

## THE ROLE OF SOIL MICROORGANISMS IN THE CARBON CYCLE ON ALPINE MEADOWS

Nawrath A.<sup>1</sup>, Tůma I.<sup>2</sup>, Skládanka J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Agrochemistry, Soil Science, Mikrobiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xnawrath@node.mendelu.cz

---

### ABSTRACT

The aim of this thesis was to describe the carbon cycle, focusing on the role of microorganisms in carbon transformations. The laboratory experiment was made outside of the literary part, which examined the intensity of respiration of enriched with nitrogen and phosphorus on Salatín habitat in the Western Tatras. The intensity of basal and potential respiration by collecting the carbon dioxide respired on natrocalcite was then studied on these samples. It was proved that the strongest microbial activity took place in the soil samples fertilized by phosphorus. On the contrary, the supply of nitrogen led to a lower utilization rate by microorganisms, which were then no longer able to respond by higher intensity of respiration even if easily degradable organic matter was supplied. It was also proved that the microorganisms are able to utilize available nitrogen by immobilization in their biomass and thus prevent its leaching potential if the phosphorous is added.

**Key words:** Carbon, microorganisms, respiration, soil.

## ÚVOD

Uhlík je základem všem organických sloučenin a také nejvýznamnějším biogenním prvkem, umožňujícím život na naší planetě. K nejvýznamnějším zásobníkům uhlíku na Zemi řadíme atmosféru, oceán, půdu a litosféru. Vůbec největším zásobníkem je litosféra, kde jsou tři čtvrtiny vázány v uhličitanech (Šimek, 2008). Pro cyklus uhlíku je typický významný přenos mezi suchozemskými ekosystémy a oceány na jedné straně a atmosférou na straně druhé. Koloběh uhlíku je těsně spojen s dalšími koloběhy a to zejména kyslíku, dusíku a vodíku. Nejvýznamnější roli v jeho biochemickém cyklu zaujímá oxid uhličitý. Tento plyn ačkoli se v atmosféře vyskytuje v poměrně malém množství, v současnosti okolo 0,038 %, je ústřední látkou při fotosyntéze (Nátr, 2006). Přes jeho důležitost však cyklus uhlíku není plně prozkoumán a to zejména jeho množství fixované při fotosyntéze. Globálně nejsou také přesně stanoveny množství uvolňovaného oxidu uhličitého při mineralizaci. Pro komplexní porozumění globálního koloběhu uhlíku je tedy nutné tyto procesy nadále studovat a získávat tak zpřesňující informace o množstvích vstupů a výstupů uhlíku v jednotlivých ekosystémech.

Cílem práce bylo zjistit jaký vliv má zvýšená dostupnost dusíku a fosforu na aktivitu půdních mikroorganismů (respiraci půdních mikroorganismů), související s rychlostí mineralizace organické hmoty, a získané výsledky vyhodnotit a porovnat.

## MATERIÁL A METODIKA

Pokusné plochy se nacházely pod vrcholem Salatín, který je v nadmořské výšce 1900 m. n. m. Vegetační pokryv zde tvoří vyfoukávané alpské trávníky svazu *Juncion trifidi*. Průměrné roční teploty jsou zde -1,3 °C a průměrné srážky činí 1466 mm. Půdní pokryv zde tvoří železitý podzol.

Na popsané lokalitě bylo zřízeno celkem 12 pokusných ploch, každá o rozměrech 1,5 × 1,5 m. Plošky byly rozděleny do tří variant (bloků). Každý blok byl ovlivněn stimulací různého množství živin. blok 15N = 15 g N/m<sup>2</sup>/rok, blok P = 6 g P/m<sup>2</sup>/rok (aplikováno jako KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> v roztoku), blok C = kontrolní plocha, zde byla aplikována jen voda ve stejném množství.

Po odebrání půdních vzorků z nich byla získána jemnozeme, která se poté navažovala na analytických vahách a váženky s vzorky byly poté umístěny do elektrické sušárny z čehož se následně po odečtení hmotností získala sušina. Dále bylo pro následné výpočty potřeba zjistit maximální kapilární vodní kapacitu-MKVK. Jemnozeme přitom byla umístěna do novodurových válců opatřených polyamidovou sítí do výše asi 1 cm pod okraj. Následně byly válce zváženy na analytických vahách a umístěny do nádoby s vodou, kde se nechala voda vzlínat po dobu jednoho dne. Další den byly válce vyjmuty, umístěny na filtrační papír k odstranění přebytečné vody a opět zváženy. Stanovení sušiny a MKVK bylo nutné pro zjištění množství navážky do květináčů a pro výpočet množství vody k ovlhčení substrátu na 70 %.

Pro stanovení intenzity bazální a potenciální respirace byla zvolena metoda jímání vyprodukovaného CO<sub>2</sub> natrokalcitem. Ke vzorkům půdy bylo přidáno takové množství vody, aby se dosáhlo vlhkosti 70 %. Následně byly vzorky půdy umístěny do květináčů, které měly zespod polyamidovou síťku a shora překryty tenkou vrstvou písku k zabránění odpařování vody. Tyto květináčky pak byly zváženy na analytických vahách a vloženy do inkubačních nádob o objemu 1 litr. Inkubační nádoby byly opatřeny těsnícím gumovým uzávěrem, aby nedocházelo k úniku CO<sub>2</sub>. Spolu s květináčem byla do inkubační nádoby umístěna také kádinka s natrokalcitem o známé hmotnosti. Inkubační nádoba se poté vzduchotěsně uzavřela a umístila do temna za laboratorní teploty. Následně probíhalo denní měření hmotnosti vysušeného natrokalcitu po dobu 36 dní. Jelikož natrokalci na svůj povrch jímá nejen vydýchaný CO<sub>2</sub>, ale také vodu, tak byla před každým vážením kádinka s natrokalcitem na hodinu vložena do elektrické sušárny, aby se zbavil přebytečné vlhkosti a poté vložena do exsikatoru k vychladnutí.

Z nárůstu hmotnosti natrokalcitu, který je přímo úměrný respiraci mikroorganizmů, potažmo půdní mikrobiální aktivitě, bylo zjištěno množství prodýchaného CO<sub>2</sub>. Výsledná hodnota rozdílů hmotností natrokalcitu byla vynásobena empirickým koeficientem 1,45, zohledňujícím skutečnost, že uvolněný CO<sub>2</sub> nebyl v daném systému zachycen úplně. Množství čistého uhlíku je pak z molekuly CO<sub>2</sub> zjištěno přepočtem dle atomové hmotnosti. Kdy relativní atomová hmotnost uhlíku je 12,01 a kyslíku 16. Molekula CO<sub>2</sub> tedy má relativní atomovou hmotnost 44,01. Podíl hmotnosti uhlíku v molekule CO<sub>2</sub> je pak 0,27.

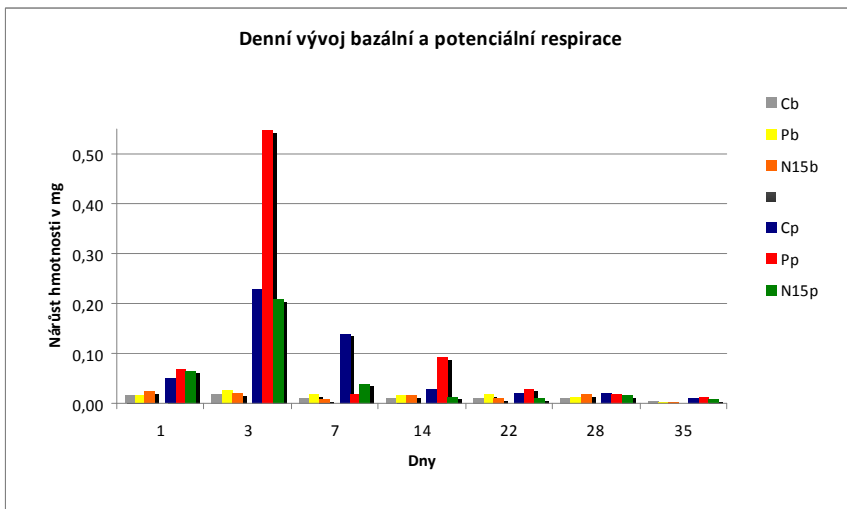
Bazální respirace ukazuje na respirační aktivitu mikroorganizmů, která vyplývá z jejich aktuálního stavu v půdě a zejména závisí na množství dostupného substrátu pro respiraci. Potenciální respirace je konstantní zvýšená rychlost respirace bezprostředně po přidání lehce využitelného substrátu do půdy. V našem případě bylo rozpuštěno 15 g sacharózy na 100 ml vody. Experiment pro stanovení potenciální respirace probíhal ve stejných krocích jako výše popsany pokus pro bazální respiraci, jen byla namísto destilované vody, k doplnění vlhkosti na 70 %, přidána destilovaná voda se stimulační dávkou sacharózy. Každý vzorek byl zpracován ve čtyřech opakování, z nichž se získaly průměry, které se následně použily k vyhodnocování.

Ke statistickému zpracování dat byla zjištěna směrodatná odchylka a vyhodnocení metodou ANOVA ( $P < 0,05$ ), kdy se sledovalo, zda jsou statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami půdního dýchání. Rozdílná písmena nad sloupce grafu pak značí statisticky průkazný rozdíl.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

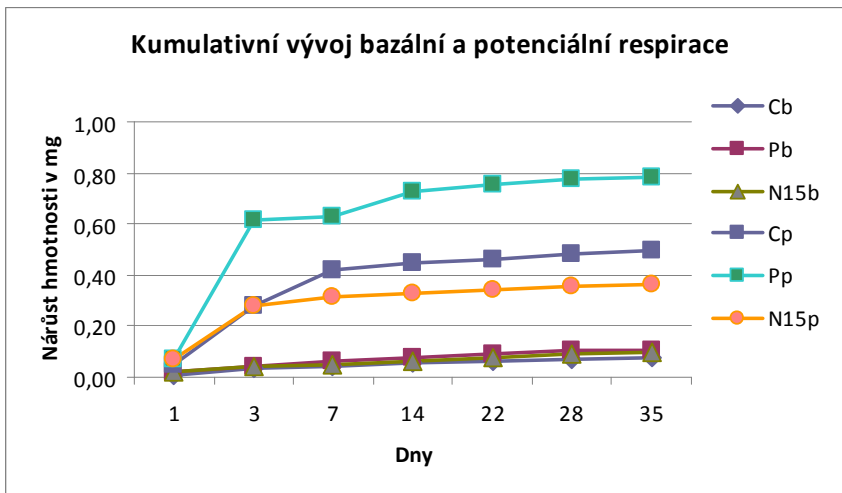
Zhodnotíme-li vývoj bazální a potenciální respirace během 36 dní (Obr. 1) zjistíme, že k nejintenzivnější respiraci došlo ve většině variant ve třetím dni od založení pokusu. Nižší úroveň respirace v prvních dvou dnech se dá vysvětlit adaptací mikroorganizmů na laboratorní teplotu. Ambrož (1979) udává, že v půdách mírného pásma se nachází převážný podíl mezofilních mikroorganizmů. Proto také po přizpůsobení se laboratorní teplotě, za které pokus probíhal a která mezofylům nejvíce vyhovuje a dostatek snadno rozložitelné organické hmoty, byla intenzita

respirace nejvyšší. V dalších dnech se pak dá klesající trend respirace vysvětlit tím, že mikroorganismy spotřebovaly lehce rozložitelný organický substrát a postupně začaly rozkládat složitější látky.



Obr. 1 Denní vývoj bazální a potenciální respirace, C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Na obr. 2 můžeme sledovat kumulativní vývoj bazální a potenciální respirace v průběhu celého pokusu. Z grafu lze vysledovat, že největší kumulativní nárůst respirace nastal v počátečních fázích pokusu, a to především u potenciální respirace po dodání snadno rozložitelného substrátu do půdy ve formě sacharózy. Toto lze přisuzovat rozvoji skupin mikroorganismů zaměřených na rychlé využití těchto snadno rozložitelných látek (r-stratégové). V dalších dnech, kdy mikroorganismy dodaný substrát spotřebovaly a začaly spotřebovávat hůře rozložitelné látky, byl již nárůst mnohem pozvolnější. U bazální respirace byl trend kumulativního nárůstu respirace po celou dobu pozvolný a poměrně vyrovnaný.



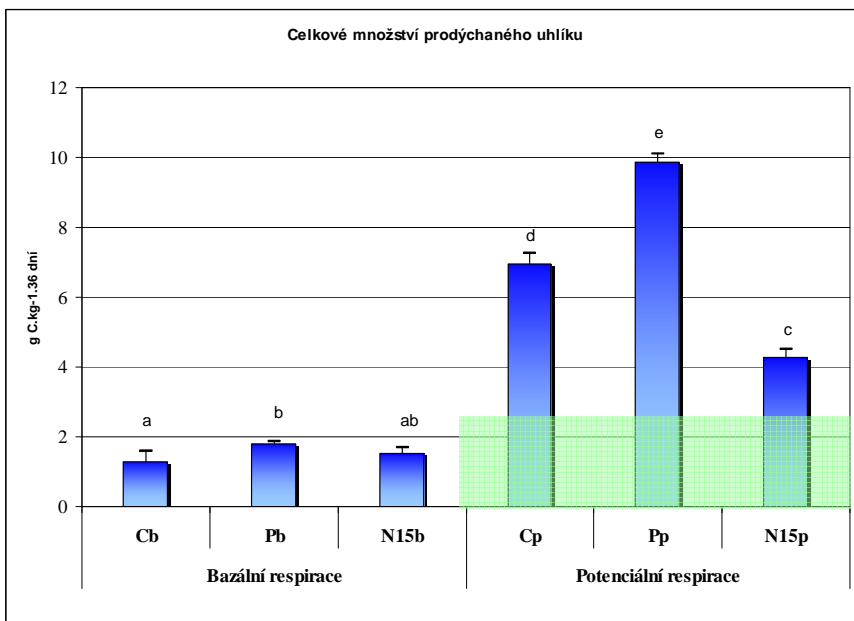
Obr. 2 Kumulativní vývoj bazální a potenciální respirace, C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Na obr. 3 je zobrazeno celkové množství uhlíku uvolněného za dobu trvání celého experimentu u kontrolního vzorku půdy, dále půdy přihnojované fosforem a půdy přihnojované dusíkem. V levé části grafu vidíme intenzitu bazální respirace. Bazální respirace odráží reálnou aktivitu mikrobiálních společenstev. Při porovnání kontrolního vzorku se vzorkem, který byl přihnojován fosforem zjistíme, že došlo k statisticky průkaznému nárůstu respirace oproti kontrolnímu vzorku. Vzorek půdy přihnojované dusíkem nevykázal statisticky průkazný nárůst respirace oproti kontrolnímu stanovišti. Z výsledků bazální respirace lze tedy usuzovat, že sledované půdy jsou dostatečně saturovány dusíkem a jeho další přidání nemá na aktivitu mikroorganismů větší pozitivní vliv. Naopak dodání fosforu je provázeno zvýšenou půdní respirací. To znamená, že fosfor je zde v určitém deficitu a může být limitujícím prvkem. Může to být způsobeno buď již samotnou pedogenezí, vlivem matečné horniny chudé na fosfor nebo nízkým pH, často ovlivněným kyselými depozicemi. Marendiak et al. (1987) uvádí, že při nízkých hodnotách pH dochází k tzv. zvrhávání fosforu, kdy se sloučeniny fosforu adsorbují na půdní částice a stávají se tak nedostupnými. Právě extrémní acidifikace zdejších půd, byla prokázána Bowmanem et al. (2008).

V druhé části grafu je patrný nárůst potenciální respirace oproti bazální. Potenciální respirací rozumíme konstantně zvýšenou rychlost respirace, která nastává po přidavku lehce využitelného substrátu (Šantrůčková, 1993), v našem případě roztoku sacharózy. Představuje tak maximální aktivitu půdního mikrobiálního společenstva za optimální dostupnosti organických látek. Porovnáme-li intenzitu potencionální respirace u kontrolního vzorku půdy a vzorku přihnojovaného fosforem (Obr. 2,3), je zřejmé, že množství prodýchaného CO<sub>2</sub> bylo po dodání fosforu statisticky průkazně vyšší. Varianta s vyšším vstupem dusíku vykazovala průkazně nejnižší hodnotu potencionální respirace. Malý rozdíl mezi bazální a potencionální respirací indukuje přítomnost využitelného

organického materiálu v půdě. V našem případě to neplatí, neboť zjištěná potenciální respirace je i několikanásobně vyšší než bazální. Je zde, a to především ve variantě s přidáním P, tedy možno uvažovat, že v této variantě by společenstvo půdních mikroorganismů bylo schopno rozložit mnohem více organické hmoty než je přítomno na stanovišti díky omezenému množství organické hmoty v půdě a relativně malému přísunu rostlinné biomasy ve formě opadu tohoto horského ekosystému.

Světle zelená barva v pravé dolní části obr. 3 značí množství dodaného uhlíku ve formě stimulační dávky sacharózy. Je tedy patrné, že přidáním lehce dostupného substrátu došlo ke stimulaci mikrobiálního společenstva, které následně začalo využívat i hůře dostupný uhlík v půdní organické hmotě. Dny ve kterých došlo k prodýchání většího množství uhlíku, než bylo dodáno sacharózou zobrazuje tab. 1. Z tabulky je také patrné, že nejrychleji probíhala respirace u vzorků půd s dodaným fosforem, kdy došlo k prodýchání dodaného uhlíku v podobě sacharózy již ve třetím dnu. Celkově došlo vlivem dodání stimulační dávky sacharózy k prodýchání téměř pětinašobku množství uhlíku než bylo dodáno sacharózou. Nejpozději bylo množství dodaného uhlíku prodýcháno u vzorku půdy s dodaným dusíkem a celkově došlo k prodýchání pouze dvojnásobku uhlíku dodaného sacharózou. To ukazuje na malou schopnost rozložit případně zvýšené množství dodané organické hmoty.



Obr. 3 Množství zachyceného uhlíku při bazální a potenciální respiraci za dobu 36 dní. Rozdílná písmena nad sloupci znamenají statisticky průkazný rozdíl (ANOVA,  $P < 0,05$ ). C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Tab. 1 Dny ve kterých bylo dosaženo překročení stimulační dávky sacharózy.

Vzorek půdy	Překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Dvoj násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Troj násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Čtyř násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy
Cp	4 den	8 den	20 den	-
Pp	3 den	4 den	6 den	16 den
N15p	5 den	29 den	-	-

Z výše uvedených faktů lze usoudit, že dusík není pro mineralizaci organické hmoty na alpských loukách v lokalitě Salatín limitujícím prvkem. Naopak vyplývá, že je ho v půdách dostatek a to pravděpodobně vlivem antropogenní činnosti a dálkového přenosu.

Rychlost mineralizace, též intenzita půdního dýchání, závisí na množství a složení organické hmoty. Je-li tedy v půdách dusíku a ostatních biogenních prvků dostatek, závisí rychlost mineralizace na množství biomasy, která se do půdy dostane. Halada et al. (2006) na této lokalitě zkoumali vliv přihnojování dusíkem a fosforem na druhové složení porostu a množství nadzemní biomasy. Vliv na druhové složení zde téměř zaznamenán nebyl, což jak dokládají, je způsobeno zřejmě tím, že zdejší nízké pH umožňuje růst jen skupině tolerantních druhů rostlin. Snížilo se jen nepatrně množství druhů lišejníků, mechů a bylin. Změny v množství nadzemní biomasy však patrné byly. Při dodání zvýšených dávek dusíku došlo k úbytku nadzemní biomasy, zatímco při přidání fosforu byl trend zcela opačný.

Bowman et al. (2008) uvádí, že následkem nadměrných depozic dusíkem v uplynulém půlstoletí došlo ve střední Evropě a severní Americe k acidifikaci půd a snížení druhové diverzity. Půdy horských poloh jsou velmi mělké a tudíž mají jen omezenou schopnost izolovat větší množství dusíku a hrozí jeho vyplavování. Acidifikace pak má za následek vyplavování iontů vápníku a hořčičku, což vede k dalšímu okyselení. Jsou-li tyto kationy vyplaveny začne docházet k uvolňování hliníku z půdy, často až k toxickým hladinám. Bowman et al. (2008) na lokalitě Salatín také prvně upozornil na možnou toxicitu železa, ke které může docházet při extrémních depozicích dusíku.

## ZÁVĚR

Ze získaných výsledků lze usoudit, že nejvíce limitujícím prvkem pro rozklad organické hmoty v těchto horských ekosystémech je fosfor. Bylo zjištěno, že dodání fosforu spolu se snadno rozložitelnou organickou hmotou je schopno stimulovat mikrobiální společenstva, která pak mají větší potenciál rozložit i hůře dostupný uhlík v půdní organické hmotě. Také intenzita půdní

respirace je nejvyšší při dodání fosforu. Fosfor je tedy na těchto půdách v nedostatku, což je dáno zřejmě nízkými hodnotami pH. Naopak dusík je zde, zřejmě vlivem antropogenní činnosti v nadbytku. Jeho dalším dodáním tedy mikrobiální společenstvo již není schopno zareagovat zvýšením respirace na dodaný snadno rozložitelný organický substrát. Bylo však prokázáno, že dodáním fosforu jsou mikroorganismy schopny dodaný dusík imobilizovat do své biomasy a jeho vyplavování takto omezit. Lze tedy konstatovat, že pokud bude vlivem lidské činnosti v těchto ekosystémech dusíku přibývat bude to mít následný negativní dopad na půdní mikrobiální společenstva a tedy i intenzitu rozkladu půdní organické hmoty, což může vést k následnému zvýšení vyplavování dusíku a acidifikaci půd.

## LITERATURA

- Ambrož, Z., 1979: *Zemědělská mikrobiologie*. Vysoká škola zemědělská v Brně, 94 s.
- Bowman, D. W., Cleveland, C. C., Halada, L., Hreško, J., Baron, S. J., 2008: Negative Impact of Nitrogen Deposition on Soil Buffering Capacity. *Nature Geoscience*, roč. 1, s. 767-770.
- Halada, L., Záhora, J., Halabuk, A., Szostková, M., Holub, P., Tůma, I., 2008: Microbial Respiration and Nitrogen Transformation in Mountain Soil.
- Marendiak D., Kopčanová L., Leitgeb S., 1987: *Polnohospodářská mikrobiologie*. Příroda, Praha, 444 s.
- Nátr L., 2006: *Země jako skleník*. Academia, Praha, 142 s.
- Šantrůčková, H., 1993: *Respirace půdy jako její biologické aktivity*. Rostlinná výroba, roč. 39, s. 769-778.
- Šimek M., 2008: Skleníkové plyny v půdě 1, *Vesmír*, ročník 87, s. 600-604.