdy (WALKER, DEL MORAL 2003). Možno očakávať, že plynulý gradient vlastností porastu drevín sa odrazí aj v zložení mikrobiálnych spoločenstiev pôdy.

Cieľom tejto štúdie preto bolo identifikovať vzťahy medzi sukcesnými štádiami fytoocenóz, vybranými vlastnosťami ekotopu a diverzitou a aktivitou pôdnych mikroorganizmov.

METODIKA

Modelovým objektom bola lokalita Príslopý, predstavujúca komplex cca. 100 ha trávnych porastov, ktoré vznikli po odlesnení začiatkom 19. storočia a zhruba do r. 1950 boli využívané ako jednodkosné lúky (UJHÁZY 2003). Pozdĺž severnej hranice tejto plochy bol popri okraji prirodzeného jedľovo-bukového lesa (podzväz *Eu-Fagenion* Oberd. 1957 em. R.Tx. in Oberd. et R.Tx. 1958) okolo r. 1890 vysadený pás smreka, ktorý slúžil ako zdroj semena pre kolonizáciu plochy po zmenšení intenzity, resp. ukončení obhospodarovania v 2. polovici 20. storočia. Na tejto lokalite bol v r. 2003 vytýčený tranzekt s rozmermi 20 × 170 m v smere spádnice na pravidelnom svahu so severnou expozíciou. Tranzekt prechádza sériou sukcesných štádií po spoločenstvách zväzu *Polygono-Trisetion* Br.-Bl. et R.Tx. ex Marschal 1947, ktoré vznikli pri súčasnom útlme pastvy a postupnom šírení smreka od lesného okraja. V spodnej časti tranzektu prevládajú bylinné spoločenstvá (kde striedavo prevažujú *Avenula adurgens* (Schur ex Simonk.) Sauer et Chmelitschek, *Nardus stricta* L., *Avenella flexuosa* (L.) Parl., *Hypericum maculatum* Crantz, *Agrostis capillaris* L., *Vaccinium myrtillus* L. a *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv.) s roztrúsenými jedincami smreka (*Picea abies* (L.) H. Karst.) a borievky (*Juniperus communis* L.) rôzneho veku, ktoré postupne prechádzajú do takmer zapojených porastov smreka s celkom potlačenou prízemnou vegetáciou, až po rozpadávajúcu sa radovú výsadbu smreka s nástupom buka (*Fagus sylvatica* L.) a jeho sprievodných druhov v hornej časti. Na tranzekte bola vytýčená a stabilizovaná štvorcová sieť 10 × 10 m, v rámci ktorej boli zaznamenané pozície (x, y), hrúbky, výšky a korunové projekcie všetkých stromov. Sieť bola neskôr geodeticky zameraná a súradnice boli rektifikované.

Pôdne vzorky sme odoberali v podrobnejšej sieti 5 × 5 m z A-horizontu. Okrem základných fyzikálnych, fyzikálno-chemických a chemických vlastností pôd (vlhkosť pôdy – gravimetricky, sušením pri 105°C, pH/H₂O a pH/KCl – potenciometricky, obsah organického C – Ťurinovou metódou, celkového dusíka – Kjeldahlovou metódou, výmenný fosfor a draslík – podľa Mehlicha) sme vo vzorkách určovali aj parametre mikrobiálnej aktivity: bazálnu a substrátom (glukózou) indukovanú respiráciu (ISERMEYER *in* ALEF 1991), aktivitu pôdnej katalázy (CHAZIEV 1976), aktivitu celulózy (rýchlosť rozkladu 5 × 1 cm prúžkov celulózy) a mikrobiálnu biomasu (ISLAM, WEIL 1998).

V čerstvých pôdnych vzorkách sme určovali metabolické profily mikrobiálnych spoločenstiev použitím Biolog® Eco Plates (GARLAND 1996). Mikrotitračné platničky s 31 rôznymi organickými substrátmi sme inkubovali so 150 µl extraktu zo vzorky v 0,9 % NaCl, v zriedení 1:10 000 pri teplote 37 °C po dobu 7 dní. Počas inkubácie vzoriek sme pomocou prístroja Sunrise Microplate Reader (Tecan, Salzburg, Rakúsko) dvakrát denne stanovovali hodnoty absorbancie pri 590 nm odpovedajúce aktivite mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch.

Množstvo svetla prechádzajúceho korunovou vrstvou kolonizujúcej dreveniny bolo odhadované na základe hemisférických fotografií, vyhodnotených programom Gap Light Analyser 2.0 (FRAZER *et al.* 1999). Hodnotili sme nasledovné parametre: otvorenosť zápoja (canopy openness, CO), meraná ako percento presvitajúcej oblohy na snímke, index listovej plochy – LAI (WELLES, NORMAN, 1991) a množstvo priamej (R_{DIR}) a difúznej radiácie (R_{DIF}) prepustenej korunovou vrstvou. Pre aspoň približnú predstavu o rozdelení chodu denných teplôt na tranzekte sme merali teplotu pôdy v hĺbke 2 cm ortuťovými pôdnymi teplomerami na podsúbore 90 bodov 1.10.2004 v čase od 08:00 do 17:00 každú hodinu. Pre každý bod bola následne vypočítaná priemerná denná teplota (T_{PRI}) a teplotná amplitúda (T_{AMPL}). Pre hodnotenie vplyvu stromovej vegetácie bol použitý koncept vplyvového potenciálu (Influence Potential, KUULUVAINEN, PUKKALA 1989). Z radu navrhnutých indexov sme vybrali index založený na kruhovej ploche stromov, váženej prevrátenou hodnotou vzdialenosti od bodu ku stromu:

$$IP = \sum_i BA_i r_i^{-1}$$

kde BA_i je kruhová plocha stromu i . v rámci 5 m okruhu okolo bodu a r_i je vzdialenosť medzi bodom a stromom i .

Multiplicitu funkčných skupín mikroorganizmov sme určili ako celkový počet substrátov s nenulovou aktivitou. Ich diverzitu sme hodnotili pomocou Hillovho indexu (HILL 1973: $N_2 = 1 / \sum p_i^2$; kde p_i je frekvencia i . funkčnej skupiny hodnotená na základe absorbancie na príslušnom substráte).

Na rovnakej bodovej sieti 5×5 m bolo na kruhových plôškach s veľkosťou $0,5 \text{ m}^2$ zisťované aj zastúpenie nedrevnatej prízemnej vegetácie – bylinných a machových druhov (JANIŠOVÁ *et al.* 2007). Na základe týchto údajov bola hodnotená druhová bohatosť a diverzita rastlinných spoločenstiev (pomocou Hillovho indexu).

Vzhľadom na priestorovú autokoreláciu dát sme pre hodnotenie vzťahov medzi parametrami mikrobiálnej aktivity, resp. metabolickými profilmi a fyzikálnymi resp. chemickými vlastnosťami pôdy použili parciálne Mantelove testy. Hodnoty parciálnych korelačných koeficientov sme testovali na základe 100 000 náhodných permutácií.

Počet premenných, charakterizujúcich podmienky mikrostanovišťa a vykazujúcich značnú kolinearitu, sme redukovali pomocou faktorovej analýzy (procedúra FACTOR, SAS 1988). Faktory boli extrahované analýzou základných komponentov s použitím štvorcov viacnásobnej korelácie každej premennej s komplementárnymi premennými, ako úvodného odhadu komunality pre danú premennú. Výsledná faktorová štruktúra bola následne podrobená ortogonálnej varimaxovej prerotácii a následne kosuhlej rotácii s použitím kritéria promax. Faktorové skóre bolo následne korelované s parametrami mikrobiálnej aktivity (Mantelove parciálne korelácie).

Podobný postup sme použili pre redukcii matice hodnôt metabolických profilov na základe systému Biolog®. Faktorovou analýzou s varimaxovou ortogonálnou rotáciou sme sa snažili vymedziť skupiny substrátov, ktoré sú metabolizované rovnakými skupinami mikroorganizmov a vypočítané faktorové skóre sme dávali do vzťahu s pôdnymi vlastnosťami, svetelnými a teplotnými pomermi a prízemnou vrstvou vegetácie.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Faktorová analýza rozdelila analyzované substráty do štyroch skupín, voči ktorým pôdne mikroorganizmy vykazujú podobnú aktivitu. Okrem toho sedem substrátov nekoreluje s ostatnými, zrejme každý z nich je metabolizovaný samostatnou funkčnou skupinou mikroorganizmov (tab. 1).

Zo sledovaných substrátov len niektoré vykazujú zrejmy vzťah s inými parametrami mikrobiálnej aktivity (kys. glycyll-L-glutamová, kys. D-glukozaminová, α -cyklodextrín, N-acetyl-D-glukozamín, Tween 40). Vo všeobecnosti ide o substráty metabolizované najmä mikroorganizmami prvej skupiny (tab. 2).

Väčšina substrátov vykazuje významnú pozitívnu alebo negatívnu koreláciu s fyzikálno-chemickými vlastnosťami pôdy (1. skupina) a obsahom živín (2. a 3. skupina) (tab. 3).

Jednoznačne najtesnejší vzťah k charakteristikám svetelných a teplotných pomerov, ktoré sa v priebehu sukcesie menia, a teda najlepšie charakterizujú sukcesné štádium, vykazujú mikroorganizmy metabolizujúce xylózu, teda monosacharid obsiahnutý v pletivách drevín. Zo skupín mikroorganizmov sú so svetlom a teplotami najtesnejšie korelované mikroorganizmy 3. a 4. skupiny, korelácie sú však u oboch skupín opačné (tab. 4). Je teda zrejme, že pôdy pod otvorenými porastami existujúcimi v skorých štádiách sukcesie fytoceenóz obsadzujú v porovnaní so zatienenými pôdami funkčne a pravdepodobne aj taxonomicky odlišné skupiny mikroorganizmov. Naznačuje to aj nerovnaký vzťah mikroorganizmov 3. a 4. skupiny k druhovej bohatosti a diverzite bylinnej a machovej vrstvy.

Multiplicitu a diverzitu funkčných skupín mikroorganizmov, ktorá pravdepodobne v značnej miere odráža aj ich druhovú bohatosť a diverzitu, len v malej miere ovplyvňujú fyzikálno-chemické vlastnosti pôd a obsah živín, s výnimkou obsahu dusíka. Rovnako sa diverzita mikroorganizmov len v malej miere odráža v sumárnych parametroch mikrobiálnej aktivity (respirácia, mikrobiálna biomasa). Na druhej strane sukcesné štádium fytoceenóz sa na mikrobiálnej diverzite odráža zreteľne. Skoré štádiá sukcesie s vysokým príjmom svetla a druhovo bohatou bylinnou vegetáciou vykazujú vyššiu diverzitu a multiplicitu funkčných skupín mikroorganizmov (tab. 4 a 5).

Smer zmien vegetácie v našom prípade je v princípe opačný v porovnaní s väčšinou štúdií, ktoré sa zaoberajú vývojom mikrobiálnych spoločenstiev pôdy v priebehu sukcesie, najmä ak boli zamerané na primárnu sukcesiu. Primárna sukcesia začína na holom substráte a pokračuje cez druhovo chudobné štádiá s lišajníkmi a machorastmi smerom k bylinným či stromovým spoločenstvám, naopak sekundárna sukcesia v našom prípade začína na druhovo bohatých pasienkoch (druhová diverzita trávnych

Tab. 1 Faktorová štruktúra faktorovej analýzy (parciálne korelácie medzi pôvodnými premennými a extrahovanými faktormi, označenými ako skupiny substrátov) metabolických profilov pôdných vzoriek (Biolog® EcoPlates).

Substrát	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4	Odhad komunalita
Kys. 4-hydroxybenzoová putrescín	0,856	-0,042	0,238	-0,051	0,8019
kys. glycyL-L-glutamová	0,782	-0,221	-0,292	0,069	0,7985
L-serín	0,733	0,270	0,227	0,083	0,7282
Tween 40	0,690	-0,129	-0,163	0,619	0,9145
i-erythritol	0,657	0,135	0,276	0,465	0,7691
D-mannitol	0,648	0,122	-0,101	-0,033	0,5404
kys. D-glukozaminová	0,629	0,209	-0,170	0,584	0,8118
Kys. 2-hydroxybenzoová metylester kys. pyrohroznovej	0,555	-0,019	0,236	0,190	0,6054
D-cellobióza	0,102	0,806	0,004	-0,133	0,7092
L-fenylalanín	-0,055	0,784	0,175	0,126	0,6875
β -metyl-D-glukozid	0,188	0,704	-0,085	-0,066	0,6771
α -D-laktóza	0,067	0,661	-0,061	0,568	0,7836
γ -laktón kys. D-galaktónovej	-0,061	0,647	-0,069	-0,018	0,4287
D,L- α -glycerol fosfát	-0,024	0,631	0,020	-0,011	0,3995
glykogén	0,521	0,564	0,316	0,251	0,8246
L-arginín	0,046	-0,047	0,808	-0,040	0,7075
D-xylóza	0,251	-0,006	0,797	-0,166	0,8731
L-asparagín	0,179	0,063	0,766	0,183	0,6847
N-acetyl-D-glukozamin	-0,107	-0,073	0,736	-0,120	0,7256
Fenyletylamin	0,225	-0,070	0,611	0,571	0,7827
kys. D-galakturónová	-0,182	0,409	0,524	0,434	0,6668
Tween 80	-0,078	0,054	0,018	0,879	0,7833
glukózo-1-fosfát	0,153	-0,019	0,017	0,875	0,7945
kys. γ -hydroxymaslová	0,363	0,448	0,311	0,500	0,7220
kys. D-jablčná	-0,028	0,089	0,174	-0,231	0,5090
L-threonín	0,011	-0,071	-0,144	-0,233	0,1443
α -cyklodextrín	-0,374	-0,020	-0,050	0,065	0,1797
kys. akonitová	-0,059	0,418	0,333	0,122	0,5203
kys. α -ketomaslová	-0,132	-0,153	-0,067	-0,040	0,2192
	-0,032	-0,183	0,106	-0,026	0,1844
	0,191	0,019	0,464	0,257	0,3216

camí. Kvantita a kvalita organickej hmoty dostupnej na rozklad, ktoré závisia od zloženia vegetácie, sú určujúce nielen pre tvorbu humusu (MUYS *et al.* 1992), ale ovplyvňujú aj štruktúru pôdy, jej chemické vlastnosti a pod. (GRAHAM *et al.* 1995; VESTERDAL, RAULUND-RASMUSSEN, 1998). Naše dáta naznačujú pozitívnu koreláciu medzi pokrývnosťou a diverzitou prízemnej vrstvy vegetácie a respiračnou aktivitou (cf. STEPHAN *et al.* 2000, ZAK *et al.* 2003). Hodnotenie metabolických profilov pôdných vzoriek systémom Biolog® EcoPlate preukázalo, že len niektoré funkčné skupiny vykazujú vzťah k sumárnym charakteristikám biologickej aktivity pôdy. Zároveň sa však preukázalo, že zastúpenie niektorých funkčných skupín mikroorganizmov sa mení v závislosti na indikátoroch sukcesného štádia. Priestorová mierka je dôležitým aspektom v akomkoľvek hodnotení pôdných vlastností (GOOVAERTS 1998; OLIVE, GRANT 2002). Pôda je značne heterogénna z hľadiska výskytu „mikrostanovišť“ vhodných pre prežívanie a rozmnožovanie mikroorganizmov. Baktérie a huby sú v dôsledku toho v pôde priestorovo agregované, tvoriac ložiská s vysokou aktivitou. Hodnoty parametrov mikrobiálnej aktivity však vykazujú priestorovú súvislosť nielen v tejto mikromierke, ale aj vo väčších mierkach (FRANKLIN, MILLS 2003). Pôdne vlastnosti vrátane pôdnej respirácie môžu byť autokorelované v dosahu od niekoľkých centimetrov do niekoľkých metrov (JACKSON, CALDWELL 1993; STOYAN *et al.* 2000). Zber vzoriek v sieti 5 × 5 m teda mohol identifikovať len časť existujúcej priestorovej kontinuity. Všeobecne slabé korelácie medzi pôdnymi charakteristikami naznačujú, že parametre mikrobiálnej aktivity predstavujú komplexné znaky. Na rozdiel od vzťahov medzi biologickou aktivitou pôdy a charakteristikami prostredia (svetlo, teploty, hustota porastu) je v kauzálnych vzťahoch medzi mikrobiálnymi charakteristikami navzájom a ich vzťahmi k chemickým vlastnostiam pôdy veľa nejasného. Chemické zloženie pôdy pochopiteľne ovplyvňuje abundanciu a druhové zloženie mikróbov, ale aj naopak baktérie a huby zabezpečujú uvoľňovanie živín a iných prvkov, viazaných v organickej hmote,

porastov na lokalite Príslopý patrí k najvyšším v rámci celej CHKO-BR Poľana, vid' UJHÁZY 2003; JANIŠOVÁ *et al.* 2004) a v prechodnom štádiu tu smrek tvorí hustý porast nad pôdou s hrubou vrstvou nerozloženého opadu bez prízemnej vegetácie. Dopad priebehu sukcesie na vývoj bakteriálnych a hubových spoločenstiev pôd sa teda môže odlišovať v závislosti na type sukcesie a sukcesných trajektóriách, a to aj v prípade, že spoločným klimaxovým štádiom je les (AIKIO *et al.* 2000; MC LEAN, HUHTA 2002).

Do vrchnej časti transektu, kde dochádza k rozpadu vysadeného pásu smreka pozdĺž bývalej hranice porastu, preniká pomerne veľa difúzneho svetla, takže tam narastá pokrývnosť a druhová diverzita bylín (aj keď pri inom druhovom zložení než v spodnej časti), ktoré poskytujú kvalitnejší rastlinný materiál v porovnaní so smrekovými ihli-

do pôdy, čo vedie k dynamickej rovnováhe medzi mikrobiálnym spoločenstvom a chemickými vlastnosťami pôdneho prostredia (ZHOU *et al.* 2002).

ZÁVER

Hodnotenie metabolických profilov pôdnych vzoriek systémom Biolog® EcoPlate preukázalo, že len niektoré funkčné skupiny vykazujú vzťah k sumárnym charakteristikám biologickej aktivity pôdy. Zároveň sa však preukázalo, že zastúpenie niektorých funkčných skupín mikroorganizmov sa mení v závislosti od indikátorov sukcesného štádia.

PodĎakovanie:

Táto práca bola vypracovaná v rámci riešenia grantovej úlohy VEGA 1/3524/06.

LITERATÚRA

- AIKIO, S., VÄRE, H., STRÖMMER, R. 2000: Soil microbial activity and biomass in the primary succession of a dry heath forest. *Soil Biology and Biochemistry* **32**: 1091–1100.
- ALEF, K. 1991: Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie. Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. Ecomed, Landsberg. 284 pp.
- ARIAS, M.E., GONZÁLEZ-PÉREZ, J.A., GONZÁLEZ-VILA, F.J., BALL, A.S. 2005: Soil health – a new challenge for microbiologists and chemists. *International Microbiology* **8**: 13–21.
- CAMPBELL, C., PURI, G. 2002: Soil biodiversity. Scottish Natural Heritage, *Information and Advisory Note* **151**: 1–6.
- FRANKLIN, R.B., MILLS, A.L. 2003: Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. *FEMS Microbiology Ecology* **44**: 335–346.
- FRAZER, G.W., CANHAM, C.D., LERTZMAN, K.P. 1999: Gap Light Analyzer (GLA): Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs.
- GARLAND, J.L. 1996: Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry* **28**: 213–221.
- GOOVAERTS, P. 1998: Geostatistical tools for characterizing the spatial variability of microbiological and physico-chemical soil properties. *Biology and Fertility of Soils* **27**: 315–334.
- GRAHAM, R.C., ERVIN, J.O., WOOD, H.B. 1995: Aggregate stability under oak and pine after four decades of soil development. *Soil Science Society of America Journal* **59**: 1740–1744.
- HILL, M.O., 1973: Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. *Ecology* **54**: 427–432.
- CHAZIEV, F.KH. 1976: Enzymatic Soil Activity. Metodicheskoe Posob'e, Moskva. 262 pp.
- ISLAM, K.R., WEIL, R.R., 1998: Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Bio. Fert. Soils* **27**: 408–416.
- JACKSON, R.B., CALDWELL, M.M. 1993: Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *Journal of Ecology* **81**: 683–692.
- JANIŠOVÁ, M., UJHÁZY, K., UHLIAROVÁ, E., RAJTAROVÁ, N. 2004: Aktuálna flóra nelesných spoločenstiev Chránenej krajiny oblasti Poľana – zhodnotenie početnosti výskytu taxónov vyšších rastlín (Contemporary flora of grassland communities in the Protected Landscape Area Poľana – evaluation of vascular plants frequency). *Bulletin Slovenskej Botanickej Spoločnosti, Bratislava Suppl.* **10**: 140–144.
- JANIŠOVÁ, M., HRIVNÁK, R., GÖMÖRY, D., UJHÁZY, K., VALACHOVIČ, M., GÖMÖRYOVÁ, E., HEGEDŮŠOVÁ, K., ŠKODOVÁ, I. 2007: Changes in understorey vegetation after Norway spruce colonization of an abandoned grassland. *Ann. Bot. Fennici* **44**: 256–266.
- KIRK, J.L., BEAUDETTE, L.E., HART, M., MOUTIGLIS, P., KLIRONOMOS, J.N., LEE, H., TREVORS, J.T. 2004: Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbial Methods* **58**: 169–188.
- KUULUVAINEN, T., PUKKALA, T. 1989: Effect of Scots pine seed trees on the density of ground vegetation and tree seedlings. *Silva Fennica* **23**: 159–167.
- MCLEAN, M.A., HUHTA, V. 2002: Microfungal community structure in anthropogenic birch stands in central Finland. *Biology and Fertility of Soils* **35**: 1–12.
- MUYS, B., LUST, N., GRANVAL, P. 1992: Effects of grassland afforestation with different tree species on earthworm communities, litter decomposition and nutrient status. *Soil Biology and Biochemistry* **24**: 1459–1466.
- OLINE, D.K., GRANT, M.C. 2002: Scaling patterns of biomass and soil properties: an empirical analysis. *Landscape Ecology* **17**: 13–26.
- NIELSEN, M.N., WINDING, A. 2002: Microorganisms as indicators of soil health. NERI Technical reports 388, 84 pp.
- PHILLIPS, J.D., MARION, D.A. 2004: Pedological memory in forest soil development. *Forest Ecology and Management* **188**: 363–380.

- SAS 1988: SAS/STAT® User's Guide, Release 6.03 Edition. SAS Institute, Cary, 1028 pp.
- STEPHAN, A., MEYER, A.H., SCHMID, B. 2000: Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology* **88**: 988–998.
- STOYAN, H., DE-POLLI, H., BÖHM, S., ROBERTSON, G.P., PAUL, E.A. 2000: Spatial heterogeneity of soil respiration and related properties at the plant scale. *Plant and Soil* **222**: 203–214.
- UJHÁZY, K. 2003. Sekundárna sukcesia na opustených lúkach a pasienkoch Poľany. Vedecké štúdie 7/2003/A, Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen, 104 pp.
- VESTERDAL, L., RAULUND-RASMUSSEN, K. 1998: Forest floor chemistry under seven tree species along a soil fertility gradient. *Canadian Journal of Forest Research* **28**: 1636–1647.
- WALKER, L.R., DEL MORAL, R. 2003: Primary Succession and Ecosystem Rehabilitation. Cambridge University Press, Cambridge, 442 pp.
- WELLES, J.M., NORMAN, J.M. 1991: Instrument for indirect measurement of canopy architecture. *Agronomy Journal* **83**: 818–825.
- WILKINSON, S.C., ANDERSON, J.M. 2001: Spatial patterns of soil microbial communities in a Norway spruce (*Picea abies*) plantation. *Microbial Ecology* **42**: 248–255.

Adresy autorov:

Ing. Erika Gömöryová, CSc.
Technická univerzita vo Zvolene
Lesnícka fakulta
T.G.Masaryka 24
960 53 Zvolen
Slovensko
egomory@vsld.tuzvo.sk

Doc. Ing. Dušan Gömöry, CSc.
Technická univerzita vo Zvolene
Lesnícka fakulta
T.G.Masaryka 24
960 53 Zvolen
Slovensko
gomory@vsld.tuzvo.sk

Ing. Karol Ujházy, PhD.
TU vo Zvolene
Lesnícka fakulta
T.G.Masaryka 24
960 53 Zvolen
Slovensko
ujhazy@vsld.tuzvo.sk

Ing. Richard Hrivnák, PhD.
Botanický ústav
Slovenská akadémia vied
Dúbravská cesta 14
845 23 Bratislava
richard.hrivnak@savba.sk

Mgr. Monika Janišová, PhD.
Botanický ústav
Slovenská akadémia vied
Dúbravská 14
845 23 Bratislava
monika.janisova@savba.sk

Tab. 2 Mantelove parciálne korelácie medzi hodnotami metabolickej aktivity mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch (Biolog® Eco Plates) a parametrami mikrobiálnej aktivity pôdy.

Substrát	bazálna respi- rácia	SIR	aktivita katalázy	aktivita celulázy	mikrob. biomasa	organický uhlík
β-metyl-D-glukozid	0,031	-0,158*	-0,063	-0,114*	-0,044	0,089
γ-laktón kys.D-galakt.	0,241**	0,039	0,258*	0,312***	0,250***	0,282**
L-arginín	0,140*	0,017	-0,071	0,125*	0,286***	0,010
metylester kys. pyrohrozn.	-0,116	0,120	-0,044	-0,059	0,301***	-0,057
D-xylóza	0,423***	0,105	0,104	-0,048	0,150*	0,026
kys. D-galakturónová	-0,069	0,111	0,140	0,071	-0,151	-0,121
L-asparagín	0,169*	0,014	0,008	-0,009	0,030	-0,114
Tween 40	0,321***	0,155*	0,083	0,279***	0,141*	0,116
i-erythritol	0,1404	0,101	0,136	0,082	0,021	0,419***
kys. 2-hydroxybenzoová	-0,219**	-0,113	-0,337***	-0,070	0,091	0,078
L-fenylalanín	0,099	0,083	-0,036	-0,121*	-0,222**	-0,205**
Tween 80	0,044	0,038	-0,101	0,133*	0,328***	0,111
D-mannitol	0,198**	-0,055	0,058	0,448***	-0,055	-0,001
kys. 4-hydroxybenzoová	0,468***	0,001	0,137*	0,410***	-0,067	0,408***
L-serín	0,161*	-0,054	0,037	0,474***	0,005	0,086
α-cyklodextrín	-0,307***	0,147**	0,029	0,111*	0,152**	-0,267***
N-acetyl-D-glukozamín	0,001	-0,163*	-0,275***	-0,277***	0,020	-0,261***
kys. γ-hydroxymaslová	0,181*	0,045	-0,041	-0,029	0,070	0,202**
L-threonín	0,066	0,205**	-0,015	0,025	0,398***	-0,105
glykogén	0,136	-0,004	0,057	0,006	-0,008	-0,075
kys. D-glukozaminová	0,429***	0,196**	0,315***	0,426***	0,146*	0,063
kys. akonitová	-0,175***	0,001	-0,007	-0,055	0,065	-0,023
kys. glycyL-L-glutamová	0,500***	0,308**	0,458***	0,289***	0,419***	0,479***
D-celobióza	-0,157*	-0,127	-0,270***	-0,021	-0,072	0,163*
glukózo-1-fosfát	0,051	-0,005	0,098*	0,021	0,044	-0,006
kys. α-ketomaslová	0,031	0,091*	0,201***	0,087*	-0,098*	-0,065
fenyletylamín	-0,010	-0,155*	-0,259*	-0,101	-0,058	-0,262***
α-D-laktóza	0,008	-0,227*	-0,054	-0,037	-0,198*	0,080
D,L-α-glycerol fosfát	0,130*	-0,098	-0,183**	-0,061	-0,131	0,020
kys. D-jablčná	-0,106	-0,140	-0,128	0,026	-0,126	-0,205*
putrescín	0,322***	0,040	0,203*	0,618***	0,099	0,412***
Skupina 1	0,449***	0,144*	0,307**	0,476***	0,119	0,537***
Skupina 2	-0,120	-0,091	-0,159*	-0,090	0,091	0,070
Skupina 3	0,231**	0,028	-0,017	-0,084	0,138*	-0,064
Skupina 4	0,071	0,042	-0,086	-0,120	-0,092	-0,319***
multiplicita funkčných skupín mikro- organizmov	0,111	-0,098	0,188*	0,021	0,065	-0,029
diverzita funkčných skupín mikroor- ganizmov	-0,123	-0,219**	-0,031	-0,055	-0,031	-0,076

Vysvetlivky: hladina významnosti $\alpha < 0,001$ *** ; $0,001 < \alpha < 0,01$ ** ; $0,01 < \alpha < 0,05$ *

Tab. 3 Mantelove parciálne korelácie medzi hodnotami metabolickej aktivity mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch (Biolog® Eco Plates) a vybranými vlastnosťami pôdy.

Substrát	vlhkosť	pH-H ₂ O	pH-KCl	N	P	K
β-metyl-D-glukozid	-0,128*	-0,318***	-0,315***	0,147*	-0,263***	-0,258***
γ-laktón kys. D-galakt.	0,052	0,083	0,090	-0,034	-0,075	0,210**
L-arginín	-0,057	0,001	0,001	0,079	-0,205**	0,137*
metylester kys. pyrohr.	-0,090	-0,005	0,038	0,221**	-0,248**	-0,209**
D-xyulóza	-0,135*	0,195**	0,169*	0,240***	-0,088	0,154*
kys. D-galakturónová	-0,131	-0,110	-0,058	-0,178*	-0,013	-0,006
L-asparagín	-0,057	0,018	-0,012	0,023	-0,159*	0,073
Tween 40	0,130*	0,395***	0,371***	0,090	-0,135	0,393***
i-erythritol	0,313***	0,439***	0,436***	0,097	0,239*	0,040
kys. 2-hydroxybenz.	0,063	-0,099	-0,034	-0,125*	-0,151*	-0,224**
L-fenylalanín	0,119	-0,143	-0,080	-0,341***	-0,270**	-0,264*
Tween 80	-0,057	0,208**	0,290***	-0,263***	-0,231**	0,177**
D-mannitol	0,171**	0,152*	0,042	0,042	-0,018	0,255***
kys. 4-hydroxybenz.	0,302***	0,406***	0,307***	0,101	0,134*	0,454***
L-serín	0,147**	0,207*	0,086	0,048	0,034	0,311***
α-cyklohextrín	0,036	0,031	0,149**	-0,073	-0,017	0,141*
N-acetyl-D-glukozamín	-0,293***	-0,096	-0,023	-0,373***	-0,532***	-0,137*
kys. γ-hydroxymaslová	0,079	-0,038	-0,214*	-0,195*	0,115	-0,201**
L-threonín	0,021	0,186*	0,244**	-0,241***	-0,202**	0,059
glykogén	-0,042	-0,020	-0,041	-0,013	-0,146*	0,099
kys. D-glukozaminová	0,346***	0,108	0,081	-0,146*	-0,099	0,565***
kys. akonitová	-0,212***	-0,125**	-0,004	-0,177**	0,115*	-0,141**
kys. glycy-L-glutam.	0,249***	0,442***	0,435***	0,201*	0,183*	0,325***
D-cellobióza	0,094	-0,319***	-0,108	-0,064	-0,264**	-0,053
glukózo-1-fosfát	-0,024	0,029	0,016	-0,025	0,017	0,069
kys. α-ketomaslová	-0,155**	-0,141**	-0,052	-0,308***	-0,099*	0,069
fenyletylamín	-0,233*	-0,118	-0,051	-0,234**	-0,318***	-0,053
α-D-laktóza	-0,049	-0,077	-0,001	-0,063	-0,180*	-0,106
D,L-α-glycerol fosfát	-0,162**	-0,006	0,024	-0,135*	-0,246***	0,074
kys. D-jablčná	-0,284***	-0,070	-0,255*	0,311***	0,085	-0,122*
putrescín	0,265**	0,536***	0,363***	0,140*	0,328***	0,467***
Skupina 1	0,404***	0,492***	0,425***	0,117	0,244*	0,479***
Skupina 2	-0,004	-0,172*	-0,071	-0,144*	-0,305***	-0,260***
Skupina 3	-0,064	0,011	0,056	-0,113*	-0,262***	0,128*
Skupina 4	-0,319***	-0,019	0,048	-0,246**	-0,230**	-0,024
multiplicita funkčných skupín mikroorganizmov	-0,013	-0,023	0,006	0,285***	0,109	0,197**
diverzita funkčných skupín mikroorganizmov	-0,132*	-0,042	0,085	0,190***	0,115	0,050

Vysvetlivky: hladina významnosti $\alpha < 0,001$ *** ; $0,001 < \alpha < 0,01$ ** ; $0,01 < \alpha < 0,05$ *

Tab. 4 Mantelove parciálne korelácie medzi hodnotami metabolickej aktivity mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch (Biolog® Eco Plates) a svetelnými, resp. teplotnými pomermi.

Substrát	<i>CO</i>	<i>LAI</i>	<i>R_{DIR}</i>	<i>R_{DIF}</i>	<i>T_{AVG}</i>	<i>T_{AMPL}</i>
β-metyl-D-glukozid	-0,012	-0,071	-0,002	-0,027	0,039	-0,044
γ-laktón kys. D-galakt.	0,130*	-0,122	0,237**	0,126	-0,036	0,163*
L-arginín	0,180**	-0,224***	-0,011	0,181***	-0,080	0,288***
metylester kys. pyrohr.	0,019	0,014	0,200**	0,027	-0,258***	-0,073
D-xylóza	0,543***	-0,426***	0,558***	0,543***	0,439***	0,267***
kys. D-galakturónová	0,022	0,001	0,101	0,023	0,093	0,060
L-asparagín	0,290***	-0,230***	0,150*	0,294***	0,197**	0,277***
Tween 40	0,121	-0,037	0,185*	0,113	0,189**	0,092
i-erythritol	0,037	-0,040	0,009	0,028	-0,158*	-0,004
kys. 2-hydroxybenzoová	-0,077	0,072	-0,022	-0,056	-0,282***	-0,132*
L-fenylalanín	-0,153*	0,235**	-0,065	-0,140*	-0,131*	-0,215**
Tween 80	-0,035	0,098	0,015	-0,025	-0,078	0,001
D-mannitol	-0,023	0,031	0,048	-0,033	0,131*	0,034
kys. 4-hydroxybenzoová	0,028	-0,014	0,035	0,023	0,127*	-0,025
L-serín	-0,026	0,030	0,056	-0,035	0,137*	-0,002
α-cyklohextrín	0,362***	-0,345***	0,265***	0,372***	0,241**	0,450***
N-acetyl-D-glukozamín	-0,037	0,064	-0,083	-0,026	-0,057	-0,112
kys. γ-hydroxymaslová	-0,176**	0,133	-0,149*	-0,173*	-0,255***	-0,207**
L-threonín	-0,128*	0,155*	-0,021	-0,110	-0,235***	-0,147*
glykogén	0,256***	-0,281***	0,092	0,259***	0,133*	0,279***
kys. D-glukozaminová	-0,053	0,168*	0,121	-0,047	-0,004	0,069
kys. akonitová	0,059	-0,140**	-0,150**	0,052	0,192**	0,504***
kys. glycyL-L-glutamová	0,125	-0,084	0,240**	0,109	-0,061	0,153*
D-cellobióza	0,025	-0,001	0,025	0,036	-0,084	0,025
glukózo-1-fosfát	0,051	-0,022	0,160***	0,055	0,015	0,010
kys. α-ketomaslová	0,025	-0,016	0,038	0,030	0,035	0,152**
fenyletylamín	-0,102	0,222*	-0,1440	-0,112	0,091	-0,015
α-D-laktóza	0,199*	-0,152	0,282**	0,214*	0,051	-0,046
D,L-α-glycerol fosfát	0,359***	-0,261***	0,313***	0,373***	0,198**	0,187**
kys. D-jablčná	0,078	-0,205**	0,012	0,073	0,182**	-0,133*
putrescín	-0,189**	0,210**	-0,008	-0,207**	0,088	-0,166*
Skupina 1	-0,028	0,075	0,090	-0,042	-0,002	0,009
Skupina 2	-0,023	0,025	0,094	-0,008	-0,249***	-0,139*
Skupina 3	0,367***	-0,333***	0,252**	0,379***	0,136*	0,300***
Skupina 4	-0,194*	0,301**	-0,168*	-0,207*	0,096	-0,116
multiplicita funkčných skupín mikroorganizmov	0,339***	-0,303***	0,522***	0,349***	0,057	0,075
diverzita funkčných skupín mikroorganizmov	0,192*	-0,186**	0,325***	0,198**	-0,133*	0,009

Vysvetlivky: hladina významnosti $\alpha < 0,001$ *** ; $0,001 < \alpha < 0,01$ ** ; $0,01 < \alpha < 0,05$ *

Tab. 5 Mantelove parciálne korelácie medzi hodnotami metabolickej aktivity mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch (Biolog® Eco Plates) a charakteristikami nedrevnatej synúzie fytocenóz.

Substrát	Druhovú bohatosť nedrevnatej synúzie fytocenóz	Druhovú diverzitu nedrevnatej synúzie fytocenóz
β-metyl-D-glukozid	0,046	0,112
γ-laktón kys. D-galaktónovej	0,001	0,064
L-arginín	-0,046	0,022
metylester kys. pyrohroznovej	-0,039	-0,025
D-xylóza	0,049	0,092
kys. D-galakturónová	-0,085	-0,149*
L-asparagín	0,129*	0,175*
Tween 40	0,075	0,177*
i-erythritol	0,311***	0,331**
kys. 2-hydroxybenzoová	0,147*	-0,124*
L-fenylalanín	-0,207**	-0,318***
Tween 80	-0,015	0,010
D-mannitol	0,023	0,007
kys. 4-hydroxybenzoová	0,025	0,139*
L-serín	0,016	-0,007
α-cyklodextrín	0,541***	0,391***
N-acetyl-D-glukozamín	-0,096	0,039
kys. γ-hydroxymaslová	-0,047	-0,144*
L-threonín	-0,232***	-0,178*
glykogén	0,115	0,182*
kys. D-glukozaminová	-0,123*	-0,139*
kys. akonitová	0,164**	0,053
kys. glycyl-L-glutamová	0,079	0,317**
D-cellobióza	0,165*	-0,127
glukózo-1-fosfát	0,039	0,039
kys. α-ketomaslová	-0,102*	-0,084
fenyletylamín	-0,226***	-0,273***
α-D-laktóza	0,084	-0,088
D,L-α-glycerol fosfát	0,041	0,005
kys. D-jablčná	0,034	-0,008
putrescín	-0,113	0,073
Skupina 1	0,071	0,199*
Skupina 2	0,066	-0,077
Skupina 3	0,015	0,071
Skupina 4	-0,322***	-0,208**
multiplicita funkčných skupín mikroorganizmov	0,256***	0,393***
diverzita funkčných skupín mikroorganizmov	0,281***	0,251***

Vysvetlivky: hladina významnosti $\alpha < 0,001$ *** ; $0,001 < \alpha < 0,01$ ** ; $0,01 < \alpha < 0,05$ *