

PHOSPHATE ACTIVITY OF MICROORGANISMS IN PLANT COMMUNITIES SOILS AFFECTED BY CLIMATE CHANGE

Pavlíková D., Szostková M., Záhora J.

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

E-mail: ditapavlikova@seznam.cz

ABSTRACT

Acidification of the environment can result in some areas in violation of a critical threshold load for the current vegetation. At the site Kněhyně (1100 meters above sea level) in the Moravian-Silesian Beskydy Mountains (CR), which is strongly affected by air pollution and climatic fluctuations, was observed strikingly high incidence of fern *Athyrium distentifolium*. In our work we elicit related changes of soil microbial activity occurring in locations of *Athyrium distentifolium* compared with the locations of original plant community. The main mechanisms used by organisms to decomposition of organic substances, mineralization and release of nutrients are hydrolytic enzymatic reactions. Therefore, our primary objective is an evaluation of enzymatic activity of soil microorganisms in soils affected by climate change and acidification. First experiments we focused on the determination of phosphatase activity (alkaline and acid) in soil samples taken in spring and summer of 2009. To determine the activity of acid and alkaline phosphatases is applied revised methodology by Tabatabaie and Bremner (1969) using *p*-nitrophenol (pNPP) as substrate.

We compare the representative soil samples from three habitats: from the vicinity of the root system *Athyrium distentifolium*, from among these plants, and from the original plant communities without the presence of ferns. The measurement results show that phosphatase activity is inversely proportional to the distance from their roots both in summer and spring soil. This finding corresponds to findings Szostková and Záhora (2007), which indicates a higher amount of bacteria and bacterial spores in the soil in the immediate vicinity of ferns *A. distentifolium* than in between plants. Comparison of summer and spring soil showed higher values of phosphatase activity in the soil over the summer season. Spring soil shows generally increased alkaline phosphatase activity, summer soil has however a higher activity of acid phosphatase.

Key words: soil microorganisms, phosphatase activity, *Athyrium distentifolium*

Acknowledgments: The contribution was supported by the Research plan No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to changes in climate" of the CR Ministry of Education and by the Research plan IAA600050616, which is financed by the GA Academy of Sciences of the Czech Republic.

ÚVOD

Klimatické změny a dlouhodobé změny chemizmu atmosféry představují v dnešní době hrozbu pro vyváženou strukturu a funkci mnoha ekosystémů. Okyselení prostředí může vést v některých oblastech k překročení kritické hranice únosnosti prostředí pro stávající vegetaci. V lokalitě Kněhyně (1100 m n. m.) v Moravskoslezských Beskydech (ČR), která je silně ovlivněná znečištěním ovzduší a klimatickými výkyvy, byl zaznamenán častý výskyt kapradiny *Athyrium distentifolium* (papratka horská). Papratka horská (čel. papratkovité) je 20 až 150 cm vysoká cévnatá rostlina, chinofilní kapradina, která roste v nadmořských výškách nebo zeměpisných šířkách, ve kterých má zabezpečený dlouhotrvající sněhový pokryv. Žije na různých substrátech, jejichž pH McHaffie (1999) udává v rozsahu 3,2 až 4,5.

Zvláště dobrým časným indikátorem změn půdních vlastností je aktivita půdních enzymů (Carter, 1986; Powlson et al., 1987; Acosta-Martinez and Tabatabai, 2000). Výhodou je jejich schopnost rychle reagovat na změny v nakládání s půdou, jejich vztah k biologii půdy a snadné analyzování. Enzymatické reakce jsou hlavními mechanismy, které využívají půdní mikroorganizmy k rozkladu organických látek, mineralizaci a uvolňování živin (dusíku, fosforu, síry aj.). Hlavním faktorem ovlivňujícím biopolymery v půdě, jejich transformaci na látky využitelné pro rostliny či mikroorganizmy, je rychlost enzymatických reakcí. Sledování aktivity těchto enzymů je proto možné využít jako významný klíč k pochopení interakcí mezi kapradinou a půdní mikroflórou vedoucí k intenzivnímu šíření kapradiny v těchto extrémních podmínkách, kde dochází k rozpadu původních rostlinných společenstev.

I když se výzkumem enzymatických reakcí v půdě v minulosti zabývala řada autorů, dosud není vypracována standardizovaná metodika pro jejich stanovení.

MATERIÁL A METODIKA

Stanovili jsme aktivitu obou fosfatáz (alkalické a kyselé) v půdních vzorcích odebraných na jaře a v létě 2009. Nejprve jsme odebrali reprezentativní půdní vzorky ze tří stanovišť: z blízkosti kořenového systému *Athyrium distentifolium*, z míst mezi rostlinami a z původního rostlinného společenstva. Vzorky jsme po odběru rozmělnili a homogenizovali. Ze vzorků jsme odstranili větší části skeletu, rostlin a snadno rozeznatelné půdní živočichy. Po prosušení (24 hodin při laboratorní teplotě) jsme půdu proseli sítím s otvory o průměru 2 mm. Poté jsme zjišťovali u půdy hodnoty maximální kapilární vodní kapacity (MKVK) a sušinu a poté jsme vzorky uložili do PVC sáčků, zvážili a skladovali při teplotě 4 – 8 °C. Před vlastním zahájením pokusu jsme půdu upravili na 70 % MKVK.

Principem stanovení aktivity alkalických fosfatáz (EC 3.1.3.1.) a kyselých fosfatáz (EC 3.1.3.2.) je měření vznikajícího produktu hydrolyzy esterů. Metoda je založena na skutečnosti, že při této reakci enzym nerozlišuje mezi organickými skupinami R a katalyzuje i přeměnu syntetických analogů. Proto lze enzymatickou reakci provádět s nejrůznějšími substráty. Průběh reakce je pak sledován spektrofotometricky. Pro stanovení aktivity kyselých a alkalických fosfatáz jsme využili upravenou metodiku podle Tabatabaie a Bremnera (1969) s využitím *p*-nitrofenylfosfátu (PNPP) jako substrátu. Jedná se o chromogenní substrát, který se při reakci mění na žlutě zbarvený 4-nitrofenolátový anion.

Vznikající PNP je následně měřen spektrofotometricky při vlnové délce 400 nm. Analýzu jsme provedli dvakrát, výsledky jsou průměrem získaných hodnot. Fosfatázová aktivita půdních mikroorganismů je vyjádřena v $\text{nmol PNP} \cdot \text{mg}^{-1}$ (sušiny) $\cdot \text{min}^{-1}$.

Charakteristika půdních vzorků:

Lokalita: Kněhyně (Moravskoslezské Beskydy, Česká republika) – nadmoř. výška 1140–1250 m n. m

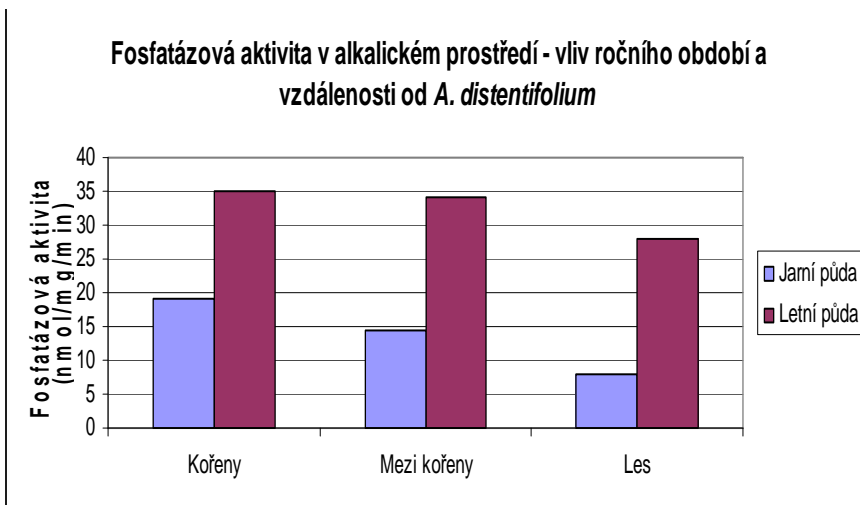
Půda: spodo-dystric. cambisol, mírně kamenitá, vysoce kyselá půdní reakce (pH 3,46 – 4,06, pH 2,82 – 3,49), sušina v rozmezí 44,5 % až 60 %, organická hmota 32,45 – 40,87 %

VÝSLEDKY A DISKUZE

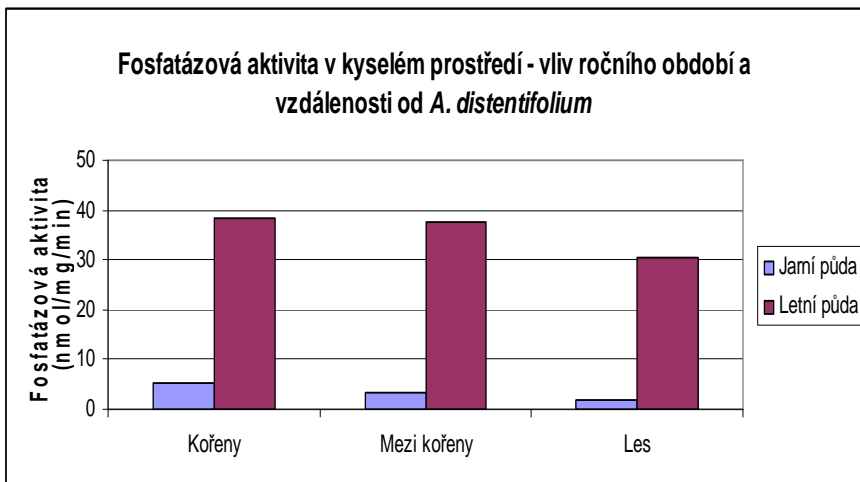
Porovnáváme reprezentativní půdní vzorky ze tří stanovišť: z blízkosti kořenového systému *Athyrium distentifolium*, z míst mezi těmito rostlinami a z původního rostlinného společenstva bez přítomnosti kapradin.

Z výsledků měření vyplývá, že aktivita obou fosfatáz je nepřímo úměrná vzdálenosti od kořenů kapradin. Toto zjištění odpovídá závěrům Szostkové a Záhory (2007), kteří uvádějí vyšší množství bakterií a bakteriálních spór v půdě v bezprostřední blízkosti kapradiny *A. distentifolium* než v místech mezi rostlinami. Srovnání letní a jarní půdy ukázalo vyšší hodnoty fosfatázové aktivity u půdy letní oproti jarní. Jarní půda vykazuje celkově větší aktivitu fosfatáz alkalických, letní půda má však větší aktivitu kyselých fosfatáz (obr. 1 a 2).

Obr. 1 Fosfatázová aktivita v alkalickém prostředí – vliv ročního období a vzdálenosti od *A. distentifolium* ($C_{PNPP} = 64 \text{ g/l}$)



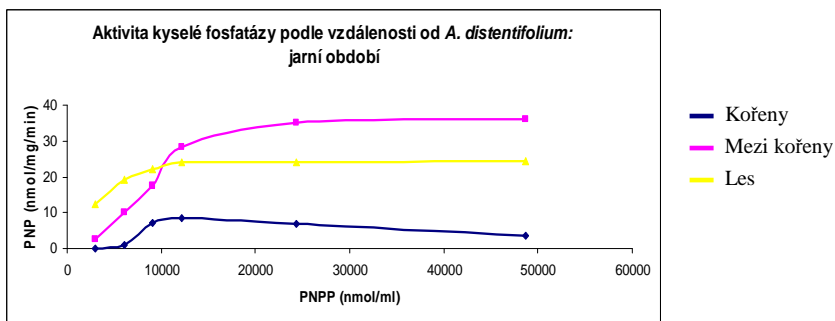
Obr. 2 Fosfatázová aktivita v kyselém prostředí – vliv ročního období a vzdálenosti od *A. distentifolium* ($C_{PNPP} = 64 \text{ g/l}$)



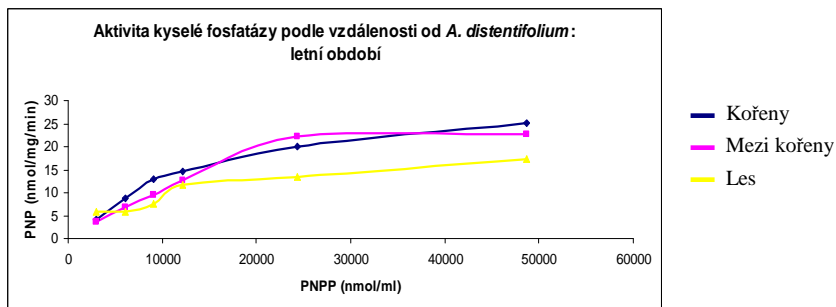
Aktivita kyselé fosfatázy v jarních vzorcích odebraných v blízkosti kořenového systému *A. distentifolium* dosahovala jen 14,3 % aktivity lesní (kontrolní) lokality. V létě pozorujeme situaci zcela opačnou, kdy dochází k prudkému zvýšení (85,7%) fosfatázové aktivity mikroorganismů v blízkosti kořenů této kapradiny (obr. 3 a 4).

Obdobné výsledky jsme naměřili při stanovení alkalické fosfatázy. Lesní půda vykazuje na jaře vyšší enzymatickou aktivitu přítomných mikroorganismů, která ale v letních měsících mírně klesá (pokles o 17,0 %). Naopak nárůst hodnot alkalické fosfatázy v tomto období u vzorků odebraných v blízkosti kořenů *A. distentifolium* (zvýšení o 85 %) svědčí o zvýšení metabolické aktivity přítomných půdních mikroorganismů či zvyšování jejich počtu (obr. 5 a 6).

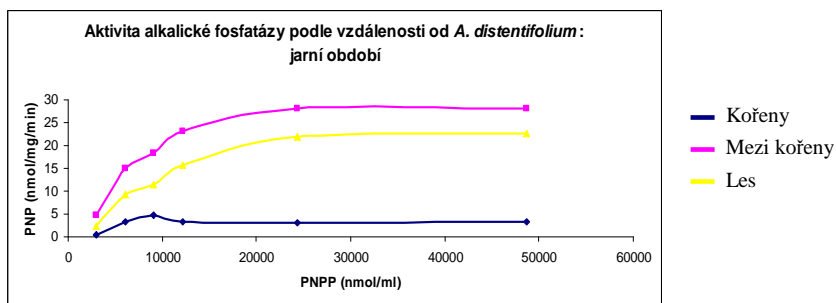
Obr. 3 Aktivita kyselé fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: jarní období



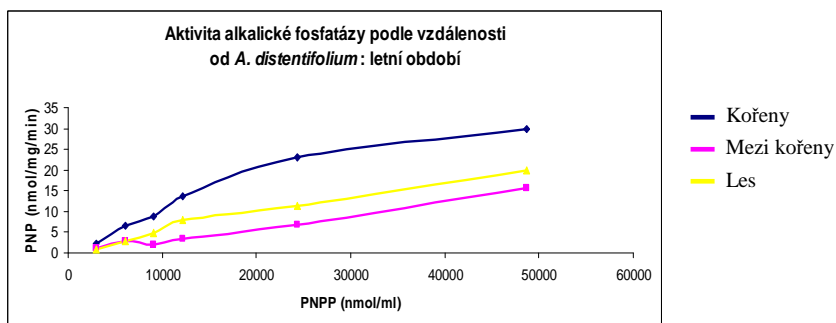
Obr. 4 Aktivita kyselých fosfatáz podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: letní období



Obr. 5 Aktivita alkalické fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: jarní období



Obr. 6 Aktivita alkalické fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: letní období



ZÁVĚR

V současné fázi experimentu výsledky ukázaly pozitivní vliv kapradiny *Athyrium distentifolium* na fosfatázovou aktivitu půdních mikroorganismů. Pokusy však stále probíhají a předpokládáme, že studium dalších enzymů poskytne komplexnější pohled na danou problematiku.

LITERATURA

Acosta-Martínez V., Tabatabai M. A (2000): Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fert. Soils*, 31: 85-91.

Carter M. R. (1986): Microbial biomass as an index for tillageinduced changes in soil biological properties. *Soil Till. Res.*, 7: 29-40.

McHaffie H. S. (1999): *Athyrium distentifolium* var. *flexile*: an endemic variety. *Bot. J. Scotl.*, 51, 227–236.

Powlson D. S., Brookes P., Christensen B. T. (1987): Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 19: 59-164.

Szostková M., Záhora J. (2007): Microbial nitrogen transformation in soil covered with *Athyrium distentifolium* in deforested mountain area. In Kosalec I. *Power of microbes in industry and environment*, Book of abstracts. Zagreb, Chorvatsko: Pressum d.o.o.: 139. ISBN 978-953-96567-5-9.

Tabatabai M. A., Bremner J. M. (1969): Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1: 301-307.