

METHODICAL LIMITATIONS OF OUTDOOR TESTING OF ORGANIC NITROGEN COMPOUNDS MINERALIZATION.

METODICKÁ OMEZENÍ TERÉNNÍHO STUDIA MINERALIZACE ORGANICKÝCH DUSÍKATÝCH LÁTEK.

Maříková K., Záhora J.

Ústav půdoznalství a mikrobiologie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: katka.dostalova@email.cz

ABSTRACT

Atmospheric depositions of nitrogen compounds (NH_y and NO_x) belong to the major stresses, threatening the composition and functioning of natural ecosystems. Most of the plant species, inhabiting natural ecosystems, are well adapted to the low volumes of nitrogen. These plants can successfully compete only in the soils with low nitrogen levels. Nitrogen is a key plant nutrient. But it can destabilize those communities, which are adapted to low levels of this nutrient in soil. The objective was to use the available methods to describe the amount of nitrogen, evolved by microbial processes to the soil of pine spruce forests in submontane and montane regions. I focused on fundamentals specification, advantages, disadvantages and utility value of each method.

Keywords: soil nitrogen, microbial mineralization, ion exchange resin (IER)

ABSTRAKT

Jednou z největších zátěží, která ohrožuje v posledních desetiletích strukturu a fungování přirozených ekosystémů, jsou zvýšené atmosférické depozice dusíkatých látek (NH_y a NO_x). Většina rostlinných druhů přirozených ekosystémů je nízkým obsahům dusíku přizpůsobena a můžou úspěšně konkurovat pouze na půdách s nízkými hladinami dusíku. Cílem bylo popsat dostupnými metodami množství dusíku, které je mikrobiálními procesy uvolňováno z organických vazeb do půdy smrkových lesů v podhorských a horských oblastech. U jednotlivých metod jsem se zaměřila na popis principu, výhod, nevýhod a výpovědních hodnot.

Klíčová slova: půdní dusík, mikrobiální mineralizace, iontoměnič

ÚVOD

Aktuální obsahy minerálních forem dusíku v půdě jsou výsledkem mnoha biochemických procesů, na kterých se hlavní měrou podílejí půdní mikroorganismy.

Zvýšené depozice dusíkatých látek ovlivňují zvýšenou sorpci přístupných forem dusíku (N) mikroorganismy a urychlují tak některé části koloběhu dusíku tak, že mikroflóra je následně schopna zvýšené vstupy vybalancovat zvýšenými výstupy dusíkatých látek. Specifické nároky mikroorganismů na tuto živinu vyžadují poznání půdně biologických procesů.

Založené pokusy měly za cíl popsat dostupnými metodami množství dusíku, které je mikrobiálními přeměnami uvolňováno z organických vazeb do půdního prostředí pod smrkovými porosty v podhorských a horských oblastech.

METODIKA

Pro studium biologických přeměn dusíku byly použity terénní a laboratorní experimenty. Mezi terénní experimenty patří aplikace iontoměničů do půdního prostředí vybraných lokalit a stanovení aktuálního obsahu minerálního dusíku v půdě. Mezi laboratorní experimenty patří tyto metody: bazální a potenciální respirace mikroorganismů, bazální netto amonizace a bazální netto nitrifikace, netto amonizace a netto nitrifikace po přidání snadno rozložitelného zdroje uhlíku a dusíku, index dostupnosti dusíku.

Iontoměniče

Iontoměničová pouzdra

Iontoměničové pouzdro je zhotoveno z novodurové trubky s vnitřním průměrem 70 mm a je vysoké 5 mm. Shora i zespoda je uzavřeno polyamidovou síťovinou Uhelon (Silk & Progress, typ 130 T, velikost oka 42 mm).

Katex – Purolite C100E byl s anexem – Purolite A520E smíchán v poměru 1 : 1. Před použitím se iontoměniče kondiciují mnohonásobným střídavým propíráním v 10 % roztoku NaCl a v destilované vodě.

Plochá válcovitá pouzdra mají tu výhodu, že se množství sorbovaného minerálního dusíku dá vztáhnout na jednotku plochy. Nevýhodou je velké porušení půdního profilu při zapravování iontoměničových pouzder.

Iontoměničové sondy

Vzhledem k tomu, že iontoměniče ve válcovitých pouzdrech byly pro uvedený účel aplikovány v naší republice poprvé, byly do půdy současně zapraveny i iontoměniče v obalech tvaru doutníkových sond. Ty jsou na Ústavu mikrobiologie a půdoznalství využívány pro monitorování dostupnosti minerálního dusíku v půdách různých ekosystémů již více než 4 roky a jejich aplikace nepředstavuje tak silné narušení půdního profilu. Plášť sondy o průměru 9 mm je zhotoven z polyamidové síťoviny UHELON 130 T, délka sondy je 21 cm. Kovovým válcovým bodcem o průměru 10 mm je v půdě vytvořen otvor pod úhlem 45°, do kterého je vsunuta tato iontoměničová sonda. Sondy byly aplikovány vždy po dvou na 5 stanovištích v každé ze tří lokalit.

Takto získané výsledky slouží k porovnání s výsledky z plochých válcových pouzder, protože je nelze vztáhnout na jednotku plochy.

Metoda stanovení indexu dostupnosti dusíku

Index dostupnosti dusíku se stanovuje bezprostředně po odběru půdy z terénu. Z každého horizontu byly odebrány 3 vzorky zhomogenizované půdy po 20 g. Byly zality 50 ml destilované vody, čímž se vytvořily anaerobní podmínky, a uloženy na 7 dní do termostatu nastaveného na 40 °C. U minerálních horizontů Bv, Bvs, Ep bylo odebráno 10 g půdy a zalito 25 ml destilované vody. Po 7 dnech se k vzorkům přidalo 50 ml 4 M roztoku KCl (u minerálních pouze 25 ml 4 M roztoku KCl). Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou (Peoples et al., 1989).

28 - denní aerobní inkubace

Stanovení bazální a potenciální respirace

Během laboratorní inkubace půdních vzorků se zjišťovala potenciální respirace po přidavku snadno rozložitelného zdroje C a N a bazální respirace.

Experiment probíhal formou 28 - denní aerobní laboratorní kultivace půdních vzorků. Z každého půdního horizontu každé ze tří lokalit byly odebrány 2 vzorky o hmotnosti cca 200 g, což odpovídá cca 115 gramům sušiny. Ty byly před vlastním zahájením pokusu ovlhčeny na 60 % maximální kapilární vodní kapacity (MKVK). Minerální horizonty Bv, Bvs, Ep byly ovlhčeny pouze na 50 % MKVK, protože při větším ovlhčení měnila půda svou strukturu. K prvnímu vzorku byla přidána destilovaná voda pro zjištění bazální respirace, ke druhému vzorku roztok sacharózy s peptonem pro zjištění potenciální respirace. V přepočtu na čistý

uhlík činil tento přírůstek 0,2 % sušiny půdy a přírůstek N činil v přepočtu na sušinu půdního vzorku 0,0067 %. Vzájemný poměr C : N v dodaném substrátu byl upraven na 30 : 1 pro povzbuzení mikrobiální aktivity snadno dostupným uhlíkatým i dusíkatým zdrojem. Zatímco dodaný uhlík je půdní mikroflórou během pokusu prodýchán, může dodaný dusík při zvýšení mikrobiální aktivity pomoci odhalit mechanismy hospodaření s touto důležitou živinou.

Aby nedocházelo ke změnám vlhkosti, byly půdní vzorky uzavřeny v inkubačních nádobách o objemu 1 l. Při respiraci uvolňuje půdní mikroflóra oxid uhličitý (CO_2). Ten byl uvnitř inkubační nádoby vázán ve vlhkém prostředí alkalickým absorbentem natrokalcidem za vzniku uhličitanové soli (Anderson, 1982; Glozier et Tesařová, 1978). Natrokalcid byl do nádob vkládán na dobu 24 hodin vždy 1., 7., 14. a 28. den po zahájení inkubace. Poté byl zvážen a z rozdílů hmotností byly určeny hodnoty bazální a potenciální respirace v $\text{mg CO}_2\text{-C kg.su}^{-1}.\text{den}^{-1}$. Respiraci není možno měřit pomocí alkalického absorbentu kontinuálně vzhledem k možnému podhodnocení intenzity nitrifikace v prostředí s nedostatkem CO_2 (Kinsbursky et Saltzmann, 1990).

Při pravidelných kontrolách vlhkosti docházelo k výměně vzduchu nad inkubovanými vzorky. Tím se částečně zabránilo zpětným vlivům zvýšených koncentrací některých plyných produktů mikrobiálního metabolismu na aktivitu půdní mikroflóry. Půdní vzorky byly inkubovány v uzavřené tmavé místnosti při teplotě $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Stanovení amonizace a nitrifikace

Pro stanovení bazální netto amonizace, bazální netto nitrifikace, netto amonizace a netto nitrifikace bylo 28. den inkubace odebráno 50 g půdy z každé inkubační nádoby a zalito 75 ml 2 M roztoku KCl . Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou (Peoples et al, 1989). Nitrátové ionty byly stanovovány stejným způsobem po předchozí redukci Devardovou slitinou.

V provedených pokusech byl stanoven rozdíl mezi aktuálním obsahem amonného a nitrátového dusíku v půdě a množstvím minerálního dusíku ve vzorcích po 28 – denní inkubaci. Takto získané hodnoty jsou ve výsledcích popisovány jako bazální netto amonizace a bazální netto nitrifikace. V případě, že obsah určité minerální formy dusíku je vyšší na začátku než na konci inkubace, jedná se o netto imobilizaci minerálního dusíku.

Netto amonizace a netto nitrifikace je rozdíl mezi počátečním množstvím amonného (a nitrátového) dusíku a množstvím minerálního dusíku zjištěného 28. den inkubace, pokud byly na počátku inkubace přidány snadno metabolizovatelné zdroje uhlíku a dusíku.

V případě, že tento rozdíl dosahuje záporných hodnot, hovoříme opět o netto imobilizaci minerálního dusíku.

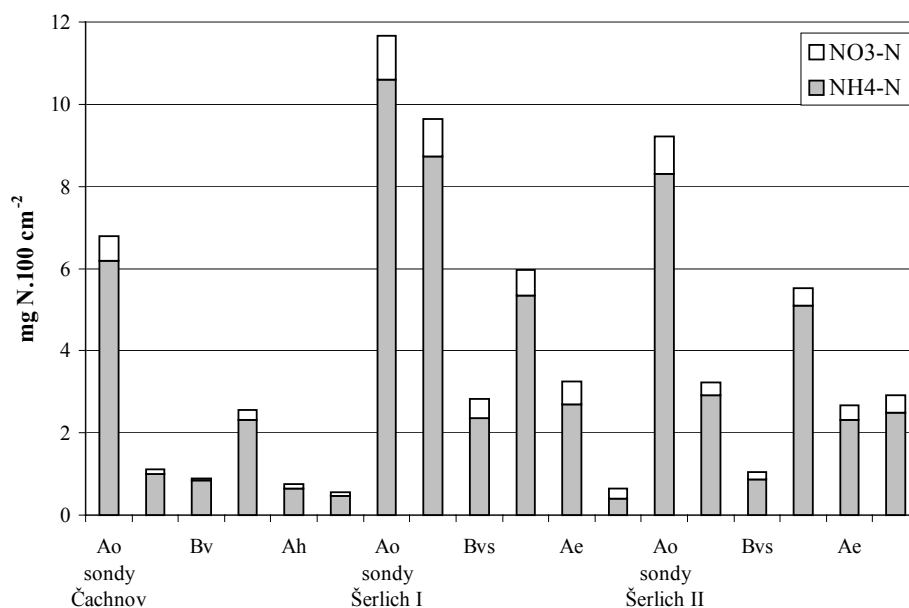
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků statistického testu ANOVA vyplývá, že mezi soubory hodnot získanými odlišnými způsoby instalace iontoměničů z lokalit Čachnov, Šerlich I, a z lokality Šerlich II, celkem tedy z porovnání osmnácti nezávislých souborů dat, byl pouze ve dvou případech zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Pokud bylo množství zachycených iontů přepočítáno na jednotku styčné plochy mezi půdním prostředím a iontoměniči, tak se výsledky lišily statisticky průkazně na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ pouze v 11,1 % případů.

U párového t - testu byl z 18 srovnání zjištěn statisticky významný rozdíl u 4 případů, což představuje 22,2 % všech posuzovaných výsledků. Z toho vyplývá, že nelze spolehlivě doporučit zastupitelnost obou technik zapravení ionexů bez dalšího studia a metodického zdokonalení.

Variabilita záchytů $\text{NH}_4^+\text{-N}$ a $\text{NO}_3^-\text{-N}$ v plochých válcovitých pouzdrech s iontoměniči byla vysoká s ojedinělým výskytem extrémních hodnot. Hodnoty mediánů pro záchyt minerálního dusíku se pohybovaly v rozmezí od 0,08 do 1,07 g $\text{NH}_4^+\text{-N.m}^{-2}$ a od 0,02 do 0,13 g $\text{NO}_3^-\text{-N.m}^{-2}$. Záchyt nitrátového N byl tedy zhruba o jeden řád nižší.

Graf 1: Porovnání záchytu amonného a nitrátového dusíku v iontoměničových sondách a v plochých pouzdrech po 195 dnech (lokalita Čachnov) a 188 dnech (lokalita Šerlich I a II) expozice v terénu. Vyznačeny mediány ($n = 10$)

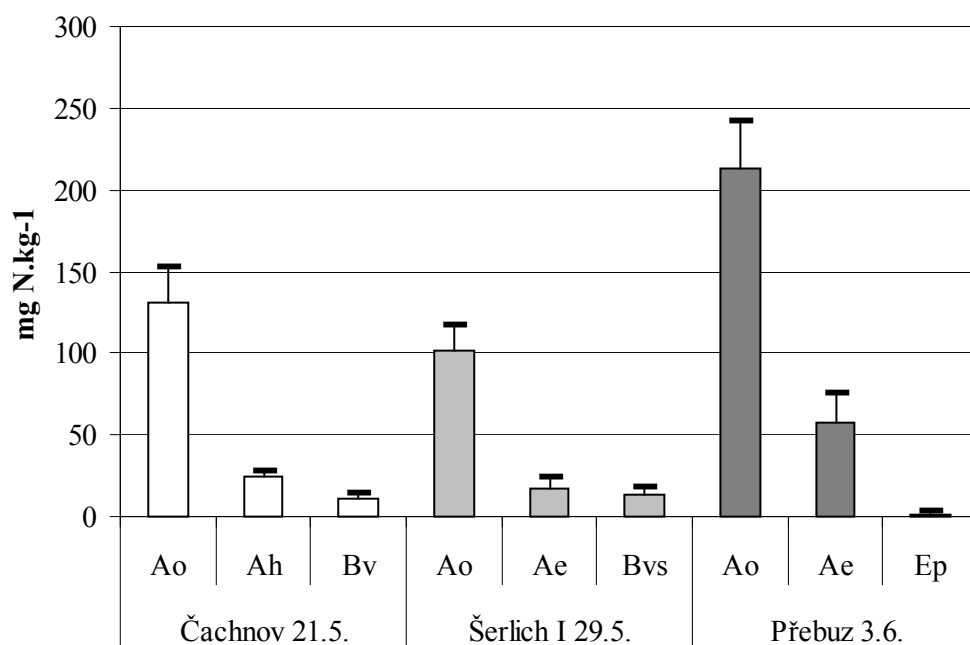


Aktuální obsah minerálního dusíku ($\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$) v půdě byl v některých případech neobvykle vysoký ($60,04 \text{ mg N.kg}^{-1}$ ve svrchním horizontu Ao v lokalitě Šerlich I).

Vysoký aktuální obsah minerálního N byl v lokalitě Šerlich I doprovázen i vysokými hodnotami obsahu nitrátového dusíku, od $3,4 \text{ mg}$ v horizontu Bvs po $11,4 \text{ mg NO}_3^-\text{-N.kg}^{-1}$ v horizontu Ao.

Biologický index dostupnosti dusíku (IDN) vyjadřující množství N vázaného v málo odolných organických vazbách, které mohou být během několika dnů až týdnů přeměněny na minerální formy dostupné pro rostliny, se pohyboval v rozmezí od $1,8 \text{ mg N.kg}^{-1}$ (horizontu Ep v lokalitě Přebuz) do $212,9 \text{ mg N.kg}^{-1}$ (horizont Ao v lokalitě Přebuz). Relativně nízký IDN v lokalitě Šerlich I v porovnání s aktuálními obsahy minerálního N je možnou adaptací půdní mikroflóry na snadnou dostupnost dusíku v půdě v podmínkách vysokých vstupů dusíku atmosférickými depozicemi.

Graf 2: Index dostupnosti dusíku v jednotlivých půdních horizontech k vyznačenému datu odběru. Vyznačeny jsou průměrné hodnoty + směrodatné odchylky (SD), $n = 3$.

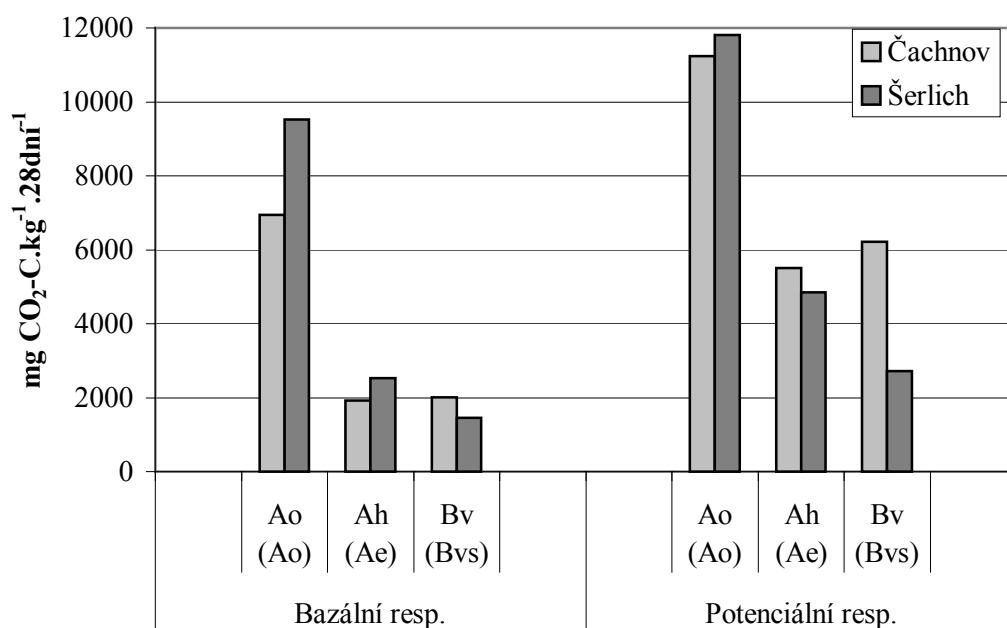


Laboratorní 28 - denní aerobní inkubaci půdních vzorků bylo zjištěno, že se hodnoty bazální a potenciální respirace na konci inkubačního období v rámci jednotlivých lokalit téměř nelišily. Životní aktivity mikroorganismů ve stimulovaném půdním prostředí mají u obou lokalit tendenci návratu k bazálním aktivitám.

Zatímco se bazální respirace ke konci inkubace svrchního půdního horizontu Ao u vzorků z lokality Čachnov snižuje, u horizontu Ao z lokality Šerlich I má tendenci až do konce inkubace stále růst a končí 28. den na hodnotě 476 mg CO₂-C. kg⁻¹.den⁻¹.

Kumulativního výdeje CO₂-C odpovídajícímu množství dodaného substrátu bylo dosaženo 6. až 9. den inkubace ve všech testovaných horizontech lokalit Čachnov a Šerlich I, pouze v horizontu Bvs (v lokalitě Šerlich I) byl dosažen až 19. den inkubace.

Graf 3: Kumulativní bazální a potenciální respirace během celého laboratorního inkubačního pokusu u různých genetických horizontů ovlhčených na 60 % MKVK (minerální horizonty na 50 % MKVK) z lokalit Čachnov a Šerlich I. Vyznačeny jsou průměrné hodnoty (n = 3).



Během inkubace byly zaznamenány velmi vysoké hodnoty bazální netto amonizace v horizontech Ao. V případě lokality Čachnov dosáhla bazální netto amonizace hodnoty 323,6 mg NH₄⁺-N.kg⁻¹.28 dnů⁻¹ a v případě lokality Šerlich I dosáhla bazální netto amonizace dokonce hodnoty 571,1 mg NH₄⁺-N.kg⁻¹.28 dnů⁻¹. Tyto výsledky mohou odrážet vysokou kapacitu půdních biot akumulovat v zatížených lokalitách vstupující dusík.

Při porovnávání výsledků získaných metodou 7 - denní anaerobní inkubace (IDN) a 28 - denní aerobní inkubace, došlo při aerobní inkubaci v horizontu Ao z lokality Čachnov k nahromadění takového množství amonného dusíku, které představuje více než dvojnásobné množství N stanoveného metodou IDN. V případě lokality Šerlich I bylo amonného dusíku téměř šestinásobné množství po aerobní inkubaci než N stanoveného metodou IDN.

Přidavek lehce rozložitelného C - a N - substrátu se projevil téměř ve všech případech snížením netto amonizace a netto nitrifikace.

Ve svrchním horizontu Ao z lokality Šerlich I, která je dusíkem více zatížená, byla po přidavku lehce rozložitelného C - a N - substrátu zjištěna zvýšená imobilizace amonného N a zvýšená netto nitrifikace.

Významný podíl nitrátového dusíku ve všech prováděných experimentech v půdních vzorcích z lokality Šerlich I, která je dusíkem pravděpodobně nejvíce zatížená, naznačuje pravděpodobně cestu výstupů dusíku, kterou se v lesním ekosystému vyrovnává vysoká úroveň vstupů N.

ZÁVĚR

Obecně lze říci, že vysoké hodnoty minerálního dusíku jsou typické pro půdní vzorky z horizontů Ao a Ae lokalit Šerlich I a Šerlich II u všech pokusů. Mikrobiální přeměny dusíku zjištěné v těchto půdách svědčí o možné adaptaci půdní mikroflóry na snadnou dostupnost dusíku v půdě.

Použitím dostupných metod bylo zjištěno, že v lesních půdách zvolených lokalit je zvýšená dostupnost N, která by mohla být způsobena vyšším přísunem dusíku atmosférickými depozicemi. To je jedna z možných příčin destabilizace zdravotního stavu smrkových porostů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Dostálová K. *Metodická omezení terénního studia mineralizace organických dusíkatých látek*. [Diplomová práce]. Brno, MZLU, 2004.

Peoples, M. B., Faizah, A. W., Rerkasen, B., Herridge, D. F. *Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field*. - ACIAR Monograph, 11, 1989, vii + 76 s.

Anderson, J. P. E. *Soil respiration*. In: Page A. L., Miller R. H., Keeney D. R. (eds.) *Methods of soil analysis*. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, Wisconsin, 1982, pp. 831 - 871.

Gloser, J., Tesařová, M. *Litter, soil, and root respiration measurement. An improved compartmental method*. *Pedobiologia* 18, 1978, 76 - 81.

Kinsbursky, R. S., Saltzman, S. *CO₂-nitrification relationships in closed soil incubation vessels*. *Soil Biol. and Biochem.*, 22(4), 1990, 571-572.

Příspěvek vznikl za podpory MŠMT 432100001.