MICROBIAL SOIL ACTIVITY IN SOILS SPONTANEOUSLY EMERGING ON NAKED ROCKS

Chmelár Š., Záhora J.

Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: simon.ch24@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this work is to gather available information about the primary colonizers, their characteristics, function and importance in the primary succession and pedogenesis. In the practical part, we dealt with the assessment of microbial activity in soils of different phases colonization and succession (primary colonizers - grass fellowship - forest - gley) on the site Uhlirsky vrch. To do this we used three methods. By using ionexchangers capturing available nitrogen during the growing period, we assessed the balance of nitrogen in the system "soil - microbe - plant" various phases of succession and pedogenesis. In a second experiment, we determined the representation of ecological groups of soil microorganisms on selective nutrient media culture. The third - the watercress-test we investigate the impact of extracting soil samples for plant seed germination and subsequent growth. Test results of available nitrogen in soil showed, that the balance of inputs and outputs has significantly different between the first and second stages of succession. This proves the hypothesis of accumulation of nutrients (including nitrogen) in succession, but given the pace of change in this balance and the nitrogen cascade hypothesis - that the impact of the synthesis of reactive nitrogen by human to ecosystems. Abundance of microorganisms were mostly predictable - directly proportional to the succession (e.g. fungi), or typical for the physiological group (e.g. fixators N_2). For plant growth and development in watercress-test proved the best soil of grass communities.

Key words: nitrogen cascade, Uhlirsky vrch, biofilm, biogenic crust, biogeochemical nitrogen cycle, succesion, primary colonizers

ÚVOD

V dnešní době velkých společenských potřeb nerostných surovin je člověk nucen k významným zásahům do krajiny. Je schopen změnit celkový ráz krajiny a odstranit vše živé včetně podmínek, které život umožňují. Tím je na prvním místě myšleno odstranění půdy. Pokud někde zmizí půda a s ní i živé organismy, organické látky a živiny, na místě zůstane pouze téměř sterilní hornina. Vzniká zde nový ekosystém, často naprosto odlišný od okolí. Zcela spontánně však začne probíhat primární sukcese a současně vytváření a vývoj nové půdy (pedogeneze). Počíná aktivitou prvních kolonizátorů holých skal, erozí hornin, pokračuje akumulací organických látek a střídáním rostlinných a živočišných druhů.

K takovémuto narušení (disturbanci) v krajině nedochází ale jen v důsledku lidské (antropogenní) činnosti. Někdy k tomu dochází i přirozeně, vlivem přírodních jevů, jako je například sopečná činnost. Lokalita Uhlířský vrch zažila oba tyto případy.

Uhlířský vrch je jednou z našich nejmladších sopek. Do dnešních dob se zde ale stihla vytvořit půda a sukcesní stádia dospěla do vrcholové fáze smíšeného lesa. Avšak od středověku do 60. let 20. století na jednom z jeho svahů probíhala těžba čediče. Zde se opět nastartovala primární sukcese od samého začátku. Dnes je v lomu stále patrné stádium primární kolonizace minerálního materiálu s živými organismy, ale také pokročilejší stádium travního společenstva na půdě, která se nachází v pokročilém stupni vývoje. Na severozápadním svahu se pak nachází, klimaxu blízké, lesní společenstvo vzniklé sukcesními pochody, které zde započaly od poslední sopečné činnosti Uhlířského vrchu.

Práce si klade za cíl posoudit mikrobiální aktivity právě těchto časově a prostorově oddělených fází sukcese, u nichž lze předpokládat rozdílný stupeň pedogeneze. Navíc se pokusíme srovnat tyto lokality s půdou, která prošla odlišnou trajektorií vývoje, neboť se nachází na místě s lokálně extrémními hydrologickými podmínkami – půda glejová, avšak na stejném půdotvorném substrátu.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování bilance dostupnosti dusíku

Abychom zjistili, jak se hospodaření edafonu a rostlin s dusíkem v různých stádiích sukcese navzájem liší, použili jsme metodu přímého zachytávání volných minerálních forem bezprostředně na stanovišti v půdě. K tomu jsme vyžili speciální plochá pouzdra s ionexem, jakožto jednu z mála metod podávajících použitelné informace o dostupnosti dusíku v půdě (Záhora et al., 2000).

V našem případě jsme použili iontoměniče ve formě disků. Je to válcovitý typ o vnitřním průměru 70 mm a šířce 5 mm. Kroužek je vyroben z novoduru a z obou stran opatřen polyamidovou síťkou UHELON (Silk & Progress, typ 130T, vel. oka 42 μm).

Náplní iontoměniče je směs ionexových zrn – katex a anex v poměru 1:1. Iontoměniče dodává firma PUROLITE pod obchodním názvem Purolite C100E (katex) a Purolite A520E (anex).

Stanovení zastoupení ekologických skupin mikroorganismů v půdě

Pro zjištění zastoupení jednotlivých ekologických skupin mikroorganismů jsme na každém studovaném stanovišti odebrali několik vzorků půdy ze stejné hloubky, ve které byly uloženy iontoměniče. Vzorky jsme vysušili a procedili 2mm sítem. Výsledný materiál jsme homogenizovali a do erlenmayerovy baňky odvážili 10 g, přilili 100 ml vody a nechaly 20 minut na třepačce. Z každého vzorku jsme do zkumavek naředili roztoky o koncentracích 10–2 až 10–7. Pro pěstování různých druhů mikroorganismů jsme si připravili následující selektivní média (živné půdy) a naočkovali je 1 ml roztoku výluhu půdy s danou koncentrací.

Řeřichův test fytotoxicity

Vzorky z jednotlivých sukcesních stádií jsme nakonec srovnali i řeřichovým testem fytotoxicity. Ten odhaluje inhibiční vlastnosti materiálu (v našem případě půdy) na růst rostlin. Jako model zde slouží semínka řeřichy pěstované na filtračním papíru s výluhem půdy.

Statistické zpracování

Průkaznost rozdílů mezi výsledky byla zpracována na úrovni 95% hladiny významnosti metodou analitycké rozptylu (ANOVA) v aplikaci STATISTIC 9, směrodatná odchylka (Sx) a grafy v aplikaci EXCEL.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Dostupnost dusíku v půdě

Stěžejním experimentem pro porovnání fungování jednotlivých sukcesních fází, bylo posouzení dostupnosti dusíku v jeho dvou základních reaktivních formách. Výsledky interpretuje tabulka č. 1.

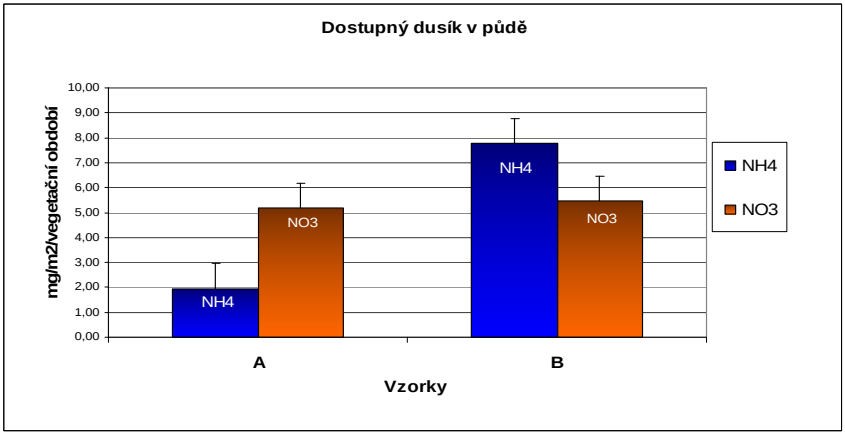
Tab. 1: Průměrné množství dostupného dusíku v půdě na sukcesních stádiích prvních kolonizátorů (A), travního společenstva (B), lesa (C) [Přepočet na mg N.m^{-2}.vegetační období$^{-1}$]. ^{a,b} označují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 99 %; „Sx" symbolizuje směrodatnou odchylku a „n" je počet opakování.

	A (S_x; n)	**B**	**C**	**G**
N-NH_4^+	1,95^b (1,89; 6)	7,78^a (2,81; 5)	17,86	**22,07**
N-NO_3^-	5,17 (4,17; 6)	5,46 (2,69; 5)	**25,33**	11,47

Mezi sukcesními stádii jsme nejvíce dostupného dusíku zachytily na iontoměničích aplikovaných v lesní půdě. Lesní půda se nachází nejblíže klimaxovému stádiu a je v ní největší zásoba organické hmoty – tedy i dusíku. Travní společenstvo disponuje prakticky stejným množstvím nitrátového dusíku jako substrát s primárními kolonizátory. Nitrátový dusík je ovšem pro mikroorganismy ve většině ekosystémů jen těžko využitelný. Proto preferují imobilizaci dusíku v amonné formě. Tímto směrem se tedy ubírá i naše pozornost – zde již travní společenstvo výrazně převyšuje (statisticky velmi významný rozdíl na 99% hladině významnosti) primární kolonizátory v množství dostupného amonného dusíku. Z tohoto rozdílu lze vyčíst, že substrát prvního sukcesního stádia není zdaleka tak nutričně bohatý na dostupný dusík a mikroorganismy v nich žijící jsou nuceny s ním hospodařit efektivněji, než v následujícím sukcesním stádiu. To, že je rozdíl hned mezi prvními dvěma fázemi sukcese na stejné lokalitě takto markantní, potvrzuje hypotézu, podloženou literárními zdroji o nadbytku dusíku na území celé Evropy (Sutton, 2011) a konkrétně i naší republiky (Oulehle, 2008). Tento rozdíl dokazuje, že velmi brzy po primárním stádiu sukcese, přítomná společenstva vyrovnávají svou bilanci dusíku na vstupu a výstupu. Dusík pro ně již přestal být limitujícím prvkem a zájem mikroorganismů se místo akumulace dusíku ubírá směrem k zajištění ostatních klíčových elementů v systému „půda – mikrob – rostlina“, např. na imobilizaci bazických kationtů (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+} a příp. dalších) a imobilizaci fosforu – dnes většinou limitujícího prvku. Tento rychlý vzestup „nezájmu“ o amonný (mikroorganismy nejlépe přijatelný) dusík mezi variantami „A“ a „B“ dokazuje záchyt tohoto přebytečného množství na iontoměničích v našem experimentu.

Největší množství dusíku ve formě NH_4^+ bylo zachyceno na lokalitě s glejovou půdou. Tento jev lze vysvětlit zamokřením, tzn. nedostatkem kyslíku pro oxidaci na formu NO_3. Navíc, jak bylo popsáno v mé bakalářské práci (Chmelár, 2009), se na toto stanoviště dostává mnoho vody, která potencionálně může přinášet živiny, tzn. včetně dusíkatých látek z výše položených poloh.

I přes typické redukční podmínky v této půdě zde bylo v průměru zaznamenáno významné množství dusíku v oxidované formě. Tento nepravděpodobný výsledek si vysvětluji narušením půdy při aplikaci iontoměničů a vlivem průsaku perkolátů s vysokým obsahem nitrátů z výše položených stanovišť. Nejvážnějším nedostatkem je však zřejmě to, že většina iontoměničů (4 ze 6) byla ztracena kvůli těžbě dřeva a pojezdu strojů na lokalitě. Tato skutečnost nebyla ohlášená a tedy ani dopředu předvídatelná. Takto vážné narušení ekosystému by ale stejně znemožňovalo zobecnění získaných výsledků. Proto v grafu srovnávajícím dostupnost dusíku není půda lesního ekosystému ani glejová půda uvedena.



Obr. 1: Graf srovnávající množství dostupného dusíku na sukcesním stádiu prvních kolonizátorů (A) a travního společenstva (B).

Stanovení zastoupení ekologický skupin v půdě

Druhým experimentem v našem výzkumu, bylo stanovení ekologických (fyziologických) skupin mikroorganismů v půdách jednotlivých sukcesních fází. Všechny celkové průměrné hodnoty shrnuje tab. č. 2.

Tab. 2: Průměrný počet KTJ v 1 g půdy.

	A	B	C	G
Fix. N	882700	**1664000**	842700	965000
Houby	100	1800	**2300**	1270
Celulolytické MO	97,5	235	**635**	90
Aktinomycety	12930	28800	68530	**86400**
MPA (bakterie)	285000	496200	677727	**1302500**
MPAř	**11830000**	5750000	6410000	9780000
MPAsp	370000	630000	**1200000**	730000
MPA - K	125000			
MPAř - K	6000000			

Zastoupení fixátorů dusíku je velice vyrovnané, pouze u travního společenstva je jejich počet zhruba dvounásobný. Statistické porovnání je uvedeno v tabulce č. 3.

Tab. 3: Statistická analýza variace zastoupení fixátorů dusíku (Tukeyův HSD test, 95% přesnost).

Vzorek	Počet Průměr	1	2
C	842667	a	
A	882667	a	
G	965333	a	
B	1610667		b

Je to výsledek v podstatě očekávaný, neboť většina mikroorganismů fixujících atmosférický dusík žije v těsné vazbě na kořeny rostlin, resp. na produkci energeticky bohatých látek v kořenových exudátech (viz lit. přehled). V tomto ohledu poskytují nejlepší podmínky právě travní ekosystémy – v našem případě sukcesní stádium „B“.

Mikroorganismy ve formě hyf mají mnoho kompetičních výhod a vůči mnoha stresům v okolí jsou značně odolné. V některých ohledech jsou však vybíravé. Jsou to aerobní organismy (zřejmě proto snížený stav u gleje) a mají vyšší nároky na vlhkost a především stálost životních podmínek. Tato stabilita je nejkritičtější právě u první fáze sukcese primárních kolonizátorů. Oproti ostatním stanovištím pokročilejších fází je zde minimum živé i mrtvé biomasy a teprve vznikající půda – typické znaky ekosystému s malou schopností homeostáze. Navíc jejich zastoupení i docela přesně koreluje s množstvím dostupné potravy – mrtvé organické hmoty. Statisticky podložené vyhodnocení rozdílů v zastoupení se nachází v tabulce č. 4.

Tab. 4: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu hub s 95% přesností.

Vzorek	Počet Průměr	1	2
A	100	a	
G	1266,667	a	b
B	1800	a	b
C	2300		b

Výsledek poměru abundance celulolytických mikroorganismů je velice podobný jako u hub, jen s ještě větší převahou u lesního ekosystému a s oslabením u gleje. S největší pravděpodobností, pokud přijmeme zažité schéma (abundance = ± aktivita a fyziologická funkce MO v systému), je toho příčinou mnohem větší zdroje celulózy a jí podobných látek v lesní půdě než kdekoli jinde a nepříznivé (anaerobní) podmínky pro rozklad a chudší zdroje v zamokřené půdě.

Tab. 5: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu celulolytických mikroorganismů s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Celulolytické MO	1	2
		Průměr		
4	G	30	a	
1	A	45	a	
2	B	70	a	
3	C	170		b

Aktinomycety patří mezi prokaryotické mikroorganismy s největší paletou (a tím i trofickou přizpůsobivostí) štěpících enzymů. Jejich početnost tedy nebude závislá ani tak na druhu dostupné potravy (jako např. u celulytických mikrobů), jako spíše na jejím celkovém množství. To koreluje i s naměřenými výsledky vzorků „A“, „B“ a „C“. Převládající početnost u glejové půdy (i když nijak extrémní) je proto poněkud překvapivá. Nejvhodnějším vysvětlením se mi jeví právě kompetiční výhoda v nízkých nárocích na typ zdroje potravy a schopnost fungovat v prostředí s kyslíkem i bez něj.

Tab. 6: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu aktinomycet s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Aktinomycety	1
		Průměr	
1	A	12933,33	a
2	B	28800	a
3	C	68533,33	a
4	G	86400	a

Množství bakterií se u každé následující sukcesní fáze zvyšuje, nejnižší je u kontrolního vzorku. Podle výše popsaných půdních podmínek během pedogeneze, navíc v konfrontaci s marginálním zastoupením u kontrolního vzorku lze opět přepokládat přímou závislost abundance na množství organických látek (potravy). Největší početnost u gleje lze vysvětlit aktivací „mrtvých“ a v půdě dosud neaktivních jednotek.

Tab. 7: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu bakterií s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Bakterie Průměr	1	2
1	A	57500	a	
2	B	240000	a	
3	C	455000		b
4	G	605000		b

Na masopeptonovém agaru, který byl 100krát ředěný se situace z části obrátila. Především u výluhu ze substrátu sukcesní fáze primárních kolonizátorů, kde bakterie dosáhly největšího zastoupení. Navíc, stejně jako u ostatních vzorků, o řád více, než na živiny bohatším médiu (neředěném). Je to přirozená reakce mikrobů, kteří měli metabolismus přizpůsobený mnohem menšímu množství živin ve svém okolí. V (živinově) horším prostředí proto prospívají mnohem lépe, nežli v bohatém agaru.

Tab. 8: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu bakterií kultivovaných na ředěném médiu s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Bakterie ř. Průměr	1	2
3	C	1420000	a	
2	B	1600000	a	
4	G	2160000	a	b
1	A	3260000		b

I přes tato vysvětlení je ale nutno podotknout, že se nejedná o příliš objektivní a transparentní metodu. To dosvědčuje i právě tento nesoulad výsledků a odlišnost trendů. Hlavní příčinou je, že umělé médium v laboratorních podmínkách se nikdy ani zdaleka nepřiblíží přirozeným podmínkám mikroorganismů v půdě. Vzorek půdy je vytržen z kontextu celého ekosystému, vysušen, jsou zničeny symbiotické a kooperační procesy. Skupiny zastupující dominantní část aktivního spektra mikrobů hynou a kultivovány jsou dosud životaschopné jednotky. Umělé živné selektivní agarové médium nikdy nehradí výživu mikroorganismům živících se metabolickými produkty jiných mikrobů a rostlin. Velkou část druhů půdní bioty dokonce nelze v laboratoři vůbec pěstovat – patří mezi skupinu nekultivovatelných mikroorganismů. Dodnes také není jasná proporce mezi příslušníky KTJ, kteří jsou životaschopní v původním prostředí a kteří jsou makroskopicky viditelní při kultivaci. Tato metoda poskytuje informace jen o zlomku životaschopných mikroorganismů, obvykle pouze o 1 – 9 %.

Množství bakterií vytvářejících spóry (jednotka schopná přežít nepříznivé podmínky, pasteraci) bylo řádově stejné jako u bakterií v klasické živné půdě i se stejným trendem mezi sukcesními stádii. Pouze u glejové půdy došlo ke zřetelnému propadu. Statisticky průkazný rozdíl však nebyl prokázán (viz tab. č. 9).

Tab. 9: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu sporulujících bakterií s 95% přesností.

Č. buňky	**Vzorek**	**Bakterie sp.** **Průměr**	**1**
1	A	366667	a
2	B	633333	a
4	G	733333	a
3	C	1200000	a

Řeřichový test

Na závěr jsme vzorky půd podrobily řeřichovému testu fytotoxicity. Všechny konečné hodnoty jsou shrnuty v následujících tabulkách č. 10 a 11.

Tab. 10: Naměřené výsledky

Kontrolní		**A**		**B**		**C**		**G**	
Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost
5,8 mm	93,88 %	6,5 mm	87,76 %	7,9 mm	85,71 %	6,4 mm	85,71 %	6,5 mm	86,36 %

Tab. 11: Fytotoxicita (%)

A	**B**	**C**	**G**
104,76	124,35	100,74	103,09

V testu klíčivosti mezi vzorky není patrný žádný významný rozdíl, zato všechny jsou jasně pod vzorkem kontrolním. To poukazuje na to, že roztok z každého vzorku půdy má jistou míru inhibice klíčivosti.Výsledky měření délky klíčků řeřichy dopadl naopak ve prospěch vzorků půd oproti kontrolnímu, i když rozdíl není příliš markantní. Tyto dva protichůdné trendy ale dokazují, že čím více je půda vyvinutá, její půdní roztok sice nepatrně inhibuje klíčivost semen, zato má ale naopak pozitivní vliv na ty, kterým se vyklíčit podařilo. To bývá vysvětleno přítomností většího množstvím živin, uhlíkatých organických látek, fytohormonů a také mikroorganismů usnadňujících život rostliny.

ZÁVĚR

Hlavním cílem mé práce bylo porovnat aktivitu půdních mikroorganismů v různých fázích kolonizace horninového substrátu a během sukcese. Jako modelová lokalita byl zvolen Uhlířský vrch a opuštěný lom čediče v jeho jižním svahu. Aktivitu mikroorganismů jednotlivých stanovišť jsme porovnávali třemi metodami: porovnáním hospodaření mikrobů s dusíkem – záchyt přebytečného reaktivního dusíku na iontoměničích, dále stanovením zastoupení základních ekologických (fyziologických) skupin mikroorganismů a nakonec řeřichovým testem. Jako typické fáze sukcese byly vybrány: A – minerální substrát s primárními kolonizátory; B – půda v určitém stupni vývoje s travním společenstvem; C – půda v lesním (stabilizovaném) ekosystému a G – glejová půda (půda vzniklá na stejné hornině, ale s odlišnou trajektorií sukcese a pedogeneze).

Rozdílné množství zachyceného amonného dusíku na jednotlivých stanovištích dokládá zvýšení jeho dostupnosti v průběhu sukcese. Statisticky vysoce významný rozdíl byl prokázán již mezi prvními dvěma fázemi sukcese, což nás vede k potvrzení faktů uváděných v literatuře o navyšování množství dusíku v globálním ekosystému a o dusíkové kaskádě. Srovnatelné množství zachyceného nitrátového dusíku v jednotlivých variantách může být projevem stabilizace výstupů dusíku z ekosystému ve změněném režimu celkového nadbytku dusíku.

Výsledky stanovení abundance dopadly většinou podle předpokládaných hypotéz – odchylky v početnosti zastoupení fyziologických skupin mikroorganismů většinou přímo souvisely s půdními podmínkami, dostupností živin (například houby a celulolytické mikroorganismy), nebo např. s ekologickými vztahy mezi mikroorganismy a vegetací (např. fixátoři vzdušného dusíku). Především u stanovovení počtu bakterií se potvrdila omezená vypovídací schopnost této metody (více viz kapitola Výsledky a diskuze). Ta se přesto dosud využívá a neexistuje za ni adekvátní náhrada.

Řeřichovým testem se podařilo prokázat u všech vzorků menší míru fytotoxicity ve srovnání s kontrolními vzorky s destilovanou vodou, ovšem nejvíce fytostimulativní (umožňující rychlý a zdravý růst a vývoj rostlin) byla půda travního společenstva.

Výsledky všech experimentů lze shrnout konstatováním, že mezi jednotlivými fázemi sukcese lze pozorovat kladný trend aktivity mikroorganismů, růst jejich početnosti, zvyšování dostupnosti dusíku a také to, že nejlepší podmínky k životu umožňovala půda travního a lesního – klimaxovému stavu nejbližšího společenstva.

Na základě této práce doporučuji další sledování dostupnosti dusíku v průběhu primární sukcese, se zaměřením na její ranní fáze. Naše experimenty dokázaly, že již zde dochází k nadbytku dostupného dusíku, což je jev nepřirozený a projevující se pouze několik posledních desetiletí. Tím se vysvětlují některé nově pozorované projevy rostlin – zvýšená produkce biomasy u mechorostů, invaze exotických druhů rostlin do našich ekosystému, ztráta biodiverzity a urychlený průběh sukcese.

LITERATURA

CHMELÁR Š., 2009: Výskyt hydromorfních znaků v půdních profilech lokality Uhlířský vrch. Bakalářská práce (in MS), MZLU v Brně, 58 s.

OULEHLE F., HRUŠKA J., 2008: Dusík v lesních ekosystémech. In Zrcadlo přeměn, Biogeochemie, Vesmír, č. 87, s. 886 – 890.

SUTTON M. A. et al., 2011: The European Nitrogen Assessment. Cambridge University Press, 664 s., dostupné také z WWW: <http://www.nine-esf.org/ENA-Book>.

ZÁHORA J., MIKULIČOVÁ M., PLŠKOVÁ M., TRČKOVÁ K., VESELKOVÁ K., 2000: Využití iontoměničů ke stanovení dostupnosti minerálního dusíku v rhizosféře luční půdy. In KRYŠTŮFEK V., ELHOTTOVÁ D., FROUZ J., ŠUSTR V. (eds.): Sborník 7. metodického semináře: Interakce půdních mikroorganismů, bezobratlých a kořenů rostlin, České Budějovice, ÚPB AV ČR, 53 s.