

EFFECT OF CARBON STIMULATED MICROBIAL ACTIVITY ON PLANT GROWTH AND LOSS OF NITROGEN FROM THE SOIL

VLIV UHLÍKEM STIMULOVANÉ MIKROBIÁLNÍ AKTIVITY NA RŮST ROSTLIN A
ZTRÁTY DUSÍKU Z PŮDY

Kintl A., Plošek L., Hynšt J., Tůma I., Záhora J.

Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkintl0@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the effect of added carbon (C) on activity of soil microorganisms and growth of plants in soil fertilized with high level of mineral nitrogen (N). Soil was sampled at the locations of protected area of water catchment Březová nad Svitavou. Selected experimental area is included in vulnerable area (according to Nitrate direction). Samples of soil were sieved, homogenized and placed into 125 ml experimental pots. All pots were planted with model crop *Lactuca sativa*. For simulation of different level of nutrient availability, urea was applied at the rate of 175 kg N/ha, commercial phosphate was applied as a source of P – 35 kg/ha of P and ground cellulose was used as a source of C. The treatments were: control, addition of N + C; N + P + C; C; N and N + P. At the end of experiment, basal respiration was measured to determine activity of soil microorganisms and substrate induced respiration was measured to determine soil microbial biomass. Leaching of N during experiment was measured using extraction of mineral N, adsorbed in ion exchange resins placed under experimental pots in flat plastic holders. Production of aboveground biomass of cultivated plants was also determined (expressed as g of dry matter). Significant differences were observed between the rates of basal respiration in soils amended with C and unamended ones. It indicates increased activity of microbial communities in treatments amended with cellulose. Addition of cellulose also increased the rate of substrate induced respiration, that indicates higher amount of microbial biomass in these treatments.

Amount of aboveground biomass was without difference in control and treatment C+N+P. At the treatment with amendment of cellulose, lowest growth of aboveground biomass of indicator plant was observed. It was probably caused by strong competition with microbes on nutrients. Also the treatment N+C was not suitable for plant growth and the plants died.

Results suggest that high level of mineral N causes leaching of N from soil and they can have impact on cultivated plants. Addition of C may eliminate these effects of N application. However, at excessive level of C microbial community compete with plants on nutrients. When we add sufficient amount of nutrients, microbial activity increases and conditions remain suitable for plant growth.

Key words: soil carbon, microbial activity, plant growth

Acknowledgments: This work was supported by the project NAZV reg. no: QJ1220007.

ÚVOD

Jímací území vodního zdroje Březová nad Svitavou je zdrojem pitné vody pro brněnskou oblast a okolí. Z převážné části využívá zásoby vody ze střednoturonského kolektoru křídového souvrství Ústecké synklinály. Jedná se o velmi kvalitní podzemní vodu, v níž však, bohužel, dochází k mírnému, ale stálému nárůstu koncentrace nitrátů a to i přes radikální omezení aplikace průmyslových hnojiv již před více než 20 lety (Nohel et al., 2008). Zkoumané lokality se nacházejí v Ochranném pásmu vodního zdroje (OPVZ II. Stupně) Březová nad Svitavou a jsou zařazeny do zranitelné oblasti (dle Nitrátové směrnice, prováděcí předpis NV 103/2003 Sb.).

Za stávajících podmínek, kdy je určujícím hlediskem bezprostřední zisk, není ekonomicky rentabilní produkce možná bez přidavku dusíku, jehož nedostatek limituje výnos. Dusík je do půdy dodáván především ve formě minerálních hnojiv s obsahem NO_3^- a NH_4^+ (N_{min}). Ale dodávat rostlinám minerální dusík je žádoucí pouze v takové míře, aby nedocházelo k jeho ztrátám. Bylo empiricky zjištěno, že pro zajištění dostatku minerálních forem dusíku v rhizosféře pěstovaných plodin, je nutno hnojit dusíkem v nadbytku. Rostlinami nevyužitý minerální dusík, snižující poměr C:N v půdě, může stimulovat všudypřítomné půdní mikroorganismy k vyšší aktivitě a tím i k mineralizaci.

Zvyšuje se tak riziko úbytku organické hmoty, dále je část nadbytečného dusíku v půdě nitrifikována za vzniku NO_3^- (Záhora, 2011). Vysoká pohyblivost tohoto aniontu v půdě umožňuje jeho snadné vyplavení z orníčního profilu v doprovodu bazických kationtů. Vyplavení nitrátového dusíku z orníční vrstvy nejen znemožňuje jeho dalšího využití při tvorbě biomasy a potenciálního výnosu, ale také negativně ovlivňuje kvalitu podzemní vody.

Uhlíkaté látky jsou významným zdrojem energie pro mikrobiální procesy a tím i hnacím motorem půdní mikrobiální aktivity, která je nezbytná pro mikrobiální transformace půdního dusíku. Pro funkčnost mikrobiálního společenstva je důležité zastoupení biogenních prvků, které udává Redfieldův poměr, jež vyjadřuje molekulární poměr mezi uhlíkem, dusíkem a fosforem v organismech. Tento poměr je 106:16:1 tzn., že na každý 1 atom fosforu připadá 16 atomů dusíku a 106 atomů uhlíku. V nespočetných výzkumech bylo zjištěno, že terestrické prostředí má stejné zastoupení uhlíku, fosforu a dusíku v rostlinné biomase (Elser a kol 2000).

Obsah organických složek (uhlíkatých sloučenin), který tvoří jen malý podíl celkové hmotnosti (zpravidla se pohybuje v rozmezí 2-5%), významně ovlivňuje vlastnosti půdy a život v ní, a právě obsah uhlíku, prezentující rozhodující element organických sloučenin, odlišuje půdu od neživé zvětraliny (regolítu) původního geologického substrátu. Význam organické části půdy byl znám

jíž v dávné minulosti (Vaněk, 2010), je základním faktorem půdní úrodnosti, stability výnosů a v převážné míře je podmínkou existence velmi bohaté a diversifikované půdní bioty. Půdy dobře zásobené organickou hmotou mají vyšší schopnost vyrovnávat výkyvy počasí, nebo jiných biotických a abiotických faktorů. Vedle agronomického významu půdní organické hmoty se v poslední době zvláště oceňuje její význam pro životní prostředí, a to zejména z hlediska akumulace organického C a jeho sekvestrace do půdy a dále také z hlediska zachování ekologických funkcí půdy (Kubát, 2008).

Cílem nádobového pokusu bylo prokázat vliv přidávaných uhlikatých látek (použita drcená celulóza) na aktivitu půdních mikroorganismů a růst rostlin v půdě hnojené vysokou dávkou minerálního dusíku (N). Tůma *et al.* (2010) ve své práci uvádí, že konkurence mikroorganismů o dostupný dusík je velice vysoká po dodání celulózy, která následkem toho může omezovat množství minerálního dusíku v půdním roztoku. Díky vyššímu obsahu uhlikatých organických látek by mikrobiální imobilizace dusíkatých iontů mohla vést ke snížení množství pohyblivých forem dusíku v půdním prostředí (Kintl, 2011).

MATERIÁL A METODIKA

Porušený půdní vzorek byl odebrán v zájmovém území na třech lokalitách Ochranného pásma vodního zdroje (OPVZ II. Stupně) Březová nad Svitavou. Vybrané území je zařazeno do zranitelné oblasti (dle Nitrátové směrnice, prováděcí předpis NV 103/2003 Sb). Na třech vybraných lokalitách byl odebrán reprezentativní vzorek z výměry cca 0,5 ha. Odběr byl prováděn 28. 10. 2011. Na vzduchu vyschlé vzorky půdy byly v laboratoři homogenizovány a přesety přes síto o velikosti ok 2 mm, vznikla tak jemnozem I. Následně byly vzorky preinkubovány při laboratorních podmínkách po dobu 30 dní. Po uplynutí doby preinkubace byla půda promíšena a naplněna do nádob o objemu 0,125 litru. Všechny nádoby byly osazeny modelovou plodinou *Lactuca sativa*. Pro simulaci různé úrovně zásobené živin byla použita močovina - 175 kg čistého dusíku (N) v přepočtu na 1 ha, zdrojem fosforu byl superfosfát - 35 kg/ha čistého fosforu (P) a drcená celulóza v dávce 4664 kg C/ha byla použita jako zdroj uhlikatých látek (C). Byly připraveny tyto varianty pokusu: kontrola bez přísad živin a drcené celulózy, aplikace N + C; N + P + C; C; N; N + P.

Do připravených nádob byla vyseta indikační plodina *Lactuca sativa* a po dobu 36 dní probíhala kultivace ve fytotronu, při konstantní teplotě 22°C. Po ukončení pokusu, byla stanovena suchá hmotnost nadzemní biomasy indikační plodiny .

Pro měření unikajících minerálních forem dusíku byla naplněna plochá válcovitá pouzdra (disky) o vnitřním průměru 70 mm a výšce 5 mm, zhotovená z novoduru a uzavřená z obou stran polyamidovou síťovinou UHELON, smíšenými iontoměniči (katex : anex = 1:1). Používané iontoměniče vyrábí firma PUROLITE (katex – PUROLITE C100E, anex – PUROLITE A520E). Iontoměniče byly třikrát opakovaně kondicionovány v 10% roztoku NaCl a mnohonásobně vymývány v destilované vodě. Disky byly umístěny pod pokusné nádoby takovým způsobem, aby všechna

voda unikající z pokusné nádoby musela protéci přes disk a tím byla zaručena výměna iontů mezi vodou a iontoměnič. Po ukončení pokusu byly disky vysušeny na vzduchu a byla zjištěna jejich hmotnost. Obsah disků byl nasypan do předem připravených polyetylenových lahvíček. Podle hmotnosti ionexů bylo ke směsi přidáno 8-10ml destilované vody. Po přidání destilované vody došlo k nabobtnání ionexů. Následně se obsah lahvíček doplnil na obsah 100 ml 10% roztokem NaCl. Přidaný roztok NaCl způsobil vytěsnění nasorbovaných amonných a nitrátových iontů z nitra ionexů. Uzavřené lahvíčky se nechaly třepat, a po uplynutí doby 45 minut byly tyto vzorky připraveny k analýze.

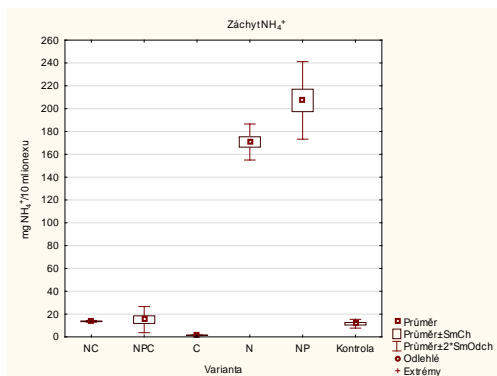
Roztok 10 % NaCl byl použit k resorbci zachycených iontů NH_4^+ a NO_3^- . Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou v alkalickém prostředí s MgO (Peoples et al., 1989). Pomocí indikátoru s HBO_2 byl amonný dusík jímán a následnou titrací HCl bylo zjištěno množství NH_4^+ . NO_3^- ionty jsou stanoveny stejným způsobem po redukci Devardovou slitinou. Zjištěné hodnoty byly přepočteny na srovnatelné objemové množství katexu a anexu v mg N/10 ml ionexu⁻¹.

Bazální respirace (BR) byla stanovena měřením produkce CO_2 z půdy inkubované v uzavřené lahvi po dobu 24 hodin. Navážka půdy byla 15g do každé 120 ml láhve ve třech opakováních od každé varianty. Láhve byly uzavřeny pryžovou zátkou a inkubovány při 25°C. Po 3 a 24h, bylo 0,5ml vzorku vnitřní atmosféry v láhvi analyzováno plynovou chromatografií (Agilent Technologies 7890A GC Systém, který je vybaven detektorem tepelné vodivosti). Respirace byla vypočtena z nárůstu koncentrace CO_2 ve vnitřním prostoru lahve během 21 h inkubace. Na konci měření, byl stanoven celkový objem lahve pro každé opakování měřením množství vody potřebné k jejímu naplnění. Naměřené množství CO_2 bylo opraveno pro plyny rozpuštěné v kapalně fázi. Výsledky jsou vyjádřeny na gram suché půdy a hodinu.

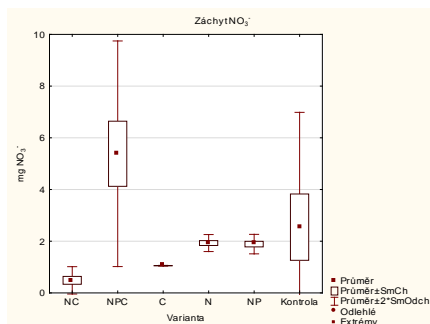
Substrátem indukovaná respirace (SIR) byla stanovena měřením produkce CO_2 z půdy inkubované v lahvích po dobu 3 h po přidání glukózy. Navážka půdy byla (15 g) do každé 120 ml láhve ve třech opakování od každé varianty. K půdní navážce byly přidány 2 ml roztoku glukózy což znamená 4 mg C g⁻¹ sušiny půdy. Láhve byly uzavřeny pryžovou zátkou a inkubovány při 25°C. Po

0 a 3h bylo 0,5 ml vzorku vnitřního prostředí analyzováno pomocí plynové chromatografie (viz předchozí odstavec). SIR byla vypočtena z nárůstu koncentrace CO_2 ve vnitřním prostoru lahve v průběhu 3h inkubace. Na konci měření, byl stanoven celkový objem lahve, jak je popsáno pro měření BR.

VÝSLEDKY A DISKUZE

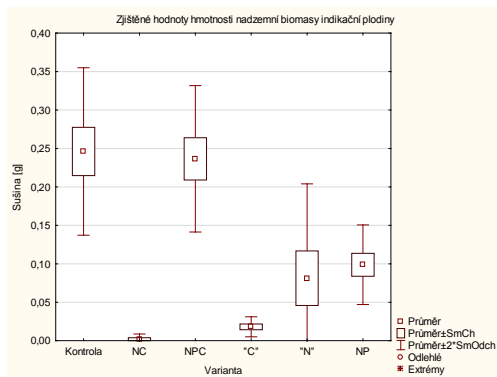
Obr. 1 Záchyt NH_4^+ /10 ml ionexu.

Z obrázku č. 1 je zřejmé, že hnojení významně zvýšilo vyplavování amonných iontů (NH_4^+). Naopak, u všech třech variant s přidáním celulózy (NC, NPC, C) byl záchyt (NH_4^+) na úrovni kontroly. Dostatek uhlíku u těchto variant pravděpodobně umožnil dostatečnou imobilizaci amonného iontů a proto nedocházelo k jeho ztrátám vyplavením.

Obr. 2 Záchyt NO_3^- /10 ml ionexu.

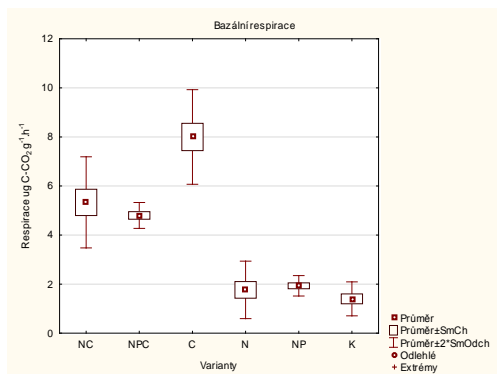
Obrázek č.2 znázorňuje záchyt NO_3^- /10 ml ionexu. Hodnoty záchytu nitrátů jsou až 800 nižší než hodnoty záchytu amonných iontů. Ale i zde je vidět rozdíl v naměřených hodnotách ztrát nitrátů vyplavením při dodání a nedodání uhlíkatých látek.

Obr. 3 Biomasa indikační plodiny v (g).



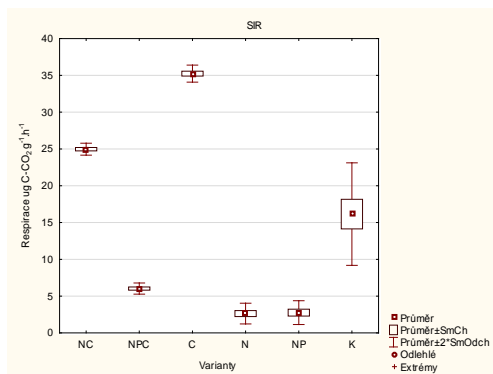
Při vyhodnocování nadzemní biomasy indikační plodiny byly zjištěny významně nižší hodnoty u rostlin hnojených dusíkem, zřejmě v důsledku toxického působení vysoké dávky minerálních hnojiv. Nejmenší nárůst u varianty NC, kde došlo během expozice k uhynutí rostlin. Kontrola a varianta NPC vykazují shodně největší nárůst biomasy. U varianty s přísadkou pouze celulózy byl zjištěn nejmenší nárůst nadzemní biomasy indikační rostliny, který byl pravděpodobně vyvolán konkurencí mikroorganismů v příjmu živin. Kaye 1997, popisuje experimenty naznačující, že rostliny a půdní mikroorganismy, limitované anorganickým dusíkem, a to i na poměrně úrodných stanovištích. V důsledku toho si mohou rostliny a půdní mikroorganismy konkurovat v příjmu dusíku.

Obr. 4 Hodnoty bazální respirace ug C-CO₂ g⁻¹.h⁻¹



Statisticky průkazné rozdíly mezi naměřenými hodnotami bazální respirace ve variantách s přidavkem (NC, NPC, C) a bez přidavku uhlíku (N, NP, kontrola) vypovídají o zvýšené aktivitě mikrobiálních společenstev ve variantách s přidavkem celulózy. Mikrobiální aktivita je limitována množstvím dostupného uhlíku. I když je reakce mikrobiálních společenstev na stres (nedostatek některých živin) omezena, fyziologické náklady, které jsou na půdní mikroby kladeny dost velké, že mohou způsobit významné změny v přidělování a osudu C a N (Schimel, 2007).

Obr. 5 Hodnoty substrátem indukované respirace ug C-CO₂ g⁻¹.h⁻¹



Substrátem indukovaná respirace potvrzuje závislost mikrobiálních společenstev na dostupnosti uhlíkatých látek, což se odráží na jejich biomase. Varianty NC a C poskytly dostatek uhlíku a mikrobiální biomasa zde byla největší. Výjimku tvoří kombinace živin NPC, kde jsou hodnoty jen o málo větší než u bezuhlíkatých variant N a NP.

Mikrobiální procesy imobilizace a mineralizace jsou odvislé od dostupnosti dusíku v ekosystému, což potvrzuje Záhora (2001). Pokud dusík není limitující živinou převládne mineralizace a dostupné formy dusíku se budou vyskytovat v půdě pro potřeby metabolismu mikroorganismů a umožní jejich zvýšený záchyt. V případě, kdy bude dusík limitující faktorem převládne imobilizace. Ve variantách kdy bylo dodáno dostatečné množství uhlíku (celulózy) bude v půdě poutáno i odpovídající množství dusíku. Dostupný uhlík usnadnil mikroorganismům poutat pohyblivé formy dusíku (NH₄⁺) a (NO₃⁻) ionty do své biomasy a tím snížil jejich množství sorbované do zrn iontoměničů i při vysoké dávce aplikovaného hnojiva. Tůma et al. (2010) potvrzují, že soupeření mikroorganismů o dostupný dusík je velmi značné po přidání lehce dostupného zdroje uhlíku ve formě celulózy, které následně omezuje rychlost záchytu minerálního dusíku do pastí ionexových zrn. Uhlíkaté látky jsou významným zdrojem energie pro mikrobiální procesy a tím i hnacím motorem půdní mikrobiální aktivity, která je nezbytná pro mikrobiální transformace půdního dusíku (nitrifikace, denitrifikace, biologická fixace dusíku apod).

ZÁVĚR

Z výsledků vyplývá, že vysoké dávky N způsobují jeho vyplavování z půdy a mohou mít i dopady na pěstované plodiny a mikrobiální společenstvo v půdě. Přidávky C mohou tyto negativní jevy spojené s aplikací minerálního N do jisté míry eliminovat. Nicméně, při nadbytku uhlíkatých zdrojů mohou být mikrobiální společenstva významným konkurentem v příjmu živin pro rostliny. Pokud zaručíme dostatečné množství živin (varianta N+P+C), dojde k nárůstu mikrobiální aktivity a zachování vyhovujících podmínek pro růst rostlin.

LITERATURA

Elser, J.J., Sterner, R. W., Galford, A.E., Chrzanowski, T. H., Findlay, D. L., Mills, K.H., Peterson, M.J., Stainton, M.P. and Schindler, D.W (2000): Pelegic C:N:P stoichiometry in a eutrophic lake: response to a whole-lake food-web manipulation. *Ecosystems*, 3: 293-307

Kintl, A., Záhora, J., Tůma, I., 2011: Vliv uhlíku na dostupnost půdního dusíku v aplínské louce - metodický přístup. [CD-ROM]. In MendelNet 2011 - Proceedings of International Ph.D. Students Conference. s. 372--377. ISBN 978-80-7375-563-8.

Kubát, J., Cerhanová, D., Mikanová, O., Šimon, T. (2008): Metodika hodnocení množství a kvality půdní organické hmoty v orných půdách, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha ISBN: 978-80-87011-65-2

Kaye, J. P., Hart S. C., (1997): Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms *Trends in Ecology and Evolution* 12:139–143

Nohel, P., Záhora, J., Mejzlík, L. (2008): Sledování úniku minerálního dusíku z půd různých ekosystémů v OPVZ II. st. Březová nad Svitavou. SOVAK, 7-8: 48-51.

Peoples, M. B., Faizah, A. W., Rerkasen, B., Herridge, D. F., 1989: *Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field*. Aciar Monograph. 11:76. ISBN 978921531569

Schimel, J., Balsler, T. C., Wallenstein, M., (2007): Microbial stress–response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecological Society of America, Ecology*, 88(6), 2007, pp. 1386–1394

Tůma, I., Holub, P., Záhora, J., Fiala, K., (2010): Effect of enhanced nitrogen input on release of nutrients and nutrient availability in stand of tall fern *Athyrium distentifolium*. *Geophysical Research Abstract* [online]. vol. 12, April [cit. EGU 2010–8266]. Dostupný z WWW: <http://geophysical-research-abstracts.net/gra_volume_12.pdf > . eISSN 1607-7962.

Vaňek, V., Kolář, L., Pavlíková, D., (2010): Úloha organické hmoty v půdě. Racionální použití hnojiv - sborník z konference, ISBN 978-80-213-2006-2

Záhora, J., (2001): Dostupnost dusíku v půdě vřesovišť Národního parku. *Thayensia*.

Znojmo, roč. 4, č. 1, s. 169-181. ISSN 1212-3560.

Záhora, J., Nohel, P., KINT, A., (2011): Vyplavování minerálního dusíku z orných, lučních a lesních půd v OPVZ II. st. Březová nad Svitavou. In: *Sborník příspěvků XV. mezinárodní vodohospodářské konference VODA ZLÍN 2011*. Zlín: Voding Hranice a Moravská vodárenská, s. 49-54. ISBN 978-80-254-9113-3.